



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

**Análisis del desarrollo dendrítico peripuberal de neuronas
piramidales de corteza media prefrontal y de amígdala
basolateral de ratas Zucker *fa/fa* hembras y machos**

Tesis para obtener el grado de
Maestra en Ciencias Biológicas

Presenta:

Biol. María Constelación Sandoval Romero

Directora de tesis:

Dra. Adriana Berenice Silva Gómez

Codirector de tesis:

Dr. Ilhuicamina Daniel Limón Pérez De León

Febrero, 2024



*Dedicado a
mi amada hija Isabella, luz incansable en mi vida, fuente de fuerza y extraordinaria
inspiración.*



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

H. Puebla de Z. a 15 de febrero de 2024

Asunto: Voto Aprobatorio

**Comité Académico del Posgrado
PRESENTE**

Por medio de la presente se hace constar que se revisó y aprobó la tesis titulada:

“Análisis del desarrollo dendrítico peripuberal de neuronas piramidales de corteza media prefrontal y de amígdala basolateral de ratas Zucker fa/fa hembras y machos”

Que presenta el (la) estudiante **María Constelación Sandoval Romero** con número de matrícula **221470311**, aspirante al grado de **Maestra en Ciencias Biológicas**, de la Línea de Generación y Aplicación del Conocimiento: “Estructura y Funcionamiento de los Seres Vivos”, notificamos que la tesis reúne los requisitos y se aprueba para su réplica oral en el examen de grado.

Por lo tanto, emitimos los **VOTOS APROBATORIOS** como miembros del **Comité de Jurado de Examen de Grado** como a continuación se indica:

Tutor Interno: Dra. Angélica Trujillo Hernández

Tutor Externo: Dr. Eleazar Ramírez Hernández

Revisor: Dr. Julio César Morales Medina

Agradecemos de antemano la atención que se sirva prestar a la presente.



DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD Y DE NO PLAGIO

Yo, **María Constelación Sandoval Romero**, con matrícula 221470311, alumna de posgrado de la **Maestría en Ciencias Biológicas** de la **Benemérita Universidad Autónoma de Puebla** y autor de la tesis titulada: **“Análisis del desarrollo dendrítico peripuberal de neuronas piramidales de corteza media prefrontal y de amígdala basolateral de ratas Zucker fa/fa hembras y machos”**

DECLARO QUE:

El presente trabajo de investigación, tema de tesis presentada para la obtención del grado de **Maestra en Ciencias Biológicas** es original, siendo resultado de mi trabajo personal, que no se ha copiado, que no se han utilizado ideas, formulaciones, citas completas *“stricto sensu”* e ilustraciones diversas, sacadas de cualquier tesis, obra, artículo, memoria, etc., (en versión digital o impresa), sin mencionar de forma clara y exacta su origen o autor, tanto en el cuerpo del texto, figuras, cuadros, tablas u otros que tengan derechos de autor.

Declaro que el trabajo de investigación que pongo en consideración para evaluación no ha sido presentado anteriormente para obtener algún grado académico o título, ni ha sido publicado en sitio alguno. En este sentido, soy consciente de que el derecho de no respetar los derechos de autor y hacer plagio, son objeto de sanciones universitarias y/o legales, por lo que asumo cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de las irregularidades en la tesis, así como de los derechos sobre la obra presentada. Asimismo, me hago responsable ante la universidad o terceros, de cualquier irregularidad o daño que pudiera ocasionar, por el incumplimiento de lo declarado.

H. Puebla de Zaragoza a 14 de febrero de 2024



María Constelación Sandoval Romero

Agradezco al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología por otorgarme la beca número 798445 para realizar mis estudios de maestría.

Agradezco a la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla por el apoyo económico otorgado, para realizar este trabajo.

Agradezco a la Maestría en Ciencias Biológicas de la BUAP, con clave en el SNP: 005671, por brindarme la oportunidad de ser parte de su facultad, contribuyendo así al enriquecimiento de mi desarrollo académico y profesional.

Agradezco de manera especial al Laboratorio de Neurofisiología Experimental de la Facultad de Ciencias Biológicas de la BUAP por haberme recibido y respaldado para llevar a cabo este proyecto.

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

Expreso mi profundo agradecimiento a mi directora de tesis, la Dra. Adriana Berenice Silva Gómez, por compartir su invaluable conocimiento y ser mi guía fundamental durante esta etapa de superación académica. Le agradezco enormemente por dedicarme su tiempo, esfuerzo y por su paciencia infinita. Valorizo de manera significativa la oportunidad que me brindó para desarrollar este hermoso proyecto, del cual, a pesar de los desafíos, me siento completamente satisfecha.

A mi codirector de tesis, el Dr. Ilhuicamina Daniel Limón Pérez De León, por enseñarme valores como el trabajo arduo, la disciplina y el amor por la ciencia, contribuyendo así a mi desarrollo como estudiante.

A los miembros de mi jurado, la Dra. Angélica Trujillo Hernández, el Dr. Eleazar Ramírez Hernández y el Dr. Julio César Morales Medina. Aprecio el tiempo, la dedicación y el interés que se tomaron para revisar mi tesis, así como los valiosos comentarios que aportaron, enriqueciendo significativamente mi trabajo.

Agradezco infinitamente a mis padres, María Guillermina Romero Quintero y Jesús Rodrigo Sandoval Castillo. Su apoyo incondicional ha sido mi mayor fortaleza. A mi mami, le agradezco por enseñarme a nunca darme por vencida y por su perseverancia en verme triunfar. A mi papá, le agradezco su paciencia y especialmente por apoyarme en mi decisión de hacer una maestría. Este logro es también parte de ustedes.

A mis hermanos Guillermo, Odín y Emilio, quienes son mi constante ejemplo a seguir.

A mi compañera de laboratorio y amiga, la M. en C. Denice Mendoza Valero, por su apoyo incondicional y por ser mi cómplice en todas las aventuras que hemos compartido a lo largo de la maestría.

A mis amigas de siempre Erika, Betzi y Belén, por darme ánimos para seguir adelante y por su cariño. A mis compañeros de laboratorio Ricky, Vale, Vane y Les por su compañía y ayuda durante el trabajo experimental.

Agradezco a todos los ciudadanos mexicanos, ya que, gracias a nuestros impuestos, se hacen posibles todos estos proyectos de investigación.

¡Muchas gracias a todos!

Contenido	Pagina
Resumen	1
1. Introducción	3
1.1. Obesidad	3
1.1.1. Fisiopatología de la obesidad	4
1.2. Ratas Zucker	6
1.3. Neurodesarrollo	8
1.3.1. <u>Árboles dendríticos</u>	10
1.3.2. <u>Espinas dendríticas</u>	11
1.3.3. <u>Fisiología y mecanismos moleculares de la plasticidad neuronal</u>	13
1.4. Corteza prefrontal	16
1.5. Amígdala	17
1.6. Neuronas piramidales	19
1.7. Pubertad y adolescencia	21
1.7.1. <u>Eventos neuronales peri-puberales</u>	22
2. Justificación	24
3. Hipótesis	25
4. Objetivo general	25
5. Objetivos particulares	25
6. Material y métodos	26
6.1. Material biológico	26
6.2. Evaluación la maduración sexual externa	27
6.3. Eutanasia	27
6.4. Evaluación de la maduración sexual hormonal	28
6.4.1. <u>Ensayo para medir la concentración de estradiol en las ratas hembra</u>	28
6.4.2. <u>Ensayo para medir la concentración de testosterona en ratas macho</u>	28
6.5. Determinación del fenotipo obeso	29
6.5.1. <u>Medidas zoométricas</u>	29
6.5.2. <u>Ensayo para medir los niveles de glucosa en suero</u>	29
6.5.3. <u>Ensayo para medir los niveles de colesterol</u>	30
6.5.4. <u>Ensayo para medir los niveles de triglicéridos</u>	30
6.6. Ensayo para medir la concentración de corticosterona en suero	31
6.7. Tinción de Golgi-Cox	32

6.8.	Análisis morfológico	32
6.9.	Análisis estadístico	33
7.	Resultados	33
7.1.	Concentraciones de estradiol y testosterona	33
7.2.	Determinación del fenotipo obeso: medidas zoométricas	34
7.2.1.	<u>Ratas hembra</u>	34
7.2.2.	<u>Ratas macho</u>	35
7.3.	Determinación del fenotipo obeso: química sanguínea	37
7.3.1.	<u>Ratas hembra</u>	37
7.3.2.	<u>Ratas macho</u>	38
7.4.	Concentración de corticosterona en suero	39
7.5.	Morfología dendrítica de Corteza Media Prefrontal	40
7.5.1.	<u>Arborización dendrítica</u>	40
7.5.1.1.	<u>Ratas hembra</u>	40
7.5.1.2.	<u>Ratas macho</u>	40
7.5.2.	<u>Longitud dendrítica total</u>	45
7.5.2.1.	<u>Ratas hembra</u>	45
7.5.2.2.	<u>Ratas macho</u>	45
7.5.3.	<u>Densidad de espinas dendríticas</u>	49
7.5.3.1.	<u>Ratas hembra</u>	49
7.5.3.2.	<u>Ratas macho</u>	51
7.6.	Morfología dendrítica de Amígdala Basolateral	53
7.6.1.	<u>Arborización dendrítica</u>	53
7.6.1.1.	<u>Ratas hembra</u>	53
7.6.1.2.	<u>Ratas macho</u>	54
7.6.2.	<u>Longitud dendrítica</u>	58
7.6.2.1.	<u>Ratas hembra</u>	58
7.6.2.2.	<u>Ratas macho</u>	60
7.6.3.	<u>Densidad de espinas dendríticas</u>	62
7.6.3.1.	<u>Ratas hembra</u>	62
7.6.3.2.	<u>Ratas macho</u>	64
8.	Discusión	67
9.	Conclusiones	74
10.	Anexo	75

11. Referencias	77
------------------------------	-----------

Listado de abreviaturas

AA: Área anterior de la amígdala.
ACC: Núcleo accumbens.
AChE: Estradiol-acetilcolinesterasa.
Akt: Proteína quinasa B.
AMP: Adenosín monofosfato.
AMPA: Receptor de ácido alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico.
AMPK: Proteína quinasa activada por AMP.
AMY: Amígdala.
AON: Núcleo olfatorio anterior.
ASB: Albúmina sérica.
AVPV: Núcleo periventricular antero-ventral.
BLA: Amígdala basolateral.
BMA: Núcleo baso-medial de la amígdala.
BST: Núcleo del lecho de la estría terminal.
C: Cerebelo.
CCCV: Canales de calcio controlados por voltaje.
CEA: Núcleo central de la amígdala.
CEM; Núcleo medial central del tálamo.
Cg: Corteza prefrontal medial región cingulada.
CLA: Claustrum.
COA: Núcleo cortical de la amígdala.
Cort: Corticosterona.
CRH: Hormona liberadora de corticotropina.
CT: Colesterol total.
DBh: Núcleo de la banda diagonal horizontal.
DED: Densidad de espinas dendríticas.
DM2: Diabetes mellitus tipo II.
DMH: Núcleo dorso-medial del hipotálamo.
DPS: Densidad postsináptica.
DR: Núcleo del rafé dorsal.
E2: Estradiol.
EC: Corteza entorrinal.
EMI: Núcleo intermedio dorsal del tálamo.
E α : Estrógeno α .
fa/fa: Homocigotos para el alelo *fa*.
fa: Mutación "fatty".
FFA: Ácidos grasos libres.
GABA: ácido gamma-aminobutírico.
GABAAR: Receptor de ácido γ -aminobutírico.
GAP-43: Proteína Asociada al Crecimiento-43.
GLU: Glucosa.
GLUT4: Transportador de glucosa tipo 4.
GnRH: Hormona liberadora de gonadotropina.
HPG: Eje hipotálamo-pituitario-gonadal.
HSL: Lipasa sensible a hormonas-
IAM: Núcleo interanteromedial del tálamo.
IC: Colículo inferior.
IL: Corteza prefrontal medial región infralímbica.
IMC: Índice de masa corporal.
IP: Núcleo interpeduncular.
JAK: quinasas Janus.
LDT: Longitud dendrítica total.
LE: Ratas Long Evans.
Lepr: Gen del receptor de leptina.
LHv: Área hipotalámica lateral.

Lipoproteína lipasa: LPL
LP: Núcleo lateral posterior del tálamo.
LPO: Área preóptica lateral.
LS: Núcleo septal lateral.
LS: Núcleo septal lateral.
LTD: Depresión a largo plazo.
LTP: Potenciación a largo plazo.
MAPK: Proteínas quinasas activadas por mitógenos.
MD: Núcleo mediodorsal del tálamo.
MEA: Núcleo medial de la amígdala.
MetS: Síndrome metabólico.
MO: Corteza orbital medial.
mPFC: Corteza prefrontal medial.
MPO: Área preóptica medial.
MR: Núcleo del rafé mediano.
NCAM: Las moléculas de adhesión celular neural.
NMDAR: Receptor de N-metil-D-aspartato.
NP: Núcleo de la protuberancia.
NPY: Neuropeptido Y.
NTS: Núcleo del tracto solitario.
ObRb: Receptor de leptina.
OC: Corteza occipital.
OMS: Organización Mundial de la Salud.
PFC: Corteza prefrontal.
PFx: Región perifornical del hipotálamo.
PI3K: Fosfatidilinositol 3-quinasa.
PKCCAL2: Proteína quinasa-2 dependiente de calmodulina-calcio.
PL: Corteza prefrontal medial región prelímbica.
PRC: Corteza perirrinal.
PT: Núcleo paratenial del tálamo.
PV: Núcleo paraventricular del tálamo.
RE: Núcleo reuniens del tálamo.
RmGlu: Receptores metabotrópicos de glutamato.
SI: Sustancia innominata.
SNC: Sistema nervioso central.
STAT: Transductores de Señales y Activadores de Transcripción
SUM: Núcleo supramamilar.
T: Testosterona.
TRG: Triglicéridos.
VLO: Corteza orbital lateral.
VO: Corteza orbital ventral.
VTA: Área tegmental ventral.
ZDF: Zucker Diabetic Fatty Rat.

Resumen

Alrededor de la pubertad, la corteza prefrontal y la amígdala presentan eventos de plasticidad neuronal que incluyen la remodelación de los árboles dendríticos y de las espinas dendríticas; estableciendo los circuitos neuronales funcionales con los que el organismo contará a lo largo de su vida adulta. El objetivo del presente trabajo fue analizar la morfología de las neuronas de corteza media prefrontal y de la amígdala basolateral durante el periodo crítico de neurodesarrollo peripuberal de ratas Zucker *fa/fa* hembras y machos. Se utilizaron ratas prepúberes: 12 Long Evans y 12 Zucker *fa/fa*, y ratas postpúberes: 12 Long Evans y 12 Zucker *fa/fa*. Se obtuvieron las medidas zoométricas y las concentraciones séricas de glucosa, colesterol total, triglicéridos, corticosterona, estradiol y testosterona. Los cerebros de las ratas fueron tratados de acuerdo con el método de Golgi-Cox y se evaluó la morfología dendrítica, mediante el análisis de Sholl para determinar arborización y longitud dendrítica total (LDT), y en segmentos dendríticos de al menos 10 μm de longitud, se calculó la densidad de espinas dendríticas (DED).

Los resultados indican un aumento en las medidas zoométricas en las ratas Zucker *fa/fa*, confirmando su estado de obesidad. Se observaron concentraciones séricas elevadas de glucosa, colesterol total y triglicéridos, lo que apoya previas observaciones. En cuanto a las concentraciones hormonales, las ratas hembra Zucker *fa/fa* mostraron mayores concentraciones de estradiol en comparación con las ratas hembra LE. Este aumento de estradiol también podría influir en la morfología dendrítica, a través de diversas vías de señalización metabólica. En relación con la morfología dendrítica en la corteza prefrontal media (mPFC), las ratas hembra y macho Zucker *fa/fa* prepúberes presentan inicialmente una disminución en la LDT y DED, seguida de un incremento en estas variables durante la etapa postpúber. En la amígdala basolateral (BLA), las ratas hembra Zucker *fa/fa* postpúber, muestran una disminución en la DED. En los machos Zucker *fa/fa*, se observa una remodelación dendrítica y una disminución en la LDT y DED únicamente en la región basilar de las neuronas de la BLA en la etapa postpúber. Los niveles séricos de corticosterona sin cambios entre los grupos experimentales indican que las ratas Zucker *fa/fa* prepúberes y postpúberes no presentan estrés crónico. En conjunto, los resultados indican que la inactividad de los receptores de leptina, que conlleva a una alteración en las diversas funciones reguladas por

esta hormona promueve alteraciones en los eventos de neurodesarrollo peripuberal en la rata Zucker obesa *fa/fa*.

Palabras clave: obesidad, morfología dendrítica, pubertad, poda sináptica, neurogénesis.

1. Introducción

1.1. Obesidad

La obesidad, es definida como un estado patológico caracterizado por niveles excesivos de grasa corporal. Es un problema de salud pública debido a la morbilidad y a la mortalidad que se asocian a ese trastorno (Grundy, 2008). La Organización Mundial de la Salud (OMS) reportó que en 2016 más de 1900 millones (39%) de adultos de 18 o más años tenían sobrepeso, de los cuales, más de 650 millones (13%) eran obesos; por otro lado, la prevalencia de sobrepeso y de obesidad en niños y adolescentes de 5 a 17 años ha aumentado del 4% a más del 18% en el periodo de 1975 - 2016. Con estas cifras se ha estimado que uno de cada cinco adultos en todo el mundo será obeso en 2025 (World Health Organization, 2021).

La obesidad es una enfermedad heterogénea, debido a que, varios estudios de imágenes cardiometabólicas han demostrado que algunas personas que tienen un índice de masa corporal (IMC) normal o que tienen sobrepeso, tienen un exceso de tejido adiposo visceral, una condición que a menudo se acompaña de acumulación de grasa en tejidos normalmente magros (grasa ectópica depositada en hígado, corazón, músculo esquelético, etc.). De acuerdo con esto, las personas con un IMC relacionado con sobrepeso u obesidad que particularmente tienen la capacidad de expandir su masa de tejido adiposo subcutáneo en el área glúteo-femoral, pueden tener un riesgo mucho menor de expresar alguna comorbilidad. En general, las cantidades excesivas de tejido adiposo visceral y de grasa ectópica definen en gran medida el riesgo de enfermedad cardiovascular, de sobrepeso y de obesidad (Wormser, *et al.*, 2011).

La principal causa de la obesidad es un desequilibrio energético entre las calorías obtenidas cuando consumimos alimentos y bebidas, y las calorías gastadas, es decir, la cantidad de energía que el cuerpo usa en funciones como respirar, digerir los alimentos y mantenerse activo. Sin embargo, existen otros factores que pueden contribuir a la expresión de la obesidad como son los factores ambientales y culturales, la historia familiar y genes, los problemas de salud como trastornos hormonales, el consumo de drogas, los factores emocionales y la falta de sueño (Mohammed, *et. al.*, 2018). Como consecuencia, los individuos pueden presentar otras anomalías metabólicas, a lo que se le conoce como síndrome metabólico, el cual incluye alta presión arterial, elevados niveles de azúcar en sangre, exceso de grasa corporal en la cintura y

niveles anormales de colesterol entre otros; además, se ha relacionado un aumento en la probabilidad de padecer infartos o derrames cerebrales (Figura 1) (Eve Piché, *et al.*, 2020).

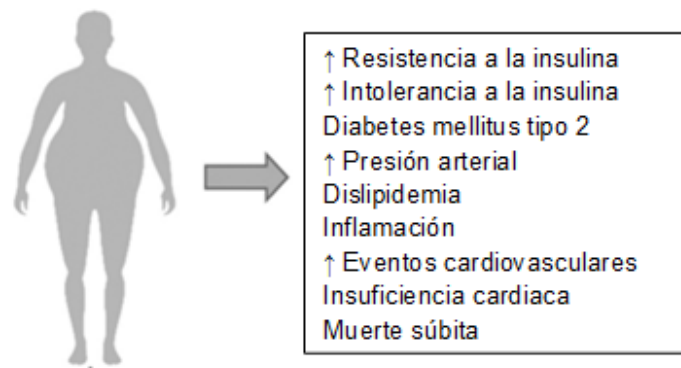


Figura 1. Consecuencias de la obesidad. Relación entre la obesidad y las afecciones del síndrome metabólico (Eve Piché, *et al.*, 2020).

1.1.1. Fisiopatología de la obesidad

Sea cual sea la etiología de la obesidad, el desarrollo de la enfermedad comienza en el tejido adiposo, en donde la célula principal es el adipocito, la cual está especializada en almacenar el exceso de energía en forma de triglicéridos para liberarlos en situaciones de demanda energética (Frühbeck, 2008). Además de mantener el equilibrio energético, el adipocito es una célula endocrina, que produce y secreta al menos 600 factores bioactivos considerados como adipocinas (citoquinas emitidas por el tejido adiposo), se desconoce en gran medida su función, el modo de acción o las vías de señalización de muchas de las adipocinas, no obstante, la leptina y la adiponectina son las más estudiadas (Zorena, *et al.*, 2020).

La leptina es una hormona producida en su mayoría por los adipocitos, que actúa sobre los receptores de leptina que se expresan en múltiples núcleos del SNC como es el núcleo arcuato y en el área ventromedial del hipotálamo, entre otros; estas regiones son fundamentales en la regulación del comportamiento alimenticio y en el equilibrio energético (Botella, *et al.*, 2001). La leptina promueve la señal de saciedad a través de la interacción con los receptores de leptina en el hipotálamo y sobre dos neuromoduladores con acción catabólica: el neuropeptido Y (NPY), que reduce la termogénesis y la concentración de melanocortina, con acción anorexígena (Blüher & Mantzoros, 2015), mientras que, la adiponectina actúa a través de tres

receptores: AdipoR1, expresado de forma generalizada, especialmente en el músculo esquelético, AdipoR2, que predomina en el hígado y cadherina-T48; por medio de la fosforilación de la proteína quinasa activada por adenosina monofosfato cíclica (AMPK). La adiponectina aumenta la sensibilidad a la insulina, la oxidación de ácidos grasos y reduce la síntesis de glucosa (Fang & Judd, 2018). En la lipo-inflamación, presente en la obesidad, se ha observado que los niveles séricos de leptina aumentan, mientras que los niveles de adiponectina disminuyen, generando así un perfil secretor que puede explicar en parte todas las anormalidades metabólicas asociadas a la obesidad (Fasshauer & Blüher, 2015).

En condiciones no patológicas, el adipocito aumenta su volumen de grasa (hipertrofia), alcanzando un umbral de tamaño crítico para su duplicación y para generar una nueva célula adiposa (hiperplasia). Este proceso es fuertemente regulado por factores que incluyen que las células precursoras comiencen a proliferar a nivel visceral sin la necesidad de una señal de los adipocitos hipertrofiados como respuesta a la exposición de una dieta alta en grasa. A su vez, el adipocito hipertrofiado presenta una disfunción en su actividad provocando una disminución en la sensibilidad a la insulina, a la hipoxia, al aumento de los parámetros de estrés intracelular, al aumento de autofagia y de apoptosis, así como a la inflamación de los tejidos (Rosen, 2015). Durante la niñez y la pubertad, el proceso dominante en los adipocitos es la hiperplasia en determinados estadios, debido a que es más fácil la adipogénesis una vez alcanzado dicho tamaño crítico. Por el contrario, en la edad adulta es más difícil esta situación, pudiéndose alcanzar un mayor tamaño en el adipocito sin que se estimule la hiperplasia, siendo la hipertrofia el mecanismo normativo de desarrollo en el tejido adiposo subcutáneo en la ganancia de peso. Esto no significa que ante una sobre ingesta crónica, un individuo infante no pueda desarrollar hipertrofia adipocitaria y generar las perturbaciones propias del individuo adulto. En la edad adulta, el número de adipocitos permanece prácticamente estable con respecto al total alcanzado durante la adolescencia, por eso es tan importante la prevención de la obesidad en la edad infanto-juvenil, ya que una pérdida significativa de peso disminuye el volumen y no el número de adipocitos (Martos-Moreno, *et al.*, 2013).

En el adipocito con hipertrofia, se expresa un estado transitorio de inflamación que se considera normal. El problema surge al perpetuarse esta situación, ya que se compromete la integridad del adipocito hipertrofiado en exceso, modificando tanto su comportamiento metabólico como

generando adaptaciones en el tejido, y en última instancia, llevándolo a la apoptosis, dando lugar a una infiltración de células inmunes de perfil proinflamatorio, lo que altera el microambiente celular y genera un estado de inflamación tisular conocido como lipo-inflamación. Este fenómeno vierte a la circulación factores inflamatorios generando alteraciones en otros tejidos, dando lugar a una inflamación sistémica (Izaola, *et al.*, 2015).

El aumento excesivo de tamaño del adipocito, unido a un estado inflamatorio, también puede ocasionar un aumento de la lipólisis basal, lo que se conoce como “hipótesis del sobre flujo”, es decir, el adipocito ha saturado su capacidad para depositar triglicéridos que estos se pueden dirigir a otros tejidos depositándose ectópicamente en los mismos generando una lipotoxicidad sistémica (Moreno-Indias & Tinahones, 2015). Cuando el tejido adiposo subcutáneo ya no es suficiente para almacenar el exceso de energía, el tejido visceral se convierte en el principal almacén de triglicéridos, esto se debe a su limitada capacidad hiperplásica y a una mayor capacidad hipertrófica, además de su mayor respuesta a catecolaminas (Item & Konrad, 2012). El tejido hipertrofiado, el flujo de factores inflamatorios, el exceso de ácidos grasos libres y la proximidad anatómica del tejido adiposo visceral al hígado, condicionan la salud de este órgano, el cual a su vez condiciona la salud sistémica del individuo. Por lo tanto, el aumento de la deposición de grasa abdominal se considera un factor de riesgo para el desarrollo del síndrome metabólico (MetS) (Stefan, *et al.*, 2008).

1.2. Ratas Zucker

Las ratas ZDF (Zucker Diabetic Fatty Rat), más conocidas como ratas Zucker, es un modelo animal usado para el estudio de la obesidad y la diabetes mellitus tipo II (DM2). Estos animales presentan la mutación “fatty” (*fa*) en el gen *Lepr* del receptor de leptina (*ObRb*), lo que provoca alteraciones en el metabolismo de los lípidos y una resistencia a la insulina (Zucker & Zucker, 1961). La obesidad vinculada a la mutación *fa* se hereda de modo autosómico recesivo, por lo cual, los animales con genotipos homocigoto dominante (+/+) y heterocigoto (*fa*/+) no presentan obesidad ni hiperglicemia, mientras que los homocigotos para el alelo *fa* (*fa/fa*), presentan un fenotipo obeso desde la tercera a la quinta semana de vida, de tal modo que cuando alcanzan las 14 semanas de vida, el 40% de su peso corporal tiene una composición lipídica (Fumiki, *et al.*, 2005; Arias-Díaz & Balibrea, 2007).

El receptor de leptina es un miembro de la familia de receptores de citoquinas; en la rata Zucker (*fa/fa*), dicho receptor sufre una sustitución del aminoácido glutamina por prolina en el dominio extracelular, lo que provoca ausencia de la actividad de la leptina a nivel intracelular y la expresión de organismos hiperlipidémicos, hipercolesterolémicos, hiperinsulinémicos e hiperglucémicos, además, estos organismos desarrollan hipertrofia e hiperplasia adipocitaria (Takemasa, *et al.*, 1999; Gayle, *et al.*, 2013).

La leptina también promueve plasticidad neuronal, incluidos eventos a nivel sináptico, del receptor de glutamato y de neuroprotección, para evitar la apoptosis celular y promover la supervivencia celular (Doherty *et al.*, 2013). A nivel molecular, la leptina estimula la neurogénesis, el crecimiento axonal, la sinaptogénesis y los cambios en la morfología dendrítica (Paz-Filho, 2016). En las neuronas hipocampales y corticales, la leptina promueve cambios importantes en la densidad y en la motilidad de los filopodios dendríticos, lo que podría deberse a una reorganización de los filamentos de actina y a la activación de moléculas como integrinas, proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPK), receptores N-metil-D-aspartato (NMDAR) y proteína Asociada al Crecimiento-43 (GAP-43) (O'Malley *et al.*, 2007; Harvey, 2013). De acuerdo con lo anterior, se sugiere que en las ratas Zucker (*fa/fa*), la leptina no puede participar en el mantenimiento de la arborización dendrítica en neuronas lo que provoca retracción dendrítica (Bravo-Duran, *et al.*, 2021).

En diversas investigaciones, realizadas en ratas Zucker se ha determinado que como consecuencia de la obesidad y de las alteraciones metabólicas propias, estas ratas pueden presentar neurodegeneración en distintas zonas cerebrales; se ha reportado una disminución en el número de neuronas en la corteza prefrontal y en las áreas CA1 y CA3 del hipocampo a distintas edades de desarrollo y un incremento en la tasa de neurodegeneración a las 20 semanas de edad (Tomassoni, *et al.*, 2020). Además, ratas hembra Zucker obesas de 5 meses expresan retracción dendrítica de las neuronas del núcleo hipotalámico ventromedial (Bravo-Duran, *et al.*, 2021).

Las ratas Zucker *fa/fa* tienen niveles altos de corticosterona, a pesar de un mayor aclaramiento de la hormona, lo que sugiere que la hipercorticosterolemia observada en dicha rata se debe a un incremento en la activación de las neuronas hipotalámicas y por tanto un incremento en la síntesis y liberación de la hormona liberadora de corticotropina (CRH). Sin embargo, durante

los periodos de alimentación, existe un aumento transitorio en los niveles de CRH en el núcleo hipotalámico paraventricular, en el núcleo hipotalámico dorsomedial, en el núcleo supraóptico, en el núcleo talámico paraventricular, en el núcleo central de la amígdala, en los núcleos parabraquiales y en el núcleo del tracto solitario tanto de ratas obesas como de ratas delgadas, lo que a priori no respalda la idea de que el sistema CRH está inactivo en la obesidad. Al respecto se ha reportado que, la estimulación de algunas estructuras cerebrales es más fuerte en los individuos obesos, lo que aumenta la posibilidad de que las ratas obesas respondan más fuertemente a los estímulos alimentarios (Timofeeva & Richard, 1997; Timofeeva, *et al.*, 2002).

1.3. Neurodesarrollo

El neurodesarrollo adecuado y la comunicación sináptica correcta entre neuronas es fundamental para el desarrollo “normal” y funcional del sistema nervioso central (SNC). Un circuito neuronal consta de redes neuronales definidas por dendritas, axones y terminales sinápticas. La formación de redes neuronales está altamente coordinada y está dirigida por diversas cascadas moleculares que aseguran que las neuronas proliferen, que extiendan sus axones con alta fidelidad espacial y temporal y que formen conexiones sinápticas con la célula blanco apropiada. El crecimiento de neuritas y la sinaptogénesis (formación, función y mantenimiento de sinapsis) son algunas de las características que definen el desarrollo postnatal; la desregulación de estos procesos puede conducir a una conectividad neuronal deficiente y a un mayor riesgo de expresión de patologías del neurodesarrollo (McGlashan & Hoffman, 2000; Geschwind & Levitt, 2007).

El desarrollo del SNC inicia en la etapa prenatal, no obstante, alcanza la madurez estructural y funcional de manera postnatal. En algunas estructuras del cerebro como la corteza prefrontal y el hipocampo, se han descrito eventos de plasticidad neuronal que incluyen remodelación y retracción de los árboles dendríticos y de las espinas dendríticas alrededor de la pubertad, lo cual promueve que se establezcan los circuitos neuronales funcionales con los que el organismo contará a lo largo de su vida (Figura 2) (Yuste, 2010).

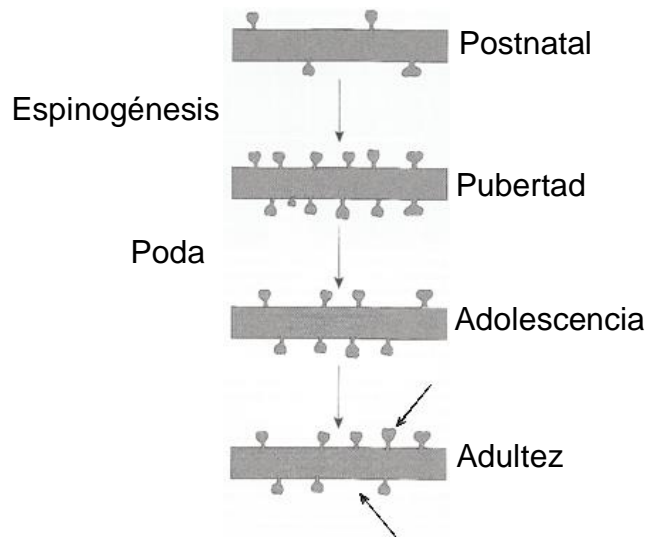


Figura 2. Expresión de espinas dendríticas durante el desarrollo postnatal. La densidad de espinas dendríticas aumenta antes de la pubertad debido a espinogénesis, mientras que después de la pubertad ocurre una disminución por el fenómeno denominado poda, dejando así las conexiones neuronales funcionales para el resto de su vida; las fechas señalan el resultado de dichos eventos (Imagen tomada y modificada de Yuste, 2010).

Numerosos estudios han investigado el papel de la actina del citoesqueleto en el desarrollo y función del SNC (Joensuu, *et al.*, 2018). Además, se ha estudiado a la matriz extracelular (MEC) y a los receptores de membrana, como las integrinas (Lilja & Ivaska, 2018), que se desempeñan como moléculas guía durante el desarrollo del SNC y son importantes para el mantenimiento de conexiones neuronales estables y para la expresión de eventos de plasticidad sináptica (capacidad de las sinapsis para fortalecer o debilitar conexiones en respuesta a un estímulo) (Kerrisk *et al.*, 2014; Joensuu, *et al.*, 2018).

La potenciación a largo plazo (LTP) y la depresión a largo plazo (LTD) son fenómenos cruciales en la plasticidad neuronal. La LTP se induce mediante la estimulación de alta frecuencia de una sinapsis específica lo que provoca la mejora de la eficiencia en la transmisión sináptica, evento esencial para procesos de aprendizaje y memoria (Yuste & Bonhoeffer, 2001). Por otro lado, la LTD implica una disminución sostenida de la eficacia sináptica y puede ser inducida por diversas formas de estimulación. Dichos eventos, involucran cambios en la expresión de receptores ácido alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico (AMPA) y ácido γ -aminobutírico (GABAAR) que promueven la fuerza sináptica y la homeostasis neuronal. Además, ambos procesos contribuyen a la adaptabilidad del sistema nervioso, permitiendo respuestas flexibles a distintos patrones de actividad neuronal y de condiciones ambientales (Córdoba-Montoya, *et al.*, 2010).

La reorganización de los circuitos continúa en las sinapsis individuales a lo largo de la vida en forma de plasticidad sináptica (Sala & Segal, 2014). La conectividad neuronal aberrante puede surgir durante el neurodesarrollo tanto prenatal, como postnatal, dando lugar a trastornos del neurodesarrollo (Zoghbi & Bear, 2012). La fisiopatología de estos trastornos se relaciona con la desregulación de los procesos del crecimiento, la guía y la focalización de neuritas, así como la sinaptogénesis y la plasticidad sináptica (Gejman *et al.*, 2010; Berretta, 2012; Bourgeron, 2015).

1.3.1. Árboles dendríticos

Se conoce como árbol dendrítico al conjunto de dendritas que surgen de una neurona. A través de la enorme diversidad de tipos neuronales, los árboles dendríticos varían notablemente en su forma, tamaño y función. La disposición de las dendritas tiene importantes implicaciones para el procesamiento de la información neuronal de dos formas (London & Hausser 2005). Primero, la ubicación y la densidad de las dendritas determinan el número, la posición y los tipos de sinapsis que tendrá una neurona. Segundo, las propiedades eléctricas de las dendritas, combinadas con la ubicación de entradas particulares, permiten la función del circuito. Cada tipo de neurona ha adaptado sus estructuras dendríticas para una función única y la diversidad de morfologías dendríticas es necesaria para satisfacer una amplia gama de necesidades en el SNC. La remodelación de los árboles dendríticos no solo consiste en la adición y extensión de ramas, sino también en la retracción y pérdida de ramas dendríticas (Cline & Haas, 2008).

Estudios anteriores sugieren que las dendritas se desarrollan inicialmente de manera no laminar, para luego establecer una especificidad laminar mediante poda. Sin embargo, observaciones *in vivo* respaldan la hipótesis sinaptotrópica, que indica que axones y dendritas se extienden hacia objetivos sinápticos específicos, consolidando el crecimiento neuronal y promoviendo una mayor elaboración del árbol neuronal (Cline & Haas, 2008). Además, la transmisión sináptica glutamatérgica y las concentraciones de calcio en las dendritas son necesarios para la dinámica y la estabilización de las ramas (Figura 3).

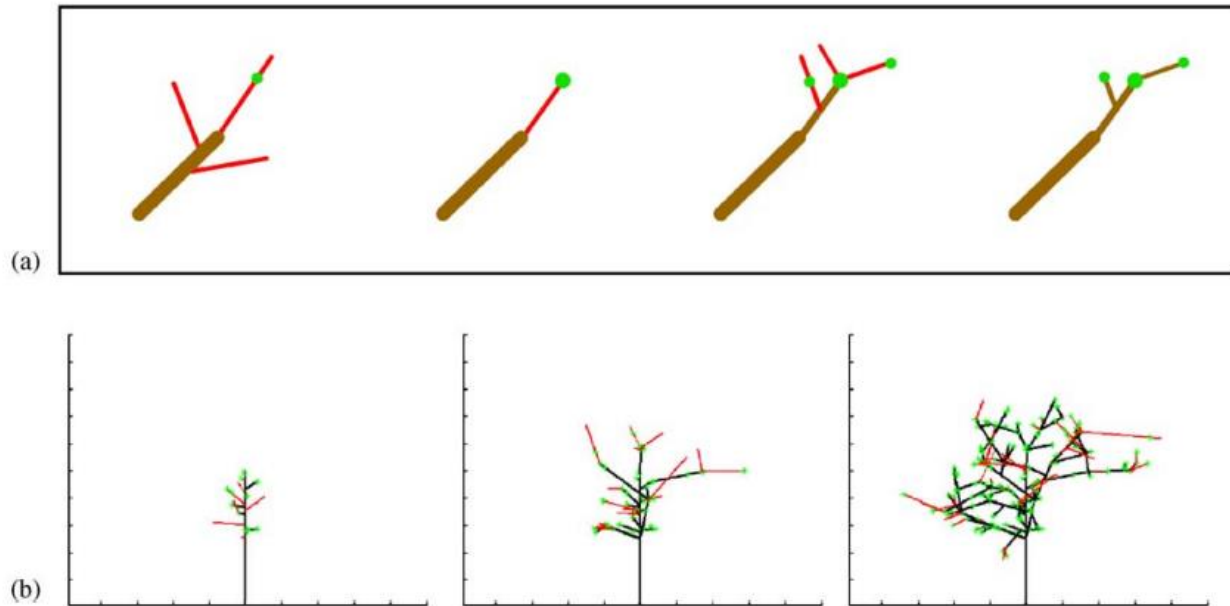


Figura 3. Crecimiento dendrítico sinaptotrópico. (a) Esquema del crecimiento de la dendrita sinaptotrópica, basado en imágenes *in vivo* del septum óptico del pez cebra. Muchos filopodios se extienden (rojo), pero solo los que establecen un contacto sináptico (verde) mantienen a las dendritas como ramas estables. (b) Secuencia de crecimiento para la simulación estocástica del crecimiento de dendrita sinaptotrópico para la formación de sinapsis espacialmente homogénea. Filopodios dinámicos en rojo, ramas estables en negro y sinapsis en verde (Tomada y modificada de Niell, 2006).

1.3.2. Espinas dendríticas

Las espinas dendríticas son microproyecciones de la membrana dendrítica que cumplen la función de componente postsináptico en la mayoría de las sinapsis excitatorias del SNC. Se localizan en neuronas tanto excitatorias como inhibitorias, abarcando desde las neuronas piramidales glutamatérgicas de la neocorteza y el hipocampo, hasta las neuronas de Purkinje y las neuronas de proyección de tamaño medio en el estriado (Calabrese, *et al.*, 2021). A pesar de que son muy heterogéneas en tamaño y forma, generalmente consisten en una pequeña cabeza ($\approx 1 \mu\text{m}$ de diámetro) conectada a la dendrita por un pequeño cuello ($\approx 0.2 \mu\text{m}$ de diámetro y de 0.5 a varias micras de largo) (Figura 4). En la cabeza de la espina dendrítica se encuentran los elementos que componen las sinapsis; la terminal postsináptica y la región denominada densidad postsináptica (DPS) (Figura 5) (Yuste, 2010). Las espinas dendríticas exhiben una marcada dinámica en cuanto a tamaño y forma (Bonhoeffer & Yuste, 2002), y se torna cada vez más evidente que la renovación integral de estas estructuras constituye un componente normal de la fisiología cerebral. La densidad de las espinas alcanza su punto

máximo durante el desarrollo tardío, cuando la plasticidad sináptica está en su apogeo, para luego reducirse hasta alcanzar un nivel relativamente estable en la edad adulta (Zhang & Benson, 2010).

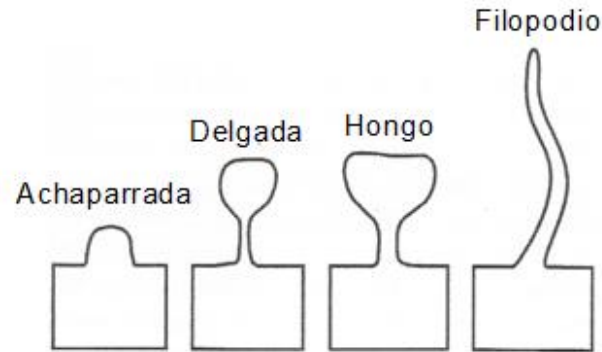


Figura 4. Subtipos morfológicos de espinas dendríticas. Dibujo esquemático de las formas de las espinas en cuatro categorías tradicionales (Tomada y modificada de Yuste, 2010).

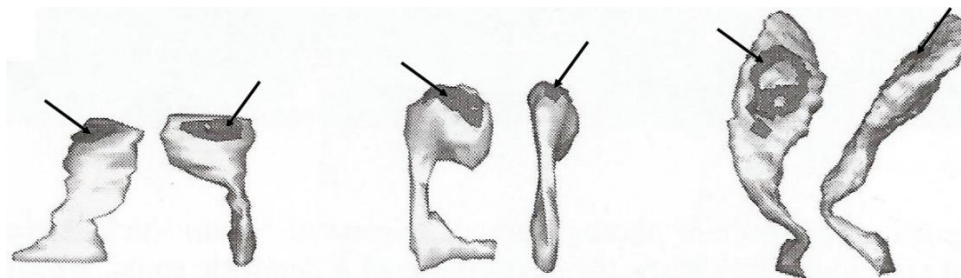


Figura 5. Reconstrucción tridimensional de las espinas dendríticas mostrando la región denominada densidad postsináptica (DPS). Áreas oscuras señaladas con la punta de las flechas = DPS (Tomada y modificada de Yuste, 2010).

En el sistema nervioso, un inadecuado evento de desarrollo neuronal puede conducir a la expresión de una morfología aberrante y/o a la alteración en el número de espinas dendríticas. Las sinapsis excitatorias se establecen en las espinas en forma de hongo que contienen una importante área DPS. Por el contrario, las sinapsis GABAérgicas inhibitorias están presentes en las dendritas sin espinas, en el cuerpo de la neurona y en los segmentos iniciales del axón, sin que se observe un engrosamiento postsináptico (Barberis, 2020).

Una característica notable de las espinas dendríticas es su capacidad para experimentar cambios de manera continua, incluso en la edad adulta. Las dendritas inmaduras o en desarrollo presentan pequeñas y finas protuberancias filamentosas sin cabeza de más de 3 μm de longitud denominados filopodios. Estas estructuras se caracterizan por presentar cambios en busca de

contactos sinápticos para posteriormente formar una espina dendrítica madura. Una vez que el filopodio realiza contacto con un elemento axonal, las modificaciones estructurales disminuyen gradualmente y se estabiliza la estructura de la espina dendrítica funcional, la cual inicialmente es delgada, larga y de cabeza pequeña (Figura 6). Las respuestas de las espinas ante los estímulos que reciba pueden ser con un aumento o con una disminución en su número total, con una redistribución a lo largo de las dendritas progenitoras o con variaciones en su tamaño o en su forma geométrica (Soria Fregozo & Pérez Vega, 2012).

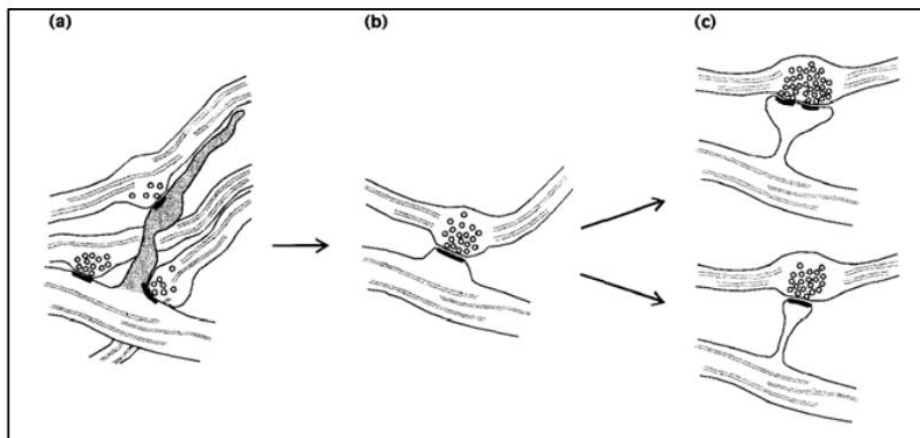


Figura 6. Desarrollo de las espinas dendríticas. a) Elongación del filopodio buscando contactos sinápticos. b) Al hacer una sinapsis el filopodio comienza a retraerse. c) Formación de la espina dendrítica madura (Imagen tomada de Harris, 1999).

1.3.3. Fisiología y mecanismos moleculares de la plasticidad neuronal

La neuroplasticidad es un fenómeno complejo que abarca varios mecanismos, integrando aspectos eléctricos, genéticos, estructurales, moleculares, bioquímicos y funcionales en un continuo en lugar de manifestarse como elementos individuales y aislados (Elluru, *et al.*, 1995).

Desde una perspectiva molecular, uno de los aspectos cruciales necesarios para llevar a cabo un cambio neuroplástico, ya sea LTP o LTD, es la concentración y manejo celular del calcio (Ca^{2+}) (van Waarde, *et al.*, 2011). Generalmente, la LTP depende de NMDAR, AMPAR y receptores kainato. Por otro lado, el proceso de LTD requiere la participación de canales de calcio de tipo L (Ca^{2+}), NMDAR y receptores metabotrópicos de glutamato (RmGlu) (Collins, *et al.*, 2005). La liberación pre-sináptica de glutamato y la despolarización neuronal post-sináptica incrementan los niveles de Ca^{2+} , lo que produce la activación de los NMDAR, RmGlu y canales

de calcio controlados por voltaje (CCCV) (Jin, *et al.*, 2015). Una vez iniciado esto, a nivel de receptores transmembranales, comienza una serie de rutas de señalización a través de proteínas quinasas y fosfatasas que inducen, mantienen o amplifican los eventos de plasticidad sináptica, involucrando en este proceso a los AMPAR. El calcio activa la proteína quinasa-2 dependiente de calmodulina-calcio (PKCCAL2), la cual fosforila la subunidad GluR1 del AMPAR. Este proceso intermedio aumenta el número de AMPAR funcionales (Raynaud, *et al.*, 2013). Cuando se libera dopamina, norepinefrina o adenosina, los receptores de dopamina D1, β -adrenérgicos y de adenosina tipo 2A utilizan proteínas G acopladas para activar a la adenilato ciclasa, induciendo así la LTP. El AMP cíclico producido activa la proteína cinasa A, que fosforila la subunidad GluR1 del AMPAR (Chowdhury, *et al.*, 2013). Es importante destacar que la capacidad para generar la LTP, varía según la red neuronal involucrada. En el hipocampo y en la corteza cerebral, la LTP depende de la presencia de PKDCCAL2, y en el caso específico del hipocampo, se requiere además la presencia de RmGlu para facilitar y consolidar la memoria como una función cognitiva superior (Parnass, *et al.*, 2010).

Una vez que las sinapsis han sido establecidas, los siguientes pasos implican garantizar la especificidad sináptica y fortalecer o debilitar las conexiones sinápticas. Estos procesos también son fundamentales para los eventos de aprendizaje y memoria (Lai, *et al.*, 2012). Para que en respuesta a las señales de entrada se pueda generar una forma de plasticidad, es imperativo contar con vías que involucren la participación de diversas clases de moléculas de adhesión y de señalización (Zhang & Benson, 2010). Entre estas moléculas se encuentran las moléculas de adhesión celular neural (NCAM), las N-caderinas, las protocadherinas, las neuroliginas con sus neuroliginas, los receptores Eph con sus ligandos efrina y moléculas secretadas extracelularmente como proteoglicanos (Washbourne, *et al.*, 2004; Takeichi & Abe, 2005). Las moléculas de andamiaje, especialmente la PSD-95, cumplen un papel crucial al reclutar complejos de señalización que incluyen reguladores de las GTPasas: RhoA, Rac y Cdc42 (Pak, *et al.*, 2001). Estas GTPasas, a su vez, controlan la polimerización y despolimerización de los filamentos de actina, que constituyen la principal base estructural para la formación de dendritas y de espinas dendríticas (Hall, 1998; Hall & Nobes, 2000; Newey, *et al.*, 2005). La extensión y velocidad de la polimerización de la actina están bajo el control de moléculas reguladoras como la profilina, la drebrina, la cofilina y la gelsolina (Figura 7) (Calabrese, *et al.*, 2021).

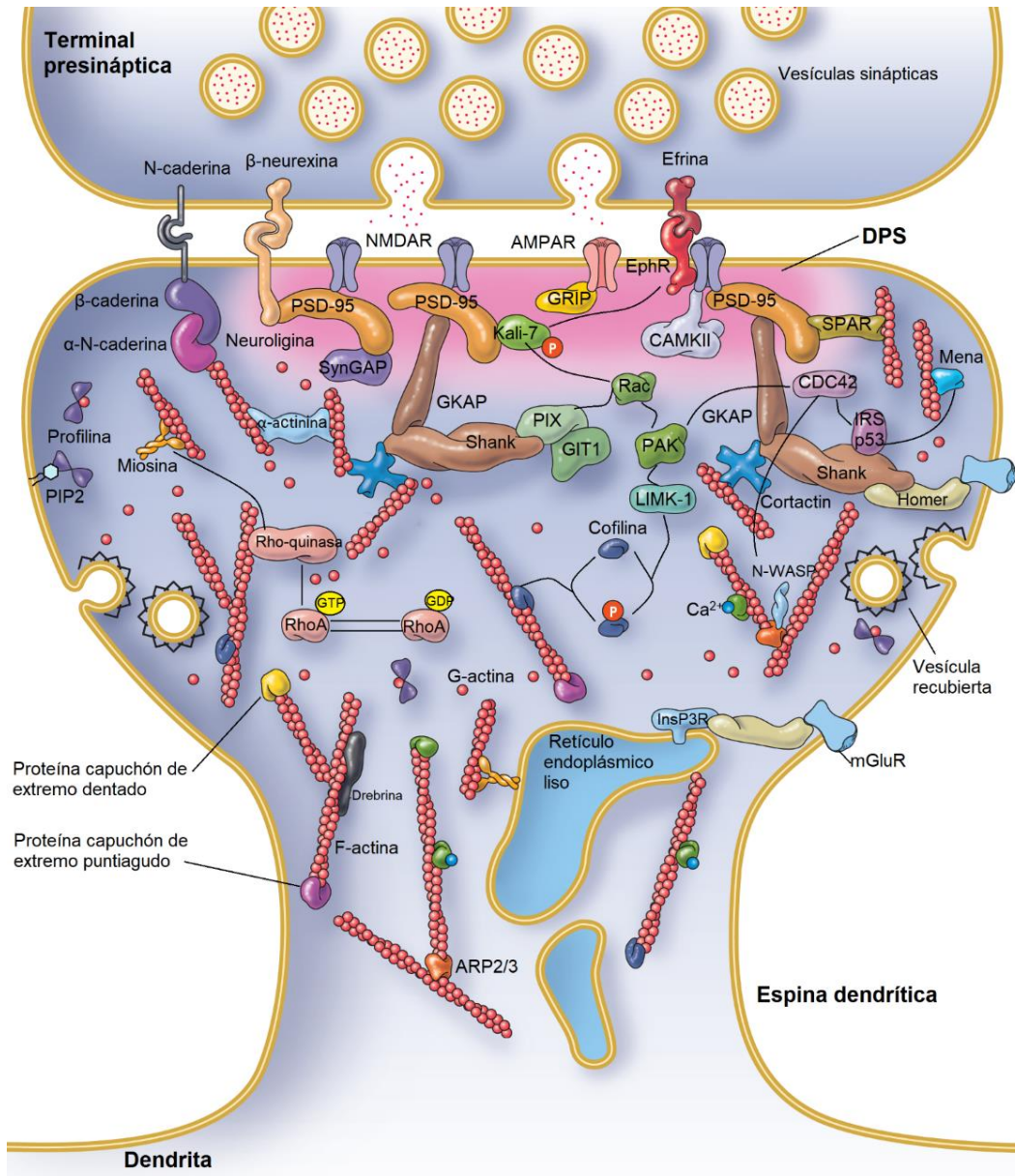


Figura 7. Algunos componentes de las espinas dendríticas involucrados en procesos de plasticidad neuronal. Se representa la terminal presináptica la cual libera las vesículas sinápticas que contienen glutamato. En el sitio opuesto, se encuentra la densidad postsináptica (DPS) (en color rosa) donde se agrupan los subtipos de AMPAR y NMDA acoplados a proteínas G. Los receptores se conectan con moléculas de andamiaje, como PSD-95, que reclutan complejos de señalización (por ejemplo, reguladores de RhoGTPasas o proteínas quinasas). A través de una red de interacciones proteicas, los filamentos de actina se conectan indirectamente con los receptores de neurotransmisores y otras proteínas transmembranales que regulan la forma y el desarrollo de la espinilla, incluyendo receptores Eph, cadherinas y neuroiginas. También se ilustran las moléculas reguladoras de actina como profilina, drebrina, cofilina y gelsolina que controlan la extensión y velocidad de la polimerización de actina. Estas, a su vez, son reguladas por cascadas de señalización mediante la interacción con los receptores transmembranales (Tomada y modificada de Calabrese, *et al.*, 2021).

1.4. Corteza prefrontal

La corteza prefrontal (PFC) se ubica en la parte rostral del cerebro, en la zona anterior de los lóbulos frontales, por delante de las áreas motora y premotora. Es considerada un área de asociación multimodal puesto que en ella se coordina la información proveniente de otras áreas cerebrales tanto corticales como subcorticales; recibe información de todas las modalidades sensoriales, se conecta con áreas premotoras, áreas motoras y con regiones límbicas. Se caracteriza por establecer proyecciones recíprocas que involucra a la PFC en una gran cantidad de procesos cognitivos, como son la memoria operativa, las funciones ejecutivas, la toma de decisiones, la planificación del comportamiento y el procesamiento de las señales emocionales (Brown & Bowman, 2002). La información procesada por la PFC es transmitida a las estructuras corticales y subcorticales a través de dichas neuronas situadas en capas profundas, fundamentalmente de la capa V (Koss *et al.*, 2014).

La PFC está subdividida en tres zonas generales: la lateral, que incluye al área insular agranular dorsal e insular ventral; la orbital, que incluye al área orbital lateral, al área ventral y al área medial, y por último, la corteza prefrontal medial (mPFC), que se divide en la región cingulada (Cg), la región prelímbica (PL) y la región infralímbica (IL) (Uylings, *et al.*, 2003).

Dentro las funciones de la mPFC está la regulación de procesos endocrinos y autonómicos, como los viceromotores, además de estar involucrada en tareas cognitivas y emocionales, como el aprendizaje emocional, también participa en la expresión verbalizada de las emociones, y en la evaluación y vinculación de estímulos externos. Asimismo, la mPFC interactúa con la corteza orbital, formando la corteza orbitomedial y relacionándose con el sistema de recompensa y la toma de decisiones comparativas (Elston, 2003).

En distintos estudios de trazado retrógrado en ratas se indica que, todas las zonas de mPFC proyectan en mayor o menor grado a distintas estructuras cerebrales. El área IL proyecta al septum lateral, al núcleo del lecho de la estría terminal, al núcleo preóptico lateral y al medial, a la sustancia innominata, al núcleo endopiriforme del cerebro anterior, a los núcleos medial, basolateral y lateral de la amígdala, al hipotálamo y a los núcleos parabraquial, y al solitario del tronco encefálico (Figura 8A), mientras que, el área PL proyecta hacia la corteza agranular insular, al tubérculo olfatorio, a los núcleos paraventricular, mediodorsal y reuniens del tálamo, a la parte capsular del núcleo central y basolateral de la amígdala y a los núcleos mediales y

dorsales del rafe (Figura 8B). De esta forma, el patrón de proyecciones de la corteza IL indica la función en el control visceral, mientras que la región PL proyecta a áreas más relacionadas con funciones cognitivas (Vertes, 2004).

1.5. Amígdala

La amígdala (AMY), es una estructura subcortical situada en la parte interna del lóbulo temporal medial (Figura 9A); dentro de sus funciones está modular la conducta relacionada con el miedo, el procesamiento de recompensas, la memoria asociada a estímulos o la memoria emocional, la diferenciación de estímulos aversivos y la coordinación de la respuesta a estímulos estresantes (Weiskrantz, 1956; Zola-Morgan, *et al.*, 1991; McGaugh, *et al.*, 1996). La AMY forma un complejo con tres regiones anatómicas funcionalmente diferentes: basolateral, que incluye al núcleo lateral, basal y basal accesorio; medial, que incluye al núcleo central, al central medial, al central lateral, al central capsular y al ventral y la parte de la amígdala incluida el núcleo basal de la estría terminal; por último, los núcleos intercalados, localizados entre la región basolateral y la región medial (Figura 9B) (Sah, *et al.*, 2003).

Como ya se mencionó la PFC envía profusas proyecciones a la región basolateral de la amígdala (a los núcleos basal y lateral) desde la región PL. Estas proyecciones recíprocas inhiben la actividad de la amígdala en respuesta a estrés y son esenciales para la regulación del procesamiento emocional (Floresco & Tse, 2007; Ekaterina, *et al.*, 2008). La región medial de la amígdala recibe proyecciones de la PFC, mayormente desde la región IL, inhibiendo la salida de información desde la amígdala y son especialmente relevantes en los procesos de extinción de la memoria emocional, en donde un recuerdo antiguo es sustituido por uno nuevo más reciente (Quirk & Beer, 2006; Rozeske, *et al.*, 2015).

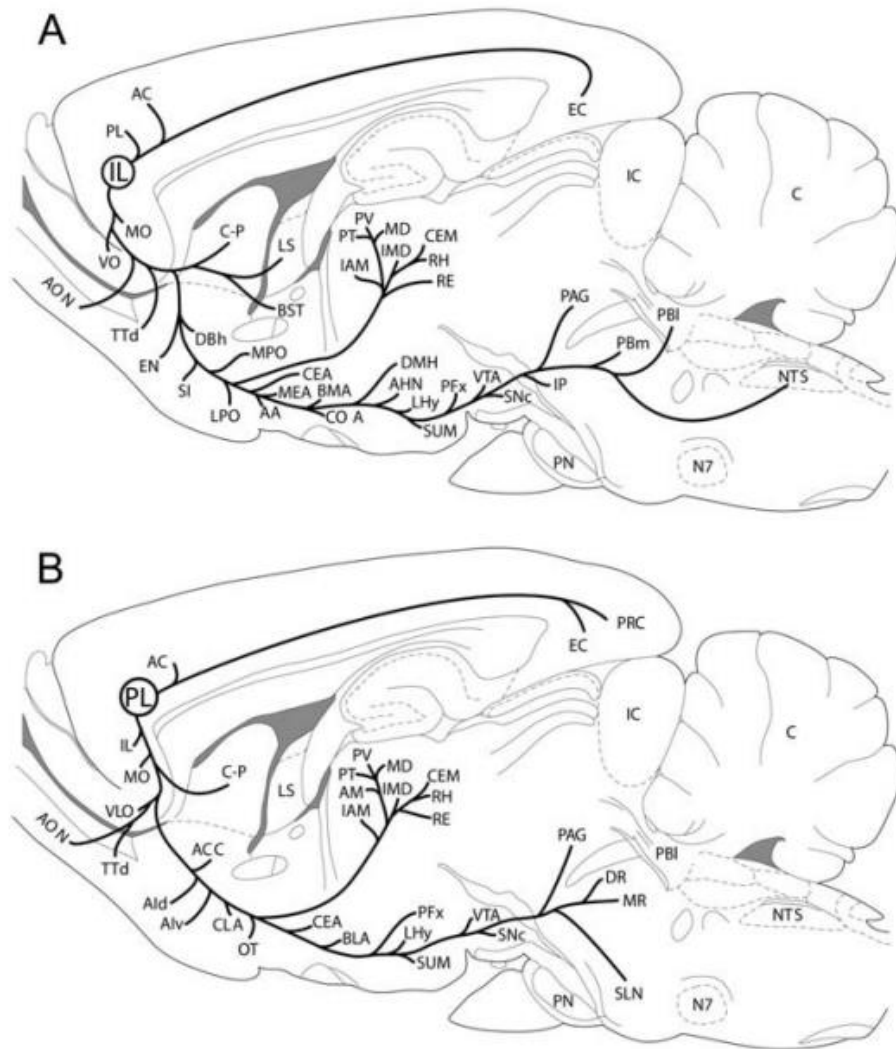


Figura 8. Esquema de proyecciones desde la corteza PL y la IL de rata. Secciones sagitales esquemáticas que resumen los principales sitios de proyección de las cortezas infralímbica (A) y prelímbica (B). Corteza prelímbica (PL); corteza infralímbica (IL); corteza orbital medial (MO); corteza orbital ventral (VO); núcleo olfatorio anterior (AON); tenia tectal dorsal (TTd); caudado-putamen (C-P); núcleo septal lateral (LS); núcleo del lecho de la estría terminal (BST); núcleo de la banda diagonal horizontal (DBh); sustancia innominata (SI); área preóptica medial (MPO); área anterior de la amígdala (AA); corteza cingulada anterior (AC); núcleo accumbens (ACC); núcleo hipotalámico anterior (AHN); divisiones de la corteza insular agranular, dorsal, posterior, ventral (AI, d, p, v); núcleo basolateral de la amígdala (BLA); núcleo basomedial de la amígdala (BMA); cerebelo (C); núcleo central de la amígdala (CEA); núcleo medial central del tálamo (CEM); claustrum (CLA); núcleo cortical de la amígdala (COA); núcleo dorsomedial del hipotálamo (DMH); núcleo del rafé dorsal (DR); corteza entorrinal (EC); núcleo interanteromedial del tálamo (IAM); colículo inferior (IC); núcleo interpeduncular (IP); núcleo intermediodorsal del tálamo (EMI); área hipotalámica lateral (LHy); núcleo lateral posterior del tálamo (LP); área preóptica lateral (LPO); núcleo septal lateral (LS); núcleo mediodorsal del tálamo (MD); núcleo medial de la amígdala (MEA); núcleo del rafé mediano (MR); núcleo del tracto solitario (NTS); núcleo facial (N7); corteza occipital (OC); tubérculo olfatorio (OT); sustancia gris periacueductal, división ventral (PAGv); núcleo parabraquial medial y partes laterales (PB, m, l); región perifornical del hipotálamo (PFX); núcleo de la protuberancia (NP); corteza perirrinal (PRC); núcleo paratenial del tálamo (PT); núcleo paraventricular del tálamo (PV); núcleo reuniens del tálamo (RE); núcleo romboidal del tálamo (RH); sustancia negra pars compacta y pars reticulata (SN,c,r); núcleo supramamilar (SUM); corteza orbital lateral (VLO); área tegmental ventral (VTA) (Vertes, 2004).

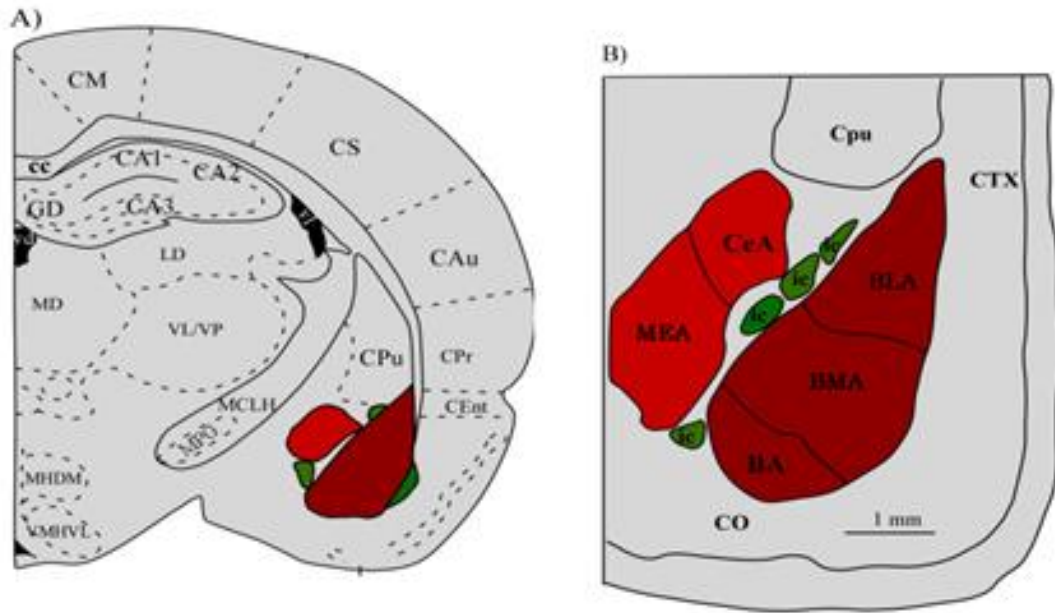


Figura 9. Esquema de la localización y estructura de la amígdala de rata. A) Sección coronal unilateral; B) Ampliación sobre el lóbulo temporal. En el esquema se muestra en marrón la región basolateral compuesta por los núcleos lateral (BLA), basal (BMA) y basal accesorio (BA). En rojo, la región medial con los núcleos central (CeA) y medial (MEA) y en verde los núcleos intercalados (ic) (Sah, *et al.*, 2003).

1.6. Neuronas piramidales

Las neuronas piramidales son un subtipo de neuronas multipolares, cuya principal característica es que sus cuerpos celulares o somas presentan la forma de una pirámide triangular. Están presentes en prácticamente todos los mamíferos que se han estudiado, así como también en aves, peces y reptiles; esto indica que su existencia en el SNC tiene un valor adaptativo para el organismo y que sus funciones centrales se han conservado incluso cuando evolucionaron para asumir funciones especializadas. Las neuronas piramidales son las más abundantes en el cerebro humano, se estima que representan del 70 al 80% de la población neuronal total. Se localizan en la corteza cerebral, en cinco de las seis capas corticales (II – VI); así como en algunas estructuras subcorticales, como el giro cingular, el hipocampo y la amígdala, por lo tanto, se sugiere que se encuentran principalmente en estructuras asociadas con funciones cognitivas avanzadas. Por lo general, son consideradas neuronas de proyección, es decir, actúan enviando mensajes a células alejadas y separadas del área donde se encuentran sus somas (Marín-Padilla, 2014). Fisiológicamente, todas las neuronas piramidales actúan como neuronas excitatorias de tipo glutamatérgico; pero morfológicamente son muy heterogéneas,

de tal forma que se distinguen subpoblaciones muy diversas, que muestran variaciones considerables entre las diferentes áreas cerebrales e incluso entre las distintas capas corticales (Spruston, 2008).

Las neuronas piramidales tienen dos regiones bien diferenciadas, las dendritas basales que forman el árbol basilar y que surgen desde la base del soma y las dendritas apicales que dan origen al árbol apical y que se proyectan desde el ápice del soma. Todas las neuronas piramidales tienen varias dendritas basales relativamente cortas y una gran dendrita apical que conecta al soma con un penacho de dendritas. Pero típicamente, en la corteza cerebral se encuentran neuronas piramidales con abundantes dendritas basales, relativamente cortas y delgadas y una dendrita apical que emana del ápice del soma y se ramifica profusamente en dendritas secundarias más cortas (Figura 10A). Mientras que en la amígdala se encuentran dos tipos de neuronas piramidales diferentes: tipo I, con numerosas dendritas delgadas y cortas (Figura 10B); tipo II, con dendritas basales alargadas y delgadas y con una o dos dendritas apicales más gruesas (apical simple y apical doble) (Figura 10C).

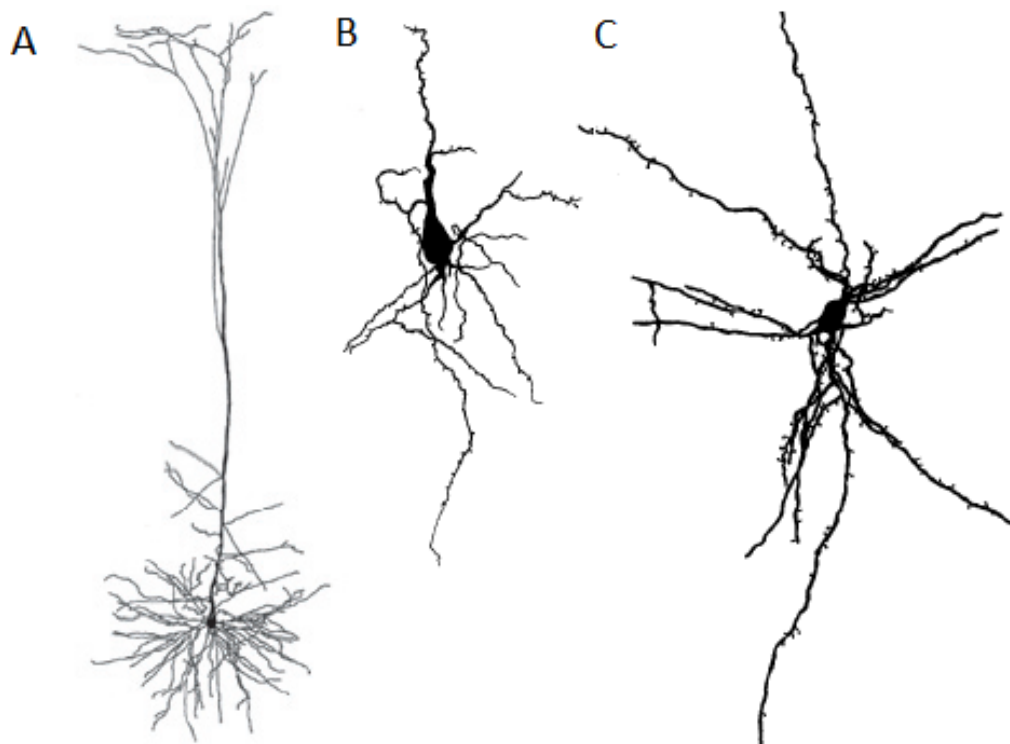


Figura 10. Representación esquemática de la diversidad morfológica de las neuronas piramidales de cerebro humano adulto. A) Neuronas piramidales corticales. B) Neuronas piramidales del núcleo basolateral de la amígdala Tipo I y C) Tipo II (Tosevski, 2002).

1.7. Pubertad y adolescencia

La pubertad y la adolescencia a menudo se usan como sinónimos para referirse a la transición del desarrollo de la niñez a la edad adulta, sin embargo, no son lo mismo. La pubertad es el período durante el cual un individuo se vuelve capaz de reproducirse sexualmente, mientras que la adolescencia es el período entre la niñez y la edad adulta, que abarca no solo la maduración reproductiva, sino también la maduración cognitiva, emocional y social (Sisk & Zehr, 2005). Una característica biológica de la pubertad es la secreción elevada de hormonas esteroides gonadales, que producen signos evidentes de maduración reproductiva, como la maduración de órganos reproductores (Bronson & Rissman, 1986). Un sello biológico de la adolescencia es la notable remodelación de los circuitos corticales y límbicos, que conduce a la adquisición de la cognición adulta, las estrategias de toma de decisiones y los comportamientos sociales (Koss, *et al.*, 2014).

La maduración puberal del eje hipotálamo-pituitario-gonadal (HPG) comienza con la activación de las neuronas que secretan la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH). Durante el período prepuberal, la GnRH se empieza a secretar, pero su concentración es baja e insuficiente para apoyar el crecimiento gonadal; mientras que en el inicio de la pubertad hay un aumento gradual en la frecuencia y en la concentración de los episodios intermitentes de liberación de GnRH (Ebling & Cronin, 2000). La GnRH dirige la síntesis y la secreción de las gonadotropinas hipofisarias, la hormona luteinizante y la hormona estimulante del folículo, que actúan en conjunto para estimular la producción de hormonas esteroides gonadales y para completar el proceso de desarrollo de espermatozoides y óvulos. Los niveles elevados de andrógenos y estrógenos dan como resultado la aparición de características sexuales secundarias en los tejidos periféricos (Sisk & Foster, 2004).

La pubertad está cronometrada proximalmente por estímulos internos y externos que sirven como señales permisivas para la maduración reproductiva. Estas señales permisivas varían según la especie y el sexo, y brindan información sobre la disponibilidad de los recursos necesarios para una reproducción exitosa. Por ejemplo, las señales metabólicas internas como la insulina, la glucosa y la leptina indican que el crecimiento somático y la disponibilidad de procesos metabólicos suficientes para apoyar el embarazo y la lactancia. Las señales sensoriales y sociales brindan información sobre la disponibilidad de una pareja adecuada. Las

señales externas, como el fotoperíodo y la disponibilidad de alimentos, señalan si las condiciones ambientales son óptimas para apoyar el embarazo y la supervivencia de la descendencia. El SNC detecta, evalúa e integra estos múltiples estímulos permisivos para determinar cuándo procederá la activación puberal del sistema HPG (Holder & Blaustein, 2014).

En relación con la madurez sexual de las ratas de laboratorio, generalmente se define a partir de la apertura vaginal y la primera ovulación en las hembras y por la separación balanoprepucial y los primeros espermatozoides que se ven en la luz de los túbulos seminíferos en los machos. Estos eventos en la mayoría de las cepas de ratas hembra de laboratorio, ocurre de los 35 a los 45 días de edad, pero en los machos la pubertad ocurre más tarde, alrededor de los 40 a los 45 días de edad (Ojeda & Skinner, 2006). En las ratas hembra de la cepa Long Evans se ha determinado la pubertad alrededor de los 42 días de edad (Puga y Colmenares, *et al.*, 2021) y alrededor de los 49 días de edad en los machos (Fuochi, *et al.*, 2022). En cuanto a la cepa Zucker *fa/fa* se sabe que las hembras alcanzan la pubertad el día 43 postnatal (Puga y Colmenares, *et al.*, 2021).

1.7.1. Eventos neuronales peri-puberales

La remodelación del cerebro durante la pubertad y la adolescencia se logra a través de muchos de los mismos mecanismos que se utilizan para formar circuitos neuronales funcionales durante el desarrollo temprano del cerebro (Mrzljak, *et al.*, 1990). Estos mecanismos incluyen neurogénesis, apoptosis, crecimiento de las proyecciones axónicas y brote de axones, mielinización, elaboración y retracción de las dendritas, sinaptogénesis y eliminación de sinapsis, lo que resulta en modificaciones de la morfología general del cerebro, como la cantidad de materia gris y de materia blanca y los volúmenes ventriculares. Estos cambios estructurales en el cerebro son específicos del sexo y de la región cerebral, y pueden o no estar influidos por las hormonas esteroides gonadales (Sisk & Zehr, 2005). En ratas Long-Evans, se observa un aumento en la longitud dendrítica y la densidad de espinas dendríticas en las neuronas piramidales de BLA y la capa V de mPFC durante las etapas juveniles (20 días) y adolescentes (35 días). Sin embargo, entre los 35 y 90 días, las espinas dendríticas disminuyen significativamente en las neuronas de mPFC, y en la BLN solo aumenta el número de ramas sin cambiar la longitud total del árbol dendrítico. Estos resultados muestran que el árbol

dendrítico crece antes de la pubertad, mientras que la remodelación y la poda dendrítica ocurren después de la pubertad en ambas áreas cerebrales (Koss, *et al.*, 2014).

Es otros estudios también se han observado algunos dimorfismos sexuales en el volumen de la materia gris que surgen durante la adolescencia, por ejemplo:

- El volumen del locus coeruleus es mayor en las hembras que en los machos. Esta diferencia sexual surge a lo largo del desarrollo de la adolescencia a través de un aumento gradual en el número de células que es mayor y más sostenido en las mujeres que en los hombres. Esta adición de células en las hembras puede reflejar una diferencia de sexo en la neurogénesis peripuberal en el locus coeruleus (Pinos, *et al.*, 2001).
- En el núcleo periventricular anteroventral (AVPV) también se ha visto un agrandamiento gradual durante el desarrollo adolescente en las hembras, el cual coincide con cambios funcionales en la capacidad preovulatoria de LH durante la pubertad. No se sabe si la diferencia de sexo en el volumen de AVPV se debe a diferencias en el número de células, en el tamaño de las células, en las conexiones dendríticas o en alguna otra característica estructural de las neuronas de AVPV, sin embargo, se considera que no está impulsado por las hormonas gonadales puberales, ya que la ovariectomía prepuberal no evita que surja la diferencia sexual durante la adolescencia (Davis, *et al.*, 1996).
- En el volumen de la corteza visual primaria se presenta un sesgo masculino. Esta diferencia sexual se produce como resultado de una mayor muerte celular en la corteza visual femenina durante el desarrollo adolescente. Esta diferencia está impulsada por las hormonas puberales, dado que la ovariectomía prepuberal previene la muerte celular que ocurre normalmente y elimina la diferencia sexual en el número y volumen de células adultas (Nuñez, *et al.*, 2002).

Además de los cambios en las características morfológicas generales, como en el volumen de la materia gris y en el número de células, la remodelación adolescente de las regiones corticales y subcorticales también implica cambios en la organización sináptica tanto a nivel presináptico como postsináptico. Se ha documentado que, en el cuerpo estriado y en la corteza prefrontal de rata, los receptores de dopamina se encuentran sobre expresados durante el inicio de la adolescencia temprana y luego se reducen más tarde en la adolescencia. Por el contrario, los receptores de dopamina en el núcleo accumbens aumentan alrededor del inicio de la pubertad,

pero no se reducen y permanecen elevados durante el desarrollo de la adolescencia hasta la edad adulta. La sobreexpresión y la poda posterior de los receptores de dopamina son más pronunciados en organismos machos que en hembras, pero ningún proceso depende de las hormonas gonadales puberales, ya que la gonadectomía prepuberal no altera el patrón dinámico de expresión del receptor de dopamina (Teicher & Hostetter, 1995; Andersen, *et al.*, 1997). En la corteza prefrontal medial, hay un aumento progresivo en la densidad aferente desde la amígdala basolateral, que puede reflejar tanto el brote axonal de las neuronas de proyección ya existentes como proyecciones nuevas (Cunningham & Benes, 2002).

En el hipocampo de ratones macho, la densidad de las espinas dendríticas aumenta al inicio de la pubertad y luego disminuye durante la pubertad tardía, un patrón de desarrollo que se previene mediante la gonadectomía antes de la pubertad. Mientras que en el área preóptica de la rata hembra peri-puberal, la densidad de espinas dendríticas aumenta, pero disminuye la ramificación dendrítica, alrededor del momento de la apertura vaginal (Anderson, 1982).

Finalmente, en la médula espinal, las dendritas del núcleo espinal del bulbocavernoso se elaboran durante el primer mes de vida posnatal y luego se retraen durante la adolescencia. La retracción dendrítica es un evento independiente de los esteroides, ya que ocurre en ratas gonadectomizadas al comienzo del desarrollo puberal (Goldstein & Sengelau, 1990).

2. Justificación

La obesidad es un trastorno metabólico que a la fecha se ha relacionado con múltiples patologías en el ser humano. De acuerdo con esto, se han realizado numerosos estudios para conocer el efecto de esta enfermedad en la fisiología de distintos órganos y sistemas, no obstante, es poca la información que se tiene respecto de si la obesidad promueve alteraciones en la morfología neuronal que pudieran repercutir en déficits cognitivos o emocionales. De manera general, los estudios se han realizado en modelos animales adultos, por lo que los hallazgos podrían en algún momento dado, explicar las complicaciones que genera la obesidad en humanos adultos, no obstante, al ser México un país en donde existe una alta tasa de obesidad entre niños y adolescentes es relevante tener información respecto del efecto de la obesidad en individuos de corta edad, ya que, alrededor de la pubertad, existe un periodo crítico

de maduración neuronal, en el cual, los fenómenos de arborización y retracción dendrítica promueven el establecimiento de circuitos neuronales funcionales, con los cuales los individuos van a contar a lo largo de su vida. Por tanto, fue de interés para el presente estudio, evaluar las posibles alteraciones de neurodesarrollo del sistema límbico.

3. Hipótesis

La obesidad genética de las ratas hembra y macho Zucker *fa/fa* prepúberes y postpúberes promueve alteraciones en la arborización dendrítica la corteza media prefrontal y de la amígdala basolateral.

4. Objetivo general

Analizar la arborización dendrítica de las neuronas piramidales de corteza media prefrontal y de la región basolateral de la amígdala durante el periodo crítico de neurodesarrollo peripuberal en el modelo de obesidad genética (ratas Zucker *fa/fa* hembras y machos).

5. Objetivos particulares

- I. Examinar las concentraciones séricas de estradiol y testosterona en las ratas Zucker *fa/fa* prepúberes y postpúberes: estradiol en las ratas hembra y testosterona en las ratas macho.
- II. Examinar los parámetros zoométricos: peso, talla y circunferencia abdominal de las ratas Zucker *fa/fa* prepúberes y postpúberes hembras y machos.
- III. Calcular el Índice de obesidad de Lee de las ratas Zucker *fa/fa* prepúberes y postpúberes hembras y machos.
- IV. Medir los niveles séricos de glucosa, colesterol total y triglicéridos de las ratas Zucker *fa/fa* prepúberes y postpúberes hembras y machos.
- V. Medir los niveles séricos de corticosterona de las ratas Zucker *fa/fa* prepúberes y postpúberes hembras y machos.

- VI. Analizar la arborización, la longitud total y la densidad de espinas dendríticas de las neuronas de corteza media prefrontal de ratas Zucker *fa/fa* prepúberes y postpúberes hembras y machos.
- VII. Analizar la arborización, la longitud total y la densidad de espinas dendríticas de las neuronas de la amígdala basolateral de ratas Zucker *fa/fa* prepúberes y postpúberes hembras y machos.

6. Material y métodos



Figura 11. Diagrama general del trabajo experimental.

6.1. Material biológico

Se utilizaron 12 ratas Long Evans (LE) prepúberes: 6 hembras de 30 días de edad y 6 machos de 35 días de edad; 12 ratas de la cepa Zucker *fa/fa* prepúberes: 6 hembras de 30 días de edad y 6 machos de 35 días de edad; 12 ratas Long Evans postpúberes de 60 días de edad, 6 machos y 6 hembras y 12 Zucker *fa/fa* postpúberes de 60 días de edad, 6 machos y 6 hembras. Todas las ratas se obtuvieron del Bioterio Claude Bernard de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP) y se mantuvieron con ciclos de luz-oscuridad de 12 horas con acceso a alimento y agua *ad libitum*. Todos los procedimientos de este estudio se realizaron de acuerdo con las normas técnicas para la producción, cuidado y uso de animales en el laboratorio expedido por SAGARPA México (NOM 062 ZOO-1999) y de acuerdo con el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Los animales estuvieron bajo supervisión continua por parte del Dr. Francisco Ramos Collazo.

6.2. Evaluación la maduración sexual externa

De acuerdo con el grupo experimental, se procedió a evaluar la maduración sexual externa, el día correspondiente se observó la apertura vaginal en hembras o la separación balanoprepucial en machos respectivamente (Lewis, *et al.*, 2002) (Tabla 1).

6.3. Eutanasia

Posteriormente, las ratas fueron anestesiadas con una solución de Xilazina/Ketamina al 10% considerando la dosis de 0.20 ml/100 gr de peso corporal y la administración del anestésico vía intraperitoneal. Inmediatamente después, se recolecto 1 ml de sangre directamente del corazón, el cual, una vez terminada la recolección de tejido nervioso de las ratas, se centrifugó a 3000 rpm por 15 minutos para obtener el suero, el cual fue congelado a -70°C hasta su procesamiento.

	Edad prepúber (días)	Edad postpúber (días)
Hembras LE	30	60
Hembras Zucker <i>fa/fa</i>		
Machos LE	35	
Machos Zucker <i>fa/fa</i>		

Tabla 1. Determinación de la edad prepúber y postpúber. Edad prepúber antes de la apertura vaginal en hembras, en machos antes de la separación del balanoprepucial. Edad postpúberes en hembras después de la apertura vaginal, en machos después de la separación del balanoprepucial.

6.4. Evaluación de la maduración sexual hormonal

6.4.1. Ensayo para medir la concentración de estradiol en las ratas hembra

Para determinar la maduración sexual mediante hormonas, se midieron los niveles en suero de estradiol (E2) en las ratas hembra. Esta medición se llevó a cabo utilizando el kit ELISA de la marca Cayman (No. de catalogo: 501890) y de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El ensayo se basa en la competencia entre el estradiol nativo y un conjugado de estradiol-acetilcolinesterasa (AChE) por una cantidad limitada de antisuero de estradiol. Debido a que la concentración de estradiol AChE se mantiene constante, mientras que la concentración de estradiol varía, la cantidad de AChE que puede unirse al antisuero de estradiol será inversamente proporcional a la concentración de estradiol o en el pozo. El complejo de anticuerpo monoclonal de ratón anti-IgG de conejo se encuentra adherido previamente al pocillo. La placa se lava para eliminar los reactivos no unidos y se añade al pocillo el reactivo de Ellman (que contiene el sustrato de la AChE). El producto de esta reacción enzimática tiene un color amarillo distintivo que absorbe fuertemente a 414 nm. La intensidad de este color determinada espectrofotométricamente es proporcional a la cantidad de estradiol AChE unido al pocillo, que es inversamente proporcional a la cantidad de estradiol nativo presente en el pocillo durante la incubación.

6.4.2. Ensayo para medir la concentración de testosterona en ratas macho

También se evaluó la etapa de desarrollo sexual de las ratas macho mediante la medición de los niveles de testosterona (T) en suero. Se utilizó el kit ELISA de la marca Cayman (No. de catalogo: 582701) y de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Este ensayo se basa en la competencia entre la testosterona y un conjugado de testosterona-acetilcolinesterasa (AChE) por una cantidad limitada de antisuero de estradiol. Debido a que la concentración de testosterona AChE se mantiene constante, mientras que la concentración de testosterona varía, la cantidad de AChE que puede unirse al antisuero de testosterona será inversamente proporcional a la concentración de testosterona en el pozo. El complejo de anticuerpo monoclonal de ratón anti-IgG de conejo se ha adherido previamente al pocillo. La placa se lava para eliminar los reactivos no unidos y se añade al pocillo el reactivo de Ellman (que contiene

el sustrato de la AChE). El producto de esta reacción enzimática tiene un color amarillo distintivo y se absorbe fuertemente a 405 nm. La intensidad de este color determinada espectrofotométricamente es proporcional a la cantidad de testosterona AChE unido al pocillo, que es inversamente proporcional a la cantidad de testosterona presente en el pocillo durante la incubación.

6.5. Determinación del fenotipo obeso

6.5.1. Medidas zoométricas

Para determinar las características de obesidad de la rata Zucker *fa/fa*, se obtuvieron las medidas zoométricas de cada animal, peso (gr), talla (cm) y circunferencia abdominal (cm) bajo condiciones de anestesia profunda; además se calculó el índice de obesidad de Lee (Lee, 1929; Novelli, *et al.*, 2007; Arika, 2019) mediante la siguiente formula:

$$\text{Índice de Lee} = \frac{\sqrt[3]{\text{peso (g)}}}{\text{talla (cm)}}$$

6.5.2. Ensayo para medir los niveles de glucosa en suero

Se cuantificaron los niveles de glucosa (GLU) en suero, utilizando el kit de química clínica marca MEXLAB (Cod. 8001900) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La glucosa se determinó con el reactivo enzimático que contiene una mezcla de las enzimas Glucosa Oxidasa (GOD) y Peroxidasa (POD). En la primera etapa la glucosa es oxidada a ácido glucónico por la acción de la enzima GOD, liberándose como producto H₂O₂, el cual en una reacción mediada por la enzima POD que reacciona con el ácido p-hidroxibenzoico y 4-aminoantipirina produciéndose un compuesto coloreado con un máximo de absorción de 505 nm. La intensidad del color de la reacción es proporcional a la cantidad de glucosa presente en la muestra. Se mezcló 0.01 ml de la muestra de suero, de cada rata por separado, con 1 ml del reactivo enzimático y se incubó durante 5 minutos a temperatura ambiente (20° a 25°C). Asimismo, para la solución estándar, se mezcló 1 ml del reactivo enzimático con 0.01 ml de calibrador sérico

VALTROL-C, que contiene 200 mg/dl de glucosa. Por último, se calculó la concentración de glucosa de las muestras mediante las siguientes formulas:

$$Factor = \frac{Concentración\ calibrador}{Abs.\ calibrador}$$

$$Glucosa\ (mg/dl) = factor * absorbancia\ de\ la\ muestra$$

6.5.3. Ensayo para medir los niveles de colesterol

Se cuantificaron los niveles de colesterol total (CT) en suero, utilizando el kit de química clínica marca MEXLAB (Cod. 8001215) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El colesterol se determinó por acción de las enzimas colesterol éster hidrolasa y colesterol oxidasa. La primera libera el colesterol de los ésteres de colesterol y la segunda oxida el colesterol libre produciéndose peróxido de hidrógeno, el cual en presencia de la enzima peroxidasa reacciona con el sistema cromogénico dando origen a un compuesto coloreado que absorbe a 505 nm. Se mezcló 0.01 ml de la muestra de suero, de cada rata por separado, con 1 ml del reactivo enzimático y se incubó por 20 minutos a temperatura ambiente (>20°C). Asimismo, para la solución estándar, se mezcló 1 ml del reactivo enzimático con 0.01 ml de calibrador sérico VALTROL-C, que contiene 200 mg/dl de colesterol. Por último, se calculó la concentración de colesterol de las muestras mediante las siguientes formulas:

$$Factor = \frac{Concentración\ calibrador}{Abs.\ calibrador}$$

$$Colesterol\ total\ (mg/dl) = factor * absorbancia\ de\ la\ muestra$$

6.5.4. Ensayo para medir los niveles de triglicéridos

Los niveles de triglicéridos (TRG) se cuantificaron utilizando el kit de química clínica marca MEXLAB (Cod. 8001900) siguiendo las instrucciones del fabricante. Para determinar los niveles de triglicéridos, las moléculas fueron hidrolizadas por una lipasa específica liberando ácidos grasos y glicerol. El glicerol es fosforilado por la enzima gliceroquinasa y posteriormente, el glicerol-1-fosfato es oxidado a dihidroxiacetona fosfato por la enzima glicerol-fosfato oxidasa,

generándose peróxido de hidrógeno. Posteriormente, en una reacción del tipo Trinder, el peróxido de hidrógeno reacciona con 4-aminoantipirina y el ácido 3,5-dicloro-2-hidroxibencensulfónico para producir por medio de la enzima peroxidasa un compuesto coloreado en cantidad proporcional a la concentración de los triglicéridos presentes en la muestra, midiéndose la absorbancia a 520 nm. Se mezcló 0.01 ml de la muestra de suero, de cada rata por separado, con 1 ml del reactivo enzimático y se incubaron durante 5 minutos a temperatura ambiente (20° a 25°C). Asimismo, para la solución estándar, se mezcló 1 ml del reactivo enzimático con 0.01 ml de calibrador sérico VALTROL-C, que contiene 200 mg/dl de triglicéridos. Por último, se calculó la concentración de triglicéridos de las muestras mediante las siguientes formulas:

$$Factor = \frac{Concentración\ calibrador}{Abs.\ calibrador}$$

$$Triglicéridos\ (mg/dl) = factor * absorbancia\ de\ la\ muestra$$

6.6. Ensayo para medir la concentración de corticosterona en suero

Para medir los niveles séricos de corticosterona (Cort) se utilizó el kit ELISA de la marca Parameter™ (No. de catalogo: KGE009) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Este ensayo se basa en la técnica de unión competitiva. Un anticuerpo policlonal específico para la corticosterona se une al anticuerpo anti-oveja de burro recubierto en la microplaca. Después de un lavado para eliminar el exceso de anticuerpo policlonal, la corticosterona presente en una muestra compete con una cantidad fija de corticosterona marcada con peroxidasa de rábano picante por sitios en el anticuerpo policlonal. Esto es seguido por otro lavado para eliminar el exceso de conjugado y muestra no unida. Se agrega una solución de sustrato a los pocillos para determinar la actividad enzimática unida. El desarrollo del color se detiene y la absorbancia se lee a 450 nm. La intensidad del color es inversamente proporcional a la concentración de corticosterona en la muestra.

6.7. Tinción de Golgi-Cox

Aun en condiciones de anestesia profunda, las ratas fueron perfundidas intracardialmente con solución salina al 0.9% para eliminar el exceso de sangre del cerebro. Los cerebros fueron removidos y almacenados con solución de Golgi-Cox (Gibb & Kolb, 1998) en la cual permanecieron durante 14 días en total oscuridad, luego se reemplazó esa solución con solución de sacarosa al 30% durante 3 días antes de ser seccionados. Usando un vibratomo semiautomático (*Leica*), se obtuvieron cortes coronales de 200 μm de espesor al nivel de corteza media prefrontal (de 4.70 a 2.20 mm respecto de Bregma; ver anexo) y de amígdala basolateral (de -1.80 a -3.30 mm respecto de Bregma; ver anexo) (Paxinos & Watson, 1997); los cortes histológicos fueron montados en portaobjetos gelatinizados (2%) y se mantuvieron en una cámara húmeda durante toda una noche. Al día siguiente, las laminillas fueron incubadas durante 30 min en hidróxido de amonio, enjuagados y nuevamente incubados durante 30 min en fijador rápido Kodak (Kodak, México). Inmediatamente después, el tejido se lavó y se deshidrató utilizando soluciones de alcoholes ascendentes y xileno. Inmediatamente, los cortes fueron fijados con resina sintética (Entellan) y dos días después o hasta que la resina estuvo seca, fueron analizados con microscopía óptica.

6.8. Análisis morfológico

Se seleccionaron 10 neuronas de corteza media prefrontal y 10 neuronas de amígdala basolateral de cada cerebro (5 del hemisferio derecho y 5 del hemisferio izquierdo respectivamente) de acuerdo con las coordenadas estereotáxicas que se muestran en el anexo. Los criterios de selección de las neuronas incluidas en el análisis fueron: 1) neurona con soma típico piramidal, 2) tinción óptima y 3) árboles dendríticos completos que no tuvieran daño aparente. Estas neuronas se dibujaron a una amplificación de 400X utilizando una cámara lúcida adaptada a un microscopio DML 1000 *Leica*. Los árboles basilares y apicales se analizaron por separado; mediante análisis de Sholl se analizó la arborización dendrítica, brevemente, se colocó sobre el dibujo una lámina transparente de círculos concéntricos equidistantes (10 μm) y se contaron las intersecciones dendríticas por círculo concéntrico para estimar la arborización. A partir de estos datos, se calculó la longitud dendrítica total, que se refiere a la suma de todas las intersecciones dendríticas y por orden de ramificación (Silva-

Gómez *et al.*, 2003; Flores *et al.*, 2005). Además, se dibujaron segmentos dendríticos de tercer orden con un aumento de 1000X para calcular la densidad de las espinas dendríticas, que es el número de espinas dendríticas con relación a una longitud dendrítica de 10 μm (sin importar el tipo de espina dendrítica).

6.9. Análisis estadístico

Todos los datos obtenidos fueron sometidos a pruebas de normalidad. Los datos de las pruebas bioquímicas y las medidas zoométricas fueron analizados mediante una ANOVA de dos vías y una prueba *post hoc* de Tukey considerando la cepa y la edad como medidas independientes. El valor promedio de longitud dendrítica y de la densidad de espinas dendríticas de cada región cerebral y de cada animal se contó como medida única para el análisis de datos. Los datos sobre la longitud dendrítica total y la densidad de espinas dendríticas fueron analizados mediante una prueba de ANOVA de dos vías y una prueba *post hoc* de Tukey. Por último, los datos del orden de ramificación y de arborización dendrítica fueron analizados mediante un ANOVA de dos vías y una prueba *post hoc* de Tukey considerando el orden de ramificación o el círculo concéntrico según corresponda y la cepa del grupo experimental como medidas independientes. Para todos los análisis se utilizó el software Graph Pad 8.0.

7. Resultados

7.1. Concentraciones de estradiol y testosterona

Las ratas hembra LE postpúberes tienen un incremento en las concentraciones de estradiol (E2) comparado con las ratas LE hembras prepúber. Asimismo, las ratas hembra Zucker *fa/fa*, mostraron un aumento significativo en las concentraciones de estradiol, en comparación con las ratas hembra Long Evans (LE), esta diferencia se presenta tanto en el grupo prepúber, como en el grupo postpúber (Figura 12 A; Interacción: $F_{(1, 12)} = 0.083$, $P=0.7779$; Edad: $F_{(1, 12)} = 16.24$, $P=0.0017$; Cepa: $F_{(1, 12)} = 28.84$, $P=0.0002$). En cuanto a las concentraciones de testosterona (T) en los machos, no se observaron diferencias entre los machos Zucker *fa/fa* y los machos LE

ni por la edad (Figura 12 B; Interacción: $F_{(1, 12)} = 0.0013$, $P=0.9718$; Edad: $F_{(1, 12)} = 0.0992$, $P=0.7582$; Cepa: $F_{(1, 12)} = 10.04$, $P=0.0081$).

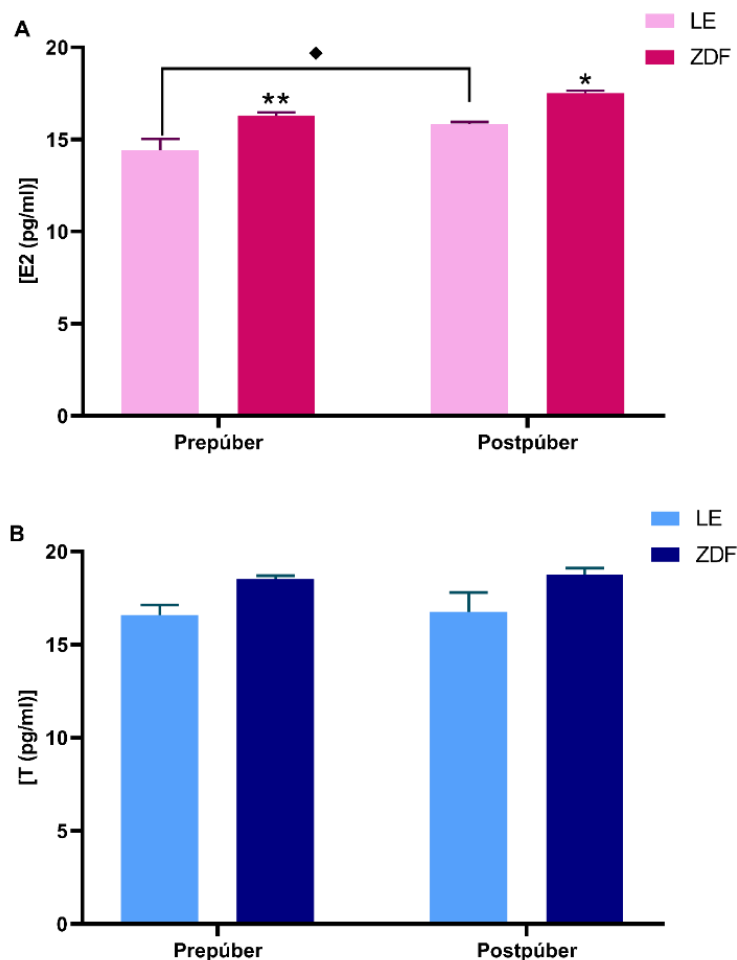


Figura 12. Concentración de hormonas sexuales. A) Estradiol en hembras. Se puede observar un aumento significativo en las concentraciones de estradiol en las ratas hembra Zucker *fa/fa*, en comparación de las Long Evans hembra, esta diferencia se presenta tanto en el grupo prepúber, como en el grupo postpúber (** $P=0.0082$, * $P=0.0168$, * $P=0.0432$). B) Concentración de testosterona en machos. No se muestran diferencias significativas entre los grupos; ($n= 4$ por grupo).

7.2. Determinación del fenotipo obeso: medidas zoométricas

7.2.1. Ratas hembra

Las ratas hembra Zucker *fa/fa* prepúberes y postpúberes presentan un aumento significativo en su peso corporal en comparación con las ratas hembra LE (Figura 13 A; Interacción: $F_{(1,20)} = 0.2445$, $P=0.6264$; Edad: $F_{(1, 20)} = 466.1$, $P<0.0001$; Cepa: $F_{(1, 20)} = 11.98$, $P=0.0025$); en cuanto a la talla corporal, no hay diferencias significativas entre los grupos (Figura 13 B; Interacción:

$F_{(1, 20)} = 0.7258$, $P=0.4043$ Edad: $F_{(1, 20)} = 320.1$, $P<0.0001$; Cepa: $F_{(1, 20)} = 0.7258$, $P=0.4043$). Las ratas hembra Zucker *fa/fa* prepúber y postpúber tienen un índice de obesidad de Lee mayor a 0.300 (Figura 13 C; Interacción: $F_{(1, 20)} = 0.1161$, $P=0.7368$; Edad: $F_{(1,20)} = 1.091$, $P=0.3087$; Cepa: $F_{(1, 20)} = 22.65$, $P=0.0001$), lo que las clasifica con obesidad. En los datos de circunferencia abdominal se observó que las hembras prepúberes y postpúberes de la cepa Zucker *fa/fa*, presentan un aumento significativo en comparación con las ratas hembra LE prepúberes y postpúberes respectivamente (Figura 13 D; Interacción: $F_{(1, 20)} = 0.0857$, $P=0.7768$; Edad: $F_{(1, 20)} = 18.80$, $P=0.0003$; Cepa: $F_{(1, 20)} = 21.14$, $P=0.0001$).

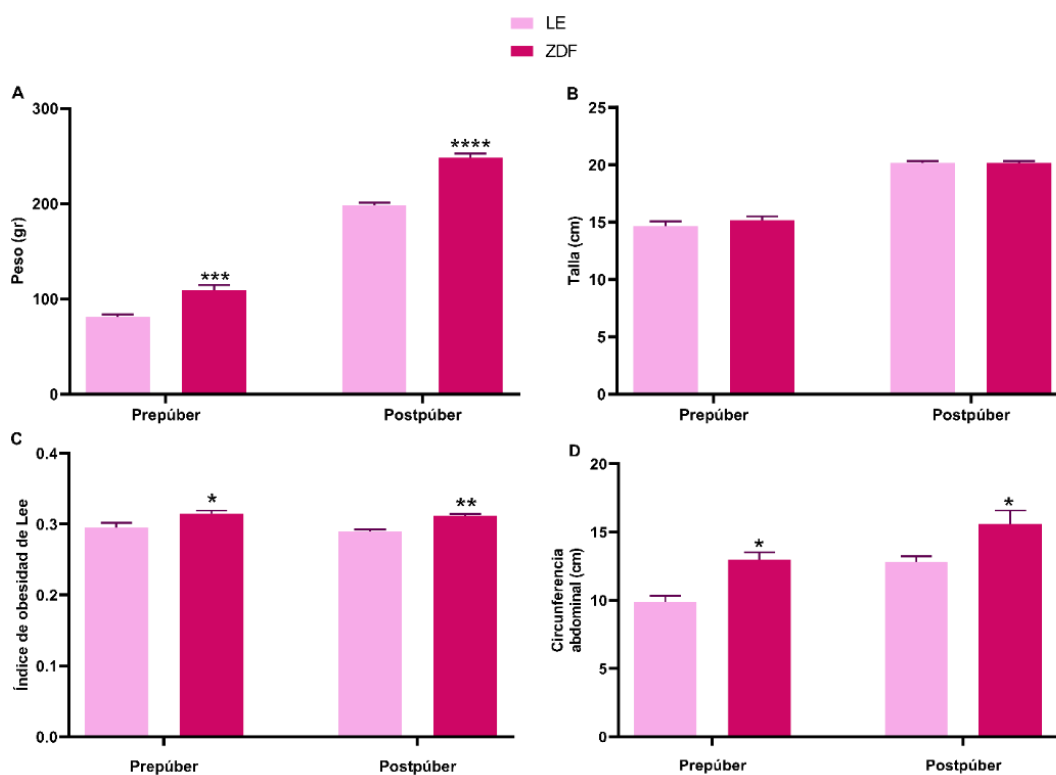


Figura 13. Medidas zoométricas de ratas hembra. A) Peso, B) Talla, C) Índice de obesidad de Lee, D) Circunferencia abdominal. Se observa un aumento significativo en el peso de las ratas hembra prepúberes y postpúberes Zucker *fa/fa*. Así mismo, estas ratas presentan un índice de Lee mayor a 0.300 y un aumento significativo en la circunferencia abdominal, en comparación con las ratas LE (**** $P<0.0001$, *** $P=0.0004$, ** $P=0.0088$; $n=6$ por grupo).

7.2.2. Ratas macho

Los machos ZDF prepúber y postpúber no presentan un aumento significativo en su peso corporal en comparación con los machos LE (Figura 14 A; Interacción: $F_{(1,20)} = 2.121$, $P=0.1608$;

Edad: $F_{(1, 20)} = 1.091$, $P = 0.3087$; Cepa: $F_{(1, 20)} = 22.65$, $P = 0.0001$); en cuanto a la talla corporal, se observa una disminución significativa en los machos postpúberes ZDF comparado con los machos postpúberes LE (Figura 14 B; Interacción: $F_{(1, 20)} = 0.7258$, $P = 0.4043$ Edad: $F_{(1, 20)} = 320.1$, $P < 0.0001$; Cepa: $F_{(1, 20)} = 0.7258$, $P = 0.4043$). Se observa que los machos prepúber y postpúber ZDF tienen un índice de obesidad de Lee mayor a 0.300 (Figura 14 C; Interacción: $F_{(1, 20)} = 0.1161$, $P = 0.7368$; Edad: $F_{(1, 20)} = 1.091$, $P = 0.3087$; Cepa: $F_{(1, 20)} = 22.65$, $P = 0.0001$), lo que los clasifica con obesidad. Por último, se puede observar que en la circunferencia abdominal los machos prepúberes y postpúberes de la cepa ZDF, presentan un aumento significativo en comparación con los machos LE prepúberes y postpúberes respectivamente (Figura 13 D; Interacción: $F_{(1, 20)} = 0.0857$, $P = 0.7768$; Edad: $F_{(1, 20)} = 18.80$, $P = 0.0003$; Cepa: $F_{(1, 20)} = 21.14$, $P = 0.0001$).

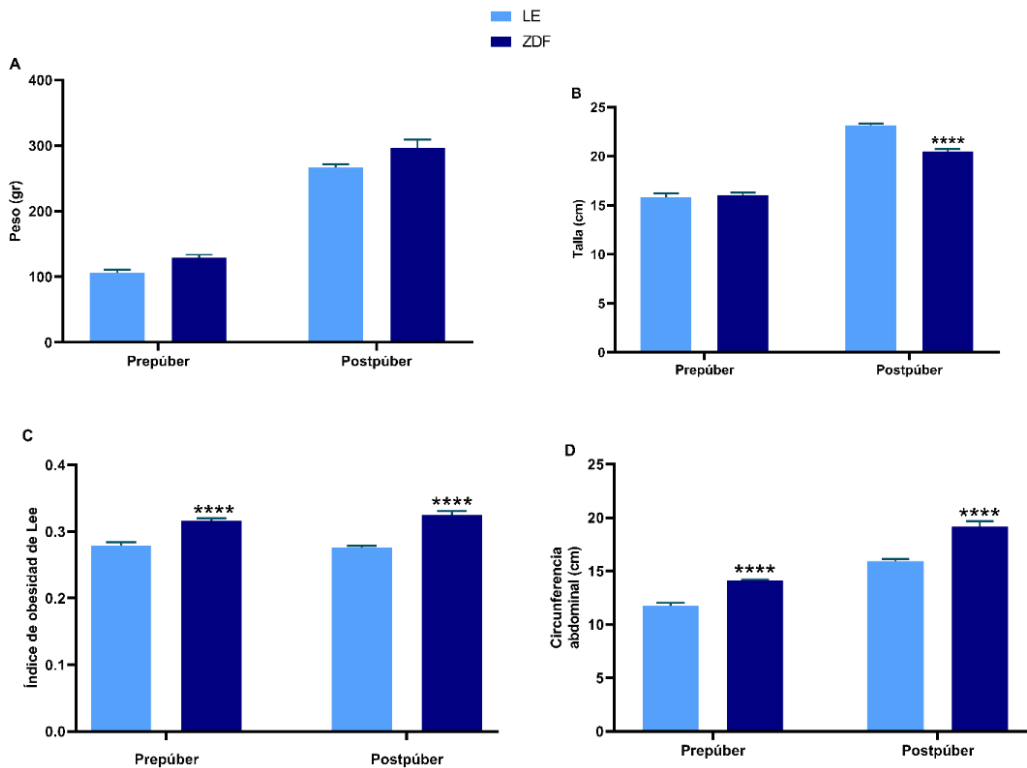


Figura 14. Medidas zoométricas de ratas macho. A) Peso, B) Talla, C) Índice de obesidad de Lee, D) Circunferencia abdominal. No se observaron diferencias en el peso corporal; se observa una disminución significativa en la talla corporal de las ratas macho Zucker *fa/fa* postpúberes. El índice de Lee tanto en las ratas ZDF prepúberes como en las ZDF postpúberes es mayor a 0.300. En la circunferencia abdominal los machos prepúberes y postpúberes de la cepa Zucker *fa/fa* presentan un aumento en comparación con las ratas LE (**** $P < 0.0001$; $n = 6$ por grupo).

7.3. Determinación del fenotipo obeso: química sanguínea

7.3.1. Ratas hembra

Los niveles de glucosa (GLU) (Figura 15 A; Interacción: $F_{(1, 20)} = 0.2428$, $P=0.627$; Edad: $F_{(1, 20)} = 0.4260$, $P=0.5214$; Cepa: $F_{(1, 20)} = 64.04$, $P<0.0001$), de colesterol total (CT) (Figura 15 B; Interacción: $F_{(1, 20)} = 7.097$, $P=0.0149$; Edad: $F_{(1, 20)} = 4.682$, $P=0.0428$; Cepa: $F_{(1, 20)} = 71.67$, $P<0.0001$) y de triglicéridos (TRG) (Figura 15 C; Interacción: $F_{(1, 20)} = 7.701$, $P=0.0117$; Edad: $F_{(1, 20)} = 0.13.25$, $P= 0.0016$; Cepa: $F_{(1, 20)} = 252.0$, $P<0.0001$) se observaron significativamente más altos tanto en las ratas hembra ZDF prepúberes y postpúberes en comparación con las ratas LE respectivas.

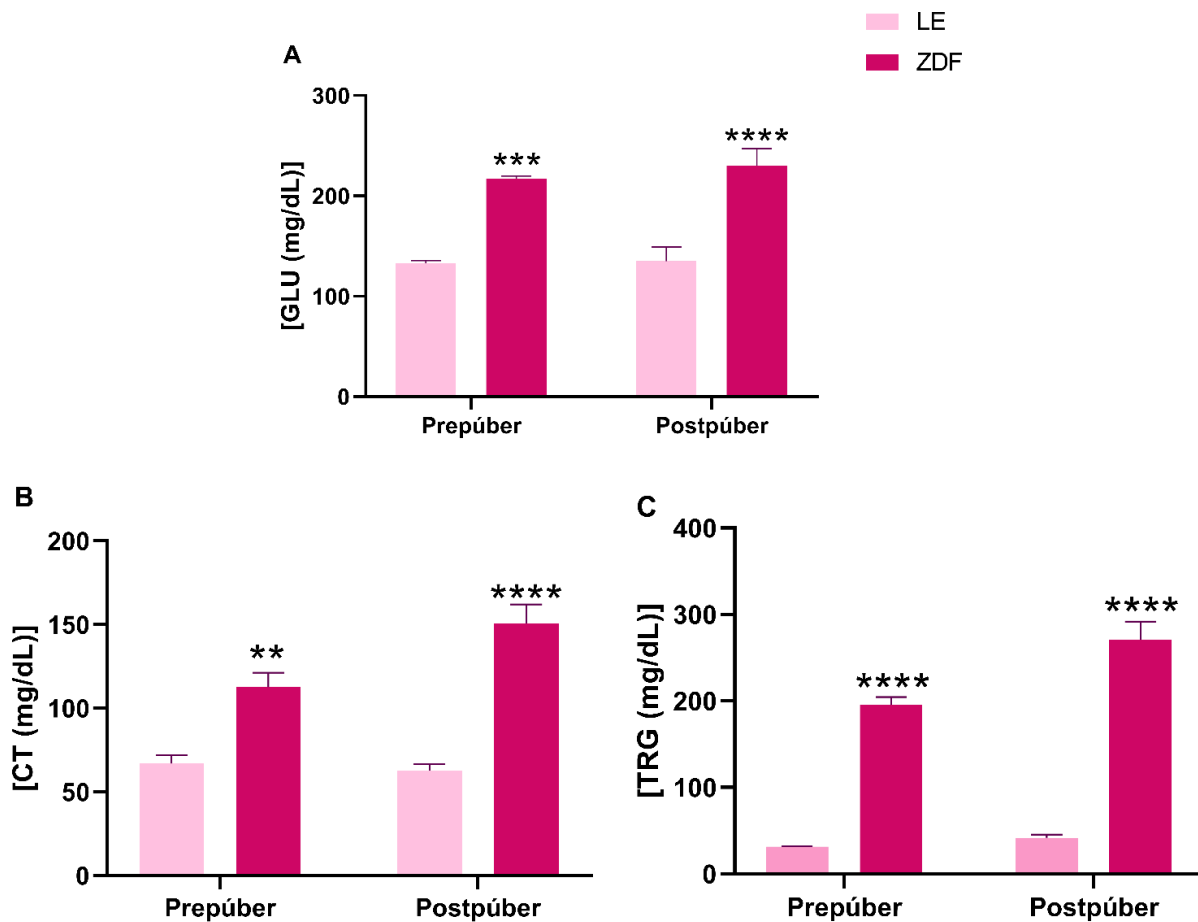


Figura 15. Concentraciones séricas de A) Glucosa, B) Colesterol total y C) Triglicéridos de ratas hembra. Se observa que los niveles de glucosa, colesterol total y triglicéridos son significativamente más altos tanto en las ratas Zucker *fa/fa* prepúberes como en las Zucker *fa/fa* postpúberes en comparación con las ratas Long Evans respectivamente (** $P=0.0004$; *** $P=0.0002$ **** $P<0.0001$; $n=6$ por grupo).

7.3.2. Ratas macho

Los niveles de glucosa (GLU) (Figura 16 A; Interacción: $F_{(1, 20)} = 7.263$, $P=0.139$; Edad: $F_{(1, 20)} = 0.1085$, $P=0.7453$; Cepa: $F_{(1, 20)} = 46.71$, $P<0.0001$), de colesterol (CT) (Figura 16 B; Interacción: $F_{(1, 20)} = 2.706$, $P=0.1156$; Edad: $F_{(1, 20)} = 11.24$, $P=0.0032$; Cepa: $F_{(1, 20)} = 123.3$, $P<0.0001$) y de triglicéridos (TRG) (Figura 16 C; Interacción: $F_{(1, 20)} = 1.157$, $P=0.2948$; Edad: $F_{(1, 20)} = 4.388$, $P=0.0491$; Cepa: $F_{(1, 20)} = 296.2$, $P<0.0001$) fueron significativamente más altos en las ratas prepúberes y postpúberes Zucker *fa/fa* macho en comparación con las ratas macho LE.

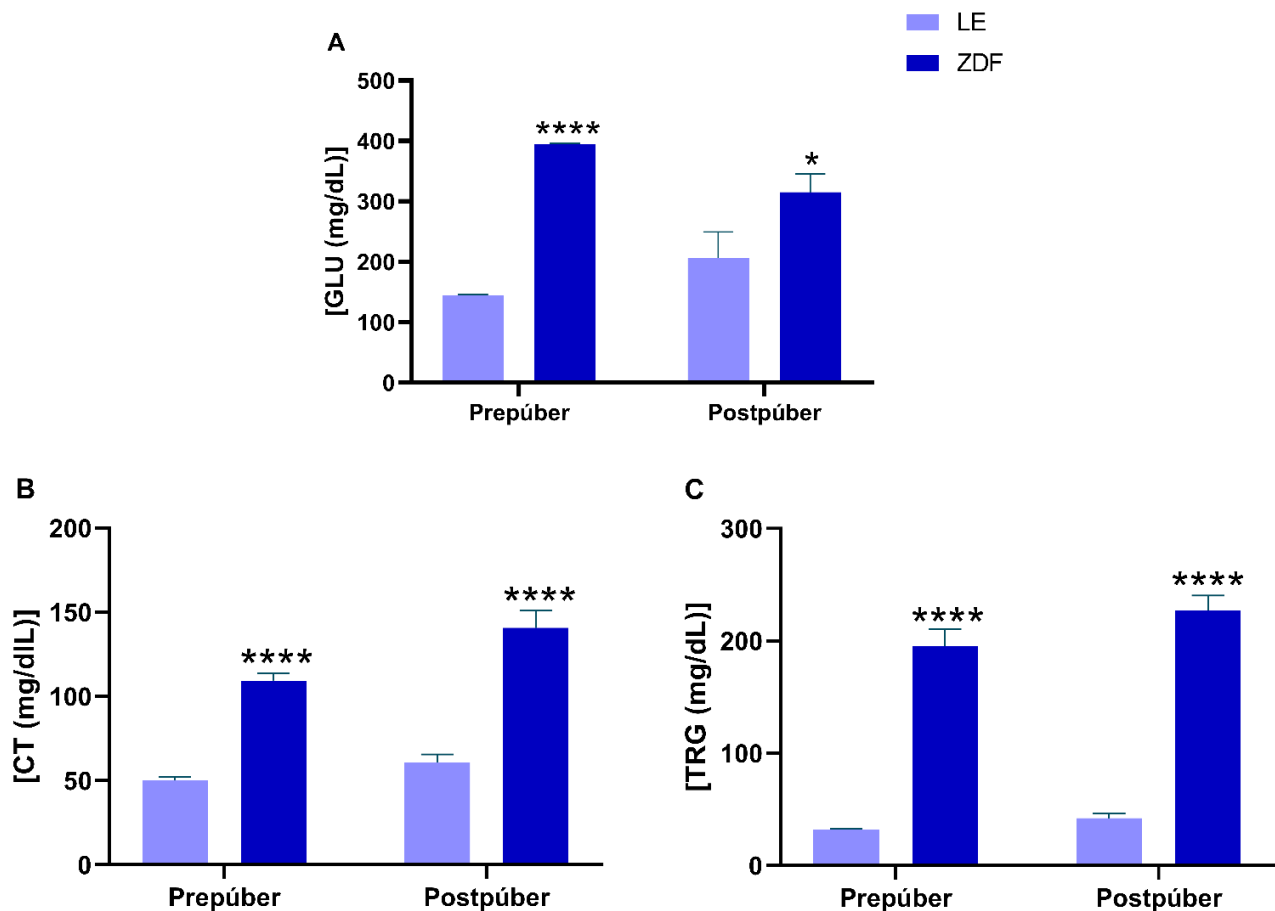


Figura 16. Concentraciones séricas de A) Glucosa, B) Colesterol total y C) Triglicéridos de ratas macho. Se observa que los niveles de glucosa, colesterol total y triglicéridos son significativamente más altos en las ratas macho Zucker *fa/fa* prepúberes y postpúberes en comparación con las ratas macho Long Evans (* $P=0.0384$; **** $P<0.0001$; $n=6$ por grupo).

7.4. Concentración de corticosterona en suero

No se observaron diferencias significativas en las concentraciones de corticosterona (Cort) entre las ratas hembra prepúber y postpúber Zucker *fa/fa* y las ratas prepúber y postpúber LE respectivamente (Figura 17A; Interacción: $F_{(1, 12)} = 0.7423$, $P=0.4058$; Edad: $F_{(1, 12)} = 0.5125$, $P=0.4878$; Cepa: $F_{(1, 12)} = 1.95$, $P=0.1875$). Del mismo modo, no se encontraron diferencias significativas en los niveles de corticosterona sérica entre los machos prepúberes y postpúberes Zucker *fa/fa* y las ratas macho LE respectivas (Figura 17B; Interacción: $F_{(1, 12)} = 1.75$, $P=0.2103$; Edad: $F_{(1, 12)} = 1.333$, $P=0.2708$; Cepa: $F_{(1, 12)} = 2.615$, $P=0.1318$).

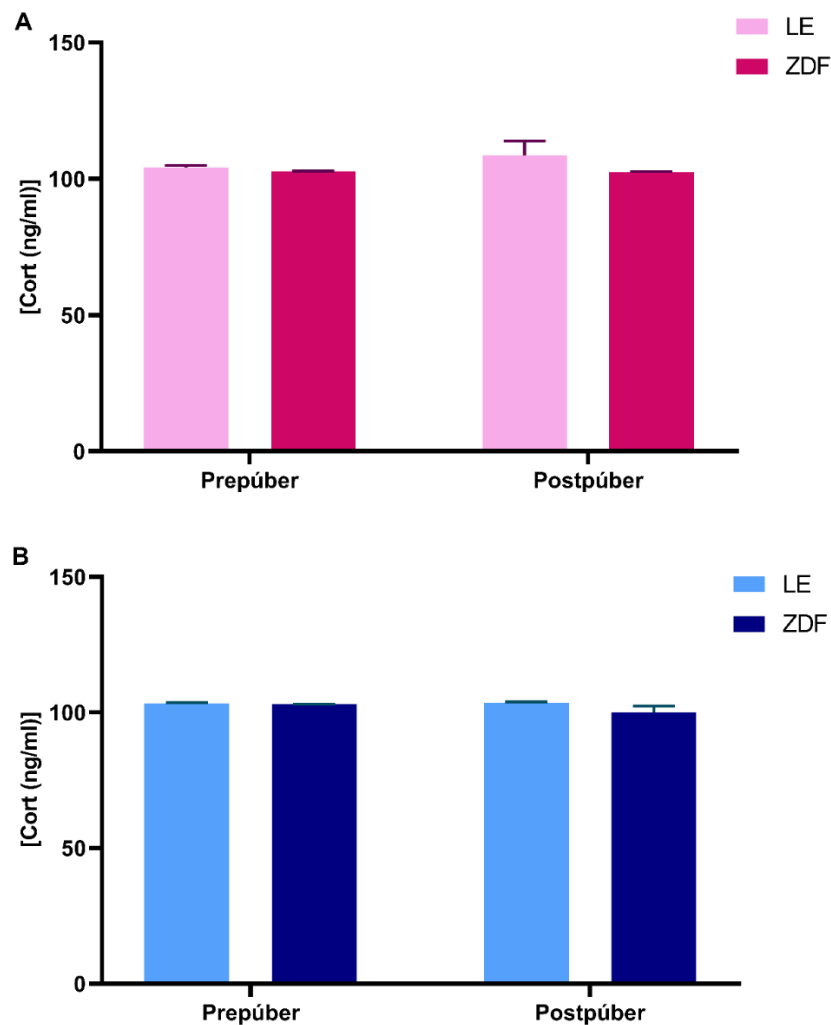


Figura 17. Concentración de corticosterona sérica en ratas A) Hembra y ratas B) Macho. No se observaron diferencias significativas entre ninguno de los grupos; (n= 4 por grupo).

7.5. Morfología dendrítica de Corteza Media Prefrontal

7.5.1. Arborización dendrítica

7.5.1.1. Ratas hembra

El árbol basilar de las neuronas de mPFC de ratas hembra Zucker *fa/fa* prepúber mostró un menor número de intersecciones dendríticas en los círculos concéntricos 2 y 11 (Figura 18 A; Interacción: $F_{(34, 350)} = 1.322$, $P=0.1134$; Círculo concéntrico: $F_{(34, 350)} = 491$, $P<0.0001$; Cepa: $F_{(1, 350)} = 7.320$, $P=0.0072$) respecto de las neuronas de mPFC de ratas hembra LE, mientras que; el árbol apical de las mismas neuronas no muestran diferencias significativas respecto de las neuronas de las ratas hembra LE (Figura 18 B; Interacción: $F_{(42, 430)} = 1.335$, $P=0.0843$; Círculo concéntrico: $F_{(42, 430)} = 136.5$, $P<0.0001$; Cepa: $F_{(1, 430)} = 23.11$, $P<0.0001$). Por otro lado, las hembras Zucker *fa/fa* postpúber también, muestran que el árbol basilar de las neuronas de mPFC tienen un menor número de intersecciones dendríticas en los círculos concéntricos 2, 6, 7, 8, 9 y 10 respecto de las neuronas de las ratas postpúber LE (Figura 19 A ; Interacción: $F_{(34, 350)} = 1.892$, $P=0.0025$; Círculo concéntrico: $F_{(34, 350)} = 551.2$, $P<0.0001$; Cepa: $F_{(1, 350)} = 19.65$, $P<0.0001$), en cuanto a las intersecciones dendríticas del árbol apical de dichas neuronas, tampoco se muestran diferencias significativas entre los grupos (Figura 19 B; Interacción: $F_{(42, 430)} = 1.351$, $P=0.0759$; Círculo concéntrico: $F_{(42, 430)} = 127.8$, $P<0.0001$; Cepa: $F_{(1, 430)} = 39.93$, $P<0.0001$).

7.5.1.2. Ratas macho

Las ratas macho Zucker *fa/fa* prepúberes, muestran que el árbol basilar (Figura 20 A; Interacción: $F_{(34, 350)} = 0.5247$, $P=0.9878$; Círculo concéntrico: $F_{(34, 350)} = 571$, $P<0.0001$; Cepa: $F_{(1, 350)} = 1.824$, $P=0.1777$) y el árbol apical (Figura 20 B; Interacción: $F_{(42, 430)} = 0.9662$, $P=0.9662$; Círculo concéntrico: $F_{(42, 430)} = 106.3$, $P<0.0001$; Cepa: $F_{(1, 430)} = 4.281$, $P=0.0391$) de las neuronas de mPFC, no presentan diferencias significativas en comparación con las ratas macho prepúberes LE. En contraste, las ratas macho Zucker *fa/fa* postpúber, muestran que el árbol basilar de las neuronas de mPFC tienen un menor número de intersecciones dendríticas en los círculos concéntricos del 8 al 10 respecto de las neuronas de mPFC de ratas postpúber LE (Figura 21 A; Interacción: $F_{(34, 350)} = 1.917$, $P=0.0021$; Círculo concéntrico: $F_{(34, 350)} = 501.3$, $P<0.0001$; Cepa: $F_{(1, 350)} = 12.75$, $P=0.0004$), no obstante, en el árbol apical de dichas neuronas

no se observan diferencias significativas entre los grupos (Figura 21B; Interacción: $F_{(42, 430)} = 0.3667$, $P > 0.9999$; Círculo concéntrico: $F_{(42, 430)} = 26.48$, $P < 0.0001$; Cepa: $F_{(1, 430)} = 3.249$, $P = 0.0722$).

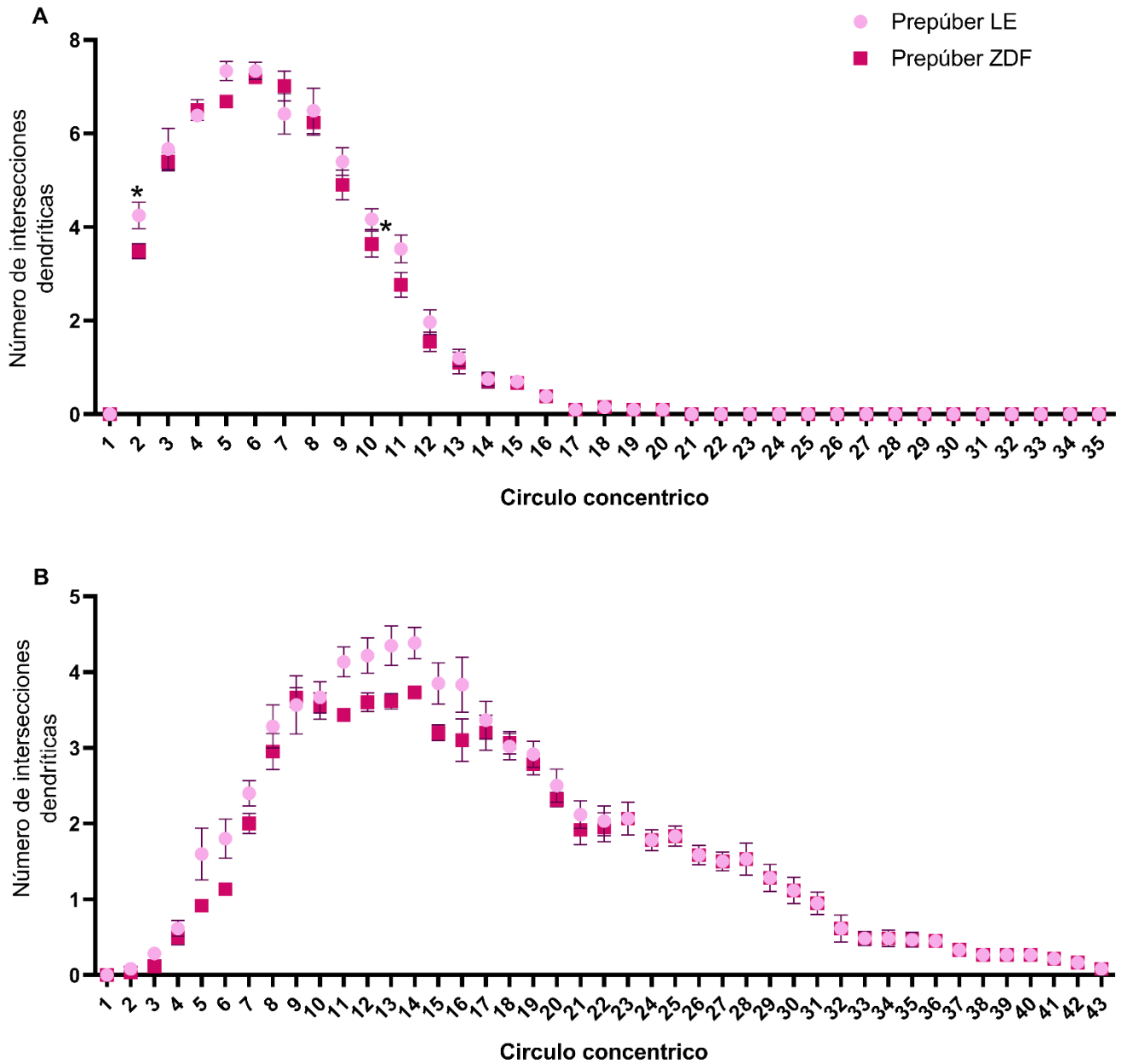


Figura 18. Arborización dendrítica de las neuronas de mPFC en hembras prepúber. A) Árbol basilar. Se observan diferencias significativas en el grupo de ratas Zucker *fa/fa* prepúberes en los círculos concéntricos 2 y 11 (* $P = 0.0279$). B) Árbol apical. No se observan diferencias significativas; ($n = 6$ por grupo).

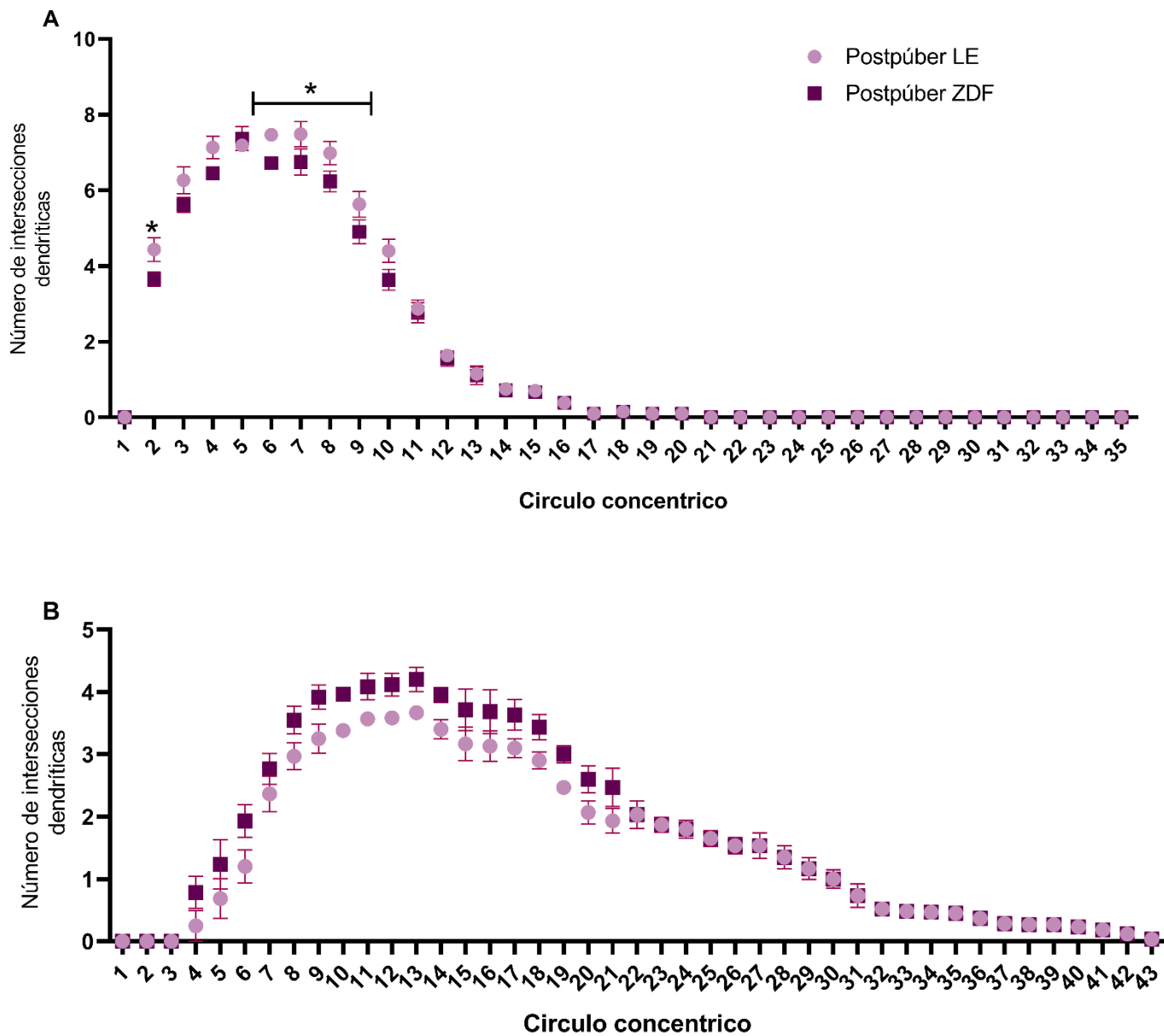


Figura 19. Arborización dendrítica de las neuronas de mPFC en hembras postpúber. A) Árbol basilar. Se observan diferencias significativas en las ratas Zucker *fa/fa* hembras postpúberes en los círculos concéntricos 2, 6, 7, 8, 9 y 10 (* $P=0.0127$). B) Árbol apical., No se observan diferencias significativas; ($n=6$ por grupo).

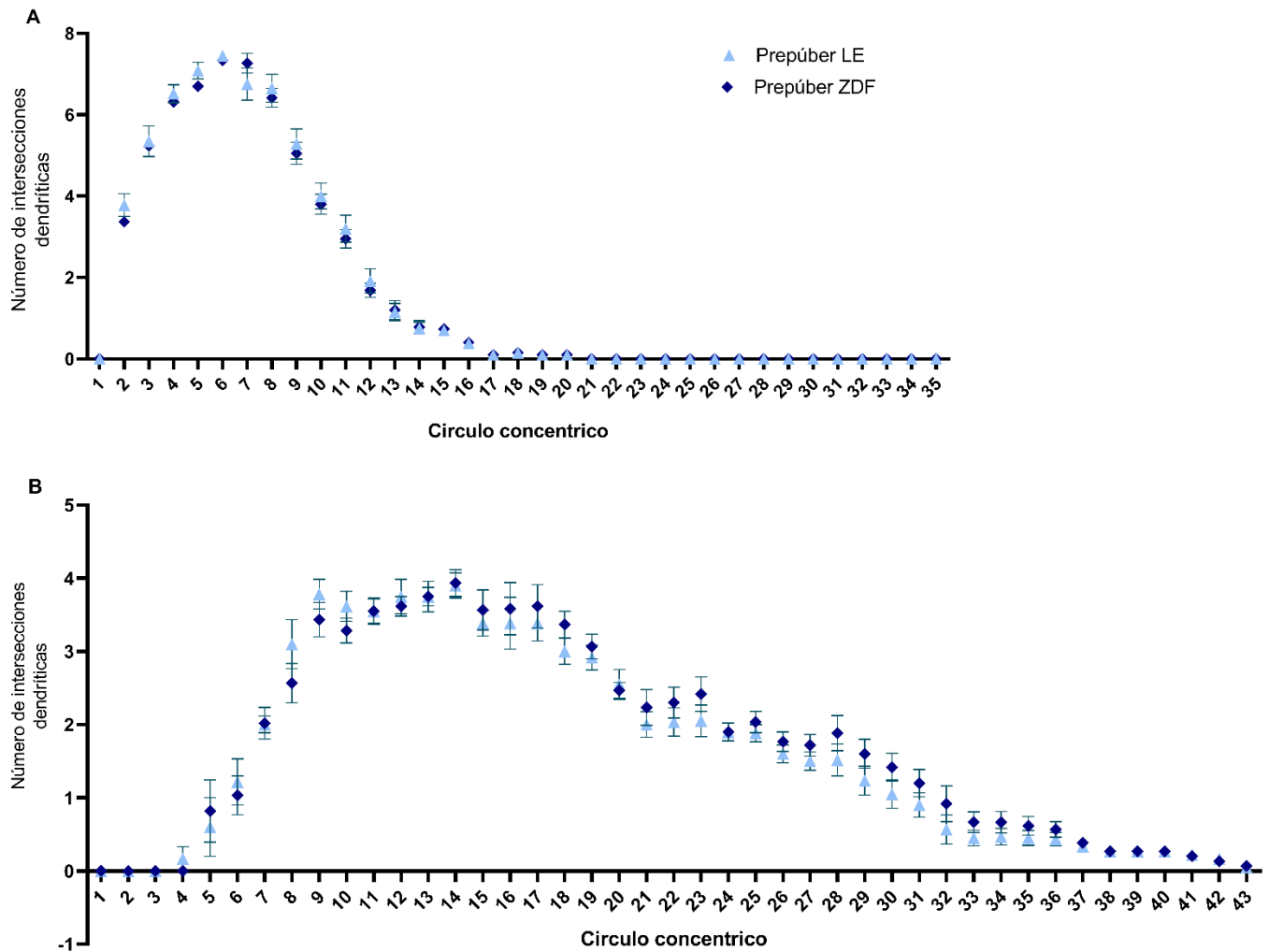


Figura 20. Arborización dendrítica de las neuronas de mPFC en ratas macho prepúber. A) Árbol basilar.No hay diferencias significativas entre los grupos. B) Árbol apical. No se observan diferencias significativas; (n= 6 por grupo).

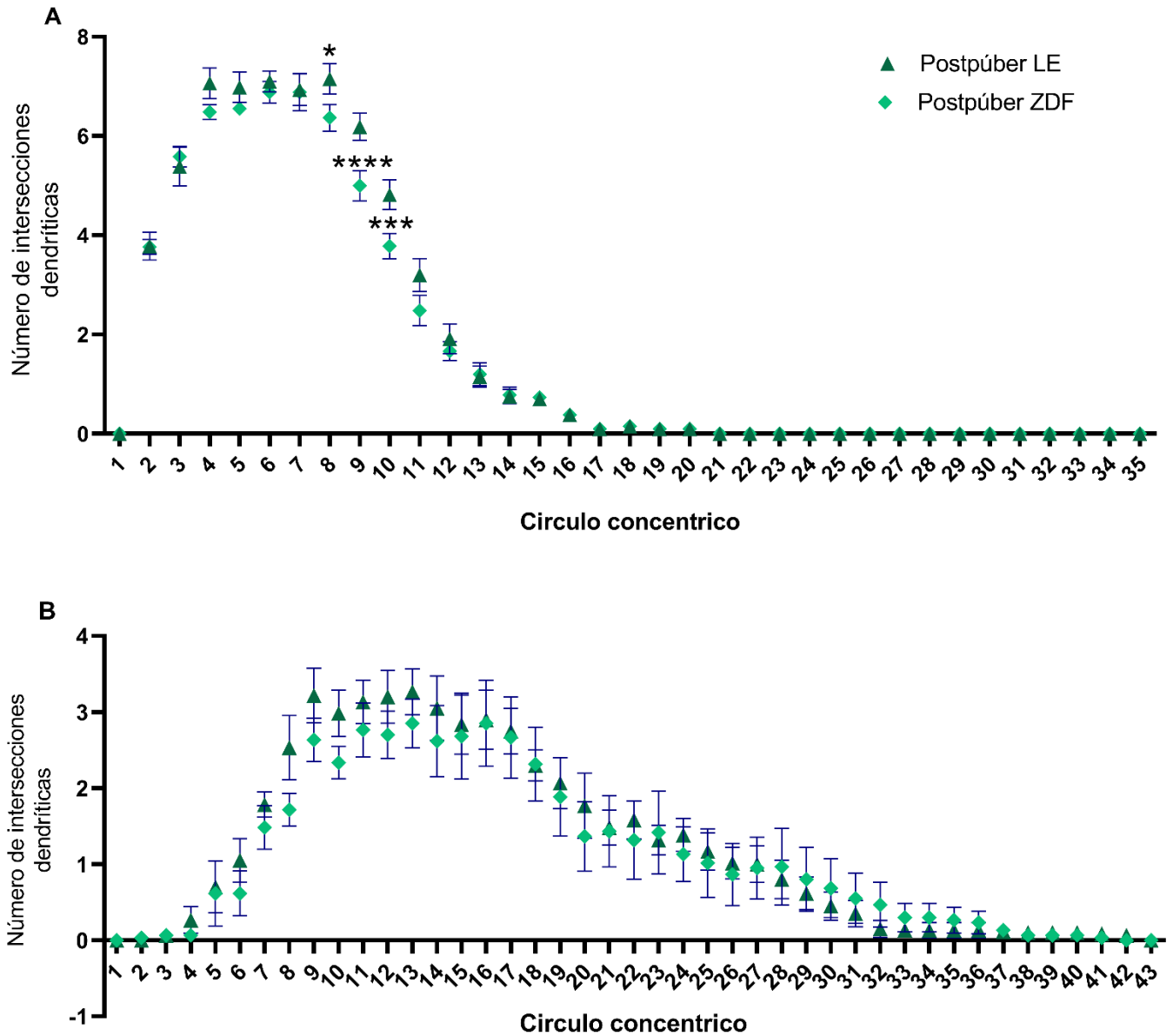


Figura 21. Arborización dendrítica de las neuronas de mPFC en ratas macho postpúbler. A) Árbol basilar. Se observan diferencias significativas en la arborización dendrítica de neuronas de las ratas Zucker *fa/fa* macho postpúberes al nivel de los círculos concéntricos del 8 al 10 (* $P=0.0317$; *** $P=0.0005$, **** $P<0.0001$). B) Árbol apical. No se observaron diferencias significativas; ($n=6$ por grupo).

7.5.2. Longitud dendrítica total

7.5.2.1. Ratas hembra

En cuanto a la longitud dendrítica total (LDT) en la mPFC, se observa una disminución en la región basilar de las neuronas en hembras Zucker *fa/fa* prepúber en comparación con las hembras LE prepúber. Además, se presenta un aumento en la LDT de las en ratas hembra Zucker *fa/fa* postpúber en comparación con las ratas hembra Zucker *fa/fa* prepúber (Figura 22 A; Interacción: $F_{(1, 20)} = 7.604$, $P=0.0121$; Edad: $F_{(1, 20)} = 6.469$, $P=0.0193$; Cepa: $F_{(1, 20)} = 1.926$, $P=0.1805$). En la región apical las ratas hembra Zucker *fa/fa* prepúberes presentan una disminución en la LDT en comparación con las neuronas de las ratas hembra LE prepúber; en contraste, las hembras postpúberes Zucker *fa/fa* tiene un incremento en la LDT del árbol apical de las neuronas de mPFC respecto de las neuronas de las ratas hembra LE postpúberes y las ratas hembra Zucker *fa/fa* prepúberes (Figura 22 B; Interacción: $F_{(1, 20)} = 23.14$, $P=0.0001$; Edad: $F_{(1, 20)} = 10.77$, $P=0.0037$; Cepa: $F_{(1, 20)} = 0.1728$, $P=0.6820$).

7.5.2.2. Ratas macho

Por otra parte, los machos Zucker *fa/fa* postpúberes exhiben un incremento significativo en la LDT de la región basilar de las neuronas de mPFC (Figura 24 A; Interacción: $F_{(1, 20)} = 12.20$, $P=0.0023$; Edad: $F_{(1, 20)} = 0.1312$, $P=0.7210$; Cepa: $F_{(1, 20)} = 21.94$, $P=0.0001$). En la región apical, no se presentan diferencias significativas al comparar los grupos experimentales (Figura 24 B; Interacción: $F_{(1, 20)} = 0.3634$, $P=0.5534$; Edad: $F_{(1, 20)} = 7.873$, $P=0.0109$; Cepa: $F_{(1, 20)} = 1.038$, $P=0.3204$).

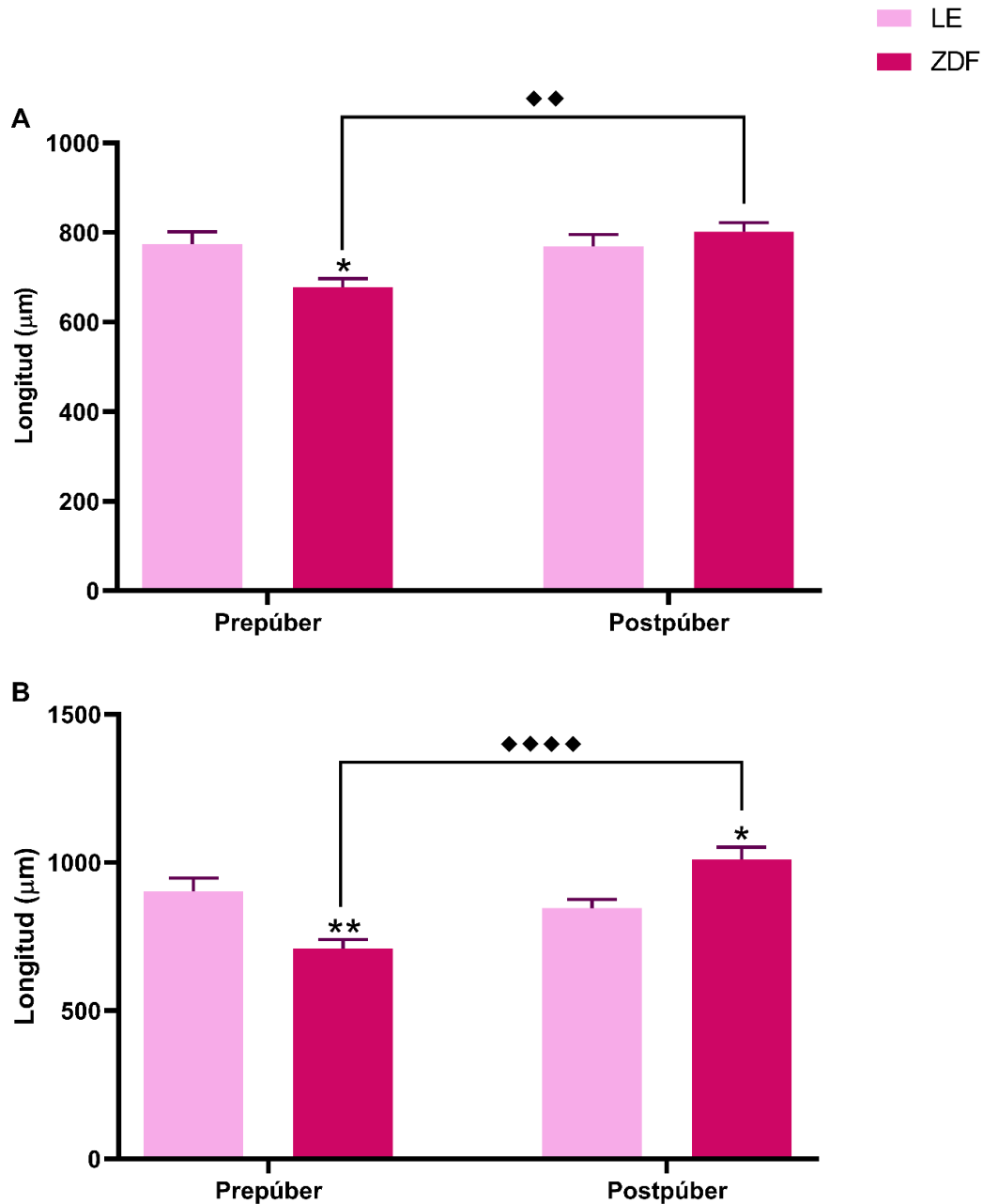


Figura 22. Longitud dendrítica total de las neuronas de mPFC de ratas hembra. A) Árbol basilar, se observa una disminución significativa en la longitud dendrítica de las neuronas de las ratas hembra prepúberes Zucker *fa/fa* en comparación con las ratas hembra prepúberes Long Evans y un aumento en la longitud dendrítica de las neuronas de las ratas hembra Zucker *fa/fa* prepúberes y postpúberes (* $P=0.0381$, ** $P=0.0064$). B) Árbol apical, se presenta una disminución en la longitud dendrítica total de las neuronas de las ratas hembra Zucker *fa/fa* prepúberes en comparación con las neuronas de las ratas Long Evans prepúberes y un aumento en dicha variable de las neuronas de las ratas hembra Zucker *fa/fa* postpúberes y ratas hembra Long Evans postpúberes (* $P=0.0262$, ** $P=0.0072$, **** $P<0.0001$; $n=6$ por grupo).

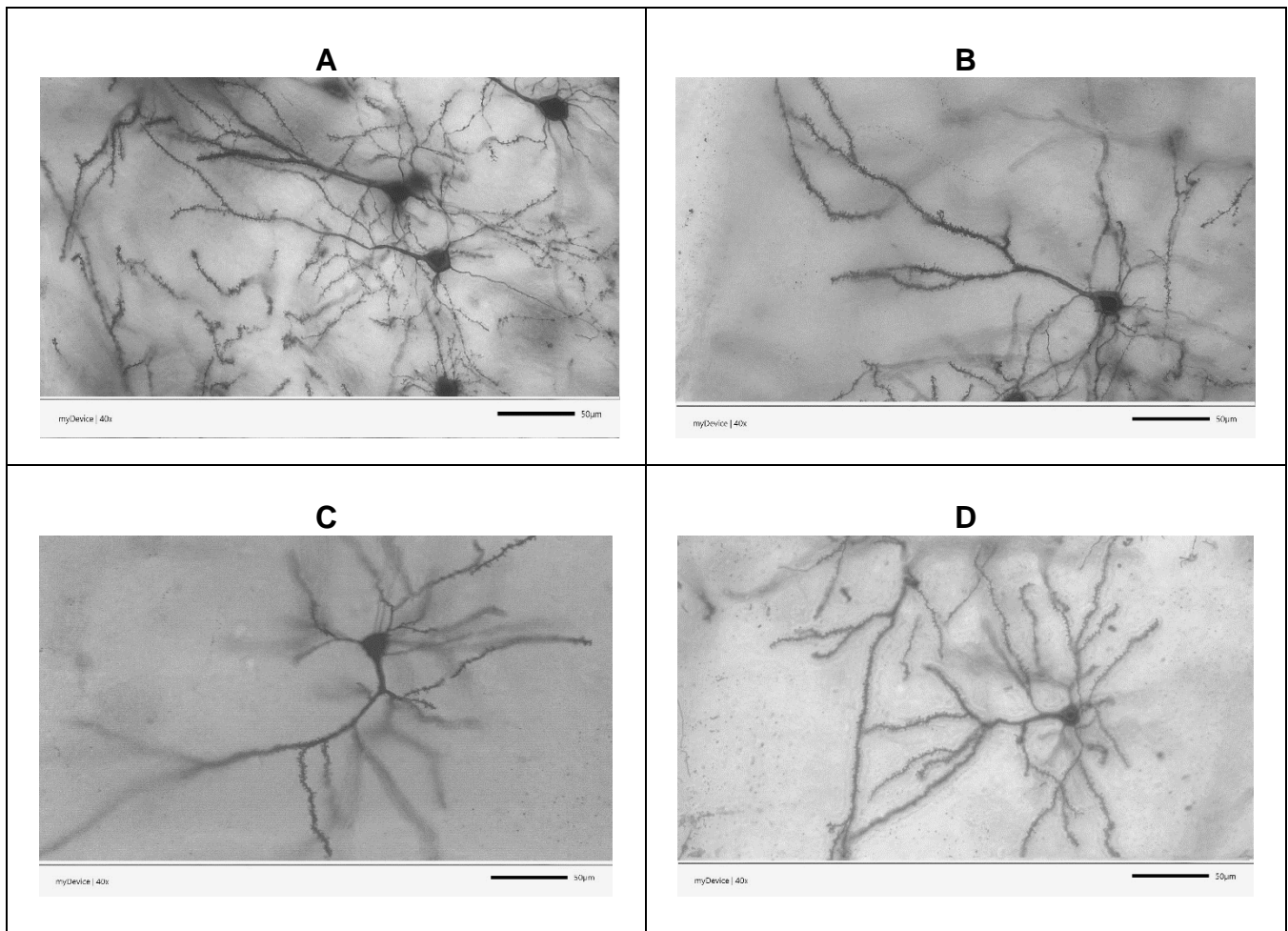


Figura 23. Microfotografía de las neuronas de mPFC impregnadas de Golgi-Cox. A) LE hembra prepúber. B) Zucker *fa/fa* hembra prepúber. C) LE hembra postpúber. D) Zucker *fa/fa* hembra postpúber. Barra de escala, 50 µm.

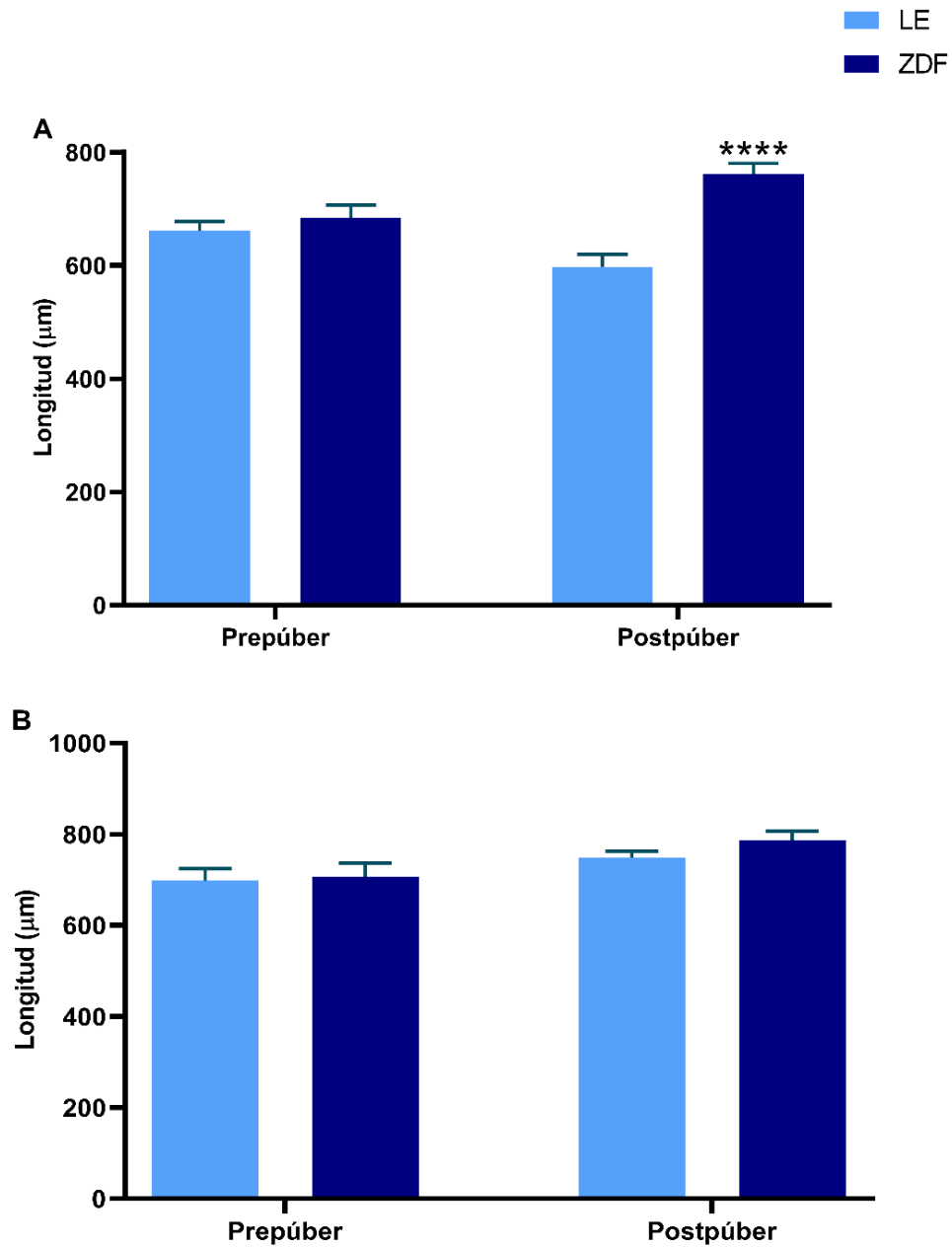


Figura 24. Longitud dendrítica total de neuronas de mPFC en ratas macho. A) Árbol basilar, se observa un incremento significativo en la longitud dendrítica de las neuronas de las ratas macho Zucker *fa/fa* postpúber respecto de las ratas macho Long Evans postpúberes (**** $P < 0.0001$). B) Árbol apical, no se presentan diferencias significativas entre los grupos; (n= 6 por grupo).

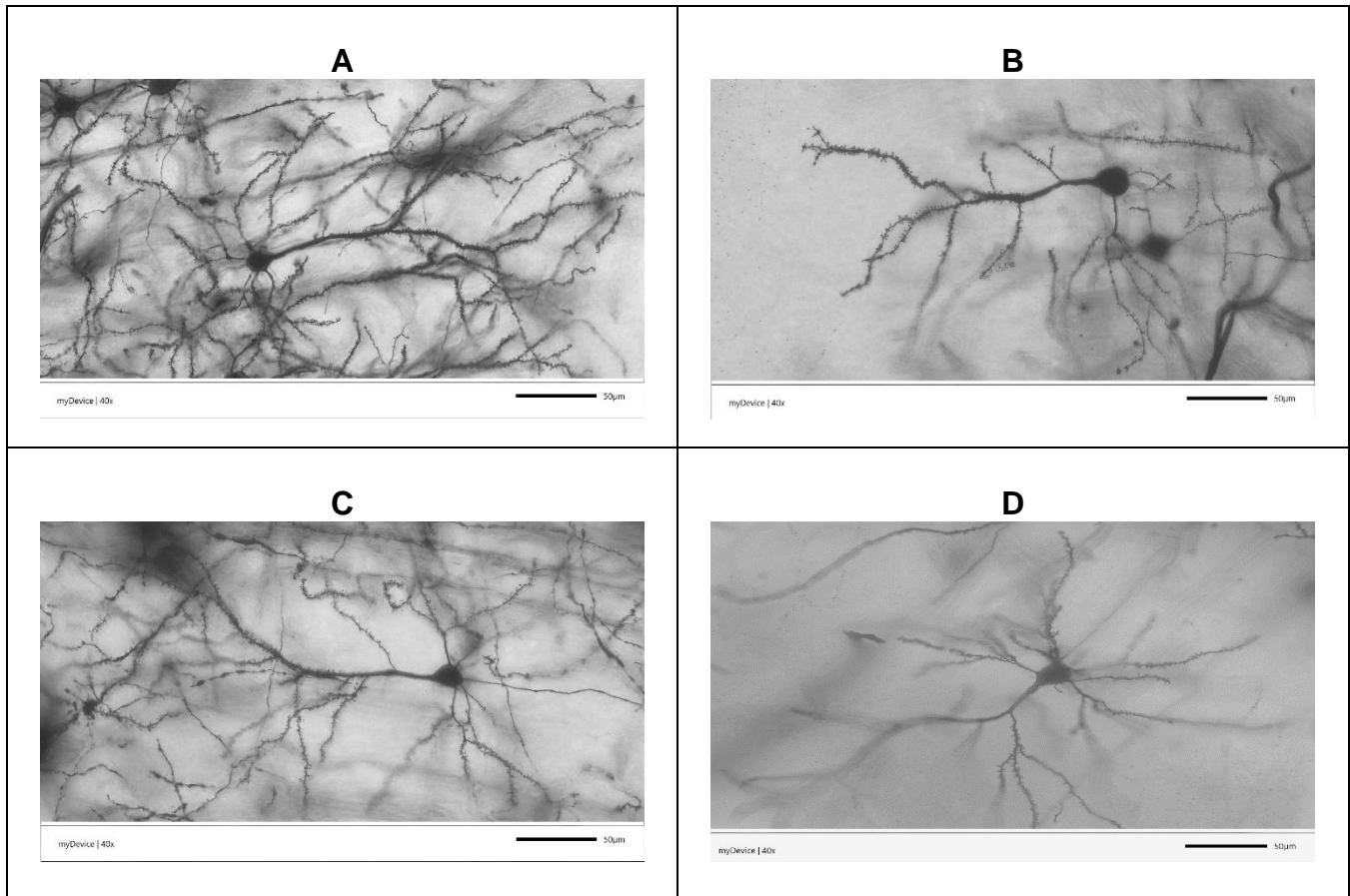


Figura 25. Microfotografía de las neuronas de mPFC impregnadas de Golgi-Cox. A) LE macho prepúber. B) Zucker *fa/fa* macho prepúber. C) LE macho postpúber. D) Zucker *fa/fa* macho postpúber. Barra de escala, 50 μ m.

7.5.3. Densidad de espinas dendríticas

7.5.3.1. Ratas hembra

En la densidad de espinas dendríticas (DED), las ratas hembra Zucker *fa/fa* prepúberes, muestran que el árbol basilar de las neuronas mPFC, expresa una disminución en comparación con las neuronas de mPFC de las ratas hembra LE de la misma edad y de las ratas hembra Zucker *fa/fa* postpúberes, también existe una disminución de la misma variable entre las ratas hembra LE postpúberes y las ratas hembra LE prepúberes (Figura 26 A; Interacción: $F_{(1, 20)} = 23.25$, $P=0.0001$; Edad: $F_{(1, 20)} = 0.1028$ $P=0.7519$; Cepa: $F_{(1, 20)} = 36.74$, $P<0.0001$). En el árbol apical, no se observan cambios significativos entre los grupos experimentales (Figura 26 B; Interacción: $F_{(1, 20)} = 3.653$, $P=0.0704$; Edad: $F_{(1, 20)} = 1.722$, $P=0.2043$; Cepa: $F_{(1, 20)} = 0.09821$, $P=0.7572$).

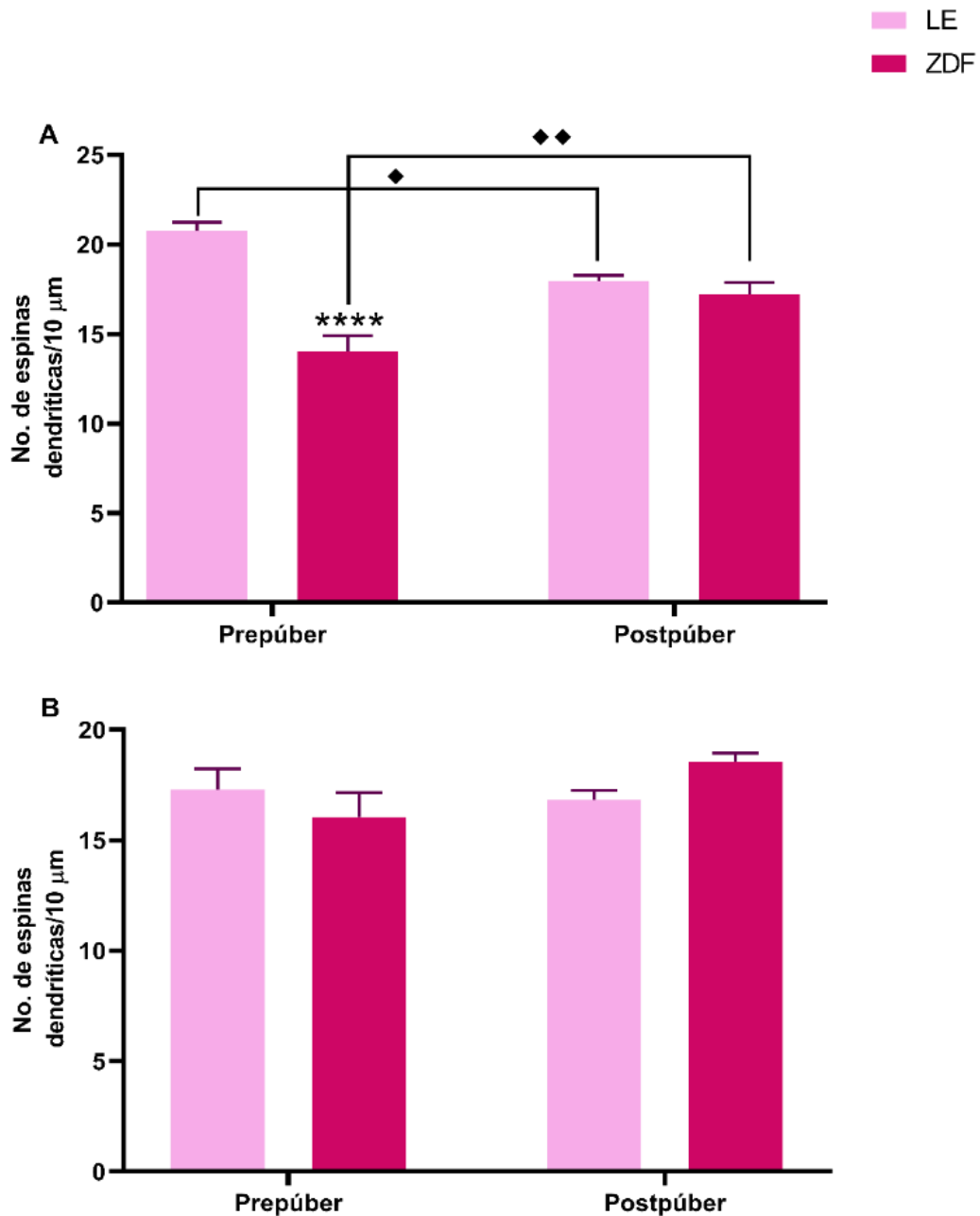


Figura 26. Densidad de espinas dendríticas de las neuronas de mPFC en ratas hembra. A) Árbol basilar. Las ratas hembra Zucker *fa/fa* prepúberes muestran una disminución significativa respecto de las ratas Long Evans prepúberes y las ratas Zucker *fa/fa* postpúberes, también se observa una disminución de la densidad de espinas dendríticas en las neuronas de las ratas Long Evans prepúberes respecto de las postpúberes (**** $P < 0.0001$, * $P = 0.0223$, ** $P = 0.0082$). B) Árbol apical. No se observan diferencias significativas; ($n = 6$ por grupo).

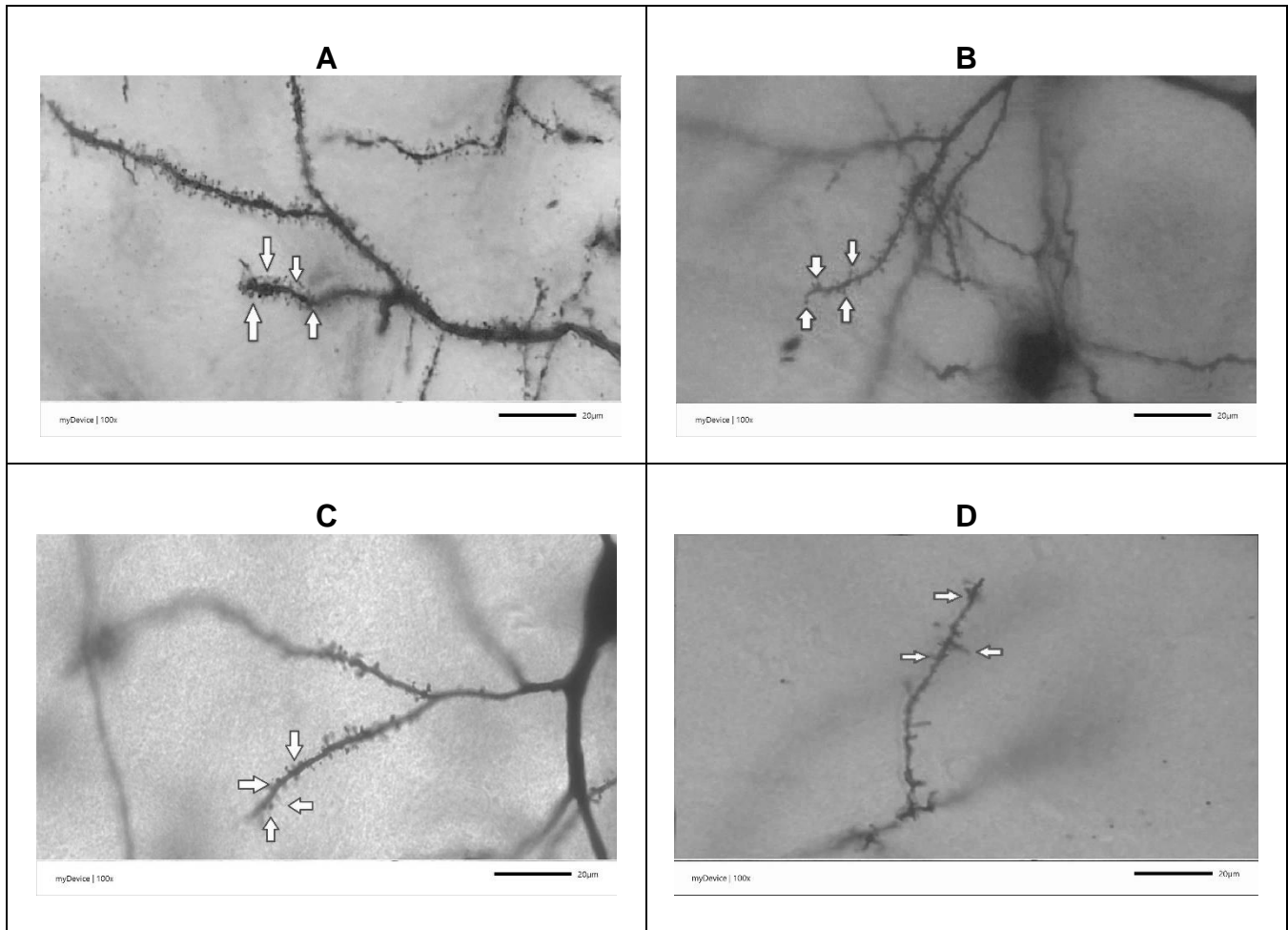


Figura 27. Microfotografía de las espinas dendríticas de mPFC impregnadas de Golgi-Cox. A) LE hembra prepúber. B) Zucker *fa/fa* hembra prepúber. C) LE hembra postpúber. D) Zucker *fa/fa* hembra postpúber. Barra de escala, 20 µm.

7.5.3.2. Ratas macho

Se observa que las ratas macho Zucker *fa/fa* prepúber no tienen diferencias significativas en la densidad de espinas dendríticas ni en el árbol basilar, ni apical de las neuronas de mPFC (Figura 28 A; Interacción: $F_{(1, 20)} = 6.353$, $P = 0.0203$; Edad: $F_{(1, 20)} = 0.2716$, $P = 0.6080$; Cepa: $F_{(1, 20)} = 3.027$, $P = 0.0972$); no obstante, se observa un aumento significativo en dicha variable en el árbol basilar y apical en las ratas macho Zucker *fa/fa* postpúberes en comparación con las ratas macho LE postpúberes y las ratas macho Zucker *fa/fa* prepúberes, (Figura 28 B; Interacción: $F_{(1, 20)} = 5.836$, $P = 0.0254$; Edad: $F_{(1, 20)} = 3.750$, $P = 0.0671$; Cepa: $F_{(1, 20)} = 27.40$, $P < 0.0001$).

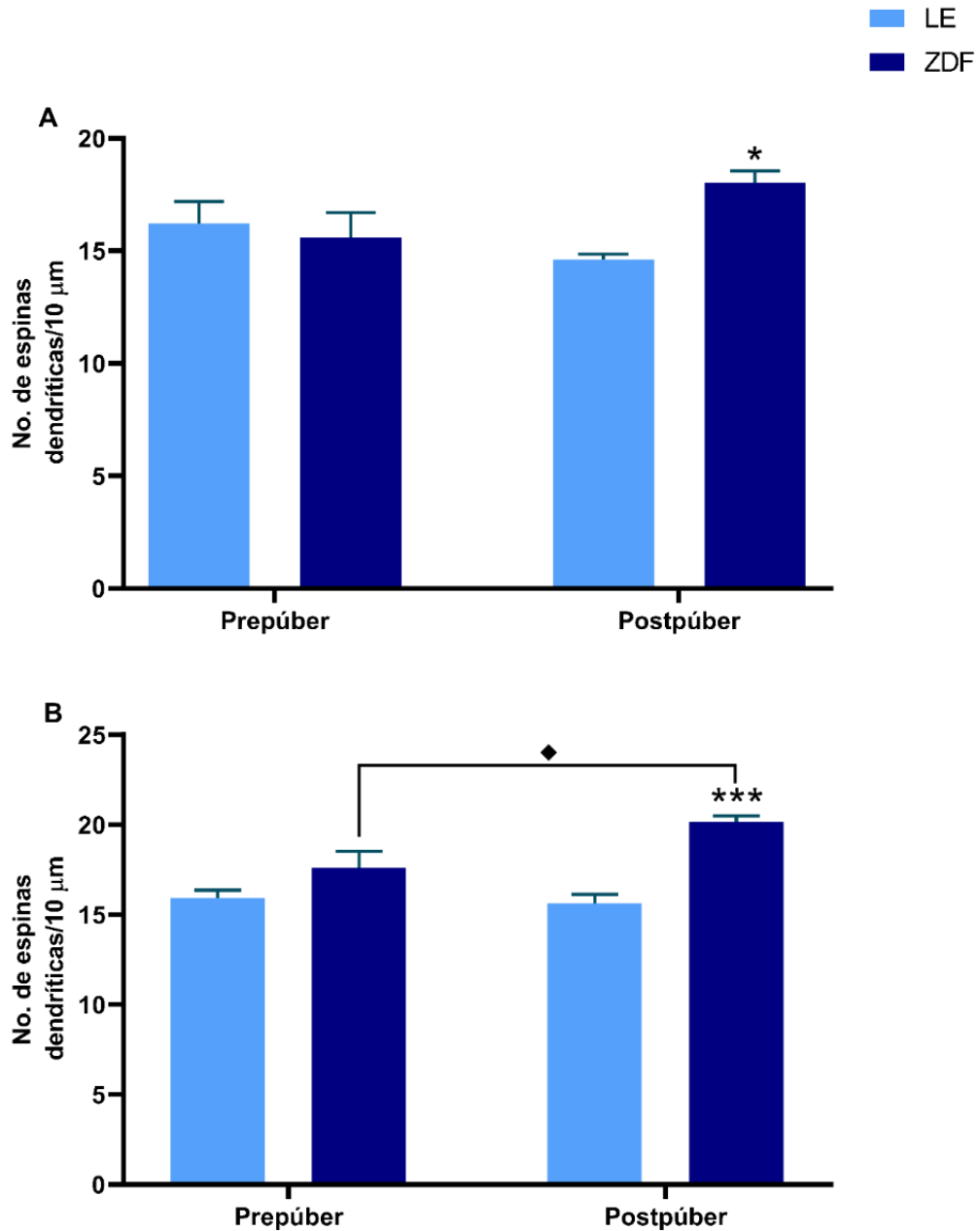


Figura 28. Densidad de espinas dendríticas de las neuronas de mPFC en ratas macho. A) Árbol basilar. Se observó un aumento significativo de la densidad de espinas dendríticas en las neuronas de las ratas macho Zucker *fa/fa* postpúber en comparación de las ratas macho Long Evans postpúber (*P=0.0321). B) Árbol apical. Las ratas macho Zucker *fa/fa* mostraron un aumento en la densidad de espinas dendríticas de las neuronas en comparación con las neuronas de las ratas Long Evans postpúberes y las ratas Zucker *fa/fa* prepúberes (***P=0.0001, *P=0.0279; n= 6 por grupo).

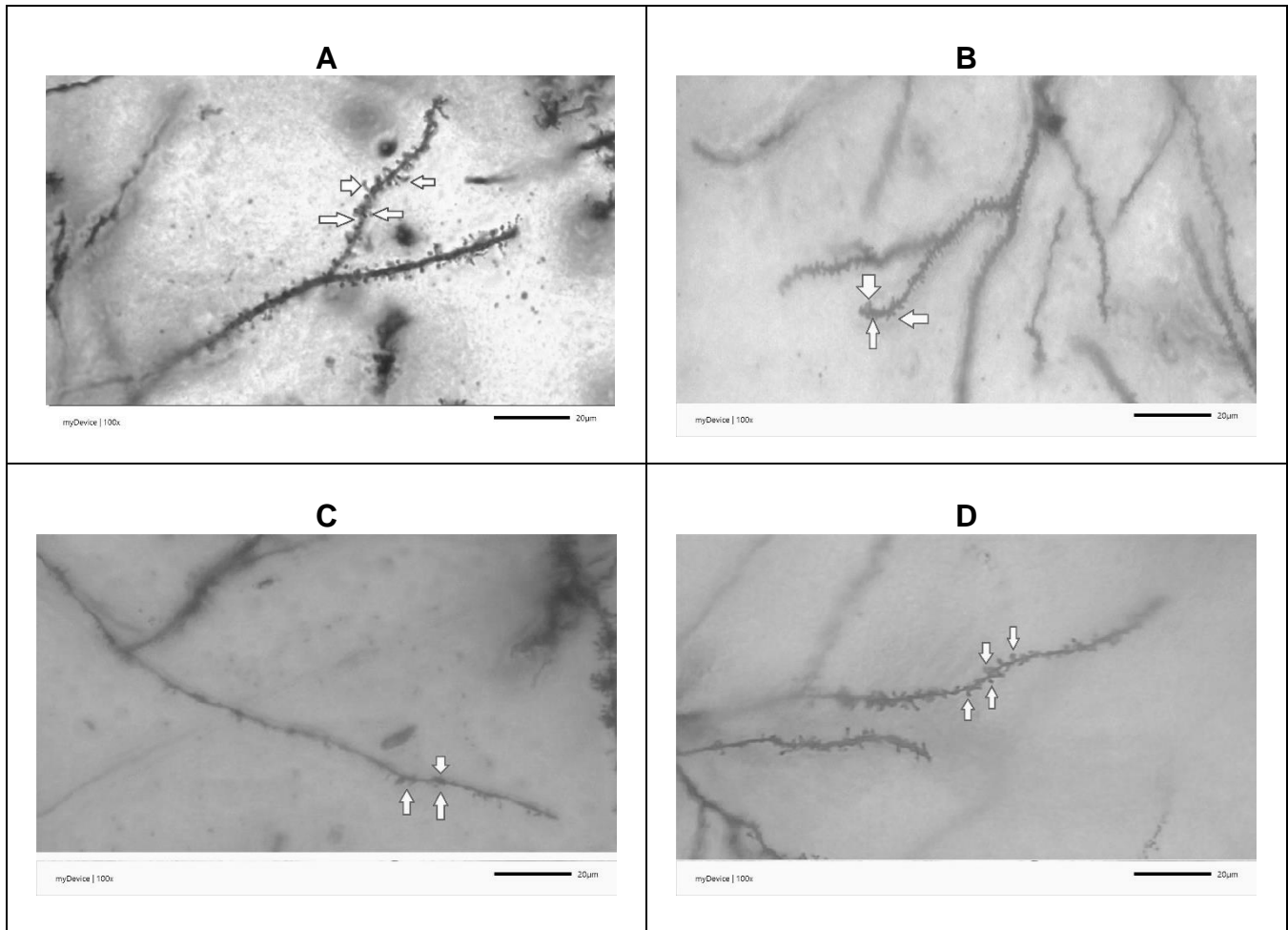


Figura 29. Microfotografía de las espinas dendríticas de mPFC impregnadas de Golgi-Cox. A) LE macho prepúber. B) Zucker *fa/fa* macho prepúber. C) LE macho postpúber. D) Zucker *fa/fa* macho postpúber. Barra de escala, 20 μm .

7.6. Morfología dendrítica de Amígdala Basolateral

7.6.1. Arborización dendrítica

7.6.1.1. Ratas hembra

En las neuronas del núcleo basolateral de la amígdala (BLA) de las ratas hembra Zucker *fa/fa* prepúberes se observa una disminución significativa en el número de intersecciones dendríticas del árbol basilar al nivel del círculo concéntrico 2 (Figura 30 A; Interacción: $F_{(34, 350)} = 0.5583$, $P=0.9796$; Círculo concéntrico: $F_{(34, 350)} = 281.2$, $P<0.0001$; Cepa: $F_{(1, 350)} = 7.455$, $P=0.0066$), mientras que en el árbol apical no se observan diferencias significativas (Figura 30 B; Interacción: $F_{(42, 430)} = 0.1273$, $P>0.9999$; Círculo concéntrico: $F_{(42, 430)} = 74.85$, $P<0.0001$; Cepa:

$F_{(1, 430)} = 46.58$, $P < 0.0001$). También se observó que las ratas hembra Zucker *fa/fa* postpúberes, expresan una disminución significativa en el número de intersecciones dendríticas del árbol basilar al nivel de los círculos concéntricos del 2 al 8 (Figura 31 A; Interacción: $F_{(34, 350)} = 3.774$, $P < 0.0001$; Círculo concéntrico: $F_{(34, 350)} = 336$, $P < 0.0001$; Cepa: $F_{(1, 350)} = 27.81$, $P < 0.0001$); mientras que en el árbol apical no se observan diferencias (Figura 31 B; Interacción: $F_{(42, 430)} = 0.3424$, $P > 0.9999$; Círculo concéntrico: $F_{(42, 430)} = 130.7$, $P < 0.0001$; Cepa: $F_{(1, 430)} = 0.6460$, $P = 0.6460$).

7.6.1.2. Ratas macho

Las ratas macho Zucker *fa/fa* prepúberes no muestran diferencias significativas el número de intersecciones dendríticas del árbol basilar de neuronas de la BLA (Figura 32 A; Interacción: $F_{(34, 350)} = 0.2349$, $P > 0.9999$; Círculo concéntrico: $F_{(34, 350)} = 624.6$, $P < 0.0001$; Cepa: $F_{(1, 350)} = 3.217$, $P = 0.0737$), sin embargo, el árbol apical muestra una disminución en el número de intersecciones dendríticas al nivel del círculo concéntrico 11 (Figura 32 B; Interacción: $F_{(42, 430)} = 0.3424$, $P > 0.9999$; Círculo concéntrico: $F_{(42, 430)} = 130.7$, $P < 0.0001$; Cepa: $F_{(1, 430)} = 0.6460$, $P = 0.6460$). También, se observa que las ratas macho Zucker *fa/fa* postpúberes, presentaron una disminución significativa en el número de intersecciones dendríticas del árbol basilar al nivel de los círculos concéntricos 5 al 7 (Figura 33 A; Interacción: $F_{(34, 350)} = 1.464$, $P = 0.0497$; Círculo concéntrico: $F_{(34, 350)} = 178.5$, $P < 0.0001$; Cepa: $F_{(1, 350)} = 21.05$, $P < 0.0001$); mientras que el árbol apical de esas mismas neuronas presenta una disminución en el número de intersecciones dendríticas en el círculo concéntrico 5 (Figura 33B; Interacción: $F_{(42, 430)} = 1.112$, $P = 0.2967$; Círculo concéntrico: $F_{(42, 430)} = 115$, $P < 0.0001$; Cepa: $F_{(1, 430)} = 6.076$, $P = 6.076$).

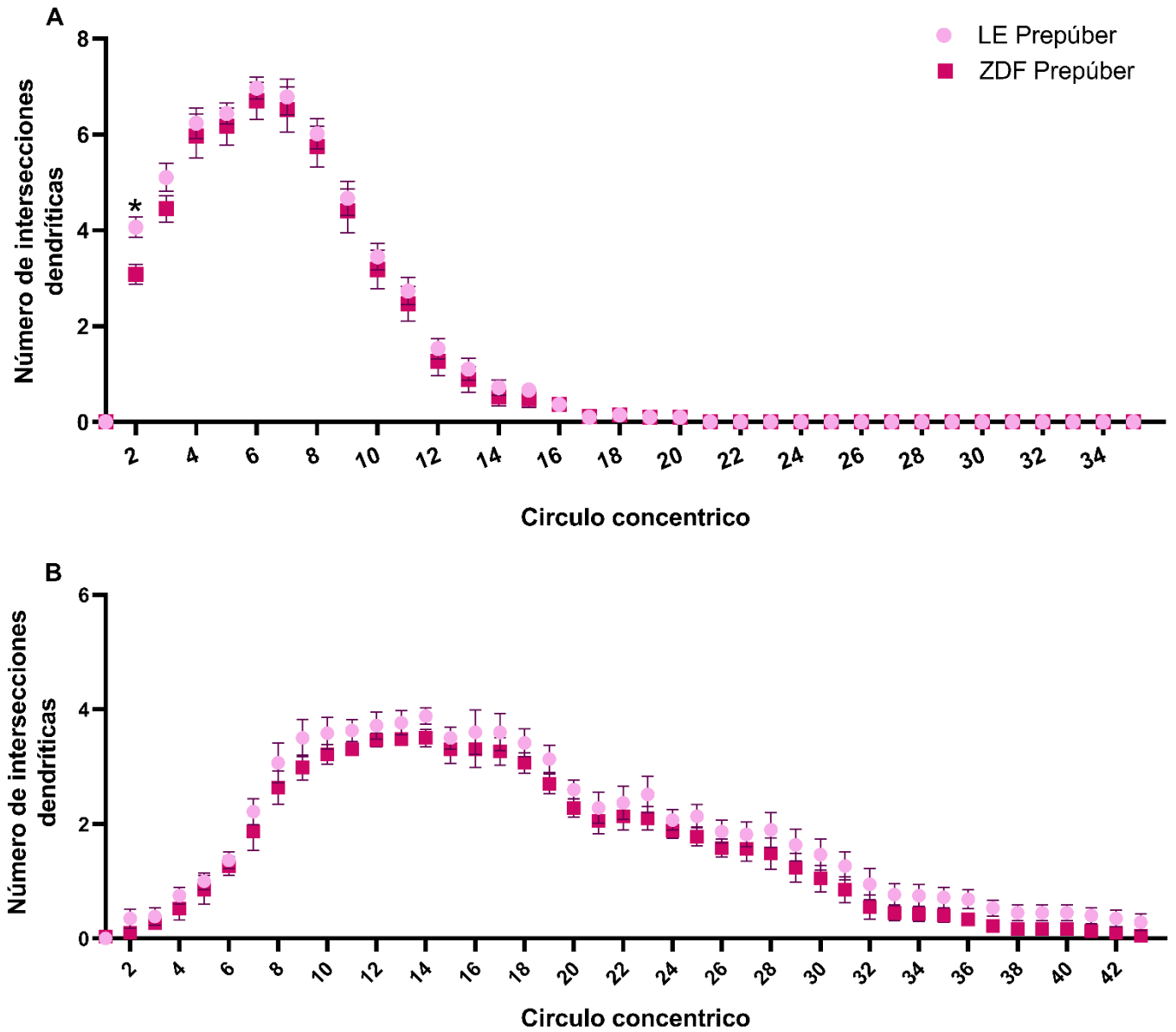


Figura 30. Arborización dendrítica de neuronas de BLA de ratas hembra prepúber. A) Árbol basilar. Se observa una disminución significativa en el grupo de ratas hembra Zucker *fa/fa* prepúberes al nivel del círculo concéntrico 2 (* $P=0.0218$). B) Árbol apical. No se observan diferencias; ($n=6$ por grupo).

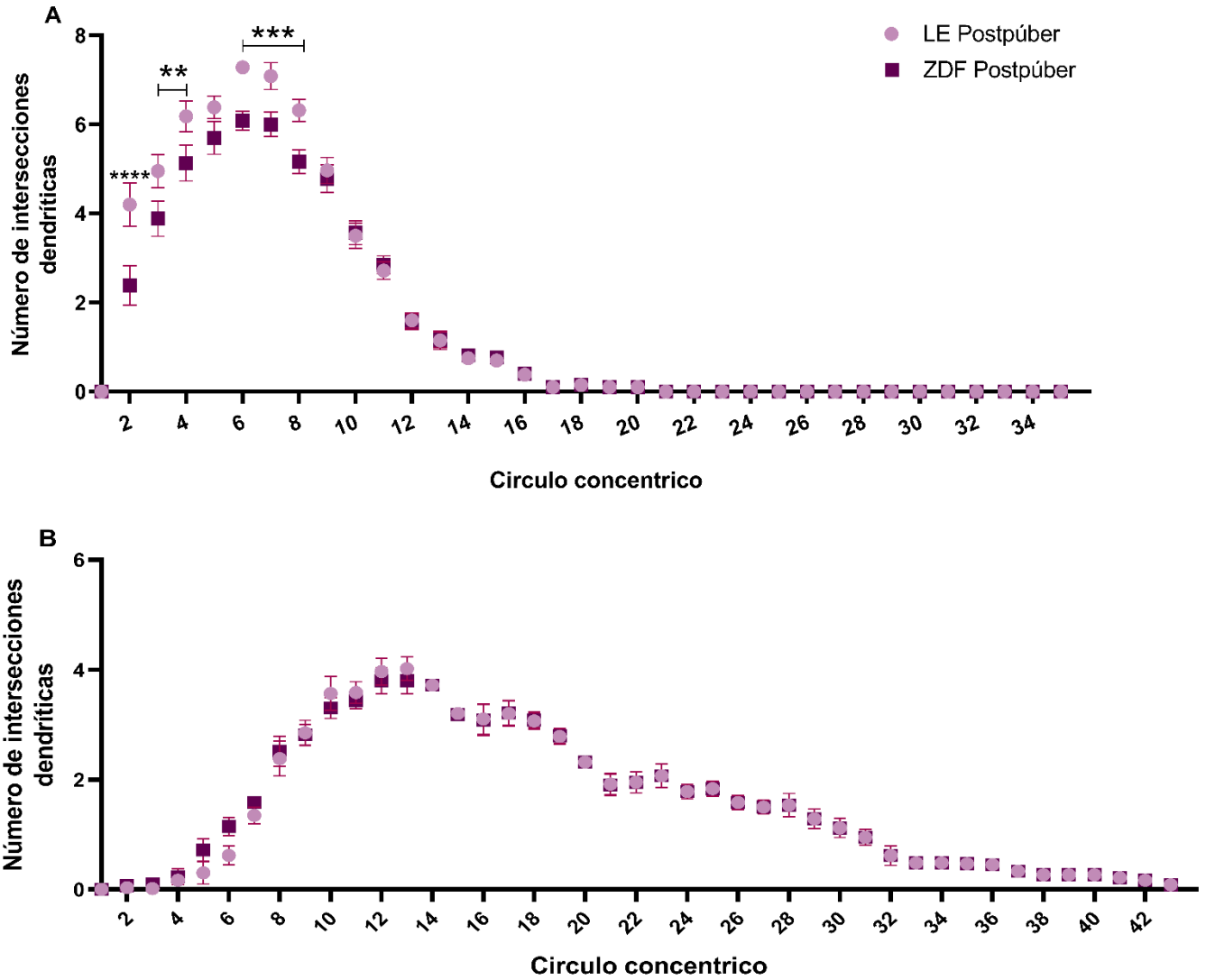


Figura 31. Arborización dendrítica de neuronas de BLA de ratas hembra postpúber. A) Árbol basilar. Se observan diferencias significativas en los círculos concéntricos 2 al 8 (**P=0.0011, ***P=0.0001, ****P<0.0001). B) Árbol apical. No se observan diferencias; (n= 6 por grupo).

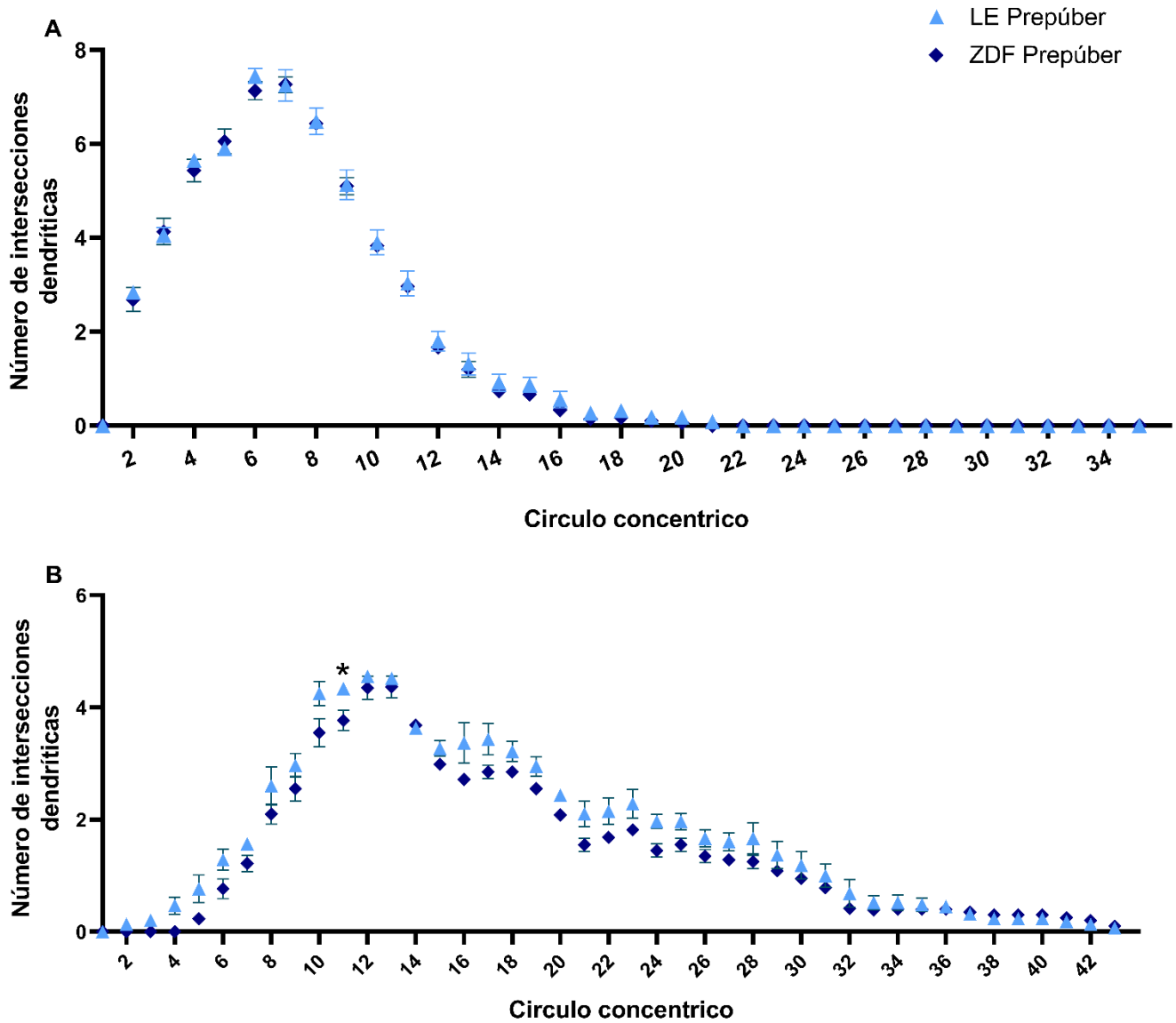


Figura 32. Arborización dendrítica de neuronas de la BLA de ratas macho prepúber. A) Árbol basilar. No se evidencian diferencias significativas. B) Árbol apical. Se presenta una disminución al nivel del círculo concéntrico 11; (n= 6 por grupo).

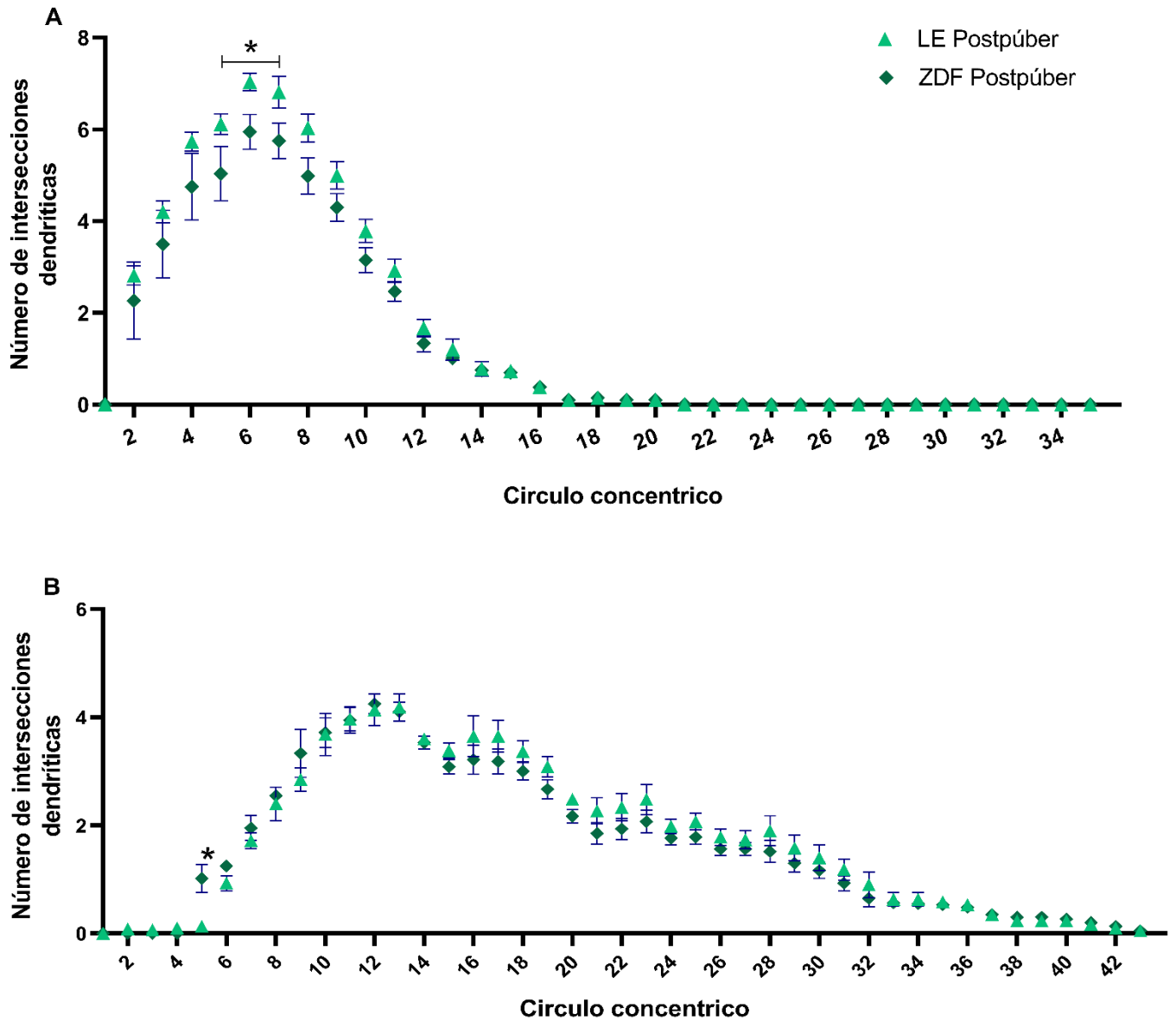


Figura 33. Arborización dendrítica de neuronas de la BLA de ratas macho postpúber. A) Árbol basilar. Se observan diferencias significativas en las ratas macho Zucker *fa/fa* postpúberes al nivel de los círculos concéntricos 5 al 7 (* $P=0.0360$). B) Árbol apical. No se encontraron diferencias significativas; ($n=6$ por grupo).

7.6.2. Longitud dendrítica

7.6.2.1. Ratas hembra

En lo que respecta a la LDT de las neuronas de BLA, se observó que las los árboles dendríticos basilar y apical de las neuronas de BLA de las ratas hembra LE y Zucker *fa/fa* prepúberes expresan una longitud dendrítica significativamente menor que los árboles dendríticos de las

neuronas de las LE y Zucker *fa/fa* postpúberes (Figura 34 A; Interacción: $F_{(1, 20)} = 5.475$, $P=0.0298$; Edad: $F_{(1, 20)} = 70.69$, $P<0.0001$; Ceba: $F_{(1, 20)} = 1.951$, $P=0.1778$; Figura 34 B; Interacción: $F_{(1, 20)} = 2.081$, $P=0.1646$; Edad: $F_{(1, 20)} = 38.92$, $P<0.0001$; Ceba: $F_{(1, 20)} = 0.5241$, $P=0.4775$).

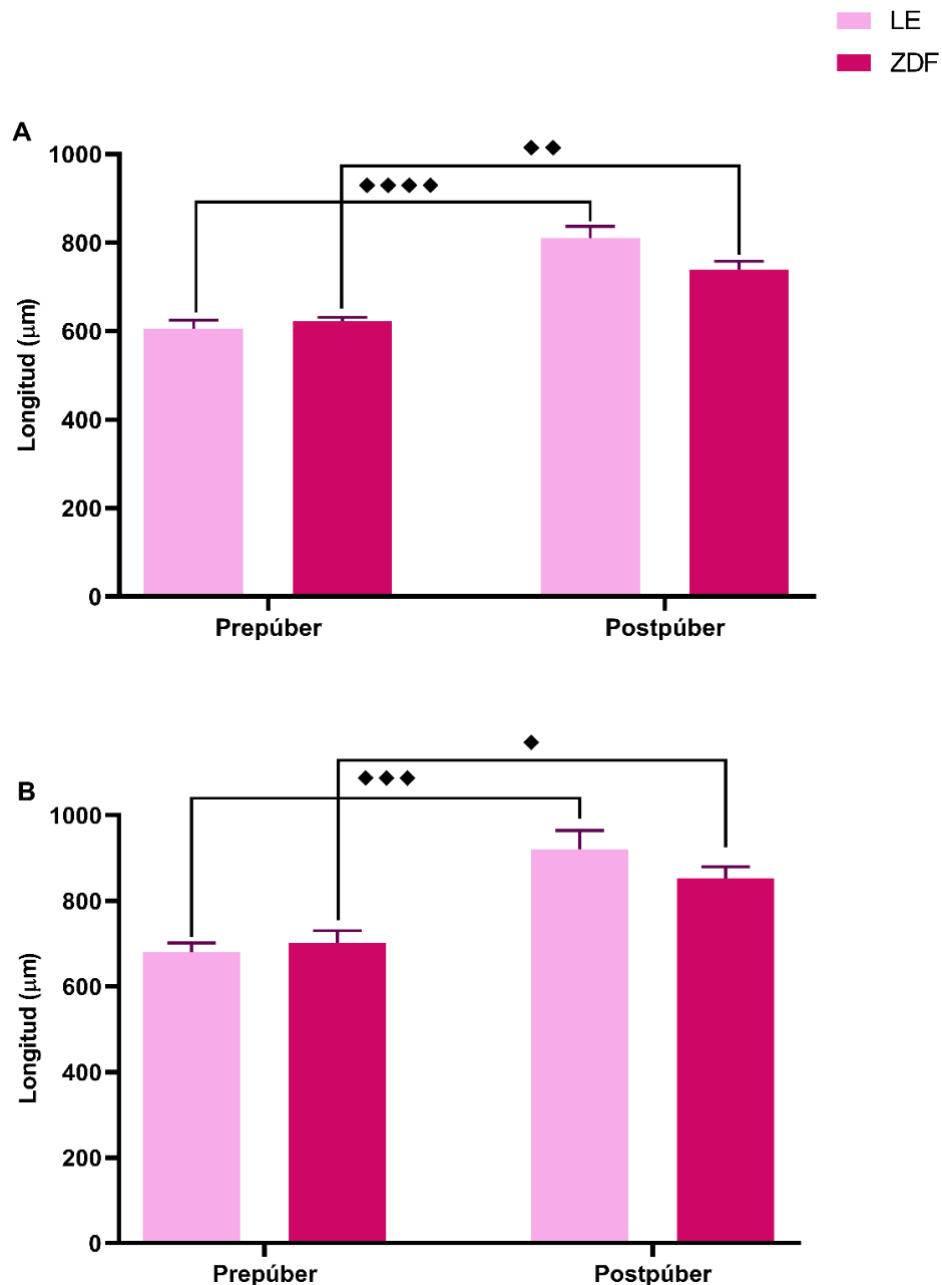


Figura 34. Longitud dendrítica total de los árboles dendríticos de las neuronas de BLA de ratas hembra. A) Árbol basilar (* $P=0.0381$, ** $P=0.0064$). B) Árbol apical (* $P=0.0262$, ** $P=0.0072$, *** $P<0.0001$). En ambos árboles dendríticos, se observa que la longitud es significativamente menor en las neuronas de las ratas LE y Zucker *fa/fa* prepúberes respecto de las ratas LE y Zucker *fa/fa* postpúberes, respectivamente; ($n=6$ por grupo).

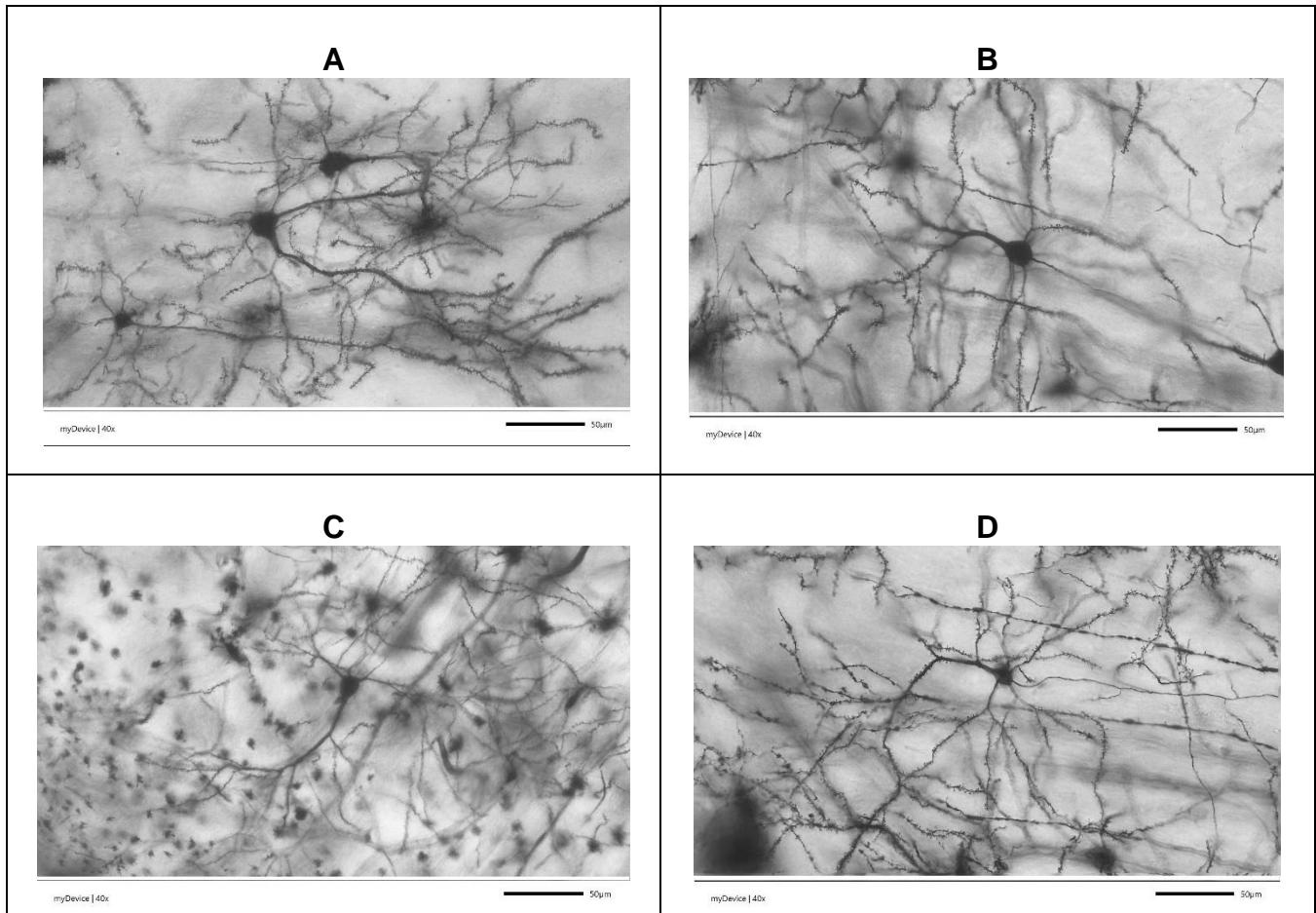


Figura 35. Microfotografía de las neuronas de BLA impregnadas de Golgi-Cox. A) LE hembra prepúber. B) Zucker *fa/fa* hembra prepúber. C) LE hembra postpúber. D) Zucker *fa/fa* hembra postpúber. Barra de escala, 50 µm.

7.6.2.2. Ratas macho

En las ratas macho Zucker *fa/fa* postpúber, la longitud dendrítica de los árboles basales de las neuronas de BLA, es significativamente menor en comparación con las mismas neuronas de las ratas macho Zucker *fa/fa* prepúber y las ratas macho LE postpúber (Figura 36 A; Interacción: $F_{(1, 20)} = 11.5$, $P=0.0029$; Edad: $F_{(1, 20)} = 11.26$, $P=0.0031$; Cepa: $F_{(1, 20)} = 1.802$, $P=0.1945$). En cuanto a los árboles dendríticos apicales, las neuronas de las ratas macho LE postpúberes muestran una disminución en comparación con las neuronas de las ratas LE prepúberes; del mismo modo, las ratas macho Zucker *fa/fa* postpúberes expresan árboles dendríticos apicales

de menor longitud respecto de las neuronas de las ratas macho Zucker *fa/fa* prepúberes (Figura 36 B; Interacción: $F_{(1, 20)} = 0.0165$, $P=0.8990$; Edad: $F_{(1, 20)} = 25.26$, $P<0.0001$; Cepa: $F_{(1, 20)} = 10.93$, $P=0.0035$).

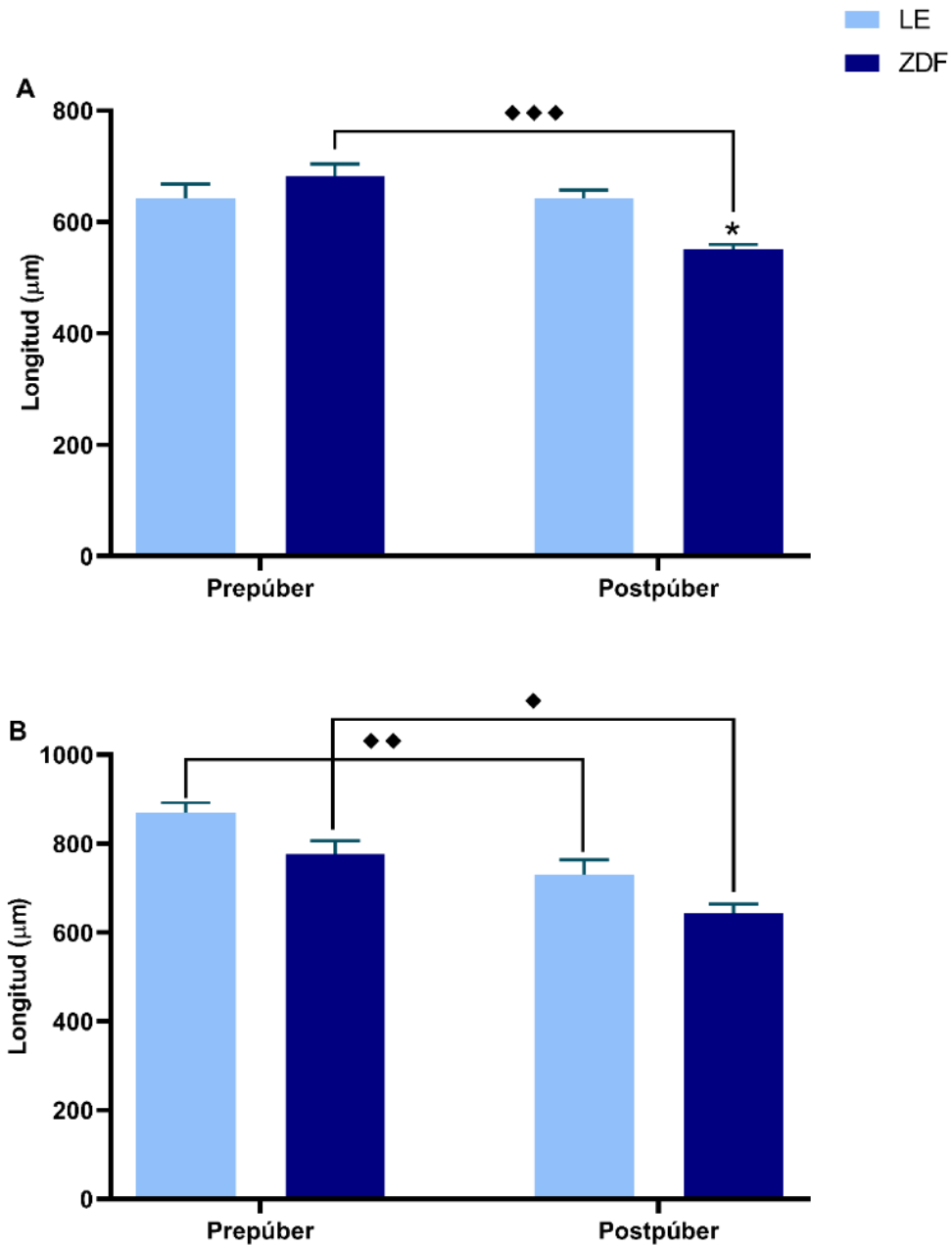


Figura 36. Longitud dendrítica total de las neuronas de BLA de ratas macho. A) Árbol basilar. Se observó una disminución significativa en la longitud de las neuronas de las ratas macho Zucker prepúber en comparación con las ratas Long Evans postpúberes y las ratas macho Zucker *fa/fa* prepúberes (* $P=0.0381$, *** $P=0.0064$). B) Árbol apical. Se observa una disminución en la longitud de las neuronas de las ratas macho Zucker *fa/fa* postpúberes en comparación con las ratas macho Zucker *fa/fa* prepúberes; así mismo, se observa una disminución en el grupo de ratas Long Evans postpúberes en comparación con las ratas Long Evans prepúberes (* $P=0.0262$, ** $P=0.0072$, **** $P<0.0001$; $n=6$ por grupo).

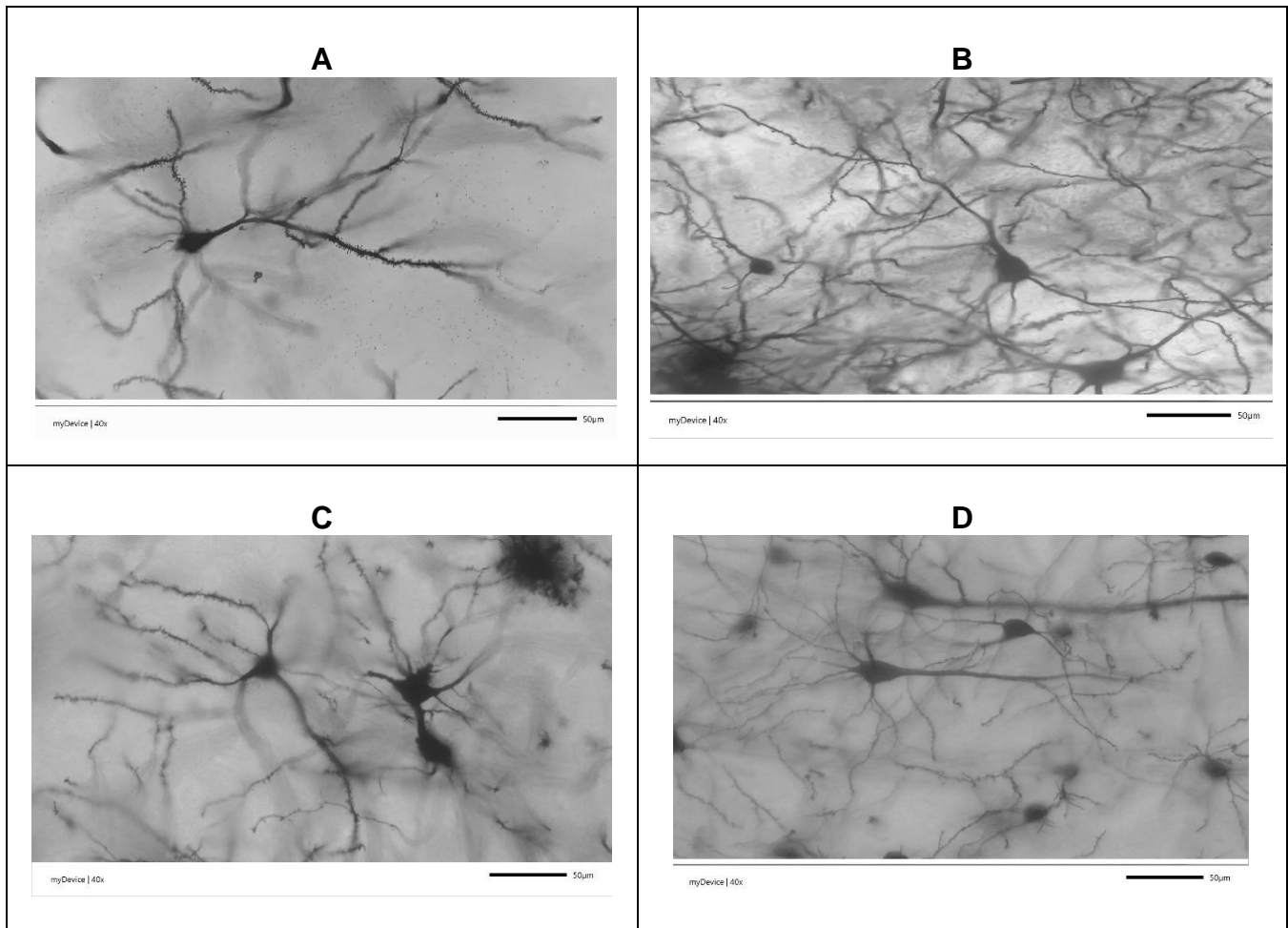


Figura 37. Microfotografía de las neuronas de BLA impregnadas de Golgi-Cox. A) LE macho prepúber. B) Zucker *fa/fa* macho prepúber. C) LE macho postpúber. D) Zucker *fa/fa* macho postpúber. Barra de escala, 50 μm .

7.6.3. Densidad de espinas dendríticas

7.6.3.1. Ratas hembra

Respecto de la DED, tanto el árbol basilar como el árbol apical de las neuronas de BLA de las ratas hembra Zucker *fa/fa* prepúberes, muestran un incremento significativo en comparación con las ratas LE prepúberes (Figura 38 A ; Interacción: $F_{(1, 20)} = 13.41$, $P=0.0015$; Edad: $F_{(1, 20)} = 2.920$ $P=0.1029$, Cepa: $F_{(1, 20)} = 3.343$, $P=0.0825$; Figura 38 B; Interacción: $F_{(1, 20)} = 15.90$, $P=0.0007$; Edad: $F_{(1, 20)} = 1.754$, $P=0.2003$; Cepa: $F_{(1, 20)} = 2.653$, $P=0.1190$).

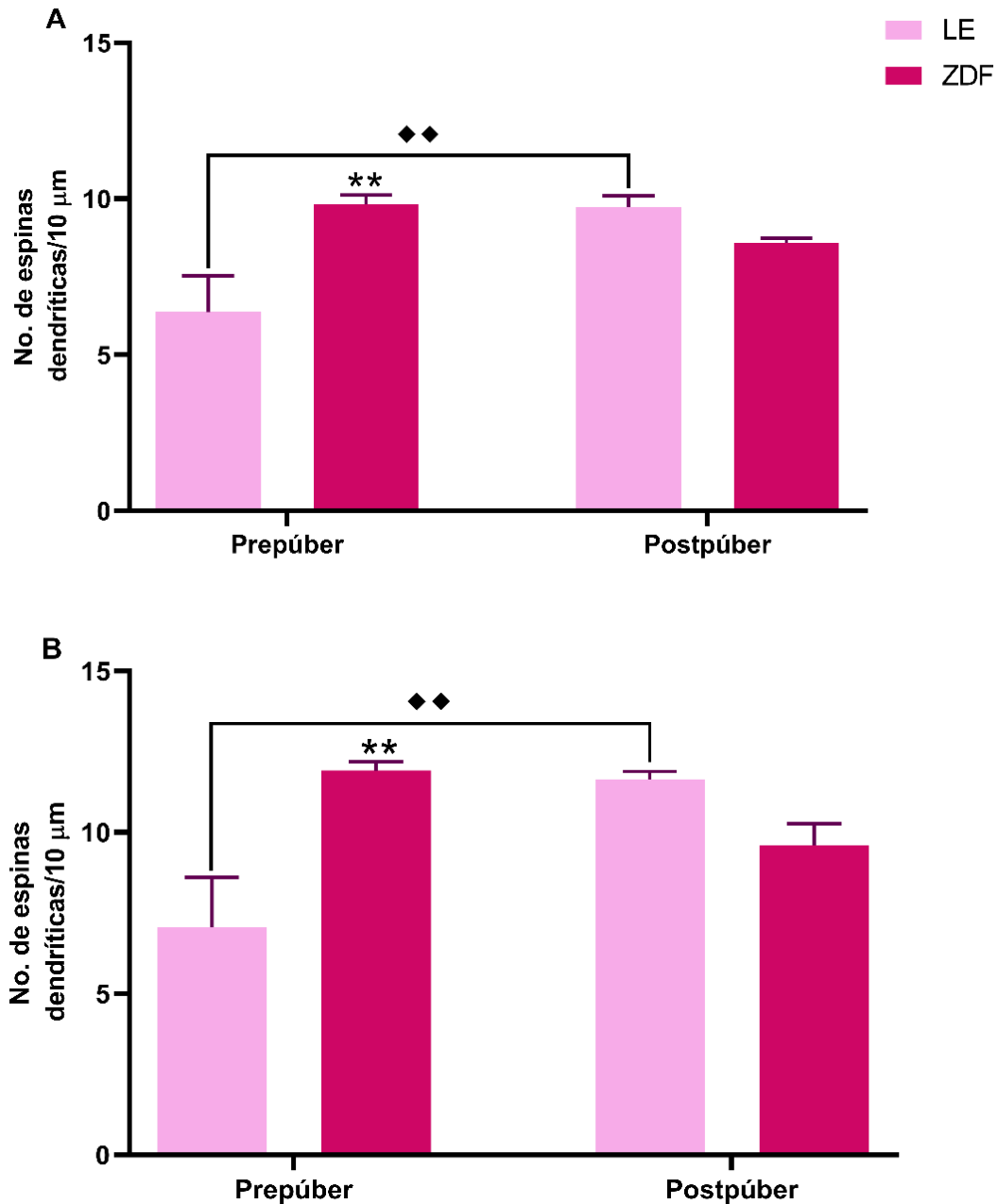


Figura 38. Densidad de espinas dendríticas de las neuronas de BLA de ratas Zucker *fa/fa* hembra. A) Árbol basilar (**P=0.0057, **P=0.0047). B) Árbol apical (**P=0.0039, **P=0.0063). En ambos arboles dendríticos se observa un aumento significativo en el número de espinas dendríticas de las Zucker *fa/fa* prepúber en comparación con las ratas Long Evans prepúber, también se observa que en el grupo de ratas Long Evans postpúber, muestran una mayor densidad de espinas dendríticas en comparación con las ratas LE de edad prepúber; (n= 6 por grupo).

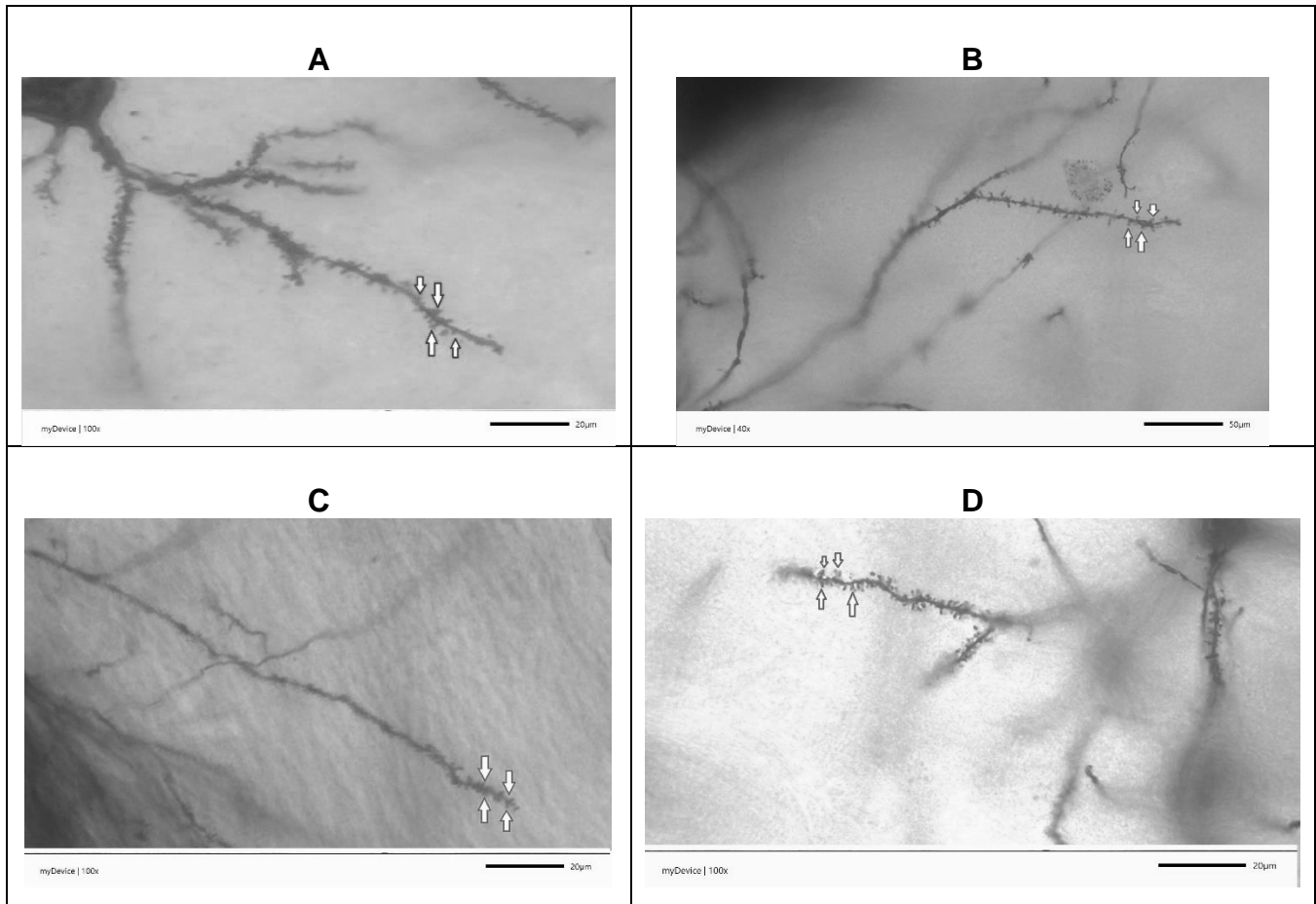


Figura 39. Microfotografía de las espinas dendríticas de BLA impregnadas de Golgi-Cox. A) LE hembra prepúber. B) Zucker *fa/fa* hembra prepúber. C) LE hembra postpúber. D) Zucker *fa/fa* hembra postpúber. Barra de escala, 20 μ m.

7.6.3.2. Ratas macho

Por otro lado, las ratas macho Zucker *fa/fa* postpúber, expresan una disminución en la DED del árbol dendrítico basilar de las neuronas de BLA, en comparación con los mismos neuronas de las ratas macho Zucker *fa/fa* prepúber (Figura 40 A; Interacción: $F_{(1, 20)} = 1.706$, $P=0.2063$; Edad: $F_{(1, 20)} = 15.78$, $P=0.0008$; Cepa: $F_{(1, 20)} = 0.4950$, $P=0.4898$); también el árbol apical de las neuronas de las ratas macho LE así como de las neuronas de las ratas macho Zucker *fa/fa* postpúber, expresa una disminución en la DED, cuando se compara con lo observado de las neuronas de las ratas LE y Zucker *fa/fa* prepúber respectivamente (Figura 40 B; Interacción: $F_{(1, 20)} = 0.3426$, $P=0.5649$; Edad: $F_{(1, 20)} = 111.9$, $P<0.0001$; Cepa: $F_{(1, 20)} = 0.0719$, $P=0.7912$).

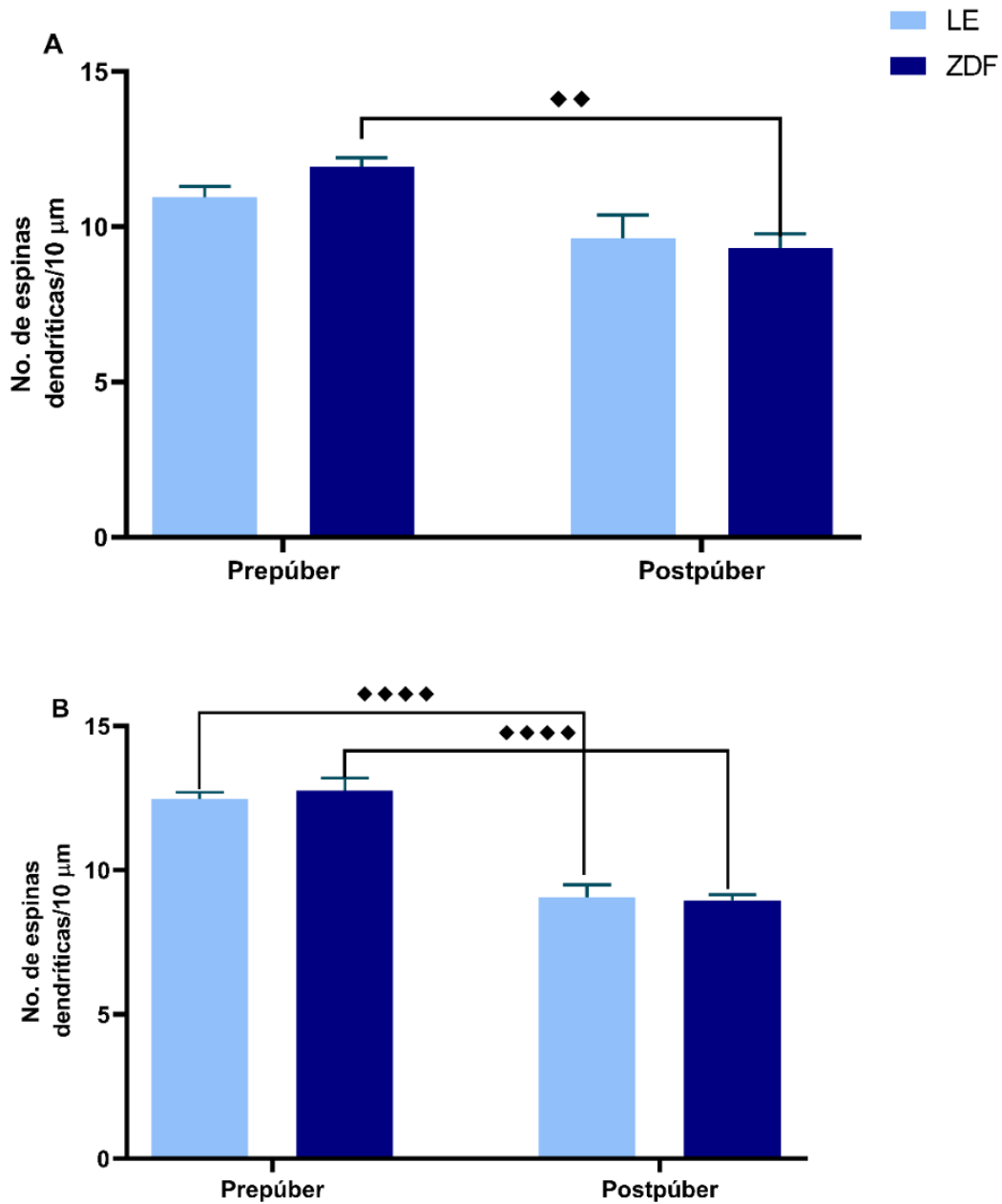


Figura 40. Densidad de espinas dendríticas de las neuronas de BLA de ratas macho. A) Árbol basilar, se presenta una disminución significativa en el número de espinas dendríticas de las neuronas de las ratas Zucker *fa/fa* postpúber en comparación con las neuronas de las ratas Zucker *fa/fa* prepúber (** $P=0.0066$). B) Árbol apical, se presenta una disminución significativa en el número de espinas dendríticas de las neuronas de las ratas macho Zucker *fa/fa* postpúberes respecto de las neuronas de las ratas Zucker *fa/fa* prepúberes, además de una disminución en las neuronas de las ratas macho Long Evans postpúberes en comparación con las ratas macho LE prepúberes (**** $P<0.0001$; $n=6$ por grupo).

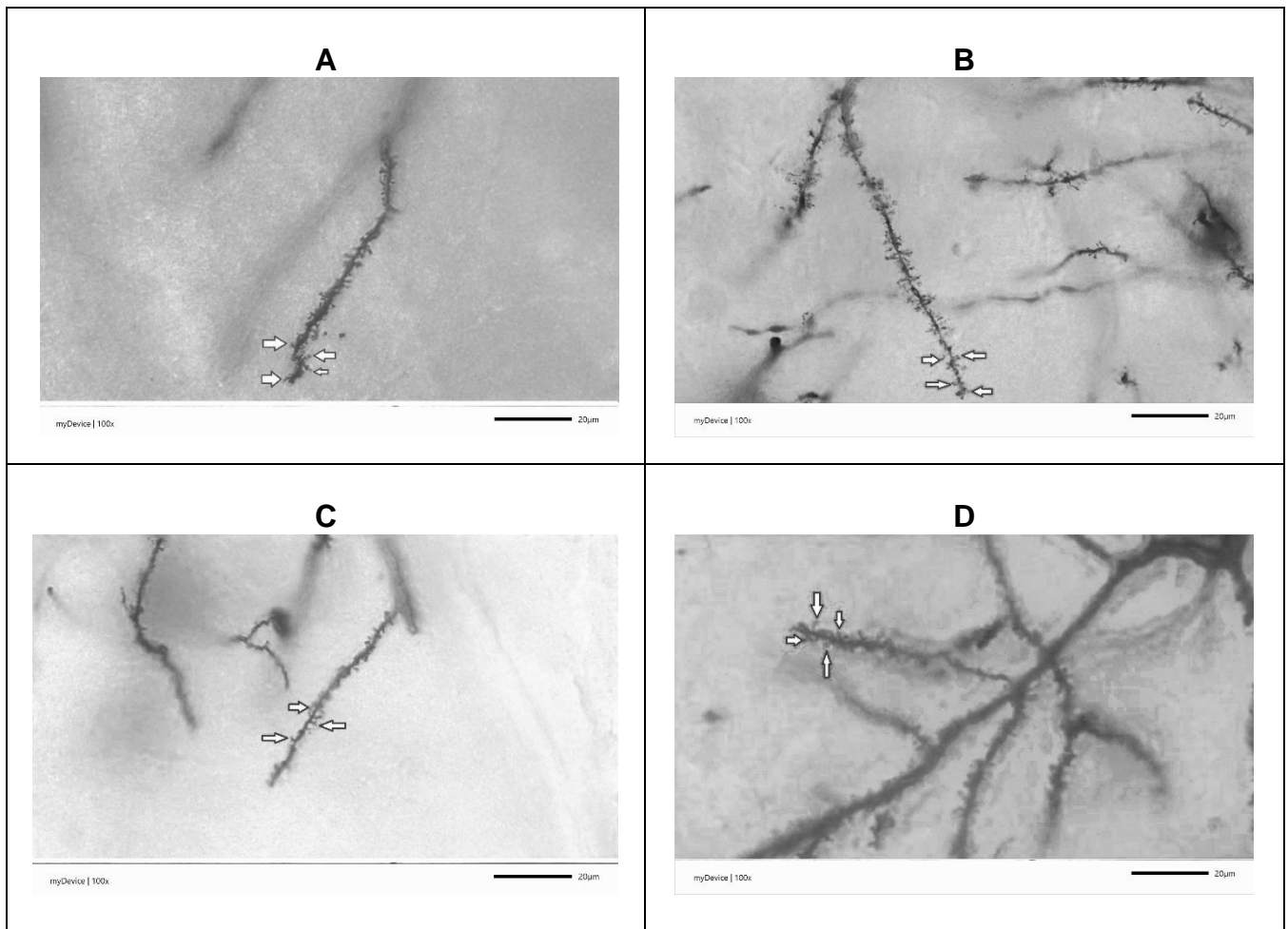


Figura 41. Microfotografía de las espinas dendríticas de BLA impregnadas de Golgi-Cox. A) LE macho prepúber. B) Zucker *fa/fa* macho prepúber. C) LE macho postpúber. D) Zucker *fa/fa* macho postpúber. Barra de escala, 20 μm.

8. Discusión

Este estudio constituye la primera investigación que documenta modificaciones en la arborización dendrítica y en la densidad de espinas dendríticas de las neuronas piramidales de la capa V de la mPFC y de la BLA durante el desarrollo peripuberal de las ratas Zucker *fa/fa*. En conjunto, los resultados observados respecto de la arborización dendrítica de neuronas de la mPFC y de la BLA sugieren que los procesos de remodelación dendrítica son dependientes de la edad, del sexo y de la obesidad.

Los resultados que muestran un aumento en los parámetros zoométricos de las ratas Zucker *fa/fa*, tanto en hembras como en machos, en las etapas prepúberes y postpúberes, son consistentes con un estado de obesidad, conforme a la clasificación establecida por Lee (1929). Estas ratas también presentaron concentraciones elevadas de glucosa, de colesterol total y de triglicéridos en suero. Debido a la mutación "fatty" que presentan las ratas Zucker *fa/fa*, la leptina no puede unirse al receptor ObRb, por lo tanto, no se activan las vías de señalización JAK-STAT, PI3K-Akt y AMPK (Villanueva & Myers, 2008), lo cual promueve en estos organismos hiperlipidemia, hipercolesterolemia, hiperinsulinemia e hiperglucemia, además de hipertrofia e hiperplasia del tejido adiposo (Takemasa *et al.*, 1999). Además, nuestros datos concuerdan con lo reportado por Fumiki *et al.* (2005), quienes establecen que el fenotipo de obesidad en las ratas Zucker *fa/fa* se manifiesta después de la tercera semana de vida. De acuerdo con nuestros resultados se sugiere que las ratas hembra y macho Zucker *fa/fa* prepúberes y postpúberes son propensas a desarrollar alteraciones metabólicas asociadas con la obesidad, tales como estrés oxidativo, inflamación y disfunción mitocondrial, lo que puede contribuir a la pérdida neuronal y a la disminución de la plasticidad neuronal (Mergenthaler, *et al.*, 2013).

En cuanto a las concentraciones de testosterona, se establece que la etapa puberal en las ratas macho inicia con la separación del balano prepucial y la producción de espermatozoides, alrededor de los días 49 y 56 postnatales, y que el pico de testosterona para alcanzar la maduración sexual se presenta alrededor de los días 63 y 70 posnatales (Ojeda & Skinner, 2006; Fuochi, 2022). Esto puede explicar porque no tuvimos diferencias significativas en las concentraciones de testosteronas entre los individuos LE y Zucker *fa/fa* prepúberes y postpúber; no obstante, se observó que los machos Zucker *fa/fa* de ambas etapas presentan

una tendencia al incremento en la concentración de testosterona, por lo que consideramos necesario aumentar la n para confirmar la información. Se sabe que la testosterona es esencial para el metabolismo de carbohidratos, de grasas y de proteínas, y que juega un papel crucial en modular la composición corporal y la masa muscular de los machos (Sebo & Rodeheffer, 2021). En diversos estudios se ha demostrado que la administración endógena de testosterona y de testosterona unida a la albúmina sérica bovina (testosterona-BSA) provocan el aumento en la captación de glucosa dependiente del transportador de glucosa tipo 4 (GLUT4) a través de la vía de señalización LKB1/AMPK en adipocitos3T3-L1, músculo esquelético y cardiomiocitos (Sato, *et al.*, 2008; Wilson, *et al.*, 2013; Mitsuhashi, *et al.*, 2016). Comprobando así que las concentraciones séricas de testosterona en machos pueden estar asociadas con trastornos metabólicos (Laaksonen, *et al.*, 2004). En ratas macho Zucker obesas de 22 semanas de edad, se evaluaron los efectos cardiovasculares y metabólicos del tratamiento crónico de testosterona durante 10 semanas. Se observó una disminución en los niveles plasmáticos de insulina y colesterol, así como una mejora en la prueba de tolerancia oral a la glucosa. Estos hallazgos sugieren que, la terapia con testosterona podría ser considerada como un tratamiento del síndrome metabólico, aunque se requieren más estudios en humanos para confirmar estos resultados (Davis, *et al.*, 2012).

En contraste, las ratas hembra Zucker *fa/fa* prepúber y postpúber presentan mayor concentración de estradiol en comparación con las ratas hembra LE, este aumento podría deberse al incremento del tono simpático, mostrado como el incremento de las fibras catecolaminérgicas del ovario (Puga Y Colmenares, *et al.*, 2021). Se ha demostrado que el estrés provocado por ejercicio intenso o dolor físico, por ejemplo, puede inhibir la función ovárica debido a la activación de los nervios simpáticos, reflejándose en el incremento de la secreción de estradiol (Uchida, *et al.*, 2019). Sumado a ello, la concentración elevada de estradiol también podría estar influyendo en los parámetros zoométricos y de las concentraciones séricas de glucosa, colesterol y triglicéridos en las hembras Zucker *fa/fa*, debido a que los estrógenos desempeñan un papel crucial en el metabolismo del tejido adiposo (Kim, *et al.*, 2014). Dicho tejido, influye en el equilibrio energético y en la homeostasis de la glucosa mediante diversas vías de señalización metabólica, en las que mediante la activación de los receptores de estrógenos se altera la actividad de enzimas lipolíticas y/o lipogénicas, así como el metabolismo

de ácidos grasos libres y la producción de adipocitoquinas (Figura 42) (Barros & Gustafsson, 2011; Mauvais-Jarvis, *et al.*, 2013).

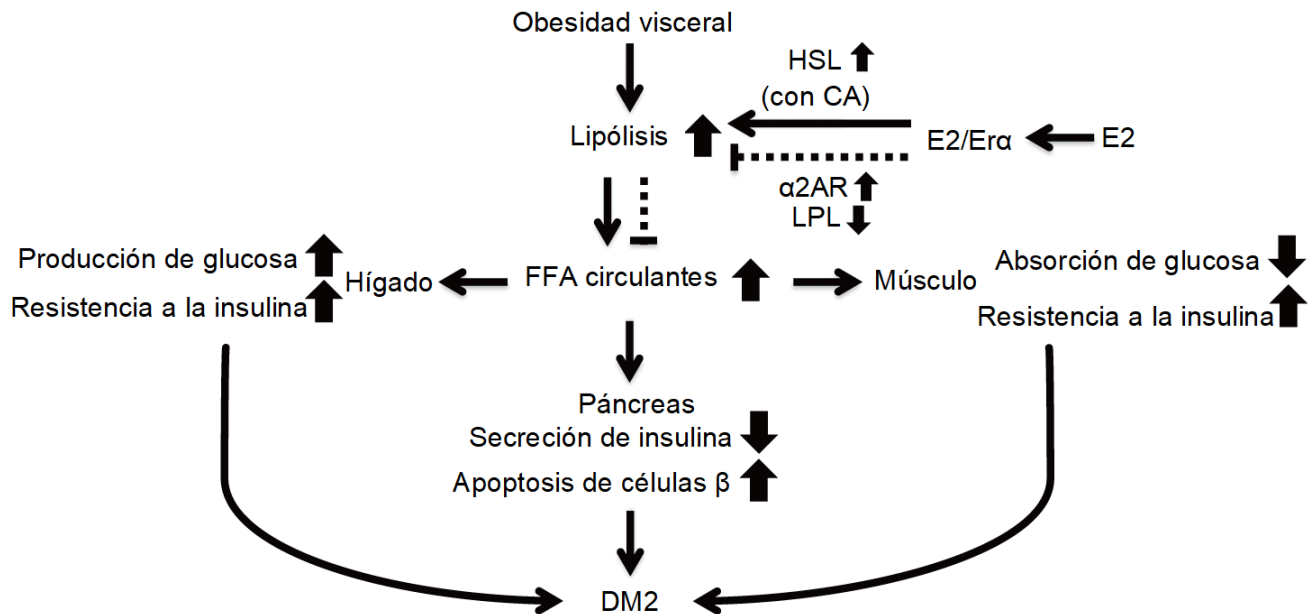


Figura 42. Mecanismo de regulación estrogénica en la homeostasis glucémica. El E2 (estradiol) puede atenuar la lipólisis en el tejido adiposo mediante la regulación al alza del receptor adrenérgico (α 2AR) y la regulación a la baja de LPL (lipoproteína lipasa) a través del receptor de estrógeno α ($E\alpha$). Además, los estrógenos pueden mejorar la expresión de la lipasa sensible a hormonas (HSL), una enzima que regula la lipólisis en el tejido adiposo. Una disminución en la circulación de FFA (ácidos grasos libres) como resultado del incremento de E2 puede ser un contribuyente importante para la protección contra la resistencia sistémica a la insulina y DM2. Aunque la expresión y/o actividad mejorada de HSL aumenta la liberación de FFA en la sangre, el efecto de los estrógenos en la lipólisis mediada por HSL puede depender de la presencia de catecolaminas (Imagen tomada y modificada de Kim, *et al.*, 2014).

En cuanto a la morfología neuronal en la mPFC, se observan diferencias en las ratas hembra Zucker *fa/fa* prepúberes en comparación con el grupo control. Primero, experimentan una disminución en la LDT y en la DED. Posteriormente, en la etapa postpúber, se registra un incremento en estas variables. Este patrón sugiere que las ratas hembra Zucker *fa/fa* experimentan alteraciones en el neurodesarrollo peripuberal, debido a que durante la transición de la edad prepúber a la postpúber, se presenta una elongación dendrítica, que no es propia del neurodesarrollo normal.

Además, en la edad postpúber, se registra una disminución en el número de intersecciones dendríticas, lo que sugiere un proceso de remodelación dendrítica. Este patrón no coincide con las observaciones de Koss y colaboradores (2014), quienes reportaron un aumento significativo en la LDT y en la DED en neuronas de la mPFC durante el periodo juvenil (20 y 35 días de edad) y, posteriormente, una poda de espinas dendríticas basales en ambos sexos, junto con una retracción dendrítica específica en las hembras durante el periodo adolescente (35 y 90 días de edad).

En las neuronas de la mPFC de las ratas macho Zucker *fa/fa* postpúber, se observó un aumento de la LDT, al nivel del árbol basilar y un aumento en la DED en ambos arboles dendríticos, lo cual no se presenta en los machos LE. Estas diferencias indican que, los machos Zucker *fa/fa*, al pasar de la edad prepúber a la edad postpúber, al igual que las hembras Zucker *fa/fa*, presentan alteraciones del neurodesarrollo peripuberal normal.

En presencia de un receptor de leptina funcional, la hormona inhibe la formación de dendritas al activar la calcineurina y facilitar la endocitosis de los AMPAR que carecen de GluA2 (Valerio, *et al.*, 2006; O'Malley *et al.*, 2007). Ese mecanismo de regulación de la arborización dendrítica es ausente en las ratas Zucker *fa/fa* debido a la mutación del receptor, por tanto, sugerimos que a partir de ello se facilita la elongación dendrítica y el aumento de las espinas dendríticas observado con nuestros resultados. Además, la ausencia de endocitosis de AMPAR podría resultar en una potenciación a largo plazo (LTP) y una sobre excitabilidad neuronal (Raynaud *et al.*, 2013), lo que podría desencadenar una sobre activación de las GTPasas: RhoA, Rac y Cdc42, las cuales regulan la morfogénesis dendrítica al influir en la formación de filamentos de actina y en la remodelación del citoesqueleto (Elia *et al.*, 2006).

Otro factor que podría estar contribuyendo en la expresión de retracción dendrítica en las neuronas del mPFC es la dinámica de los receptores NMDA y la subunidad GluA2 del AMPAR. Estudios indican que, estos receptores alcanzan su punto máximo de expresión alrededor de los días 28-30 de edad y experimentan una disminución hacia el día 60 (Murphy *et al.*, 2012). Además, el aumento de fibras dopaminérgicas en la mPFC entre los días 20 y 60 de vida, coincide con el pico de densidad de receptores de dopamina D1 y D2 en los días 40-60 de vida (Brenhouse *et al.*, 2008).

Paralelamente, y en relación con la BLA, cuando las hembras Zucker *fa/fa* pasan de la etapa prepuberal a la postpuberal, exhiben una elongación dendrítica similar a la observada en las ratas hembra LE, pero muestran una tendencia a la disminución de la DED. Esta disminución en la DED podría deberse principalmente a que la mutación “fatty” conlleva a una resistencia a la leptina, lo que a su vez provoca alteraciones en todas las funciones reguladas por esta hormona (Paz-Filho, 2016). Estudios previos reportan que, en un estado de obesidad donde hay deficiencia de leptina, los individuos tienen mayor preferencia por alimentos apetitosos, con alto contenido de azúcares y grasas (Farooqi, *et al.*, 2007), destacando así, que la leptina influye en la toma de decisiones hacia los malos hábitos alimenticios y la presencia de receptores de leptina en varias regiones del SNC (Zhong, *et al.*, 2022), incluidas las redes cerebrales relacionadas con la recompensa, el placer y la adicción como son: el estriado ventral y dorsal, amígdala, corteza orbitofrontal y corteza media prefrontal (Schloegl, *et al.* 2011).

También se sabe que la leptina tiene una participación más allá de la homeostasis energética y del comportamiento alimentario (Doherty *et al.*, 2013), actúa como un factor neurotrófico que tiene la capacidad de promover remodelación neuronal, que incluye una disminución en la densidad de filopodios dendríticos y en la formación de espinas dendríticas de la corteza media prefrontal y la amígdala basolateral (Han *et al.*, 2003; Ates *et al.*, 2014).

En cuanto a los machos Zucker *fa/fa*, se observa una remodelación dendrítica y una disminución en la LDT y en la DED, específicamente en la región basilar de las neuronas de BLA, al pasar de la edad prepúber a la postpúber. La diferencia observada entre los árboles dendríticos se debe a que las dendritas apicales y basales de las células piramidales actúan como compartimentos dendríticos separados, según estudios previos (Yuste *et al.*, 1994). Estos compartimentos ocupan capas cerebrales distintas y son objetivos de axones de diferentes regiones corticales y subcorticales, lo que implica que reciben información de fuentes diversas (Spratling, 2002).

En un estudio sobre los NMDAR en la corteza prefrontal de ratas, se encontró que la capa II de la mPFC, donde se ubican las dendritas apicales, tiene una mayor abundancia de receptores NMDA en comparación con otras capas de la misma corteza (Rudolf, *et al.* 1996). En contraste, los AMPAR, responsables de transmitir señales talámicas, se encuentran principalmente en las

dendritas basales y en el soma, protegiendo a las neuronas de neurotoxicidad por glutamato y estimulando la expresión del factor de crecimiento derivado del cerebro (Cerqueira, *et al.*, 2007).

Es importante destacar que, tanto en la corteza media prefrontal, como en la amígdala basolateral, hay diferencias sexualmente dimórficas entre las ratas Zucker *fa/fa*, lo cual podría sugerir que las hormonas esteroideas también están influyendo en el desarrollo dendrítico peripuberal. Se ha comprobado que el estradiol y la testosterona pueden modular la plasticidad neuronal, debido a la alta expresión de sus receptores, ER- α y AR respectivamente, en el SNC (Toran-Allerand, 2004; Been, 2022), a las interacciones con neurotransmisores (Lu, *et al.*, 2019; Kuwahara, *et al.*, 2021) y a la activación de las vías de señalización neuronal (Shin, *et al.*, 2019). Hay evidencia de acciones neurotróficas y neuroprotectoras del estrógeno, a partir de la capacidad de activar rápidamente a las quinasas reguladas por señales extracelulares (ERK) y a la vía fosfoinositol-3-cinasa (PI3K)-proteína quinasa B (Akt) (Brann, *et al.*, 2007). Así mismo, se ha evidenciado que el estrógeno incrementa la expresión génica de NMDAR1 y NMDAR2b y potencia las señales de calcio dependientes de NMDA en espinas y dendritas (Pozzo-Miller & Murphy, 1999). Además de, aumentar la sensibilidad neuronal a la entrada excitatoria, el estrógeno transitoriamente suprime la inhibición mediada por GABAA, implicando que la desinhibición de estas células es un componente de la acción del estrógeno en la plasticidad sináptica (Murphy & Segal, 1998). Por otro lado, un estudio reciente realizado por Sakthi, *et al.* (2022) muestra que la presencia de testosterona parece potenciar la actividad de las proteínas asociadas a los microtúbulos de actina y la PSD-95 lo cual se relaciona con una mejora concomitante en la capacidad de aprendizaje y memoria, posiblemente a través de la expresión de NMDAR.

Con el fin de descartar la posibilidad de un estado de estrés crónico en las ratas Zucker *fa/fa*, que pudiera estar influyendo tanto en los resultados de morfología dendrítica, como en los resultados del fenotipo obeso (Foss & Dyrstad, 2011), se midieron los niveles de corticosterona en suero. Los resultados indicaron que las ratas hembra y macho Zucker *fa/fa* prepúberes y postpúberes no presentan concentraciones elevadas de corticosterona. Esto contrasta con los hallazgos de Timofeeva y colaboradores (2002), quienes informaron que las ratas Zucker *fa/fa* de 42 días de edad tienen niveles altos de corticosterona, debido a la sobre activación de las neuronas hipotalámicas que secretan a la CRH. Nuestros resultados sugieren que, en edades

más tempranas, cuando el estado de obesidad no está tan avanzado, aún no se han producido suficientes alteraciones metabólicas, por lo cual no se sobreactiva el eje hipotalámico-hipofisario-adrenal.

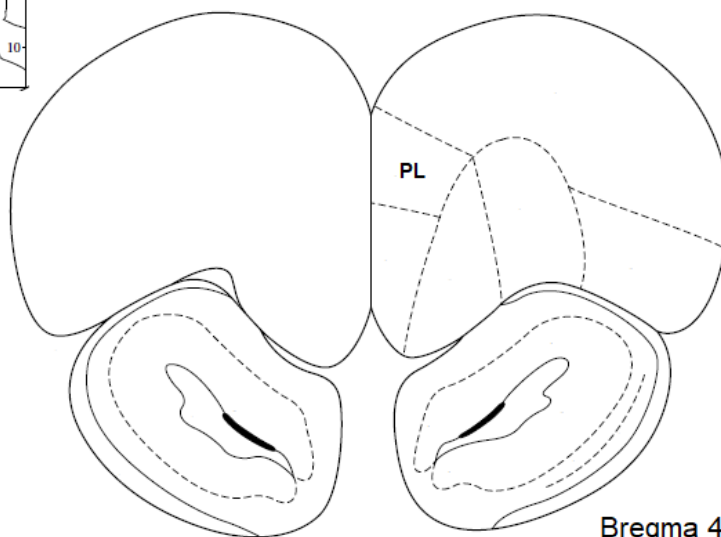
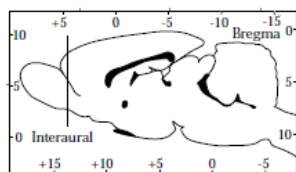
En el contexto específico de nuestro modelo de estudio, las diferencias observadas en el neurodesarrollo peripuberal podrían no solo vincularse al fenotipo obeso presente, sino también a otras variables que afectan directa o indirectamente la plasticidad neuronal. De acuerdo con esto, se sugiere analizar el efecto de las hormonas sexuales en los eventos de neurodesarrollo, a partir de animales gonadectomizados. Además, de cuantificar la expresión de receptores NMDA y AMPA y llevar a cabo pruebas electrofisiológicas para evaluar la excitabilidad neuronal. Asimismo, se sugiere analizar la expresión de actina y de tubulina para determinar la estabilidad del citoesqueleto y su participación en la elongación de dendritas y de espinas dendríticas.

9. Conclusiones

- I. Las ratas hembra y macho Zucker *fa/fa*, prepúberes y postpúberes, presentan parámetros zoométricos indicativos de obesidad y concentraciones elevadas de glucosa, colesterol y triglicéridos en suero.
- II. Las ratas hembra Zucker *fa/fa* prepúberes y postpúberes presentan elevadas concentraciones de estradiol.
- III. Las ratas hembra Zucker *fa/fa* prepúberes y postpúberes presentan alteraciones en la morfología dendrítica de las neuronas de mPFC y de BLA.
- IV. Las ratas macho Zucker *fa/fa* prepúberes y postpúberes presentan alteraciones en la morfología dendrítica de las neuronas de mPFC y de BLA.

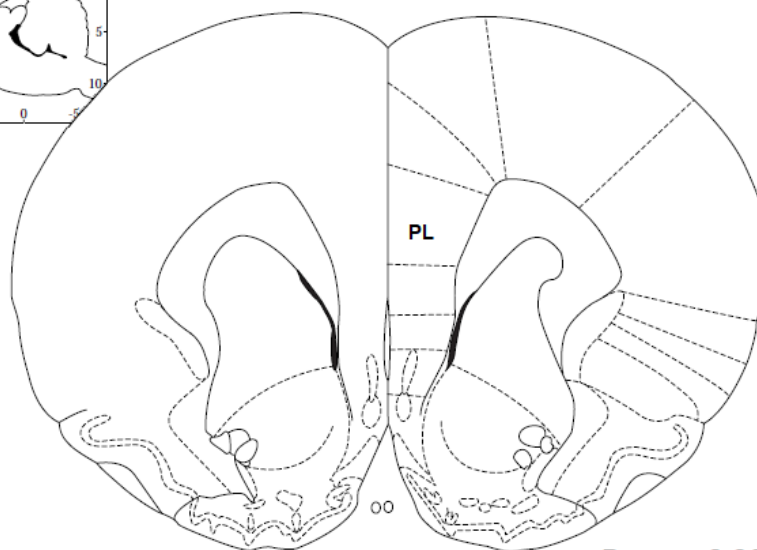
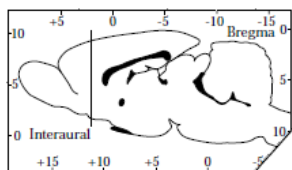
10. Anexo

A



Bregma 4.70 mm

B



Bregma 2.20 mm

Figura 43. Cortes coronales al nivel de mPFC. Coordenadas respecto a respecto de Bregma de A) 4.70 mm. a B) 2.20 mm. Corteza prefrontal medial región prelímbica (PL).

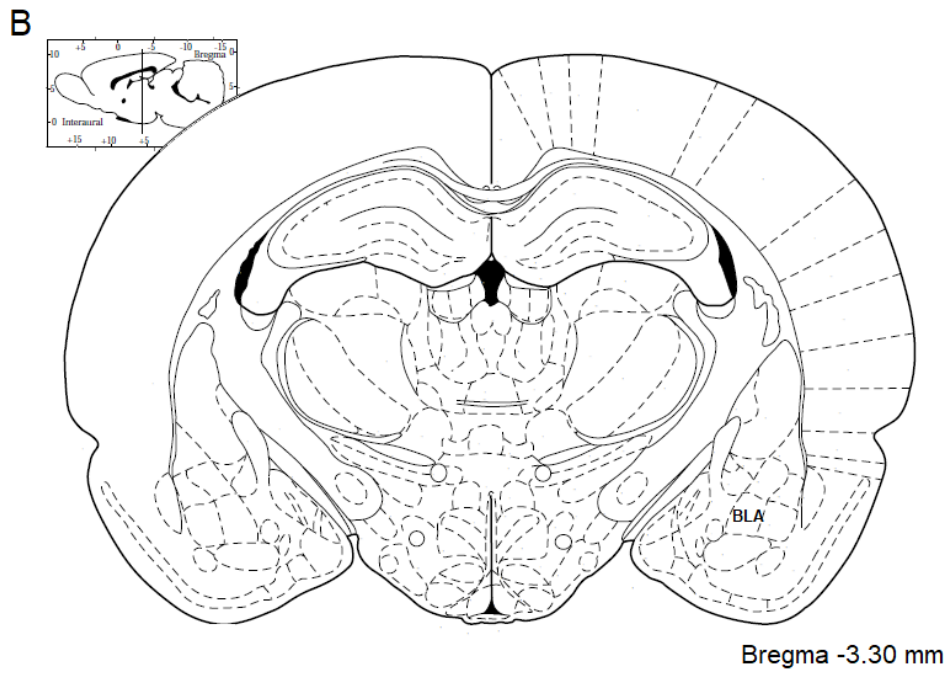
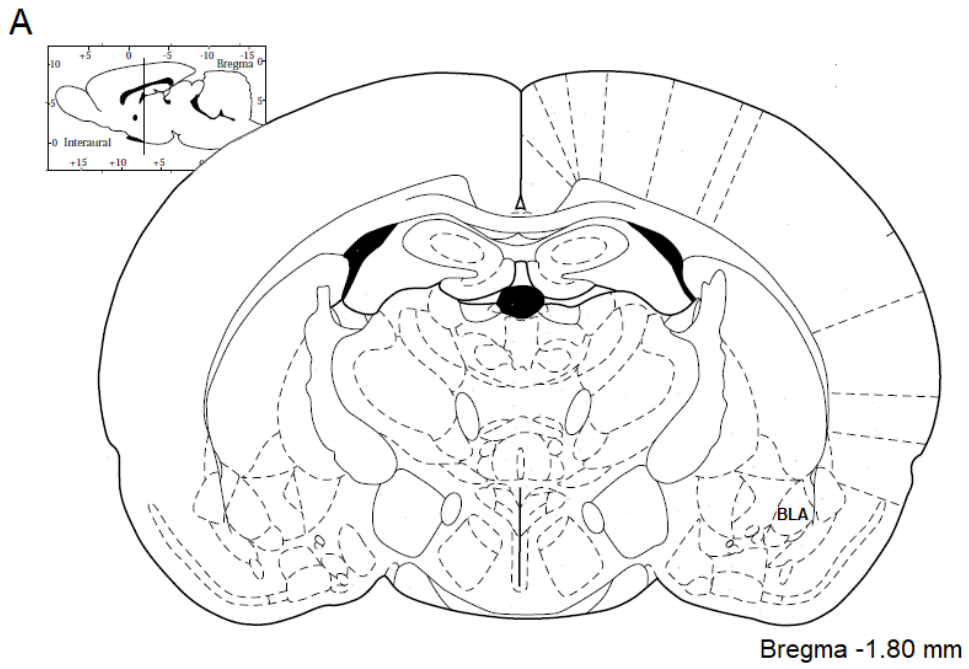


Figura 44. Cortes coronales al nivel de BLA. Coordenadas respecto a respecto de Bregma de A) -1.80 mm. a B) -3.30 mm. Amígdala basolateral (BLA).

11. Referencias

- Andersen, S. L., Rutstein, M., Benzo, J. M., Hostetter, J. C., & Teicher, M. H. (1997). Sex differences in dopamine receptor overproduction and elimination. *Neuroreport*, 8(6), 1495–1498.
- Anderson C. H. (1982). Changes in dendritic spine density in the preoptic area of the female rat at puberty. *Brain research bulletin*, 8(3), 261–265.
- Arias-Díaz, J., & Balibrea, J. (2007). Modelos animales de intolerancia a la glucosa y diabetes tipo II. *Nutr Hosp.*, 22(2), 160-68.
- 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.
- Ates, M., Dayi, A., Kiray, M., Sisman, A. R., Agilkaya, S., Aksu, I., Baykara, B., Buyuk, E., Cetinkaya, C., Cingoz, S., & Uysal, N. (2014). Anxiety- and depression-like behavior are correlated with leptin and leptin receptor expression in prefrontal cortex of streptozotocin-induced diabetic rats. *Biotechnic & histochemistry: official publication of the Biological Stain Commission*, 89(3), 161–171.
- Barberis A. (2020). Postsynaptic plasticity of GABAergic synapses. *Neuropharmacology*, 169, 107643.
- Barros, R. P., & Gustafsson, J. Å. (2011). Estrogen receptors and the metabolic network. *Cell metabolism*, 14(3), 289–299.
- Been, L. E., Sheppard, P. A. S., Galea, L. A. M., & Glasper, E. R. (2022). Hormones and neuroplasticity: A lifetime of adaptive responses. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 132, 679–690.
- Berretta S. (2012). Extracellular matrix abnormalities in schizophrenia. *Neuropharmacology*, 62(3), 1584–1597.
- Bland, T., Sahin, G. S., Zhu, M., Dillon, C., Impey, S., Appleyard, S. M., & Wayman, G. A. (2019). USP8 Deubiquitinates the Leptin Receptor and Is Necessary for Leptin-Mediated Synapse Formation. *Endocrinology*, 160(8), 1982–1998.
- Blüher, M., & Mantzoros, C. S. (2015). From leptin to other adipokines in health and disease: facts and expectations at the beginning of the 21st century. *Metabolism: clinical and experimental*, 64(1), 131–145.
- Bonhoeffer, T., & Yuste, R. (2002). Spine motility. Phenomenology, mechanisms, and function. *Neuron*, 35(6), 1019–1027.
- Botella Carretero, J. I., Lledín Barbancho, M. D., Valero González, M. A., & Varela Dacosta, C. (2001). Leptina: implicaciones fisiológicas y clínicas. *AN. MED. INTERNA*, 18(3), 152-160.
- Bourgeron T. (2015). From the genetic architecture to synaptic plasticity in autism spectrum disorder. *Nature reviews. Neuroscience*, 16(9), 551–563.
- Brann, D. W., Dhandapani, K., Wakade, C., Mahesh, V. B., & Khan, M. M. (2007). Neurotrophic and neuroprotective actions of estrogen: basic mechanisms and clinical implications. *Steroids*, 72(5), 381–405.
- Bravo-Durán, D. A., Barreda-Guzmán, S. J., Trujillo-Hernández, A., & Silva-Gómez, A. B. (2021). Obese female Zucker rats (*fa/fa*) exhibit dendritic retraction in neurons in the ventromedial hypothalamic nucleus. *Journal of chemical neuroanatomy*, 113, 101919.
- Brenhouse, H. C., Sonntag, K. C., & Andersen, S. L. (2008). Transient D1 dopamine receptor expression on prefrontal cortex projection neurons: relationship to enhanced motivational salience of drug cues in adolescence. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 28(10), 2375–2382.
- Bronson, F. H., & Rissman, E. F. (1986). The biology of puberty. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 61(2), 157–195.

- Brown, V. J., & Bowman, E. M. (2002). Rodent models of prefrontal cortical function. *Trends in Neurosciences*, 25(7), 340–343.
- Cerqueira, J. J., Taipa, R., Uylings, H. B., Almeida, O. F., & Sousa, N. (2007). Specific configuration of dendritic degeneration in pyramidal neurons of the medial prefrontal cortex induced by differing corticosteroid regimens. *Cerebral cortex* (New York, N.Y.: 1991), 17(9), 1998–2006.
- Chowdhury, D., Marco, S., Brooks, I. M., Zanduetta, A., Rao, Y., Haucke, V., Wesseling, J. F., Tavalin, S. J., & Pérez-Otaño, I. (2013). Tyrosine phosphorylation regulates the endocytosis and surface expression of GluN3A-containing NMDA receptors. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 33(9), 4151–4164.
- Cline, H., & Haas, K. (2008). The regulation of dendritic arbor development and plasticity by glutamatergic synaptic input: a review of the synaptotrophic hypothesis. *The Journal of physiology*, 586(6), 1509–1517.
- Collins, M. O., Yu, L., Coba, M. P., Husi, H., Campuzano, I., Blackstock, W. P., Choudhary, J. S., & Grant, S. G. (2005). Proteomic analysis of in vivo phosphorylated synaptic proteins. *The Journal of biological chemistry*, 280(7), 5972–5982.
- Córdoba-Montoya, D. A., Albert, J., & López-Martín, S. (2010). Potenciación a largo plazo en la corteza humana. *Revista de neurología*, 51(6), 367–374.
- Davis, D. D., Ruiz, A. L., Yanes, L. L., Iliescu, R., Yuan, K., Moulana, M., Racusen, L. C., & Reckelhoff, J. F. (2012). Testosterone supplementation in male obese Zucker rats reduces body weight and improves insulin sensitivity but increases blood pressure. *Hypertension* (Dallas, Tex.: 1979), 59(3), 726–731.
- Davis, E. C., Shryne, J. E., & Gorski, R. A. (1996). Structural sexual dimorphisms in the anteroventral periventricular nucleus of the rat hypothalamus are sensitive to gonadal steroids perinatally but develop peripubertally. *Neuroendocrinology*, 63(2), 142–148.
- Dehouck, B., Fenart, L., Dehouck, M. P., Pierce, A., Torpier, G., & Cecchelli, R. (1997). A new function for the LDL receptor: transcytosis of LDL across the blood-brain barrier. *The Journal of cell biology*, 138(4), 877–889.
- Doherty, G. H., Beccano-Kelly, D., Yan, S. D., Gunn-Moore, F. J., & Harvey, J. (2013). Leptin prevents hippocampal synaptic disruption and neuronal cell death induced by amyloid β . *Neurobiology of aging*, 34(1), 226–237.
- Ebling, F. J., & Cronin, A. S. (2000). The neurobiology of reproductive development. *Neuroreport*, 11(16), R23–R33.
- Ekaterina, L., Pelletier, J., Paz, R., & Paré, D. (2008). Prefrontal Control of the Amygdala. *The Journal of Neuroscience*, 25(32), 7429–7437.
- Elia, L. P., Yamamoto, M., Zang, K., & Reichardt, L. F. (2006). p120 catenin regulates dendritic spine and synapse development through Rho-family GTPases and cadherins. *Neuron*, 51(1), 43–56.
- Elluru, R. G., Bloom, G. S., & Brady, S. T. (1995). Fast axonal transport of kinesin in the rat visual system: functionality of kinesin heavy chain isoforms. *Molecular biology of the cell*, 6(1), 21–40.
- Elston, G. N. (2003). Cortex, cognition and the cell: New insights into the pyramidal neuron and prefrontal. *Cerebral Cortex*, 13, 112–438.
- Emerging Risk Factors Collaboration, Wormser, D., Kaptoge, S., Di Angelantonio, E., Wood, A. M., Pennells, L., Thompson, A., Sarwar, N., Kizer, J. R., Lawlor, D. A., Nordestgaard, B. G., Ridker, P., Salomaa, V., Stevens, J., Woodward, M., Sattar, N., Collins, R., Thompson, S. G., Whitlock, G., & Danesh, J. (2011). Separate and combined associations of body-mass index and abdominal adiposity with cardiovascular disease: collaborative analysis of 58 prospective studies. *Lancet* (London, England), 377(9771), 1085–1095.
- Ethell, I. M., & Pasquale, E. B. (2005). Molecular mechanisms of dendritic spine development and remodeling. *Progress in neurobiology*, 75(3), 161–205.

- Eve Piché, M., Tchernof, A., & Després, J.-P. (2020). Obesity Phenotypes, Diabetes, and Cardiovascular Diseases. *Circulation Research*, 126(11), 1477-1500.
- Fang, H., & Judd, R. L. (2018). Adiponectin Regulation and Function. *Comprehensive Physiology*, 8(3), 1031–1063.
- Fasshauer, M., & Blüher, M. (2015). Adipokines in health and disease. *Trends in pharmacological sciences*, 36(7), 461–470.
- Flores, G., Alquicer, G., Silva-Gómez, A., Rivera, G., Quirion, R., & Srivastava, K. (2005). Alterations in dendritic morphology of prefrontal cortical and nucleus acumbens neurons in adult rats after neonatal excitotoxic lesions of the ventral. *Neuroscience*, 133(2), 463–470.
- Floresco, S., & Tse, M. (2007). Dopaminergic Regulation of Inhibitory and Excitatory Transmission in the Basolateral Amygdala–Prefrontal Cortical Pathway. *The Journal of Neuroscience*, 27(8), 2045–2057.
- Frühbeck G. (2008). Overview of adipose tissue and its role in obesity and metabolic disorders. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.), 456, 1–22.
- Fumiki, O., 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 Clinical and Experimental*, 54, 995 – 1001.
- Fuochi, S., Galasso, M. E., Colombo, R., Giaquinto, D., De Girolamo, P., & D'Angelo, L. (2022). Puberty onset curve in CD (Sprague Dawley) and Long Evans outbred male rats. *Laboratory animals*, 56(5), 471–475.
- Gayle, D. H., Beccano-Kellyb, D., Yanc, S. D., & Gunn-Mo, F. J. (2013). Leptin prevents hippocampal synaptic disruption and neuronal cell death induced by amyloid B. *Neurobiology of Aging*, 34, 226 –237.
- Gejman, P. V., Sanders, A. R., & Duan, J. (2010). The role of genetics in the etiology of schizophrenia. *The Psychiatric clinics of North America*, 33(1), 35–66.
- Geschwind, D. H., & Levitt, P. (2007). Autism spectrum disorders: developmental disconnection syndromes. *Current opinion in neurobiology*, 17(1), 103–111.
- 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.
- Groc, L., Petanjek, Z., Gustafsson, B., Ben-Ari, Y., Khazipov, R., & Hanse, E. (2003). Compensatory dendritic growth of CA1 pyramidal cells following growth impairment in the neonatal period. *The European journal of neuroscience*, 18(5), 1332–1336.
- Grundy S. M. (2008). Metabolic syndrome pandemic. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 28(4), 629–636.
- Hall A. (1998). Rho GTPases and the actin cytoskeleton. *Science* (New York, N.Y.), 279(5350), 509–514.
- Hall, A., & Nobes, C. D. (2000). Rho GTPases: molecular switches that control the organization and dynamics of the actin cytoskeleton. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 355(1399), 965–970.
- Han, Z., Yan, J. Q., Luo, G. G., Liu, Y., & Wang, Y. L. (2003). Leptin receptor expression in the basolateral nucleus of amygdala of conditioned taste aversion rats. *World journal of gastroenterology*, 9(5), 1034–1037.
- Harris K. M. (1999). Structure, development, and plasticity of dendritic spines. *Current opinion in neurobiology*, 9(3), 343–348.
- Harvey J. (2013). Leptin regulation of neuronal morphology and hippocampal synaptic function. *Frontiers in synaptic neuroscience*, 5, 3.
- Holder, M. K., & Blaustein, J. D. (2014). Puberty and adolescence as a time of vulnerability to stressors that alter neurobehavioral processes. *Frontiers in neuroendocrinology*, 35(1), 89–110.

- Item, F., & Konrad, D. (2012). Visceral fat and metabolic inflammation: the portal theory revisited. *Obesity reviews: an official journal of the International Association for the Study of Obesity*, 13 Suppl 2, 30–39.
- Izaola, O., de Luis, D., Sajoux, I., Domingo, J. C., & Vidal, M. (2015). INFLAMACIÓN Y OBESIDAD (LIPOINFLAMACIÓN) [Inflammation and obesity (lipoinflammation)]. *Nutricion hospitalaria*, 31(6), 2352–2358.
- Jin, D. Z., Guo, M. L., Xue, B., Mao, L. M., & Wang, J. Q. (2013). Differential regulation of CaMKII α interactions with mGluR5 and NMDA receptors by Ca²⁺ in neurons. *Journal of neurochemistry*, 127(5), 620–631.
- Joensuu, M., Lanoue, V., & Hotulainen, P. (2018). Dendritic spine actin cytoskeleton in autism spectrum disorder. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 84(Pt B), 362–381.
- Kalsbeek, A., Voorn, P., Buijs, R. M., Pool, C. W., & Uylings, H. B. (1988). Development of the dopaminergic innervation in the prefrontal cortex of the rat. *The Journal of comparative neurology*, 269(1), 58–72.
- Kellogg, C. K., Taylor, M. K., Rodriguez-Zafra, M., & Pleger, G. L. (1993). Altered stressor-induced changes in GABAA receptor function in the cerebral cortex of adult rats exposed in utero to diazepam. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 44(2), 267–273.
- Kelly, D. M., & Jones, T. H. (2013). Testosterone: a metabolic hormone in health and disease. *The Journal of endocrinology*, 217(3), R25–R45.
- Kerrisk, M. E., Greer, C. A., & Koleske, A. J. (2013). Integrin α 3 is required for late postnatal stability of dendrite arbors, dendritic spines and synapses, and mouse behavior. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 33(16), 6742–6752.
- Kim, J. H., Cho, H. T., & Kim, Y. J. (2014). The role of estrogen in adipose tissue metabolism: insights into glucose homeostasis regulation. *Endocrine journal*, 61(11), 1055–1067.
- Kirsch, C., Eckert, G. P., Koudinov, A. R., & Müller, W. E. (2003). Brain cholesterol, statins and Alzheimer's Disease. *Pharmacopsychiatry*, 36 Suppl 2, S113–S119.
- Koss, W., Belden, C., Hristov, A., & Juraska, J. (2014). Dendritic Remodeling in the Adolescent. *Synapse*, 68, 61–72.
- Kuwahara, N., Nicholson, K., Isaacs, L., & MacLusky, N. J. (2021). Androgen Effects on Neural Plasticity. *Androgens: clinical research and therapeutics*, 2(1), 216–230.
- Laaksonen, D. E., Niskanen, L., Punnonen, K., Nyyssönen, K., Tuomainen, T. P., Valkonen, V. P., Salonen, R., & Salonen, J. T. (2004). Testosterone and sex hormone-binding globulin predict the metabolic syndrome and diabetes in middle-aged men. *Diabetes care*, 27(5), 1036–1041.
- Lai, K. O., Wong, A. S., Cheung, M. C., Xu, P., Liang, Z., Lok, K. C., Xie, H., Palko, M. E., Yung, W. H., Tessarollo, L., Cheung, Z. H., & Ip, N. Y. (2012). TrkB phosphorylation by Cdk5 is required for activity-dependent structural plasticity and spatial memory. *Nature neuroscience*, 15(11), 1506–1515.
- Lee, M. (1929). Determination of the surface area of the white Rat with its application to the expression of Metabolic results. *Neuro-Endocrine Research*, 89(1).
- Lewis, E. M., Barnett, J. F., Jr, Freshwater, L., Hoberman, A. M., & Christian, M. S. (2002). Sexual maturation data for Crl Sprague-Dawley rats: criteria and confounding factors. *Drug and chemical toxicology*, 25(4), 437–458.
- Lilja, J., & Ivaska, J. (2018). Integrin activity in neuronal connectivity. *Journal of cell science*, 131(12).
- Lohmann, C., Myhr, K. L., & Wong, R. O. (2002). Transmitter-evoked local calcium release stabilizes developing dendrites. *Nature*, 418(6894), 177–181.
- London, M., & Häusser, M. (2005). Dendritic computation. *Annual review of neuroscience*, 28, 503–532.
- Lu, Y., Sareddy, G. R., Wang, J., Wang, R., Li, Y., Dong, Y., Zhang, Q., Liu, J., O'Connor, J. C., Xu, J., Vadlamudi, R. K., & Brann, D. W. (2019). Neuron-Derived Estrogen Regulates Synaptic Plasticity and Memory. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 39(15), 2792–2809.

- 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.
- Marín-Padilla M. (2014). The mammalian neocortex new pyramidal neuron: a new conception. *Frontiers in neuroanatomy*, 7, 51.
- Martos-Moreno, G. A., Kopchick, J. J., & Argente, J. (2013). Adipoquinas en el niño sano y con obesidad. *An. de pediatria (Barcelona, Spain: 2003)*, 78(3), 189.e1–189.e15.
- Mauvais-Jarvis, F., Clegg, D. J., & Hevener, A. L. (2013). The role of estrogens in control of energy balance and glucose homeostasis. *Endocrine reviews*, 34(3), 309–338.
- McGlashan, T. H., & Hoffman, R. E. (2000). Schizophrenia as a disorder of developmentally reduced synaptic connectivity. *Archives of general psychiatry*, 57(7), 637–648.
- Mitsuhashi, K., Senmaru, T., Fukuda, T., Yamazaki, M., Shinomiya, K., Ueno, M., Kinoshita, S., Kitawaki, J., Katsuyama, M., Tsujikawa, M., Obayashi, H., Nakamura, N., & Fukui, M. (2016). Testosterone stimulates glucose uptake and GLUT4 translocation through LKB1/AMPK signaling in 3T3-L1 adipocytes. *Endocrine*, 51(1), 174–184.
- Mohammed, M. S., Sendra, S., Loret, J., & Bosch, I. (2018). Systems and WBANs for Controlling Obesity. *Journal of Healthcare Engineering, Feb*, 1564748.
- Moreno-Indias, I., & Tinahones, F. J. (2015). Impaired adipose tissue expandability and lipogenic capacities as ones of the main causes of metabolic disorders. *Journal of diabetes research*, 2015, 970375.
- Mrzljak, L., Uylings, H. B., Van Eden, C. G., & Judás, M. (1990). Neuronal development in human prefrontal cortex in prenatal and postnatal stages. *Progress in brain research*, 85, 185–222.
- Murphy, D. D., Cole, N. B., Greenberger, V., & Segal, M. (1998). Estradiol increases dendritic spine density by reducing GABA neurotransmission in hippocampal neurons. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 18(7), 2550–2559.
- Murphy, K. M., Tcharnaia, L., Beshara, S. P., & Jones, D. G. (2012). Cortical development of AMPA receptor trafficking proteins. *Frontiers in molecular neuroscience*, 5, 65.
- Muthu, S. J., Lakshmanan, G., Shimray, K. W., Kaliyappan, K., Sathyanathan, S. B., & Seppan, P. (2022). Testosterone Influence on Microtubule-Associated Proteins and Spine Density in Hippocampus: Implications on Learning and Memory. *Developmental neuroscience*, 44(6), 498–507.
- Nelson, T. J., & Alkon, D. L. (2005). Insulin and cholesterol pathways in neuronal function, memory and neurodegeneration. *Biochemical Society transactions*, 33(5), 1033–1036.
- Newey, S. E., Velamoor, V., Govek, E. E., & Van Aelst, L. (2005). Rho GTPases, dendritic structure, and mental retardation. *Journal of neurobiology*, 64(1), 58–74.
- Niell C. M. (2006). Theoretical analysis of a synaptotropic dendrite growth mechanism. *Journal of theoretical biology*, 241(1), 39–48.
- Novelli, E. L., Diniz, Y. S., Galhardi, C. M., Ebaid, G. M., Rodrigues, H. G., Mani, F., Fernandes, A. A., Cicogna, A. C., & Novelli Filho, J. L. (2007). Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. *Laboratory animals*, 41(1), 111–119.
- Núñez, J. L., Sodhi, J., & Juraska, J. M. (2002). Ovarian hormones after postnatal day 20 reduce neuron number in the rat primary visual cortex. *Journal of neurobiology*, 52(4), 312–321.
- Ojeda, S. R., & Skinner, M. K. (2006). Puberty in the rat. *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*, 3, 20612103.
- 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.

- Pak, D. T., Yang, S., Rudolph-Correia, S., Kim, E., & Sheng, M. (2001). Regulation of dendritic spine morphology by SPAR, a PSD-95-associated RapGAP. *Neuron*, 31(2), 289–303.
- Parnass, Z., Tashiro, A., & Yuste, R. (2000). Analysis of spine morphological plasticity in developing hippocampal pyramidal neurons. *Hippocampus*, 10(5), 561–568.
- Paz-Filho G. J. (2016). The Effects of Leptin Replacement on Neural Plasticity. *Neural plasticity*, 2016, 8528934.
- Pinos, H., Collado, P., Rodríguez-Zafra, M., Rodríguez, C., Segovia, S., & Guillamón, A. (2001). The development of sex differences in the locus coeruleus of the rat. *Brain research bulletin*, 56(1), 73–78.
- Pozzo-Miller, L. D., Inoue, T., & Murphy, D. D. (1999). Estradiol increases spine density and NMDA-dependent Ca²⁺ transients in spines of CA1 pyramidal neurons from hippocampal slices. *Journal of neurophysiology*, 81(3), 1404–1411.
- Puga Y Colmenares, M. C., Trujillo Hernández, A., & Morales-Ledesma, L. (2021). Unilateral section of the superior ovarian nerve induces first ovulation in the Zucker fatty (fa/fa) rat. *General and comparative endocrinology*, 300, 113636.
- Quirk, G., & Beer, J. (2006). Prefrontal involvement in the regulation of emotion: Convergence of rat and human studies. *Current Opinion in Neurobiology*, 16(6), 723–727.
- Raynaud, F., Janossy, A., Dahl, J., Bertaso, F., Perroy, J., Varrault, A., Vidal, M., Worley, P. F., Boeckers, T. M., Bockaert, J., Marin, P., Fagni, L., & Homburger, V. (2013). Shank3-Rich2 interaction regulates AMPA receptor recycling and synaptic long-term potentiation. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 33(23), 9699–9715.
- Rosen E. D. (2015). Two paths to fat. *Nature cell biology*, 17(4), 360–361.
- Rozeske, R. R., Valerio, S., Chaudun, F., & Herry, C. (2015). Prefrontal neuronal circuits of contextual fear conditioning. *Genes, brain, and behavior*, 14(1), 22–36.
- Rudolf, G. D., Cronin, C. A., Landwehrmeyer, G. B., Standaert, D. G., Penney, J. B., Jr, & Young, A. B. (1996). Expression of N-methyl-D-aspartate glutamate receptor subunits in the prefrontal cortex of the rat. *Neuroscience*, 73(2), 417–427.
- Sah, P., Faber, E., Lopez De Armentia, M., & Power, J. (2003). The Amygdaloid Complex: Anatomy and Physiology. *Physiological Reviews*, 83, 803–834.
- Sala, C., & Segal, M. (2014). Dendritic spines: the locus of structural and functional plasticity. *Physiological reviews*, 94(1), 141–188.
- Sato, K., Iemitsu, M., Aizawa, K., & Ajisaka, R. (2008). Testosterone and DHEA activate the glucose metabolism-related signaling pathway in skeletal muscle. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, 294(5), E961–E968.
- Sato, K., Iemitsu, M., Aizawa, K., & Ajisaka, R. (2008). Testosterone and DHEA activate the glucose metabolism-related signaling pathway in skeletal muscle. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, 294(5), E961–E968.
- Scott, M. G. (2004). Obesity, Metabolic Syndrome, and Disease. *J Clin Endocrinol Metab*, 89(6), 2595–600.
- Sebo, Z. L., & Rodeheffer, M. S. (2021). Testosterone metabolites differentially regulate obesogenesis and fat distribution. *Molecular metabolism*, 44, 101141.
- Shin, M. S., Kim, T. W., Park, S. S., Ko, I. G., Kim, C. J., Kim, M., Roh, S. Y., Kim, K. T., & Kim, K. H. (2019). Long-term Surgical and Chemical Castration Deteriorates Memory Function Through Downregulation of PKA/CREB/BDNF and c-Raf/MEK/ERK Pathways in Hippocampus. *International neurology journal*, 23(2), 116–124.

- 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.
- Sisk, C. L., & Foster, D. L. (2004). The neural basis of puberty and adolescence. *Nature neuroscience*, 7(10), 1040–1047.
- Sisk, C. L., & Zehr, J. L. (2005). Pubertal hormones organize the adolescent brain and behavior. *Frontiers in neuroendocrinology*, 26(3-4), 163–174.
- Soria-Fregozo, C., & Pérez-Vega, M. I. (2012). Actin-binding proteins and signalling pathways associated with the formation and maintenance of dendritic spines. *Neurologia (Barcelona, Spain)*, 27(7), 421–431.
- Spratling M. W. (2002). Cortical region interactions and the functional role of apical dendrites. *Behavioral and cognitive neuroscience reviews*, 1(3), 219–228.
- Spratling M. W. (2002). Cortical region interactions and the functional role of apical dendrites. *Behavioral and cognitive neuroscience reviews*, 1(3), 219–228.
- Spruston N. (2008). Pyramidal neurons: dendritic structure and synaptic integration. *Nature reviews. Neuroscience*, 9(3), 206–221.
- Stefan, N., Kantartzis, K., & Häring, H. U. (2008). Causes and metabolic consequences of Fatty liver. *Endocrine reviews*, 29(7), 939–960.
- Takeichi, M., & Abe, K. (2005). Synaptic contact dynamics controlled by cadherin and catenins. *Trends in cell biology*, 15(4), 216–221.
- Takemasa, S., Kazuo, S., Akira, N., & Yutaka, O. (1999). Leptin Effects on Feeding-Related Hypothalamic and Peripheral Neuronal Activities in Normal and Obese Rats. *Nutrition*, 15, 576–579.
- Teicher, M. H., Andersen, S. L., & Hostetter, J. C., Jr (1995). Evidence for dopamine receptor pruning between adolescence and adulthood in striatum but not nucleus accumbens. *Brain research. Developmental brain research*, 89(2), 167–172.
- Timofeeva, E., & Richard, D. (1997). Functional Activation of CRH Neurons and Expression of the Genes Encoding CRH and Its Receptors in Food-Deprived Lean (*Fa/ ?*) and Obese (*fa/fa*) Zucker Rats. *Neuroendocrinology*, 66(5), 327-340.
- Timofeeva, E., Picard, F., Duclos, M., Deshaies, Y., & Richard, D. (2002). Neuronal activation and corticotropin-releasing hormone expression in the brain of obese (*fa/fa*) and lean (*fa/?*) Zucker rats in response to refeeding. *European Journal of Neuroscience*, 15, 1013-1029.
- Tomassoni, D., Martinelli, I., Moruzzi, M., Micioni Di Bonaventura, M. V., Cifani, C., Amenta, F., & Tayebati, S. K. (2020). Obesity and Age-Related Changes in the Brain of the Zucker Lep fa/fa Rats. *Nutrients*, 12(5), 1356.
- Toran-Allerand C. D. (2004). Estrogen and the brain: beyond ER-alpha and ER-beta. *Experimental gerontology*, 39(11-12), 1579–1586.
- Tosevski, J., Malikovic, A., Mojsilovic-Petrovic, J., Lackovic, V., Peulic, M., Sazdanovic, P., & Alexopoulos, C. (2002). Types of neurons and some dendritic patterns of basolateral amygdala in humans—a golgi study. *Annals of anatomy= Anatomischer Anzeiger: official organ of the Anatomische Gesellschaft*, 184(1),
- Uchida, S., & Kagitani, F. (2019). Neural Mechanisms Involved in the Noxious Physical Stress-Induced Inhibition of Ovarian Estradiol Secretion. *Anatomical record (Hoboken, N.J.: 2007)*, 302(6), 904–911.
- Uylings, H. B., Groenewegen, H. J., & Kolb, B. (2003). Do rats have a prefrontal cortex? *Behavioural Brain Research*, 146, 3–17.
- Valerio, A., Ghisi, V., Dossena, M., Tonello, C., Giordano, A., Frontini, A., Ferrario, M., Pizzi, M., Spano, P., Carruba, M. O., & Nisoli, E. (2006). Leptin increases axonal growth cone size in developing mouse cortical neurons by

- convergent signals inactivating glycogen synthase kinase-3beta. *The Journal of biological chemistry*, 281(18), 12950–12958.
- van Waarde, A., Ramakrishnan, N. K., Rybczynska, A. A., Elsinga, P. H., Ishiwata, K., Nijholt, I. M., Luiten, P. G., & Dierckx, R. A. (2011). The cholinergic system, sigma-1 receptors and cognition. *Behavioural brain research*, 221(2), 543–554.
- Vertes, R. P. (2004). Differential projections of the infralimbic and prelimbic cortex in the rat. *Synapse*, 51, 32–58.
- Washbourne, P., Dityatev, A., Scheiffele, P., Biederer, T., Weiner, J. A., Christopherson, K. S., & El-Husseini, A. (2004). Cell adhesion molecules in synapse formation. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 24(42), 9244–9249.
- Wilson, C., Contreras-Ferrat, A., Venegas, N., Osorio-Fuentealba, C., Pavez, M., Montoya, K., Durán, J., Maass, R., Lavandero, S., & Estrada, M. (2013). Testosterone increases GLUT4-dependent glucose uptake in cardiomyocytes. *Journal of cellular physiology*, 228(12), 2399–2407.
- World Health Organization, "Obesity," October 2021, <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.
- Yuste Rafael, 2010 "Dendritic Spines" The MIT Press, Cambridge, Massachusetts, pp. 19-23, 161-164.
- Yuste, R., & Bonhoeffer, T. (2001). Morphological changes in dendritic spines associated with long-term synaptic plasticity. *Annual review of neuroscience*, 24, 1071–1089.
- Zhang, W., & Benson, D. L. (2010). Development and molecular organization of dendritic spines and their synapses. *Hippocampus*, 10(5), 512–526.
- Zoghbi, H. Y., & Bear, M. F. (2012). Synaptic dysfunction in neurodevelopmental disorders associated with autism and intellectual disabilities. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 4(3).
- Zorena, K., Jachimowicz-Duda, O., Ślęzak, D., Robakowska, M., & Mrugacz, M. (2020). Adipokines and Obesity. *21(10)*, 3570.
- Zucker LM, Zucker TF. Fatty, a new mutation in the rat. (1961). *J Heredity*.52:275-8.



Sociedad Mexicana de Ciencias
Fisiológicas, A. C.

Mesa Directiva 2021-2023

Presidente
Dra. Ma. del Carmen Cortés Sánchez

Vicepresidente
Dra. Margarita Martínez Gómez

Secretario
Dr. Francisco Castelán

Tesorero
Dr. José Everardo Avelino Cruz



Asociación Latinoamericana de
Ciencias Fisiológicas

Presidente
Dr. Luis Sobrevía

Secretario General
Dr. Ernesto Alejandro Aiello

LXV Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas

Congreso Internacional 2022 de la Asociación Latinoamericana de Ciencias Fisiológicas

Certificate of Presentation

to

**Sandoval Romero, María Constelación; Mendoza Valero, Martha Denice;
Limón Pérez de León, Ilhuicamina Daniel; Silva Gómez, Adriana Berenice.**

By the Organizing Committee of the LXV National Congress of the Mexican Society of
Physiological Sciences (SMCF) and the 2022 Meeting of the Latin American Association of
Physiological Sciences (ALACF)

for the presentation entitled

*La obesidad produce cambios morfológicos en las neuronas de corteza en ratas Zucker
hembras prepúberes*

Puebla, Pue., (Mexico), October 8, 2022


Dra. Carmen Cortés
SMCF
President


Dr. Luis Sobrevía
ALACF
President



BUAP



Facultad de Ciencias Biológicas
BUAP

La Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

A través de la Facultad de Ciencias Biológicas
otorga la presente

CONSTANCIA

A: **María Constelación Sandoval Romero**

Por su participación como INSTRUCTOR en el marco del:
“Día Internacional de la mujer y la niña en la Ciencia”
de la actividad realizada en el Circulo Infantil-BUAP
el 14 de febrero de 2023

“Pensar bien, para vivir mejor”

Dr. Salvador Galicia Iasmendi

Director de la Facultad de Ciencias Biológicas-BUAP



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
Órgano de Operación Administrativa Desconcentrada en Tlaxcala

Otorga la presente

CONSTANCIA

A: María Constelación Sandoval Romero

Por la presentación en modalidad CARTEL del trabajo
"Remodelación dendrítica de neuronas piramidales de corteza media prefrontal (mPFC) y de amígdala
basolateral (BLA) de ratas Zucker fa/fa (obesas) hembras y machos peripuberales"
durante la **1ra. Jornada Académico-Científica 2023**

"Educación e Investigación para la mejora del proceso de atención en salud"

Tlaxcala de Xicohténcatl, Tlax., 17 de febrero 2023.

Dr. Fernando Moncada Jiménez
Titular de la Jefatura de Servicios de
Prestaciones Médicas

Dr. Julio Gutiérrez Méndez
Titular del IMSS en Tlaxcala

Dr. Oscar Castañeda Sánchez
Coordinador de Planeación y Enlace
Institucional



Sociedad Mexicana de
Ciencias Fisiológicas A.C.

LXVI CONGRESO NACIONAL DE LA
SOCIEDAD MEXICANA DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS, A.C.

17-21 de septiembre 2023, Puebla, Pue.



La Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas A. C.

Otorga la siguiente

CONSTANCIA

a:

María Constelación Sandoval Romero

Por su participación en el curso pre-congreso

***Actualización farmacoterapéutica, pre-clínica e in-silico del uso de los cannabinoides
en los desórdenes del sistema nervioso central***

14 Y 15 de septiembre del 2023
Puebla, Pue.



Dra. Carmen Cortés
Presidenta



Sociedad Mexicana de
Ciencias Fisiológicas A.C.

LXVI CONGRESO NACIONAL DE LA SOCIEDAD MEXICANA DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS, A.C.

17-21 de septiembre 2023, Puebla, Pue.



La Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas A. C.

Otorga la siguiente

CONSTANCIA

a:


Sandoval Romero María Constelación, Mendoza Valero Martha Denice, Ojeda Nani Valentina, Domínguez Juárez Lesly, Utrilla Ramos Vanessa Abigail, Robles Soto Ricardo, Limón Pérez de León Ihuicamina Daniel, Silva Gómez Adriana Berenice
por el trabajo presentado en formato de poster titulado:

Las ratas Zucker obesas hembras y machos expresan alteraciones en la morfología neuronal de corteza media prefrontal y de amígdala basolateral durante el neurodesarrollo peripuberal

como parte del LXVI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas.

17 al 21 de septiembre, 2023

Puebla, Pue.


Dra. Carmen Cortés
Presidenta



OTORGAN LA PRESENTE

CONSTANCIA A:

Constelación Sandoval

Por su asistencia al curso

NEUROGÉNESIS EN ADULTOS

Llevado a cabo del 5 al 6 de octubre de 2023 con una duración de 5 horas

Dra. Wendy Portillo
Coordinadora del curso

Dra. Lucía Martínez Mota
Presidenta AIBIR