



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Maestría y Doctorado en Ciencias Bioquímicas

Efecto de la exposición prolongada a la novedad sobre la plasticidad neuronal en el hipocampo de ratones obesos

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
Maestro en Ciencias

PRESENTA:
Ernesto Saúl Gutiérrez López

TUTOR PRINCIPAL
Dr. Federico Bermúdez Rattoni
[Instituto de Fisiología Celular, UNAM](#)

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR

Dra. Ana Brígida Clorinda Arias Álvarez
[Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM](#)

Dra. Martha Lilia Escobar Rodríguez
[Facultad de Psicología, UNAM](#)

Ciudad de México. Mayo, 2023



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.

Este trabajo se realizó en el laboratorio de Neurobiología del Aprendizaje y la Memoria, BL-201, Departamento de Neurociencia Cognitiva de la División de Neurociencias del Instituto de Fisiología Celular, UNAM, a cargo del **Dr. Federico Bermúdez Rattoni**, en colaboración con el Departamento de Ciencias de la Salud, UAM Lerma a cargo de la **Dra. Kioko Rubí Guzmán Ramos** y fue apoyado por los fondos del **Departamento de Ciencias de la Salud UAM Lerma** y **FONCICYT-DADC CONACYT 273553**.

La realización de este trabajo fue posible gracias al apoyo del **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)** y la presentación de los avances del proyecto en diferentes congresos fue gracias al **Programa de Apoyo a los Estudiantes del Posgrado (PAEP)** y al **Capítulo de la Ciudad de México de la Society for Neuroscience**.

Agradecimientos académicos

Al **Dr. Federico Bermúdez Rattoni** por su asesoría durante la realización del proyecto.

A la **Dra. Kioko Rubí Guzmán Ramos** por permitirme trabajar en el proyecto.

A los miembros de mi comité tutor, la **Dra. Ana Brígida Clorinda Arias Álvarez** y la **Dra. Martha Lilia Escobar Rodríguez** por sus aportaciones durante los exámenes tutorales.

A los miembros de mi jurado, el **Dr. Miguel Angel Morales Mendoza**, la **Dra. Angélica Zepeda Rivera**, la **Dra. Andrea Sachi Díaz Villaseñor**, al **Dr. Luis Bernardo Tovar y Romo** y a la **Dra. Carolina Escobar Briones** por sus comentarios sobre el trabajo final.

Al técnico académico del laboratorio el **Dr. Luis Francisco Rodríguez Durán** y a la laboratorista **Marisela Hernández Aguilar** por su incomparable ayuda en el laboratorio. Al personal del Bioterio, en particular a la **M.V.Z. Claudia V. Rivera Cerecedo**, responsable de la unidad.

Contenido

RESUMEN	6
INTRODUCCIÓN	7
APRENDIZAJE Y MEMORIA	7
POTENCIACIÓN A LARGO PLAZO (LTP)	9
DETERIORO EN LA MEMORIA ASOCIADO AL CONSUMO CRÓNICO DE DIETAS HIPERCALÓRICAS	15
MODELOS ANIMALES DE DIETAS HIPERCALÓRICAS Y MEMORIA	17
LA NOVEDAD COMO TRATAMIENTO QUE MEJORA LA MEMORIA	20
JUSTIFICACIÓN	22
HIPÓTESIS	23
OBJETIVOS	23
OBJETIVO GENERAL	23
OBJETIVOS PARTICULARES.....	23
MATERIALES Y MÉTODOS	23
MODELO DE DIETA HIPERCALÓRICA	23
MEDICIÓN DE VARIABLES METABÓLICAS.....	27
MEDICIÓN DE LTP EN LA VÍA DEL PATRÓN PERFORANTE AL GIRO DENTADO	27
WESTERN-BLOT DE GLUN1 EN PROTEÍNA TOTAL EN EL HIPOCAMPO DORSAL.....	30
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	31
RESULTADOS	32
PARÁMETROS METABÓLICOS	32
POTENCIACIÓN A LARGO PLAZO (LTP).....	33
NIVELES PROTEICOS DE TH Y GLUN1	36
DISCUSIÓN	38
LA DIETA HIPERCALÓRICA CAUSA DESREGULACIONES DEL METABOLISMO ENERGÉTICO	38
LA DIETA HIPERCALÓRICA ATENÚA EL INCREMENTO EN LA EFICIENCIA SINÁPTICA EN LA LTP Y NO ALTERA LA CANTIDAD DE RECEPTORES NMDA EN EL HIPOCAMPO	39
LA DIETA HIPERCALÓRICA TIENDE A REDUCIR LA CANTIDAD DE TIROSINA HIDROXILASA EN EL HIPOCAMPO Y LA NOVEDAD RECUPERA LA LTP	42
CONCLUSIONES	44
PERSPECTIVAS	45

Figuras

Figura 1. Diferentes tipos de memoria.....	8
Figura 2. Diferentes tipos de memoria según su duración temporal y vías de entrada y de salida de la información en la formación hipocampal.....	9
Figura 3. Las 3 principales vías en el hipocampo.....	11
Figura 4. Modelo de inducción de la LTP.....	13
Figura 5. Metodología general.....	27
Figura 6. Potenciación a Largo Plazo (LTP).....	29
Figura 7. Peso corporal y tejido adiposo.....	32
Figura 8. Cambio en porcentaje de la pendiente de los potenciales excitatorios postsinápticos (PEPS).....	33
Figura 9. Cambio en porcentaje de la pendiente de los potenciales excitatorios postsinápticos (PEPS) de los ratones DH-SN y DH-CN.....	35
Figura 10. Cambio en porcentaje de la pendiente de los potenciales excitatorios postsinápticos (PEPS) de los ratones DN-SN y DH-CN.....	36
Figura 11. Densidad óptica de la cuantificación de GluN1 y TH en homogenados de hipocampo dorsal.....	37
Figura 12. Sugerencia de un modelo: La novedad tiene un efecto protector contra el daño en la plasticidad sináptica causado por las dietas hipercalóricas mediante el incremento de catecolaminas en el hipocampo.....	45

Resumen

El consumo crónico de dietas hipercalóricas, es decir, aquellas dietas cuyo aporte energético es mayor al gasto energético, y la escasa actividad física ocasionan enfermedades asociadas al metabolismo energético. Este estilo de vida se ha relacionado también con el declive de ciertas capacidades cognitivas como el aprendizaje y la memoria. Investigaciones recientes realizadas en tanto en ratas como en ratones sugieren que las desregulaciones del metabolismo energético, como la obesidad y el sobrepeso, son factores de riesgo para el deterioro en la memoria y la deficiencia de la plasticidad neuronal. Actualmente se sabe muy poco sobre los mecanismos que subyacen a estas afecciones. Varios estudios experimentales indican que el consumo prolongado de dietas hipercalóricas afecta la memoria espacial y la plasticidad neuronal en el hipocampo y reduce la cantidad de catecolaminas en esta misma estructura. Sumado a esto, se ha demostrado que incrementar farmacológicamente la cantidad de catecolaminas en el hipocampo de roedores que se sometieron crónicamente a una dieta hipercalórica restaura la memoria y la plasticidad neuronal. Sin embargo, no se sabe si implementar un tratamiento conductual que incremente la cantidad de catecolaminas en el hipocampo sin las consecuencias negativas de la farmacología, como lo es la novedad, revierta los efectos adversos del consumo prolongado de estas dietas sobre la plasticidad sináptica. Para probar esta hipótesis, a un grupo de ratones macho se les administró una dieta alta en fructosa y lípidos a la par de que se les recambiaban frecuentemente objetos nuevos en su caja hogar. Después de 28 semanas de tratamiento se midieron parámetros metabólicos y en el hipocampo se evaluó tanto la plasticidad sináptica utilizando el modelo de Potenciación a Largo Plazo como la cantidad de catecolaminas y de receptores glutamatérgicos. Los principales resultados del trabajo muestran que la administración de una dieta alta en grasas y en azúcares por 24 semanas incrementó el peso y la adiposidad epididimal en ratón, evidenciando la desregulación del metabolismo energético. La plasticidad sináptica se vio afectada únicamente en ratones que sólo consumieron la dieta hipercalórica y permaneció inalterada en aquellos que además estuvieron expuestos a la novedad constante, lo cual indica que este tratamiento tiene un efecto protector. Además, la cantidad de la enzima tirosina hidroxilasa (TH), crucial en la transmisión catecolaminérgica, se vio incrementada en el hipocampo de animales con el tratamiento de novedad, pero no en los animales que a la par consumieron la dieta hipercalórica. Por otro lado, la cantidad de GluN1, subunidad constitutiva de los receptores *N*-metil-*D*-aspartato (NMDA) glutamatérgicos, no se vio afectada por ninguno de los tratamientos. Estos resultados muestran que la novedad previno el deterioro de la plasticidad sináptica asociada al aumento de peso y la acumulación excesiva de grasa e incrementa los niveles de tirosina hidroxilasa en el hipocampo. Este trabajo contribuye a un mejor entendimiento de los mecanismos subyacentes al deterioro cognitivo asociado al consumo crónico de dietas hipercalóricas.

Introducción

Aprendizaje y memoria

El aprendizaje es la capacidad que tiene un organismo para adquirir información acerca del mundo que lo rodea (Wheeler *et al.*, 2000; Brem *et al.*, 2014) y la memoria es el proceso por el cual dicha información se codifica, almacena y evoca (Squire, 2004). La memoria consta de tres etapas principales: la adquisición (cuando la información es obtenida del mundo exterior), la consolidación (cuando la información es almacenada) y la evocación (cuando la información es recordada) (Bear *et al.*, 2016; Schacter & Wagner, 2013).

La memoria suele clasificarse en memoria implícita y en memoria explícita (Byrne, 2013), y también en memoria a largo y a corto plazo según la duración del trazo (McGaugh, 2000; Schacter & Wagner, 2013). La memoria implícita, también llamada no declarativa, es aquella que puede ser evocada sin un esfuerzo consciente (Squire, 2004). Este tipo de memoria involucra hábitos y habilidades motoras o perceptuales y no requiere de procesos cognitivos como la comparación o evaluación ya que normalmente responde a un estímulo o señal y no hay un esfuerzo consciente de recordar. Esta memoria se encuentra estrechamente relacionada a las condiciones originales del estímulo bajo las cuales ocurrió el aprendizaje (Cohen & Squire, 1980). Un ejemplo de memoria implícita podrían ser actividades que involucran habilidades motoras como montar en bicicleta o tocar el violín. Por otro lado, la memoria explícita o declarativa involucra el conocimiento fáctico de hechos, lugares y cosas y su significado. En este tipo de memorias hay un esfuerzo consciente y deliberado por recordar (Cohen & Squire, 1980; Schacter & Wagner, 2013). Esta memoria es altamente flexible y, según Tulving y Schacter (1990), se puede clasificar a su vez en episódica (eventos y experiencias personales) y semántica (hechos) (figura 1). Un ejemplo de memoria explícita podría ser esforzarse para poder recordar la respuesta en un examen o para recordar el camino de regreso cuando exploramos un lugar nuevo. Así mismo, los diferentes tipos de memoria se relacionan con el funcionamiento de circuitos neuronales específicos y se relacionan con la actividad de ciertas regiones del cerebro (Wheeler *et al.*, 2000; Jonides *et al.*, 2008; Brem

et al., 2014; Schacter & Wagner, 2013) y algunas estructuras son más relevantes para la memoria explícita que para la memoria implícita y viceversa (Brem *et al.*, 2014; Schacter & Wagner, 2013).

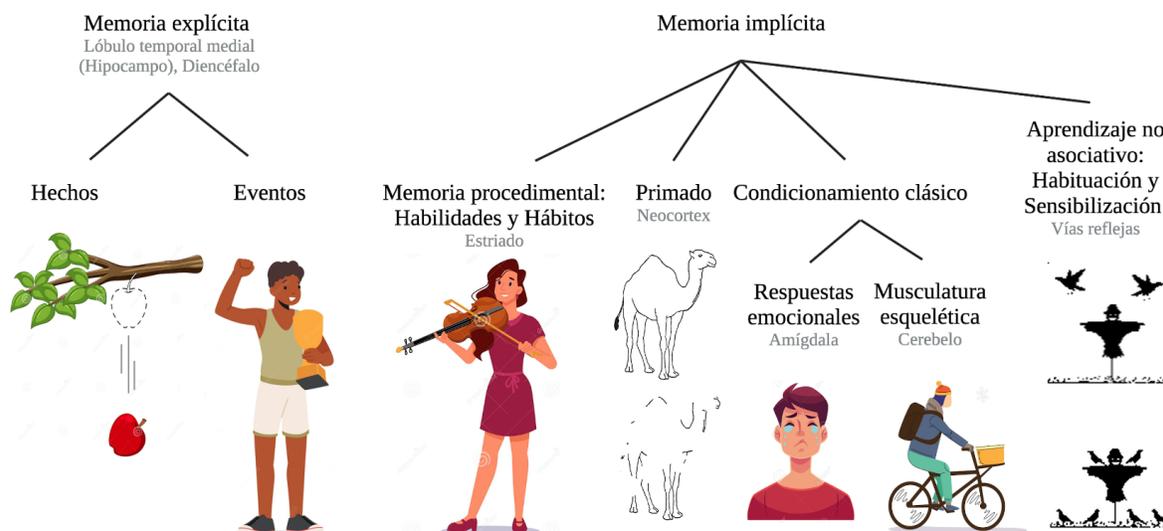


Figura 1. *Diferentes tipos de memoria.*

La memoria puede ser clasificada como memoria explícita o declarativa y como memoria implícita o no declarativa. Los diferentes tipos de memoria dependen principalmente de diferentes estructuras cerebrales (modificado de Byrne *et al.*, (2013).

Diferentes estudios sugieren que el conocimiento almacenado como memoria explícita se adquiere en un inicio a través del procesamiento en una o más de las tres cortezas de asociación polimodal (parietal-occipital-temporal) que sintetizan la información visual, auditiva y somática (Davis & Squire, 1984; Wheaton & Hallett, 2007). De allí, la información se transmite en serie a las cortezas parahipocampal y perirrinal, luego a la corteza entorrinal, después al giro dentado y al subículo en el hipocampo y finalmente regresa a la corteza entorrinal (Davis & Squire, 1984; Miller & Cohen, 2001; D’Esposito, 2007; Mitchell & Johnson, 2009). También se ha descrito que la información es multimodal se envía de vuelta de la corteza entorrinal a las cortezas perirrinal y parahipocampal y que finalmente regresa a las áreas de asociación polimodal y unimodal donde se almacenada a largo plazo (figura 2) (Davis & Squire, 1984; Wheaton & Hallett, 2007; Schacter & Wagner, 2013

Las regiones del lóbulo temporal medial juegan roles diferentes en el almacenamiento de la memoria explícita (Postle, 2006). El hipocampo ha sido identificado como una

estructura fundamental para la formación de la memoria espacial, la memoria contextual y la memoria de reconocimiento (Bird & Burgess, 2008; Jacoby & Dallas, 1981). Además, el hipocampo ha sido descrito como una estación temporal para la formación de la memoria a largo plazo ya que se cree que en él se median los pasos iniciales hacia el almacenamiento definitivo de la información (Davis & Squire, 1984; Squire, 2004; Schacter & Wagner, 2013), siendo las áreas de asociación polimodal y unimodal de la corteza las que almacenan a largo plazo los eventos episódicos y semánticos (Schacter & Wagner, 2013).

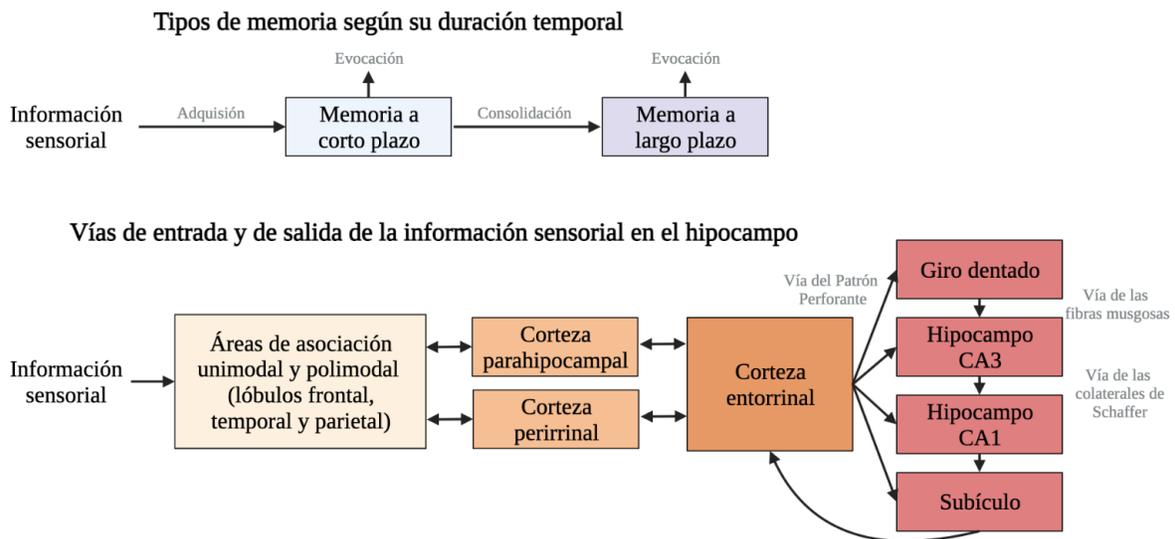


Figura 2. *Diferentes tipos de memoria según su duración temporal y vías de entrada y de salida de la información en la formación hipocampal.*

Modificado de Schacter & Wagner (2013).

Debido a sus características estructurales y funcionales, el hipocampo ha sido objeto de estudio pues su fisiología permite evaluar algunos de los mecanismos celulares y moleculares que subyacen al aprendizaje y a la memoria. Para ello se han empleado protocolos electrofisiológicos que evalúan la plasticidad sináptica.

Potenciación a Largo Plazo (LTP)

El proceso por el cual la información se almacena a nivel celular en cualquier tipo de memoria se puede interpretar como un cambio en la comunicación sináptica entre neuronas, es decir,

como un incremento o una disminución de la eficiencia sináptica (Purves *et al.*, 2004). Estos cambios plásticos ocurren en las diferentes regiones del cerebro asociadas a los diferentes tipos de memoria y uno de los modelos electrofisiológicos de plasticidad neuronal más utilizados para evaluar el incremento en la eficiencia sináptica es la potenciación a largo plazo (LTP, por sus siglas en inglés).

La LTP se define como el incremento en la eficiencia sináptica dependiente de la actividad sináptica previa (Escobar & Derrick, 2007). Desde que fue descrita por primera vez en el hipocampo de conejos (Lømo, 1966) hasta la fecha, la LTP se ha consolidado como un modelo de los eventos celulares y sinápticos subyacentes a la formación de la memoria debido a que presenta las mismas propiedades celulares que se han descrito para la memoria asociativa, tales como rápida inducción, especificidad sináptica, interacciones asociativas, persistencia y dependencia en la actividad sináptica correlacionada. La plasticidad neuronal que está detrás del incremento en la eficiencia sináptica radica en la capacidad de las neuronas de cambiar estructural y funcionalmente sus conexiones sinápticas en función de la actividad; y, debido a las propiedades plásticas de todas las neuronas, algunos autores sugieren que es posible inducir LTP en prácticamente todas las áreas del sistema nervioso (Kuba & Kumamoto, 1990). Sin embargo, de todas las estructuras en las que se ha descrito la LTP, el hipocampo es la más estudiada y mejor caracterizada de todas (Lømo, 1966; Bliss & Lømo, 1973; Benke *et al.*, 1998; Lauri *et al.*, 2006; Siegelbaum & Kandel, 2013; Escobar & Derrick, 2007). Sumado a esto, el hipocampo es crucial para la memoria episódica a largo plazo y para las memorias espaciales y contextuales (Bird & Burgess, 2008; Jacoby & Dallas, 1981).

El hipocampo es una estructura en la que predomina la neurotransmisión glutamatérgica y cuenta con tres vías importantes: 1) la vía del patrón perforante (que se proyecta desde la corteza entorrinal hasta las células granulares del giro dentado); 2) la vía de las fibras musgosas (que contiene los axones de las células granulares y se extiende hacia las células piramidales en la región CA3 del hipocampo); y 3) la vía de las colaterales de Schaffer (que consiste en las colaterales excitadoras de las células piramidales en la región CA3 que hacen sinapsis con las células piramidales de la región CA1) (figura 3) (Benke *et al.*, 1998; Lauri *et al.*, 2006). Un tren breve de estimulación de alta frecuencia en cualquiera

de las tres vías cambia las propiedades eléctricas de las neuronas que, medidas en una escala de microvoltios (mV) y milisegundos (ms), incrementan en amplitud y la pendiente de la señal eléctrica registrada. Sin embargo, los mecanismos que subyacen a la LTP son diferentes en las tres vías (Bear *et al.*, 2016; Bliss & Collingridge, 1993; Purves *et al.*, 2004; Siegelbaum & Kandel, 2013).

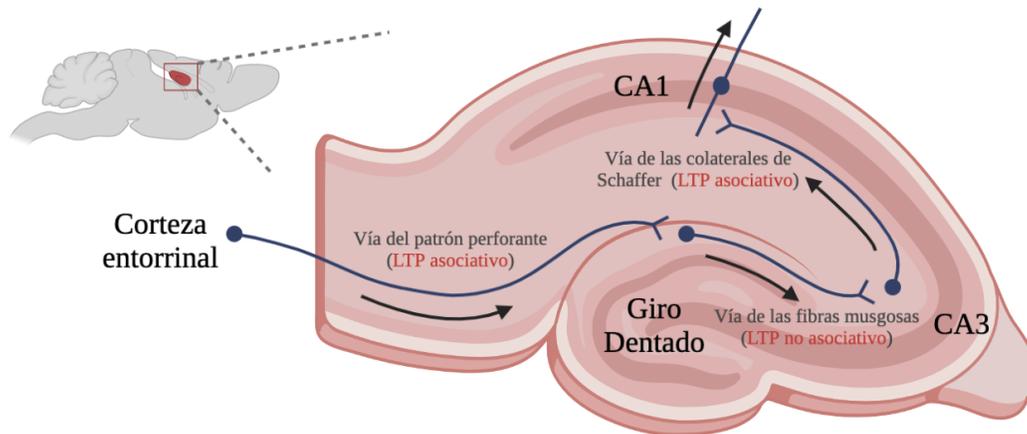


Figura 3. Las 3 principales vías en el hipocampo.

Las flechas indican el flujo de información y del impulso eléctrico (modificado de Siegelbaum & Kandel (2013)).

La LTP puede ser dividida en asociativa y no asociativa dependiendo de si los receptores glutamatérgicos están involucrados en mediar los cambios plásticos posteriores a la actividad (figura 4) (Bear *et al.*, 2016; Siegelbaum & Kandel, 2013). El glutamato cuenta con 2 tipos de receptores, los metabotrópicos (mGluRs) que al ser activados actúan a través de segundos mensajeros y los ionotrópicos (tipo *N*-metil-D-aspartato (NMDA), tipo α -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico (AMPA) y tipo kainato) que al ser activados permiten el influjo de Na^+ , como los AMPA, o de Ca^{2+} , como los NMDA.

En la LTP no asociativa, como es el caso de la vía de las fibras musgosas, los receptores glutamatérgicos postsinápticos NMDA tienen un rol menor en la plasticidad sináptica. Para que ocurra este tipo de LTP resulta más relevante el influjo de Ca^{2+} en la pre-sinapsis después de la estimulación de alta frecuencia (Herring & Nicoll, 2016). Por otro lado, la LTP asociativa requiere de la activación de los receptores NMDA y ocurre en la vía

del patrón perforante al giro dentado y en la vía de las colaterales de Schaffer (Purves *et al.*, 2004; Siegelbaum & Kandel, 2013). Este tipo de LTP se caracteriza por tres propiedades: cooperatividad, asociatividad y especificidad de la entrada (Herring & Nicoll, 2016). La cooperatividad es la activación conjunta de varios axones aferentes para que ocurra la LTP. El receptor NMDA permite la entrada de Ca^{2+} sólo cuando el glutamato y la glicina se unen al sitio activo del receptor y cuando el potencial de membrana de la neurona postsináptica se despolariza lo suficiente por el disparo cooperativo de varios axones aferentes, lo cual expulsa un ión de Mg^{2+} que bloquea el poro del canal (figura 4). La afluencia de Ca^{2+} inicia la mejora persistente de la transmisión sináptica mediante la activación de dos proteínas cinasas de serina-treonina dependientes de Ca^{2+} : 1) la proteína cinasa dependiente de Ca^{2+} /calmodulina (CamKII) que fosforila a los receptores AMPA aumentando su sensibilidad al glutamato y que promueve la inserción de nuevos receptores AMPA en la membrana; y 2) la proteína cinasa C (PKC), así como consecuentemente la proteína cinasa A (PKA) y la proteína cinasa de tirosinas Fyn que contribuyen a la liberación de mensajeros retrógrados que actúan sobre las proteínas cinasas en la terminal pre-sináptica mejorando la liberación del neurotransmisor y contribuyendo a la LTP (Bear *et al.*, 2016; Purves *et al.*, 2004; Siegelbaum & Kandel, 2013; Herring & Nicoll, 2016). Por otro lado, también se ha descrito que además del glutamato otros neurotransmisores como la serotonina (Mlinar *et al.*, 2014), acetilcolina (Ovsepian *et al.*, 2004) y las catecolaminas (Kolomiets *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2013) modulan la LTP en el hipocampo mediante la activación de sus receptores. De estos moduladores de la LTP, en los últimos años se les ha dado más protagonismo a los neurotransmisores catecolaminérgicos dopamina y norepinefrina, sintetizados ambos a partir de la enzima tirosina hidroxilasa (TH), cuya activación de receptores tipo D1 y tipo $\beta 1$, respectivamente, converge en la activación de PKA, ayudando a la inducción y mantenimiento de la LTP (Kolomiets *et al.*, 2009; Vidal *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2013).

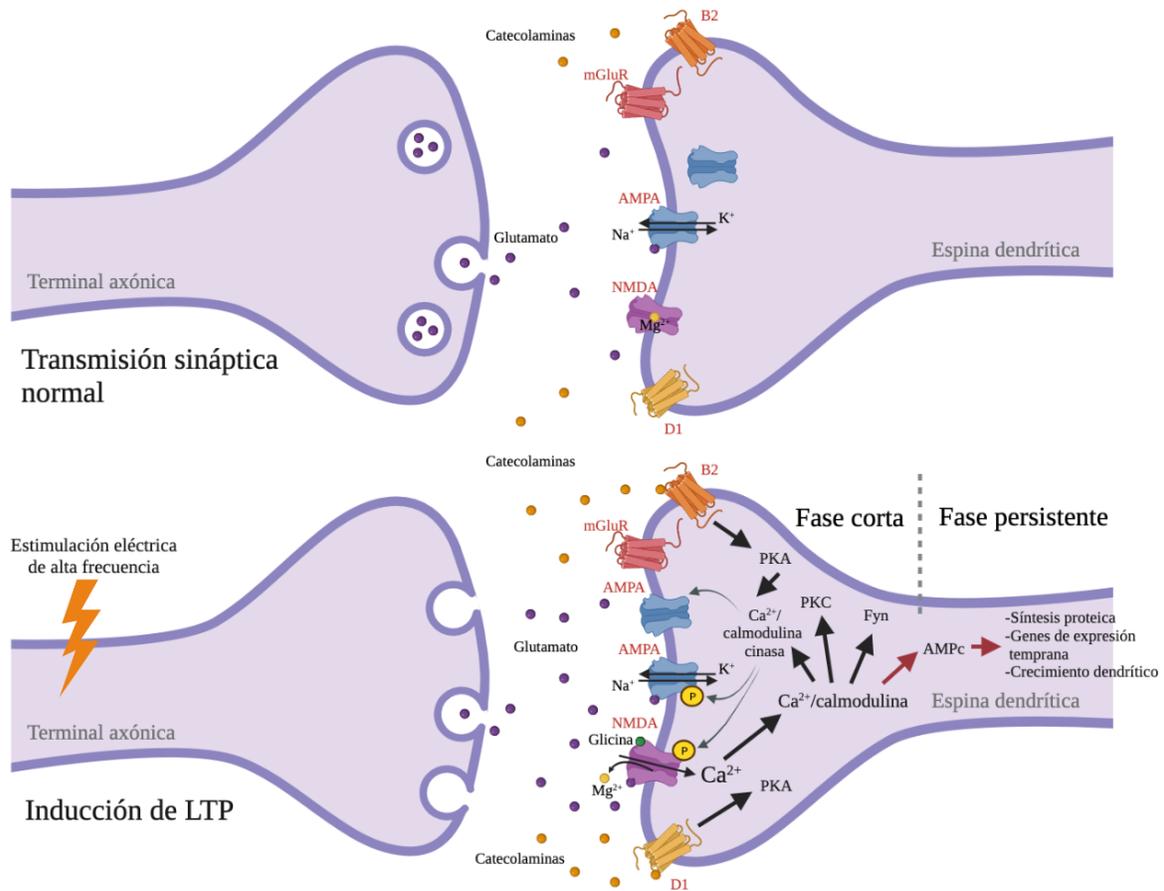


Figura 4. Modelo de inducción de la LTP.

Durante la transmisión sináptica normal, el glutamato se libera de las terminales pre-sinápticas y actúan en ambos receptores, NMDA y AMPA. El flujo de K⁺ y Na⁺ ocurre sólo a través de los receptores AMPA ya que los receptores NMDA se encuentran bloqueados por Mg²⁺ cuando la membrana está en reposo. Cuando la membrana postsináptica se despolariza por la acción de los receptores AMPA activados por el glutamato, como ocurre durante un tren de alta frecuencia, la despolarización expulsa el Mg²⁺ del receptor NMDA y, sumado al glutamato y la glicina que activan al receptor, el receptor se abre y permite la entrada de Ca²⁺ a través de este canal. El aumento de Ca²⁺ en la espina dendrítica activa las proteínas cinasas dependientes de Ca²⁺ (proteína cinasa dependiente de Ca²⁺ y PKC) y la proteína cinasa Fyn, las cuales inducen la LTP. Los cambios que se observan en la fase persistente de la LTP son orquestados por la activación de AMPc a través de la Ca²⁺/calmodulina. Además del glutamato, otros neurotransmisores, como las catecolaminas, modulan la activación y el mantenimiento de la LTP a través de sus receptores (modificado de Siegelbaum & Kandel, (2013).

La asociatividad indica la acción concomitante de las células pre-sinápticas y postsinápticas para la despolarización adecuada de la célula postsináptica. La especificidad de la entrada enfatiza el hecho de que la LTP asociativa requiere un disparo simultáneo tanto en la neurona presináptica como en la postsináptica, lo cual cumple el principio de Donald Hebb (1949) “cuando un axón de una célula A... excita a una célula B y repetida o persistentemente participa en su activación, algún proceso de crecimiento o cambio metabólico toma lugar en una o en ambas células, de modo que la eficiencia de A como una célula que activa a B, aumenta”. De esta forma, la cooperatividad de varios axones presinápticos, los disparos simultáneos en neuronas presinápticas y postsinápticas y la facilitación presináptica dependiente de la actividad previa constituyen las principales características de la LTP asociativa (Siegelbaum & Kandel, 2013; Byrne, 2013).

Por otro lado, en la LTP existen diferentes fases que corresponden a los cambios celulares que ocurren durante y después de la estimulación de alta frecuencia. Un tren de estímulos produce una fase a corto plazo de LTP que dura de 1 a 3 horas que no requiere de la síntesis proteica (Frey *et al.*, 1993; Abel *et al.*, 1997; Baltaci *et al.*, 2019). Cuatro o más trenes de alta frecuencia (tetanización) inducen una fase más persistente de la LTP que dura por lo menos 24 horas y requiere de la síntesis proteica y de ácido ribonucleico mensajero (ARNm) de genes de expresión temprana (Kandel, 2001; Lisman *et al.*, 2012; Nicoll, 2017). Los mecanismos de la fase corta de la LTP son diferentes entre la LTP asociativa y la no asociativa, mientras que los mecanismos de la fase persistente en los dos tipos de LTP parecen ser similares (Siegelbaum & Kandel, 2013; Baltaci *et al.*, 2019).

En la fase corta de la LTP se produce un cambio en el número de contactos sinápticos, en el número de zonas activas y el número máximo de vesículas liberadas con cada potencial de acción. La fase corta de la LTP representa un cambio funcional, un aumento en la probabilidad de liberación del transmisor sin cambios estructurales (Baltaci *et al.*, 2019). Durante la fase persistente de la LTP ocurre un incremento en el número de sitios de liberación presináptica, así como nuevos sitios en los que se sitúa un mayor número de

receptores postsinápticos, lo cual requiere de una síntesis proteica que implica crecimiento dendrítico y el incremento en el número de canales iónicos (Siegelbaum & Kandel, 2013).

Quizá debido a su alta actividad, a su conectividad con otras estructuras y a su alta demanda metabólica, el hipocampo resulta ser más susceptible en ciertas enfermedades neurológicas tales como Alzheimer (Dhikav & Anand, 2007; Li *et al.*, 2013; Moodley & Chan, 2014), epilepsia (Dhikav & Anand, 2007; Bast, 2011), depresión (Campbell & MacQueen, 2004; Roddy *et al.*, 2019), esquizofrenia (Heckers & Konradi, 2014; Lieberman *et al.*, 2018) y trastorno neurocognitivo leve (Oh *et al.*, 2011; Dik *et al.*, 2007; Roriz-Cruz *et al.*, 2007; Raffaitin *et al.*, 2011; Rouch *et al.*, 2014) entre otras. Son diferentes los mecanismos mediante los cuales el hipocampo puede verse afectado y las causas varían dependiendo del tipo de padecimiento neurológico, pudiendo ser estas genéticas, lesiones cerebrales, exposición a ciertas sustancias e incluso desregulaciones del metabolismo energético (Sachdev *et al.*, 2014). En este sentido, diferentes estudios sitúan a las desregulaciones del metabolismo energético como factores de riesgo que incrementan hasta un 30% la probabilidad de desarrollar alguna afección en la que se vea comprometido el aprendizaje y la memoria declarativa (Oh *et al.*, 2011; Dik *et al.*, 2007; Shigaeff *et al.*, 2013).

Deterioro en la memoria asociado al consumo crónico de dietas hipercalóricas

Las dietas hipercalóricas, también llamada *western-diets* o *cafeteria diet*, son aquellas dietas cuyo aporte energético es mayor al gasto energético de un individuo en su vida diaria (Creus-Costas & Herrera-Rodríguez, 2008). Este tipo de dietas se caracterizan principalmente por un alto contenido de macronutrientes de alto valor energético como ácidos grasos saturados e insaturados, carbohidratos y proteínas de origen animal (Greenwood & Winocur, 2001; Jurdak & Kanarek, 2009; Murray *et al.*, 2009; Kanoski & Davidson, 2011; Marron *et al.*, 2013; 2017; Lalanza & Snoeren, 2021; Lalanza & Snoeren, 2021), y el poco aporte de otros componentes de alto valor nutricional como vitaminas, minerales, proteínas de origen vegetal y aminoácidos esenciales (Statovci *et al.*, 2017; Lalanza & Snoeren, 2021). Sumado a un estilo de vida sedentario y consumidas frecuentemente y a largo plazo, las dietas hipercalóricas pueden contribuir al desarrollo de enfermedades relacionadas con el

metabolismo energético (Cordain *et al.*, 2005; Rakhra *et al.*, 2020) y padecimientos cognitivos (Dik *et al.*, 2007; Ghosh *et al.*, 2015; Roriz-Cruz *et al.*, 2007; Raffaitin *et al.*, 2011; Yaffe *et al.*, 2007; Viticchi *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2015).

Las principales desregulaciones asociadas a las dietas hipercalóricas y a la escasa actividad física son obesidad y sobrepeso (Cordain *et al.*, 2005; Hiriart *et al.*, 2014), hiperglucemia (Matsuzawa, 2005; Sweeting *et al.*, 2021), hipertensión (Reaven, 1988; Kjeldsen *et al.*, 2014), desregulaciones de lípidos en sangre (Alberti *et al.*, 2009; Gallagher *et al.*, 2010), hiperinsulinemia (Sevak *et al.*, 1994; Mehran *et al.*, 2012), resistencia a la insulina (Hiriart *et al.*, 2014; Golabek & Regulaska-Ilow, 2019), enfermedades cardiovasculares (Eckel *et al.*, 2005; Gallagher *et al.*, 2010), diabetes mellitus tipo 2 (DMII) (Papamichou *et al.*, 2019) y síndrome metabólico (SM) (Keane *et al.*, 2013; Hiriart *et al.*, 2014). Sin embargo, en décadas recientes se ha relacionado a las desregulaciones del metabolismo energético con el deterioro de la memoria, principalmente la memoria declarativa (Dik *et al.*, 2007; Yaffe *et al.*, 2007; Viscogliosi *et al.*, 2012; Assuncao *et al.*, 2018). Ya sea que estas afecciones estén agrupadas en un cuadro clínico, como es el caso del SM, o se presenten de forma relativamente aislada, los diferentes estudios realizados en seres humanos que han evaluado la relación que existe entre el declive de la memoria y las desregulaciones del metabolismo energético utilizan una o múltiples pruebas cognitivas (*e. g.* Examen del Estado Mini-Mental o MMSE, Evaluación Cognitiva de Montreal, Prueba de Fluidez Verbal, Test del Trazo A y B) (Assuncao *et al.*, 2018).

La presencia de SM en humanos se asocia a un rendimiento bajo en pruebas cognitivas (MMSE y 3MS, que es una versión modificada del MMSE) comparado con individuos que no padecen SM (Dik *et al.*, 2007; Ghosh *et al.*, 2015; Roriz-Cruz *et al.*, 2007; Raffaitin *et al.*, 2011; Yaffe *et al.*, 2007; Viticchi *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2015). El declive cognitivo se observa principalmente en la memoria de trabajo y episódica (Dik *et al.*, 2007; Shigaeff *et al.*, 2013; Hishikawa *et al.*, 2016; Roriz-Cruz *et al.*, 2007; Raffaitin *et al.*, 2011; Rouch *et al.*, 2014). De forma interesante, Rouch y colaboradores (2014) señalan la existencia de una correlación entre el SM y la memoria episódica incluso después de controlar variables como el sexo, el nivel educativo, la ansiedad, los síntomas depresivos y

el consumo de tabaco. Otros estudios concluyen que existe una correlación entre el número de desregulaciones metabólicas que un individuo puede padecer y la disminución en el desempeño cognitivo, específicamente en pruebas como el MMSE (Viscogliosi *et al.*, 2012; Roriz-Cruz *et al.*, 2007; Liu *et al.*, 2015), la prueba de Memoria del Listado de Palabras (Komulainen *et al.*, 2007) y la prueba de Sustitución de Símbolos y Dígitos (Tsai *et al.*, 2016), las cuales que involucran al aprendizaje y la memoria declarativa.

Por otro lado, de forma relativamente más aislada, la obesidad y el sobrepeso se asocian de manera más consistente con el declive en la memoria comparadas con otros padecimientos en humanos (Dik *et al.*, 2007; Yaffe *et al.*, 2007; Viscogliosi *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 2015). Aunque un mal desempeño en la MMSE y la afectación de la memoria también se relacionan de manera significativa con la hiperglucemia, la hipertensión y dislipidemias, después de contemplar variables como la edad, sexo, educación, tabaquismo, consumo de alcohol, actividad física, índice de masa corporal, historial familiar de demencia y medicación bajo prescripción; sólo la obesidad y el sobrepeso se mantienen significativamente correlacionados con el declive en la memoria (Liu *et al.*, 2015).

Debido al carácter multifactorial del declive cognitivo asociado a las dietas hipercalóricas, muchos estudios experimentales han optado por desarrollar modelos de dietas hipercalóricas con diferentes componentes y se han descrito diferentes mecanismos mediante los cuales puede verse afectado el aprendizaje y la memoria en condiciones controladas.

Modelos animales de dietas hipercalóricas y memoria

Los modelos animales empleados para describir los efectos de las desregulaciones del metabolismo energético sobre el aprendizaje y la memoria son principalmente murinos y la composición de las dietas hipercalóricas incluye alimentos procesados (Lalanza & Snoeren, 2021) o preparados en laboratorio con un alto contenido en ácidos grasos, tanto monoinsaturados como insaturados, y en carbohidratos simples, ya sea mezclados o por separado (Jurdak & Kanarek, 2009; Kanoski & Davidson, 2011; Hernández-Ramírez *et al.*, 2021; Lalanza & Snoeren, 2021). Para evaluar el impacto de estas dietas sobre el

metabolismo energético la mayoría de los estudios miden parámetros metabólicos como los niveles de glucosa, insulina y lípidos en sangre, peso corporal, grasa epididimal, abdominal y peripancreática (Jurdak & Kanarek, 2009; Kanoski & Davidson, 2011; Hernández-Ramírez *et al.*, 2021). Por otro lado, la mayoría de las pruebas cognitivas utilizadas en roedores se han centrado en evaluar aspectos de la memoria declarativa (Greenwood & Winocur, 2001; Jurdak & Kanarek, 2009; Murray *et al.*, 2009; Kanoski & Davidson, 2011; Marron *et al.*, 2013; Hernández-Ramírez *et al.*, 2021).

Se ha demostrado que las dietas hipercalóricas afectan principalmente a los roedores en pruebas como el laberinto acuático de Morris (MWM), el laberinto de T, el laberinto radial de 8 brazos, la prueba de reconocimiento de objetos en lugar (ORM) y la prueba de localización de objetos (OLM), que evalúan la memoria espacial (Jurdak & Kanarek, 2009; Murray *et al.*, 2009; Kanoski & Davidson, 2011; Hernández-Ramírez *et al.*, 2021). Un mal desempeño en estas pruebas es considerado como indicador de disfunción hipocampal (Bear *et al.*, 2016; Purves *et al.*, 2004; Siegelbaum & Kandel, 2013; Herring & Nicoll, 2016). Se ha observado que el impacto de las dietas hipercalóricas sobre la memoria espacial es más duradero cuando la dieta contiene azúcares y grasas (Calvo-Ochoa *et al.*, 2014) y cuando la administración es prolongada (Jurdak & Kanarek, 2009; Kanoski & Davidson, 2011) y comienza en etapas tempranas del desarrollo (Hernández-Ramírez *et al.*, 2021).

En este sentido, Jurdak y Kanarek (2009) suministraron una dieta con sacarosa al 32% a ratas macho Long-Evans por ocho semanas y evaluaron el desempeño cognitivo usando la prueba de ORM, una prueba que se basa en la exploración de un objeto novedoso después de familiarizarse con cierto contexto. Las ratas a las que se les suministró la solución de sacarosa en adición a una dieta normocalórica mostraron una afectación en el aprendizaje y la memoria durante la realización de la tarea, en comparación con las ratas que únicamente tenían una dieta normocalórica. Dentro de nuestro grupo de investigación, Ayala-Guerrero (2017) demostró que suministrar una dieta alta en fructosa (20%) y en grasa (47%) por 2 meses a ratones macho y hembra C57BL/6 afecta la memoria espacial evaluada con MWM. De forma interesante, en este trabajo la dieta mixta parece afectar la cantidad de receptores NMDA insertados en la membrana sináptica después de un reto cognitivo, sugiriendo que durante las

dietas hipercalóricas se ve afectada de alguna manera la movilización y/o inserción de los receptores glutamatérgicos en las zonas activas de la membrana.

Otros trabajos han optado por abordar más a profundidad el daño que las dietas hipercalóricas causan en el hipocampo. Hernández-Ramírez y colaboradores (2021) suministraron una dieta con sacarosa al 20% durante 6 meses a ratas macho Wistar y observaron un déficit en la memoria espacial evaluada con MWM y OLM y una afectación en la plasticidad neuronal durante la LTP. Sumado a esto, durante la fase de adquisición de la prueba de OLM midieron en el hipocampo de animales que consumieron la dieta la cantidad de neurotransmisores liberados y observaron una disminución únicamente en la cantidad de dopamina y noradrenalina, dos neurotransmisores catecolaminérgicos. Con la intención de incrementar los niveles catecolaminérgicos, estos autores microinyectaron nomifensina, un inhibidor de la recaptura de catecolaminas, en el hipocampo de animales que consumieron la dieta. Elevar la cantidad de catecolaminas en estos animales restaura la memoria y la plasticidad neuronal en la LTP a la par de los animales controles.

Las catecolaminas, además de estar relacionadas con la motivación y la recompensa, el sueño y la vigilia, la actividad motora y el estado de ánimo, actúan como un modulador de la plasticidad neuronal y del aprendizaje y la memoria en el hipocampo (Huang & Kandel, 1995; Jay, 2003; Melo *et al.*, 2019). Después de la estimulación de alta frecuencia en la LTP en el hipocampo, el incremento o decremento de la fuerza sináptica es regulado por la acción de moduladores endógenos como la dopamina y la noradrenalina, las cuales regulan la plasticidad neuronal dependiendo del número de proyecciones catecolaminérgicas que inervan a la vía y del tipo de receptores presentes en la sinapsis (Swanson, 1982). El hipocampo recibe terminales catecolaminérgicas del área tegmental ventral (VTA), el núcleo accumbens (NAC), la sustancia nigra (SN) y el Locus Coeruleus (LC) (Swanson, 1982, Kempadoo *et al.*, 2016). Se ha descrito que los receptores dopaminérgicos tipo D1 y los noradrenérgicos tipo $\beta 1$ están relacionados con la inducción de LTP y la memoria a largo plazo y una disminución en su liberación afecta tareas de memoria (Kempadoo *et al.*, 2016) y la plasticidad sináptica (Kolomiets *et al.*, 2009).

Los trabajos más recientes apuntan a que el daño en la memoria espacial causado por el consumo crónico de dietas hipercalóricas se debe a una desregulación en la transmisión catecolaminérgica en el hipocampo e incrementar la cantidad de estos neurotransmisores con fármacos restaura la memoria y la plasticidad neuronal (Hu *et al.*, 2010; Malik & Chattarji, 2012; Li *et al.*, 2013; Hernández-Ramírez *et al.*, 2021).

La novedad como tratamiento que mejora la memoria

El enriquecimiento ambiental (EE, por sus siglas en inglés) se refiere al incremento en la cantidad y/o variedad de estimulación multisensorial, que tiene como objetivo incrementar la conducta de exploración (Baroncelli *et al.*, 2010). El EE ha sido utilizado como un tratamiento que mejora la función cognitiva en desordenes psiquiátricos y neurológicos como la enfermedad de Parkinson (Faherty *et al.*, 2005; Jungling *et al.*, 2021), epilepsia (Akyuz & Eroglu, 2020), esclerosis múltiple (Silva & Ferrari, 2020), depresión (Grippio *et al.*, 2015), autismo (Aronoff *et al.*, 2016), esquizofrenia (Bator *et al.*, 2017) y Alzheimer (Jankowsky *et al.*, 2005; Liew *et al.*, 2022). Además, experimentalmente se ha demostrado que mejora la memoria y la LTP tanto en roedores sanos como en modelos de Alzheimer en tareas como MWM, OLM y laberinto radial (Frick *et al.*, 2003; Hullinger *et al.*, 2015). Sin embargo, el término EE es bastante amplio y varía en cuanto al número de componentes, la frecuencia con la que los individuos son expuestos y la duración del tratamiento. Debido a ello, diferentes autores han sugerido dividir al EE en 3 componentes: el de novedad (recambio de objetos cada cierto tiempo), el social (interacción con nuevos compañeros) y el de ejercicio (ruedas de ejercicio) (Li *et al.*, 2013; Hullinger *et al.*, 2015). En este sentido, el EE es la suma de por lo menos dos componentes.

Hullinger y colaboradores (2015) utilizaron un protocolo de EE dividido en 2 componentes, novedad y enriquecimiento social (ES), durante 2 periodos de tiempo, 1 y 4 meses, y realizaron pruebas de memoria espacial y electrofisiología en el hipocampo. La frecuencia del recambio de objetos nuevos era 1 vez cada semana y consistió en tubos de PVC, juguetes de diferentes tamaños y texturas y material para anidar. En la prueba de MWM, los animales que recibieron el tratamiento de novedad y ES durante un mes y los que

lo recibieron durante 4 meses adquirieron más rápido que los animales controles, pero sólo el grupo con tratamiento de 4 meses tiene un mejor desempeño de memoria. En la prueba de ORM y en el número de cruces en la plataforma de MWM, los animales con novedad se desempeñan mejor que los animales con ES y que los controles. De manera interesante, este mismo trabajo se indujo LTP en la vía de las colaterales de Schaffer y se observa un incremento significativamente mayor únicamente en animales tratados con novedad por 4 meses. Estos autores atribuyen una mayor LTP a la activación de la proteína MAP cinasa ERK a través de los receptores mGluRs por glutamato y mTOR por el factor neurotrófico BDNF. ERK activa cascadas de segundos mensajeros esenciales para la plasticidad neuronal y la formación de memoria a largo plazo en el hipocampo (Kolomiets *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2013). Sin embargo, este trabajo no aborda otras vías por las cuales la novedad puede incrementar la proteína ERK en el hipocampo.

Por otro lado, Li y colaboradores (2013) utilizaron un protocolo de EE con los componentes de novedad y rueda de ejercicio (RE), juntos y por separado, durante 4 semanas y evaluaron la plasticidad neuronal en el hipocampo. La frecuencia del recambio de objetos era diariamente y consistió en introducir juguetes nuevos de diferentes tamaños, colores y texturas en diferentes lugares de la caja hogar. En la LTP se observa un mayor incremento de la eficiencia sináptica en animales tratados con la novedad como único componente, incluso más que el EE que agrupa a los 2 componentes. Estos autores muestran que del EE el componente que parece tener más peso en cuanto a la mejora de la plasticidad neuronal es la novedad. En este trabajo se describe que en el caso del EE hay mayor fosforilación de los receptores AMPA y una mayor cantidad de la proteína de anclaje PSD-95, la cual es crucial para el mantenimiento de los receptores glutamatérgicos en la densidad postsináptica, la cual es una zona de anclaje en la que se mantienen los receptores próximos a ser insertados en la zona activa de la sinapsis (Delint-Ramírez *et al.*, 2008; Chowdhury *et al.*, 2018). De igual manera, en este trabajo se demuestra que sólo en el EE hay una mayor cantidad de receptores noradrenérgicos tipo β_2 , tanto en el citosol como en los sinaptosomas, lo cual indica una mayor actividad de la transmisión noradrenérgica.

De forma interesante, la cascada de segundos mensajeros de mTOR y del receptor $\beta 2$ a través de ERK y de los receptores tipo D1 convergen en la activación de PKA (Kolomiets *et al.*, 2009; Vidal *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2013). Además, se ha demostrado que el EE incrementa la cantidad de noradrenalina en hipocampo (Naka *et al.*, 2002), y que la novedad por sí sola incrementa la liberación de dopamina provenientes del VTA y SN (Morrens *et al.*, 2020) En este sentido, una de las formas por las cuales el EE, y más aún la novedad, mejora el aprendizaje y la memoria e incrementa la plasticidad neuronal durante la LTP podría ser mediante el incremento de la transmisión dopaminérgica.

Justificación

Se sabe que el consumo prolongado de una dieta hipercalórica afecta la memoria, disminuye la plasticidad neuronal y causa una disminución de catecolaminas en el hipocampo. Sin embargo, se desconoce si un tratamiento conductual que incremente la cantidad de catecolaminas en el hipocampo sin intervención farmacológica, como la exposición a la novedad, pueda tener un efecto protector contra el daño de las dietas hipercalóricas sobre la plasticidad neuronal.

Los componentes de la dieta que se utilizó (tabla 2), su duración y la edad de los animales al iniciar el consumo se basó en antecedentes de su efecto sobre el aprendizaje y la memoria en nuestro grupo de investigación y en reportes sobre daño en el hipocampo causado por su consumo (Calvo-Ochoa *et al.*, 2014). Por otro lado, la mayoría de los estudios coinciden en que una dieta mixta cuyos mayores componentes son grasas y azúcares genera un daño más pronunciado e incluso irreversible en funciones cognitivas (Greenwood & Winocur, 2001; Jurdak & Kanarek, 2009; Murray *et al.*, 2009; Kanoski & Davidson, 2011; Marron *et al.*, 2013; Lalanza & Snoeren, 2021), además de apearse más a la realidad del consumo de dietas hipercalóricas en seres humanos (Cordain *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2017; Lalanza & Snoeren, 2021).

Por otro lado, se escogió el protocolo de novedad con juguetes nuevos basándose en el efecto de la novedad aplicada con frecuencia sobre el aprendizaje y la memoria y la plasticidad neuronal (Li *et al.*, 2013; Hullinger *et al.*, 2015). El tiempo del tratamiento a la

novedad se pareó con el tiempo de la dieta con la intención de ver si la novedad tenía un efecto protector en la plasticidad sináptica.

Hipótesis

La exposición a la novedad incrementa la cantidad de catecolaminas y con ello restaura la plasticidad neuronal en ratones con deterioro cognitivo asociado al consumo prolongado de una dieta hipercalórica.

Objetivos

Objetivo general

Analizar el efecto de la exposición a la novedad sobre la plasticidad neuronal de ratones que consumieron una dieta hipercalórica de forma prolongada.

Objetivos particulares

- i. Evaluar la plasticidad sináptica en ratones de 21 días expuestos de forma crónica a una dieta hipercalórica a través del modelo de potenciación a largo plazo.
- ii. Determinar el efecto de la exposición a la novedad durante 24 semanas sobre la plasticidad sináptica en ratones que consumieron de forma crónica una dieta hipercalórica a través del modelo de potenciación a largo plazo.
- iii. Medir la cantidad de receptores glutamatérgicos NMDA y la enzima tirosina hidroxilasa, ambos cruciales para la potenciación a largo plazo en el hipocampo, de animales que consumieron de forma crónica una dieta hipercalórica con novedad.

Materiales y métodos

Modelo de dieta hipercalórica

Se utilizaron ratones macho de la cepa C57BL/6 de 21 días de edad (un día después del destete) en condiciones de 12 h de luz/oscuridad y $22 \pm 1^\circ\text{C}$ de temperatura. Los animales se agruparon aleatoriamente en los diferentes grupos experimentales (figura 5):

- i. **Dieta normocalórica sin novedad (DN-SN):** Exposición a una dieta estándar (5001 - Laboratory Rodent Diet) y agua *ad libitum* durante 24 semanas (6 meses). Confinamiento a una caja estándar (25×12×15 cm) sin enriquecimiento ambiental y con un solo compañero (2 animales por caja).
- ii. **Dieta normocalórica con novedad (DN-CN):** Exposición a una dieta estándar (5001 - Laboratory Rodent Diet) y agua *ad libitum* durante 24 semanas (6 meses). Confinamiento a una caja estándar (25×12×15 cm) con un solo compañero (2 animales por caja) y con exposición a 2 juguetes de diferente tamaño, textura y color. Los juguetes se cambiaban en días alternados (un día sí y otro no) por juguetes nuevos y se colocaban en lugares distintos dentro de la caja.
- iii. **Dieta hipercalórica sin novedad (DH-SN):** Exposición a una dieta alta en grasas y azúcares (por cada porción de 100 g: 71.81 g de 5001 - Laboratory Rodent Diet, 18.18 g de manteca Inca y 10 g de Karo BB Jarabe de Maíz) y agua *ad libitum* durante 24 semanas (6 meses). Confinamiento a una caja estándar (25×12×15 cm) sin enriquecimiento ambiental y con un solo compañero (2 animales por caja).
- iv. **Dieta hipercalórica con novedad (DH-CN):** Exposición a una dieta alta en grasas y azúcares (por cada porción de 100 g: 71.81 g de 5001 - Laboratory Rodent Diet, 18.18 g de manteca Inca y 10 g de Karo BB Jarabe de Maíz) y agua *ad libitum* durante 24 semanas (6 meses). Confinamiento a una caja estándar (25×12×15 cm) con un solo compañero (2 animales por caja) y con exposición a 2 juguetes de diferente tamaño, textura y color. Los juguetes se cambiaban en días alternados (un día sí y otro no) por juguetes nuevos y se colocaban en lugares distintos dentro de la caja.

Dieta normocalórica		
5001 - Laboratory Rodent Diet		
Nutrientes	Cantidad (%)	Aporte calórico (kcal/g)
Proteínas	24.1	1.17
Grasa cruda (extracto etéreo)	5.0	0.54
Grasa (hidrólisis alcalina):	6.4	
Colesterol	201 ppm	
Ácido linoleico	1.17	
Ácido linolénico	0.12	
Ácido araquidónico	0.02	
Ácidos grasos Omega-3	0.34	
Ácidos grasos saturados	1.41	
Ácidos grasos monoinsaturados	1.50	
Carbohidratos (por diferencia):	48.7	2.36
Almidón	21.9	
Sacarosa	3.15	

Tabla 1: Información nutricional de la dieta normocalórica (5001 – Laboratory Rodent Diet).

Ppm = Partes por millón. Obtenido de LabDiet (2023).

Dieta hipercalórica		
5001 - Laboratory Rodent Diet (71.81%)		
Nutrientes	Cantidad (%)	Aporte calórico (kcal/g)
Proteínas	24.1	1.17
Grasas	5.0	0.54
Carbohidratos	6.4	2.36
Manteca Inca (18.18%)		
Nutrientes	Cantidad (%)	Aporte calórico (kcal/g)
Proteínas	0	0
Grasas	98.8	8.94
Ácidos grasos saturados	54	
Ácidos grasos trans	7.5	
Carbohidratos	0	0
Karo BB Jarabe de Maíz (10%)		
Nutrientes	Cantidad (%)	Aporte calórico (kcal/g)
Proteínas	0	0
Grasas	0	0
Carbohidratos	84.8	3.42
Aporte calórico total por cada 1 g (71.81% de Laboratory Rodent Diet, 18.18% de manteca Inca y 10% de Karo BB Jarabe de Maíz):		
Proteínas: 0.84 kcal		
Grasas: 2.0 kcal		
Carbohidratos: 2.03 kcal		
TOTALES: 4.87 kcal/g, de las cuales cada componente aporta:		
Proteínas: 17.24%		
Grasas: 41.06%		
Carbohidratos: 41.68%		

Tabla 2: Información nutricional de la dieta hipercalórica (5001 – Laboratory Rodent Diet molido y mezclado con manteca Inca y Karo BB Jarabe de Maíz).

Obtenido de LabDiet (2023), Inca (2023) y Karo (2023).

Medición de variables metabólicas

Al finalizar el periodo de exposición a la dieta se midieron como parámetros metabólicos 1) el peso corporal pesando a los animales en una balanza analítica antes de la electrofisiología y 2) el peso del tejido epididimal después de la electrofisiología.

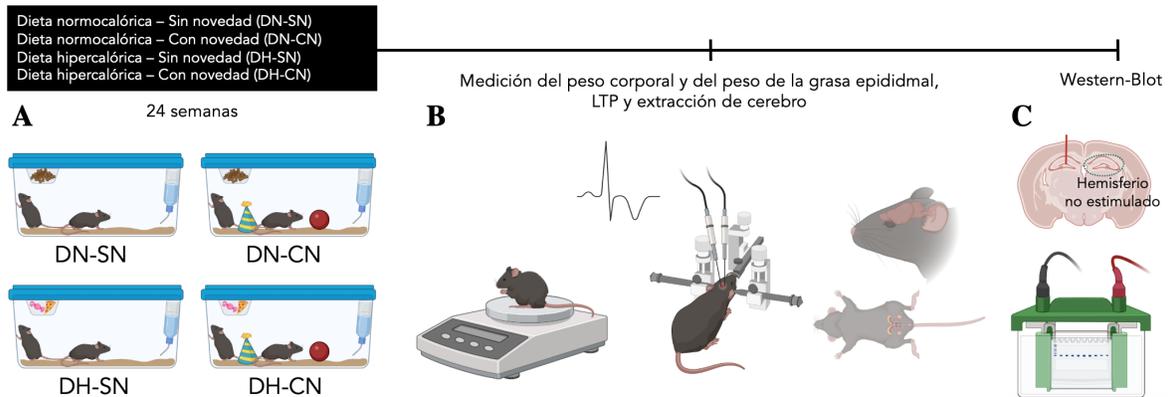


Figura 5. Metodología general.

A: Tratamientos de dieta y novedad. **B:** Los animales se pesaron antes de la electrofisiología. El cerebro y la grasa epididimal se extrajeron después de la LTP. El cerebro fue almacenado a -80°C . **C:** Extracción de hipocampo dorsal y Western-Blot. Los cerebros se utilizaron aproximadamente una semana después de la inducción de la LTP.

Medición de LTP en la vía del Patrón Perforante al Giro Dentado

A partir de la semana 24 de dieta, se evaluó la plasticidad sináptica de los diferentes grupos mediante potenciación a largo plazo (LTP) *in vivo* en la vía patrón perforante a giro dentado en el hipocampo (figura 6, B).

Los animales fueron anestesiados con una inyección intraperitoneal de pentobarbital sódico diluido con solución salina en proporción 1:10. La dosis de anestésico utilizado fue de 50 mg/kg reduciéndola en un 20-15 % para evitar el riesgo de muerte. Durante el transcurso de la experimentación se suministraron pequeñas dosis de anestesia (~5-10%) en lapsos de 20 minutos para mantener al animal sedado.

Con el fin de inducir la LTP unilateralmente se realizó una cirugía estereotáxica a los animales siguiendo las coordenadas de Huang y colaboradores (2012) (figura 6, A):

- i. Giro dentado (GD):
 - a. Anteroposterior (AP): La mitad de la distancia entre bregma (B) y la base de lambda (bL).
 - b. Medial lateral (ML): Sutura sagital +/- La mitad de la distancia entre B y bL entre dos.
 - c. Dorso ventral (DV): -1.5 mm.
- ii. Patrón perforante (PP):
 - a. Anteroposterior (AP): El ápice de lambda (aL).
 - b. Medial lateral (ML): La intersección entre la línea que se forma entre los puntos GD-B y la línea horizontal que abarca a aL.
 - c. Dorso ventral (DV): -1.5 mm.

Ya marcadas las coordenadas en el cráneo del animal, se realizó una trepanación con un taladro en los puntos GD, PP y en un punto cercano a GD en el hemisferio contrario (referencia, R). Para el registro (GD), la referencia (R) y la tierra (T) se utilizaron electrodos monopolares de acero recubierto con teflón de $203\ \mu\text{m}$ de diámetro. Para la estimulación (PP) se utilizó un electrodo bipolar trenzado de acero recubierto con teflón de $203\ \mu\text{m}$ de diámetro. Los pulsos de estimulación se dieron con un estimulador *A-M Systems Isolated Pulse Stimulator Model 2100* y las respuestas eléctricas evocadas fueron registradas por un amplificador. Durante todo el experimento la señal se digitalizó para su almacenamiento y análisis en una computadora provista con el software *Datawave SciWorks* (Longmont, CO).

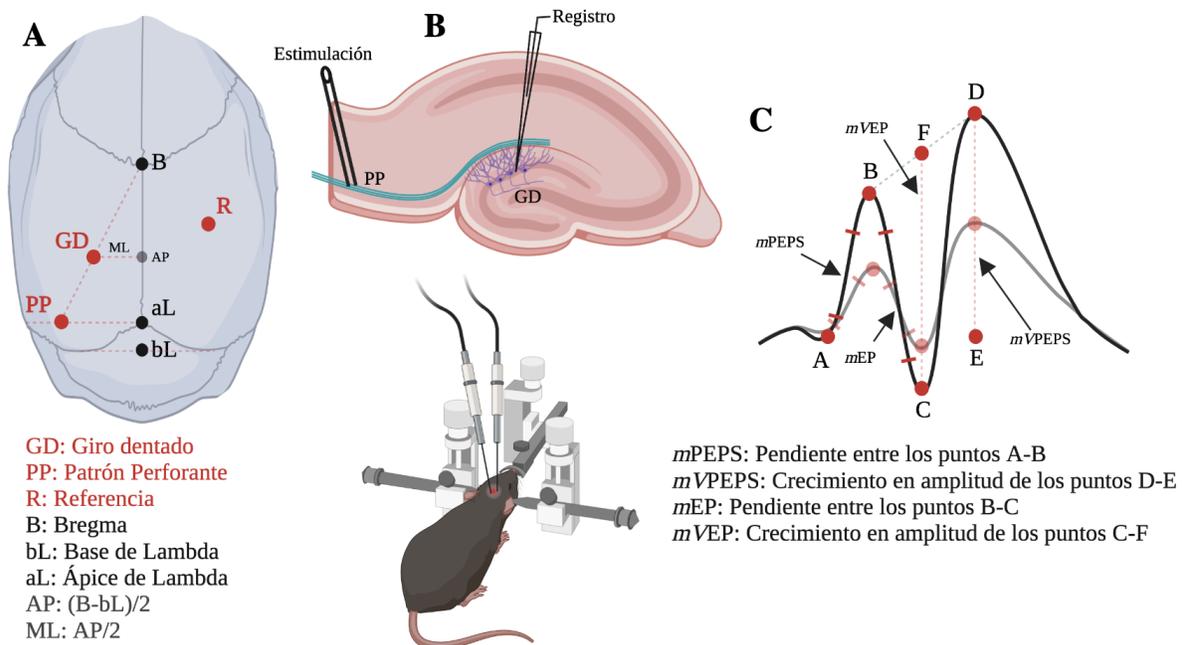


Figura 6. Potenciación a Largo Plazo (LTP).

A: Coordenadas utilizadas durante la cirugía estereotáxica tomadas de Huang y colaboradores (2012).
 B: Esquema de la vía estimulada. C: Señal característica de la vía PP-GD en la capa granular. La eficiencia sináptica de la vía se calcula comparando el cambio de cada componente de la señal (*mPEPS*, *mVPEPS*, *mEP*, *mVEP*) emitida por cada pulso de la línea basal (trazo gris) con la línea final (trazo negro), en donde el promedio de la totalidad de pulsos de la línea basal equivale al 100%. El cambio en la eficiencia sináptica se interpreta como el aumento o la disminución del porcentaje de cada componente de cada pulso a lo largo del registro después de la estimulación tetánica.

Una vez realizada la cirugía, los electrodos se bajaron cuidadosamente hasta encontrar la señal eléctrica característica de la vía estimulada (figura 6, C) y se registró una línea basal de 10 minutos con pulsos de baja frecuencia (pulsos de 0.25 milisegundos a una frecuencia de 0.25 Hz). El electrodo de referencia se introdujo para que tuviera contacto con el cerebro y el de tierra sólo se ancló al cráneo. Pasados los 10 minutos de la línea basal, los ratones fueron estimulados con 5 trenes de 10 Bursts (cada Burst constó de 20 pulsos a 400 Hz con un periodo inter-burst de 200 ms). Después de la estimulación se registro la respuesta de la vía durante una hora.

Después de la electrofisiología los animales fueron eutanasiados con una sobredosis de anestesia y se extrajo el cerebro para su almacenamiento a -80°C hasta su uso. Para evaluar parámetros metabólicos se recolectó y pesó la grasa epididimal (figura 5).

Western-Blot de GluN1 en proteína total en el hipocampo dorsal

Para medir la cantidad de receptores glutamatérgicos NMDA (a través de la subunidad constitutiva GluN1) y de la enzima tirosina hidroxilasa (TH) se descongelaron los cerebros de los animales a los que se les realizó la electrofisiología y, con ayuda de un par de cuñas, se extrajo el hipocampo dorsal del hemisferio no estimulado y se homogenizó en buffer de lisis (150 mM de NaCl, 25 mM de Tris-HCl, 10 mM de NaF, 20 mM de β -glicerofosfato, 1 mM de Na_3VO_4 , una tableta de inhibidores de proteasas Roche® y 0.5% de Tritón X-100) realizando movimientos suaves con el pistilo sobre un mortero de vidrio. Después se centrifugó el homogenado resultante a 1000 rpm durante 10 minutos a 4°C , se desechó el pellet (que contenía los núcleos y otros restos celulares) y se conservó el sobrenadante (que contenía las proteínas celulares totales, PT).

Para conocer la cantidad exacta de proteínas contenidas en $1\ \mu\text{L}$ de PT se utilizó el ensayo colorimétrico de Bradford (Bradford, 1976). Después de la cuantificación de proteínas se tomó el volumen necesario de cada muestra para tener una concentración de $30\ \mu\text{g}$ y se mezcló 1:1 con Buffer de Laemmli 2 M (Glicerol 20%, SDS 2%, Tris-HCl 100 mM a pH 6.8, Azul de bromofenol 0.05%, DTT 100 mM y β -mercaptoetanol 5%) para tener un volumen final de $50\ \mu\text{L}$. Una vez preparadas las muestras, se hirvieron por 5 minutos, se cargaron en un gel de SDS-poliacrilamida (fracción del gel concentrador al 4% y fracción del gel separador al 10%) y se separaron por electroforesis con buffer de corrida 1 M (Tris-HCl 2.5 mM, Glicina 19.2 mM y SDS 0.01%) a 100 V por ~ 120 minutos. Después de la electroforesis, las proteínas se transfirieron a una membrana activa de PVDF (BioRad®) utilizando una cámara de transferencia semi-húmeda (BioRad®) a 25 V por 45 minutos en Buffer de transferencia (Buffer de corrida 1 M con metanol al 20% y SDS al 0.1%). Finalizada la transferencia, se bloqueó la membrana con solución de bloqueo (BSA 3% en TBS-T 0.1%) durante 1 hora a temperatura ambiente.

Para determinar la expresión relativa de GluN1 y TH se incubaron en cámara húmeda durante una noche a 4°C los anticuerpos primarios diluidos en solución de bloqueo: anti-NR1 (anti-NR1 es el nombre usado en la vieja nomenclatura para referirse al anticuerpo contra la subunidad constitutiva GluN1 del receptor NMDA) monoclonal hecho en ratón (1:1000; Millipore, #catálogo 05-432), anti-Tyrosine Hidroxilase (1:1000; Millipore, #catálogo 05-432) y anti- β tubulina III monoclonal hecho en conejo (1:1,000; Sigma, #catálogo 090M4775). Posteriormente, las membranas se lavaron 3 veces durante 5 minutos y se incubaron durante una noche a 4°C en agitación los anticuerpos secundarios acoplados a HRP y disueltos en solución de bloqueo: anticuerpo anti-ratón IgG (1:2000; Cell Signaling, #catálogo 7076S) y anticuerpo anti-conejo IgG hecho en cabra (1:10000; Invitrogen, #catálogo 656120). Por último, se realizaron 3 lavados de 5 minutos con TBS-T 0.1%.

Se reveló en fotodocumentador (Li-Cor, C-DiGit®) utilizando un kit para quimioluminiscencia (Immobilon Western, Millipore). Se colocó la membrana en un recipiente y se le vertió peróxido de hidrógeno y luminol en proporción 1:1 y se agitó durante ~30 segundos. La señal inmunoreactiva se registró con el programa *Image Studio 44 Digits Version 5.2* y se cuantificó densiométricamente con el software *ImageJ 1.31V* (Wayne Rasband, NIH).

Análisis estadístico

Todos los datos se tabularon y analizaron con el programa SPSS® y los gráficos se hicieron utilizando el programa GraphPad Prism 5.1®. Para determinar el tipo de estadística a utilizar, todos los datos fueron analizados utilizando la prueba de normalidad Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk y la prueba de Levene para homogeneidad de varianzas. Los resultados se reportaron como la media \pm el error estándar de la media (EEM) y se consideró estadísticamente significativa una $p \leq 0.05$.

- i. **Parámetros metabólicos:** Se utilizó un ANOVA de dos vías (factor 1: dieta; factor 2: novedad) y una prueba *post hoc* de Tukey para saber qué grupos diferían estadísticamente.
- ii. **LTP:** Se utilizó un ANOVA de dos vías (factor 1: tiempo, es decir, la línea basal VS los últimos 10 minutos del registro o la línea final; factor 2: tratamiento, es decir, los 4 grupos experimentales) y una prueba *post hoc* de Tukey para saber qué grupos diferían estadísticamente.
- iii. **Western-Blot:** Se utilizó un ANOVA de dos vías (factor 1: dieta; factor 2: novedad) y una prueba *post hoc* de Tukey para saber qué grupos diferían estadísticamente.

Resultados

Parámetros metabólicos

Posterior al consumo crónico de una dieta hipercalórica durante 6 meses, los ratones fueron pesados y después se extrajo y se pesó la grasa epididimal (figura 7).

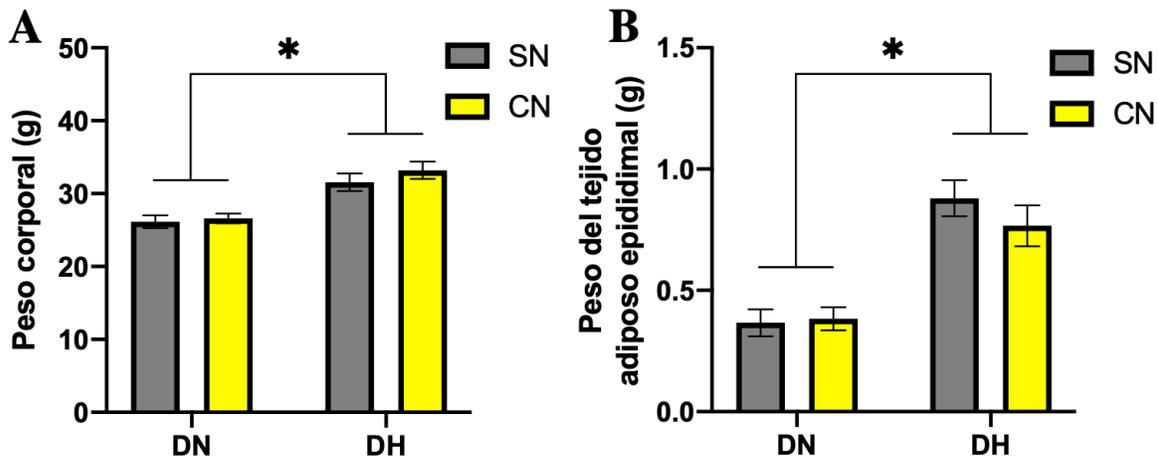


Figura 7. *Peso corporal y tejido adiposo epididimal.*

A: Los ratones que consumieron la dieta hipercalórica muestran un mayor peso corporal (DH-SN = 10, DH-CN = 6) que los ratones que consumieron una dieta estándar (DN-SN = 6, DN-CN = 6) independientemente del tratamiento con novedad (Dieta, $F_{1,24} = 2726$, $p < 0.0001$). **B:** Los ratones que

consumieron la dieta hipercalórica (DH-SN = 10, DH-CN = 6) muestran una mayor acumulación en la grasa epididimal que los ratones que consumieron una dieta estándar (DN-SN = 6, DN-CN = 6) independientemente del tratamiento con enriquecimiento ambiental (Dieta, $F_{1,24} = 36.92$, $p < 0.0001$). Las barras indican la media \pm E. S. Los asteriscos indican $p < 0.05$.

La prueba *post hoc* de Tukey indica que existen diferencias en el peso corporal y el peso del tejido adiposo epididimal entre los grupos DN y DH independientemente de si los animales recibieron o no el tratamiento de novedad constante, lo cual muestra que el recambio de juguetes cada tercer día no interfiere con las desregulaciones a largo plazo ocasionadas por la dieta.

Potenciación a largo plazo (LTP)

Posterior a los 6 meses de tratamiento, se evaluó la plasticidad neuronal de la vía de patrón perforante al hipocampo con LTP.

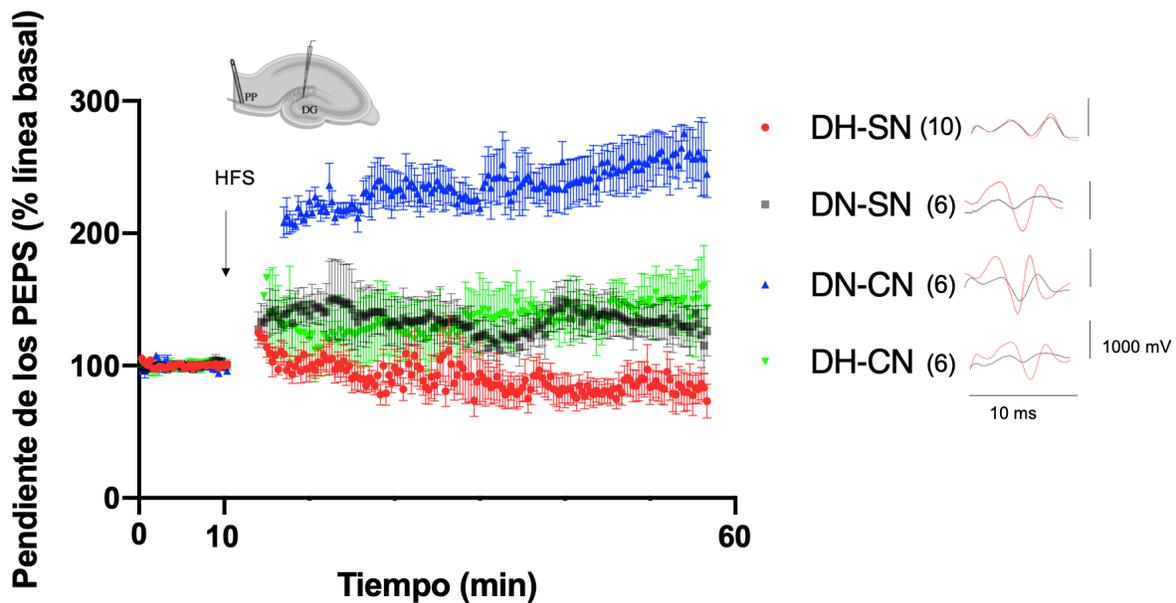


Figura 8. Cambio en porcentaje de la pendiente de los potenciales excitatorios postsinápticos (PEPS).

Los ratones que consumieron la dieta hipercalórica y que no recibieron el tratamiento de novedad (DH-SN, $n = 10$) parecen no inducir LTP comparados con los ratones que consumieron una dieta estándar y no recibieron el tratamiento de novedad (DN-SN, $n = 6$). El incremento en la eficiencia

sináptica de ratones que consumieron la dieta hipercalórica y tuvieron novedad (DH-CN, n = 6) se iguala a la de los ratones controles (DN-SN= 6) y fue significativamente mayor a los que consumieron la dieta hipercalórica y no fueron expuestos a la novedad (DH-SN, n = 10) ($F_{4,28} = 2151$, $p = 0.0001$). En los cursos temporales se muestran las medias \pm E. S.

Los ratones que recibieron la dieta normocalórica con novedad (DN-CN) presentan un incremento en la eficiencia sináptica mayor que los ratones que tuvieron la misma dieta, pero sin novedad (DN-SN). Esto con podría deberse a un incremento de catecolaminas en el hipocampo debido a la novedad, tal y como otros autores han debatido (Foster *et al.*, 1996; Duffy *et al.*, 2001; Artola *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2006; Hu *et al.*, 2010; Malik & Chattarji, 2012). Por otro lado, la plasticidad de los ratones que consumieron la dieta hipercalórica sin novedad (DH-SN) se ve atenuada y es estadísticamente menor que el grupo control (DN-SN). De igual manera, el grupo que consumió la dieta hipercalórica sin novedad (DH-SN) es el más afectado, en contraste con los ratones que además de la dieta hipercalórica tuvieron novedad (DH-CN), pues su eficiencia sináptica se iguala a la del grupo control (DN-SN).

El hecho de que en todos los grupos menos en los ratones con la dieta hipercalórica y sin novedad (DH-SN) se pudiera inducir LTP (con un incremento de los últimos 10 minutos mayor al 20% con respecto a la línea basal) indica que los animales tratados con la dieta hipercalórica muestran una afectación en la inducción y el mantenimiento de la LTP (figura 8). Pero, al parear la dieta hipercalórica con novedad (DH-CN) se restaura la LTP a niveles normales (figura 9 y 10).

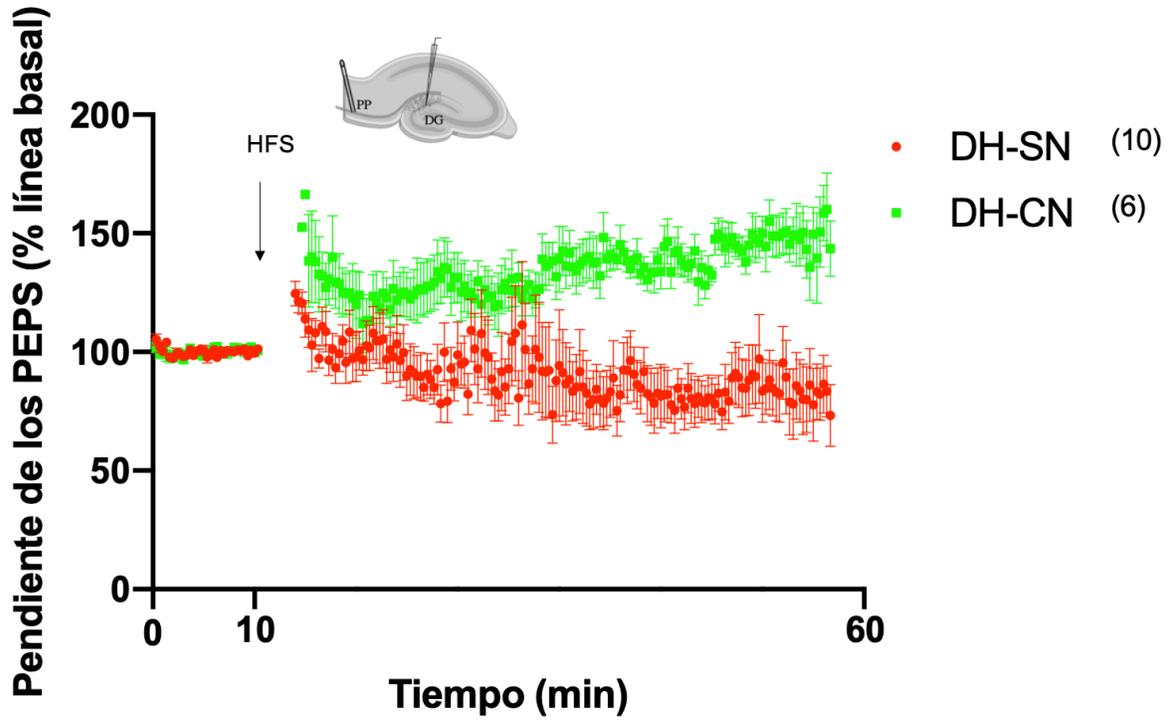


Figura 9. Cambio en porcentaje de la pendiente de los potenciales excitatorios postsinápticos (PEPS) de los ratones DH-SN y DH-CN.

$F_{3,118} = 1519$, $p < 0.0001$. En los cursos temporales se muestran las medias \pm E. S.

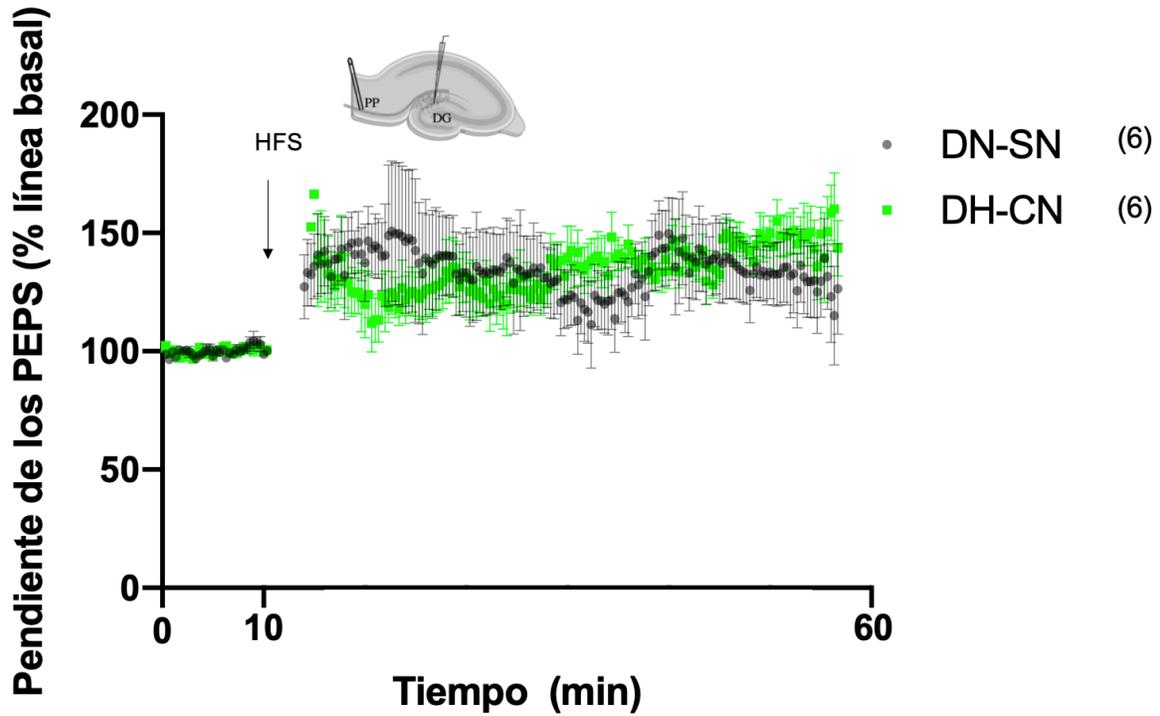


Figura 10. Cambio en porcentaje de la pendiente de los potenciales excitatorios postsinápticos (PEPS) de los ratones DN-SN y DH-CN.

$F_{3,118} = 1253$, $p = 0.9996$. En los cursos temporales se muestran las medias \pm E. S.

Niveles proteicos de TH y GluN1

Posterior al consumo crónico de una dieta hipercalórica y novedad durante 6 meses, se evaluó la cantidad de tirosina hidroxilasa (TH) y de la subunidad constitutiva GluN1 de los receptores tipo NMDA en homogenados de hipocampo dorsal (figura 11).

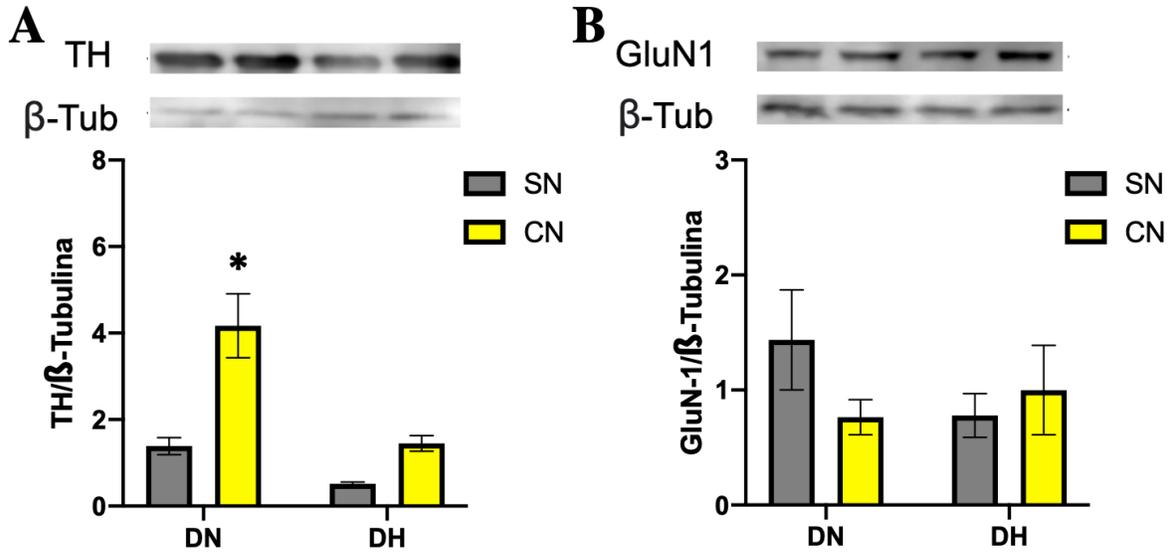


Figura 11. Densidad óptica de la cuantificación de *GluN1* y *TH* en homogenados de hipocampo dorsal.

A: Solo los ratones que consumieron la dieta normocalórica y que recibieron el tratamiento de novedad (DN-CN, n = 6) muestran un incremento significativo en TH comparados con el resto de los grupos (DN-SN, n = 6; DH-SN, n = 10; DH-CN, n = 6) (Dieta \times Novedad, $F_{1,24} = 7.32$, $p = 0.0124$). **B:** No hay diferencias significativas entre la cantidad de GluN-1 entre los diferentes grupos (DN-SN, n = 5; DN-CN, n = 5; DH-SN, n = 5; DN-CN, n = 7) ($F_{1,18} = 2.281$, $p = 0.1483$). Las barras indican la media \pm E. S. Los asteriscos indican $p < 0.05$.

En el caso de TH, una prueba *post hoc* de Tukey indica que sólo existen diferencias entre el grupo DN-CN y el resto de los tratamientos. Sin embargo, en los animales que consumieron la dieta hipercalórica sin novedad (DH-SN) hay una clara tendencia hacia la baja de TH en el hipocampo. Además, la cantidad de TH en el hipocampo de los animales con dieta hipercalórica y novedad (DN-CN) tiende a incrementar y parece parearse con el grupo control (DN-SN). Por otro lado, en el caso de los receptores NMDA no existen cambios significativos entre los grupos.

Discusión

La dieta hipercalórica causa desregulaciones del metabolismo energético

El incremento en peso corporal y tejido adiposo epididimal son indicadores de que la dieta hipercalórica consumida de forma crónica durante 6 meses ocasiona desregulaciones en el metabolismo (Kanoski & Davidson, 2011; Martinez *et al.*, 2017; Baker *et al.*, 2017). El sobrepeso y la obesidad se definen como la acumulación de anormal o excesiva de tejido adiposo visceral que resulta perjudicial para la salud y que incrementa significativamente el peso corporal (OMS, 2022). En los roedores como modelos de desregulaciones del metabolismo las zonas del cuerpo en el que se acumula la grasa visceral varían enormemente, pero en el caso de los ratones la acumulación se concentra en la zona gonadal (Pond, 1999; Berry *et al.*, 2013).

El desarrollo del tejido adiposo en la zona epididimal en ratones comienza a los pocos días del nacimiento y la acumulación de grasa en el interior de los adipocitos se observa a los 7 días de nacidos (Cleary *et al.*, 1977; Gruen *et al.*, 1980). La maduración de los adipocitos continúa pocas semanas después del nacimiento (Gruen *et al.*, 1980) y, una vez maduro el tejido, el incremento en peso del tejido adiposo se debe principalmente a la acumulación de grasa producto de la dieta (Lee *et al.*, 2019). Los ratones utilizados en este estudio comenzaron a consumir la dieta hipercalórica 21 días después de nacidos, periodo en el cual el tejido adiposo se encuentra en un estado ya maduro (Gruen *et al.*, 1980; Lee *et al.*, 2019).

En el caso de los seres humanos, la distribución de la grasa visceral en el cuerpo, independientemente del índice de masa corporal o del porcentaje de grasa corporal, está estrechamente relacionada con un mayor riesgo de padecer enfermedades y complicaciones asociadas a la obesidad y el sobrepeso (Grundy *et al.*, 2008). La obesidad central en humanos u obesidad androide, que se define como la acumulación de grasa en el área abdominal con una relación cintura-cadera alta, está relacionada con un mayor riesgo de padecer disfunciones metabólicas que la obesidad tipo ginoide, que es la acumulación de grasa en la región gluteofemoral subcutánea (Manolopoulos *et al.*, 2010; Koster *et al.*, 2010). La causa de que la distribución de la grasa visceral acumulada en humanos sea diferente es

principalmente genética, aunque los hábitos alimenticios y el estilo de vida influyen enormemente (Koster *et al.*, 2010). Muchos autores atribuyen este hecho a que en la obesidad y el sobrepeso el tejido adiposo en la zona abdominal secreta en mayor proporción adipocinas, quimiocinas, citocinas e interleucinas que son claves para el desarrollo, exacerbación y mantenimiento de la resistencia a la insulina, el cual es un padecimiento central en las desregulaciones metabólicas (Cordain *et al.*, 2005; Hiriart *et al.*, 2014). En el caso de los roedores, la acumulación excesiva de tejido adiposo en el epididimo desencadena la función secretora de este tejido de manera similar a lo que ocurre en humanos (Manolopoulos *et al.*, 2010; Koster *et al.*, 2010; Franckzyc *et al.*, 2021).

La importancia de la grasa epididimal en roedores es tal que se ha demostrado que retirar profilácticamente el tejido adiposo del epididimo a ratones a los que se les suministró una dieta hipercalórica alta en grasas previene la hiperinsulinemia, la resistencia a la insulina y el incremento en peso y la acumulación de tejido adiposo en otras zonas del cuerpo (Franckzyc *et al.*, 2021). En este sentido, una mayor acumulación de grasa en el epididimo es un indicador importante de que existen desregulaciones del metabolismo energético en ratones debido a su influencia en el metabolismo de los lípidos y de la glucosa como órgano secretor.

La dieta hipercalórica atenúa el incremento en la eficiencia sináptica en la LTP y no altera la cantidad de receptores NMDA en el hipocampo

El incremento en la plasticidad sináptica en la vía del patrón del perforante al giro dentado depende principalmente de la activación de los receptores NMDA insertados en la membrana sináptica y una menor cantidad o el abatimiento de estos receptores impide la formación de la LTP (Bear *et al.*, 2016; Purves *et al.*, 2004; Siegelbaum & Kandel, 2013; Li *et al.*, 2013; Herring & Nicoll, 2016). Los datos aquí presentados muestran que la dieta hipercalórica afecta la inducción de la LTP sin que la cantidad total de la subunidad constitutiva GluN1 de los receptores NMDA en el hipocampo dorsal se vea disminuida. Debido a ello y a que se trata de una LTP asociativa, es probable que la afectación en la plasticidad sináptica en el

hipocampo causada por la dieta hipercalórica se deba a una desregulación más fina en la transmisión sináptica a nivel postsináptico.

Los receptores AMPA y NMDA median la transmisión sináptica excitatoria en el hipocampo y su importancia en la LTP radica en su acción concomitante que activa segundos mensajeros que promueven el incremento de la eficiencia sináptica (Bear *et al.*, 2016; Purves *et al.*, 2004; Siegelbaum & Kandel, 2013; Herring & Nicoll, 2016). En este sentido, se ha descrito anteriormente que una dieta hipercalórica crónica afecta la excitación basal de esta misma vía, la cual depende de los receptores AMPA (Hernández-Ramírez *et al.*, 2021). En este trabajo solo se evaluó la respuesta de la vía tras una estimulación de alta frecuencia, la cual depende principalmente de la activación de los receptores NMDA, pero es cierto que la activación de los NMDA depende en parte de la despolarización de la membrana postsináptica debido a la actividad de los receptores AMPA (Siegelbaum & Kandel, 2013; Byrne, 2013). En los animales tratados con la dieta hipercalórica y con novedad es posible inducir y mantener la LTP, por lo cual es probable que la acción de la novedad sobre la plasticidad radique en modular la interacción funcional de los receptores AMPA y NMDA en la membrana y no tanto en su síntesis.

Se sabe que, durante el aprendizaje, en el hipocampo ocurre una translocación de receptores NMDA con subunidades tipo GluN1 y GluN2A, las cuales incrementan la permeabilidad y el tiempo de apertura del canal al que se incorporó este receptor, y de la proteína de densidad postsináptica 95 (PSD-95) a la membrana sináptica activa, y que esta translocación es crucial para la formación de la memoria (Delint-Ramírez *et al.*, 2008). El reclutamiento, mantenimiento e inserción de los receptores AMPA y NMDA se debe en gran medida a PSD-95 (Delint-Ramírez *et al.*, 2008), una proteína de anclaje que mantiene a proteínas transmembranales en la densidad postsináptica (PSD), la cual es una región del citoesqueleto situada debajo de la membrana celular que alberga proteínas de andamiaje y accesorias (Kennedy, 2006; Walters & Matus, 1997). El mantenimiento de receptores AMPA y NMDA en la PSD con la finalidad de que estos receptores se encuentren cerca y disponibles es necesario en la dinámica de inserción y recambio de receptores durante la actividad sináptica mantenida (Chowdhury & Hell, 2018), como ocurre cuando hay un reto cognitivo

(Delint-Ramírez *et al.*, 2008) o se estimula artificialmente (El-Husseini & Bredt, 2002; Spinelli *et al.*, 2017). De esta manera, se ha reportado que las dietas hipercalóricas afectan la dinámica de inserción y mantenimiento de los receptores AMPA y NMDA en la membrana sináptica.

Spinelli y colaboradores (2017) demostraron que una dieta hipercalórica incrementa la cantidad de ácido palmítico y promueve resistencia a la insulina en el hipocampo, lo cual afecta la inserción de los receptores AMPA a la membrana. En ese trabajo se comprueba que la resistencia a la insulina en el hipocampo promueve la sobreexpresión de la palmitoitransferasa zDHHC3, la cual hiperpalmitoíla a la subunidad constitutiva GluA1 de los receptores AMPA e impide su fosforilación e inserción dependiente de la actividad. Más interesante aún, parece ser que la resistencia a la insulina y el exceso de ácido palmítico en el hipocampo reduce la amplitud de la corriente de los receptores AMPA y disminuye la LTP, más no la abate. Sumado a que también se describe una menor cantidad de receptores AMPA fosforilados, es posible que las dietas hipercalóricas disminuyan la cantidad total de receptores AMPA insertados en la membrana sináptica. Datos muy similares se han descrito para los receptores NMDA.

Dentro de nuestro grupo de investigación, Ayala-Guerrero (2017) describe que una dieta hipercalórica provoca déficits en ORM y MWM y una distribución anormal de los receptores AMPA y NMDA insertados en la membrana sináptica. En ese trabajo, se demuestra que una dieta hipercalórica disminuye la cantidad de receptores AMPA y NMDA en las balsas lipídicas, que son microdominios de baja densidad ricos en colesterol y glucoesfingolípidos que en la membrana celular funcionan como plataformas de transporte y anclaje de proteínas de membrana (Simons & Ikonen, 1997; Brown & London, 2000) que facilitan la inserción y recambio de receptores glutamatérgicos durante la LTP (Suzuki, 2002). Así, parece ser que las dietas afectan esencialmente la distribución de los receptores en diferentes dominios celulares y su dinámica de inserción y mantenimiento en la membrana y PSD. Los datos aquí presentados muestran sólo la cantidad total de NMDA, sin ahondar más en si existen anomalías en su distribución en la célula.

La dieta hipercalórica tiende a reducir la cantidad de tirosina hidroxilasa en el hipocampo y la novedad recupera la LTP

El papel de las catecolaminas en la LTP es modular la plasticidad sináptica mediante la activación de segundos mensajeros acoplados a sus receptores (Kolomiets *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2013; Maity *et al.*, 2015). Los resultados aquí mostrados sugieren que el incremento en la plasticidad sináptica de ratones sometidos a la dieta normocalórica y a la novedad se debe al aumento de TH en el hipocampo que, consecuentemente, implica una mayor cantidad de catecolaminas, como se ha reportado anteriormente (Hernández-Ramírez *et al.*, 2021). Por otro lado, la novedad no incrementa la cantidad de TH en el hipocampo de ratones que consumieron la dieta hipercalórica, pero sí se ve recuperada la LTP. Además, la dieta hipercalórica por sí sola no disminuye la cantidad de TH en el hipocampo de ratones, pero sí se ve disminuía de manera significativa la LTP. Debido a ello es posible que en los animales que consumieron la dieta hipercalórica sin novedad: 1) haya un nivel subumbral de catecolaminas, ya sea por una menor síntesis o por un menor número de terminales, y el método aquí utilizado no haya sido lo suficientemente sensible para detectarlo, o 2) existan otros mecanismos de igual o mayor peso involucrados por los cuales las dietas hipercalóricas afectan la plasticidad neuronal.

Se sabe que el hipocampo recibe proyecciones catecolaminérgicas del VTA, SN, NAC y LC (Swanson, 1982, Kempadoo *et al.*, 2016). También se ha descrito que el enriquecimiento ambiental, y más precisamente la novedad, aumenta la liberación de deopamina de VTA y SN (Morrens *et al.*, 2020) y de noradrenalina del LC (Aston-Jones & Cohen, 2005; Bouret & Sara, 2005; Yu & Dayan, 2005; Sales *et al.*, 2019), además de incrementar la cantidad de catecolaminas en el hipocampo (Naka *et al.*, 2002; Ali *et al.*, 2009; Hernández-Ramírez *et al.*, 2021). Es probable que la exposición frecuente a estímulos novedoso genere un estado de actividad constante del VTA, SN y LC que a su vez incremente la cantidad de catecolaminas liberadas en el hipocampo. En este sentido, todo parece indicar que la dieta hipercalórica afecta la plasticidad neuronal en el hipocampo al reducir la cantidad de catecolaminas liberadas (figura 12).

Inhibir la liberación de dopamina, ya sea farmacológicamente (Otmakhova & Lisman, 1996) o mediante la destrucción selectiva de neuronas catecolaminérgicas (Yang *et al.*, 2002), impide la formación de la LTP en el hipocampo. La dopamina modula la plasticidad sináptica en el hipocampo a través de los receptores tipo D1, principalmente, pues se ha demostrado que inhibir con antagonistas a estos receptores impide la inducción de la LTP (Yanagihashi & Ishikawa, 1992; Kolomiets *et al.*, 2009). Por otro lado, parece ser que la noradrenalina modula la plasticidad facilitando la inducción de la LTP (Maity *et al.*, 2015) y su mantenimiento (Brandwein & Nguyen, 2019) a través de los receptores β -adrenérgicos. De estos receptores, el que parece tener más relevancia en la LTP es el receptor tipo $\beta 2$ (Li *et al.*, 2013). Las cascadas de señalización de ambos receptores coinciden en la activación de PKA, la cual regula la dinámica de inserción y recambio de los receptores AMPA y NMDA (Siegelbaum & Kandel, 2013; Herring & Nicoll, 2016).

La dopamina y la norepinefrina modulan el incremento de la eficiencia sináptica a través de los receptores D1 y $\beta 2$, respectivamente, los cuales activan mecanismos dependientes de PKA y Ca^{2+} (Wang & O'Donnell, 2001; Jay, 2003). Al ser estimulados con un burst de dopamina, los receptores D1 activan al adenilato ciclasa que promueve la formación de AMPc y la consecuente activación de PKA (Jay, 2003). PKA fosforila a los receptores AMPA y NMDA promoviendo su inserción en la membrana sináptica e incrementando su permeabilidad y tiempo de apertura, lo cual aumenta la excitabilidad y la eficiencia sináptica (Jay, 2003; Siegelbaum & Kandel, 2013; Herring & Nicoll, 2016). De igual manera, la activación de los receptores $\beta 2$ inicia una cascada de señalización que activa a PKA en la neurona postsináptica. Además, sumado a la activación de CamKII por el Ca^{2+} que entra por la activación de los receptores NMDA, PKA promueve la expresión de genes CRE, los genes de expresión temprana involucrados en los cambios plásticos a largo plazo (Kolomiets *et al.*, 2009; Maity *et al.*, 2015).

De esta manera, la modulación de la LTP por las catecolaminas se da a través de la activación de segundos mensajeros que activan a PKA, la cual regula positivamente la fosforilación e inserción de receptores AMPA y NMDA en la membrana después de una estimulación de alta frecuencia. Estos cambios en la membrana subyacen al incremento de la

eficiencia sináptica observado en la LTP. Debido a que la activación de PKA por los receptores D1 es más directo, lo más probable es que la dopamina contribuya principalmente a la inducción de la LTP. Se sabe que la estimulación eléctrica promueve la liberación fásica de dopamina y que es necesaria una cantidad de dopamina ambiental que preactive a los receptores D1 para que se pueda inducir la LTP (Kolomiets *et al.*, 2009). Por otro lado, debido a la activación de cascadas de señalización consideradas tróficas (Brandwein & Nguyen, 2019) parece ser que la norepinefrina contribuye al mantenimiento de la LTP y a los cambios a largo plazo como la síntesis de proteínas y crecimiento dendrítico.

Como limitaciones del trabajo se reconoce que un estudio más completo de las desregulaciones metabólicas causadas por esta dieta podría contemplar la cantidad de glucosa, insulina y leptina en suero, tal y como reporta Calvo-Ochoa y colaboradores (2014). Para saber si existen alteraciones en la distribución de receptores en la célula debido a la dieta sería necesario utilizar una técnica de separación de componentes celulares por ultracentrifugación. Para saber si la dieta hipercalórica disminuye las catecolaminas de manera basal y durante la electrofisiología sería necesario medir su liberación como reporta Hernández-Ramírez y colaboradores (2021).

Conclusiones

La dieta hipercalórica consumida durante 24 semanas causa un incremento en el tejido adiposo epididimal y en el peso de ratones macho C57 BL/6. Además, esta dieta atenúa la inducción de la LTP en el hipocampo. Por otro lado, aplicar un tratamiento de recambio de objetos durante la administración de la dieta hipercalórica previene el daño en la plasticidad sináptica.

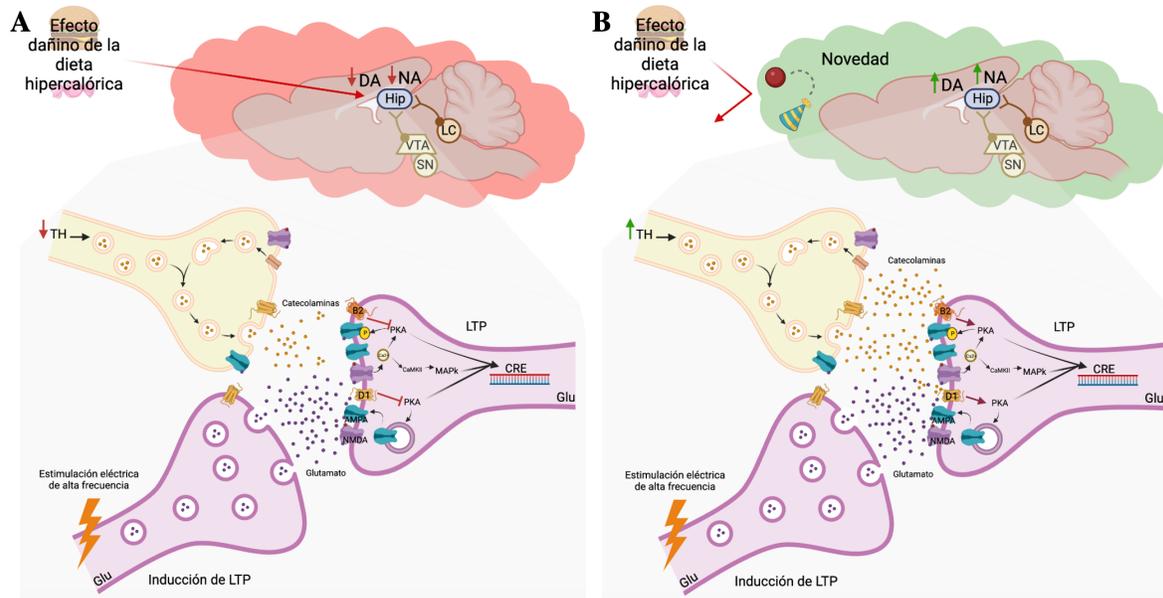


Figura 12. Sugerencia de un modelo: La novedad tiene un efecto protector contra el daño en la plasticidad sináptica causado por las dietas hipercalóricas mediante el incremento de catecolaminas en el hipocampo.

A: El consumo de la dieta hipercalórica podría disminuir la cantidad de tirosina hidroxilasa (TH), enzima crucial para la síntesis de dopamina (DA) y de noradrenalina (NA), en las terminales catecolaminérgicas provenientes del área tegmental ventral (VTA), del la sustancia nigra (SN) y del locus coeruleus (LC) que inervan al hipocampo, afectando la inducción y el mantenimiento de la LTP.

B: La exposición a estímulos novedosos podría generar un estado de actividad constante del VTA, del SN y del LC, los cuales regularían positivamente la LTP en el hipocampo mediante la liberación de DA y NA y la consecuente activación de los receptores D1 y $\beta 2$, contrarestando el daño de las dietas hipercalóricas sobre la plasticidad neuronal.

Perspectivas

Replicar los 4 tratamientos (dieta normocalórica sin novedad, dieta normocalórica con novedad, dieta hipercalórica sin novedad, dieta normocalórica con novedad) bajo los mismos parámetros (6 meses de tratamiento) a ratones macho de la cepa C57BL/6 de 21 días de edad y:

- i. Analizar más variables metabólicas (glucosa en ayunas, insulina y leptina en sangre) con la finalidad de robustecer el modelo de desregulación metabólica.

- ii. Realizar pruebas de memoria espacial (localización de objetos, laberinto acuático de Morris) con la finalidad de comprobar si la dieta hipercalórica tiene el mismo efecto dañino en memorias dependientes de hipocampo.
- iii. Medir en el hipocampo la cantidad de catecolaminas, dopamina y norepinefrina, liberadas de manera basal y durante la electrofisiología.
- iv. Cuantificar la cantidad de receptores NMDA y AMPA fosforilados e insertados en la membrana sináptica en el hipocampo después de la electrofisiología.
- v. Averiguar si la activación de segundos mensajeros de los receptores dopaminérgicos D1 y de los receptores noradrenérgicos β 2 durante la electrofisiología es diferente entre grupos.

Referencias

1. Abel, T., Nguyen, P. V., Barad, M., Deuel, T. A., Kandel, E. R., & Bourtchouladze, R. (1997). Genetic demonstration of a role for PKA in the late phase of LTP and in hippocampus-based long-term memory. *Cell*, 88(5), 615–626.
2. Akyuz, E., & Eroglu, E. (2021). Envisioning the crosstalk between environmental enrichment and epilepsy: A novel perspective. *Epilepsy & behavior : E&B*, 115, 107660.
3. Alberti, K. G., Eckel, R. H., Grundy, S. M., Zimmet, P. Z., Cleeman, J. I., Donato, K. A., Fruchart, J. C., James, W. P., Loria, C. M., Smith, S. C., Jr, International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention, National Heart, Lung, and Blood Institute, American Heart Association, World Heart Federation, International Atherosclerosis Society, & International Association for the Study of Obesity. (2009). Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*, 120(16), 1640–1645.
4. Ali, A. E., Wilson, Y. M., & Murphy, M. (2009). A single exposure to an enriched environment stimulates the activation of discrete neuronal populations in the brain of the fos-tau-lacZ mouse. *Neurobiology of learning and memory*, 92(3), 381–390.
5. Aronoff, E., Hillyer, R., & Leon, M. (2016). Environmental Enrichment Therapy for Autism: Outcomes with Increased Access. *Neural plasticity*, 2016, 2734915.
6. Artola, A., von Frijtag, J. C., Fermont, P. C., Gispen, W. H., Schrama, L. H., Kamal, A., & Spruijt, B. M. (2006). Long-lasting modulation of the induction of LTD and LTP in rat hippocampal CA1 by

- behavioural stress and environmental enrichment. *The European journal of neuroscience*, 23(1), 261–272.
7. Assuncao, N., Sudo, F. K., Drummond, C., de Felice, F. G., & Mattos, P. (2018). Metabolic Syndrome and cognitive decline in the elderly: A systematic review. *Plo S one*, 13(3), 1–16.
 8. Aston-Jones G., & Bloom F. E. (1981). Activity of norepinephrine containing locus coeruleus neurons in behaving rats anticipates fluctuations in the sleep-waking cycle. *J Neurosci*. 1:876–886
 9. Ayala-Guerrero, L. X. (2017). *Efecto de una dieta hipercalórica sobre el desempeño cognitivo y niveles de receptores AMPA y NMDA en las zonas activas postsinápticas*. [Tesis de licenciatura no publicada]. Universidad Nacional Autónoma de México.
 10. Baker, K. D., Loughman A., Spencer, S. J., Reichelt, A. C. (2017). The impact of obesity and hypercaloric diet consumption on anxiety and emotional behavior across the lifespan. *Neurosci Biobehav Rev*, 83, 173–182.
 11. Baltaci, S. B., Mogulkoc, R., & Baltaci, A. K. (2019). Molecular mechanisms of early and late LTP. *Neurochem Res*, 44(2), 281–296.
 12. Baroncelli, L., Braschi, C., Spolidoro, M., Begenisic, T., Sale, A., & Maffei, L. (2010). Nurturing brain plasticity: impact of environmental enrichment. *Cell death and differentiation*, 17(7), 1092–1103.
 13. Bast T. (2011). The hippocampal learning-behavior translation and the functional significance of hippocampal dysfunction in schizophrenia. *Curr Opin Neurobiol*, 21:492–501.
 14. Bator, E., Latusz, J., Wędzony, K., & Maćkowiak, M. (2018). Adolescent environmental enrichment prevents the emergence of schizophrenia-like abnormalities in a neurodevelopmental model of schizophrenia. *European neuropsychopharmacology: the journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 28(1), 97–108.
 15. Bear, M. F., Connors B. W., & Paradiso, M. A. (2016). Chap. 24 Memory Systems. En Bear, M. F., Connors, B. W., & Paradiso, M. A (Eds.), *Neuroscience: Exploring the Brain* (pp. 823-864). (4th Ed.). England: Williams & Wilkins.
 16. Benke, T. A., Lüthi, A., Isaac, J. T., & Collingridge, G. L. (1998). Modulation of AMPA receptor unitary conductance by synaptic activity. *Nature*, 393(6687), 793–797.
 17. Berry, D. C., Stenesen, D., Zeve, D., & Graff, J. M. (2013). The developmental origins of adipose tissue. *Development (Cambridge, England)*, 140(19), 3939–3949.
 18. Bird, C. M., & Burgess, N. (2008). The hippocampus and memory: insights from spatial processing. *Nat Rev Neurosci*, 9(3), 182–194.
 19. Bliss, T. V., & Collingridge, G. L. (1993). A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*, 361(6407), 31–19.
 20. Bliss, T. V., & Lømo, T. (1973). Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol*, 232(2), 331–356.
 21. Bouret S., & Sara S. J. (2005). Network reset: a simplified overarching theory of locus coeruleus noradrenaline function. *Trends Neurosci*. 28:574–582.

22. Bradford M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72, 248–254.
23. Brandwein, N. J., & Nguyen, P. V. (2019). Noradrenergic stabilization of heterosynaptic LTP requires activation of Epac in the hippocampus. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 26(2), 31–38.
24. Brem, A. K., Ran, K., & Pascual-Leone, A. (2014). Learning and memory. *Handbook of clinical neurology*, 116, 693–737.
25. Brown, D. A., & London, E. (2000). Structure and function of sphingolipid- and cholesterol-rich membrane rafts. *The Journal of biological chemistry*, 275(23), 17221–17224.
26. Byrne, J. H. (2013). Chap. 47 Learning and memory: basic mechanisms. En Squire, L., Darwin, B., Bloom, F. E., du Lac, S., Ghosh, A., & Spitzer N. C. (6^{ta} Ed.). *Fundamental Neuroscience* (pp. 1009–1027). USA: Academic Press.
27. Calvo-Ochoa, E., Hernández-Ortega, K., Ferrera, P., Morimoto, S., & Arias, C. (2014). Short-term high-fat-and-fructose feeding produces insulin signaling alterations accompanied by neurite and synaptic reduction and astroglial activation in the rat hippocampus. *Journal of cerebral blood flow and metabolism: official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 34(6), 1001–1008.
28. Campbell, S., & Macqueen, G. (2004). The role of the hippocampus in the pathophysiology of major depression. *Journal of psychiatry & neuroscience: JPN*, 29(6), 417–426.
29. Chowdhury, D., Turner, M., Patriarchi, T., Hergarden, A. C., Anderson, D., Zhang, Y., Sun, J., Chen, C. Y., Ames, J. B. & Hell, J. W. (2018). Ca²⁺/calmodulin binding to PSD-95 mediates homeostatic synaptic scaling down. *The EMBO journal*, 37(1), 122–138.
30. Cleary, M. P., Greenwood, M. R., & Brasel, J. A. (1977). A multifactor analysis of growth in the rat epididymal fat pad. *The Journal of nutrition*, 107(11), 1969–1974.
31. Cohen, N. J., & Squire, L. R. (1980). Preserved learning and retention of pattern analyzing skill in amnesia: dissociation of knowing how and knowing that. *Science*, 210(4466), 207–210.
32. 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.
33. Creus-Costas, G. & Herrera-Rodríguez H. (2008). Cap. 14 Dietas progresivas. En Salas-Salvadó, J. (2^{da} Ed.). *Nutrición y dieta clínica*. (pp. 175–184). Madrid, España: Elsevier.
34. D'Esposito, M. (2007). From cognitive to neural models of working memory. *Philos Trans R Soc lond B Biol Sci*, 362(1481), 761–772.
35. Davis, H. P. & Squire, L. R. (1984). Protein synthesis and memory: a review. *Psychol Bull*, 96(3), 518–559.
36. Delint-Ramírez, I., Salcedo-Tello, P., & Bermudez-Rattoni, F. (2008). Spatial memory formation induces recruitment of NMDA receptor and PSD-95 to synaptic lipid rafts. *Journal of neurochemistry*, 106(4), 1658–1668.

37. Dhikav, V., & Anand, K. (2007). Hippocampal atrophy may be a predictor of seizures in Alzheimer's disease. *Medical hypotheses*, 69(1), 234–235.
38. Dik, M. G, Jonker, C., Comijs, H. C., Deeg, D. J., Kok, A., Yaffe, K., & Penninx, B. W. (2007). Contribution of metabolic syndrome components to cognition in older individuals. *Diabetes Care*, 30(10), 2655–2660.
39. Duffy, S. N., Craddock, K. J., Abel, T., & Nguyen, P. V. (2001). Environmental enrichment modifies the PKA-dependence of hippocampal LTP and improves hippocampus-dependent memory. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 8(1), 26–34.
40. Eckel, R. H., Grundy, S. M., & Zimmet, P. Z. (2005). The metabolic syndrome. *Lancet (London, England)*, 365(9468), 1415–1428.
41. El-Husseini, A. & Brecht D. S. (2002). Protein palmitoylation: a regulator of neuronal development and function. *Nature Reviews Neuroscience*, 3(10), 791–802.
42. Escobar, M. L., & Derrick, B. (2007). Chap. 2 Long-Term Potentiation and Depression as Putative Mechanisms for Memory Formation. En: Bermúdez-Rattoni F, editor. *Neural Plasticity and Memory: From Genes to Brain Imaging*. USA: CRC Press/Taylor & Francis.
43. Faherty, C. J., Raviie Shepherd, K., Herasimtschuk, A., & Smeyne, R. J. (2005). Environmental enrichment in adulthood eliminates neuronal death in experimental Parkinsonism. *Brain research. Molecular brain research*, 134(1), 170–179.
44. Foster, T., C., Gagne, J., & Massicotte, G. (1996). Mechanism of altered synaptic strength due to experience: relation to long-term potentiation. *Brain Res*, 736(1-2), 243–50.
45. Franczyk, M. P., He, M., & Yoshino, J. (2021). Removal of Epididymal Visceral Adipose Tissue Prevents Obesity-Induced Multi-organ Insulin Resistance in Male Mice. *Journal of the Endocrine Society*, 5(5), bvab024.
46. Frey, U., Huang, Y. Y., & Kandel, E. R. (1993). Effects of cAMP simulate a late stage of LTP in hippocampal CA1 neurons. *Science*, 260(5114), 1661–1664.
47. Frick, K. M., Stearns, N. A., Pan, J. Y., & Berger-Sweeney, J. (2003). Effects of environmental enrichment on spatial memory and neurochemistry in middle-aged mice. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 10(3), 187–198.
48. Gallagher, E. J., Leroith, D., & Karnieli, E. (2010). Insulin resistance in obesity as the underlying cause for the metabolic syndrome. *The Mount Sinai journal of medicine, New York*, 77(5), 511–523.
49. Ghosh, A., Biswas, A. K., & Banerjee, A. (2015). A study on cognitive decline with respect to metabolic syndrome and inflammation in elderly Indians. *Neurol India*, 63(4), 537–41.
50. Gołabek, K. D., & Regulska-Ilow, B. (2019). Dietary support in insulin resistance: An overview of current scientific reports. *Advances in clinical and experimental medicine: official organ Wroclaw Medical University*, 28(11), 1577–1585.
51. Greenwood, C. E., & Winocur, G. (2001). Glucose treatment reduces memory deficits in young adult rats fed high-fat diets. *Neurobiol Learn Mem*, 75(2), 179–189.

52. Grippo, A. J., Ihm, E., Wardwell, J., McNeal, N., Scotti, M. A., Moenk, D. A., Chandler, D. L., LaRocca, M. A., & Preihs, K. (2014). The effects of environmental enrichment on depressive and anxiety-relevant behaviors in socially isolated prairie voles. *Psychosomatic medicine*, *76*(4), 277–284.
53. Gruen, R., Kava, R., & Greenwood, M. R. (1980). Development of basal lipolysis and fat cell size in the epididymal fat pad of normal rats. *Metabolism: clinical and experimental*, *29*(3), 246–253.
54. Grundy, S. M., Adams-Huet, B., & Vega, G. L. (2008). Variable contributions of fat content and distribution to metabolic syndrome risk factors. *Metabolic syndrome and related disorders*, *6*(4), 281–288.
55. Hebb, D. (1949). *A textbook of psychology*. Philadelphia, USA: Saunders.
56. Heckers, S., & Konradi, C. (2015). GABAergic mechanisms of hippocampal hyperactivity in schizophrenia. *Schizophrenia research*, *167*(1-3), 4–11.
57. Hernández-Ramírez, S., Osorio-Gómez, D., Escobar, M. L., Rodríguez-Durán, L., Velasco, M., Bermúdez-Rattoni, F., Hiriart, M., & Guzmán-Ramos, K. R. (2021). Catecholaminergic stimulation restores high-sucrose diet-induced hippocampal dysfunction. *Psychoneuroendocrinology*, *127*, 105178.
58. Herring, B. E., & Nicoll, R. A. (2016). Long-Term Potentiation: From CaMKII to AMPA Receptor Trafficking. *Annual Review of Psychology*, *78*(1), 351–365.
59. Hiriart, M., Velasco, M., Larqué, C., & Diaz-Garcia, C. M. (2014). Metabolic syndrome and ionic channels in pancreatic beta cells. *Vitamins and hormones*, *95*, 87–114.
60. Hishikawa, N., Fukui, Y., Sato, K., Kono, S., Yamashita, T., Ohta, Y., Deguchi, K., & Abe, K. (2016). Cognitive and affective functions in Alzheimer's disease patients with metabolic syndrome. *Eur J Neurol*, *23*(2), 339–45.
61. Hu, Y. S., Xu, P., Pigino, G., Brady, S. T., Larson, J., & Lazarov, O. (2010). Complex environment experience rescues impaired neurogenesis, enhances synaptic plasticity, and attenuates neuropathology in familial Alzheimer's disease-linked APP^{swe}/PS1^{DeltaE9} mice. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, *24*(6), 1667–1681.
62. Huang, Y. Y., & Kandel, E. R. (1995). D1/D5 receptor agonists induce a protein synthesis-dependent late potentiation in the CA1 region of the hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *92*(7), 2446–2450.
63. Huang, Y., Yang, S., Hu, H. Z., Liu, G., Zhou, W. X., & Zhang, Y. X. (2012). A new approach to location of the dentate gyrus and perforant path in rats/mice by landmarks on the skull. *Acta Neurobiol Exps*, *72*(4), 468–472.
64. Hullinger, R., O'Riordan, K., & Burger, C. (2015). Environmental enrichment improves learning and memory and long-term potentiation in young adult rats through a mechanism requiring mGluR5 signaling and sustained activation of p70s6k. *Neurobiology of learning and memory*, *125*, 126–134.
65. INCA. (9 de mayo del 2023). *INCA 1k*. INCA. <https://inca.mx/productos/inca-1k/>

66. Jacoby, L. L., & Dallas, M. (1981). On the relationship between autobiographical memory and perceptual learning. *Journal of Experimental Psychology: General*, *110*, 306–340.
67. Jankowsky, J. L., Melnikova, T., Fadale, D. J., Xu, G. M., Slunt, H. H., Gonzales, V., Younkin, L. H., Younkin, S. G., Borchelt, D. R., & Savonenko, A. V. (2005). Environmental enrichment mitigates cognitive deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, *25*(21), 5217–5224.
68. Jay, T. M. (2003). Dopamine: a potential substrate for synaptic plasticity and memory mechanisms. *Prog Neurobiol*, *69*(6), 375–390.
69. Jonides, J., Lewis, R. L., Nee, D. E., Lusting, C. A., Berman, M. G., & Moore, K. S. (2008). The mind and brain of short-term memory. *Annu Rev Psychol*, *59*, 193–224.
70. Jungling, A., Reglodi, D., Maasz, G., Zrinyi, Z., Schmidt, J., Rivnyak, A., Horvath, G., Pirger, Z., & Tamas, A. (2021). Alterations of Nigral Dopamine Levels in Parkinson's Disease after Environmental Enrichment and PACAP Treatment in Aging Rats. *Life (Basel, Switzerland)*, *11*(1), 35.
71. Jurdak, N., & Kanarek, R. (2009). Sucrose-induced obesity impairs novel object recognition learning in young rats. *Physiol Behav*, *96*(1), 1–5.
72. Kandel, E. R. (2001). The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses. *Science*, *294*(5544), 1030–1038.
73. Kanoski, S. E., & Davidson, T. L. (2011). Western diet consumption and cognitive impairment: Links to hippocampal dysfunction and obesity. *Physiology and Behavior*, *103*, 59–68.
74. Karo. (9 de mayo del 2023). *Karo BB*. Karo. <https://karo.com.mx/productos/karo-bb/>
75. Keane, D., Kelly, S., Healy, N. P., Mc Ardle, M. A., Holohan, K., & Roche, H. M. (2013). Diet and metabolic syndrome: an overview. *Current vascular pharmacology*, *11*(6), 842–857.
76. Kennedy, M. J., & Ehlers, M. D. (2006). Organelles and trafficking machinery for postsynaptic plasticity. *Annu Rev Neurosci*, *29*(1), 325–362.
77. Kempadoo, K. A., Mosharov, E. V., Choi, S. J., Sulzer, D., & Kandel. (2016). Dopamine release from the locus coeruleus to the dorsal hippocampus promotes spatial learning and memory. *PNAS*, *113*(51), 14835–14840.
78. Kjeldsen, S., Feldman, R. D., Lisheng, L., Mourad, J. J., Chiang, C. E., Zhang, W., Wu, Z., Li, W., & Williams, B. (2014). Updated national and international hypertension guidelines: a review of current recommendations. *Drugs*, *74*(17), 2033–2051.
79. Kolomiets, B., Marzo, A., Caboche, J., Vanhoutte, P., & Otani, S. (2009). Background dopamine concentration dependently facilitates long-term potentiation in rat prefrontal cortex through postsynaptic activation of extracellular signal-regulated kinases. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)*, *19*(11), 2708–2718.
80. Komulainen, P., Lakka, T. A., Kivipelto, M., Hassinen, M., Helkala, E. L., Haapala, I., Nissinen, A., & Rauramaa, R. (2007). Metabolic Syndrome and Cognitive Function: A Population-Based Follow-Up Study in Elderly Women. *Dement Geriatr Cogn Dis*, *23*(1), 29–34.

81. Koster, A., Stenholm, S., Alley, D. E., Kim, L. J., Simonsick, E. M., Kanaya, A. M., Visser, M., Houston, D. K., Nicklas, B. J., Tylavsky, F. A., Satterfield, S., Goodpaster, B. H., Ferrucci, L., Harris, T. B., & Health ABC Study (2010). Body fat distribution and inflammation among obese older adults with and without metabolic syndrome. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, *18*(12), 2354–2361.
82. Kuba, K., & Kumamoto, E. (1990). Long-term potentiations in vertebrate synapses: a variety of cascades with common subprocesses. *Progress in neurobiology*, *34*(3), 197–269.
83. LabDiet. (10 de mayo del 2023). *5001 – Laboratory Rodent Diet*. LabDiet. <https://www.labdiet.com/product/detail/5001-laboratory-rodent-diet>
84. Lalanza, J. F., & Snoeren, E. M. S. (2021). The cafeteria diet: A standardized protocol and its effects on behavior. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, *122*, 92–119.
85. Lauri, S. E., Vesikansa, A., Segestråle, M., Collingridge, G. L., Isaac, J. T., & Taira, T. (2006). Functional maturation of CA1 synapses involves activity-dependent loss of tonic kainite receptor-mediated inhibition of glutamate release. *Neuron*, *50*(3), 415–429.
86. Lee, K. H., & Kim, N. H. (2019). Differential Expression of Adipocyte-Related Molecules in the Distal Epididymal Fat of Mouse during Postnatal Period. *Development & reproduction*, *23*(3), 213–221.
87. Li, S., Jin, M., Zhang, D., Yang, T., Koeglsperger, T., Fu, H., & Selkoe, D. J. (2013). Environmental novelty activates β 2-adrenergic signaling to prevent the impairment of hippocampal LTP by A β oligomers. *Neuron*, *77*(5), 929–941.
88. Li, S., Tian, X., Hartley, D. M., & Feig, L. A. (2006). The environment versus genetics in controlling the contribution of MAP kinases to synaptic plasticity. *Current biology : CB*, *16*(23), 2303–2313.
89. Lieberman, J. A., Girgis, R. R., Brucato, G., Moore, H., Provenzano, F., Kegeles, L., Javitt, D., Kantrowitz, J., Wall, M. M., Corcoran, C. M., Schobel, S. A., & Small, S. A. (2018). Hippocampal dysfunction in the pathophysiology of schizophrenia: a selective review and hypothesis for early detection and intervention. *Molecular psychiatry*, *23*(8), 1764–1772.
90. Liew, A. K. Y., Teo, C. H., & Soga, T. (2022). The Molecular Effects of Environmental Enrichment on Alzheimer's Disease. *Molecular neurobiology*, *59*(12), 7095–7118.
91. Lisman, J., Yasuda, R., Raghavachari, S. (2012). Mechanisms of CaMKII action in long-term potentiation. *Nat Rev Neurosci*, *13*(3), 169–182.
92. Liu, M., He, Y., Jiang, B., Wu, L., Wang, J., Yang, S., & Wang, Y. (2015). Association between metabolic syndrome and mild cognitive impairment and its age difference in a Chinese community elderly population. *Clin Endocrinol*, *82*(6), 844–853.
93. Lomo, T. (1966). Frequency potentiation of excitatory synaptic activity in the dentate area of the hippocampal formation. *Acta Physiol Scand*, *68*, 128.
94. Maity, S., Rah, S., Sonenberg, N., Gkogkas, C. G., & Nguyen, P. V. (2015). Norepinephrine triggers metaplasticity of LTP by increasing translation of specific mRNAs. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, *22*(10), 499–508.

95. Malik, R., & Chattarji, S. (2012). Enhanced intrinsic excitability and EPSP-spike coupling accompany enriched environment-induced facilitation of LTP in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Journal of neurophysiology*, 107(5), 1366–1378.
96. Manolopoulos, K. N., Karpe, F., & Frayn, K. N. (2010). Gluteofemoral body fat as a determinant of metabolic health. *International journal of obesity (2005)*, 34(6), 949–959.
97. Marron, E. M., Adrover-Roig, D., Sanchez-Cubillo, I., Miranda, R., & Periañez, J. A. (2013). Chap. 2 Bases neuroanatómicas del aprendizaje y la memoria. En Marron, E. M., & Adrover-Roig. (1^{ra} Ed.). *Fundamentos del aprendizaje y del lenguaje*. (pp. 63–94). Madrid, España: Editorial UOC.
98. Martinez, K. B., Leone, V. & Chang, E. B. (2017). Western diets, gut dysbiosis, and metabolic diseases: Are they the linked? *Gut microbes*, 8(2), 130–142.
99. Matsuzawa Y. (2005). Metabolic syndrome--definition and diagnostic criteria in Japan. *Journal of atherosclerosis and thrombosis*, 12(6), 301.
100. McGaug, J. L. (2000). Memory, a century of consolidation. *Science*, 14(5451), 248–251.
101. Mehran, A. E., Templeman, N. M., Brigidi, G. S., Lim, G. E., Chu, K. Y., Hu, X., Botzell, J. D., Asadi, A., Hoffman, B. G., Kieffer, T. J., Bamji, S. X., Clee, S. M., & Johnson, J. D. (2012). Hyperinsulinemia drives diet-induced obesity independently of brain insulin production. *Cell metabolism*, 16(6), 723–737.
102. Melo, H. M., Santos, L. E., & Ferreira, S. T. (2019). Diet-Derived Fatty Acids, Brain Inflammation, and Mental Health. *Frontiers in neuroscience*, 13, 265.
103. Miller, E. K., & Cohen, J. D. (2001). An integrative theory of prefrontal cortex function. *Annu Rev Neurosci*, 24, 167–202.
104. Mitchell, K. J., & Johnson, M. K. (2009). Source monitoring 15 years later: What have we learned from fMRI about the neural mechanisms of source memory? *Psychological Bulletin*, 135, 638–677.
105. Mlinar, B., Stocca, G., & Corradetti, R. (2015). Endogenous serotonin facilitates hippocampal long-term potentiation at CA3/CA1 synapses. *Journal of neural transmission (Vienna, Austria : 1996)*, 122(2), 177–185.
106. Moodley, K. K., & Chan, D. (2014). The hippocampus in neurodegenerative disease. *Frontiers of neurology and neuroscience*, 34, 95–108.
107. Morrens, J., Aydin, Ç., Janse van Rensburg, A., Esquivelzeta Rabell, J., & Haesler, S. (2020). Cue- Evoked Dopamine Promotes Conditioned Responding during Learning. *Neuron*, 106(1), 142–153.e7.
108. Murray, A. J., Knight, N. S., Cochlin, L. E., McAleese, S., Deacon, R. M., Rawlins, J. N., & Clarke K. (2009). Deterioration of physical performance and cognitive function in rats with short-term high-fat feeding. *FASEB J*, 23(12), 4353–4360.
109. Naka, F., Shiga, T., Yaguchi, M., & Okado, N. (2002). An enriched environment increases noradrenaline concentration in the mouse brain. *Brain research*, 924(1), 124–126.
110. Nicoll, R. A. (2017). A brief history of long-term potentiation. *Neuron*, 93(2), 281–290.
111. Oh, H. M., Kim, S. H., Kang, S. G., Park, S. J., & Song, S. W. (2011). The Relationship between Metabolic Syndrome and Cognitive Function. *Korean journal of family medicine*, 32(6), 358–366.

112. Organización Mundial de la Salud (OMS). (2022). *Obesidad y sobrepeso*. Lugar de publicación: OMS. Recuperado el 19 de marzo de 2019 de: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight#:~:text=El%20sobrepeso%20y%20la%20obesidad%20se%20definen%20como%20una%20acumulaci%C3%B3n,la%20obesidad%20en%20los%20adultos>
113. Ovsepian, S. V., Anwyl, R., & Rowan, M. J. (2004). Endogenous acetylcholine lowers the threshold for long-term potentiation induction in the CA1 area through muscarinic receptor activation: in vivo study. *The European journal of neuroscience*, 20(5), 1267–1275.
114. Otmakhova, N. A., & Lisman, J. E. (1996). D1/D5 dopamine receptor activation increases the magnitude of early long-term potentiation at CA1 hippocampal synapses. *J Neurosci*, 16(23), 7478–7486.
115. Papamichou, D., Panagiotakos, D. B., & Itsiopoulos, C. (2019). Dietary patterns and management of type 2 diabetes: A systematic review of randomised clinical trials. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases : NMCD*, 29(6), 531–543.
116. Pond C. M. (1999). Physiological specialisation of adipose tissue. *Progress in lipid research*, 38(3), 225–248.
117. Postle, B. R. (2006). Working memory as an emergent property of the mind and brain. *Neurosci*, 139, 23–38.
118. Purves, D., Augustine, G. J., Fitzpatrick, Hall, W. C., LaMantia, A. S., McNamara, J. O., & Williams, S. M. (2004). Chap. 30 Memory. En Purves, D., Augustine, G. J., Fitzpatrick, Hall, W. C., LaMantia, A. S., McNamara, J. O., & Williams, S. M. (Eds) *Neuroscience* (pp. 733-773). (3th Ed.). USA: Sinauer Associates, Sunderland.
119. Raffaitin, C., Féart, C., Le Goff, M., Amieva, H., Helmer, C., Akbaraly, T. N., Tzourio, C., Gin, H., & Barberger-Gateau, P. (2011). Metabolic syndrome and cognitive decline in French elders. The Three-City Study. *Neurology*, 76(6), 518–525.
120. Rakhra, V., Galappaththy, S. L., Bulchandani, S., & Cabandugama, P. K. (2020). Obesity and the Western Diet: How We Got Here. *Missouri medicine*, 117(6), 536–538.
121. Reaven G. M. (1988). Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*, 37(12), 1595–1607.
122. Roddy, D. W., Farrell, C., Doolin, K., Roman, E., Tozzi, L., Frodl, T., O'Keane, V., & O'Hanlon, E. (2019). The Hippocampus in Depression: More Than the Sum of Its Parts? Advanced Hippocampal Substructure Segmentation in Depression. *Biological psychiatry*, 85(6), 487–497.
123. Roriz-Cruz, M., Rosset, I., Wada, T., Sakagami, T., Ishine, M., De Sá Roriz-Filho, J., Cruz, T. R., Hosseinkhani, M., Rodrigues, R. P., Sudoh, S., Arai, H., Wakatsuki, Y., Souza, A. C., Nakagawa, M., Kita, T., & Matsubayashi, K. (2007). Cognitive impairment and frontal-subcortical geriatric syndrome are associated with metabolic syndrome in a stroke-free population. *Neurobiol Aging*, 28(11), 1723–1736.

124. Rouch, I., Trombert, B., Kossowsky, M. P., Laurent, B., Celle, S., Ntougou, Assoumou, G., Roche, F., Barthelemy, J. C. (2014). Metabolic Syndrome is Associated with Poor Memory and Executive Performance in Elderly Community Residents: The PROOF Study. *American J Geriatr Psychiatry*, 22(11), 1096–1104.
125. Sachdev, P., Blacker, D., Blazer, D. G., Ganguli, M., Jeste, D. V., Paulsen, J. S., & Petersen, R. C. (2014). Classifying neurocognitive disorders: the DSM-5 approach. *Nat Rev Neurol*, 10(11), 634–642.
126. Sales, A. C., Friston, K. J., Jones, M. W., Pickering, A. E., Moran R. J. (2019) Locus coeruleus tracking of prediction errors optimizes cognitive flexibility: an active inference model. *PLoS Comput Biol*. 15:e1006267.
127. Schacter, D. L., & Wagner, A. D. (2013). Chap. 65 Learning and memory. En Kandel E. R., Schwartz, J. H., Jessell, T. M., Siegelbaum, S. A., & Hudspeth, A. J. (Eds), (5th Ed.). *Principles of neural science*, (pp. 1441–11460). New York, USA: McGraw-Hill.
128. Sevak, L., McKeigue, P. M., & Marmot, M. G. (1994). Relationship of hyperinsulinemia to dietary intake in south Asian and European men. *The American journal of clinical nutrition*, 59(5), 1069–1074.
129. Siegelbaum, T. M., & Kandel, E. R. (2013). Chap. 67 Prefrontal cortex, Hippocampus, and the Biology of Explicit Memory. En Kandel E. R., Schwartz, J. H., Jessell, T. M., Siegelbaum, S. A., & Hudspeth, A. J. (Eds), (5th Ed.). *Principles of neural science*, (pp. 1487–1520). New York, USA: McGraw-Hill.
130. Silva, B. A., & Ferrari, C. C. (2020). Environmental enrichment as a promising strategy for aiding multiple sclerosis treatment. *Neural regeneration research*, 15(9), 1660–1661.
131. Simons, K., & Ikonen, E. (1997). Functional rafts in cell membranes. *Nature*, 387(6633), 569–572.
132. Shigaeff, N., Jacinto, A. F., Franco, F. G. M., Chiochetta, G., Cendoroglo, M. S., Cítero, V. A. (2013). Cognitive assessment in an elderly population with metabolic syndrome in Brazil. *Dement Neuropsychol*. 7(2), 206–209.
133. Spinelli, M., Fusco, S., Mainardi, M., Scala, F., Natale, F., Lapenta, R., Mattera, A., Rinaudo, M., Li Puma, D. D., Ripoli, C., Grassi, A., D'Ascenzo, M., & Grassi, C. (2017). Brain insulin resistance impairs hippocampal synaptic plasticity and memory by increasing GluA1 palmitoylation through FoxO3a. *Nature communications*, 8(1), 2009.
134. Statovci, D., Aguilera, M., MacSharry, J., & Melgar, S. (2017). The Impact of Western Diet and Nutrients on the Microbiota and Immune Response at Mucosal Interfaces. *Frontiers in immunology*, 8, 838.
135. Squire, L. R. (2004). Memory systems of the brain: a brief history and current perspective. *Neurobiology of Learning and Memory*, 82(3), 171–177.
136. Suzuki T. (2002). Lipid rafts at postsynaptic sites: distribution, function and linkage to postsynaptic density. *Neuroscience research*, 44(1), 1–9.

137. Swanson, L. W. (1982). The projections of the ventral tegmental area and adjacent regions: a combined fluorescent retrograde tracer and immunofluorescence study in the rat. *Brain Res Bull*, 9(1-6), 321–356.
138. Sweeting, A., Mijatovic, J., Brinkworth, G. D., Markovic, T. P., Ross, G. P., Brand-Miller, J., & Hernandez, T. L. (2021). The Carbohydrate Threshold in Pregnancy and Gestational Diabetes: How Low Can We Go?. *Nutrients*, 13(8), 2599.
139. Tsai, C. K., Kao, T. W., Lee, J. T., Wu, C. J., Hueng, D. Y., Liang, C. S., Wang, G. C., Yang, F. C., & Chen, W. L. (2016). Increased risk of cognitive impairment in patients with components of metabolic syndrome. *Medicine*, 95(36), 1–5.
140. Tulving, E., & Schacter, D. L. (1990). Priming and human memory systems. *Science*, 247(4940), 301–306.
141. Vidal, M., Wieland, T., Lohse, M. J., & Lorenz, K. (2012). β -Adrenergic receptor stimulation causes cardiac hypertrophy via a G $\beta\gamma$ /Erk-dependent pathway. *Cardiovascular research*, 96(2), 255–264.
142. Viscogliosi, G., Andreozzi, P., Chiriack, I. M., Cipriani, E., Servello, A., Ettorre, E. & Marigliano, V. (2012). Screening Cognition in the Elderly with Metabolic Syndrome. *Metab Syndr Relat Disord*, 10(5), 358–362.
143. Viticchi, G., Falsetti, L., Buratti, L., Luzzi, S., Bartolini, M., Acciarri, M. C., Provinciali, L., & Silvestrini, (2015). Metabolic syndrome and cerebrovascular impairment in Alzheimer’s disease. *M Int J Geriatr Psychiatry*, 30(12), 1164–1170.
144. Walters, B. B., & Matus, A. I. (1975). Tubulin in postsynaptic junctional lattice. *Nature*, 257(1), 496–498.
145. Wang, J., & O’Donnell, P. (2001). Dopamine receptors potentiate NMDA-mediated excitability increase in layer V prefrontal cortical pyramidal neurons. *Cereb Cortex*, 11(5), 452–462.
146. Wang, X., Ding, N., Tucker, K. L., Weisskopf, M. G., Sparrow, D., Hu, H., & Park, S. K. (2017). A Western Diet Pattern Is Associated with Higher Concentrations of Blood and Bone Lead among Middle-Aged and Elderly Men. *The Journal of nutrition*, 147(7), 1374–1383.
147. Wheaton, L. A., & Hallet, M. (2007). Ideomotor apraxia: a review. *J Neurol Sci*, 260(1–2), 1–10.
148. Wheeler, M. E., Petersen, S. E., & Buckner, R. L. (2000). Memory’s echo: Vivid remembering reactivates sensory-specific cortex. *PNAS*, 97(20), 11125–11129.
149. Yaffe, K., Haan, M., Blackwell, T., Cherkasova, E., Whitmer, R. A., & West, N. (2007). Metabolic syndrome and cognitive decline in elderly Latinos: findings from the Sacramento Area Latino Study of Aging study. *J Am Geriatr Soc*, 55(5), 758–762.
150. Yanagihashi, R., & Ishikawa, T. (1992). Studies on long-term potentiation of the population spike component of hippocampal field potential by the tetanic stimulation of the perforant path rats: effects of a dopamine agonist, SKF-38393. *Brain Res*, 579(1), 79–86.
151. Yang, H. W., Lin, Y. W., Yen C. D., & Min, M. Y. (2002). Change in bi-directional plasticity at CA1 synapses in hippocampal slices taken from 6-hydroxydopamine-treated rats: the role of endogenous norepinephrine. *Eur. J. Neurosci*, 16(1), 1117–1128.

152. Yu, A. J., Dayan, P. (2005). Uncertainty, neuromodulation, and attention. *Neuron*. 46:681–692.