



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**Análisis cuantitativo de células presentes en dos
núcleos hipotalámicos en la rata Zucker obesa**

Tesis para obtener el título de
Licenciada en Biología

PRESENTA:

Adriana Caraves Rodríguez

DIRECTORA: Dra. Angélica Trujillo Hernández

CO-DIRECTORA: M. en C. María Concepción Puga y
Colmenares León



Diciembre, 2023.

Agradecimientos

Agradezco a la **Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla** por el apoyo económico otorgado para la elaboración de mi tesis, a través del Proyecto Grupal 100274222-VIEP2022-2023 al Cuerpo Académico Consolidado en Neuroendocrinología BUAP-CA-288, y cuya responsable es la Dra. Angélica Trujillo Hernández.

Agradezco al **Laboratorio de Neuroendocrinología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la BUAP** por haberme recibido y permitirme llevar a cabo este proyecto.

Agradezco a mi directora de tesis, la **Dra. Angélica Trujillo Hernández**, por haberme inspirado a seguir haciendo lo que me apasiona, incluso después de una pandemia. Le agradezco por haberme aceptado en el laboratorio, por la paciencia, disposición que siempre tuvo conmigo y por siempre buscar la mejor manera de sacarme adelante.

Agradezco especialmente a mi co-directora de tesis, la **Mtra. María Concepción Puga y Colmenares León**, por creer en mí desde el principio, por haber sido mi guía, mi apoyo, mi maestra, mi ejemplo a seguir, por enseñarme a hacerlo todo y a hacerlo bien y, sobre todo, por haber construido conmigo una amistad dentro y fuera del laboratorio. Muchas gracias, Coni.

Agradezco a mis papás, **María del Carmen Rodríguez Guerra y José Luis Caraves Roque**, por siempre alentarme e impulsarme a hacer lo que me gusta y apasiona, si no fuera por ustedes yo no estaría aquí.

Agradezco a mi hermana, **Andrea**, y a mi prima, **Laura**, por motivarme y acompañarme en las noches de estudio, por ser mi sistema de apoyo y siempre alentarme a hacerlo mejor en cada paso que doy.

Agradezco a mi familia, la que está lejos y la que está cerca, por siempre ser ese faro y mostrarme el camino correcto, por el apoyo incondicional y por impulsarme a perseguir siempre mis sueños.

ÍNDICE

RESUMEN	5
INTRODUCCIÓN	7
Marco teórico	9
Obesidad	9
Hipotálamo	9
Núcleo Anteroventral Paraventricular	10
Núcleo Arcuato	11
Hipotálamo e ingesta de alimentos	12
Leptina y la vía de señalización JAK/STATS	12
Neurogénesis y nichos neurogénicos	15
Factores de transcripción que promueven neurogénesis	16
Obesidad y alteraciones reproductivas	17
Zucker como modelo de obesidad	18
JUSTIFICACIÓN	19
HIPÓTESIS	20
OBJETIVO GENERAL	20
Objetivos particulares	20
METODOLOGÍA	20
Procedimiento de autopsia	21
Deshidratación e inclusión parafina	22
Análisis de las imágenes	23
Análisis estadístico	24
RESULTADOS	25
DISCUSIÓN	30

CONCLUSIONES	36
PERSPECTIVAS DEL TRABAJO	36
BIBLIOGRAFÍA	36

RESUMEN

La obesidad es una enfermedad crónica que resulta de un desequilibrio entre la ingesta y el gasto energético, caracterizada por un exceso de almacenamiento de grasa debido al consumo de alimentos altos en calorías y la falta de actividad física. En el animal con normopeso, la leptina actúa en el núcleo arcuato (ARC) para regular la ingesta de alimentos, y en el núcleo anteroventral paraventricular (AVPV) para influir en la función reproductiva, especialmente a través de neuronas kisspeptidérgicas que expresan receptores a la hormona. Sin embargo, en la obesidad, la señal leptinérgica puede verse modificada, tal es el caso de la rata Zucker obesa, en la que se presenta una mutación en el receptor de la leptina, que por ende modifica la señalización de esta hormona para la regulación de la función metabólica y reproductiva. Por lo que el presente estudio tuvo como finalidad analizar el número de células en los núcleos arcuato y anteroventral paraventricular del hipotálamo de ratas hembra Zucker obesas, con la finalidad de dilucidar si este modelo de obesidad presenta cambios en estos núcleos cerebrales asociados a la regulación de la reproducción y el metabolismo.

Los resultados del presente trabajo indican que el fenotipo obeso presenta mayor peso corporal, circunferencia abdominal e incremento en el índice de Lee lo que confirma la presencia de obesidad. En los animales obesos el análisis cuantitativo de las neuronas presentes en ambos hemisferios del núcleo AVPV no mostró ningún cambio en comparación con el grupo delgado; sin embargo, en el núcleo ARC de los animales obesos se encontró un mayor número de células en comparación con el animal delgado. Un dato importante a resaltar es que se observó un mayor número de células en el hemisferio derecho del núcleo ARC en comparación con el lado izquierdo.

Estos resultados nos permiten postular que la mutación en los receptores de leptina presentes en nuestro modelo animal resulta en cambios en la señalización del núcleo AVPV, probablemente alterando la respuesta de las células kisspeptidérgicas, ya que son las neuronas de relevo entre las señales de leptina y la secreción de GnRH, lo que daría como resultado desórdenes reproductivos, que ya han sido reportados en la rata Zucker obesa. En el núcleo ARC el incremento en el número de células en el animal con fenotipo obeso puede deberse a la acción de la Interleucina 6, citocina que

se ha reportado incrementada en modelos de obesidad, dicha interleucina potencia la proliferación celular en este núcleo, debido a que promueve un aumento en la expresión de los transcritos de Sox6 y Sox2, que codifican factores de transcripción involucrados en la neurogénesis.

Nuestros resultados confirman que la rata Zucker a los 90 días de edad presenta obesidad, caracterizada por un incremento en el peso y en el índice de Lee; además, no hay cambios en el número de células a nivel del núcleo AVPV pero sí en el núcleo ARC, lo que podría explicar las alteraciones metabólicas y reproductivas en estos individuos.

INTRODUCCIÓN

La obesidad es un padecimiento crónico de etiología multifactorial que se desarrolla por un desequilibrio entre la ingesta y el gasto energético, se caracteriza por un exceso en el almacenamiento de lípidos en forma de adipocitos, consecuencia de un aumento en el consumo de alimentos de alta densidad energética combinado con una escasa actividad física (Álvarez-Castro *et al.*, 2011; Blancas-Flores *et al.*, 2010). En la etiopatogenia de esta enfermedad se reconocen factores genéticos, ambientales, metabólicos y endocrinológicos (Moreno, 2012). A pesar de ello, sólo del 2 al 3% de las personas obesas tendría como causa, alguna patología endocrinológica, entre las que destacan el hipotiroidismo, el síndrome de Cushing, el hipogonadismo y las lesiones hipotalámicas asociadas a hiperfagia (Moreno, 2012).

Una acumulación excesiva de tejido graso puede producir alteraciones en la regulación, metabolismo y secreción de diferentes hormonas, lo que conlleva a su vez a un desequilibrio crónico entre la ingesta calórica y el gasto energético (Moreno, 2012; Youdim, 2021). Esta patología se ha asociado con un mayor riesgo de desarrollar diabetes mellitus tipo 2 (DM2), hipertensión arterial, dislipemia, enfermedades cardiovasculares, trastornos musculoesqueléticos, ciertos tipos de cáncer y aumento de la mortalidad (Gloy *et al.*, 2013).

Durante muchos años se consideró que la única función del tejido adiposo era el almacenamiento de energía en forma de grasa (Musi y Guardado-Mendoza, 2014). Sin embargo, el tejido adiposo también funciona como un órgano endocrino capaz de sintetizar y secretar una gran cantidad de sustancias que regulan el equilibrio energético y la homeostasis (Blüher, 2014; Blüher y Mantzoros, 2015; Frühbeck, 2008); como es el caso de la leptina, la cual tiene como función principal comunicar al Sistema Nervioso Central (SNC) acerca de las reservas de energía corporal disponibles y, por lo tanto, controlar la ingesta de alimentos y el gasto energético (Margetic *et al.*, 2002).

Se ha sugerido que la saturación del sistema de transporte hematoencefálico de leptina o la alteración de sus receptores permite el desarrollo de obesidad (Mockus, 2001). Se ha observado en pacientes que presentan obesidad e insensibilidad a la leptina una variedad de anormalidades neuroendocrinas, debido a que esta hormona

puede alterar la secreción de la hormona liberadora de gonadotropina hipotalámica (GnRH) (Farooqi y O'Rahilly, 2009; Tovar y Ayala, 2004). De manera general, a nivel hipotalámico, la leptina tiene efectos tanto en la acción metabólica y la regulación del sistema reproductivo (Odle *et al.*, 2018).

El principal sitio de acción de leptina para la regulación energética es el núcleo arcuato (ARC), en donde la población de neuronas que secretan proopiomelancortina (POMC) presentan receptores de leptina ObRb que activan la vía anorexigénica (Farooqi y O'Rahilly, 2014), mientras que la regulación de la función reproductiva es regulada por neuronas que expresan GnRH presentes en el núcleo anteroventral paraventricular (AVPV). Sin embargo, estas neuronas carecen de receptores a leptina, por lo que las neuronas kisspeptidérgicas que presentan receptores de leptina actúan en conjunto con la población de neuronas GnRHérgicas para regular la secreción de GnRH (Evans *et al.*, 2014; González Padilla, 2022; Quennell *et al.*, 2009).

Existe gran diversidad de modelos animales que son utilizados para comprender los efectos de la obesidad sobre los diferentes mecanismos fisiológicos, como es el caso de modelos que presentan una modificación genética que impacta directamente sobre la expresión de los receptores de leptina, como el ratón *ob/ob*, carente de leptina, y la rata Zucker, que presenta una mutación en el receptor de leptina. En este caso, la rata hembra Zucker obesa es un excelente modelo de estudio para observar perturbaciones a nivel metabólico y reproductivo, ya que constituye una cepa con patología múltiple que incluye obesidad, infertilidad, resistencia insulínica, disminución del gasto energético y múltiples alteraciones neuroendocrinas (De Iugo y Jurado, 2006).

Con base en esta información, el objetivo general del trabajo fue analizar la abundancia de células hipotalámicas en el núcleo arcuato y el núcleo anteroventral paraventricular de la rata hembra Zucker obesa para comprender más a detalle los procesos fisiológicos que podrían verse alterados en condiciones de obesidad.

Marco teórico

Obesidad

En 2016, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó que, a nivel mundial más de 1,900 millones de adultos de 18 o más años tenían sobrepeso, de los cuales el 13% (11% de los hombres y 15% de las mujeres) presentaron obesidad, cifra que se ha triplicado en relación con los 40 años anteriores. Es de reconocer que, en este período, el exceso de peso produjo 4 millones de muertes globalmente (OMS, 2016).

En México se identificó a la obesidad como una epidemia desde hace dos décadas (Barquera *et al.*, 2013). Hoy en día, nuestro país ocupa el segundo lugar a nivel mundial en prevalencia de obesidad en el adulto, ya que más del 70% de la población adulta entre 30 y 60 años tienen sobrepeso (Dávila-Torres *et al.*, 2015), siendo la población femenina la que presenta un mayor porcentaje (el 37.5% de las mujeres son obesas frente al 26.8% de los hombres) (Wojcicki *et al.*, 2012).

De acuerdo con los datos de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT), México presenta una epidemia de obesidad en mujeres desde 1999, el comportamiento de este fenómeno combinado sobrepeso-obesidad en mujeres en edad fértil es el siguiente: mujeres de 20 a 29 años: 30.6% con sobrepeso y 24% con obesidad; en las mujeres de 30 a 39 años: 38.1% con sobrepeso y 37.3% obesidad, y en las mujeres de 40 a 49 años: 37.6% con sobrepeso y 46.1% con obesidad (Gutiérrez *et al.*, 2012). Lo cual se considera de gran importancia debido a que la obesidad a su vez se ha asociado con diversas anomalías reproductivas como menstruaciones irregulares, ovarios poliquísticos, patologías endometriales e infertilidad (Broughton y Moley, 2017).

Hipotálamo

El primero en mencionar el hipotálamo como una entidad neuroanatómica fue el anatomista suizo Wilhelm His en 1893; actualmente se sabe que forma parte del diencefalo, y se extiende desde la región del quiasma óptico hasta el borde caudal de los cuerpos mamilares. Se encuentra por debajo del surco del hipotálamo en la pared lateral del tercer ventrículo. Desde el punto de vista anatómico, el hipotálamo es una superficie relativamente pequeña del encéfalo, estratégicamente bien situada, cerca del

sistema límbico, el tálamo, los tractos ascendentes y descendentes, y la hipófisis (Snell, 2014; Swaab *et al.*, 1993).

Microscópicamente, el hipotálamo está formado por células nerviosas pequeñas que se distribuyen en grupos formando núcleos, clásicamente nombrados núcleos hipotalámicos (Fig. 1). Se les llama núcleos a la acumulación local de neuronas que tienen conexiones y funciones similares, aunque muchos no están claramente separados los unos de los otros. Las neuronas de los núcleos hipotalámicos responden y ejercen su control a través de conexiones nerviosas, el torrente sanguíneo y el líquido cefalorraquídeo (Purves *et al.*, 2019; Snell, 2014).

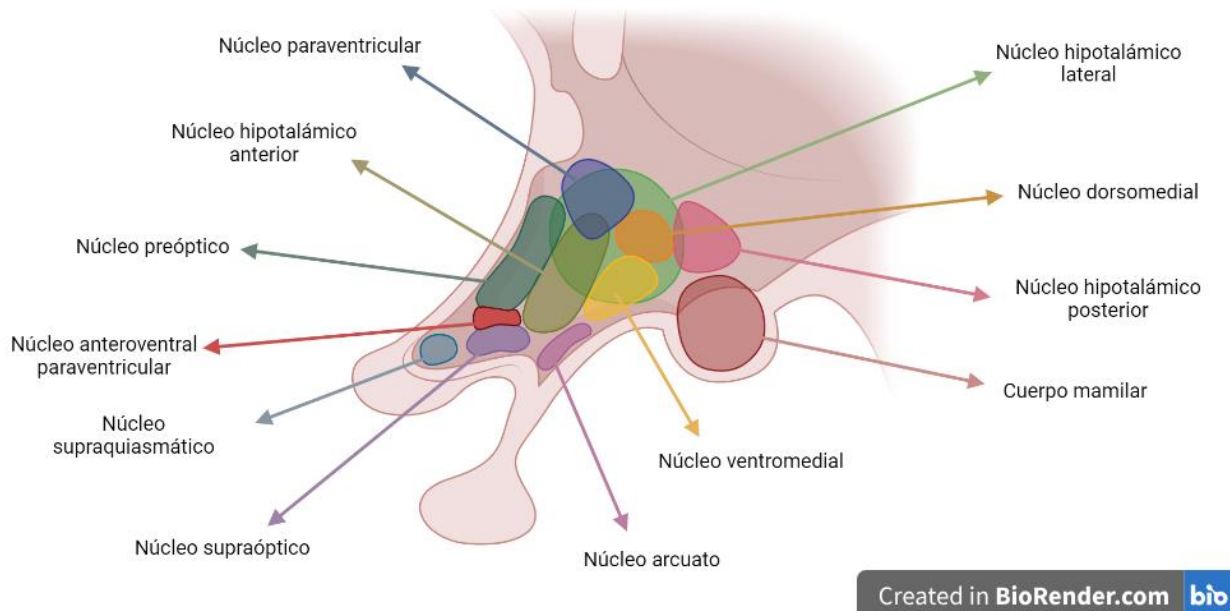


Figura 1. Esquema de un corte sagital del hipotálamo de humano donde se pueden observar algunos de sus núcleos (elaborado por Adriana Caraves Rodríguez, 2023).

Núcleo Anteroventral Paraventricular

El núcleo anteroventral paraventricular del hipotálamo es un grupo neuronal amplio, bien definido, situado junto a la pared del tercer ventrículo, medialmente al núcleo hipotalámico anterior y dorsalmente se extiende hasta el surco hipotalámico (García-Porrero y Hurlé, 2015). Consta de varios grupos de celulares distintos, entre los cuales se halla un grupo medial de predominio parvocelular y un prominente grupo magnocelular lateral. Los componentes magnocelulares proyectan fibras al lóbulo

neural de la hipófisis y envían vasopresina u oxitocina por diferentes fibras, mientras que, los parvocelulares, dan origen a axones descendentes que se proyectan al tronco del encéfalo y a todos los niveles de la médula espinal (Carpenter, 2013).

Evidencia emergente sugiere que el AVPV contiene una alta densidad de neuronas que expresan receptores a estrógenos y progesterona, los que juegan un papel fundamental en la mediación de la retroalimentación positiva de los esteroides ováricos sobre la secreción de gonadotropinas (Herbison, 1998; Simerly, 1996; Wiegand y Terasawa, 1982). El AVPV proporciona proyecciones a una subpoblación de neuronas que estimulan la secreción de GnRH en el sistema del órgano vascular de la lámina terminal (OVLT) (Gu y Simerly, 1997), que se proyectan a la eminencia media y participan en la generación del pico de la hormona luteinizante (LH), el cual es necesario para la maduración final del folículo y la liberación del ovocito del ovario (Calé *et al.*, 2013; Gu *et al.*, 1999; Polson *et al.*, 1987).

Núcleo Arcuato

El núcleo arcuato es un grupo de neuronas localizadas en la región medial y posterior del hipotálamo que integra señales neuroendocrinas, gastrointestinales y hormonales para regular la sensación de hambre, la ingesta de nutrientes, el tipo de nutrientes elegidos, el metabolismo basal y el gasto energético necesario para el crecimiento y la actividad física (Bouret *et al.*, 2004). El ARC comprende dos poblaciones de neuronas: la primera libera, el neuropéptido Y (NPY) que representa la vía orexigénica (inductora del apetito), y en la segunda, sus neuronas secretan propiomelancortina (POMC) y representa la vía anorexigénica (inductora de saciedad) (Morales y Carvajal, 2010).

El núcleo ARC establece conexiones con diversos núcleos hipotalámicos, entre ellos el núcleo dorsomedial, el núcleo preóptico lateral, el núcleo paraventricular anterior y el hipotálamo lateral; lo que le permite regular tanto la ingesta de alimentos como el gasto energético (Botía, 2017; Calzada-León *et al.*, 2008). Cumple un papel esencial como regulador principal de la hipófisis anterior, desempeñando un papel clave en la conversión e integración de señales nerviosas y endocrinas (Vicente, 2016).

En el ARC no solo se integran señales para el metabolismo energético, sino que también integra señales que se ven involucradas en la regulación de la reproducción.

Esto es posible ya que en él se encuentra una subpoblación de neuronas que regulan la expresión del gen *Kiss1*, que codifica para producir una familia de péptidos llamada kisspeptinas y que son las encargadas de estimular la liberación de GnRH, hormona que cumple un papel crucial en la regulación del eje hipotálamo-hipófisis-gónada (Calé *et al.*, 2013).

Hipotálamo e ingesta de alimentos

El hipotálamo controla e integra las funciones del sistema nervioso autónomo y endocrino, además, desempeña un papel fundamental en el mantenimiento de la homeostasis del organismo, a través de la regulación de la temperatura corporal, el control de líquidos corporales, el deseo de comer y beber, la conducta sexual y las emociones (Snell, 2014).

La leptina es, por mucho, la adipocina más importante involucrada en el equilibrio entre el estado nutricional, la función del tejido adiposo y la regulación del apetito, debido a que actúa sobre los receptores de leptina en el cerebro produciendo una disminución en la ingesta e incremento del gasto energético (Ahima y Flier, 200; Palau *et al.*, 2000). Niveles elevados de esta hormona, como se ha observado en la obesidad, son proporcionales al aumento de peso corporal y a la pérdida del control hipotalámico del apetito, configurando una condición descrita como resistencia a la leptina (Bruno *et al.*, 2021).

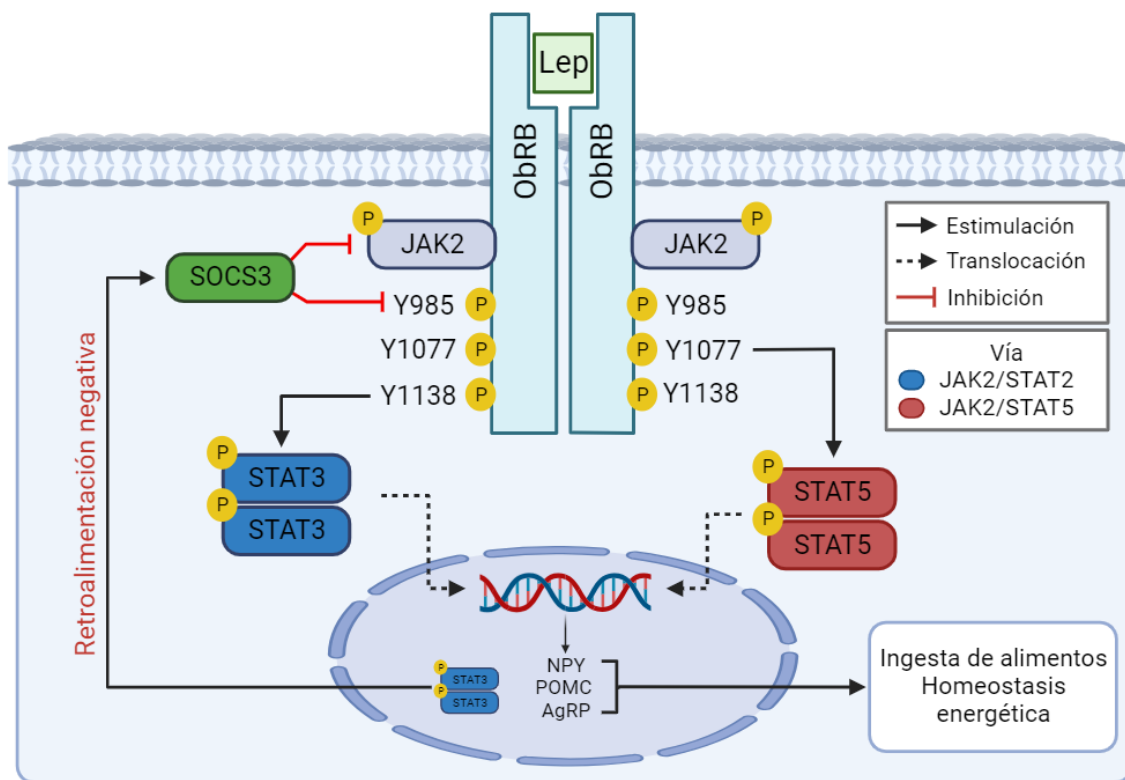
La resistencia hipotalámica a los efectos de la leptina sobre el tejido adiposo es fundamental para el desarrollo de la obesidad, esta condición se debe a la incapacidad de la leptina para alcanzar las células diana, a la reducción en la expresión de receptores de leptina o a una señalización perturbada de los mismos como consecuencia del consumo de grandes cantidades de grasa (Dragano *et al.*, 2017; Izquierdo *et al.*, 2019; Myers *et al.*, 2012).

Leptina y la vía de señalización JAK/STATS

La leptina circulante en la sangre llega al hipotálamo y atraviesa la barrera hematoencefálica para unirse a su receptor (ObRb) presente en las neuronas del núcleo arcuato, en donde disminuye la expresión de NPY y aumenta la expresión de POMC (Haekansson *et al.*, 1998; Schwartz *et al.*, 1996, Thorton *et al.*, 1997; Yaswen *et*

al., 1999). La unión de la leptina a ObRb da como resultado la activación de JAK2 que fosforila residuos de tirosina conservados de ObRb, donde el ObRb fosforilado sirve como sitio de acoplamiento y recluta los dominios Src homology 2 (SH2) y Src homology 3 (SH3) dominio comprenden proteínas como STAT3. La activación de STAT3 induce su dimerización y translocación al núcleo, donde media cambios en la expresión de varios genes que coordinan la regulación de los alimentos la ingesta y en gasto energético (Bjorbaek *et al.*, 1997; Buettner *et al.*, 2006; Robertson *et al.*, 2010).

Actualmente se sabe que la leptina, cuando se encuentra en niveles elevados de forma permanente en la sangre, induce la expresión del gen SOCS3 a través de STAT3 (Fig. 2) (Bjorbaek *et al.*, 1999; Bjorbaek y Kahn, 2004; Eyckerman *et al.*, 2000; Sahu, 2003). SOCS3 interactúa con el residuo fosforilado Y985 de OB-Rb y con JAK2, lo que bloquea la señalización activada por la leptina. Este aumento en la expresión de SOCS3, causado por los niveles permanentemente elevados de leptina, inhibe la fosforilación de los residuos de tirosina de Ob-R. Este cambio en la expresión endógena de SOCS3 es uno de los mecanismos que explican la resistencia a la leptina (Bjorbaek *et al.*, 2000; Munzberg y Myers, 2005).



Created in **BioRender.com** **bio**

Figura 2. Vías de señalización de la leptina. La unión de la leptina (Lep) a su receptor (ObRB) activa JAK2, lo que conduce a la fosforilación de ObRB, teniendo como productos Y985, Y1077 y Y1138, que se unen a otras moléculas y activan las vías JAK2/STAT3, JAK2/STAT5. Como resultado de esta cascada de señalización se da la liberación del neuropéptido Y (NPY), proopiomelancortina (POMC) y la proteína relacionada con Agouti (AgRP). SOCS3 inhibe la vía JAK2/STAT3 al interactuar con fosfo-Y985 o JAK2, y actúa como un inhibidor de retroalimentación de la señalización de la leptina (elaborado por Adriana Caraves Rodríguez, 2023).

Este sistema de retroalimentación negativa mediado por SOCS3 explica por qué, en condiciones patológicas como la obesidad, donde los niveles circulantes de leptina están permanentemente elevados, la hormona no es capaz de inducir una disminución del peso corporal. Esto indica que, en la mayoría de los casos, la obesidad en humanos representa una forma de resistencia a la leptina (Banks *et al.*, 2000).

Aunado a esto se ha reportado que leptina inicia las principales vías de señalización intracelular que protegen al SNC, como lo son las vías MAPK, PI3K y mTOR, por lo que, al haber una alteración en estos receptores se pueden presentar enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson, la depresión, así como un incremento en la probabilidad de tener isquemia cerebral (Li *et al.*, 2016). En los últimos años, investigaciones han demostrado que existen además mecanismos moleculares comunes entre la obesidad y la enfermedad de Alzheimer, siendo en este caso el vínculo patológico más probable un estado de resistencia a la insulina que es mediado por inflamación (Etchegoyen *et al.*, 2018; Lin *et al.*, 2014; Milionis *et al.*, 2008; Rodríguez-Casado *et al.*, 2016).

La obesidad en varios modelos animales, incluyendo las ratas Zucker obesas, es causada por la ausencia de la señal de leptina. En el caso de las ratas Zucker obesas, esta condición se debe a una mutación en el receptor de la leptina (*lepr*) (Chua *et al.*, 1996b). Esta deficiencia de señalización conduce a importantes cambios en el perfil neuropeptidérgico, que resulta en una desregulación de péptidos orexigénicos como el neuropéptido Y, galanina, orexinas, hormona concentradora de melanina y ghrelina (Beck, 2000; Beck *et al.*, 1990; Beck *et al.*, 1993; Beck *et al.*, 2003; Beck *et al.*, 2004; Stricker-Krongrad *et al.*, 2001).

Neurogénesis y nichos neurogénicos

La relación entre la neurogénesis y la obesidad ha sido objeto de estudio en la investigación científica. Algunos estudios sugieren que la obesidad, especialmente en combinación con una dieta rica en grasas, puede limitar la formación y diferenciación de nuevas células neuronales en el cerebro adulto, lo que podría tener implicaciones tanto en la fisiología como en la anatomía del organismo (Chowen *et al.*, 2017). Además, se ha descrito que la obesidad mantiene una relación inversa con el volumen de ciertas regiones cerebrales, lo que sugiere posibles efectos negativos a nivel cerebral (Vásconez-González *et al.*, 2022).

La neurogénesis es un proceso mediante el cual se generan nuevas neuronas a partir de células madre y células progenitoras (Arias-Carrión *et al.*, 2007). Aunque principalmente se observa durante el desarrollo prenatal, se ha descubierto

recientemente que la neurogénesis también persiste en ciertas áreas del cerebro de mamíferos adultos; dos de estas áreas son la zona subventricular del bulbo olfatorio y la subgranulosa del giro dentado del hipocampo, sin embargo, se ha sugerido la posible existencia de nichos neurogénicos en otras regiones del cerebro adulto, como la sustancia nigra, la corteza piriforme, la amígdala y el hipotálamo (Aguirre, 2010; Arias-Carrión *et al.*, 2007; Pérez-Martín *et al.*, 2010).

Los nichos neurogénicos son áreas especializadas donde se desarrolla la diferenciación y creación de nuevas neuronas a partir de células madre que están presentes a lo largo de toda la vida (Arias-Carrión *et al.*, 2007). Uno de los lugares más destacados para la neurogénesis es el hipocampo, que desempeña un papel crucial en la creación de estos nichos neurogénicos (Camacho *et al.*, 2020).

El proceso de neurogénesis implica la división asimétrica de las células madre progenitoras neurales, lo que conduce a la generación de neuronas que no se dividirán nuevamente. La regulación de la neurogénesis en la edad adulta está influenciada por una combinación de factores ambientales, hormonales, genéticos y epigenéticos, y es específica para los diversos nichos neurogénicos. Esta compleja interacción de factores contribuye al mantenimiento y la plasticidad del sistema nervioso a lo largo de la vida (Aguirre, 2010; Arias-Carrión *et al.*, 2007; Pérez-Martín *et al.*, 2010).

Factores de transcripción que promueven neurogénesis

Existen varios factores de transcripción que promueven la neurogénesis (Beckervordersandforth *et al.*, 2015). Los factores de transcripción son proteínas que se unen al ADN y regulan la expresión de los genes. En el estudio de Beckervordersandforth *et al.*, (2015) describen la regulación de la neurogénesis por factores de transcripción en células madre neurales y se discuten los mecanismos de cómo las redes de factores de transcripción permiten la ejecución precisa de la secuencia de desarrollo y la adaptación de la tasa y el tiempo de la neurogénesis en respuesta a estímulos complejos. Se han descrito factores de transcripción que se han relacionado con la neurogénesis, como es el caso de Atoh1, Neurog1, NeuroD1, Sox2, Sox5 y Sox6 (Bondolfi, 2013; Mulvaney y Dabdoub, 2012; Urbán, 2009)

La familia Sox es una familia de factores de transcripción que se caracterizan por tener un dominio de unión al ADN llamado HMG (High Mobility Group) (Roisman y Slavutsky, 2014). Los factores de transcripción Sox están involucrados en la regulación de diferentes procesos fisiológicos, incluyendo la regulación de la neurogénesis, en los que destacan Sox2 y Sox6; Sox2 es esencial para el mantenimiento de las células madre pluripotentes y desempeña un papel clave en la regulación de la diferenciación celular durante el desarrollo embrionario, está involucrado en la formación y mantenimiento de tejidos como el sistema nervioso central y su expresión persiste en ciertos tejidos adultos, especialmente en el sistema nervioso (Shimozaki, 2014); Sox6 también es un factor de transcripción que regula la diferenciación celular y está involucrado en el desarrollo de diversos tejidos, incluyendo el sistema nervioso y se expresa en una variedad de tejidos y tiene funciones específicas dependiendo del contexto del desarrollo y el tipo celular (Azim, 2009).

Obesidad y alteraciones reproductivas

Los problemas relacionados con la obesidad en las mujeres incluyen el inicio temprano de la pubertad, irregularidades menstruales, complicaciones en el embarazo, infertilidad y abortos espontáneos (Ahmed *et al.*, 2009; Hamilton, 1992; Santoro *et al.*, 2004). El control hormonal de la reproducción lo lleva a cabo el eje hipotálamo-hipófisis-gónada (HHG), el cual libera: GnRH; las gonadotropinas hipofisarias: LH y foliculoestimulante (FSH) y los esteroides sexuales producidos en las gónadas (Calé *et al.*, 2013).

En hembras, la secreción de GnRH se encuentra regulada por esteroides sexuales a través de retroalimentación positiva y negativa; el núcleo ARC del hipotálamo está principalmente vinculado a la retroalimentación negativa mediada por los estrógenos y el núcleo AVPV se vincula con la retroalimentación positiva que los estrógenos ejercen sobre el eje, responsable del inicio de la pubertad y de la generación del pico de LH preovulatorio (Smith *et al.*, 2005).

En humanos, se ha descrito una asociación entre las mutaciones del gen de la leptina y su receptor con hipogonadismo hipogonadotrófico y obesidad mórbida (Farooqi y O'Rahilly, 2009). En 1998 Finn *et al.*, hipotetizaron que el hipogonadismo era causado por falta de regulación de la leptina en la secreción de GnRH, pero las

neuronas secretoras de esta hormona no coexpresan receptores de leptina (Finn *et al.*, 1998). Sin embargo, el 40% de las neuronas del núcleo arcuato sí lo hacen, regulando de esta manera la expresión de Kiss1. El gen Kiss1 codifica una familia de péptidos llamada kisspeptinas, cuya expresión es alta en regiones cerebrales clave en la regulación de la secreción de GnRH (Calé *et al.*, 2013).

Estudios previos han mostrado que la leptina regula la expresión de ARNm de KiSS-1 en el núcleo arcuato (Smith *et al.*, 2006), como se puede comprobar en otras investigaciones (Castellano *et al.*, 2005; Castellano *et al.*, 2006) en donde se observó una disminución en la expresión de ARNm Kiss1 hipotalámico en el ratón ob/ob (carente de leptina) comparado con el grupo salvaje, condición que se reestablece después de la administración de 2 µg/g de leptina suspendida en solución salina (con una concentración de 1 µg/µL) inyectada dos veces al día a las 07:00 h y las 17:00 h, asimismo se observa una recuperación de las concentraciones de LH.

Zucker como modelo de obesidad

Las ratas Zucker obesas presentan una mutación en el receptor de leptina, que es la base molecular de su singular fenotipo (Chua *et al.*, 1996b; Phillips *et al.*, 1996). La mutación recesiva en el gen de este receptor (*lepr*), en homocigosis, determina el desarrollo de obesidad grave (Chua *et al.*, 1996b). Esta obesidad aparece en los animales a una edad temprana y está asociada con hiperfagia, alteración de la termogénesis y exceso de lípidos en el tejido adiposo (Chua *et al.*, 1996a).

La mutación *fa* fue descubierta en 1961 por Lois Zucker en un cruce entre la cepa M de Merck y ratas Sherman (Zucker y Zucker, 1961). Los animales homocigotos para el alelo *fa*, más conocidos como ratas Zucker obesas, acusan obesidad entre la tercera y la quinta semana de vida. La obesidad vinculada a esta mutación se hereda como carácter autosómico recesivo cuando alcanzan las 14 semanas de vida, un 40% de su peso corporal tiene composición lipídica (Aleixandre y Miguel, 2008).

La deficiencia señalada origina una importante modificación del estado neuropeptidérgico (hiperproducción del NPY) en las áreas del cerebro involucradas en la regulación del peso corporal, principalmente en el núcleo arcuato, y también pueden presentar resistencia a la insulina y altos niveles de adiponectina (Aleixandre y Miguel,

2008; Beck, 2000; De lugo y Jurado, 2006; Honnma *et al.*, 2010; Sanacora *et al.*, 1990). Una consecuencia directa o indirecta de la pérdida en la regulación mediada por el receptor de la leptina es, que las ratas Zucker obesas presentan grandes cantidades circulantes de esta hormona respecto a sus controles, las ratas Zucker delgadas (Hardie *et al.*, 1996; Picó *et al.*, 2002).

Estudios previos sobre ratas hembra Zucker obesas muestran que las neuronas del núcleo ventromedial del hipotálamo (VMH) expresan retracción dendrítica en comparación con las neuronas VMH de ratas Long Evans y LZ (Bravo *et al.*, 2021). Este fenómeno podría deberse a la ausencia del receptor de leptina, ya que esta hormona estimula la actividad de diferentes tipos de neuronas en el hipotálamo, incluidos los parvocelulares sensibles a la glucosa del núcleo paraventricular y neuronas glucorreceptoras del VMH (Shiraishi *et al.*, 1999).

Aunado a las anomalías previamente mencionadas, estas ratas se caracterizan por presentar diversas alteraciones reproductivas, como el retraso de la pubertad, ciclos estrales prolongados, escasa población folicular, comportamiento sexual atenuado y esterilidad (De lugo y Jurado, 2006; Aleixandre y Miguel, 2008). Se ha reportado que las ratas hembra Zucker obesas no ovulan en el primer estro vaginal, muestran un aumento en las catecolaminas ováricas y presentan prequistes foliculares (Puga y Colmenares *et al.*, 2021). Mientras que un estudio de Honnma *et al.* (2010) observaron que a medida que las ratas Zucker obesas maduran, incrementan su obesidad y muestran atresia folicular, esteroidogénesis reducida y ciclos estrales anormales.

JUSTIFICACIÓN

Dado que a nivel mundial y en México existen datos que indican que la obesidad es un problema que ha ido en aumento en los últimos años y que afecta a las mujeres en edad reproductiva, produciendo alteraciones en el ovario, irregularidades menstruales, complicaciones en el embarazo e infertilidad. Y tomando en cuenta que la rata obesa Zucker resulta un excelente modelo de obesidad con presencia de múltiples problemas reproductivos, el presente trabajo tiene como finalidad evaluar los efectos de la

obesidad sobre el número de células hipotalámicas del núcleo arcuato y el núcleo anteroventral paraventricular de ratas hembra Zucker obesa.

HIPÓTESIS

La rata Zucker obesa de 90 días presentará cambios en el número de las células hipotalámicas del núcleo arcuato y el núcleo anteroventral paraventricular.

OBJETIVO GENERAL

Analizar los parámetros zoométricos y el número de células hipotalámicas en el núcleo arcuato y el núcleo anteroventral paraventricular de la rata hembra Zucker obesa adulta.

Objetivos particulares

1. Analizar el peso corporal, la circunferencia abdominal y el índice de Lee de la rata Zucker delgada y obesa.
2. Cuantificar el número de células del núcleo anteroventral paraventricular del hipotálamo de la rata Zucker delgada y obesa.
3. Cuantificar el número de células del núcleo arcuato del hipotálamo de la rata Zucker delgada y obesa.

METODOLOGÍA

Los animales utilizados en este proyecto se obtuvieron del bioterio Claude Bernard de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla; todos los procedimientos se realizaron de acuerdo con los lineamientos establecidos en la “Guía para el cuidado y Uso de animales de laboratorio”, las especificaciones establecidas por la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 y la Ley Mexicana de Protección Animal para el uso de animales de experimentación (De Aluja, 2002). Se aplicaron todos los esfuerzos encaminados a minimizar el sufrimiento y la cantidad de animales a utilizar, así como los criterios de manejo, anestesia y eutanasia aprobados por el Comité para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) de la BUAP, quien aprobó el proyecto con clave VIEP/0537/2022.

Se utilizaron 7 ratas hembra de la cepa Zucker Diabetic Fatty de 90 días de edad, divididas en dos grupos: 4 Lean Zucker Diabetic Fatty LZDF (Delgada) y 3 Obese

Zucker Diabetic Fatty OZDF (Obesa). Los animales se mantuvieron en las instalaciones del Bioterio Claude Bernard de la BUAP y se colocaron en cajas bajo condiciones de luz-obscuridad de 12:12, temperatura de 21 ± 1 °C, con libre acceso a alimento y agua.

Procedimiento de autopsia

Antes de realizar la autopsia se registró el peso corporal, la circunferencia abdominal y la longitud naso-anal (Fig. 3). Para calcular el índice de Lee (Novelli *et al.*, 2007), un predictor de obesidad, se dividió la raíz cubica del peso corporal en gramos entre la longitud naso-anal. Se considera un peso normal aquellas cifras menores a 3, mientras que valores mayores a 3 son considerados como individuos obesos (Lee, 1929).

$$\text{Índice de Lee} = \frac{\sqrt[3]{\text{Peso (g)}}}{\text{LNA (cm)}} \times 10$$

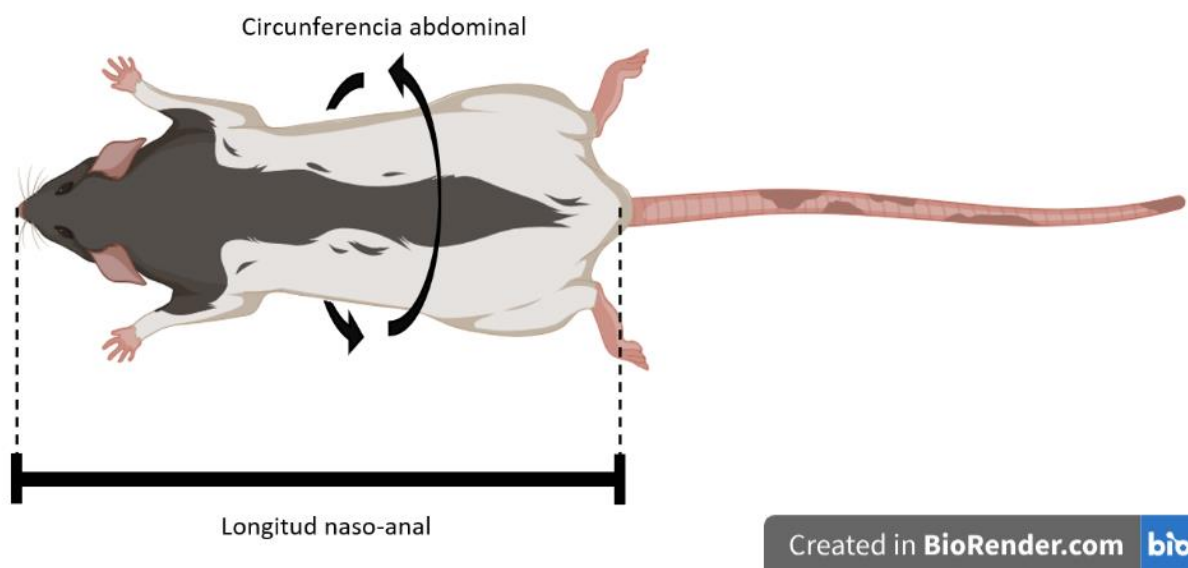


Figura 3. Esquema donde se observa cómo se realizó la toma de medidas de la longitud naso-anal y la circunferencia individual de cada individuo para calcular el índice de Lee.

Posteriormente, se sacrificó a los animales por sobredosis de pentobarbital sódico 63 mg/ml (0.20 ml/100g de peso corporal) (Puga y Colmenares *et al.*, 2021). Cuando el animal se encontraba completamente anestesiado, se procedió a la extracción del encéfalo de acuerdo con el procedimiento de Aguado (2011), que

consiste en efectuar una incisión longitudinal de la piel de la cabeza y, una vez retirada la piel, se disecan los músculos dorsales de la nuca. Se introduce la punta de unas tijeras finas en los márgenes laterales del agujero occipital, de forma latero-dorsal al bulbo raquídeo y en dirección oblicua hacia el conducto auditivo externo. Se separa el hueso occipital, haciendo presión hacia fuera y, del mismo modo, se levantan los huesos parietales, haciendo tracción hacia arriba. Una vez aislada la porción dorsal del cerebro, se seccionan los nervios olfatorios con una espátula roma, que se pasa por debajo y por delante de la sutura frontoparietal. Posteriormente, se seccionan los fascículos ópticos, las arterias carótidas, el tallo hipofisario y los nervios craneales que salen a uno y otro lado del tronco cerebral, quedando libre el encéfalo.

Seguido de la extracción, el tejido fue fijado con Buffer Neutral de Formaldehído al 10% (BNF 10%, con un volumen mínimo de tres veces mayor que el tejido) por 18-24 horas. Posteriormente se retiró el BNF 10% y se lavó con agua corriente por 15 minutos. Al concluir ese tiempo se almacenaron los tejidos en frascos con alcohol al 70° para posteriormente deshidratar e incluir en parafina.

Deshidratación e inclusión parafina

Los tejidos fueron deshidratados en concentraciones ascendentes de alcohol etílico, posteriormente se clarearon en cloroformo e incluyeron en parafina histológica. Posteriormente fueron cortados en forma seriada a 14 μm y recuperados en portaobjetos recubiertos de gelatina. Se eligieron los cortes de acuerdo con las láminas 17-20 para observar el núcleo anteroventral paraventricular y 28-38 para el núcleo Arcuato del Atlas de Paxinos y Watson (1986). Ya que los cortes se encontraban contenidos en el portaobjetos, se agregó solución de montaje para mejorar su adición y se dejaron secar durante 2 horas en un horno de secado a 55° C para después teñirlos con la técnica de Nissl (Plagemann *et al.*, 2000), la cual permite la visualización de los cuerpos de Nissl, que son agregados de ribosomas y retículo endoplásmico rugoso presentes en el citoplasma de las neuronas, y que permiten identificar y distinguir las neuronas de otros tipos de células en el tejido nervioso (Frank *et al.*, 2016). Por último, fueron montados con resina sintética y se dejaron secar por dos semanas.

Análisis de las imágenes

El análisis de las imágenes fue realizado bajo un microscopio Nikon eclipse E400 por medio de una cámara digital acoplada (Nikon D3500), con ayuda de del atlas “The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates” (Paxinos y Watson, 1986), se localizaron ambos núcleos hipotalámicos y se delimitaron las zonas para realizar el conteo celular (Fig. 4). El conteo celular se realizó y se reportó por hemisferios cerebral para ambas zonas, se utilizó el programa ImageJ utilizando la función contar puntos múltiples (Fig. 5). Se cuantificaron solo aquellas neuronas a las cuales se les identificó el núcleo (Bereiter y Jeanrenaud, 1979; Erkut *et al.*, 1998; Erskine y Miller, 1995), además se consideraron dos profundidades de campo debido al grosor del corte.

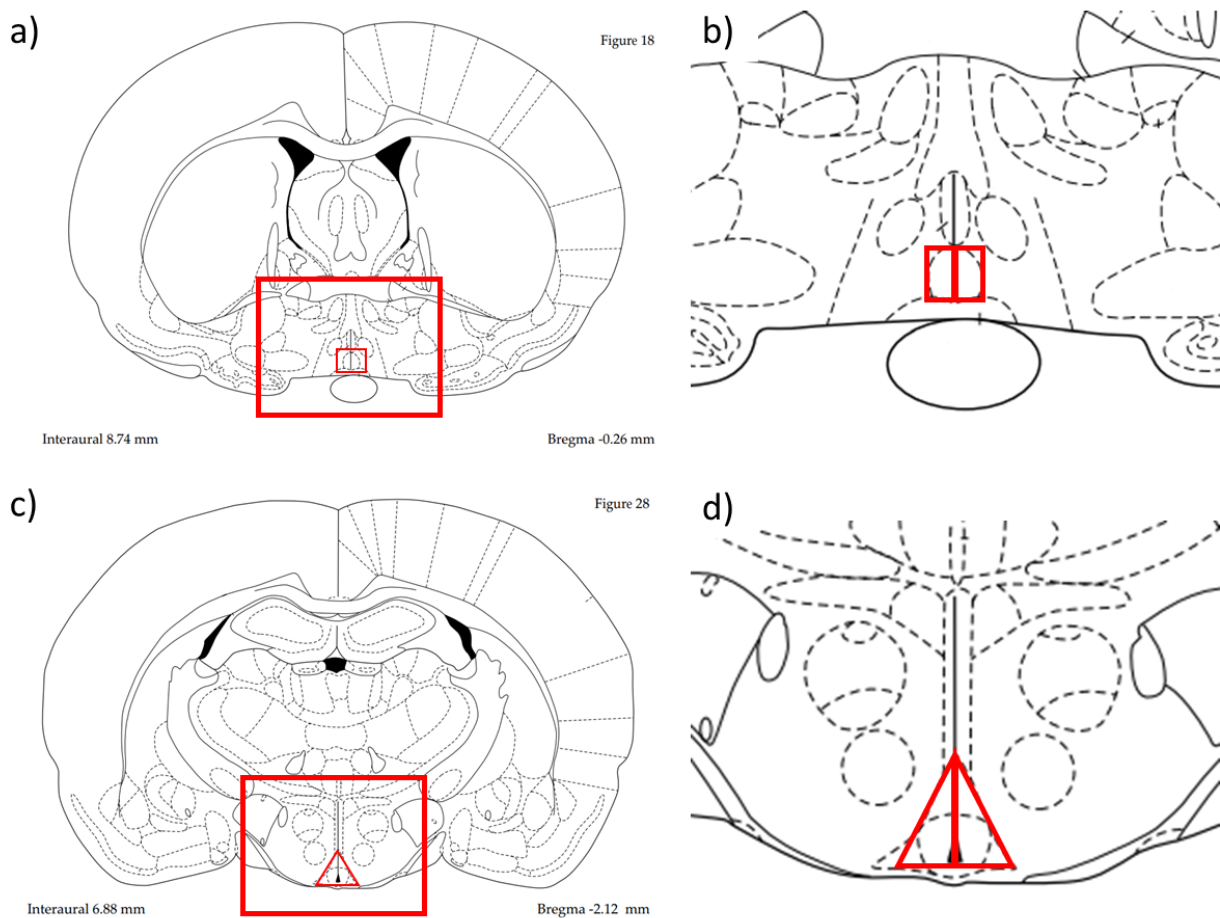


Figura 4. Esquema de una sección coronal a nivel hipotalámico donde se muestra la ubicación de: **a)** el núcleo AVPV y las estructuras que lo rodean, **b)** delimitación de los campos que se utilizaron para el conteo de células en el núcleo AVPV, **c)** el núcleo

ARC y las estructuras que lo rodean y, **d)** delimitación de los campos que se utilizaron para el conteo de células en el núcleo ARC; adaptado de Paxinos y Watson (1986).

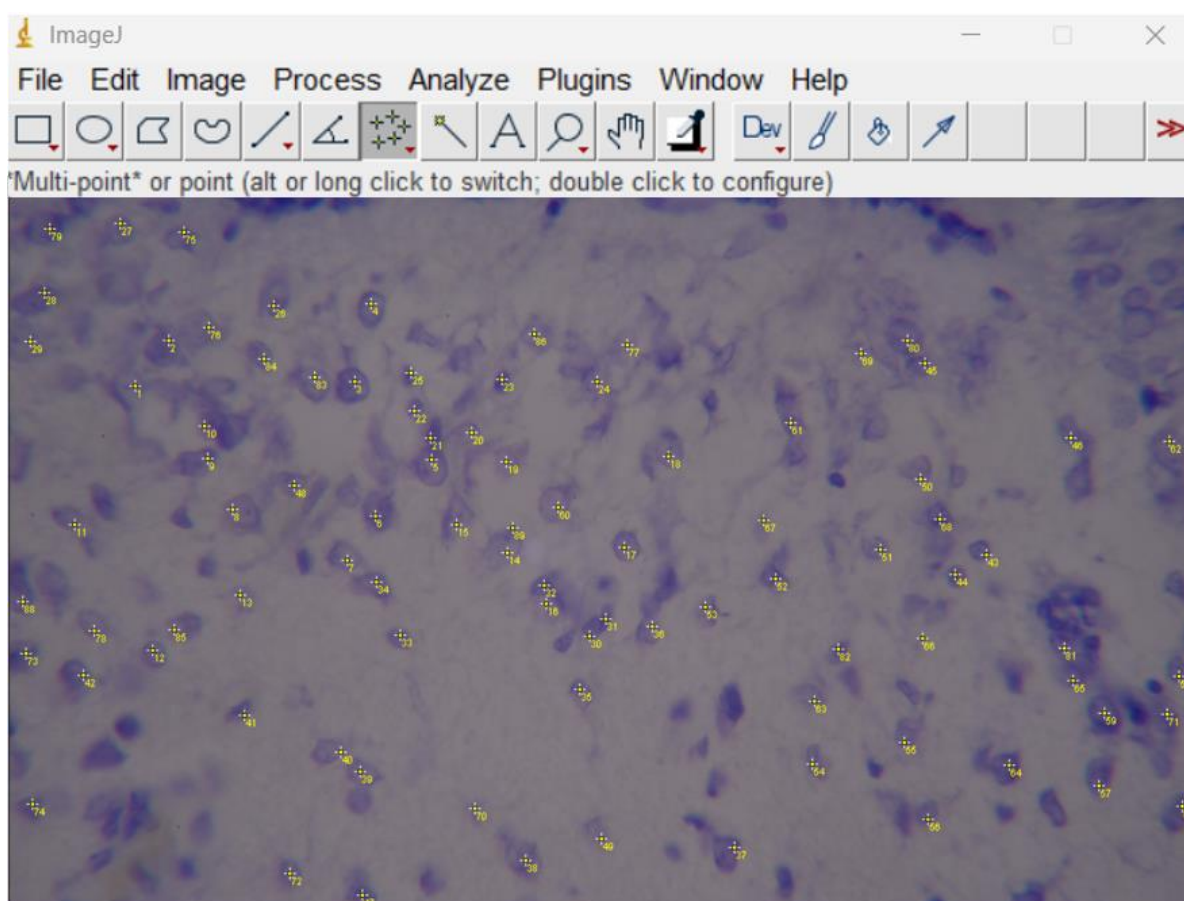


Figura 5. Muestra del conteo de neuronas (por corte) mediante el uso de la función “puntos-múltiples” en Image-J.

Análisis estadístico

Los resultados fueron expresados como la media \pm error estándar de la media. En todos los casos se realizaron pruebas de normalidad Shapiro-Wilk, considerando como diferencias estadísticamente significativas aquellos valores con probabilidad menor a 0.05. El peso corporal de los individuos, la longitud naso-anal y el índice de Lee se analizaron por la prueba de t de student, mientras que la circunferencia abdominal se analizó con una U de Mann-Whitney. Para la población neuronal se analizó por la prueba Kruskal-Wallis seguida de una prueba post hoc de Bonferroni. El análisis estadístico se realizó empleando el programa R versión 4.2.2. (R Core Team, 2023).

RESULTADOS

El peso corporal de las hembras obesas (Fig. 6; $t_{(5)} = -7.1018$, $*p=0.0053$) es mayor a los 90 días al compararse con el peso corporal de las ratas delgadas.

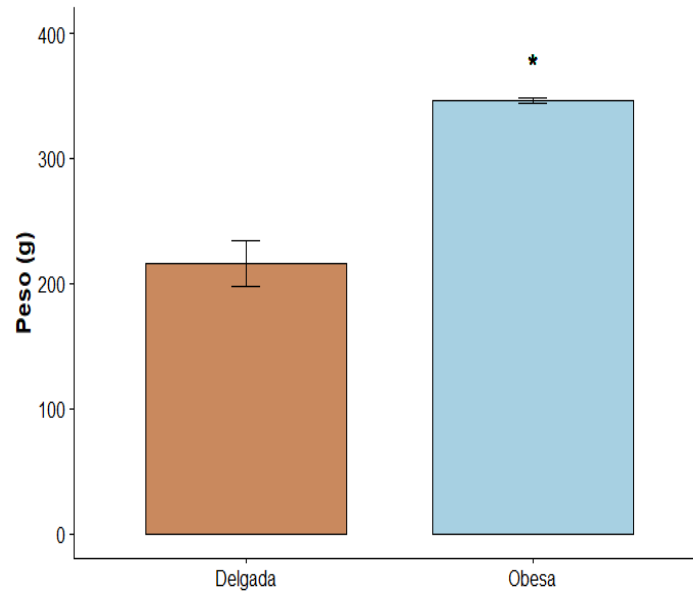


Figura 6. Media \pm e.e.m. del peso corporal (g) de la rata hembra Zucker delgada y obesa. $*p<0.05$.

Cuando analizamos la circunferencia abdominal se observa que las hembras obesas presentan una mayor circunferencia abdominal (Fig. 7; $U_{(5)} = 0$, $*p=0.0476$) al compararse con las ratas delgadas.

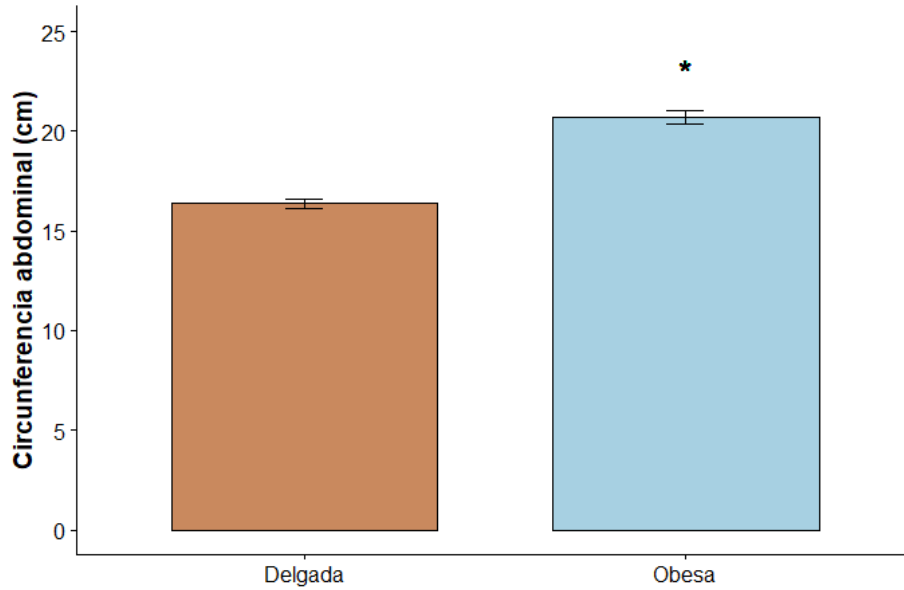


Figura 7. Media \pm e.e.m. de la circunferencia abdominal (cm) de la rata hembra Zucker delgada y obesa. * $p < 0.05$.

Cuando se calcula el índice de Lee, se observa que los individuos obesos presentan valores mayores a 3, lo que confirma su condición obesa (Tabla 1; $t_{(5)} = -4.2275$, * $p = 0.0222$).

Tabla 1. Media \pm e.e.m. del índice de Lee de la rata hembra Zucker delgada y obesa.

Grupo	n	Índice de Lee
Delgada	4	2.80 \pm 0.04
Obesa	3	3.22 \pm 0.08*

* $p < 0.05$.

En la figura 8 se identifica la zona del núcleo AVPV, así como se ve representado en una microfotografía el área de estudio, en la que podemos observar la presencia de células, tanto en animales delgados como obesos.

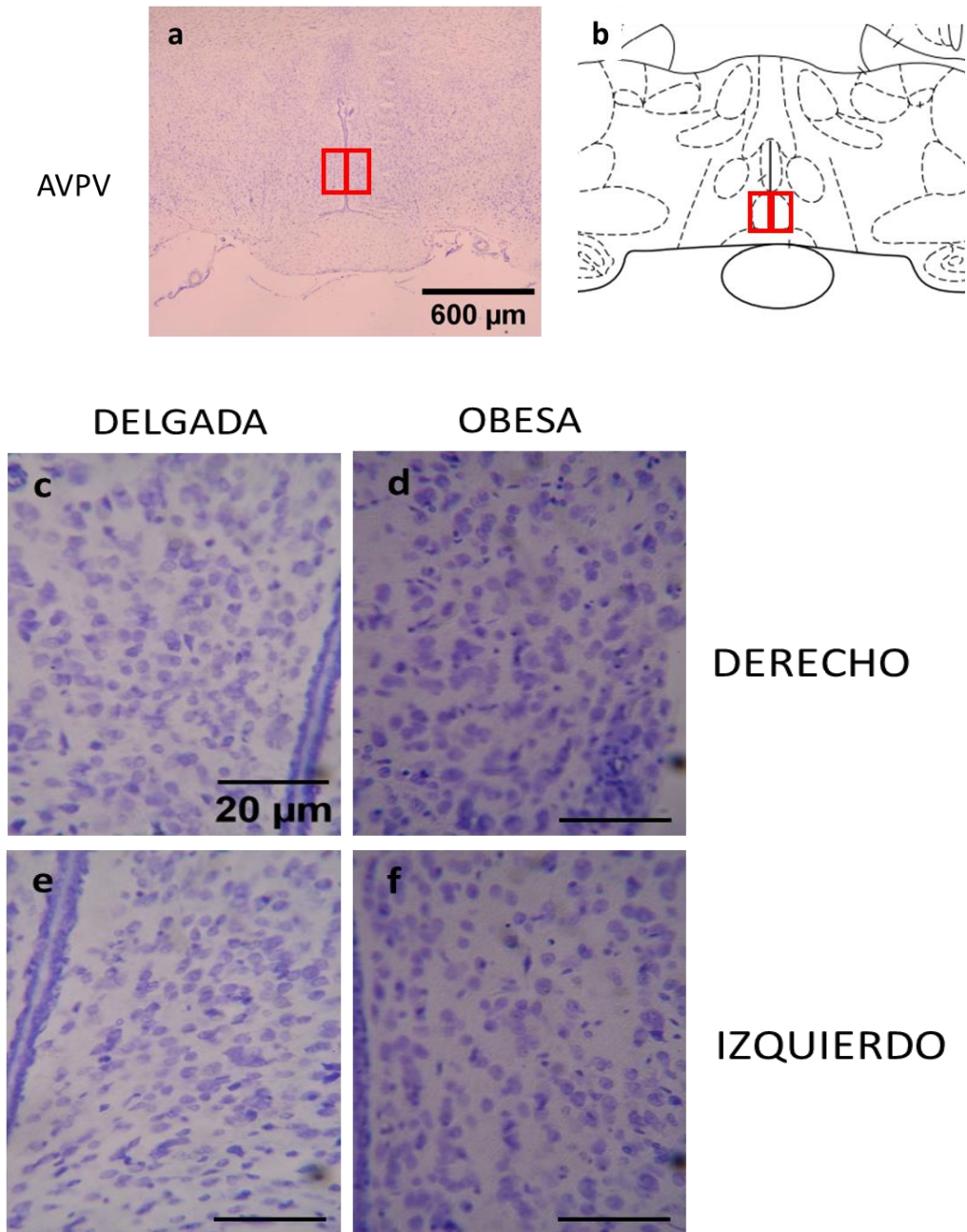


Figura 8. Microfotografías donde se observan las neuronas del núcleo AVPV en ambos hemisferios del cerebro. (a,b) representación de la zona donde se realizó el conteo, (a) tomada con el objetivo 4X; escala: 600 μm . (c-f) tomadas con el objetivo 40X; escala de la barra: 20 μm .

Al analizar el número de células presentes en el núcleo AVPV no se observaron cambios entre individuos delgados y obesos (Fig. 8 y 9).

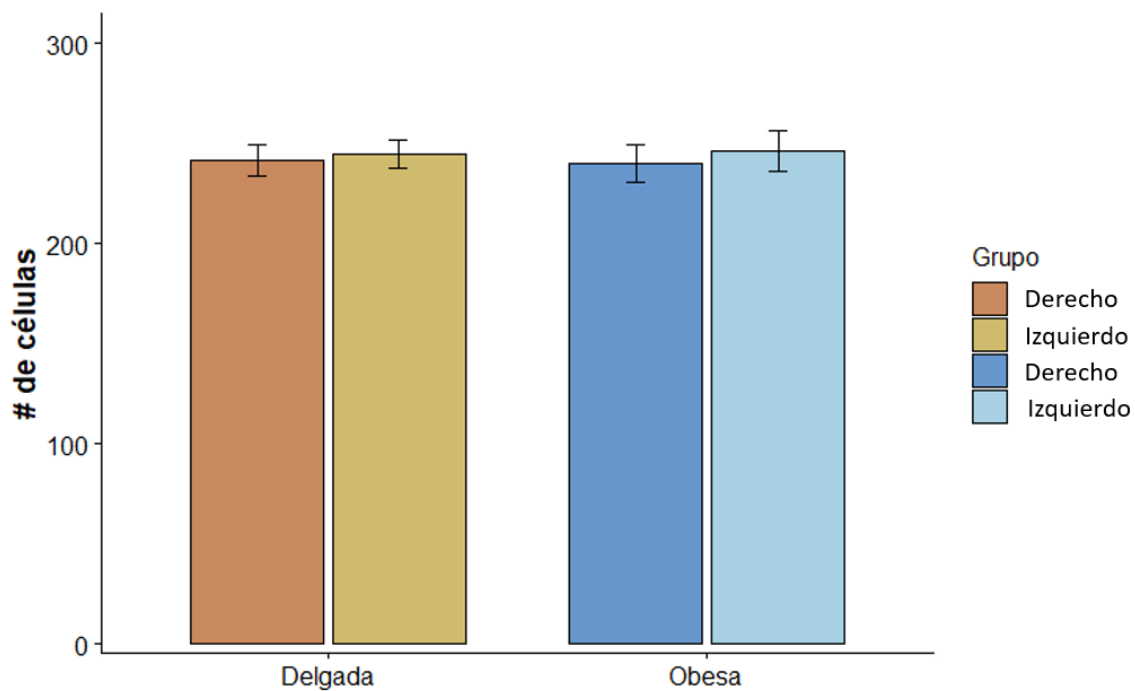


Figura 9. Media \pm e.e.m. del número de células cuantificadas en el núcleo AVPV, en ambos hemisferios, de la rata hembra Zucker delgada y obesa.

En la figura 10 se identifica la zona del núcleo ARC, así como se ve representado en una microfotografía el área de estudio, en la que podemos observar la presencia de células, tanto en animales delgados como obesos.

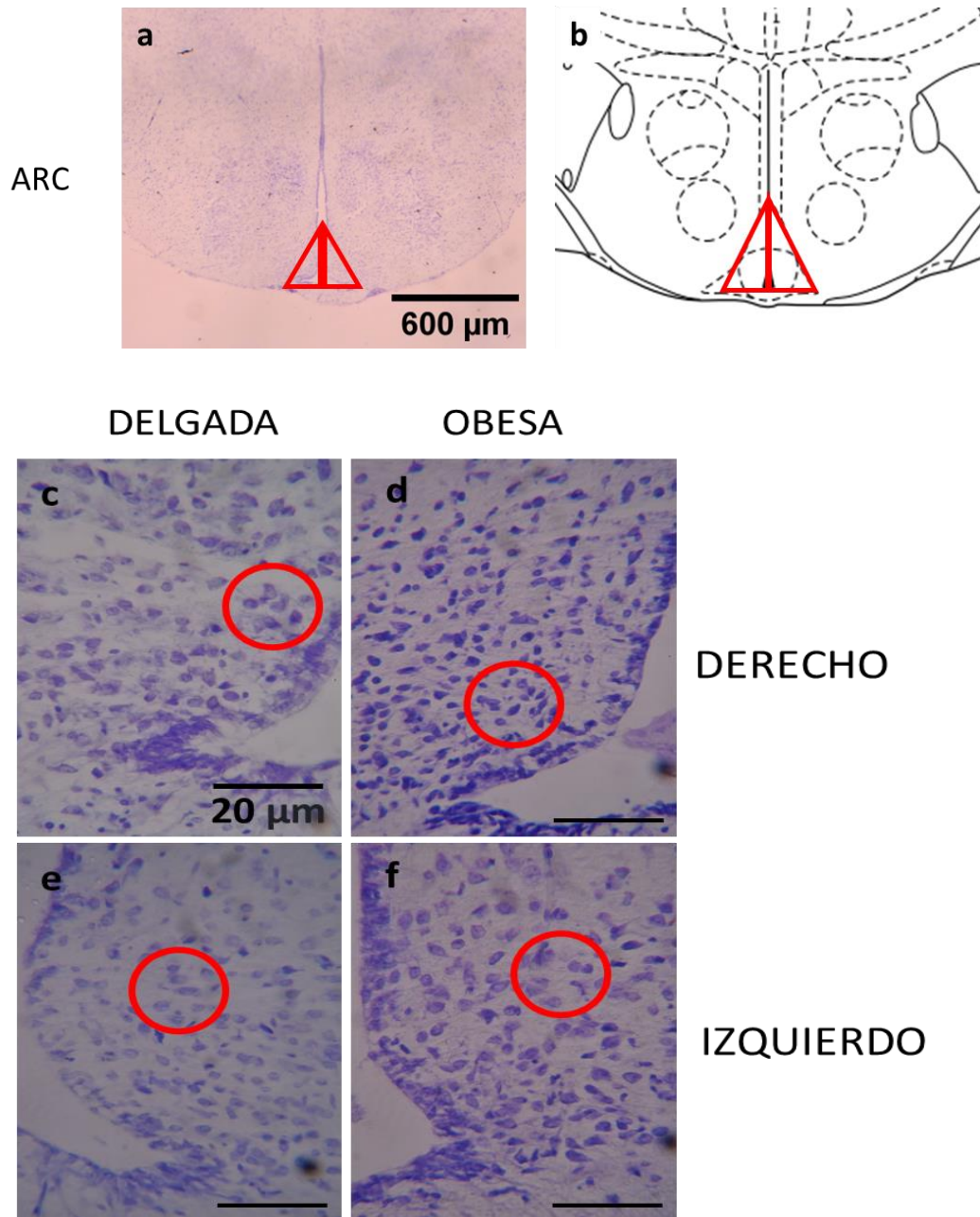


Figura 10. Microfotografía donde se observan las neuronas del núcleo ARC en ambos hemisferios del cerebro, (a,b) representación de la zona donde se realizó el conteo, (a) tomada con el objetivo 4X; escala: 600 μm . (d) muestra diferencias con c, e y f (representado en rojo), (c-f) tomadas con el objetivo 40X; escala de la barra: 20 μm .

Por otro lado, el número de células del núcleo ARC fue mayor en el hemisferio derecho de los individuos obesos en comparación con el hemisferio izquierdo y con los individuos delgados (Fig. 11; $H_{(5)} = 24.506$, $p^* = 0.00001$) (Fig. 11)

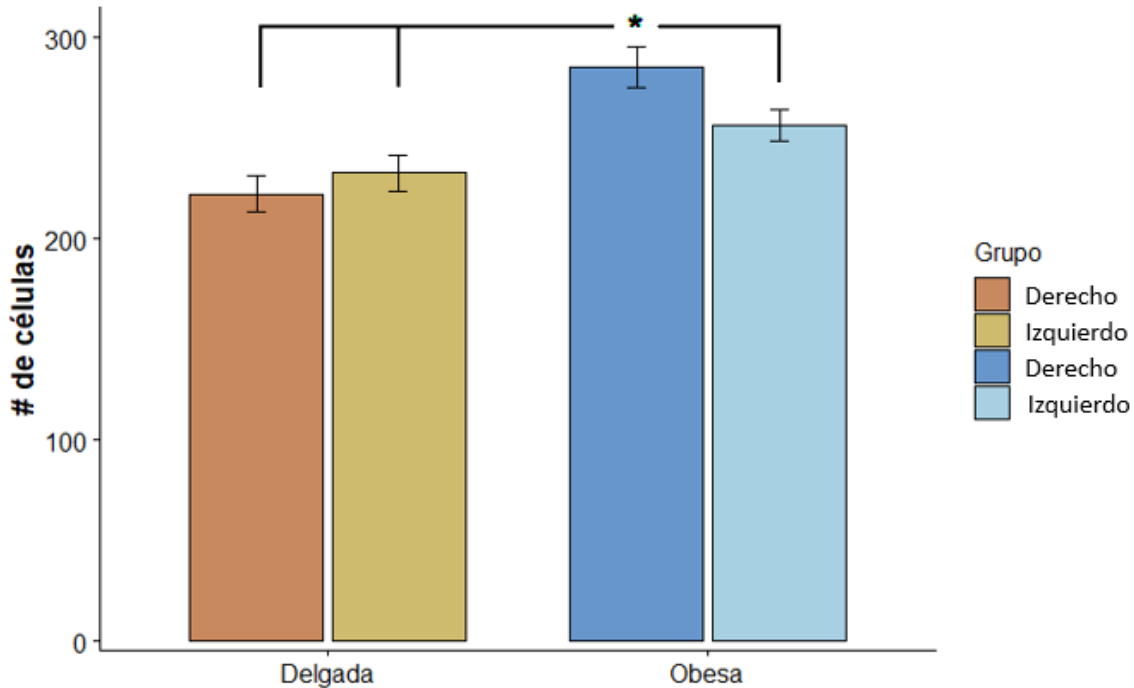


Figura 11. Media \pm e.e.m. del número de células cuantificadas en el núcleo ARC, en ambos hemisferios de la rata hembra Zucker delgada y obesa. $*p < 0.05$.

DISCUSIÓN

En el presente trabajo se analizaron los parámetros zoométricos de la rata hembra Zucker obesa de 90 días de edad, utilizando como comparativo la hembra heterocigota para el alelo *fa* que se caracteriza por ser delgada, encontrando que la hembra obesa presenta mayor peso corporal y circunferencia abdominal, y que, en conjunto con el cálculo del índice de Lee, confirman la condición obesa que caracteriza a este modelo. El análisis de la abundancia de las neuronas presentes en ambos hemisferios del núcleo AVPV no mostró ningún cambio, sin embargo, en el núcleo ARC se encontró un mayor número de células en el hemisferio derecho del fenotipo obeso en comparación con el hemisferio izquierdo y cuando es comparado con el mismo núcleo hipotalámico de animales delgados.

El análisis de los parámetros zoométricos es importante para obtener datos cuantitativos acerca de las dimensiones corporales y anatómicas de los organismos, debido a que estos datos proveen información sobre el estado de salud del individuo. En este trabajo se reporta que la rata hembra Zucker obesa presenta un índice de Lee mayor a 3, el cual es utilizado en múltiples investigaciones para realizar un diagnóstico de la obesidad en roedores, Roa y del Sol (2021) trabajando con un modelo de obesidad inducido por glutamato monosódico (GMS), mostraron también que sus animales obesos reportaban un índice mayor a 3, lo que indica que el cálculo del índice de Lee es un buen predictor de obesidad en roedores de laboratorio.

Este incremento notorio en el peso de los animales puede deberse a la alteración en la señal de leptina; en animales con normopeso, la leptina es sintetizada y secretada por los adipocitos, viaja en la sangre, atraviesa la barrera hematoencefálica y llega al núcleo arcuato del hipotálamo, para acoplarse a su receptor (Ob-Rb). Esta comunicación endocrina da como resultado un aumento en la producción de POMC, neuropéptido que induce la vía anorexigénica y da como resultado la inhibición del apetito (Shimizu y Mori, 2005). La rata Zucker se caracteriza por tener una mutación recesiva en el receptor de leptina, razón por la cual esta rata presenta hiperfagia, hipertrofia e hiperplasia de adipocitos, y cuando cumplen las 14 semanas de vida un 40% de su peso corporal tiene composición lipídica (Aleixandre y Miguel, 2008; Chua *et al.*, 1996a; Chua *et al.*, 1996b; Johnson *et al.*, 1971). En nuestro grupo de trabajo se ha reportado que la rata Zucker obesa, en el primer estró vaginal, presenta un incremento en el peso corporal (Puga y Colmenares *et al.*, 2021). Además, datos no publicados nos permiten señalar que, en este modelo de animal obeso, el índice de Lee y la circunferencia abdominal se incrementan en los animales obesos en comparación con los delgados a partir de los 60 días de edad.

Estudios realizados en ratas Zucker obesas revelan que los adipocitos de este modelo de obesidad presentan un incremento tanto en número como en tamaño, especialmente en el tejido graso subcutáneo, lo que se ha asociado con hiperfagia y exceso de lípidos en el tejido adiposo (Chua *et al.*, 1996a; Picó *et al.* 2002). En este trabajo se observa una diferencia pronunciada en la circunferencia abdominal entre el

fenotipo delgado y obeso, es posible sugerir que dicha diferencia se deba a una mayor acumulación y agrandamiento de los depósitos de tejido adiposo en la zona visceral de las hembras obesas, como ha sido reportado por Hirsch y Han (1969), en donde describen que en la rata Zucker obesa, el número de adipocitos aumenta hasta la semana 26, acompañado de un aumento de tamaño celular (Johnson *et al.*, 1971). A diferencia de las ratas Zucker delgada y las Sprague-Dawley, cuyo número de adipocitos incrementa desde el nacimiento hasta la semana 15 de vida (Hirsch y Han, 1969).

En los últimos años, el papel del tejido adiposo en la regulación del eje HHG ha recibido mayor atención debido a que desempeña un papel crucial en el inicio de la pubertad y de la fertilidad (Tsatsanis *et al.*, 2015). El aumento de tejido adiposo observado en la rata Zucker obesa podría explicar las anormalidades reproductivas que la caracterizan. En las mujeres que presentan obesidad se ha descrito que las adipocinas, moléculas bioactivas secretadas por el tejido adiposo, pueden afectar la producción de hormonas reproductivas en la mujer de varias maneras, como la disminución de la sensibilidad a la insulina, la disminución de la globulina fijadora de hormonas sexuales, el aumento de la producción de andrógenos, la alteración de la producción de hormonas gonadotrópicas y el síndrome de ovario poliquístico (SOP) (Mejia-Montilla *et al.*, 2017; Sánchez *et al.*, 2010; Sánchez-Muñoz *et al.*, 2005).

El encéfalo se encuentra dividido en dos hemisferios, el izquierdo y el derecho. El estudio en ambos hemisferios es importante ya que algunas estructuras presentan lateralización de funciones, lo que significa que ciertas funciones o procesos están más dominados por un hemisferio cerebral que por el otro (Groen *et al.*, 2012). Al analizar los núcleos hipotalámicos por hemisferios, se puede determinar si hay diferencias funcionales o de activación entre los lados derecho e izquierdo del hipotálamo, proporcionando información sobre cómo se llevan a cabo ciertas funciones o procesos específicos. Varios grupos de investigación han proporcionado evidencia de una lateralización funcional en el hipotálamo (Cruz *et al.*, 1989; López *et al.*, 1997; Toth *et al.*, 2014).

En el caso de la reproducción, se ha descrito que el hemisferio derecho del hipotálamo responde más al estímulo con estrógenos, además, puede llegar a presentar un mayor número de células liberadoras de GnRH (Bakalkin *et al.*, 1984; Cruz *et al.*, 1989; Toth *et al.*, 2014). En el grupo de Bakalkin *et al.*, (1984) utilizaron ratas Wistar macho, que se llevaron a eutanasia en dos diferentes horarios: mañana (10 hrs) y noche (22 hrs), inmediatamente después se removieron ambos hemisferios del cerebro; las muestras obtenidas contenían los núcleos arcuato y ventromedial, así como tejido circundante. Los cortes fueron tratados con yodo de acuerdo con el método de Marshall y Odell (1975) y se observó que el contenido de GnRH era mucho mayor en el hemisferio derecho de los animales sacrificados en el horario de la mañana al compararlo con el hemisferio izquierdo y con el grupo sacrificado en la noche.

En cuanto a la ingesta de alimentos, Kiss *et al.*, (2020) probaron que el estado metabólico (ayuno o saciedad) se correlaciona con actividades metabólicas diferentes en cada hemisferio. Este grupo de investigación utilizó ratas Wistar macho y las sometió a una prueba de alimentación programada: fueron alimentados con una porción de comida restringida y fueron sacrificados en tres momentos particulares del ciclo de alimentación: 1 h antes, en el momento de alimentación y 1 h después. Otro grupo tenía alimentación *ad libitum* durante todo el día. En los resultados observaron que el ayuno provocó un predominio metabólico en el lado izquierdo, mientras que la saciedad se vinculó al hemisferio derecho.

Al analizar el número de neuronas en ambos hemisferios cerebrales en los núcleos hipotalámicos que regulan funciones como la reproducción y el metabolismo, como lo son AVPV y ARC respectivamente, se pretendió aproximarse a entender si estos núcleos pudieran tener una lateralización funcional. Se observó mayor número de neuronas en el hemisferio derecho del núcleo ARC de los animales con fenotipo obeso, por lo que podría existir, según lo descrito por Kiss *et al.*, (2020), una lateralización de funciones en este núcleo. Por otro lado, en el núcleo AVPV, no hay ningún cambio en cuanto al número de células por hemisferio.

Sería necesario analizar con otras aproximaciones tecnológicas que permitan cuantificar otros aspectos, como la presencia de los receptores de kisspeptina, para

poder determinar si el núcleo AVPV también puede considerarse como un núcleo con lateralización funcional en cuanto a la regulación reproductiva. Algunas técnicas que se podrían utilizar son las pruebas de inmunohistoquímica, Western blot y ELISA, en las que se podría detectar la presencia del receptor a kisspeptina (Kiss1R) en diferentes tejidos y células (Romeu *et al.*, 2016; Schmidt *et al.*, 2022). Estas técnicas pueden ayudar a identificar la distribución y localización de Kiss1R en diferentes tejidos y células y a cuantificar los niveles de expresión de Kiss1R.

El conteo neuronal es una técnica utilizada en neurociencia para cuantificar el número de neuronas en una región específica del cerebro o en una muestra de tejido nervioso y puede servir para demostrar pérdida de neuronas, actividad neuronal y neurogénesis; este último presenta mayor campo de interés, debido a que durante mucho tiempo se pensó que el sistema nervioso era fijo e incapaz de regeneración (Fujii, 2018). Como ya se ha mencionada en este trabajo evidenciamos un incremento en el número de células cuantificadas en el núcleo ARC, por lo que podríamos pensar en un evento de neurogénesis en el animal obeso.

La neurogénesis es el proceso de generar neuronas funcionales a partir de células madre neurales (Arias-Carrión *et al.*, 2007). Este proceso ocurre principalmente para la formación del sistema nervioso durante el desarrollo embrionario, y se lleva a cabo a través de una serie de procesos de fina regulación que incluyen la proliferación de células madre neurales, generación de precursores con alta tasa proliferativa, formación de neuroblastos, migración, crecimiento axónico y generación del árbol dendrítico, establecimiento de sinapsis y al final, maduración a neurona madura funcional (Kumar *et al.*, 2019; Ribeiro y Xapelli, 2021). La neurogénesis puede verse potenciada o afectada por factores de transcripción que son expresados en diferentes patologías (Moreno *et al.*, 1999).

Nuestros resultados y los reportes en la literatura nos permiten postular que, en el modelo de la rata Zucker obesa, la ausencia de la señalización de la leptina pudiera contribuir al proceso de neurogénesis en el núcleo ARC. La resistencia a la leptina puede producir obesidad y se ha demostrado que también está relacionada con el aumento de Interleucina 6 (IL-6), una citocina inflamatoria que se produce en el tejido

adiposo y que, en condiciones de obesidad, sus concentraciones son elevadas. Se ha descrito que IL-6 promueve la expresión de factores de transcripción relacionados con neurogénesis, como Sox6 y Sox2 (Ohta *et al.*, 2013; Rosado *et al.*, 2006; Wegner y Stolt, 2005; Zhang y Jiao, 2015). La continuación del trabajo es necesaria para probar, en el modelo de la rata Zucker obesa, la presencia de marcadores de neurogénesis para confirmar la hipótesis planteada anteriormente.

El núcleo ARC integra señales endocrinas que afectan la pulsatilidad de GnRH y por lo tanto, la liberación de LH y FSH (Tovar y Ayala, 2004). Una mutación en el receptor de leptina como la que presenta la rata Zucker podría alterar esta regulación, lo que a su vez tendría consecuencias en la función reproductiva (Calé *et al.*, 2013; Tovar y Ayala, 2004). La resistencia a la leptina puede generar una disminución en la pulsatilidad de GnRH, generando una perturbación en la estimulación de LH y FSH y provocando una alteración en la producción de hormonas sexuales, provocando anomalías en el eje reproductivo, como el retraso de la pubertad, ciclos estrales irregulares, cambios en la población folicular y disminución en la fertilidad (Aleixandre y Miguel, 2008; De lugo y Jurado, 2006; Mas, 2007; Tovar y Ayala, 2004).

AVPV es el núcleo hipotalámico asociado a la regulación de la reproducción. En este núcleo se encuentran neuronas kisspeptidéicas, estas neuronas son blanco de señales metabólicas, por lo que una perturbación en esta señalización podría disminuir ARNm para Kiss1 en el hipotálamo (Castellano *et al.*, 2005; Kalamatianos *et al.*, 2008). En nuestro trabajo no encontramos diferencias en el número de neuronas en este núcleo hipotalámico, sin embargo, la actividad de las neuronas de núcleo AVPV puede estar alterada como resultado de la obesidad. Estudios de Castellano *et al.*, (2005, 2006) demostraron que la expresión de ARNm para Kiss1 está disminuida en el ratón ob/ob (un modelo animal genéticamente modificado que tiene deficiencia de leptina) comparado con el control (Castellano *et al.*, 2005; Castellano *et al.*, 2006). En la rata Zucker obesa se presentan cambios en la fisiología reproductiva, sin embargo, no existe evidencia sobre la expresión del ARNm de este péptido en ese núcleo hipotalámico, lo que representa también un área de oportunidad para trabajos futuros.

Los resultados del presente estudio nos permiten sugerir que la condición de obesidad de la rata Zucker obesa resulta en una posible neurogénesis en el núcleo arcuato, lo que podría deberse a la acción de la Interleucina 6, citocina sobre expresada en condiciones de obesidad y que potencia la proliferación celular con la ayuda de factores de transcripción como Sox2 y Sox6, hipótesis que deberá ser probada en futuros trabajos.

CONCLUSIONES

- La rata Zucker a los 90 días de edad presenta obesidad caracterizada por un incremento en el peso y en el índice de Lee.
- El número de células cuantificadas en el núcleo AVPV es similar entre los animales delgados y obesos.
- El número de células cuantificadas en el núcleo ARC se encuentra incrementado en el hemisferio derecho en el animal obeso.

PERSPECTIVAS DEL TRABAJO

- Analizar la abundancia de neuronas en otros núcleos hipotalámicos que se encargan de la regulación de la ingesta de alimentos, como el núcleo ventromedial y dorsomedial para poder observar la alteración de la señal de la leptina a nivel hipotalámico.
- Analizar la presencia de kisspeptina, a nivel hipotalámico, que permitan observar los cambios en esta hormona.
- Evaluar de la liberación de LH y FSH para analizar la función gonadal y reproductora para comprender de manera más profunda qué ocurre fisiológicamente con este modelo animal.

BIBLIOGRAFÍA

Aguado, D. (2011). Estudio del sistema somatostatinérgico cerebral de la rata con encefalomiелitis autoinmune experimental. (Tesis para obtener grado de doctorado). Universidad de Alcalá.

Aguirre, C. (2010). Conducta sexual y neurogénesis adulta: ¿Por qué estudiar el cerebelo? Revista eNeurobiología. Universidad Veracruzana

- Ahima, R. S., Flier, J. S. (2000). Leptin. *Annu Rev Physiol.* (37), 62-413.
- Ahmed, S. R., Ellah, M. A., Mohamed, O. A., Eid, H. M. (2009). Prepregnancy obesity and pregnancy outcome. *International journal of health sciences*, 3(2), 203.
- Aleixandre, A., Miguel, M. (2008). Ratas Zucker como modelo experimental para el estudio de diferentes enfermedades. *Endocrinología y nutrición*, 55(5), 217-222.
- Álvarez-Castro, P., Sangiao-Alvarellos, S., Brandón-Sandá, I. y Cordido, F. (2011). Función endocrina en la obesidad. *Endocrinología y nutrición*, 58(8), 422- 432.
- Arias-Carrión, O., Olivares-Bañuelos, T., Drucker-Colín, R. (2007). Neurogénesis en el cerebro adulto. *Rev Neurol*, 44(9), 541-50.
- Azim, E., Jabaudon, D., Fame, R. M., Macklis, J. D. (2009). SOX6 controls dorsal progenitor identity and interneuron diversity during neocortical development. *Nature neuroscience*, 12(10), 1238-1247.
- Bakalkin, G. Y., Tsibezov, V. V., Sjutkin, E. A., Veselova, S. P., Novikov, I. D., Krivosheev, O. G. (1984). Lateralization of LH-RH in rat hypothalamus. *Brain research*, 296(2), 361-364.
- Banks, A. S., Davis, S. M., Bates, S. H., Myers, M. G. (2000). Activation of downstream signals by the long form of the leptin receptor. *Journal of Biological Chemistry*, 275(19), 14563-14572.
- Barquera, S., Campos, I., Rivera, J. A. (2013). Mexico attempts to tackle obesity: the process, results, push backs and future challenges. *Obesity reviews*, 14, 69-78.
- Beck, B. (2000). Neuropeptides and obesity. *Nutrition*, 16(10), 916-923.
- Beck, B., Burlet, A., Nicolas, J. P., Burlet, C. (1990). Hyperphagia in obesity is associated with a central peptidergic dysregulation in rats. *Journal of Nutrition*, 120, 806-811.
- Beck, B., Burlet, A., Nicolas, J. P., Burlet, C. (1993). Galanin in the hypothalamus of fed and fasted lean and obese Zucker rats. *Brain Research*, 623, 124-130.

Beck, B., Richy, S., Stricker-Krongrad, A. (2003). Ghrelin and body weight regulation in the obese Zucker rat in relation to feeding state and dark/light cycle. *Experimental Biology and Medicine*, 228, 1124-1131.

Beck, B., Richy, S., Stricker-Krongrad, A. (2004). Feeding response to ghrelin agonist and antagonist in lean and obese Zucker rats. *Life Sciences*, 76, 473-478.

Beckervordersandforth, R., Zhang, C. L., Lie, D. C. (2015). Transcription-factor-dependent control of adult hippocampal neurogenesis. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 7(10).

Bereiter, D. A., Jeanrenaud, B. (1979) Altered neuroanatomical organization in the central nervous system of the genetically obese (ob/ob) mouse. *Brain Res.* 165: 249–260.

Bjorbaek, C., El-Haschimi, K., Frantz, J. D., Flier, J. S. (1999). The role of SOCS-3 in leptin signaling and leptin resistance. *Journal of Biological Chemistry*, 274(42), 30059-30065.

Bjorbaek, C., Kahn, B. B. (2004). Leptin signaling in the central nervous system and the periphery. *Recent progress in hormone research*, 59, 305-332.

Bjorbaek, C., Lavery, H. J., Bates, S. H., Olson, R. K., Davis, S. M., Flier, J. S., Myers, M. G. (2000). SOCS3 mediates feedback inhibition of the leptin receptor via Tyr985. *Journal of Biological Chemistry*, 275(51), 40649-40657.

Bjorbaek, C., Uotani, S., Da Silva, B., Flier, J. S. (1997). Divergent signaling capacities of the long and short isoforms of the leptin receptor. *Journal of Biological Chemistry*, 272(51), 32686-32695.

Blancas-Flores, G., Almanza-Pérez, J. C., López-Roa, R. I., Alarcón-Aguilar, F. J., García-Macedo, R., Cruz, M. (2010). La obesidad como un proceso inflamatorio. *Boletín médico del Hospital Infantil de México*, 67(2), 88-97.

Blüher, M. (2014). Adipokines—removing road blocks to obesity and diabetes therapy. *Molecular metabolism*, 3(3), 230-240.

- Blüher, M., y Mantzoros, C. S. (2015). From leptin to other adipokines in health and disease: facts and expectations at the beginning of the 21st century. *Metabolism*, 64(1), 131-145.
- Bondolfi, O. (2013). NF- κ B (Nuclear factor kappa B) su relación con aprendizaje, memoria y neurogénesis en el hipocampo. *Psicofarmacología (B. Aires)*, 17-25.
- Botía, C. (2017). Distribución de RLN3 en el hipotálamo de la rata. (trabajo de fin de grado). Universitat Jaume I.
- Bouret, S. G., Draper, S. J., Simerly, R. B. (2004). Formation of projection pathways from the arcuate nucleus of the hypothalamus to hypothalamic regions implicated in the neural control of feeding behavior in mice. *The Journal of Neuroscience* 24 (11), 2797-2805.
- Bravo, D. A., Barreda, S. J., Trujillo, A., Silva, 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.
- Broughton, D. E., y Moley, K. H. (2017). Obesity and female infertility: potential mediators of obesity's impact. *Fertility and sterility*, 107 (4), 840-847.
- Bruno, C., Vergani, E., Giusti, M., Oliva, A., Cipolla, C., Pitocco, D., Mancini, A. (2021). The "Adipo-Cerebral" dialogue in childhood obesity: Focus on growth and puberty. Physiopathological and nutritional aspects. *Nutrients*, 13(10), 3434.
- Buettner, C., Poci, A., Muse, E. D., Etgen, A. M., Myers, M. G., Rossetti, L. (2006). Critical role of STAT3 in leptin's metabolic actions. *Cell metabolism*, 4(1), 49-60.
- Calé, J., Zalazar, M., Faraj, G. (2013). Kisspeptinas: las protagonistas del eje gonadal. *SAEGRE*, 18(3), 5-12.
- Calzada-León, R., Altamirano-Bustamante, N., Ruiz-Reyes, M. D. L. L. (2008). Reguladores neuroendocrinos y gastrointestinales del apetito y la saciedad. *Boletín médico del Hospital Infantil de México*, 65(6), 468-487.

Camacho, V., Bastida, A., Zarate, S. G. (2020). Estudio anatómico del hipocampo como una de las regiones de neurogénesis más relevante. *Revista Científica Ciencia Médica*, 23(2), 221-230.

Carpenter, M. B. (2013). *Neuroanatomía Fundamentos*. 4° ed. 286– 309.

Castellano, J. M., Navarro, V. M., Fernandez-Fernandez, R., Nogueiras, R., Tovar, S., Roa, J., Tena-Sempere, M. (2005). Changes in hypothalamic KiSS-1 system and restoration of pubertal activation of the reproductive axis by kisspeptin in undernutrition. *Endocrinology*, 146(9), 3917-3925.

Castellano, J. M., Navarro, V. M., Fernández-Fernández, R., Roa, J., Vigo, E., Pineda, R., Tena-Sempere, M. (2006). Expression of hypothalamic KiSS-1 system and rescue of defective gonadotropic responses by kisspeptin in streptozotocin-induced diabetic male rats. *Diabetes*, 55(9), 2602-2610.

Chowen, J. A., Horvath, T. L., Argente, J. (2017). Microglial Proliferation in Obesity: When, Where, Why, and What Does It Mean?. *Diabetes*, 66(4), 804.

Chua, S. C. Jr., White, D. W., Wu-Peng, X. S., Liu, S. M., Okada, N., Kershaw, E. E. (1996a). Phenotype of fatty due to Gln269Pro mutation in the leptin receptor (Lepr). *Diabetes*. (3), 45-1141.

Chua, S. C., Chung, W. K., Wu-peng, X. S., Zhang, Y. Y., Liu, S. M., Tartaglia, L., (1996b). Phenotypes of mouse diabetes and rat fatty due to mutations in the OB (leptin) receptor. *Science*. 271(5251), 994-996.

Cruz, M. E., Jaramillo, L. P., Domínguez, R. (1989). Asymmetric ovulatory response induced by a unilateral implant of atropine in the anterior hypothalamus of the cyclic rat. *Journal of endocrinology*, 123(3), 437-439.

Dávila-Torres, J., González-Izquierdo J. J., Barrera-Cruz, A. (2015). Panorama de la obesidad en México. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*. 53(2),240-9

De Aluja, A. S. (2002). Animales de laboratorio y la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999). *Gac Méd Méx*, 138(3), 295-8.

De lugo, E. A. B., Jurado, L. P. (2006). La rata Zucker como modelo para el estudio de la función reproductora. *Endocrinología y nutrición*, 53(10), 592-598.

Dragano, N. R., Haddad-Tovolli, R., Velloso, L. A. (2017). Leptin, neuroinflammation and obesity. *Endocrine immunology*, 48, 84-96.

Erkut, Z. A., Pool, C., Swaab, D. F. (1998) Glucocorticoids suppress corticotropin-releasing hormone and vasopressin expression in human hypothalamic neurons. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 83: 2066–2073.

Erskine, M. S., Miller, S. (1995) Ultrastructural effects of estradiol and 5-alpha-androstane-3-alpha, 17-beta-diol on neurons within the ventromedial nucleus of the hypothalamus. *Neuroendocrinology* 61: 669–679.

Etchegoyen, M., Nobile, M. H., Baez, F., Posesorski, B., González, J., Lago, N., Otero-Losada, M. (2018). Metabolic syndrome and neuroprotection. *Frontiers in neuroscience*, 12, 196.

Evans, M. C., Rizwan, M., Mayer, C., Boehm, U., Anderson, G. M. (2014). Evidence that insulin signalling in gonadotrophin-releasing hormone and kisspeptin neurones does not play an essential role in metabolic regulation of fertility in mice. *Journal of neuroendocrinology*, 26(7), 468-479.

Eyckerman, S., Broekaert, D., Verhee, A., Vandekerckhove, J., Tavernier, J. (2000). Identification of the Y985 and Y1077 motifs as SOCS3 recruitment sites in the murine leptin receptor. *FEBS letters*, 486(1), 33-37.

Farooqi, I. S., O’Rahilly, S. (2009). Leptin: a pivotal regulator of human energy homeostasis. *The American journal of clinical nutrition*, 89(3), 980-984.

Farooqi, I. S., O’Rahilly, S. (2014). 20 years of leptin: human disorders of leptin action. *Journal of Endocrinology*, 223(1), T63-T70.

Finn, P. D., Cunningham, M. J., Pau, K. Y. F., Spies, H. G., Clifton, D. K., Steiner, R. A. (1998). The stimulatory effect of leptin on the neuroendocrine reproductive axis of the monkey. *Endocrinology*, 139(11), 4652-4662.

Frank, E., Hick, M.V., Prieto, A., Castillo, F. (2016). Técnicas de obtención de muestras, cortes histológicos y distinción en piel de camélidos sudamericanos.

Frühbeck, G. (2008). Overview of adipose tissue and its role in obesity and metabolic disorders. *Adipose tissue protocols*, 1-22.

Fujii, D. (2018). Localización y conteo de células neuronales en imágenes microscópicas utilizando Deep Learning. (Tesis para obtención de grado) Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires

García-Porrero, J.A., Hurlé, J.M. (2015). *Neuroanatomía Humana*. 150–158.

Gloy, V. L., Briel, M., Bhatt, D. L., Kashyap, S. R., Schauer, P. R., Mingrone, G., Bucher, H. C., Nordmann, A. J. (2013). Bariatric surgery versus non-surgical treatment for obesity: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials.

González Padilla, A. (2022). *Obesidad y pubertad precoz. Papel de la leptina*. (Trabajo Fin de Grado Inédito). Universidad de Sevilla, Sevilla.

Groen, M. A., Whitehouse, A. J., Badcock, N. A., Bishop, D. V. (2012). Does cerebral lateralization develop? A study using functional transcranial Doppler ultrasound assessing lateralization for language production and visuospatial memory. *Brain and behavior*, 2(3), 256-269.

Gu, G. B., Simerly, R. B. (1997). Projections of the sexually dimorphic anteroventral periventricular nucleus in the female rat. *Journal of Comparative Neurology*, 384(1), 142-164.

Gu, G., Varoquaux, F., Simerly, R. B. (1999). Hormonal regulation of glutamate receptor gene expression in the anteroventral periventricular nucleus of the hypothalamus. *Journal of Neuroscience*, 19(8), 3213-3222.

Gutiérrez, J. P., Rivera-Dommarco, J., Shamah-Levy, T., Villalpando-Hernández, S., Franco, A., Cuevas-Nasu, L. (2012). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. Resultados Nacionales. Instituto Nacional de Salud Pública. (1), 104-185.

Haekansson, M. L., Brown, H., Ghilardi, N., Skoda, R. C., Meister, B. (1998). Leptin receptor immunoreactivity in chemically defined target neurons of the hypothalamus. *Journal of Neuroscience*, 18(1), 559-572.

Hamilton, F. D. (1992). Association of moderate obesity with a poor pregnancy outcome in women with polycystic ovary syndrome treated with low dose gonadotropin. *Br J Obstet Gynaecol*, 99, 128-131.

Hardie, L. J., Rayner, D. V., Holmes, S., Trayhurn, P. (1996). Circulating leptin levels are modulated by fasting, cold exposure and insulin administration in lean but not Zucker (fa/fa) rats as measured by ELISA. *Biochemical and biophysical research communications*, 223(3), 660-665.

Herbison, A. E. (1998). Multimodal influence of estrogen upon gonadotropin-releasing hormone neurons. *Endocrine reviews*, 19(3), 302-330.

Hirsch, J., Han, P. W. (1969). Cellularity of rat adipose tissue: effects of growth, starvation, and obesity. *Journal of Lipid Research*, 10, 77-82.

Honma, H., Endo, T., Kiya, T., Shimizu, A., Nagasawa, K., Baba, T., Saito, T. (2010). Remarkable features of ovarian morphology and reproductive hormones in insulin-resistant Zucker fatty (fa/fa) rats. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 8(1), 1-9.

Izquierdo, A. G., Crujeiras, A. B., Casanueva, F. F., Carreira, M. C. (2019). Leptin, obesity, and leptin resistance: where are we 25 years later?. *Nutrients*, 11(11), 2704.

Johnson, P. R., Zucker, L. M., Cruce, J. A., Hirsch, J. (1971). Cellularity of adipose depots in the genetically obese Zucker rat. *Journal of Lipid Research*, 12, 706-714.

Kalamatianos, T., Grimshaw, S. E., Poorun, R., Hahn, J. D., Coen, C. W. (2008). Fasting reduces KiSS-1 expression in the anteroventral periventricular nucleus (AVPV): effects of fasting on the expression of KiSS-1 and neuropeptide Y in the AVPV or arcuate nucleus of female rats. *Journal of neuroendocrinology*, 20(9), 1089-1097.

Kiss, D. S., Toth, I., Jocsak, G., Bartha, T., Frenyo, L. V., Barany, Z., Zsarnovszky, A. (2020). Lateralization in the hypothalamus of male rats related to reproductive and satiety states. *Reproductive Sciences*, 27, 1197-1205.

Kumar, A., Pareek, V., Faiq, M. A., Ghosh, S. K., Kumari, C. (2019). Adult neurogenesis in humans: a review of basic concepts, history, current research, and clinical implications. *Innovations in clinical neuroscience*, 16(5-6), 30.

Lee, M. O. (1929). Determination of the surface area of the white rat with its application to the expression of metabolic results. *American Journal of Physiology-Legacy Content*, 89(1), 24-33.

Li, X. M., Yan, H. J., Guo, Y. S., Wang, D. (2016). The role of leptin in central nervous system diseases. *Neuroreport*, 27(5), 350.

Lin, F., Lo, R. Y., Cole, D., Ducharme, S., Chen, D. G., Mapstone, M., Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. (2014). Longitudinal effects of metabolic syndrome on Alzheimer and vascular related brain pathology. *Dementia and geriatric cognitive disorders extra*, 4(2), 184-194.

López, E., Cruz, M. E., Domínguez, R. (1997). Asymmetrical effects of the unilateral implant of pilocarpine on the preoptic-anterior hypothalamic area on spontaneous ovulation of the adult rat. *Archives of medical research*, 28(3), 343-348.

Margetic, S., Gazzola, C., Pegg, G. G., Hill, R. A. (2002). Leptin: a review of its peripheral actions and interactions. *International journal of obesity*, 26(11), 1407-1433.

Marshall, J. C., Odell, W. D. (1975). Preparation of biologically active ¹²⁵I LH-RH suitable for membrane-binding studies. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 149(2), 351-355.

Mas, M. (2007). Sustratos hormonales de la respuesta sexual femenina. *Revista Internacional de Andrología*, 5(1), 38-49.

Mejia-Montilla, J., Álvarez-Mon, M., Reyna-Villasmil, E., Torres-Cepeda, D., Reyna-Villasmil, N., Fernández-Ramírez, A., Bravo-Henríquez, A. (2017). Adiponectina plasmática en mujeres obesas y no obesas con síndrome de ovarios poliquísticos. *Perinatología y Reproducción Humana*, 31(2), 62-67.

Milionis, H. J., Florentin, M., Giannopoulos, S. (2008). Metabolic syndrome and Alzheimer's disease: a link to a vascular hypothesis?. *CNS spectrums*, 13(7), 606-613.

- Mockus, I. (2001). Leptina: regulación y asociaciones en la obesidad. *Salud UIS*, 33, 84-9.
- Morales, M., Carvajal, C. F. (2010). Obesidad y resistencia a la leptina. *Gaceta médica boliviana*, 33(1), 63-68.
- Moreno, J. C., Revol de Mendoza, A., Barrera, H. (1999). Transcripción génica en eucariotes: de los factores transcripcionales a la enfermedad. *Rev. invest. clín.*, 375-84.
- Moreno, M. (2012). Definición y Clasificación de la Obesidad. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 23(2), 124-128.
- Mulvaney, J., Dabdoub, A. (2012). Atoh1, an essential transcription factor in neurogenesis and intestinal and inner ear development: function, regulation, and context dependency. *Journal of the Association for Research in Otolaryngology*, 13, 281-293.
- Munzberg, H., Myers Jr, M. G. (2005). Molecular and anatomical determinants of central leptin resistance. *Nature neuroscience*, 8(5), 566-570.
- Musi, N., y Guardado-Mendoza, R. (2014). Adipose tissue as an endocrine organ. In *Cellular endocrinology in health and disease*. Academic Press, 229-237.
- Myers Jr, M. G., Heymsfield, S. B., Haft, C., Kahn, B. B., Laughlin, M., Leibel, R. L., Yanovski, J. A. (2012). Challenges and opportunities of defining clinical leptin resistance. *Cell metabolism*, 15(2), 150-156.
- Novelli, E., Diniz, Y., Galhardi, C., Ebaid, G., Rodrigues, H., Maní, F., Novelli, J. (2007). Anthropometrical parameters and makers of obesity in rats. *Laboratory Animals*, 41(1), 111-119.
- Odle, A. K., Akhter, N., Syed, M. M., Allensworth-James, M. L., Beneš, H., Melgar Castillo, A. I., Childs, G. V. (2018). Leptin regulation of gonadotrope gonadotropin-releasing hormone receptors as a metabolic checkpoint and gateway to reproductive competence. *Frontiers in endocrinology*, 8, 367.

Ohta, S., Misawa, A., Lefebvre, V., Okano, H., Kawakami, Y., Toda, M. (2013). Sox6 up-regulation by macrophage migration inhibitory factor promotes survival and maintenance of mouse neural stem/progenitor cells. *PLoS One*, 8(9), e74315.

Organización Mundial de la Salud. (2016). *Obesidad y sobrepeso*.

Palou, A., Serra, F., Bonet, M. L., Pico, C. (2000). Obesity: molecular bases of a multifactorial problem. *Eur J Nutr.* (44), 39-127.

Paxinos, G., Watson, C. (1986). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Academic Press, San Diego, CA.

Pérez-Martín, M., Cifuentes, M., Grondona, J. M., López-Avalos, M. D., Gómez-Pinedo, U., García-Verdugo, J. M., Fernández-Llebrez, P. (2010). IGF-I stimulates neurogenesis in the hypothalamus of adult rats. *European Journal of Neuroscience*, 31(9), 1533-1548.

Phillips, M. S., Liu, Q. Y., Hammond, H. A., Dugan, V., Hey, P. J., Caskey, C. T., (1996). Leptin receptor missense mutation in the fatty Zucker rat. *Nature Gen.* (9), 13-18.

Picó, C., Sánchez, J., Oliver, P., Palou, A. (2002). Leptin production by the stomach is up-regulated in obese (fa/fa) Zucker rats. *Obesity research*, 10(9), 932-938.

Plagemann, A., Harder, T., Rake, A., Melchior, K., Rohde, W., Dörner, G. (2000). Hypothalamic nuclei are malformed in weanling offspring of low protein malnourished rat dams. *The Journal of nutrition*, 130(10), 2582-2589.

Polson, D. W., Sagle, M., Mason, H. D., Kiddy, D., Franks, S. (1987). Recovery of luteal function after interruption of gonadotrophin secretion in the mid-luteal phase of the menstrual cycle. *Clinical endocrinology*, 26(5), 597–600.

Puga y Colmenares, M. C., Trujillo, 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.

Purves, D., Augustine, G. J., Fitzpatrick, D., Hall, W., LaMantia, A. S., White, L. (2019). *Neurosciences*.

Quennell, J. H., Mulligan, A. C., Tups, A., Liu, X., Phipps, S. J., Kemp, C. J., Anderson, G. M. (2009). Leptin indirectly regulates gonadotropin-releasing hormone neuronal function. *Endocrinology*, 150(6), 2805-2812.

R Core Team (2023). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

Ribeiro, F. F., Xapelli, S. (2021). An overview of adult neurogenesis. *Recent Advances in NGF and Related Molecules: The Continuum of the NGF "Saga"*, 77-94.

Roa, I., del Sol, M. (2021). Evaluación Semicuantitativa de los Microelementos del Esmalte en un Modelo de Obesidad inducido por Glutamato Monosódico en Ratas. *International journal of morphology*, 39(4), 984-988.

Robertson, S., Ishida-Takahashi, R., Tawara, I., Hu, J., Patterson, C. M., Jones, J. C., Myers Jr, M. G. (2010). Insufficiency of janus kinase 2–autonomous leptin receptor signals for most physiologic leptin actions. *Diabetes*, 59(4), 782-790.

Rodríguez-Casado, A., Toledano-Díaz, A., Toledano, A. (2016). Obesity: a risk for Alzheimer's disease? I. Common molecular mechanisms.

Roisman, A., Slavutsky, I. (2014). Expresión del factor de transcripción SOX11: Su implicancia en el linfoma de células del manto. *MEDICINA (Buenos Aires)*, 74(2), 140-146.

Romeu, A., Villaverde, V. L., Monzó, A., Ruiz, I. O. C., Romeu, M. (2016). Regulación de la actividad GnRH. Los sistemas Kisspeptina/GPR54 y GnIH/GPR147 GnRH activity regulation. Kisspeptin/GPR54 and GnIH/GPR147 systems.

Rosado, E. L., Monteiro, J. B., Chaia, V., Do Lago, M. F. (2006). Efecto de la leptina en el tratamiento de la obesidad e influencia de la dieta en la secreción y acción de la hormona. *Nutrición Hospitalaria*, 21(6), 686-693.

Sahu, A. (2003). Leptin signaling in the hypothalamus: emphasis on energy homeostasis and leptin resistance. *Frontiers in neuroendocrinology*, 24(4), 225-253.

Sanacora, G., Kershaw, M., Finkelstein, J.A. (1990). Increased hypothalamic content of preproneuropeptide Y messenger ribonucleic acid in genetically obese Zucker rats and its regulation by food deprivation. *Endocrinology*, 127(2), 730-737.

Sánchez, J. C., López, D. F., Pinzón, Ó. A., Sepúlveda, J. C. (2010). Adipocinas y síndrome metabólico: múltiples facetas de un proceso fisiopatológico complejo. *Revista Colombiana de Cardiología*, 17(4), 167-176.

Sánchez-Muñoz, F., García-Macedo, R., Alarcón-Aguilar, F., Cruz, M. (2005). Adipocinas, tejido adiposo y su relación con células del sistema inmune. *Gaceta médica de México*, 141(6), 505-512.

Santoro, N., Lasley, B., McConnell, D., Allsworth, J., Crawford, S., Gold, E. B., Weiss, G. (2004). Body size and ethnicity are associated with menstrual cycle alterations in women in the early menopausal transition: The Study of Women's Health across the Nation (SWAN) Daily Hormone Study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 89(6), 2622-2631.

Schmidt, A. R., Lozano, M. J., Ferrelli, M. L., Parisi, G. D. (2022). Caracterización secuencial, estructural y evolutiva del receptor de Kisspeptina, GPR-54, en *Mus musculus* mediante herramientas bioinformáticas.

Schwartz, M. W., Baskin, D. G., Bukowski, T. R., Kuijper, J. L., Foster, D., Lasser, G., Weigle, D. S. (1996). Specificity of leptin action on elevated blood glucose levels and hypothalamic neuropeptide Y gene expression in ob/ob mice. *Diabetes*, 45(4), 531-535.

Shimizu, H., Mori, M. (2005). The brain–adipose axis: A review of involvement of molecules. *Nutritional neuroscience*, 8(1), 7-20.

Shimozaki, K. (2014). Sox2 transcription network acts as a molecular switch to regulate properties of neural stem cells. *World journal of stem cells*, 6(4), 485.

Shiraishi, T., Sasaki, K., Nijima, A., Oomura, Y. (1999). Leptin effects on feeding-related hypothalamic and peripheral neuronal activities in normal and obese rats. *Nutr.* 15, 576–579.

- Simerly, R. B. (1996). Sexually differentiated neural systems controlling the preovulatory release of gonadotropin. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*, 3(2), 171-177.
- Smith, J. T., Acohido, B. V., Clifton, D. K., Steiner, R. A. (2006). KiSS-1 neurones are direct targets for leptin in the ob/ob mouse. *Journal of neuroendocrinology*, 18(4), 298-303.
- Smith, J. T., Cunningham, M. J., Rissman, E. F., Clifton, D. K., Steiner, R. A. (2005). Regulation of Kiss1 gene expression in the brain of the female mouse. *Endocrinology*, 146(9), 3686-3692.
- Snell, R. (2014). *Neuroanatomía clínica*. (7), 436-438.
- Stricker-Krongrad, A., Dimitrov, T., Beck, B. (2001). Central and peripheral dysregulation of melanin-concentrating hormone in obese Zucker rats. *Brain Research Molecular Brain Research*, 92, 43-48.
- Swaab, D. F., Hofman, M. A., Lucassen, P. J., Purba, J. S., Raadsheer, F. C., Van de Nes, J. A. P. (1993). Functional neuroanatomy and neuropathology of the human hypothalamus. *Anatomy and embryology*, 187, 317-330.
- Thornton, J. E., Cheung, C. C., Clifton, D. K., Steiner, R. A. (1997). Regulation of hypothalamic proopiomelanocortin mRNA by leptin in ob/ob mice. *Endocrinology*, 138(11), 5063-5066.
- Toth, I., Kiss, D. S., Goszleth, G., Bartha, T., Frenyo, L. V., Naftolin, F., Zsarnovszky, A. (2014). Hypothalamic sidedness in mitochondrial metabolism: new perspectives. *Reproductive Sciences*, 21(12), 1492-1498.
- Tovar, J. M., Ayala, A. (2004). Función gonadorreguladora de la leptina. *Revista del Hospital Juárez de México*, 71(3), 111-119.
- Tsatsanis, C., Dermitzaki, E., Avgoustinaki, P., Malliaraki, N., Mytaras, V., Margioris, A. N. (2015). The impact of adipose tissue-derived factors on the hypothalamic-pituitary-gonadal (HPG) axis. *Hormones*, 14(4), 549-562.

Urbán, N. (2009). Caracterización de factores de transcripción estriatales para su uso en la diferenciación de células madre. Universitat de Barcelona.

Vásconez-González, Jorge, Delgado-Moreira, Karen, López-Molina, Belén, Gámez-Rivera, Esteban, Diaz, Ana María, Ortiz-Prado, Esteban, Vargas-Córdova, Ronnal. (2022). Alteraciones En El Sistema Nervioso Producido Por La Obesidad. Revista Ecuatoriana de Neurología, 31(2), 65-73.

Vicente, M. I. A. (2016). Proyecciones convergentes sobre el núcleo incertus en rata. (Tesis para obtener grado de doctorado). Universidad de Valencia.

Wegner, M., Stolt, C. C. (2005). From stem cells to neurons and glia: a Soxist's view of neural development. Trends in neurosciences, 28(11), 583-588.

Wiegand, S. J., Terasawa, E. I. (1982). Discrete lesions reveal functional heterogeneity of suprachiasmatic structures in regulation of gonadotropin secretion in the female rat. Neuroendocrinology, 34(6), 395-404.

Wojcicki, J. M., Jimenez-Cruz, A., Bacardi-Gascon, M., Schwartz, N., Heyman, M. B. (2012). Bimodal distribution of risk for childhood obesity in urban Baja California, Mexico. Journal of Urban Health, 89(4), 628-638.

Yaswen, L., Diehl, N., Brennan, M. B., Hochgeschwender, U. (1999). Obesity in the mouse model of pro-opiomelanocortin deficiency responds to peripheral melanocortin. Nature medicine, 5(9), 1066-1070.

Youdim, A. (2021). Obesidad. Escuela de Medicina David Geffen. Universidad de California Los Ángeles.

Zhang, J., Jiao, J. (2015). Molecular biomarkers for embryonic and adult neural stem cell and neurogenesis. BioMed research international, 2015.

Zucker, L. M., Zucker, T. F. (1961). Fatty, a new mutation in the rat. J Heredity. (8), 52-275.