



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS
BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

Efecto de la hoja de romero (*Rosmarinus officinalis*) en el deterioro cognitivo inducido por una dieta hipercalórica rica en grasas en ratones C57BL6.

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

José Balam Espinosa Ishiwara

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: Dr. René de Jesús Cárdenas Vázquez (Facultad de Ciencias, UNAM)

COMITÉ TUTOR: Dra. Pilar Durán Hernández¹ y Dra. Kioko Rubí Guzmán Ramos², (Facultad de Ciencias, UNAM¹; Unidad Lerma, UAM²)



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS
BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

Efecto de la hoja de romero (*Rosmarinus officinalis*) en el deterioro cognitivo inducido por una dieta hipercalórica rica en grasas en ratones C57BL6.

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

José Balam Espinosa Ishiwara

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: Dr. René de Jesús Cárdenas Vázquez (Facultad de Ciencias, UNAM)

COMITÉ TUTOR: Dra. Pilar Durán Hernández¹ y Dra. Kioko Rubí Guzmán Ramos², (Facultad de Ciencias, UNAM¹; Unidad Lerma, UAM²)

COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISIÓN ACADÉMICA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
OFICIO FCIE/DAIP/406/2022
ASUNTO: Oficio de Jurado

M. en C. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **28 de marzo de 2022** se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en el campo de conocimiento de **Biología Experimental** del estudiante **ESPINOSA ISHIWARA JOSÉ BALAM** con número de cuenta **307019343** con la tesis titulada **“Efecto de la hoja de romero (*Rosmarinus officinalis*) en el deterioro cognitivo inducido por una dieta hipercalórica rica en grasas en ratones C57BL6.”**, realizada bajo la dirección del **DR. RENÉ DE JESÚS CÁRDENAS VÁZQUEZ**, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente: **DRA. MARCIA HIRIART URDANIVIA**
Vocal: **DRA. JUANA ALBA LUIS DÍAZ**
Vocal: **DRA. MYRIAN VELASCO TORRES**
Vocal: **DR. ADOLFO ANDRADE CETTO**
Secretario: **DRA. KIOKO RUBÍ GUZMÁN RAMOS**

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 01 de septiembre de 2022

COORDINADOR DEL PROGRAMA



DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA



Agradecimientos institucionales

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México por brindarme las herramientas para lograr mis objetivos académicos.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada (No. De becario 1003736) y a la Facultad de Ciencias por el financiamiento por medio del presupuesto interno de la facultad.

A mi asesor el Dr. René de Jesús Cárdenas Vázquez y a mi comité tutorial conformado por la Dra. Pilar Durán Hernández y Dra. Kioko Rubí Guzmán Ramos por su asesoría y comprensión en los tiempos suscitados por la pandemia, que permitieron el desarrollo de este proyecto.

Agradecimientos a título personal

A la Dra. Marcia Hiriart, la Dra. Myrian Velasco, la Dra. Juana Luis y el Dr. Adolfo Andrade quienes formaron parte del jurado, por sus valiosas observaciones y correcciones.

A mi familia y amigos

Gracias por la compañía, apoyo y consejos.

A mi papá Guillermo Espinosa por darme el hambre de saber, a mi mamá Martha Ishiwara por darme la necesidad de seguir y una enorme tolerancia a la frustración.

A mis hermanos Iván y Abril por darme, paciencia (mucho paciencia), alegría, gastritis, ansiedad, colitis, migraña, bruxismo y contribuir con esa tolerancia a la frustración. Se les quiere.

A Michelle Maldonado por guiarme, aconsejarme y no dejarme en la calle de la amargura cuando me tropezaba.

A la Biol. Dulce Bustamante, por su excelente asesoría técnica y apoyo moral (no me cabrían los miles de gracias por tu apoyo. En verdad requetegracias).

Al Biol. Martín Fuentes, por su gran apoyo técnico en el laboratorio

A los miembros del bioterio M. en C. Agustín Carmona, M. en C. Christian Cabello y Armando Rodríguez, por su apoyo durante la pandemia.

Y a Cleto y Lorenzo, mis queridos perros.

Índice

| | |
|---|----|
| Índice de abreviaturas | II |
| 1. Resumen | 1 |
| 2. Abstract | 2 |
| 3. Introducción | 3 |
| 3.1 Aprendizaje y memoria | 3 |
| 3.1.1. Clasificación de la memoria | 3 |
| 3.1.2. Memoria de reconocimiento de objetos (MRO) | 4 |
| 3.1.3. Anatomía de la memoria de reconocimiento de objetos | 5 |
| 3.2. Dieta y salud | 5 |
| 3.2.1. Dieta paleolítica y disrupción evolutiva | 6 |
| 3.2.2. Efectos de la dieta grasa sobre la memoria | 7 |
| 3.3. El romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>) y su potencial terapéutico | 10 |
| 3.3.1. El uso tradicional de plantas medicinales | 10 |
| 3.3.2. Uso medicinal del romero | 11 |
| 3.3.3. Fitoquímica del romero | 12 |
| 3.3.4. El romero como potenciador de la memoria | 12 |
| 3.3.5. Los efectos neuroprotectores del romero | 13 |
| 3.3.6. El romero como tratamiento de deterioro cognitivo | 14 |
| 3.3.7. Efectos del romero sobre el metabolismo | 15 |
| 4. Planteamiento del problema | 16 |
| 5. Hipótesis | 16 |
| 6. Objetivo general | 16 |
| 7. Objetivos particulares | 17 |
| 8. Método | 17 |
| 9. Resultados | 23 |
| 10. Discusión | 30 |
| 11. Conclusión | 37 |
| 12. Referencias | 37 |

Índice de abreviaturas

| | |
|--------------------------------|--|
| 3T3-L1 | Fibroblastos aislados de embriones de ratón utilizadas en la investigación del tejido adiposo |
| AKT | Protein quinasa B |
| BDNF | Factor neurotrófico derivado del cerebro |
| CaMKII | Calcio calmodulina cinasa II |
| EA | Enfermedad de alzheimer |
| ERK | Proteína quinasa 1 regulada por señal extracelular |
| JAK2 | Gen tirosina quinasa Janus kinase 2 |
| Keap 1 | Proteína 1 asociada a ECH similar a Kelch |
| LeprRb | Isoforma del receptor de leptina |
| LTM | Lóbulo temporal medial |
| MAPK | Protein quinasa activada por mitógeno |
| MRO | Memoria de reconocimiento |
| NGF | Factor de crecimiento nervioso |
| NMDA | N-metil-D-aspartato |
| Nrf2 | Factor nuclear derivado de esteroide 2 |
| Ob-R | Receptor de leptina |
| P300 HAT | Histona acetiltransferasa p300 |
| PI3K | Fosfatidilinositol-3 Kinasa |
| PPARγ | Receptor de peroxisoma-proliferador-activado gamma |
| PRO | Prueba de reconocimiento de objetos |
| PTEN | Fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfato 3-fosfatasa |
| STAT3 | Transductor de señal y activador de la transcripción |
| | 3 |
| TDAS | Touch Panel-type Dementia Assessment Scale |

Resumen

Los malos hábitos alimenticios han aumentado la presencia de enfermedades relacionadas con la dieta, entre estas, las enfermedades neurodegenerativas. Dichas enfermedades, representan un problema económico, social y de salud ya que son incapacitantes, por lo que la búsqueda de tratamientos accesibles y eficientes es una tarea esencial. Durante mucho tiempo, se ha considerado al romero como “la planta de los recuerdos” en diversas culturas, y en México se ha utilizado desde hace tiempo como parte de la medicina tradicional.

El presente trabajo evaluó el consumo de romero para revertir los efectos negativos que genera una dieta alta en grasas sobre la memoria de reconocimiento de objetos. Se generó un modelo murino de deterioro cognitivo a partir del consumo de dieta rica en grasas. Posteriormente se establecieron dos grupos de ratones macho C57BL/6 alimentados durante 2 meses uno con dieta estándar para roedores y otro con dieta hipercalórica alta en grasas (60% calorías provenientes de grasas). Al inicio del tercer mes, a la mitad de cada grupo se les adicionó hoja de romero pulverizada en la dieta (0.25 g de romero/100 g de alimento) durante un mes, con la finalidad de que consumieran alrededor de 0.286 mg/g de peso corporal/día. La dieta rica en grasas generó hiperglucemia, hiperlipidemia y mayores depósitos de grasa epididimal sin aumento de peso corporal, además de daño en la memoria de reconocimiento de objetos a largo plazo. El consumo de hoja de romero pulverizada produjo una disminución de la glucosa en sangre y de depósitos de grasa epididimal, así como una mejora en la memoria de reconocimiento de objetos de los ratones alimentados con dieta grasa. Estos resultados sugieren que el romero podría ser usado para el tratamiento de deterioro cognitivo causado por exposición a dietas altas en grasa.

Abstract

Unhealthy eating habits have led to an increase in diseases related to diet, which include certain neurodegenerative disorders. Neurodegenerative disorders place an enormous economic, social, and public strain on the patients and their families, since many cases lead patients to become physically incapacitated. As a result, it is necessary to develop novel treatment strategies, with a focus on accessibility and efficiency. For a long time, rosemary has been considered by many ancient cultures as “the plant of memories”, and has been used in traditional medicine in Mexico. The present work is geared towards evaluating the ability of rosemary to alleviate the adverse effects born from high-fat diet consume on recognition memory.

A murine model of cognitive impairment was generated based on a high-fat consumption diet. Subsequently, two experimental groups of C57BL/6 mice were established, where one was fed a standard mice chow, and the other with an isocaloric and isoproteic high-fat diet (60% of all calories originate from fat-based foods) for two months. At the end of the second month, rosemary leaf powder was added to the food (0.25 g/100 g) of half of the experimental cohort, persisting with this new diet for another month, giving each mouse 0.286 mg of rosemary for every 1 gram of food each day. High-fat diets led to hyperglycemia, hyperlipidemia, and greater amounts of epidermal fat deposits that do not affect the overall body weight. Furthermore, high-fat diets demonstrated long-term recognition memory impairment. The consumption of rosemary leaf powder yielded a hypoglycemic effect, as well as diminishing the amount of epidermal fat deposits. Additionally, rosemary consumption improved object recognition memory as compared to the purely high-fat diet group. These findings suggest that rosemary could potentially be used to treat cognitive impairment due to a high-fat diet.

Introducción

Aprendizaje y memoria

El aprendizaje se define como la capacidad de adquirir un conocimiento o habilidad, mientras que la memoria se define como la capacidad de codificar, retener y recuperar dicha información (Kandel et al., 2021). Tanto el aprendizaje como la memoria son herramientas evolutivas sumamente útiles que compartimos casi todos los miembros del reino animal. Algunos córvidos, por ejemplo, recolectan semillas a lo largo del año y al llegar el invierno, deben recordar dónde las almacenaron para poder alimentarse, lo que les otorga cierta ventaja para sobrevivir (Purves et al., 2018). El aprendizaje y la memoria son herramientas sumamente útiles para la vida, tanto en animales no humanos como en humanos y cuya perturbación podría generarle graves consecuencias para su supervivencia.

Clasificación de la memoria

Existe una gran variedad de tipos de aprendizaje y memoria, cada uno con mecanismos propios que se apoyan en sistemas cerebrales específicos (Kandel et al., 2021). En humanos se han distinguido dos grandes grupos de memoria: La memoria declarativa, aquella que puede ser consciente como hechos, eventos o el significado de las palabras; y la memoria no declarativa, aquella que no es consciente como habilidades motrices, asociaciones, condicionamiento clásico o habilidades cognitivas (Bear et al., 2016). Sin embargo, esto es difícil de extrapolar a otros animales. Algunos investigadores utilizan similitudes en los procesos de memoria para la clasificación; por ejemplo, la memoria declarativa depende del lóbulo temporal medial y de información cuya evocación pudiera ser consciente, mientras que la no declarativa no involucra al lóbulo temporal medial y la información se asemeja a aquella en la que el sujeto no es consciente de su evocación (Purves et al., 2018).

La temporalidad también es un factor importante para la clasificación de la memoria. Aunque aún se debate, básicamente existen tres clases de memoria: la memoria inmediata, aquella que se mantiene durante un segundo o menos, la memoria de corto plazo, aquella que se mantiene durante unos segundos hasta minutos. Algunos autores identifican a la memoria de trabajo dentro de esta categoría, sin embargo, otros autores mencionan que, a diferencia de la memoria a corto plazo, la memoria de trabajo requiere de cierta cantidad de ensayos y es muy limitada (Bear et al., 2016; Kandel et al., 2021; Purves et al., 2018). Por último, la memoria de largo plazo. Este tipo de memoria puede durar días, semanas o incluso toda la vida y ocurre cuando por medio de procesos de consolidación, la memoria de corto plazo pasa a la memoria de largo plazo, formando lo que se conoce como engrama o trazo de memoria (Purves et al., 2018). En el presente trabajo abordaremos especialmente la memoria declarativa a largo plazo a través de la memoria de reconocimiento de objetos.

Memoria de reconocimiento de objetos (MRO)

La memoria de reconocimiento nos permite discriminar un estímulo novedoso de uno familiar (Rossato et al., 2007). Cuando existe un daño en el lóbulo temporal medial (LTM) ya sea por lesión o alguna enfermedad neurodegenerativa, la memoria de reconocimientos disminuye o se pierde (Scoville & Milner, 1957; Winters et al., 2008), por lo que evaluar la capacidad de discriminar un objeto novedoso de uno familiar se ha convertido en una herramienta útil para valorar el estado de estas estructuras (Baxter, 2010).

Tanto humanos como el resto de los animales, presentan una gran curiosidad por la novedad (Berlyne, 1950). En roedores, aprovechando la curiosidad de estos por explorar más tiempo los objetos novedosos que los familiares, Ennaceur y Delacour propusieron un método para valorar la memoria declarativa de corto y largo plazo por medio de la prueba de reconocimiento de objetos (PRO) (Ennaceur & Delacour, 1988). Aunque el método propuesto por Ennaceur y Delacour ha tenido distintas variantes a través del tiempo (Antunes & Biala, 2012), básicamente se compone de

dos fases. La primera consta de la presentación de un objeto con el cuál se va a familiarizar, y la segunda es la presentación de un objeto novedoso junto con el familiar después de un periodo determinado. Este tipo de tarea es muy útil para la evaluación de la memoria declarativa, ya que no requiere de un entrenamiento previo, estímulos aversivos, comida, ni privación de agua, se puede realizar en espacios pequeños y utiliza la tendencia de los roedores a explorar los objetos novedosos (Bevins & Besheer, 2006).

Anatomía de la memoria de reconocimiento de objetos

Como se mencionó anteriormente, la memoria de reconocimiento depende de distintas estructuras del lóbulo temporal medial. Aunque actualmente se sigue debatiendo, diversos estudios indican que el hipocampo, la corteza insular y la corteza perirrinal son importantes para la formación de la MRO (Tanimizu et al., 2018). Mientras que el hipocampo se encarga de la información contextual, la corteza insular y perirrinal se encargan de consolidar la información del objeto familiar (Balderas et al., 2008). En el presente trabajo, nos enfocaremos principalmente en el área de la corteza perirrinal, ya que se ha demostrado que tiene una mayor relevancia para la MRO (Winters et al., 2008).

Dieta y salud

Nuestro genoma, adaptado a una dieta basada en caza y recolección (Eaton & Konner, 1985), sufrió una discordancia evolutiva cuando el Homo sapiens desarrolló la agricultura y la ganadería, manifestándose como un aumento en las enfermedades relacionadas con la alimentación (Cordain et al., 2005), aumento que se intensificó con la aparición de la revolución industrial (Eaton et al., 1988). Aunado a esto, el fácil acceso a alimentos densamente energéticos ha disminuido la edad en la que las enfermedades relacionadas con la dieta aparecen (Treviño et al., 2017).

Dieta paleolítica y disrupción evolutiva

La especie humana es relativamente nueva, apenas llevamos pisando el planeta alrededor de 1.8 millones de años (Valdebenito, 2007) y aún más reciente es nuestro cambio de hábitos alimenticios. Nuestros genes apenas han cambiado un poco desde la aparición de los primeros humanos modernos hace unos 40 mil años, por lo que prácticamente nos seguimos constituyendo por un genoma adaptado a una alimentación que dependía completamente de la disponibilidad de comida que hubiera en el medio (Eaton & Konner, 1985).

En un inicio, nuestra dieta se basaba en caza y recolección, sin embargo, hace aproximadamente diez mil años la manera de alimentarnos se modificó con la llegada de la agricultura y la domesticación de los animales (Cordain et al., 2005) y cambió aún más gracias a la revolución industrial hace aproximadamente 200 años (Eaton et al., 1988). Con este cambio abrupto, nuestro genoma adaptado a la alimentación paleolítica de caza y recolección sufre una discordancia evolutiva que se manifiesta como un aumento de morbilidades relacionadas con la dieta en los individuos (Cordain et al., 2005).

En sociedades cuyos hábitos alimenticios siguen siendo en su mayoría de caza y recolección, es posible ver cómo las enfermedades ligadas a la dieta son casi inexistentes (Eaton & Konner, 1985). De hecho, estas poblaciones presentan una salud metabólica muy buena (Pontzer et al., 2018). Haciendo de lado la mortalidad por violencia y enfermedades por infecciones, estas sociedades tienen una expectativa de vida similar a la de sociedades industrializadas (McCauley, 2018; Pontzer et al., 2018).

Aunque el tipo de dieta en muchas sociedades recolectoras y cazadoras (modernas y antiguas) varía mucho dependiendo de la región, existen características generales que nos pueden ayudar a comprender cómo es que el estilo de vida moderno de las sociedades industrializadas nos predispone a presentar diversas patologías relacionadas a la alimentación. Ejemplo de ello son: la modificación de la carga glucémica, la composición de ácidos grasos, composición y densidad de macro y

micronutrientes, el balance ácido- base, el consumo de sodio y potasio y el consumo de fibra (Cordain et al., 2005).

Si bien la cantidad del consumo de grasas aumentó de manera considerable con la occidentalización de muchas culturas, el cambio más importante radica en la composición de los tipos de grasas que se consumen (Cordain et al., 2005). Las dietas modernas occidentales tienden a tener una alta proporción de grasas saturadas y trans, muy relacionadas con diversos daños a la salud (Trumbo et al., 2002).

Efectos de la dieta grasa sobre la memoria

El consumo de dietas ricas en grasas influye en muchos aspectos de la salud. Se relaciona con la propensión de enfermedades cardíacas, diabetes, obesidad, cáncer y síndrome metabólico, entre otros padecimientos (Nguyen et al., 2014). Así mismo, existe una abundante evidencia de que el consumo de dietas ricas en grasa pueden generar alteraciones cognitivas, la aparición clínica de deterioro cognitivo leve en poblaciones no demenciales, aumento en la propensión de enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer (EA), e incluso en modelos animales se ha visto un deterioro en la memoria desde el primer día de consumo de una dieta rica en grasas (Cordner & Tamashiro, 2015; Eskelinen et al., 2008; McLean et al., 2018). En poblaciones de edad avanzada, tanto en humanos como en modelos animales, la deficiencia cognitiva, aunque no siempre se presenta, es un fenómeno común (Murman, 2015), fenómeno que es exacerbado por la influencia de dietas altas en grasa (Kesby et al., 2015).

Actualmente existe una creciente preocupación, ya que el fácil acceso a alimentos ricos en carbohidratos y grasas saturadas han disminuido la edad en la que las enfermedades asociadas con dietas hipercalóricas emergen (<30 años) (Treviño et al., 2017), aunado a esto de acuerdo con el reporte de la carga global de la enfermedad, los años que vive una persona con demencia son mayores a los que representan enfermedades como cáncer o enfermedades cardiovasculares, lo que

conlleva un impacto económico mayor (Mathers et al., 2008). A nivel mundial, implica cerca de 604 billones de dólares (ADI, 2013), el equivalente a la mitad del producto interno bruto de México (Geografía (INEGI), 2021), por lo que el estudio de métodos preventivos y tratamientos más eficientes son de vital importancia.

Aunque se ha puesto mucho empeño en el estudio de la influencia de la dieta sobre la memoria, el entendimiento de esta relación resulta bastante complicado ya que el buen funcionamiento de la memoria y el impacto que la dieta pueda tener depende de infinidad de variables como la edad, la dieta, el tiempo de exposición a la dieta, el fenotipo o el método de evaluación (Cordner & Tamashiro, 2015). Incluso, las afectaciones en la memoria podrían deberse a consecuencias secundarias de otro tipo de alteraciones, como la ansiedad (Yang et al., 2015), la depresión (Perini et al., 2019) o el estrés (Yuen et al., 2012), ya que se ha visto que las dietas altas en grasa generan alteraciones en el estado de ánimo y aumentan el estrés (Dutheil et al., 2016; Vagena et al., 2019; Vidal et al., 2018). Así mismo, los daños son muy diversos pues no todos los aspectos cognitivos se afectan de la misma manera (Cordner & Tamashiro, 2015).

A pesar de que el consumo de dietas ricas en grasa afecta varios tipos de memoria que implican diversas estructuras cerebrales, la evidencia sobre la memoria de reconocimiento de objetos, dependiente del LMT, es poca y en ocasiones contrastante. Se ha visto que una dieta rica en grasas (60% de la energía aportado por la grasa) administrada por una y tres semanas (Kaczmarczyk et al., 2013), dos, tres, cuatro (Carey et al., 2014) y hasta 12 meses ocasionaba daño en la tarea de reconocimiento de objetos en ratones C57BL/6 (Knight et al., 2014). Por otro lado, en otros estudios no se han encontrado daño cognitivo tras administrar durante 12 semanas una dieta con 60% grasa a ratones C57BL/6 (Lavin et al., 2011) ni a las 22 semanas (Heyward et al., 2012). Estas diferencias contrastantes pueden deberse a la naturaleza del protocolo, ya que se ha visto que el desempeño en tareas cognitivas depende de la hora a la cual se realice el ensayo (Durán et al., 2011). En este trabajo, nuestro modelo se basó en una dieta en la cual el 60% del

aporte calórico provino de las grasas administrado durante tres semanas y la tarea fue realizada en los horarios de mayor actividad de los animales.

Los efectos que las dietas ricas en grasas tienen sobre el sistema nervioso son variados. Se ha reportado que la resistencia a la insulina, la regulación de la glucosa, el estrés oxidativo, la disfunción de la barrera hematoencefálica y la neuroinflamación son potenciales mecanismos por los cuales las dietas ricas en grasa podrían estar afectando a la memoria (Arnold et al., 2014; Chang et al., 2014; Morrison et al., 2010; Pistell et al., 2010). Por otro lado, hay mecanismos menos estudiados que también podrían estar jugando un papel importante en los daños sobre la memoria como la desregulación de las adipocinas (Morrison, 2009) y la disminución del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) (Molteni et al., 2002; Wu et al., 2003).

De las adipocinas que ejercen funciones sobre el sistema nervioso, la más estudiada ha sido la leptina. Aunque los efectos de la leptina para la regulación del apetito han sido bien descritos, también se han evidenciado funciones sobre la cognición y la plasticidad neuronal que aún no son bien entendidos (Paz-Filho, 2016). Los receptores de leptina tienen una amplia distribución en el cerebro, incluidas áreas relacionadas con el aprendizaje y la memoria como regiones corticales e hipocampo (Huang et al., 1996; Morrison, 2009; Scott et al., 2009; Shioda et al., 1998). En el desarrollo embrionario la leptina juega un papel importante para la formación del sistema nervioso (Paz-Filho, 2016; Rajagopalan et al., 2013). Así también, la leptina se ha visto implicada en los cambios plásticos dentro del hipotálamo (Bouret et al., 2004; Morrison, 2009). Actualmente se sabe que la leptina tiene un papel importante en la regulación de la plasticidad neuronal dentro del hipocampo a través de la activación sináptica de los receptores NMDA por la vía de señalización MAPK (O'Malley et al., 2007), aunque también podría tener un papel regulador de la plasticidad por medio de las vías de señalización JACK2-STAT3, PTEN, PI3K, ERK y CaMKII (Forny-Germano et al., 2018).

En enfermedades neurodegenerativas, se ha visto que la leptina también juega un papel importante. En modelos de la enfermedad de Alzheimer se ha visto una

disminución del receptor de leptina en el hipocampo así como un aumento en los niveles de leptina en la misma estructura (Forny-Germano et al., 2018). De manera similar una dieta rica en grasas tiende a generar resistencia a la leptina, si bien aún no se tiene claro el cómo, los niveles de triglicéridos parecen jugar un papel importante. Los triglicéridos dañan el transporte de la leptina a través de la barrera hematoencefálica, lo que disminuye los niveles de leptina en el cerebro (Banks et al., 2004).

Recientemente se ha establecido una relación directa entre la leptina y el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF). En un trabajo realizado por Wang y colaboradores, se observó que un tratamiento con leptina aumentó la inervación simpática en tejido adiposo, así como los niveles de mRNA BDNF a pesar de que no se encontraran receptores de leptina (LepR), lo que sugería una vía indirecta de la acción de la leptina sobre la expresión de BDNF (Wang et al., 2020). Por otro lado, Li y colaboradores identificaron que la isoforma del receptor de leptina (LepRb) activa a AKT que a su vez fosforila a P300 HAT, esta modifica a las histonas en promotores específicos para BDNF lo que promueve la remodelación de la cromatina y así la transcripción de BDNF (Li et al., 2020).

El romero (*Rosmarinus officinalis*) y su potencial terapéutico

El uso tradicional de plantas medicinales

Así como una dieta hipercalórica puede generar deterioro cognitivo, el llevar una dieta balanceada y agregar ciertos componentes a la dieta como algunas plantas, puede revertir dicho deterioro, prevenir e incluso mejorar algunos aspectos cognitivos (Sun et al., 2008).

El uso de plantas con fines terapéuticos para el tratamiento de diversas enfermedades tiene un potencial parcialmente explorado (Dorado-Martínez, 2020). La búsqueda de propiedades terapéuticas de las plantas abre una puerta para la generación de fármacos más eficientes, así como mejores tratamientos que puedan contrarrestar la crisis de salud que se vive actualmente (Nemecio, 2019). De

acuerdo con la organización mundial de la salud (OMS), cerca de un 75% de la población utiliza plantas como principal medio para mantener la salud (Govea-Salas et al., 2017), por lo que la investigación para generar nuevos y mejores tratamientos a base de recursos vegetales es indispensable para poder implementarlos a nivel clínico en pro de la salud y el bienestar colectivo.

La medicina tradicional a base de plantas ha demostrado tener una gran eficacia para el tratamiento de diversas enfermedades, de las cuales destacan las demencias por su importancia económica y social, ya que representan una de las patologías más incapacitantes en personas mayores a 60 años (Mathers et al., 2008). Un meta-análisis realizado en 2009, reportó que el uso de algunas plantas usadas para el tratamiento de la demencia como *Salvia officinalis*, *Melissa officinalis*, *Prunus pérsica*, entre otras usadas en la medicina herbal, tenían mayor efecto que los placebos, así como un efecto similar al uso de tratamientos farmacológicos para diversos tipos de demencias y un menor número de efectos adversos (May et al., 2009).

Diversos estudios se han enfocado en la familia de las lamiáceas como *Salvia officinalis* (*Salvia*) *Lavandula angustifolia* y *Salvia lavandulaefolia* (*Lavanda*), *Melissa officinalis* (*Toronjil*) y *Rosmarinus officinalis* (*Romero*) (Perry, 2007; Shinjyo & Green, 2017). Análisis fitoquímicos han determinado que el compuesto con mayor actividad biológica que comparte esta familia es el ácido carnósico, siendo el romero la especie que más lo contiene (Birtić et al., 2015).

Uso medicinal del romero

El romero (*Rosmarinus officinalis*) es una planta perenne perteneciente a la familia de las Lamiaceas originaria del mediterráneo. Ya desde la Grecia antigua, Hipócrates, Galeno y Discórides utilizaron el romero para tratar problemas hepáticos (Begum et al., 2013). A lo largo del tiempo también se ha usado en otras partes del mundo para el tratamiento de padecimientos como el dolor de cabeza, el dolor menstrual, cansancio, esguinces, moretones y problemas en la memoria (Begum et

al., 2013). En México, el romero se usa de distintas maneras, dependiendo de la región. En Oaxaca se utiliza principalmente post parto, en Hidalgo, Michoacán, Morelos y Puebla sus usos son principalmente ginecológicos, dermatológicos y analgésicos, aunque también se usa para tratar enfermedades respiratorias y problemas estomacales (*Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana*, 2021).

Fitoquímica del romero

Estudios fitoquímicos han identificado una gran variedad de componentes en el romero que por sí solos tienen un efecto biológico sobre el sistema nervioso y que en conjunto podrían estar generando un efecto sinérgico que aporte importantes propiedades neuroprotectoras y potenciadoras de la memoria (Seyedemadi et al., 2016). Los principales componentes con estas propiedades se encuentran en dos grandes grupos: los ácidos fenólicos, siendo el ácido rosmarínico el más abundante; y los diterpenos fenólicos, siendo el ácido carnósico y el canornosol a los que se les atribuye la principal función neuroprotectora del romero (Sánchez-Camargo & Herrero, 2017). Se ha visto que el ácido carnósico ejerce sus funciones neuroprotectoras de diversas maneras ya que es capaz de activar mecanismos antioxidantes propios de las células como la vía Kip 1 / Nrf2 (Sato et al., 2008), estimular la producción de catecolaminas (Xu et al., 2017) y la producción de factores neurotróficos (J. A. Park et al., 2008).

El romero como potenciador de la memoria

En la antigüedad, los griegos y los romanos lo consideraron como un potenciador de la memoria, tanto así que fue llamada la planta de la remembranza y la fidelidad (Begum et al., 2013) y en el siglo XVII, Gregorio López menciona que “Aviva el entendimiento y la memoria” (*Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana*, 2021). Cerca del 9% de los estudios realizados sobre la actividad biológica del romero se centra en su influencia sobre el sistema nervioso (Andrade et al., 2018).

En condiciones no patológicas, se ha visto que tiene el potencial de mejorar ciertos tipos de memoria, disminuir la ansiedad, mejorar la calidad del sueño y disminuir cuadros de depresión, tanto en estudios en humanos como en animales (Ferlemi et al., 2015; Machado et al., 2012; Nematollahi et al., 2018).

En modelos animales, se ha visto que una dosis crónica de extracto de romero administrada oralmente puede mejorar la memoria en la tarea de choque eléctrico, reconocimiento de objetos y de presión de palanca (Farr et al., 2016). De manera similar, se reportó que una dosis de 100 mg/kg de extracto de romero, tiene un mayor efecto sobre tareas de memoria espacial dependientes de hipocampo (Rasoolijazi et al., 2015). Incluso se ha podido observar que una sola dosis aguda de romero, aplicada de manera oral, es capaz de mejorar la memoria a corto y largo plazo en tareas de memoria declarativa y no declarativa respectivamente, si se aplica en la fase de consolidación (Zanella et al., 2012).

Estudios en humanos también han reportado el efecto potenciador de la memoria del romero. Un estudio realizado con polvo de romero administrado oralmente en estudiantes de 20-25 años, observó mejorías en la memoria prospectiva y retrospectiva (Nematollahi et al., 2018). De igual manera, el consumo de hidrolato de romero podría mejorar la memoria a largo plazo y el desempeño cognitivo en tareas de memoria de trabajo (Moss et al., 2018). Este efecto, también se ha podido observar inclusive inhalando los aceites esenciales del romero (Moss et al., 2003).

Los efectos neuroprotectores del romero

La constante búsqueda de mejores tratamientos para prevenir y tratar enfermedades nerviosas ha llevado a proponer al romero como un buen candidato para este fin. Diversas investigaciones apuntan a que el romero ejerce un efecto neuroprotector importante (Andrade et al., 2018; Habtemariam, 2016). Estudios in vitro han reportado que el ácido carnósico, uno de los componentes del romero con mayor actividad biológica, ejerce un efecto neuroprotector contra el estrés oxidativo,

la citotoxicidad (Sato et al., 2008) y la disminución de factor neuronal derivado del cerebro (BDNF) (J. A. Park et al., 2008).

Se ha reportado que el extracto de romero evita procesos apoptóticos y el daño por estrés oxidativo en células dopaminérgicas in vitro (S.-E. Park et al., 2010). De igual manera, estudios in vivo indican que el romero tiene efecto neuroprotector en diversos modelos de enfermedades neurodegenerativas como de Alzheimer por medio de inyección de β -amiloide en el hipocampo (Rasoolijazi et al., 2013), deterioro cognitivo por medio de la administración de escopolamina (Ozarowski et al., 2013), así como de insultos externos como isquemia cerebral (Seyedemadi et al., 2016) y daño en células dopaminérgicas generado por dietas altas en grasa (Xu et al., 2017).

El romero como tratamiento de deterioro cognitivo

Actualmente existe poca información sobre los efectos del romero en patologías ya establecidas. La mayoría de los estudios clínicos han evaluado su efecto en personas sanas (Shinjyo & Green, 2017), y su potencial terapéutico para el tratamiento de demencias como el Alzheimer y el Parkinson, derivan de estudios donde se establece su efecto neuroprotector en modelos donde aún no se presenta el deterioro cognitivo (Habtemariam, 2016; Hussain et al., 2022; Shinjyo & Green, 2017). Sin embargo, un estudio en el que se evaluó el efecto de la aromaterapia en pacientes con Alzheimer, demencia vascular y lesiones cerebrovasculares, incluyó dentro de los aceites esenciales que probó, una mezcla de romero y limón. En este estudio se observó una mejoría en “Touch Panel-type Dementia Assessment Scale” (TDAS) en la escala “Gottfries-Bråne-Steen” (Jimbo et al., 2009). Por otro lado, Pengelly et al. Evaluaron la capacidad del polvo de romero para mejorar la capacidad cognitiva en adultos mayores que, aunque el deterioro cognitivo no es una característica forzosa, es muy frecuente en adultos mayores (Pengelly et al., 2011). Ellos observaron que la administración de 750 mg diaria de polvo de romero mejoró el desempeño en “la velocidad de la memoria”, parámetro que indica el tiempo que toma en recuperarse la memoria de trabajo y la memoria episódica,

mientras que una dosis alta de 6000 mg tenía efectos negativos sobre esta. En el presente trabajo, nos centramos en revertir el deterioro cognitivo ya establecido más que en un enfoque preventivo.

Efectos del romero sobre el metabolismo

El romero se ha usado en la medicina tradicional y moderna para el tratamiento de enfermedades metabólicas (Hassani et al., 2016). Sin embargo, pocos estudios han investigado su efecto sobre el metabolismo de lípidos y carbohidratos (Andrade et al., 2018). Se ha observado que el romero evita el sobre peso en animales alimentados con dietas ricas en grasa, así como la ganancia de grasa visceral (Harach et al., 2010; Ibarra et al., 2011), la hipertrigliceridemia y la hipercolesterolemia (Romo Vaquero et al., 2012). Ninomiya et al. (2004) demostraron que el ácido carnósico y el carnosol inhibieron la acción de la lipasa pancreática, importante para la absorción de grasas en el sistema digestivo. Posteriormente, Romo et al. (2012) describe la misma acción del extracto de romero sobre la lipasa pancreática, por lo que los efectos antiobesogénicos del romero se han atribuido a su potencial para inhibir la absorción de lípidos. Sin embargo, Takahashi et al. (2009) observaron que el ácido carnósico y el carnosol tienen la capacidad de inhibir la diferenciación de adipocitos por medio de la activación de genes reguladores de la expresión del glutatión.

Además de sus efectos sobre el metabolismo de los lípidos, se ha descrito que el romero ejerce influencia sobre el metabolismo de la glucosa. Compuestos del romero como el ácido carnósico y el carnosol activan el receptor PPAR γ (Rau et al., 2006) asociado con mejorar la sensibilidad a la insulina, así como la activación de genes del metabolismo de la glucosa y grasas (Harach et al., 2010).

Planteamiento del problema

En los países que forman parte de la organización para la economía, desarrollo y cooperación (OECD por sus siglas en inglés), el 60% de la población adulta y una de cada cuatro presenta obesidad, siendo México uno de los países con mayor índice de obesidad, teniendo el 73% de su población con sobrepeso sólo por debajo de Estados Unidos (OECD, 2020). Esto debido a la vida sedentaria y el fácil acceso a alimentos ricos en grasas saturadas (Treviño et al., 2017).

México tiene una alta incidencia de enfermedades demenciales como el Alzheimer que, aunque no sean claras las causas que generan o detonan esta enfermedad, se sabe que una mala dieta aumenta la presencia de morbilidades metabólicas que pueden llevar a enfermedades demenciales (Cordner & Tamashiro, 2015). En México, personas con diabetes mellitus tipo 2 mayores de 65 años, tienen el doble de probabilidad de desarrollar algún tipo de demencia (Salinas et al., 2016). Aunado a estos problemas, se suma el difícil acceso a la salud por parte de los sectores económicamente más vulnerables, por lo que prima la necesidad de la investigación para generar más y mejores herramientas que se puedan implementar en la prevención y tratamiento de estos padecimientos.

Hipótesis

El consumo de la hoja seca del romero (*Rosmarinus officinalis*) mitigará los efectos de una dieta alta en grasa en la cognición, hiperglucemia, la hiperlipidemia y elevados depósitos de grasa, en ratón C57Bl/6

Objetivo general

Evaluar la capacidad de la hoja de romero (*Rosmarinus officinalis*) en la mitigación del deterioro cognitivo, la hiperglucemia, hiperlipidemia y los depósitos de grasa corporal ocasionados por la administración de una dieta alta en grasas, en ratón C57BL/6

Objetivos particulares

1. Evaluar el efecto de la hoja de romero en el deterioro cognitivo ocasionado por la administración de una dieta alta en grasas.
2. Evaluar el efecto del consumo de hoja de romero en la hiperglucémia, hiperlipidemia y depósitos de grasa corporal, ocasionados por la administración de una dieta alta en grasas.

Método

Modelo murino de deterioro cognitivo y tratamiento

Se estableció un modelo de deterioro cognitivo para la memoria a largo plazo utilizando la tarea de reconocimiento de objetos. Se emplearon ratones C57BL/6 machos de tres meses de edad, los cuales fueron alojados en cajas de acrílico de 19 cm X 29 cm X 12 cm, con cama de aserrín. Se mantuvieron bajo un fotoperiodo invertido 12:12 h luz-oscuridad. Antes de iniciar el experimento los ratones fueron alimentados con *nutricubos purina*. Iniciando el experimento, a un grupo se le administró la dieta estándar de *nutricubos purina* con agua *ad libitum* (n=5), mientras que al otro se le dio una dieta balanceada, para evitar la desnutrición, de la cual el 60% del aporte calórico provino de la grasa (manteca de cerdo; Tabla 1), de igual manera se les proporcionó agua *ad libitum* (n=5). La dieta fue diseñada a partir de un análisis químico proximal de la dieta *nutricubos de purina* (Tabla 1).

Se establecieron dos grupos, uno alimentado con dieta estándar (Std, n=5) y otro con dieta alta en grasas (DG, n=5). Se realizó la prueba de reconocimiento de objetos a los dos y tres meses de haber sido administrada la dieta para establecer el tiempo en que se presenta daño cognitivo. Así mismo se evaluó si existía daño en la memoria a corto (20 min) y largo plazo (24 h).

**Tabla 1. Contenido de la dieta
experimental alta en grasas**

| Componente | % | kcal/kg |
|--------------------------|--------------|----------------|
| Manteca de cerdo | 31.5 | 2835 |
| Caseína | 10.85 | 434 |
| L Metionina | 0.19 | 8 |
| Vitaminas AIN-93 | 0.47 | 19 |
| Colina | 0.07 | |
| Minerales AIN-93M | 1.65 | |
| Celulosa | 2.36 | |
| Nutricubos Purina | 52.91 | 1667 |
| TOTAL | 100 | 4962 |

Una vez que se estableció que la DG generó deterioro cognitivo a los 3 meses de haber sido administrada, se formaron dos grupos de ratones machos de 3 meses de edad los cuales recibieron dos tipos de alimento: dieta grasa (n=16) y Std (n=17) para roedores. A los dos meses de recibir las respectivas dietas, los ratones del

grupo Std se dividieron en dos subgrupos: Dieta estándar (Std, n=8) y dieta estándar más romero (Std/Rom, n=9). De igual manera, el grupo DG se dividió en dos subgrupos: dieta grasa (DG, n=11) y dieta grasa más romero (DG/Rom, n=5) (Fig. 1). Se realizó una revisión bibliográfica para establecer la dosis de romero. Se tomó como referencia los hábitos de consumo reportados y distintas dosis de romero que se han implementado (Bachmanov et al., 2002; Ferlemi et al., 2015; Solhi et al., 2013). Posteriormente se determinó el promedio de consumo diario de alimento por ratón para calcular la cantidad de romero que se adicionaría a la dieta para que los animales consumieran aproximadamente 0.286 mg/g de peso corporal/día, por lo que se agregaron 0.250 mg de hoja de romero en polvo por cada 100 g de alimento, y se evaluó el consumo de la dieta con romero para asegurarnos de que el romero se consumiera. La dieta con hojas de romero se administró durante un mes, dando un total de tres meses desde el inicio del experimento. El romero fue obtenido en el mercado “La Dalia” de la alcaldía Cuahutemoc de la Ciudad de México y fue identificado en el herbario de la Facultad de Ciencias (Folio: 179053).

Todos los protocolos se hicieron bajo los criterios de la NOM-062-ZOO-1999 y bajo la aprobación de la Comisión de Ética Académica y Responsabilidad Científica (CEARC) de la Facultad de Ciencias de la UNAM (folio: PI_2022_02_05).

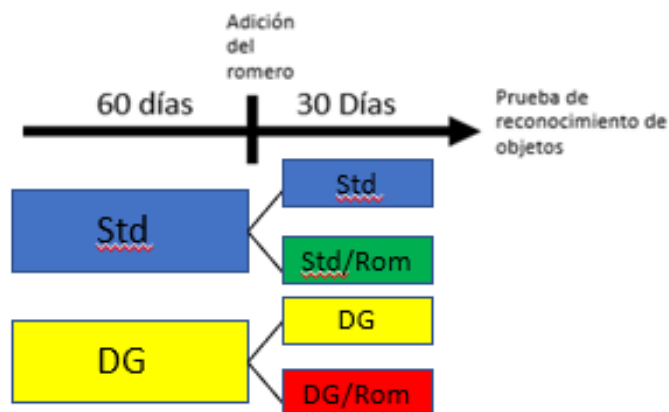


Figura 1 Modelo experimental de deterioro cognitivo a partir de la dieta e implementación de la hoja de romero en la dieta. Se administró dieta Std y DG durante 60 días, posteriormente se adicionó polvo de hoja de romero y se administró durante 30 días. Al término de 90 días se realizó la prueba de reconocimiento de objetos

Prueba de reconocimiento de objetos

Después de 30 días de haber sido administrada la hoja de romero se realizó la prueba de reconocimiento de objetos en una arena de 32 cm de diámetro con una altura de 38 cm de alto (Fig.1) de las 13:00 a 14:00 horas utilizando luz roja para no perturbar el ciclo invertido. Los objetos a explorar fueron una pila cuadrada y una pila cilíndrica tipo D. La prueba se realizó con dos días de habituación en la arena en el cual se dejó explorar la arena durante 5 minutos a cada ratón; un día de adquisición de la memoria en la que se dejó a cada ratón explorar dos objetos iguales durante 5 minutos; y 24 horas después se realizó evocación de la memoria previamente adquirida por medio de la prueba de memoria de reconocimiento de objetos en la que se dejó explorar a cada ratón durante 5 minutos dos objetos, de los cuales uno era idéntico al presentado en la prueba de adquisición y el otro era distinto (Fig. 2). Para el análisis se utilizó el índice de reconocimiento, el cual se obtuvo con la fórmula $IR = \frac{A}{A+B}$ siendo "A" el objeto del cuál se analiza el índice de exploración. El conteo del tiempo de exploración de cada objeto se contabilizó con

un cronómetro manual. Únicamente se consideró exploración si la nariz apuntaba hacia el objeto y se descartó si el animal mordía la base o se subía al objeto.

Obtención de muestras y análisis de muestras

Un día después de la prueba de reconocimiento de objetos, los ratones fueron privados de alimento y se les limpió la caja para eliminar restos de alimento dentro de la cama de aserrín. Cuatro horas después, a través de una pequeña incisión en el extremo de la cola se obtuvieron muestras sanguíneas para cuantificar la glucosa basal con ayuda de un glucómetro Accu-Check Performa. Posteriormente fueron anestesiados con pentobarbital (dosis i.p.). Una vez dormidos se pesaron, se obtuvieron muestras de sangre por punción cardiaca con una jeringa heparinizada y en seguida fueron perfundidos vía cardiaca con paraformaldehído al 4 %. Después de la perfusión, se extrajo el cerebro y se pesó la grasa epididimal, ya que es un tejido usado para medir los depósitos de grasa visceral (Poret et al., 2018). La

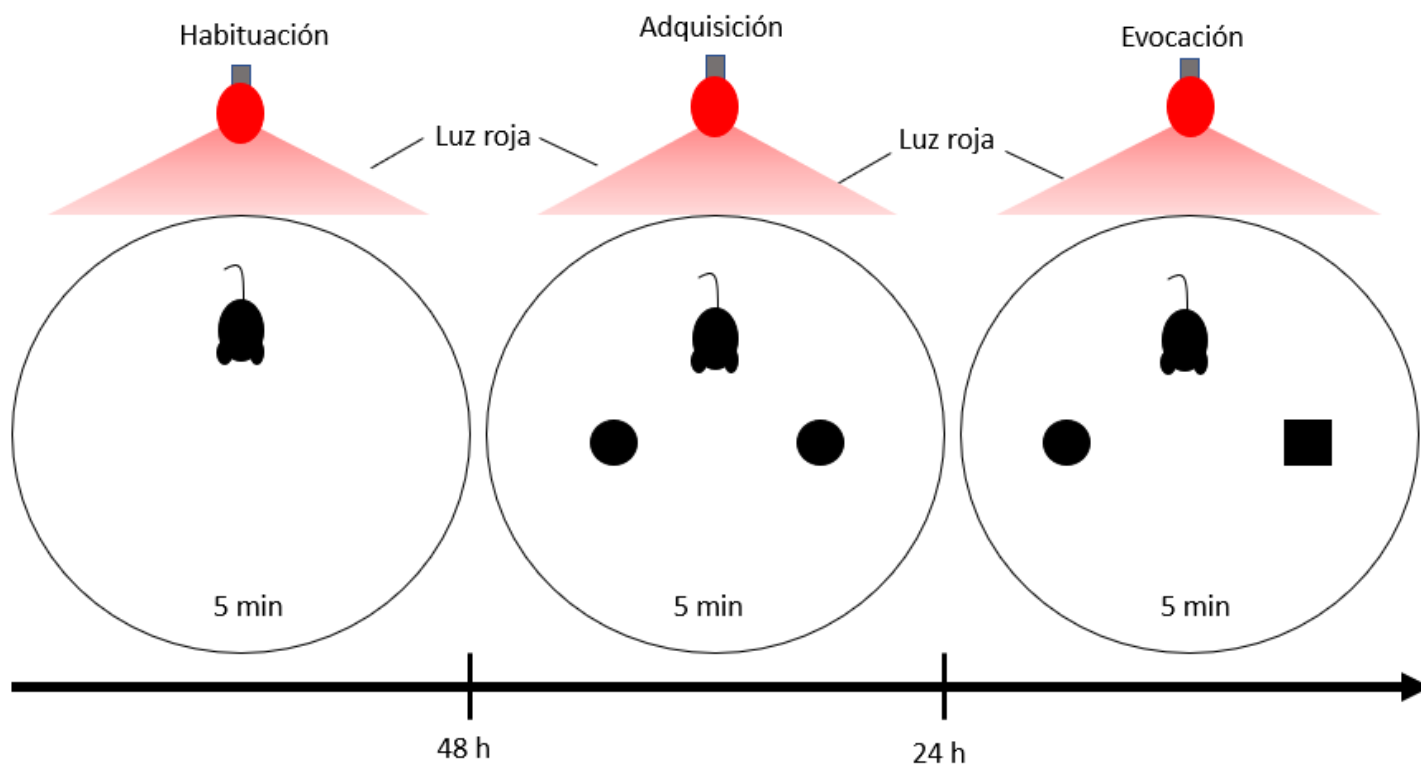


Figura 2 Tarea de reconocimiento de objetos. Se dejó explorar 5 minutos durante dos días sin objetos (habitación), 24 h después se presentaron dos objetos iguales y se dejó explorar durante 5 min (adquisición); después de 24 h se presentaron dos objetos, uno idéntico al de la adquisición y otro diferente y se dejó explorar durante 5 min (Evocación). La tarea se realizó en el momento del día de mayor actividad del ratón, así como con luz roja para mantener el periodo de ciclo invertido.

sangre se centrifugó a 3500 rpm durante 5 min en microfuga para obtener plasma sanguíneo que se almacenó en ultracongelador a -80°C hasta el día de análisis de las muestras. El colesterol y los triglicéridos plasmáticos se cuantificaron por método enzimático colorimétrico (Spinreact). Cada muestra se analizó por duplicado.

Análisis del estrés, ansiedad y depresión

Para descartar que los resultados obtenidos en la prueba de reconocimiento de objetos no se debiesen a la falta de motivación por estrés, depresión o ansiedad, se evaluó el tiempo de exploración total, el recorrido realizado, el tiempo cerca de los extremos de la arena y el tiempo de inmovilidad. Se utilizó el software libre Fiji ImageJ con el plugging AnimalTracker (Gulyás et al., 2016) (Fig. 3).

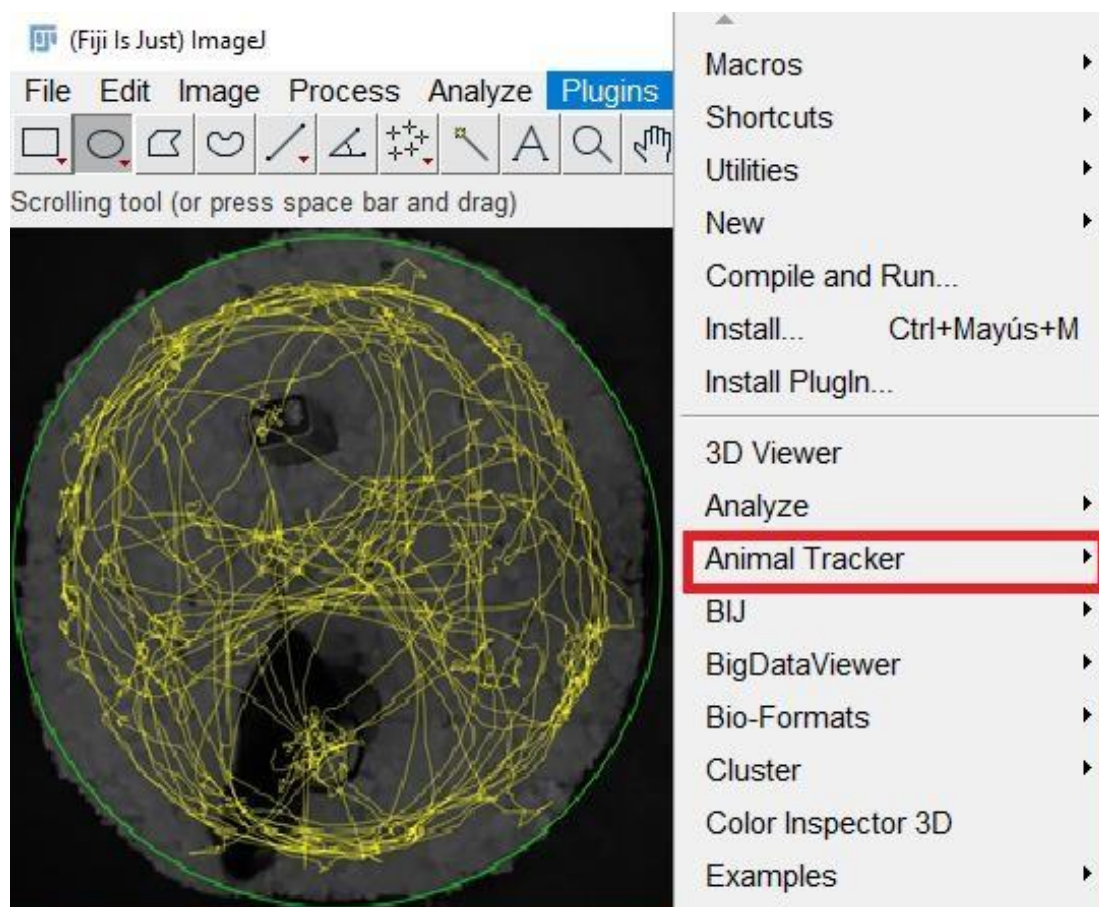


Figura 3 Fiji Image J con el plugging animal Tracker para la evaluación conductual

Análisis estadístico

Los datos se analizaron por medio de la prueba ANOVA de dos vías para poder observar si existía una interacción entre la dieta y el tratamiento. En el caso de la variable “peso” se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis debido a la naturaleza de los datos. Para analizar si existía una preferencia por los objetos en la prueba de reconocimiento de objetos se utilizó la prueba t de Student contra una media hipotética de 0.5. Se consideró como significativo una $p < 0.05$. Los datos fueron procesados con el programa R Studio y con la paquetería tidyverse y car.

Se realizó el cálculo de la “n” poblacional en grupos con valores medianamente significativos para evaluar el punto en el cual las diferencias pudieran ser significativas de acuerdo a la fórmula:

$$n = \frac{\delta^2(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2}{\Delta^2}.$$

Resultados

Obtención del modelo

A los dos meses de ser administrada la dieta no se encontró diferencias significativas entre el grupo control y el grupo alimentado con dieta grasa en la exploración del objeto, así mismo el grupo con dieta control mostró preferencia por el objeto novedoso ($t=3.18$, $p < 0.05$) al igual que el grupo con dieta grasa ($t=12.4$, $p < 0.01$) de acuerdo con la comparación contra la media hipotética de 0.5 (Fig. 4 A). De igual manera, al evaluar la prueba de reconocimiento de objetos en la memoria de corto plazo a los tres meses (Fig. 4 C), no hubo diferencia entre el grupo control y el grupo alimentado con dieta grasa en el índice de reconocimiento del objeto novedoso y tanto el grupo control ($t=2.20$, $p < 0.05$) como el grupo alimentado con dieta grasa ($t=2.60$, $p < 0.05$) mostraron preferencia por el objeto novedoso. Por otro

lado, a los tres meses de ser administrada la dieta, el grupo con dieta grasa fue incapaz de reconocer el objeto familiar de acuerdo a la comparación de la media hipotética de 0.5 y hubo diferencia entre el índice de exploración del objeto novedoso entre el grupo control y el grupo alimentado con dieta grasa ($t=3.61$, $p<0.01$) (Fig. 4 B).

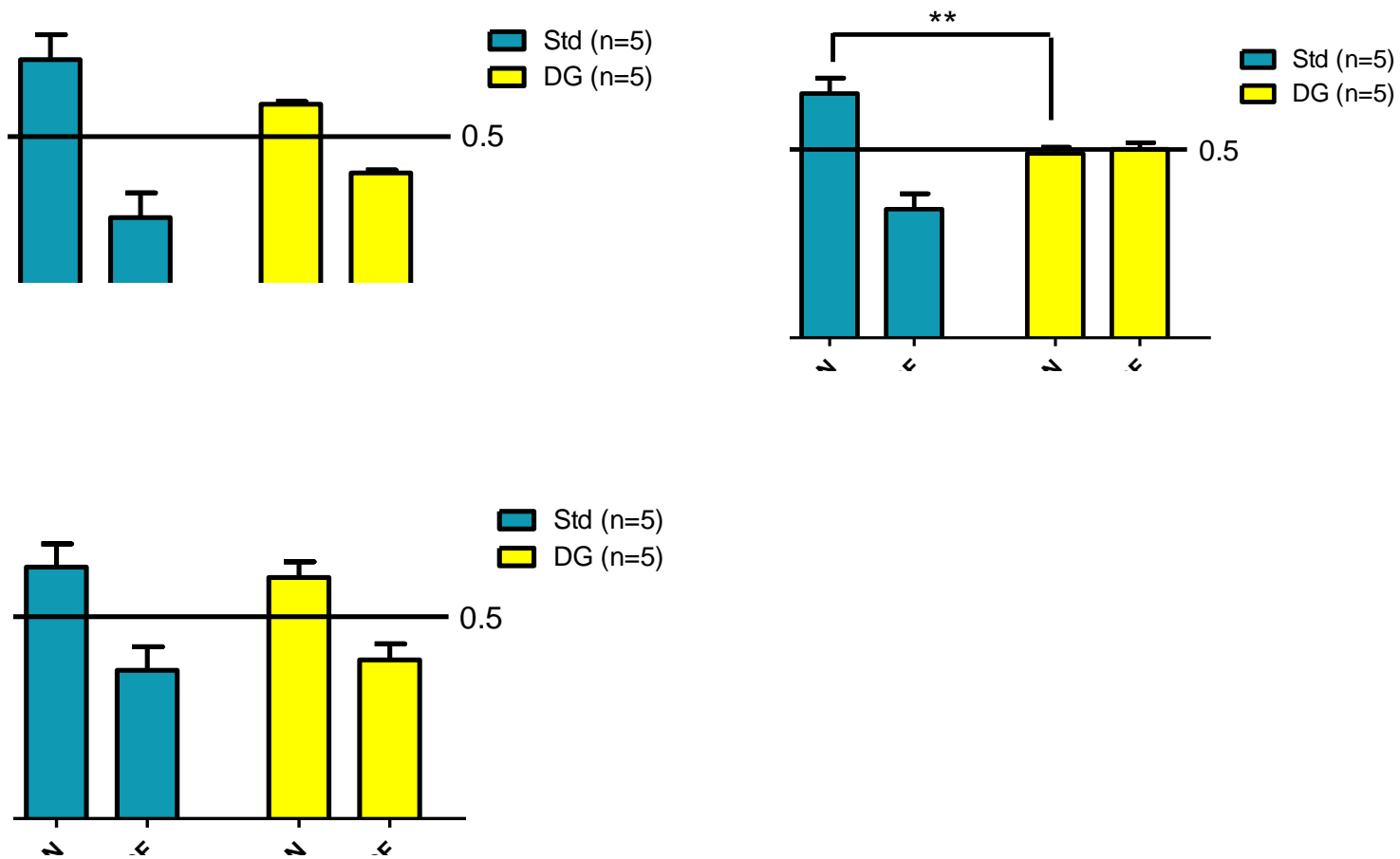


Figura 4 Evaluación de la memoria a largo plazo (24 h) en la tarea de reconocimiento de objetos a los dos meses de ser administrada la dieta (A). Evaluación de la memoria a largo plazo (24 h) tarea de reconocimiento de objetos a los tres meses de haber sido iniciada la dieta (B). Evaluación de la memoria a corto plazo (20 min) de la tarea de reconocimiento de objetos a los tres meses de haber sido iniciada la dieta (C) $**P<0.01$. Los datos muestran media \pm SEM

Grasa epididimal y peso corporal

Al término de la prueba no se observó un aumento significativo de peso entre ninguno de los grupos (Fig. 5 A). Sin embargo, la grasa epididimal (Fig. 5 B) se vio aumentada en los grupos con dieta grasa. Hubo una diferencia entre las dietas ($F(1, 28) = 15.56, p < .001$), pero no entre los tratamientos, así como una interacción entre la dieta y el tratamiento ($F(1, 28) = 10.99, p < 0.01$). Esta interacción podría indicar que el romero está teniendo un efecto positivo sobre los niveles de grasa epididimal.

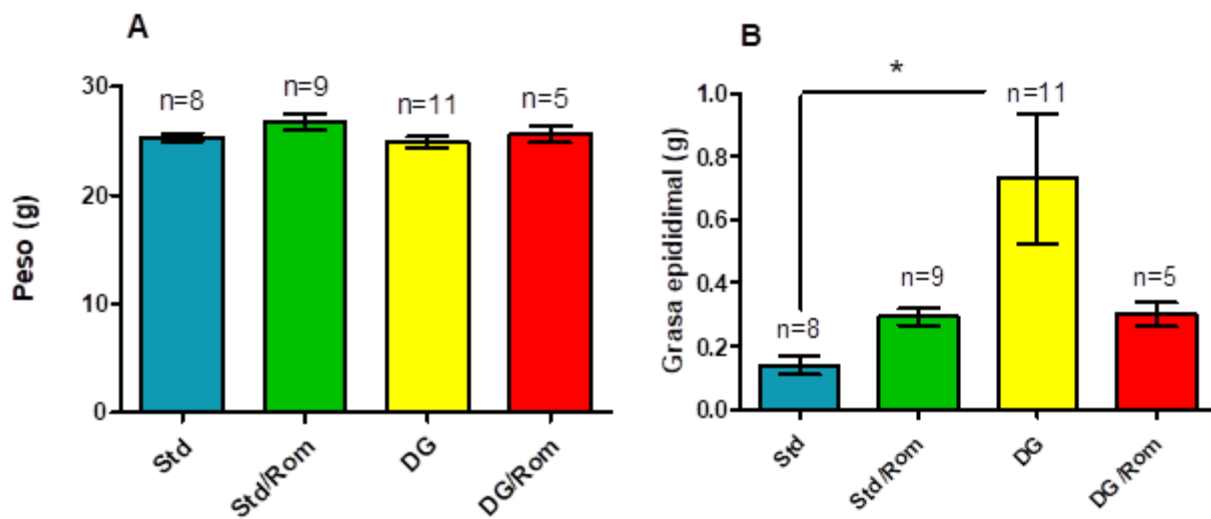


Figura 5 Parámetros somatométricos de ratones C57BL/6. A) Peso corporal; B) grasa epididimal; grupo con dieta estándar (Std); grupo con dieta estándar con romero (Std/Rom); grupo con dieta grasa (DG); grupo con dieta grasa y romero (DG/Rom). Los datos muestran media \pm SEM. Se utilizó la prueba Kruskal-Wallis para la variable peso (A) y ANOVA de dos vías con la prueba post hoc de Tukey HDS para grasa epididimal (B). * $P < 0.05$.

Glucosa basal

Tras dos meses de haber sido administrada la dieta rica en grasas, más un mes de haber sido administrado un complemento de romero adicionado a la dieta tanto control como alta en grasa, la prueba de ANOVA de dos vías no muestra un efecto significativo por parte del tratamiento en los niveles de glucosa (Fig. 6 A), únicamente el efecto de la dieta es significativo ($F(1, 27) = 14.23, p < .001$). El análisis PostHoc de Tukey permitió ver que el grupo DG difiere de los grupos Std ($p=0.01$) y Std/Rom ($p<0.01$), sin embargo, el grupo DG/Rom no difiere ni del grupo Std ni del grupo Std/Rom.

Triglicéridos

No hubo diferencias significativas entre ninguno de los grupos con respecto a los niveles de triglicérido, aunque hay una tendencia a disminuir en el grupo con dieta grasa y romero (Fig. 6 B). Sin embargo, se observa una pequeña significancia entre las dietas ($F(1, 18) = 4.95, p < 0.05$).

Colesterol

La dieta rica en grasas aumentó los valores de colesterol tras haber sido administrada durante tres meses ($F(1, 20) = 50.01, p < .001$; Fig. 6C). Sin embargo, no muestra diferencia entre los tratamientos ni muestra que haya una interacción, lo que indica que el romero no tuvo un efecto sobre los niveles de colesterol en sangre.

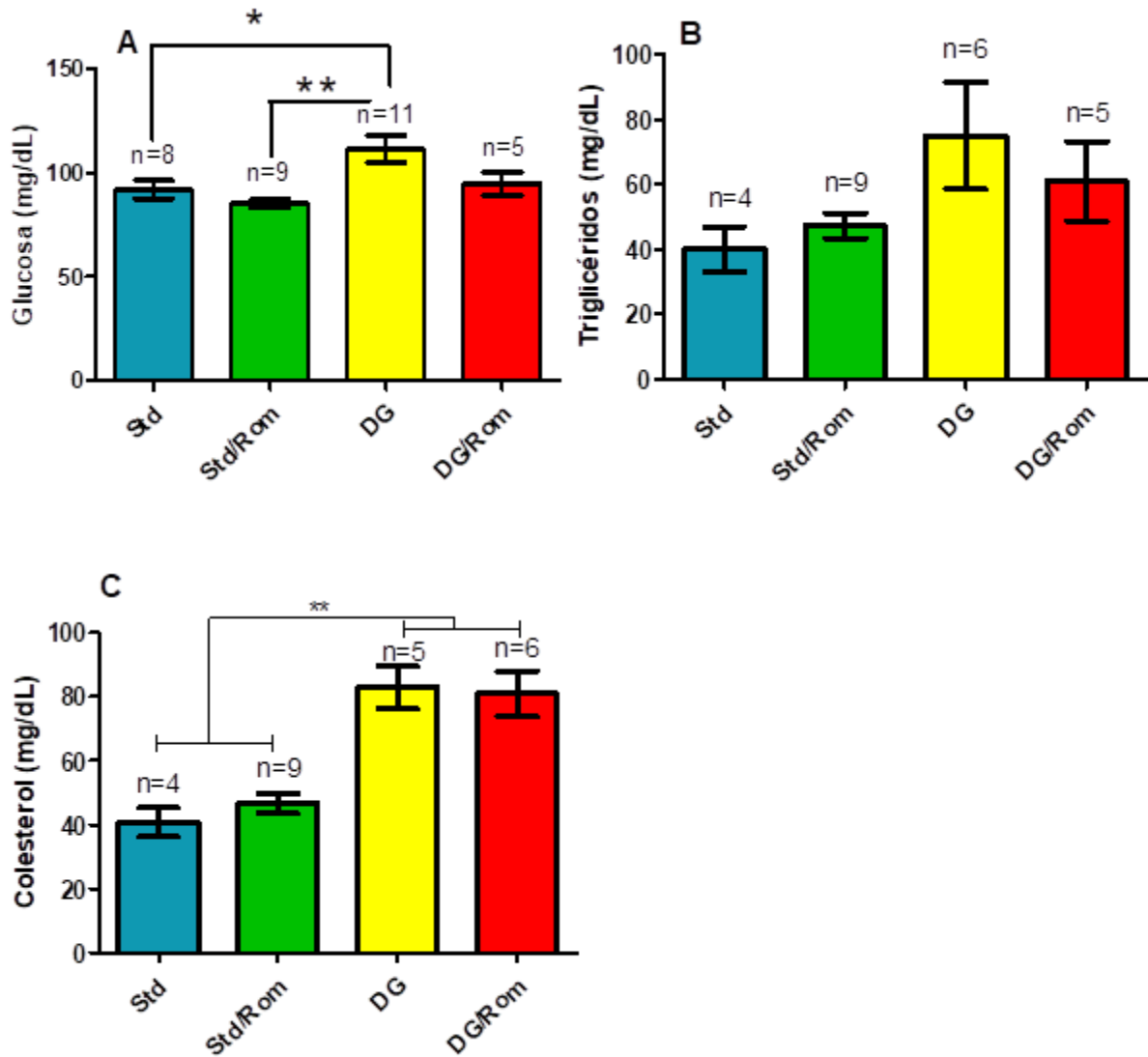


Figura 6 Química sanguínea en ratones C57BL/6. Glucosa (A), triglicéridos (B) y colesterol (C) plasmáticos. Dieta estándar (Std); Dieta estándar con romero (Std/Rom); Dieta grasa (DG) y dieta grasa con romero (DG/Rom). Se utilizó una prueba de ANOVA de dos vías y la prueba post hoc TukeyHSD. Los datos muestran la media \pm SEM. * $p < 0.01$, ** $p < 0.001$

Memoria de reconocimiento de objetos

El resultado en la PRO mostró que la administración de hoja de romero durante un mes evitó el deterioro inducido por la dieta rica en grasa en la memoria de reconocimiento (Fig. 7). Se observaron diferencias en la dieta ($F(1, 28) = 6.24, p = 0.019$), en el tratamiento ($F(1, 28) = 13.04, p = 0.001$) y se encontró una interacción entre la dieta y el tratamiento ($F(1, 28) = 14.91, p < .001$). La prueba post hoc de Tukey HSD indicó que el grupo DG mostró un menor índice de reconocimiento del objeto novedoso que el grupo Std ($p < 0.01$), Std/Rom ($p < 0.01$) y DG/Rom ($p < 0.01$). Para evaluar la preferencia por el objeto novedoso se comparó el índice de exploración contra una media hipotética de 0.5. La prueba de t de Student mostró que únicamente el grupo DG fue el único que no mostró preferencia por el objeto novedoso.

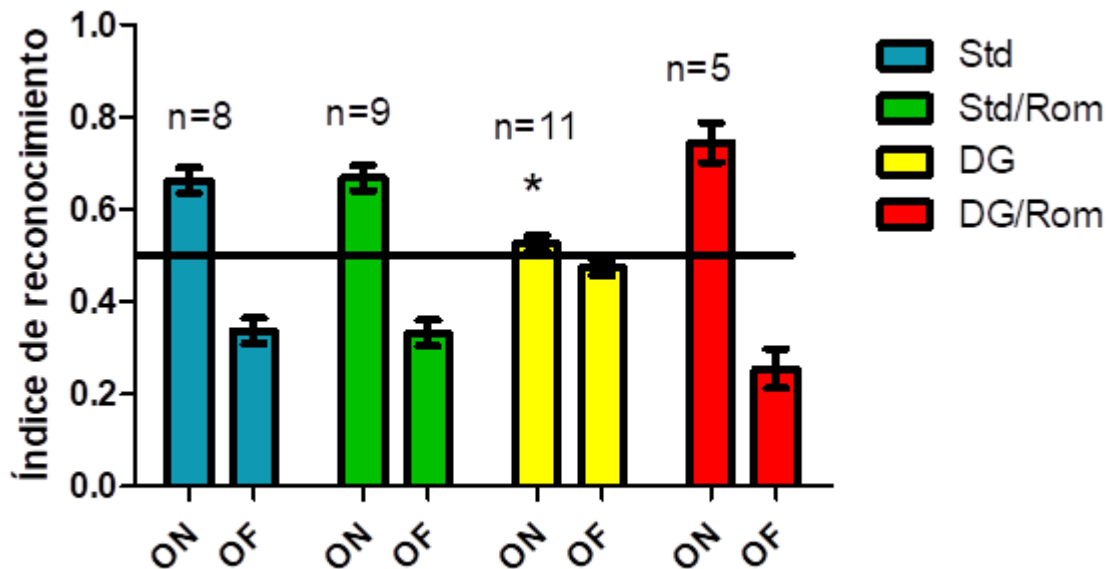


Figura 7 Prueba de memoria de reconocimiento de objetos (MRO). Dieta estándar (Std), dieta estándar con romero (Std/Rom), dieta grasa (DG) y dieta grasa con romero (DG/Rom). Se realizó una prueba de ANOVA de dos vías para evaluar el índice de exploración del objeto novedoso (ON) entre los grupos y se usó una prueba post hoc de Tukey HSD para evaluar el índice de exploración de objetos novedosos entre los grupos. Se comparó una media hipotética de exploración de 0.5 con el índice de exploración del objeto familiar (OF) y el objeto novedoso (ON) por medio de una prueba de t de Student. Los datos muestran la media \pm SEM. * $P < 0.01$

Para descartar que estos resultados no se debieran a una falta de motivación por parte del grupo DG/Rom, se analizó el tiempo de inmovilidad (Fig. 8 A), la distancia recorrida (Fig. 8 B), el tiempo cerca de los extremos de la arena (Fig. 8 C) y el tiempo total de exploración (Fig. 8 D). No se encontraron diferencias entre ninguno de estos parámetros, por lo que los resultados no se deben a una falta de motivación para explorar.

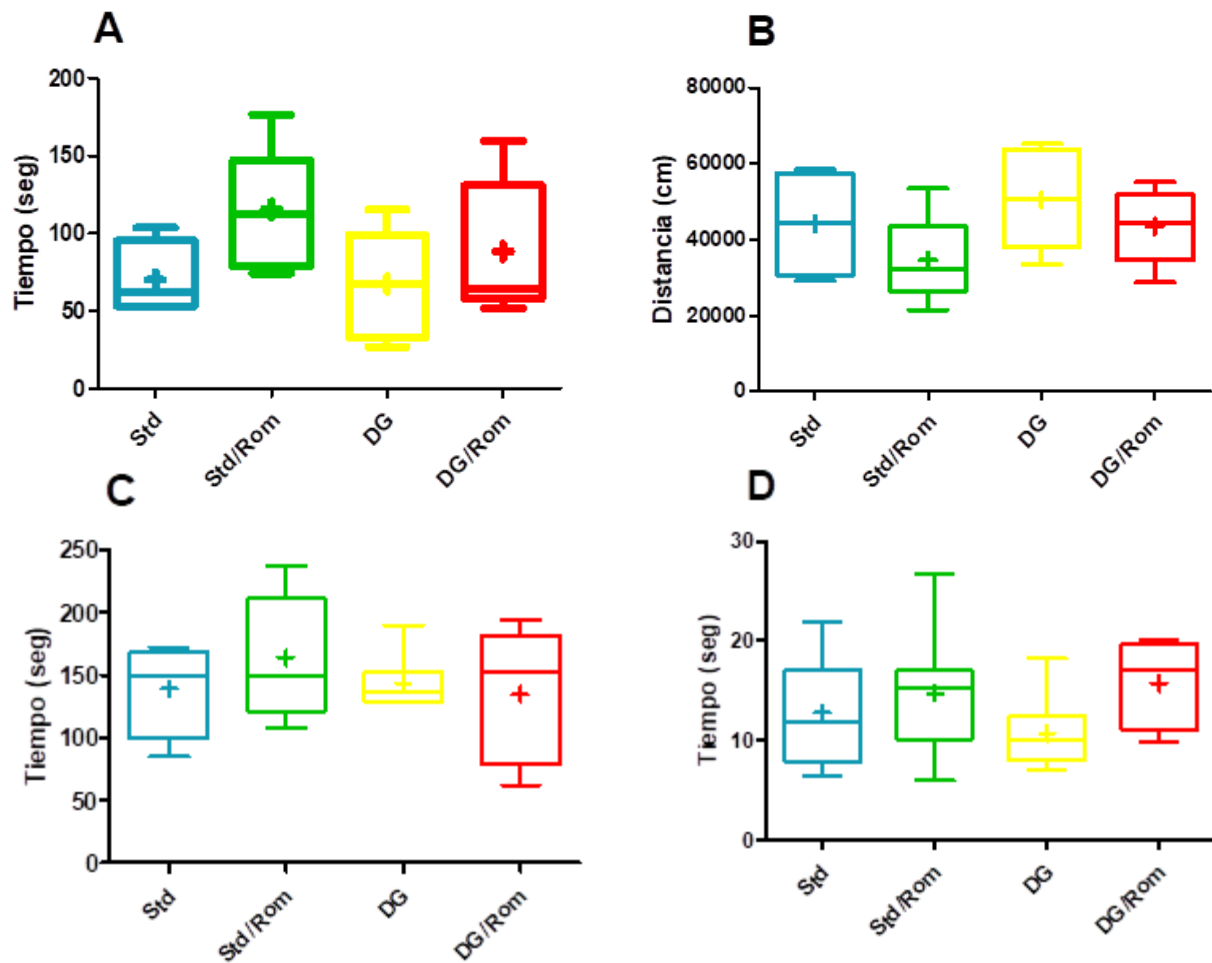


Figura 8 Se evaluó el estado anímico por medio de la inmovilidad (A), distancia recorrida (B), tiempo en los extremos de la arena (C) y tiempo total de exploración (D) durante la tarea de reconocimiento de objetos. La media es representada con un "+" mientras que los bigotes representan los máximos y mínimos.

Discusión

En la medicina tradicional, el romero se ha utilizado para el tratamiento de padecimientos del sistema nervioso (Heinrich et al., 2006). Diversos estudios han demostrado que tanto el extracto de romero, como el consumo de la planta puede potenciar la memoria (Hwang et al., 2016; Moss et al., 2018; Zanella et al., 2012) y ejercer un efecto neuroprotector (Ozarowski et al., 2013; Seyedemadi et al., 2016). En el presente trabajo se valoró la capacidad del consumo de la hoja de romero (\approx 0.286 mg/g peso corporal) para remediar los efectos negativos que una dieta alta en grasas (60% del aporte calórico) ejerce sobre la memoria declarativa a largo plazo, evaluada con la tarea de reconocimiento de objetos.

El romero no modificó los valores de grasa epididimal

Aunque se ha reportado que el romero tiene efectos sobre diversos parámetros metabólicos (Avila-Sosa et al., 2011), la complementación de una dieta rica en grasas con hojas de romero no modificó la cantidad de grasa epididimal, triglicéridos, colesterol ni glucosa basal. Sin embargo, la cantidad de grasa epididimal del grupo alimentado con dieta grasa más romero, no fue estadísticamente diferente de los niveles del grupo control, a diferencia de los que fueron alimentados con dieta grasa, por lo que es posible que el romero haya evitado un aumento de la grasa epididimal, lo cual podría ser visible al aumentar la muestra poblacional. Un estudio evaluó la capacidad de diversos compuestos bioactivos del romero para inhibir la diferenciación de adipocitos en células 3T3-L1 de ratón. De los compuestos que probaron, sólo el ácido carnósico y el carnosol lograron inhibir la diferenciación de los adipocitos a través de la regulación de la expresión de glutatión (Takahashi et al., 2009). De manera similar, se ha visto que el ácido carnósico evita el aumento de grasa visceral en ratones después de haber sido administrado oralmente (5-20 mg/kg/día) durante 14 días (Ninomiya et al., 2004). Estudios in vitro indican el extracto de romero (100 μ g/ml) rico en ácido

carnósico (20%) inhibe la acción de la lipasa pancreática, muy similar al efecto que tienen medicamentos antiobesogénicos como el orlistat (0.001 µg/ml) por lo que la acción antiobesogénica podría ser generada gracias a la falta de absorción de grasas (Ibarra et al., 2011). Sin embargo, nuestros resultados indican que una dosis de 0.286 mg de hoja de romero /g de peso corporal administrada durante un mes, no es suficiente como para disminuir significativamente los valores de grasa epididimal. No obstante, la interacción resultante de la prueba ANOVA de dos vías entre la dieta y el tratamiento, podría indicar que se requiere de una muestra poblacional mayor para que se pueda observar una diferencia significativa entre el grupo DG/Rom y DG, ya que el grupo DG/Rom no muestra una diferencia con los grupos Std y Std/Rom. De acuerdo con un análisis estadístico posterior (ver en métodos), el valor de la muestra poblacional adecuada para observar diferencias sería de $n=7$. Es importante considerar que nuestro tratamiento fue incorporado después de dos meses de haber sido administrada la dieta grasa. Los estudios realizados para evaluar la acción antiobesogénica del romero indican su acción para evita la formación de tejido adiposo, sin embargo, hacen falta estudios para determinar su influencia sobre tejido adiposo ya formado.

La dieta alta en grasas no modificó el peso corporal

Aunque en la mayoría de los trabajos realizados con dietas altas en grasa se observe un aumento de peso corporal (Carey et al., 2014; Kaczmarczyk et al., 2013; Knight et al., 2014), resulta interesante que a pesar de haber un mayor depósito de grasa epididimal en el grupo DG, no encontramos diferencias en el peso entre ninguno de los grupos. Estos resultados son similares a los de (Boozer et al., 1995) y de (Smith et al., 1998). Ellos reportaron que el consumo de una dieta isocalórica ocasionaba un incremento en la grasa visceral sin aumento del peso corporal. De igual manera, Díaz-Rúa et al. (2014) describieron que, bajo una dieta alta en grasa isocalórica desbalanceada, aumentaba la acumulación de adiposidad, hígado graso y resistencia a la insulina, pero no ocasionaba aumento del peso (Díaz-Rúa et al., 2014). Se ha descrito que individuos con este tipo de fenotipo (“delgado por fuera,

gordo por dentro”) tienen un mayor riesgo de enfermedades metabólicas pese a no presentar sobrepeso (Thomas et al., 2012). Nosotros no encontramos diferencias en el peso corporal al administrar una dieta isocalórica alta en grasa y balanceada, pero sí en los depósitos de grasa epididimal, lo cual concuerda con lo reportado por Smith et al. (1998), Boozer et al. (1995) y Díaz et al.(2014).

El romero no modificó los valores de triglicéridos ni de colesterol

Aunque no se ve un aumento estadísticamente significativo de los triglicéridos por parte de la dieta AG, sí se observa un aumento en los niveles de colesterol. Sin embargo, la administración de hoja de romero como complemento en la dieta rica en grasas no disminuyó los valores de colesterol en sangre.

Diversos estudios reportan que el romero y sus componentes son capaces de evitar la hipercolesterolemia (Afonso et al., 2013; Ibarra et al., 2011; Romo Vaquero et al., 2012). En un estudio con extracto de romero (500 mg/kg/día), se observó una disminución de los niveles de colesterol en sangre en ratones C57BL/6J alimentados con dieta grasa durante 16 semanas (Ibarra et al., 2011). Nuestro tratamiento se realizó con hoja seca de romero con una dosis aproximada de 0.286 mg/g durante treinta días, por lo que es posible que la dosis en tiempo y cantidad no hayan sido suficientes como para observar efectos sobre el colesterol. La cantidad de metabolitos que contiene el romero, está en función de su entorno fisiográfico (Flores-Villa et al., 2020), por lo que se requiere de futuros ensayos para determinar la composición de ácido carnósico y carnosol, ya que son los componentes con mayor actividad sobre los niveles de colesterol (Ninomiya et al., 2004). En el presente trabajo se tenía planeada la determinación del contenido de estos componentes en las hojas de romero empleadas, pero debido a las restricciones por la pandemia no se pudo llevar a cabo.

El romero no modificó los valores de glucosa basal.

En un estudio in vitro se observó el efecto sobre los niveles de glucosa del ácido rosmarínico, carnosol, ácido carnósico y otros compuestos fenólicos del romero a través de la activación de PPAR γ (Rau et al., 2006). De manera similar, un estudio realizado con un modelo de diabetes en conejos, reportó que una dosis de 200 mg/kg administrado oralmente impidió la hiperglucemia a las dos horas de ser ingerido. Sin embargo, en el mismo estudio, una dosis de 50 mg/kg no tuvo efecto sobre los niveles de glucemia en sangre (Bakirel et al., 2008). Con una dosis de aproximadamente 0.286 mg de hoja de romero /g de peso corporal, encontramos un efecto antihiperglucemiante, pues el grupo con dieta grasa y romero no presentó diferencia significativa con los grupos control, como ocurrió con el grupo con sólo dieta grasa. Es posible que con una dosis y tiempo de administración mayor se pueda observar un efecto en los niveles de glucosa en sangre contra el grupo con dieta grasa. Futuros estudios son necesarios para evaluar la cantidad de compuestos bioactivos del romero implementado y poder determinar la dosis que fue recibida de estos compuestos.

La dieta alta en grasas generó un daño en la memoria de reconocimiento de objetos

Es bien sabido que el consumo regular de dietas con una alta densidad energética, aumentan la propensión a desarrollar diversas patologías como diabetes, obesidad, cáncer, síndrome metabólico y afecciones cardíacas (Nguyen et al., 2014), así como también daño cognitivo y aumento en la propensión de enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer (Freeman et al., 2014). Los estudios realizados para establecer la relación que existe entre dieta y memoria, indican que diversas regiones cerebrales se ven afectadas por el consumo de dietas hipercalóricas (Cordner & Tamashiro, 2015). Sin embargo, los datos existentes con respecto a la memoria de reconocimiento, dependiente del área perirrinial es poca y en ocasiones contrastante. En un estudio realizado por Kaczmarczy y colaboradores en 2013, observaron un daño en la memoria de reconocimiento en ratones C57BL/6 tras haberles administrado una dieta rica en grasas (60%) a partir

de la primera semana. De manera similar, Carey y colaboradores observaron un deterioro cognitivo en la tarea de reconocimiento a partir del segundo mes en la misma cepa (Carey et al., 2014). Por el contrario, otros estudios no encontraron diferencias con el mismo tipo de dieta y cepa a pesar de haber sido alimentados durante 22 meses (Heyward et al., 2012; Lavin et al., 2011). Nosotros encontramos deterioro cognitivo en la tarea de reconocimiento a los tres meses de haber sido administrada una dieta similar (60% del aporte calórico proveniente de las grasas). Estos datos contrastantes pueden deberse a una gran diversidad de factores, como la arena donde se desarrolle la tarea o el tiempo de exposición a los objetos (Berlyne, 1950; Leger et al., 2013; Robinson & Bonardi, 2015). Otro factor importante y poco contemplado es el ritmo circadiano, ya que se ha visto que el desempeño en tareas cognitivas depende de la hora en la cual se realice la tarea (Durán et al., 2011). Así mismo, aunque los roedores son animales nocturnos, existen variaciones en el ciclo entre cepas (Schwartz & Zimmerman, 1990) e incluso entre subcepas (Capri et al., 2019). Previo a la prueba de reconocimiento, nosotros evaluamos el ciclo invertido en el cual fueron puestos los ratones para identificar el periodo de mayor actividad. Aunado a esto, la prueba se realizó en oscuridad con luces rojas para no alterar el ciclo invertido.

Otros estudios, indican que las dietas altas en grasa tienden a generar estados de depresión (Vagena et al., 2019), estrés (Vidal et al., 2018) y ansiedad (Dutheil et al., 2016) que disminuyen el desempeño cognitivo (Perini et al., 2019; Yang et al., 2015; Yuen et al., 2012), por lo que, de presentarse, podrían alterar el resultado en prueba de reconocimiento de objetos al disminuir la motivación por la exploración de los objetos. Para descartar que los datos obtenidos en la prueba de reconocimiento de objetos no fueran resultado del estrés, la ansiedad o la depresión, medimos el tiempo de inmovilidad, la distancia recorrida, el tiempo total de exploración y el tiempo de estancia en las periferias de la arena. Nuestros resultados indican que una dieta de la cual el 60% del aporte calórico proviene de las grasas administrada durante tres meses, es capaz de generar un deterioro cognitivo en la prueba de reconocimiento de objetos, sin generar estrés, ansiedad o depresión.

Una parte importante del presente trabajo para la comprensión de este fenómeno, contemplaba la evaluación de los niveles de leptina y BDNF sanguíneos, así como la medición de procesos neuronales como dendritas y botones sinápticos. Sin embargo, debido a las condiciones de la pandemia Covid-19 actual, no fue posible evaluarlos a tiempo.

El daño en la memoria de reconocimiento de objetos fue aminorado por el romero

El romero contiene diversos componentes que potencian la memoria y ejercen efectos neuroprotectores desde distintos mecanismos. Nuestros resultados indican que el romero rescató la memoria en ratones alimentados con dieta rica en grasas, pero no potencializó la memoria en ratones control. Los aceites esenciales del romero como el α -pineno y 1, 8-cineol, borneol, α -terpineol y canfeno tienen acción antioxidante (Estévez et al., 2007). Además, el romero contiene diterpenos fenólicos como el ácido carnósico, que gracias a dos grupos hidroxilo en el carbono 11 y 12 ejerce por sí mismo un efecto antioxidante, ampliamente usado para la preservación en la industria alimenticia (Richhelmer et al., 1999). Aunado al efecto antioxidante propio del ácido carnósico, este activa la vía Keap1/Nrf2, importante para regular los mecanismos antioxidantes propios de la célula como la expresión de “enzimas fase 2” (Sato et al., 2008). Las dietas ricas en grasa pueden disminuir el desempeño cognitivo a través del incremento del estrés oxidativo y la disminución de la expresión de Nrf2 (Freeman et al., 2014; Morrison et al., 2010). El consumo de plantas ricas en ácido carnósico como el romero, podrían aminorar el daño cognitivo generado por la dieta, por medio de la disminución del estrés oxidativo.

El consumo de dietas altas en grasa, además de propiciar neurotoxicidad por estrés oxidativo, puede generar fallas en las funciones mitocondriales, aumentar los procesos apoptóticos en células nerviosas (Langley et al., 2020) y disminuir los procesos de autofagia (Yamamoto et al., 2017), rasgos característicos de enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer (de Leeuw & Tackenberg, 2019). Liu et al. Vieron que el ácido carnósico es capaz de activar procesos de autofagia in vitro, indispensable para degradar organelos

disfuncionales y proteínas viejas para la supervivencia celular (Liu et al., 2016). El romero, rico en ácido carnósico, podría aumentar la autofagia y evitar el deterioro cognitivo causado por la dieta.

Se ha reportado que el romero puede modificar aspectos cognitivos a través de la modulación de la plasticidad neuronal. El factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) y el factor de crecimiento nervioso (NGF) forma parte de la familia de las neurotrofinas, estas promueven la supervivencia celular y el desarrollo del sistema nervioso (Markus et al., 2002) así como una amplia gama de funciones neuronales, incluida la neuroprotección (Chen et al., 2013). Se ha visto que componentes del romero como el ácido carnósico y el ácido rosmarínico, generan un efecto neuroprotector a través de la regulación de la expresión de BDNF (Hwang et al., 2016; J. A. Park et al., 2008). Un estudio in vitro demostró que el ácido carnósico promueve la síntesis de NGF en células de glioblastoma humano (Kosaka & Yokoi, 2003). Incluso se ha observado una regulación al alza de la expresión de neurotrofinas con la administración intranasal de ácido carnósico (Vaka et al., 2011, 2013). Ya que las dietas altas en grasa pueden disminuir la expresión de neurotrofinas como BDNF (Molteni et al., 2002; S.-E. Park et al., 2010). El consumo de romero podría generar un efecto neuroprotector y promover un buen desempeño cognitivo por medio de la regulación al alza de neurotrofinas como NGF y BDNF.

En el presente trabajo se tenía planeada la evaluación de la expresión de BDNF, proBDNF y Ob-R, sin embargo, debido a las condiciones causadas por la pandemia, tampoco fue posible evaluarlas.

Conclusión

Nuestros resultados indican que el consumo de hoja seca de romero, es capaz de revertir el daño sobre la memoria de reconocimiento generado por el consumo de una dieta alta en grasas en ratones. Por otro lado, no fue capaz de revertir los efectos en la glucosa, triglicéridos, colesterol ni grasa epididimal, en contradicción con lo que se ha reportado anteriormente en otros estudios. Es posible que se requieran de ajustes al modelo en tiempo, dosis o número de individuos para tener resultados más fiables al respecto.

Referencias bibliográficas

ADI. (2013). *Policy Brief for Heads of Government: The Global Impact of Dementia*. Alzheimer's disease International.

Afonso, M. S., de O Silva, A. M., Carvalho, E. B., Rivelli, D. P., Barros, S. B., Rogero, M. M., Lottenberg, A. M., Torres, R. P., & Mancini-Filho, J. (2013). Phenolic compounds from Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) attenuate oxidative stress and reduce blood cholesterol concentrations in diet-induced hypercholesterolemic rats. *Nutrition & Metabolism*, *10*(1), 19. <https://doi.org/10.1186/1743-7075-10-19>

Andrade, J. M., Faustino, C., Garcia, C., Ladeiras, D., Reis, C. P., & Rijo, P. (2018). *Rosmarinus officinalis* L.: An update review of its phytochemistry and biological activity. *Future Science OA*, *4*(4), FSO283. <https://doi.org/10.4155/fsoa-2017-0124>

Antunes, M., & Biala, G. (2012). The novel object recognition memory: Neurobiology, test procedure, and its modifications. *Cognitive Processing*, *13*(2), 93-110. <https://doi.org/10.1007/s10339-011-0430-z>

Arnold, S. E., Lucki, I., Brookshire, B. R., Carlson, G. C., Browne, C. A., Kazi, H., Bang, S., Choi, B.-R., Chen, Y., McMullen, M. F., & Kim, S. F. (2014). High fat diet produces brain insulin resistance, synaptodendritic abnormalities and altered behavior in mice. *Neurobiology of Disease*, *67*, 79-87. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2014.03.011>

Avila-Sosa, R., Navarro, A., Vera-López, O., Dávila-Márquez, R., Melgoza-Palma, N., & Meza-Pluma, R. (2011). Romero: Una revisión de sus usos no culinarios. *Ciencia y Mar*, 23-36.

- Bachmanov, A. A., Reed, D. R., Beauchamp, G. K., & Tordoff, M. G. (2002). Food intake, water intake, and drinking spout side preference of 28 mouse strains. *Behavior Genetics*, *32*(6), 435-443. <https://doi.org/10.1023/a:1020884312053>
- Bakirel, T., Bakirel, U., Keleş, O. U., Ulgen, S. G., & Yardibi, H. (2008). In vivo assessment of antidiabetic and antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in alloxan-diabetic rabbits. *Journal of Ethnopharmacology*, *116*(1), 64-73. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.10.039>
- Balderas, I., Rodriguez-Ortiz, C. J., Salgado-Tonda, P., Chavez-Hurtado, J., McGaugh, J. L., & Bermudez-Rattoni, F. (2008). The consolidation of object and context recognition memory involve different regions of the temporal lobe. *Learning & Memory*, *15*(9), 618-624. <https://doi.org/10.1101/lm.1028008>
- Banks, W. A., Coon, A. B., Robinson, S. M., Moinuddin, A., Shultz, J. M., Nakaoke, R., & Morley, J. E. (2004). Triglycerides Induce Leptin Resistance at the Blood-Brain Barrier. *Diabetes*, *53*(5), 1253-1260. <https://doi.org/10.2337/diabetes.53.5.1253>
- Baxter, M. G. (2010). «I've seen it all before»: Explaining age-related impairments in object recognition. Theoretical comment on Burke et al. (2010). *Behavioral Neuroscience*, *124*(5), 706-709. <https://doi.org/10.1037/a0021029>
- Bear, M. F., Connors, B. W., & Paradiso, M. A. (2016). *Neuroscience: Exploring the Brain, Enhanced Edition* (4th ed.). Wolters Kluwer. https://books.google.com/books/about/Neuroscience_Exploring_the_Brain_Enhance.htm?hl=es&id=m-PcDwAAQBAJ
- Begum, A., Sandhya, S., Ali, S. S. ath, Vinod, K. R., Reddy, S., & Banji, D. (2013). An in-depth review on the medicinal flora *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae). *Acta Scientiarum Polonorum*

Technologia Alimentaria, 12(1). <https://www.food.actapol.net/volume12/issue1/abstract-6.html>

Berlyne, D. E. (1950). Novelty and Curiosity as Determinants of Exploratory Behaviour1. *British Journal of Psychology. General Section*, 41(1-2), 68-80. <https://doi.org/10.1111/j.2044-8295.1950.tb00262.x>

Bevins, R. A., & Besheer, J. (2006). Object recognition in rats and mice: A one-trial non-matching-to-sample learning task to study «recognition memory». *Nature Protocols*, 1(3), 1306-1311. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.205>

Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. (2021).

<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/>

Birtić, S., Dussort, P., Pierre, F.-X., Bily, A. C., & Roller, M. (2015). Carnosic acid. *Phytochemistry*, 115, 9-19. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2014.12.026>

Boozer, C. N., Schoenbach, G., & Atkinson, R. L. (1995). Dietary fat and adiposity: A dose-response relationship in adult male rats fed isocalorically. *The American Journal of Physiology*, 268(4 Pt 1), E546-550. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.1995.268.4.E546>

Bouret, S. G., Draper, S. J., & Simerly, R. B. (2004). Trophic Action of Leptin on Hypothalamic Neurons That Regulate Feeding. *Science*, 304(5667), 108-110. <https://doi.org/10.1126/science.1095004>

Capri, K. M., Maroni, M. J., Deane, H. V., Concepcion, H. A., DeCoursey, H., Logan, R. W., & Seggio, J. A. (2019). Male C57BL6/N and C57BL6/J Mice Respond Differently to Constant Light and Running-Wheel Access. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 0. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2019.00268>

- Carey, A., Gomes, S., & Shukitt-Hale, B. (2014). Blueberry Supplementation Improves Memory in Middle-Aged Mice Fed a High-Fat Diet. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62. <https://doi.org/10.1021/jf404565s>
- Chang, H.-C., Tai, Y.-T., Cherng, Y.-G., Lin, J.-W., Liu, S.-H., Chen, T.-L., & Chen, R.-M. (2014). Resveratrol Attenuates High-Fat Diet-Induced Disruption of the Blood–Brain Barrier and Protects Brain Neurons from Apoptotic Insults. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(15), 3466-3475. <https://doi.org/10.1021/jf403286w>
- Chen, A., XIONG, L.-J., TONG, Y., & MAO, M. (2013). The neuroprotective roles of BDNF in hypoxic ischemic brain injury. *Biomedical Reports*, 1(2), 167-176. <https://doi.org/10.3892/br.2012.48>
- Cordain, L., Eaton, S. B., Sebastian, A., Mann, N., Lindeberg, S., Watkins, B. A., O’Keefe, J. H., & Brand-Miller, J. (2005). Origins and evolution of the Western diet: Health implications for the 21st century. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(2), 341-354. <https://doi.org/10.1093/ajcn.81.2.341>
- Cordner, Z. A., & Tamashiro, K. L. K. (2015). Effects of high-fat diet exposure on learning & memory. *Physiology & Behavior*, 152, 363-371. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.06.008>
- de Leeuw, S., & Tackenberg, C. (2019). Alzheimer’s in a dish – induced pluripotent stem cell-based disease modeling. *Translational Neurodegeneration*, 8. <https://doi.org/10.1186/s40035-019-0161-0>
- Díaz-Rúa, R., García-Ruiz, E., Caimari, A., Palou, A., & Oliver, P. (2014). Sustained exposure to diets with an unbalanced macronutrient proportion alters key genes involved in energy homeostasis and obesity-related metabolic parameters in rats. *Food & Function*, 5(12), 3117-3131. <https://doi.org/10.1039/c4fo00429a>

- Dorado-Martínez, C. (2020). *Etnofarmacología, riqueza terapéutica de México para el desarrollo social sostenible* Title: *Ethnopharmacology, Mexico's therapeutic prolificacy for the sustainable social development*. 2, 54-65. <https://doi.org/10.35766/je20236>
- Durán, P., Miranda-Anaya, M., Romero-Sánchez, M. de J., Mondragón-Soto, K., Granados-Rojas, L., & Cintra, L. (2011). Time-place learning is altered by perinatal low-protein malnutrition in the adult rat. *Nutritional Neuroscience*, 14(4), 145-150. <https://doi.org/10.1179/147683011X13009738172567>
- Dutheil, S., Ota, K. T., Wohleb, E. S., Rasmussen, K., & Duman, R. S. (2016). High-Fat Diet Induced Anxiety and Anhedonia: Impact on Brain Homeostasis and Inflammation. *Neuropsychopharmacology*, 41(7), 1874-1887. <https://doi.org/10.1038/npp.2015.357>
- Eaton, S. B., & Konner, M. (1985). Paleolithic nutrition. A consideration of its nature and current implications. *The New England Journal of Medicine*, 312(5), 283-289. <https://doi.org/10.1056/NEJM198501313120505>
- Eaton, S. B., Konner, M., & Shostak, M. (1988). Stone agers in the fast lane: Chronic degenerative diseases in evolutionary perspective. *The American Journal of Medicine*, 84(4), 739-749. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(88\)90113-1](https://doi.org/10.1016/0002-9343(88)90113-1)
- Ennaceur, A., & Delacour, J. (1988). A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. *Behavioural Brain Research*, 31(1), 47-59. [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(88\)90157-x](https://doi.org/10.1016/0166-4328(88)90157-x)
- Eskelinen, M. H., Ngandu, T., Helkala, E.-L., Tuomilehto, J., Nissinen, A., Soininen, H., & Kivipelto, M. (2008). Fat intake at midlife and cognitive impairment later in life: A population-based CAIDE study. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 23(7), 741-747. <https://doi.org/10.1002/gps.1969>

- Estévez, M., Ramírez, R., Ventanas, S., & Cava, R. (2007). Sage and rosemary essential oils versus BHT for the inhibition of lipid oxidative reactions in liver pâté. *LWT - Food Science and Technology*, *40*(1), 58-65. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.07.010>
- Farr, S. A., Niehoff, M. L., Ceddia, M. A., Herrlinger, K. A., Lewis, B. J., Feng, S., Welleford, A., Butterfield, D. A., & Morley, J. E. (2016). Effect of botanical extracts containing carnosic acid or rosmarinic acid on learning and memory in SAMP8 mice. *Physiology & Behavior*, *165*, 328-338. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.08.013>
- Ferlemi, A.-V., Katsikoudi, A., Kontogianni, V. G., Kellici, T. F., Iatrou, G., Lamari, F. N., Tzakos, A. G., & Margaritis, M. (2015). Rosemary tea consumption results to anxiolytic- and anti-depressant-like behavior of adult male mice and inhibits all cerebral area and liver cholinesterase activity; phytochemical investigation and in silico studies. *Chemico-Biological Interactions*, *237*, 47-57. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2015.04.013>
- Flores-Villa, E., Sáenz-Galindo, A., Castañeda-Facio, A. O., Narro-Céspedes, R. I., Flores-Villa, E., Sáenz-Galindo, A., Castañeda-Facio, A. O., & Narro-Céspedes, R. I. (2020). Romero (*Rosmarinus officinalis* L.): Su origen, importancia y generalidades de sus metabolitos secundarios. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, *23*. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.266>
- Forny-Germano, L., De Felice, F. G., & Vieira, M. N. do N. (2018). The Role of Leptin and Adiponectin in Obesity-Associated Cognitive Decline and Alzheimer's Disease. *Frontiers in Neuroscience*, *12*, 1027. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.01027>
- Freeman, L. R., Haley-Zitlin, V., Rosenberger, D. S., & Granholm, A.-C. (2014). Damaging effects of a high-fat diet to the brain and cognition: A review of proposed mechanisms. *Nutritional Neuroscience*, *17*(6), 241-251. <https://doi.org/10.1179/1476830513Y.0000000092>

- Geografía (INEGI), I. N. de E. y. (2021). *Producto Interno Bruto. PIB. Trimestral*. Cuentas de Bienes y Servicios del Sistema de Cuentas Nacionales de México. SCNM; Producto Interno Bruto. Trimestral; Instituto Nacional de Estadística y Geografía. INEGI.
<https://www.inegi.org.mx/temas/pib/>
- Govea-Salas, M., Morlett, J., Rodriguez, R., & Ascacio-Valdés, J. (2017). *Some Mexican Plants Used in Traditional Medicine*. <https://doi.org/10.5772/66637>
- Gulyás, M., Bencsik, N., Pusztai, S., Liliom, H., & Schlett, K. (2016). AnimalTracker: An ImageJ-Based Tracking API to Create a Customized Behaviour Analyser Program. *Neuroinformatics*, 14(4), 479-481. <https://doi.org/10.1007/s12021-016-9303-z>
- Habtemariam, S. (2016, enero 28). *The Therapeutic Potential of Rosemary (Rosmarinus officinalis) Diterpenes for Alzheimer's Disease* [Review Article]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine; Hindawi. <https://doi.org/10.1155/2016/2680409>
- Harach, T., Aprikian, O., Monnard, I., Moulin, J., Membrez, M., Béolor, J.-C., Raab, T., Macé, K., & Darimont, C. (2010). Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) leaf extract limits weight gain and liver steatosis in mice fed a high-fat diet. *Planta Medica*, 76(6), 566-571.
<https://doi.org/10.1055/s-0029-1240612>
- Hassani, F. V., Shirani, K., & Hosseinzadeh, H. (2016). Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) as a potential therapeutic plant in metabolic syndrome: A review. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 389(9), 931-949. <https://doi.org/10.1007/s00210-016-1256-0>
- Heinrich, M., Kufer, J., Leonti, M., & Pardo-de-Santayana, M. (2006). Ethnobotany and ethnopharmacology—Interdisciplinary links with the historical sciences. *Journal of Ethnopharmacology*, 107(2), 157-160. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.05.035>
- Heyward, F. D., Walton, R. G., Carle, M. S., Coleman, M. A., Garvey, W. T., & Sweatt, J. D. (2012). Adult mice maintained on a high-fat diet exhibit object location memory deficits and

- reduced hippocampal SIRT1 gene expression. *Neurobiology of Learning and Memory*, 98(1), 25-32. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2012.04.005>
- Huang, X. F., Koutcherov, I., Lin, S., Wang, H. Q., & Storlien, L. (1996). Localization of leptin receptor mRNA expression in mouse brain. *NeuroReport*, 7(15), 2635-2638.
- Hussain, S. M., Syeda, A. F., Alshammari, M., Alnasser, S., Alenzi, N. D., Alanazi, S. T., & Nandakumar, K. (2022). Cognition enhancing effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) in lab animal studies: A systematic review and meta-analysis. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 55. <https://doi.org/10.1590/1414-431X2021e11593>
- Hwang, E.-S., Kim, H.-B., Choi, G.-Y., Lee, S., Lee, S.-O., Kim, S., & Park, J.-H. (2016). Acute Rosmarinic Acid Treatment Enhances Long-Term Potentiation, BDNF and GluR-2 Protein Expression, and Cell Survival Rate Against Scopolamine Challenge in Rat Organotypic Hippocampal Slice Cultures. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 475(1), 44-50. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.04.153>
- Ibarra, A., Cases, J., Roller, M., Chiralt-Boix, A., Coussaert, A., & Ripoll, C. (2011). Carnosic acid-rich rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) leaf extract limits weight gain and improves cholesterol levels and glycaemia in mice on a high-fat diet. *British Journal of Nutrition*, 106(8), 1182-1189. <https://doi.org/10.1017/S0007114511001620>
- Jimbo, D., Kimura, Y., Taniguchi, M., Inoue, M., & Urakami, K. (2009). Effect of aromatherapy on patients with Alzheimer's disease. *Psychogeriatrics: The Official Journal of the Japanese Psychogeriatric Society*, 9(4), 173-179. <https://doi.org/10.1111/j.1479-8301.2009.00299.x>
- Kaczmarczyk, M. M., Machaj, A. S., Chiu, G. S., Lawson, M. A., Gainey, S. J., York, J. M., Meling, D. D., Martin, S. A., Kwakwa, K. A., Newman, A. F., Woods, J. A., Kelley, K. W., Wang, Y., Miller, M. J., & Freund, G. G. (2013). Methylphenidate prevents high-fat diet (HFD)-

- induced learning/ memory impairment in juvenile mice. *Psychoneuroendocrinology*, *38*(9), 1553-1564. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2013.01.004>
- Kandel, E. R., Koester, J. D., Mack, S. H., & Siegelbaum, S. A. (2021). *Principles of Neural Science* (6Th ed.). McGrall Hill Medical.
- Kesby, J. P., Kim, J. J., Scadeng, M., Woods, G., Kado, D. M., Olefsky, J. M., Jeste, D. V., Achim, C. L., & Semenova, S. (2015). Spatial Cognition in Adult and Aged Mice Exposed to High-Fat Diet. *PLoS ONE*, *10*(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140034>
- Knight, E. M., Martins, I. V. A., Gümüşgöz, S., Allan, S. M., & Lawrence, C. B. (2014). High-fat diet-induced memory impairment in triple-transgenic Alzheimer's disease (3xTgAD) mice is independent of changes in amyloid and tau pathology. *Neurobiology of Aging*, *35*(8), 1821-1832. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2014.02.010>
- Kosaka, K., & Yokoi, T. (2003). Carnosic acid, a component of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), promotes synthesis of nerve growth factor in T98G human glioblastoma cells. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, *26*(11), 1620-1622. <https://doi.org/10.1248/bpb.26.1620>
- Langley, M. R., Yoon, H., Kim, H. N., Choi, C.-I., Simon, W., Kleppe, L., Lanza, I. R., LeBrasseur, N. K., Matveyenko, A., & Scarisbrick, I. A. (2020). High fat diet consumption results in mitochondrial dysfunction, oxidative stress, and oligodendrocyte loss in the central nervous system. *Biochimica Et Biophysica Acta. Molecular Basis of Disease*, *1866*(3), 165630. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2019.165630>
- Lavin, D. N., Joesting, J. J., Chiu, G. S., Moon, M. L., Meng, J., Dilger, R. N., & Freund, G. G. (2011). Fasting Induces an Anti-Inflammatory Effect on the Neuroimmune System Which a High-Fat Diet Prevents. *Obesity*, *19*(8), 1586-1594. <https://doi.org/10.1038/oby.2011.73>

- Leger, M., Quiedeville, A., Bouet, V., Haelewyn, B., Boulouard, M., Schumann-Bard, P., & Freret, T. (2013). Object recognition test in mice. *Nature Protocols*, 8(12), 2531-2537.
<https://doi.org/10.1038/nprot.2013.155>
- Li, C., Meng, F., Lei, Y., Liu, J., Liu, J., Zhang, J., Liu, F., Liu, C., Guo, M., & Lu, X.-Y. (2020). Leptin regulates exon-specific transcription of the Bdnf gene via epigenetic modifications mediated by an AKT/p300 HAT cascade. *Molecular Psychiatry*, 1-22.
<https://doi.org/10.1038/s41380-020-00922-0>
- Liu, J., Su, H., & Qu, Q.-M. (2016). Carnosic Acid Prevents Beta-Amyloid-Induced Injury in Human Neuroblastoma SH-SY5Y Cells via the Induction of Autophagy. *Neurochemical Research*, 41(9), 2311-2323. <https://doi.org/10.1007/s11064-016-1945-6>
- Machado, D. G., Cunha, M. P., Neis, V. B., Balen, G. O., Colla, A. R., Grando, J., Brocardo, P. S., Bettio, L. E. B., Dalmarco, J. B., Rial, D., Prediger, R. D., Pizzolatti, M. G., & Rodrigues, A. L. S. (2012). Rosmarinus officinalis L. hydroalcoholic extract, similar to fluoxetine, reverses depressive-like behavior without altering learning deficit in olfactory bulbectomized mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 143(1), 158-169.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.06.017>
- Markus, A., Patel, T. D., & Snider, W. D. (2002). Neurotrophic factors and axonal growth. *Current Opinion in Neurobiology*, 12(5), 523-531. [https://doi.org/10.1016/S0959-4388\(02\)00372-0](https://doi.org/10.1016/S0959-4388(02)00372-0)
- Mathers, C., Fat, D. M., Boerma, J. T., & World Health Organization (Eds.). (2008). *The global burden of disease: 2004 update*. World Health Organization.
http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/GBD_report_2004update_full.pdf

- May, B. H., Lit, M., Xue, C. C. L., Yang, A. W. H., Zhang, A. L., Owens, M. D., Head, R., Cobiac, L., Li, C. G., Hugel, H., & Story, D. F. (2009). Herbal medicine for dementia: A systematic review. *Phytotherapy Research: PTR*, 23(4), 447-459. <https://doi.org/10.1002/ptr.2656>
- McCauley, B. (2018). Life Expectancy in Hunter-Gatherers. En T. K. Shackelford & V. A. Weekes-Shackelford (Eds.), *Encyclopedia of Evolutionary Psychological Science* (pp. 1-3). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-16999-6_2352-1
- McLean, F. H., Grant, C., Morris, A. C., Horgan, G. W., Polanski, A. J., Allan, K., Campbell, F. M., Langston, R. F., & Williams, L. M. (2018). Rapid and reversible impairment of episodic memory by a high-fat diet in mice. *Scientific Reports*, 8(1), 11976. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30265-4>
- Molteni, R., Barnard, R. J., Ying, Z., Roberts, C. K., & Gómez-Pinilla, F. (2002). A high-fat, refined sugar diet reduces hippocampal brain-derived neurotrophic factor, neuronal plasticity, and learning. *Neuroscience*, 112(4), 803-814. [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(02\)00123-9](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(02)00123-9)
- Morrison, C. D. (2009). Leptin signaling in brain: A link between nutrition and cognition? *Biochimica et biophysica acta*, 1792(5), 401-408. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2008.12.004>
- Morrison, C. D., Pistell, P. J., Ingram, D. K., Johnson, W. D., Liu, Y., Fernandez-Kim, S. O., White, C. L., Purpera, M. N., Uranga, R. M., Bruce-Keller, A. J., & Keller, J. N. (2010). High fat diet increases hippocampal oxidative stress and cognitive impairment in aged mice: Implications for decreased Nrf2 signaling. *Journal of Neurochemistry*, 114(6), 1581-1589. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2010.06865.x>
- Moss, M., Cook, J., Wesnes, K., & Duckett, P. (2003). Aromas of rosemary and lavender essential oils differentially affect cognition and mood in healthy adults. *The International Journal of Neuroscience*, 113(1), 15-38. <https://doi.org/10.1080/00207450390161903>

- Moss, M., Smith, E., Milner, M., & McCready, J. (2018). Acute ingestion of rosemary water: Evidence of cognitive and cerebrovascular effects in healthy adults. *Journal of Psychopharmacology*, 32(12), 1319-1329. <https://doi.org/10.1177/0269881118798339>
- Murman, D. L. (2015). The Impact of Age on Cognition. *Seminars in Hearing*, 36(3), 111-121. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1555115>
- Nematollahi, P., Mehrabani, M., Karami-Mohajeri, S., & Dabaghzadeh, F. (2018). Effects of *Rosmarinus officinalis* L. on memory performance, anxiety, depression, and sleep quality in university students: A randomized clinical trial. *Complementary Therapies in Clinical Practice*, 30, 24-28. <https://doi.org/10.1016/j.ctcp.2017.11.004>
- Nemecio, J. L. (2019). La doble disyuntiva histórica de la producción antropogénica de la salud y la enfermedad en el siglo XXI. *Antrópica: Revista de Ciencias Sociales y Humanidades*, 5(9), 137-155.
- Nguyen, J. C. D., Killcross, A. S., & Jenkins, T. A. (2014). Obesity and cognitive decline: Role of inflammation and vascular changes. *Frontiers in Neuroscience*, 8. <https://doi.org/10.3389/fnins.2014.00375>
- Ninomiya, K., Matsuda, H., Shimoda, H., Nishida, N., Kasajima, N., Yoshino, T., Morikawa, T., & Yoshikawa, M. (2004). Carnosic acid, a new class of lipid absorption inhibitor from sage. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 14(8), 1943-1946. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2004.01.091>
- OECD. (2020). <https://www.oecd.org/health/obesity-update.htm>
- O'Malley, D., MacDonald, N., Mizielińska, S., Connolly, C. N., Irving, A. J., & Harvey, J. (2007). Leptin promotes rapid dynamic changes in hippocampal dendritic morphology. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 35(4), 559-572. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2007.05.001>

- Ozarowski, M., Mikołajczak, P. L., Bogacz, A., Gryszczynska, A., Kujawska, M., Jodynis-Liebert, J., Piasecka, A., Napieczynska, H., Szulc, M., Kujawski, R., Bartkowiak-Wieczorek, J., Cichocka, J., Bobkiewicz-Kozłowska, T., Czerny, B., & Mrozikiewicz, P. M. (2013). Rosmarinus officinalis L. leaf extract improves memory impairment and affects acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activities in rat brain. *Fitoterapia*, *91*, 261-271.
<https://doi.org/10.1016/j.fitote.2013.09.012>
- Park, J. A., Kim, S., Lee, S.-Y., Kim, C.-S., Kim, D. K., Kim, S.-J., & Chun, H. S. (2008). Beneficial effects of carnosic acid on dieldrin-induced dopaminergic neuronal cell death. *Neuroreport*, *19*(13), 1301-1304. <https://doi.org/10.1097/WNR.0b013e32830abc1f>
- Park, S.-E., Kim, S., Sapkota, K., & Kim, S.-J. (2010). Neuroprotective effect of Rosmarinus officinalis extract on human dopaminergic cell line, SH-SY5Y. *Cellular and Molecular Neurobiology*, *30*(5), 759-767. <https://doi.org/10.1007/s10571-010-9502-3>
- Paz-Filho, G. J. (2016). The Effects of Leptin Replacement on Neural Plasticity. *Neural Plasticity*, *2016*, 8528934. <https://doi.org/10.1155/2016/8528934>
- Pengelly, A., Snow, J., Mills, S. Y., Scholey, A., Wesnes, K., & Butler, L. R. (2011). Short-Term Study on the Effects of Rosemary on Cognitive Function in an Elderly Population. *Journal of Medicinal Food*, *15*(1), 10-17. <https://doi.org/10.1089/jmf.2011.0005>
- Perini, G., Cotta Ramusino, M., Sinforiani, E., Bernini, S., Petrachi, R., & Costa, A. (2019). Cognitive impairment in depression: Recent advances and novel treatments. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, *15*, 1249-1258. <https://doi.org/10.2147/NDT.S199746>
- Perry, E. (2007). Commentary: Botanical potentials in Alzheimer's disease. *Journal of Alternative and Complementary Medicine (New York, N.Y.)*, *13*(3), 345-346.
<https://doi.org/10.1089/acm.2006.6405>

- Pistell, P. J., Morrison, C. D., Gupta, S., Knight, A. G., Keller, J. N., Ingram, D. K., & Bruce-Keller, A. J. (2010). Cognitive impairment following high fat diet consumption is associated with brain inflammation. *Journal of Neuroimmunology*, *219*(1-2), 25-32.
<https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2009.11.010>
- Pontzer, H., Wood, B. M., & Raichlen, D. A. (2018). Hunter-gatherers as models in public health. *Obesity Reviews: An Official Journal of the International Association for the Study of Obesity*, *19 Suppl 1*, 24-35. <https://doi.org/10.1111/obr.12785>
- Poret, J. M., Souza-Smith, F., Marcell, S. J., Gaudet, D. A., Tzeng, T. H., Braymer, H. D., Harrison-Bernard, L. M., & Primeaux, S. D. (2018). High fat diet consumption differentially affects adipose tissue inflammation and adipocyte size in obesity-prone and obesity-resistant rats. *International journal of obesity (2005)*, *42*(3), 535-541.
<https://doi.org/10.1038/ijo.2017.280>
- Purves, D., Augustine, G. J., Fitzpatrick, D., Hall, W. C., LaMantina, A.-S., Mooney, R. D., Platt, M. L., & Whithe, L. E. (2018). *Neuroscience* (6Th ed.). Sinauer Associates.
<https://www.medicapanamericana.com/mx/autor/dale-purves>
- Rajagopalan, P., Toga, A. W., Jack, C. R., Weiner, M. W., & Thompson, P. M. (2013). Fat-mass-related hormone, plasma leptin, predicts brain volumes in the elderly. *Neuroreport*, *24*(2), 58-62. <https://doi.org/10.1097/WNR.0b013e32835c5254>
- Rasoolijazi, H., Azad, N., Joghataei, M. T., Kerdari, M., Nikbakht, F., & Soleimani, M. (2013). The protective role of carnolic acid against beta-amyloid toxicity in rats. *TheScientificWorldJournal*, *2013*, 917082. <https://doi.org/10.1155/2013/917082>
- Rasoolijazi, H., Mehdizadeh, M., Soleimani, M., Nikbakhte, F., Eslami Farsani, M., & Ababzadeh, S. (2015). The effect of rosemary extract on spatial memory, learning and antioxidant

enzymes activities in the hippocampus of middle-aged rats. *Medical Journal of the Islamic Republic of Iran*, 29, 187.

Rau, O., Wurglics, M., Paulke, A., Zitzkowski, J., Meindl, N., Bock, A., Dingermann, T., Abdel-Tawab, M., & Schubert-Zsilavec, M. (2006). Carnosic acid and carnosol, phenolic diterpene compounds of the labiate herbs rosemary and sage, are activators of the human peroxisome proliferator-activated receptor gamma. *Planta Medica*, 72(10), 881-887.

<https://doi.org/10.1055/s-2006-946680>

Richhelmer, S. L., Bailey, D. T., Bernart, M., Kent, M. C., Vininski, J., & Anderson, L. (1999).

Antioxidant activity and oxidative degradation of phenolic compounds isolated from rosemary. *Undefined*. [https://www.semanticscholar.org/paper/Antioxidant-activity-and-oxidative-degradation-of-Richhelmer-](https://www.semanticscholar.org/paper/Antioxidant-activity-and-oxidative-degradation-of-Richhelmer-Bailey/f7228aea6f592cf0f60333da82734e505c7e9491)

[Bailey/f7228aea6f592cf0f60333da82734e505c7e9491](https://www.semanticscholar.org/paper/Antioxidant-activity-and-oxidative-degradation-of-Richhelmer-Bailey/f7228aea6f592cf0f60333da82734e505c7e9491)

Robinson, J., & Bonardi, C. (2015). An associative analysis of object memory. *Behavioural Brain Research*, 285, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.10.046>

Romo Vaquero, M., Yáñez-Gascón, M.-J., García Villalba, R., Larrosa, M., Fromentin, E., Ibarra, A., Roller, M., Tomás-Barberán, F., Espín de Gea, J. C., & García-Conesa, M.-T. (2012).

Inhibition of Gastric Lipase as a Mechanism for Body Weight and Plasma Lipids Reduction in Zucker Rats Fed a Rosemary Extract Rich in Carnosic Acid. *PLoS ONE*, 7(6).

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039773>

Rossato, J. I., Bevilacqua, L. R. M., Myskiw, J. C., Medina, J. H., Izquierdo, I., & Cammarota, M.

(2007). On the role of hippocampal protein synthesis in the consolidation and reconsolidation of object recognition memory. *Learning & Memory*, 14(1-2), 36-46.

<https://doi.org/10.1101/lm.422607>

- Salinas, R. M., Hiriart, M., Acosta, I., Sosa, A. L., & Prince, M. J. (2016). Type 2 diabetes mellitus as a risk factor for dementia in a Mexican population. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 30(7), 1234-1239. <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2016.06.005>
- Sánchez-Camargo, A. del P., & Herrero, M. (2017). Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) as a functional ingredient: Recent scientific evidence. *Current Opinion in Food Science*, 14, 13-19. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2016.12.003>
- Satoh, T., Kosaka, K., Itoh, K., Kobayashi, A., Yamamoto, M., Shimojo, Y., Kitajima, C., Cui, J., Kamins, J., Okamoto, S., Izumi, M., Shirasawa, T., & Lipton, S. A. (2008). Carnosic acid, a catechol-type electrophilic compound, protects neurons both in vitro and in vivo through activation of the Keap1/Nrf2 pathway via S-alkylation of targeted cysteines on Keap1. *Journal of Neurochemistry*, 104(4), 1116-1131. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2007.05039.x>
- Schwartz, W., & Zimmerman, P. (1990). Circadian timekeeping in BALB/c and C57BL/6 inbred mouse strains. *The Journal of Neuroscience*, 10(11), 3685-3694. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.10-11-03685.1990>
- Scott, M. M., Lachey, J. L., Sternson, S. M., Lee, C. E., Elias, C. F., Friedman, J. M., & Elmquist, J. K. (2009). Leptin Targets in the Mouse Brain. *The Journal of comparative neurology*, 514(5), 518-532. <https://doi.org/10.1002/cne.22025>
- Scoville, W. B., & Milner, B. (1957). LOSS OF RECENT MEMORY AFTER BILATERAL HIPPOCAMPAL LESIONS. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 20(1), 11-21.
- Seyedemadi, P., Rahnema, M., Bigdeli, M. R., Oryan, S., & Rafati, H. (2016). The Neuroprotective Effect of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Hydro-alcoholic Extract on Cerebral Ischemic Tolerance in Experimental Stroke. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research : IJPR*, 15(4), 875-883.

- Shinjyo, N., & Green, J. (2017). Are sage, rosemary and lemon balm effective interventions in dementia? A narrative review of the clinical evidence. *European Journal of Integrative Medicine*, 15, 83-96. <https://doi.org/10.1016/j.eujim.2017.08.013>
- Shioda, S., Funahashi, H., Nakajo, S., Yada, T., Maruta, O., & Nakai, Y. (1998). Immunohistochemical localization of leptin receptor in the rat brain. *Neuroscience Letters*, 243(1), 41-44. [https://doi.org/10.1016/S0304-3940\(98\)00082-2](https://doi.org/10.1016/S0304-3940(98)00082-2)
- Smith, B. K., Kelly, L. A., Piña, R., York, D. A., & Bray, G. A. (1998). Preferential Fat Intake Increases Adiposity but not Body Weight in Sprague-Dawley Rats. *Appetite*, 31(2), 127-139. <https://doi.org/10.1006/appe.1998.0162>
- Solhi, H., Salehi, B., Alimoradian, A., Pazouki, S., Taghizadeh, M., Saleh, A. M., & Kazemifar, A. M. (2013). Beneficial Effects of Rosmarinus Officinalis for Treatment of Opium Withdrawal Syndrome during Addiction Treatment Programs: A Clinical Trial. *Addiction & Health*, 5(3-4), 90-94.
- Sun, A. Y., Wang, Q., Simonyi, A., & Sun, G. Y. (2008). Botanical phenolics and brain health. *Neuromolecular medicine*, 10(4), 259-274. <https://doi.org/10.1007/s12017-008-8052-z>
- Takahashi, T., Tabuchi, T., Tamaki, Y., Kosaka, K., Takikawa, Y., & Satoh, T. (2009). Carnosic acid and carnosol inhibit adipocyte differentiation in mouse 3T3-L1 cells through induction of phase 2 enzymes and activation of glutathione metabolism. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 382(3), 549-554. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.03.059>
- Tanimizu, T., Kono, K., & Kida, S. (2018). Brain networks activated to form object recognition memory. *Brain Research Bulletin*, 141, 27-34. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2017.05.017>
- Thomas, E. L., Parkinson, J. R., Frost, G. S., Goldstone, A. P., Doré, C. J., McCarthy, J. P., Collins, A. L., Fitzpatrick, J. A., Durighel, G., Taylor-Robinson, S. D., & Bell, J. D. (2012). The missing

- risk: MRI and MRS phenotyping of abdominal adiposity and ectopic fat. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 20(1), 76-87. <https://doi.org/10.1038/oby.2011.142>
- Treviño, S., Vázquez-Roque, R. A., López-López, G., Perez-Cruz, C., Moran, C., Handal-Silva, A., González-Vergara, E., Flores, G., Guevara, J., & Díaz, A. (2017). Metabolic syndrome causes recognition impairments and reduced hippocampal neuronal plasticity in rats. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 82, 65-75. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2017.02.007>
- Trumbo, P., Schlicker, S., Yates, A. A., & Poos, M. (2002). Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein and Amino Acids. *Journal of the American Dietetic Association*, 102(11), 1621-1630. [https://doi.org/10.1016/S0002-8223\(02\)90346-9](https://doi.org/10.1016/S0002-8223(02)90346-9)
- Vagena, E., Ryu, J. K., Baeza-Raja, B., Walsh, N. M., Syme, C., Day, J. P., Houslay, M. D., & Baillie, G. S. (2019). A high-fat diet promotes depression-like behavior in mice by suppressing hypothalamic PKA signaling. *Translational Psychiatry*, 9(1), 1-15. <https://doi.org/10.1038/s41398-019-0470-1>
- Vaka, S. R. K., Murthy, S. N., Repka, M. A., & Nagy, T. (2011). Upregulation of endogenous neurotrophin levels in the brain by intranasal administration of carnosic acid. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 100(8), 3139-3145. <https://doi.org/10.1002/jps.22528>
- Vaka, S. R. K., Shivakumar, H. N., Repka, M. A., & Murthy, S. N. (2013). Formulation and evaluation of carnosic acid nanoparticulate system for upregulation of neurotrophins in the brain upon intranasal administration. *Journal of Drug Targeting*, 21(1), 44-53. <https://doi.org/10.3109/1061186X.2012.725405>
- Valdebenito, C. (2007). DEFINIENDO HOMO SAPIENS-SAPIENS: APROXIMACIÓN ANTROPOLÓGICA. *Acta bioethica*, 13(1), 71-78. <https://doi.org/10.4067/S1726-569X2007000100008>

- Vidal, E. J., Alvarez, D., Martinez-Velarde, D., Vidal-Damas, L., Yuncar-Rojas, K. A., Julca-Malca, A., & Bernabe-Ortiz, A. (2018). Perceived stress and high fat intake: A study in a sample of undergraduate students. *PLoS ONE*, *13*(3), e0192827.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192827>
- Wang, P., Loh, K. H., Wu, M., Morgan, D. A., Schneeberger, M., Yu, X., Chi, J., Kosse, C., Kim, D., Rahmouni, K., Cohen, P., & Friedman, J. (2020). A leptin–BDNF pathway regulating sympathetic innervation of adipose tissue. *Nature*, *583*(7818), 839-844.
<https://doi.org/10.1038/s41586-020-2527-y>
- Winters, B. D., Saksida, L. M., & Bussey, T. J. (2008). Object recognition memory: Neurobiological mechanisms of encoding, consolidation and retrieval. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *32*(5), 1055-1070. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2008.04.004>
- Wu, A., Molteni, R., Ying, Z., & Gomez-Pinilla, F. (2003). A saturated-fat diet aggravates the outcome of traumatic brain injury on hippocampal plasticity and cognitive function by reducing brain-derived neurotrophic factor. *Neuroscience*, *119*(2), 365-375.
[https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(03\)00154-4](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(03)00154-4)
- Xu, T., Zhou, J., Zhu, J., Zhang, S., Zhang, N., Zhao, Y., Ding, C., Shi, X., & Yao, J. (2017). Carnosic acid protects non-alcoholic fatty liver-induced dopaminergic neuron injury in rats. *Metabolic Brain Disease*, *32*(2), 483-491. <https://doi.org/10.1007/s11011-016-9941-8>
- Yamamoto, T., Takabatake, Y., Takahashi, A., Kimura, T., Namba, T., Matsuda, J., Minami, S., Kaimori, J., Matsui, I., Matsusaka, T., Niimura, F., Yanagita, M., & Isaka, Y. (2017). High-Fat Diet–Induced Lysosomal Dysfunction and Impaired Autophagic Flux Contribute to Lipotoxicity in the Kidney. *Journal of the American Society of Nephrology*, *28*(5), 1534-1551. <https://doi.org/10.1681/ASN.2016070731>

Yang, Y., Zhang, X., Zhu, Y., Dai, Y., Liu, T., & Wang, Y. (2015). Cognitive impairment in generalized anxiety disorder revealed by event-related potential N270. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, *11*, 1405-1411. <https://doi.org/10.2147/NDT.S84666>

Yuen, E. Y., Wei, J., Liu, W., Zhong, P., Li, X., & Yan, Z. (2012). Repeated Stress Causes Cognitive Impairment by Suppressing Glutamate Receptor Expression and Function in Prefrontal Cortex. *Neuron*, *73*(5), 962-977. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.12.033>

Zanella, C. A., Treichel, H., Cansian, R. L., & Roman, S. S. (2012). The effects of acute administration of the hydroalcoholic extract of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) (Lamiaceae) in animal models of memory. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, *48*(3), 389-397. <https://doi.org/10.1590/S1984-82502012000300005>