



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS NEUROBIOLOGÍA**

**INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA**

**INFLUENCIA DEL ESTRÉS  
DURANTE EL CONSUMO  
Y POSTERIORES APRENDIZAJES  
DEL SABOR DULCE**

**TESIS**

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
MAESTRA EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA)**

**PRESENTA:**

**IMELDA IVETT MORENO MANZANARES**

**TUTORA:**

**DRA. MARÍA ISABEL MIRANDA SAUCEDO  
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGIA, UNAM**

**COMITÉ TUTOR:**

**DRA. REBECA CORONA GARCÍA-CABRAL  
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGIA, UNAM**

**DR. RODRIGO ERICK ESCARTÍN PÉREZ  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA, UNAM**

**CAMPUS JURIQUILLA, QUERÉTARO, ABRIL DE 2024**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA**

Los miembros del Comité Tutorial certificamos que la tesis elaborada por: Imelda Ivett Moreno Manzanares, cuyo título es: “Influencia del estrés durante el consumo y posteriores aprendizajes del sabor dulce”, se presenta como uno de los requisitos para obtener el grado de Maestra en Ciencias (Neurobiología) y cumple con los criterios de originalidad y calidad requeridos por la División de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Dra. Yazmín Macotela Guzmán  
Presidente

---

Dra. María Isabel Miranda Saucedo  
Secretaria

---

Dra. Livia Sánchez Carrasco  
Vocal

---

Dr. Eduardo Adrián Garza Villarreal  
Suplente

---

Dra. Rebeca Corona García-Cabral  
Suplente

---

---

Dr. José Gerardo Rojas Piloni  
Coordinador del Programa

## **Agradecimientos**

A la Dra, Isabel Miranda, por su guía, apoyo y enseñanza durante el desarrollo de esta investigación y por su ejemplo de liderazgo y fortaleza.

A los miembros del comité tutorial, Dra. Rebeca Corona y Dr. Rodrigo Escartín, por su paciencia y concienzuda retroalimentación en cada avance de mi proyecto.

A los participantes del jurado, Dra. Yasmín Macotela, Dra. Livia Sánchez y Dr. Eduardo Garza por sus acertadas revisiones que dieron forma final a este escrito.

Al Programa de Maestría en Ciencias (Neurobiología), las autoridades e investigadores que lo integran y, especialmente, a quienes fueron mis maestros.

Al MVZ Martin García, responsable del bioterio, sin cuya labor esta investigación no hubiese sido posible.

A la Dra. Gabriela Vera, por todo su apoyo técnico y académico, pero además por su compañerismo y amabilidad.

Al Lic. Alejandro Rangel, por ser el maestro que, codo a codo, me enseñó las actividades prácticas necesarias para esta investigación.

A la Dra. Martha Carranza y la Dra. Cristina Medina Fragoso por capacitarme para realizar la prueba ELISA.

A la doctorante Maricruz Reséndiz, la Mtra. Joselyn Lugo y el Lic. Jonathan Gutiérrez por su gran compañerismo y su ayuda en el área académica y el laboratorio.

A la Lic. Frida Rivera, quien siendo estudiante me apoyó con mis sujetos de experimentación.

A los apoyos que contribuyeron económicamente a la realización de esta investigación:  
Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) CVU 1146193 y  
PAPIIT 209122 y 203124.

En el ámbito personal, externo mi gratitud:

Al Dr. Iván de Jesús Zapata González, por su dedicación y entrega a la investigación científica que me llevó a preguntarme qué había en ese mundo que resultaba tan cautivador y me impulsó a realizar esta maestría en búsqueda de la respuesta.

A mi madre, María Luisa Manzanares, quien durante el transcurso de la maestría y la escritura de esta tesis me mantuvo en una temperatura constante, con agua y alimento *ad libitum* y ciclos regulares de luz y oscuridad.

## Contenido

Abstract .....	2
Introducción .....	4
Marco Teórico .....	5
Adolescencia.....	7
Consumo crónico y permanente de azúcar (CCPA).....	7
Aprendizaje.....	9
Vías centrales de procesamiento y aprendizaje al sabor.....	10
Estrés .....	11
Sistema noradrenérgico .....	14
Planteamiento del problema .....	16
Hipótesis.....	16
Objetivos .....	16
Métodos.....	17
Diseño experimental .....	17
Sujetos experimentales .....	17
Procedimiento.....	19
Análisis estadístico .....	22
Resultados.....	23
Discusión .....	44
Conclusiones.....	47
Anexo 1 .....	49
Referencias .....	52

## Abstract

Research on food intake in response to stress has found that hyperpalatable foods can modify this response. For example, sugar consumption decreases human cortisol levels and its equivalent corticosterone in rodents. This capacity of sugar is attributed to its nutritional content and sweet taste, which activate reward brain areas. Exacerbated activation could motivate repeated excessive sugar intake, leading to deleterious health effects. In this sense, studies in rodents show that both stress and/or sugar consumption are associated with the development of obesity. Young and adult rats exposed to stressful situations tend to increase their intake of sweet drinks for short periods. Given that stress can modify the quality and quantity of the food ingested, but the physiological mechanisms of the interaction between intake and stress are still not precise, it is essential to elucidate how it influences the chronic consumption of sugar in the appetitive response. This response includes both, new learning and relearning of the sweet taste and the new learnings, conditioned sugar taste aversion and aversive memory extinction.

It is known that the ability to associate a taste with negative consequences is weakened by pre-exposure to the same taste (e.g., latent inhibition; LI) and shortening the extinction time of the acquired aversive memory. Therefore, this thesis investigated the effect of two types of physical stressors, immobilization and electric plantar shock, on the ability to induce changes in food and liquid intake during chronic sugar consumption, total energy intake, and body weight. It also evaluated the posterior stressor effect in conditioned taste aversion (CTA) and the extinction of aversive memory. Additionally, the effect of inactivating  $\beta$ -adrenergic receptors of the insular cortex (IC) during CTA evocation was evaluated since it is a vital structure during flavor learning.

Male Wistar rats, 73 adolescents, and 122 adults, were used. The experimental groups were exposed to chronic sugar consumption for 21 days. Rats were subjected to 20 minutes of immobilization or a single plantar electric shock (1 mA/ 1s) during 6 of 21 days of sugar exposure. Subsequently, three CTA sessions were performed with their respective retrieval sessions and three aversive memory extinction sessions. For IC pharmacological evaluation, animals were infused 5  $\mu$ g/0.5  $\mu$ L of propranolol via bilateral cannulas to the IC, 30 minutes before the first evocation of the aversive memory.

The results showed that adolescent rats maintain similar body weight, and similar food and liquid intake and total energy intake during all CTA sessions and extinctions. However, restrained adolescent rats showed complete extinction of the acquired aversion memory. On the other hand, adult rats with immobilization showed lower weight gain and lower food intake, with an evident LI of CTA, contrary to immobilized rats with chronic sugar consumption, which showed a trend of lower LI of the CTA and a relative delay in the extinction of the aversion memory. On the other hand, the blockade of  $\beta$ -adrenergic receptors of IC did not produce changes in CAS evocation.

Altogether, the results indicate that, in adult rats, immobilization during chronic sugar consumption decreases the latent inhibition of conditioned taste aversion; that is, it alters the new learning and relearning of the sweet taste.

## Resumen

Las investigaciones sobre la ingesta de alimento en respuesta al estrés han encontrado que los alimentos hiperpalatables tienen la capacidad de modificar dicha respuesta. Por ejemplo, se ha evidenciado que el consumo de azúcar disminuye los niveles de cortisol en humanos y de su equivalente corticosterona en roedores. Esta capacidad del azúcar se atribuye a su aporte nutritivo y sabor dulce, que activan centros de recompensa a nivel cerebral. La activación exagerada podría motivar la ingesta repetida y excesiva de azúcar que conduce a efectos deletéreos a la salud. En este sentido, los estudios en roedores muestran que, tanto el estrés y/o el consumo de azúcar se asocian con la obesidad; las ratas jóvenes y adultas expuestas a situaciones estresantes tienden a incrementar su ingesta de bebidas dulces cuando éstas son ofrecidas por períodos cortos. Dado que se acepta que el estrés tiene la capacidad de modificar la calidad y cantidad de los alimentos ingeridos, pero aún no quedan claros los mecanismos fisiológicos de la interacción entre ingesta y estrés, es importante dilucidar la manera en que el estrés influye en la respuesta apetitiva durante el consumo crónico de azúcar. Esto incluye el aprendizaje novedoso y el reaprendizaje del sabor dulce, así como los nuevos aprendizajes de condicionamiento de aversión al azúcar y extinción de la memoria aversiva.

Se sabe que la capacidad para asociar un sabor con consecuencias negativas se debilita con la preexposición del mismo sabor (ej., inhibición latente), además de acortar el tiempo de la extinción de la memoria de aversión adquirida. Por lo tanto, esta tesis se basa en investigar durante el consumo crónico de azúcar el efecto de dos tipos de estresores físicos, la inmovilización y el choque plantar, sobre la capacidad de inducir cambios en la ingesta de alimento y líquido, la ingesta energética total y peso corporal. Así como evaluar el efecto en el condicionamiento de aversión al sabor (CAS) y la extinción de la memoria aversiva. Adicionalmente, se evaluó el efecto de la inactivación de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos de la corteza insular (CI) durante la evocación del CAS, ya que es una estructura vital durante el aprendizaje del sabor.

Se utilizaron ratas Wistar macho, adolescentes y adultas; los grupos experimentales fueron expuestos a consumo crónico de azúcar durante 21 días. Las ratas fueron sometidas durante 20 minutos a inmovilización o un solo choque eléctrico plantar (1 mA/ 1s) durante 6 de los 21 días de exposición al azúcar. Posteriormente, se realizaron 3 sesiones de CAS con sus respectivas sesiones de evocación y 3 sesiones de extinción de la memoria aversiva. Para la evaluación farmacológica en la CI se realizaron inyecciones a través de cánulas bilaterales a la CI de 5  $\mu$ g/0.5  $\mu$ L de propranolol 30 minutos antes de la primera evocación de la memoria aversiva.

Los resultados mostraron que las ratas adolescentes mantienen un peso corporal, ingesta de líquido y alimento e ingesta energética total similares, así como consumos similares durante todas las sesiones de CAS y extinciones. Sin embargo, las ratas adolescentes que fueron inmovilizadas presentaron una completa extinción de la memoria de aversión adquirida. Por otra parte, las ratas adultas con inmovilización mostraron menor ganancia de peso y menor ingesta de alimento, con una evidente IL de CAS; al contrario de las ratas inmovilizadas con consumo crónico de azúcar, que mostraron una tendencia de menor IL del CAS y un relativo retardo en la extinción de la memoria de aversión. Por otra parte, el bloqueo de receptores  $\beta$ -adrenérgicos de la CI no produjo cambios en la evocación del CAS. En conjunto los resultados indican que, en ratas adultas, la inmovilización durante el consumo crónico de azúcar disminuye la inhibición latente del CAS, es decir altera el nuevo aprendizaje y reaprendizaje del sabor dulce.

## **Introducción**

Las estrategias de salud pública que buscan combatir el sobrepeso y la obesidad se enfocan en la dietoterapia y la actividad física omitiendo otros factores que influyen en el rompimiento del equilibrio energético, como por ejemplo el estrés. El término “estrés” engloba cualquier estímulo capaz de provocar una respuesta biológica. Es así como se ha estudiado la ingesta de alimento en respuesta al estrés, encontrando que los alimentos hiperpalatables tienen la capacidad de interactuar con dicha respuesta. Por ejemplo, se ha evidenciado que el consumo de azúcar disminuye los niveles de cortisol en humanos y de su equivalente corticosterona en roedores (Ortolani et al., 2011). Esta capacidad del azúcar se atribuye a su aporte nutritivo y sabor dulce que activan centros de recompensa a nivel cerebral (Avena et al., 2008). Esta activación podría actuar como un estímulo apetitivo y motivar la ingesta repetida de azúcar que conduce a efectos deletéreos a la salud, incluyendo la disminución en el aprendizaje y la memoria (Francis & Stevenson, 2011; Noble et al., 2019).

Los estudios en roedores muestran que, por sí solos, ni el estrés ni el consumo de azúcar provocan ganancias de peso, sin embargo, ambos se asocian positivamente con la obesidad (Markus et al., 2017). Dado que se acepta que el estrés tiene la capacidad de modificar la calidad y cantidad de los alimentos ingeridos (de Souza et al., 2020), es importante dilucidar la manera en que influye en el consumo crónico de azúcar y en los aprendizajes posteriores del sabor dulce, incluyendo el condicionamiento aversivo y su extinción.

## Marco Teórico

La doble carga de la malnutrición es un problema de salud pública que en nuestro país genera pérdidas cercanas al 2.3% del Producto Interno Bruto, atribuibles en su mayoría a la diada formada por el sobrepeso y la obesidad (Fernández A. et al., 2017). En el entendimiento de que la causa de ambas condiciones es una ingesta calórica que supera el gasto, el grueso de los esfuerzos para evitar su desarrollo se ha encaminado a conservar el equilibrio energético por medio de intervenciones dietéticas y actividad física, ya sea de forma independiente o en diferentes combinaciones, omitiendo profundizar en otros factores que influyen en su desarrollo, como el nivel de bienestar y la edad del sujeto (Gaona-Pineda et al., 2018).

Para diseñar intervenciones integrales en atención al sobrepeso y obesidad se deben conocer los mecanismos y los factores involucrados que influyen en la pérdida del equilibrio energético. Diversas investigaciones han sustentado la influencia del carácter hedónico de los alimentos, aduciendo que la activación de los centros de recompensa motiva a que la persona repita el consumo de productos palatables (alimento agradable al paladar), generalmente hipercalóricos (Saper et al., 2002). Otras evidencias sugieren que los individuos seleccionan sus alimentos basados en sus emociones y utilizan el término "alimentación emocional", que originalmente designaba a la ingesta de alimentos surgida en respuesta a emociones negativas o estrés (Faith et al., 1997) y en la actualidad incluye emociones positivas (Rojas Ramírez & García-Méndez, 2017). Así, la alimentación emocional se asocia positivamente con escasa conciencia corporal, alexitimia elevada y estrategias de regulación emocional deficientes y se ha propuesto como un eslabón entre la depresión y la obesidad (van Strien, 2018), aunque los estudios en humanos se han realizado mayormente por medio de escalas tipo *likert* o encuestas autorreportadas (Rojas Ramírez & García-Méndez, 2017; van Strien, 2018). También se ha generalizado el término en

inglés “*comfort food*”, para designar el carácter reconfortante de los alimentos hiperpalatables, cuyo consumo se ha asociado con una disminución plasmática de los niveles de cortisol y una disminución percibida del estrés (Ulrich-Lai et al., 2015).

En roedores se ha generado una gran cantidad de evidencia que correlaciona el estrés con la alteración de patrones de alimentación y la tendencia a elegir alimentos hiperpalatables, caracterizados por la presencia de azúcar, grasas y combinaciones de ambos macronutrientes. La ingesta de dichos alimentos se asocia con la disminución de comportamientos relacionados con ansiedad y desesperanza aprendida, y disminución en los niveles plasmáticos de corticosterona (Ulrich-Lai et al., 2015).

Por ejemplo, la ingesta limitada de solución de sacarosa al 30%, un modelo en que las ratas tienen acceso dos veces al día a 4 ml de agua azucarada durante 30 minutos por 2 a 4 semanas, disminuye los comportamientos relacionados con la ansiedad ante diversos paradigmas, la respuesta ante el estrés agudo emitida por el eje Hipotálamo Hipófisis Adrenal (**HPA**) y la taquicardia inducida por restricción de movimiento (Ulrich-Lai et al., 2015). Además, se ha demostrado que el consumo de bebidas con sacarina reduce los niveles plasmáticos de hormona adrenocorticotrópica (**ACTH**) luego del estrés por inmovilización, reforzando la hipótesis de que el sabor dulce tiene efectos reconfortantes en ausencia del componente energético (Ulrich-Lai et al., 2010).

Estos efectos “pacificadores” del sabor dulce podrían explicar, en humanos, el consumo elevado de azúcares y bebidas endulzadas que afecta principalmente a niños y adolescentes (Fidler Mis et al., 2017).

## ***Adolescencia***

La Organización Mundial de la Salud unificó los términos juventud y adolescencia para designar al período de cambios biológicos, psicológicos y sociales, comprendido entre los 10 y los 24 años. Así mismo, reconoció la existencia de factores individuales y sociales que vuelven a los adolescentes vulnerables ante los problemas emocionales y el estrés psicológico (OMS, 1986). En este grupo etario el factor emocional parece contribuir en la selección de la calidad y cantidad de alimentos, por ejemplo, se ha descrito una relación entre la ingesta de alimentos en ausencia de hambre y el efecto negativo y el aburrimiento en un grupo de 200 estudiantes con edad media de 20 años (Pérez-Morales et al., 2014).

Aunque el comportamiento alimentario de los adolescentes se ha estudiado en extenso, una limitante para la validez de los hallazgos es que la mayoría de las publicaciones se basan en encuestas que reportan conductas auto-percibidas y/o aproximaciones de los alimentos consumidos. Lo anterior justifica la utilización de animales de laboratorio para lograr un entendimiento de dicho comportamiento, especialmente cuando se involucran alimentos cuyo consumo prolongado es riesgoso para la salud, como en el caso del azúcar; al respecto, los modelos más utilizados para el estudio de la adolescencia son los primates no humanos y los roedores.

Para distintas cepas de rata, incluyendo la Wistar, se ha señalado que la adolescencia transcurre entre los 28 y 42 días post natales (**DPN**) (Spear, 2000), aunque otros autores consideran su etapa final entre los 50 y 60 DPN (Romeo et al., 2016).

### ***Consumo crónico y permanente de azúcar (CCPA)***

Se ha propuesto que el acceso crónico de azúcar promueve cambios cerebrales y del comportamiento similares a los inducidos por drogas de abuso (Corwin et al., 2011). El azúcar posee características recompensantes tanto por su cualidad nutritiva como por su palatabilidad y

su consumo excesivo podría derivar en cambios en el sistema de recompensa que desencadenen una sobre ingesta compulsiva en humanos (Markus et al., 2017) ya que se ha probado que modifica los procesos de aprendizaje y memoria al sabor dulce en animales (Vera-Rivera et al., 2018). En roedores jóvenes, se ha reportado que el consumo de azúcar tiene efectos negativos en el hipocampo, perjudicando el aprendizaje espacial y la memoria episódica (Noble et al., 2019).

Entre los modelos estudiados de consumo crónico de azúcar en ratas se encuentran la ingesta limitada de azúcar (Ulrich-Lai et al., 2015) y el CCPA que consiste en ofrecer *ad libitum* una solución de sacarosa al 10% durante 14 o 21 días (Caynas-Rojas et al., 2019; Vera-Rivera et al., 2018). A estos esquemas pueden sumarse diversas tareas para evaluar los efectos de la ingesta de azúcar sobre el aprendizaje y la memoria.

Al investigar el consumo de bebidas azucaradas en ratas durante 14 días se demostró que a medida que éste aumenta disminuye el consumo de alimento sólido (Caynas-Rojas et al., 2019; Vera-Rivera et al., 2018) y este cambio provoca resultados diferentes en el peso corporal; en un estudio se encontró que tanto la ingesta calórica como el peso de las ratas que consumieron agua con sacarosa fueron mayores respecto al grupo que solo consumió agua y el grupo que consumió agua con sacarina (Vera-Rivera et al., 2018), mientras que otro estudio no encontró diferencias entre el peso corporal final de las ratas que consumieron azúcar y las que consumieron agua (Caynas-Rojas et al., 2019). Anteriormente, un estudio que utilizó el modelo ingesta limitada de azúcar encontró que únicamente el grupo que ingería sacarosa redujo la ingesta de alimento sólido, manteniendo una ingesta calórica y peso similar a los grupos con consumo de sacarina y consumo de agua (Ulrich-Lai et al., 2010).

## ***Aprendizaje***

Con algunas variaciones, el término aprendizaje hace referencia a un cambio en la conducta en respuesta a las experiencias adquiridas, y se encuentra vinculado a la memoria, que es la capacidad de generar representaciones internas duraderas en el cerebro y evocar dichas representaciones, conocidas como conocimiento y/o experiencia (Dudai, 2002).

Entre los aprendizajes que pueden estudiarse con CCPA se encuentran los siguientes:

**Aprendizaje apetitivo.** Es un tipo de aprendizaje asociativo en el que el estímulo condicionado adquiere un significado motivacional y suele expresarse como un aumento en la conducta (Martin-Soelch et al., 2007).

**Aprendizaje aversivo.** Tipo de condicionamiento en el que “un estímulo neutral (condicionado) es presentado con un estímulo incondicionado que genera aversión”. En respuesta, los animales actúan evitando el daño de manera activa o pasiva (Campese et al., 2016).

***Condicionamiento de Aversión al Sabor (CAS).*** Condicionamiento clásico asociativo que se genera al exponer al sujeto a un nuevo sabor seguido de la inducción de dolor abdominal; por ejemplo, experimentalmente, la nocicepción se consigue inyectando cloruro de litio (**LiCl**) por vía intraperitoneal (Garcia & Koelling, 1967).

***Inhibición latente del CAS.*** Se conoce como inhibición latente (**IL**) a la reducción en la respuesta condicionada inducida por un estímulo y se genera cuando el sujeto se ha expuesto previamente a dicho estímulo (Lubow & Moore, 1959). La exposición a un sabor que no va acompañado de un estímulo aversivo provoca IL cuando se pretende generar un CAS a dicho sabor (Revusky & Bedarf, 1967) y en el caso del sabor dulce, se demostró que, tras 14 días de consumo permanente, tanto la sacarina como la sacarosa indujeron IL a su respectivo sabor. Además, el 55%

de las ratas que consumieron sacarosa requirieron más de cuatro reaprendizajes para lograr la asociación aversiva y lo mismo pasó con el 33% de las ratas expuestas a sacarina (Vera-Rivera et al., 2018).

Operacionalmente, se considera que existe IL cuando el consumo de líquido en la sesión de evocación es igual o menor al 50% del líquido consumido durante la sesión de adquisición.

**Extinción de la memoria aversiva.** Se trata de un proceso de “nuevo” aprendizaje y de re-aprendizaje, manifestado por reducción en la respuesta observada durante la evocación de la memoria (Long & Fanselow, 2012) que se consigue presentando el estímulo condicionado en sesiones repetidas sin la compañía del estímulo aversivo (Bouton, 2000).

### *Vías centrales de procesamiento y aprendizaje al sabor*

#### **Corteza Insular**

La Corteza Insular (**CI**) forma parte de la corteza cerebral y posee conexiones recíprocas con el sistema límbico; humanos y roedores comparten muchas de sus características anatómicas y funcionales. En roedores se ubica en la parte lateral del hemisferio, comúnmente encima de la fisura rinal (sulcus rhinalis) y se subdivide histológicamente en las áreas agranular, disgranular y granular. La CI posee áreas sensoriales multimodales conocidas como corteza visceral, corteza gustativa, campo auditivo y campo somatosensorial (Gogolla, 2017).

La CI es la estructura más alta jerárquicamente en la vía interoceptiva (Aguilar-Rivera et al., 2020), recibe estimulación aferente colinérgica, dopaminérgica, serotoninérgica y noradrenérgica, entre otras (Gogolla, 2017). La CI responde a la estimulación visceral y se encuentra involucrada en el procesamiento del sabor (Moraga-Amaro et al., 2014), el dolor (Segerdahl et al., 2015) y la emoción (Lamm & Singer, 2010).

Respecto al sabor, se ha probado la participación de la CI en el condicionamiento aversivo demostrando que las lesiones en la corteza gustatoria impiden que la adquisición se lleve a cabo (Bureš et al., 1988).

Existe una amplia evidencia de la neuroquímica asociada al CAS y su IL, por ejemplo, se ha estudiado la participación de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos de la CI en el condicionamiento inyectando propanolol (antagonista competitivo que bloquea a los receptores  $\beta_1$  y  $\beta_2$ ) en la CI de ratas antes o después de someterlas al paradigma de evitación inhibitoria o a la IL de dicho paradigma, demostrando que la activación de los receptores es importante para la adquisición y la presencia de IL, ya que permiten la asociación entre los estímulos condicionados e incondicionado en el condicionamiento clásico (Miranda et al., 2011).

### ***Estrés***

El término estrés engloba cualquier estímulo de naturaleza intrínseca o extrínseca capaz de generar una respuesta biológica. Sus efectos en el cuerpo dependen de la intensidad y duración del estímulo (Yaribeygi et al., 2017). El estrés puede inducir variaciones en la ingesta y preferencia de alimento, en las que influyen tanto las características del estresor como las del alimento disponible (Ulrich-Lai et al., 2015). En roedores, se ha reportado retardo en el inicio de la ingesta y reducción de la cantidad de alimento ingerida después de la aplicación del estresor (de Souza et al., 2020; Halataei et al., 2011). Cuando se permite al animal optar por la dieta estandarizada u otra dieta alta en grasa (de Souza et al., 2020; Hu et al., 2013) o por comida dulce (de Lima et al., 2020), se ha encontrado un incremento de la preferencia por las opciones hiperpalatables (de Lima et al., 2020; de Souza et al., 2020).

En cuanto al consumo de bebidas azucaradas, un estudio demostró que el estrés juvenil disminuyó la preferencia por sacarina en la adultez en ratas hembra y el estrés en la adultez

ocasiono el mismo efecto en ambos sexos (Horovitz et al., 2014). Existe consenso de que las ratas adultas sometidas a estrés presentan una menor ganancia de peso (de Lima et al., 2020; de Souza et al., 2020), aunque posteriormente alcanzan a los controles. Esta recuperación se asocia con acumulación de grasa visceral y resistencia a la insulina, tanto en humanos como en roedores (Hu et al., 2013).

En ratas Sprague–Dawley adolescentes sometidas a estrés repetido por inmovilización entre los DPN 28 a 48, se encontró una reducción significativa en la ganancia de peso, aunque no se modificó el tiempo que las ratas dedicaron a alimentarse (Klein et al., 2010). La reducción en la ingesta de bebidas azucaradas en presencia de estrés crónico leve se considera indicativo de anhedonia y contribuye a validar modelos de depresión en ratas (Bergström et al., 2007). Sin embargo, en ratas hembra Sprague–Dawley adolescentes sometidas a inmovilización en diferentes condiciones de interacción social no se registraron cambios entre los consumos de sacarosa previo y posterior a la aplicación del estresor (Lee & Noh, 2015). En ratas macho se comparó el consumo de sacarosa al 1% durante la adolescencia (DPN 46) y la adultez (DPN 70) en las mismas ratas utilizando inestabilidad social como estresor y se encontró que al competir por sacarosa contra el compañero de jaula, las ratas estresadas tuvieron mayor consumo que sus respectivos controles y los adolescentes mayor consumo que los adultos (Marcolin et al., 2019).

### **Efectos del estrés durante el aprendizaje y la memoria**

Al evaluar el efecto del estrés sobre el aprendizaje se ha encontrado que este difiere en función de la fase de formación de memoria en que es aplicado. En estudios clásicos de evitación inhibitoria con ratas se demostró que la inyección de corticosterona en dosis moderadas poco después del entrenamiento es capaz de fortalecer la memoria a largo plazo (Kovacs, 1977;

Roozendaal & McGaugh, 1996). También se ha comprobado que la adrenalectomía perjudica la formación de la memoria y la adquisición (Roozendaal et al., 1996).

Sumado a lo anterior, existe evidencia de que los agonistas de receptores de glucocorticoides son capaces de mejorar la formación de memoria cuando son aplicados tanto en la amígdala (Introini-Collison et al., 1991) como en el hipocampo, donde también favorecen la consolidación (Roozendaal & McGaugh, 1997).

Respecto a la evocación de la memoria, se ha encontrado que al evaluar una tarea entrenada 24 h antes, las ratas muestran un menor desempeño cuando sus niveles de corticosterona se encuentran elevados, por ejemplo, al aplicar choque plantar 30 minutos antes de la evaluación (De Quervain et al., 1998). Además, se demostró que el estrés afecta la memoria de trabajo de manera transitoria, sin provocar amnesia (Diamond et al., 1996)

Para estudiar los efectos del estrés se utilizan diferentes tipos de estresores, entre los que se encuentran:

***Choque eléctrico plantar.*** Este método fue utilizado por Halataei y colaboradores (2011) brindando una descarga de 40 mV durante 10 segundos por 7 días consecutivos a ratones macho Swiss-Webster provocando una elevación plasmática de corticosterona.

***Separación materna.*** de Souza, J. A. y su quipo (2020) utilizaron este modelo retirando a la madre durante 3 horas cada día del período de lactancia, posteriormente encontraron diferencias en la prueba de ansiedad respecto al grupo control. Una variación de este estresor es la “deprivación materna”, en la cual la madre es retirada durante 24 h (de Lima et al., 2020).

***Estrés por alimento.*** Consiste en colocar un alimento palatable lo suficientemente cerca del animal para que pueda verlo y olerlo, pero no consumirlo. Después del periodo de exposición,

el animal tiene acceso al alimento durante un tiempo limitado en los días designados por el investigador (Cifani et al., 2009; de Souza et al., 2020).

***Inmovilización.*** Se realiza con distintos métodos, comúnmente, se coloca al animal en una caja justa para su tamaño corporal durante el tiempo designado por el investigador. Seewoo y colaboradores (2020) validaron un modelo en que se introduce al animal en un tubo transparente durante 2.5 h por 13 días consecutivos logrando un decremento en el volumen del hipocampo, entre otros efectos.

Otra manera de inmovilizar a las ratas es mediante el Decapicone®, esta bolsa cónica flexible ha sido utilizada para inducir estrés moderado en ratas hembra cuando se introducen por 5 minutos (Uphouse et al., 2008).

## **Vías corticales**

### ***Sistema noradrenérgico***

**Generalidades.** El locus coeruleus concentra la mayor cantidad de neuronas noradrenérgicas. Aunque en el humano está formado por aproximadamente 15 mil neuronas y en las ratas por 150 neuronas, sus axones se proyectan ampliamente a casi todo el Sistema Nervioso Central con especificidad hacia las estructuras corticales y subcorticales y excepción de los ganglios basales (Berridge & Waterhouse, 2003). Los estímulos sensoriales prominentes que predicen recompensa activan al LC, sugiriendo que tiene una participación compleja en el sostenimiento de la atención y, por ende, se relaciona con la corteza prefrontal y la cognición (Borodovitsyna et al., 2017).

La activación de receptores  $\beta$ -adrenérgicos en el hipocampo es necesaria para la consolidación y recuperación de las memorias contextual y espacial; también tiene participación

en la memoria contextual de temor y promueve tanto la potencialización como la depresión a largo plazo en las sinapsis hipocampales (Borodovitsyna et al., 2017). El propranolol, se utilizó para demostrar la participación de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos de la corteza prefrontal medial en el establecimiento de memorias de corto y largo plazo para el CAS, encontrando que el bloqueo de estos receptores inhibe la recuperación de memorias aversivas, pero no afecta el reconocimiento del sabor (Reyes-López et al., 2010).

### **Corticosterona.**

La corticosterona es el glucocorticoide primario de diferentes vertebrados incluyendo ratas (Katsu & Baker, 2021), considerado equivalente al cortisol en humanos. Se sintetiza en la corteza suprarrenal y su secreción es estimulada por la ACTH proveniente de la adenohipófisis que, a su vez, requiere de la hormona liberadora de corticotropina (**CRH**) para ser liberada. La concentración plasmática de corticosterona se eleva en situaciones de estrés, condición en la cual tiene efectos sobre las reservas energéticas, la respuesta inmune y la memoria (Joëls et al., 2018).

La susceptibilidad a ACTH parece diferir con la edad; un estudio en que fue administrada de forma exógena a ratas Sprague-Dawley encontró que niveles menores de esta hormona se asociaron con mayores niveles de corticosterona en las ratas de 30 días de edad, pero no en las de 70 días (Romeo et al., 2016).

Se ha demostrado que los niveles plasmáticos de corticosterona en ratas varían con relación a la composición de los alimentos ingeridos, por ejemplo, se han encontrado niveles más bajos en ratas sometidas a estrés que consumieron “*comfort food*” en comparación con los que recibieron alimento regular (Ortolani et al., 2011). Además, hay evidencias que una solución de sacarosa reduce la elevación esperada de corticosterona después de la inmovilización cuando es tomada

pero no cuando es administrada por sonda, sugiriendo que el sabor dulce participa en la modulación (Ulrich-Lai et al., 2010).

### **Planteamiento del problema**

En ratas adultas, el consumo crónico y permanente de azúcar dificulta el aprendizaje aversivo hacia el sabor dulce. Por otro lado, la aplicación de estresores incrementa los niveles plasmáticos de corticosterona, ambos afectan la preferencia por bebidas endulzadas y, particularmente, la inmovilización promueve una disminución en la ganancia de peso. Los resultados sobre el efecto del estrés en el consumo de azúcar en ratas adolescentes no son concluyentes.

Por lo anterior, es importante evaluar el efecto del estrés periódico durante el consumo crónico (21 días) de azúcar sacarosa, así como en el aprendizaje aversivo del sabor dulce y su extinción en ratas adolescentes y adultas.

### **Hipótesis**

El estrés periódico durante el consumo crónico y permanente de azúcar en ratas macho provocará cambios dependientes de la edad en el peso corporal, las ingestas de líquido y alimento y la ingesta energética total. Además, alterará de manera diferencial la inhibición latente del aprendizaje aversivo al sabor dulce y el proceso de extinción de la memoria de aversión.

### **Objetivos**

1. Evaluar el efecto del estrés periódico producido por choque eléctrico o la inmovilización en ratas, los cambios en el consumo crónico y permanente de azúcar, el peso corporal, la ingesta de líquidos, la ingesta de alimentos y la ingesta energética total durante 21 días; y su posterior efecto en la inhibición latente del

condicionamiento de aversión al sabor y en el proceso de extinción de la memoria de aversión.

1.1. En ratas adolescentes

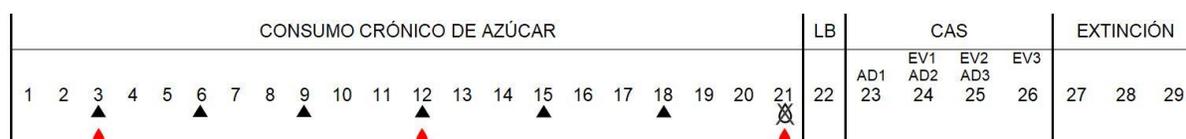
1.2. En ratas adultas

1.3. Corroborar los cambios en los niveles de corticosterona en sangre inducidos por choque eléctrico o inmovilización.

## Métodos

### *Diseño experimental*

El protocolo experimental, se muestra en la **Figura 1**.



**Figura 1.** Protocolo de consumo crónico y condicionamiento de aversión al sabor (CAS). Aplicación del estresor (triángulos), privación de líquidos (gota cancelada), toma de muestra sanguínea (gota roja). LB: línea base, CAS: condicionamiento de aversión al sabor, AD: adquisición, EV: evocación.

### *Sujetos experimentales*

Se utilizó un total de 195 ratas macho Wistar, 73 adolescentes (37 DPN) y 122 adultas (72 DPN), estas últimas distribuidas de la siguiente manera: 94 para el experimento de consumo crónico de azúcar y 28 para manipulación  $\beta$ - adrenérgica (**Anexo1**). Los análisis estadísticos incluyeron los datos de 118 ratas que completaron los protocolos. Se descartaron los datos de 77 ratas, por razones de salud o ubicación de cánulas. Todas las ratas fueron obtenidas de la colonia reproductora del bioterio del Instituto de Neurobiología, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) campus Juriquilla, Querétaro. Las ratas se colocaron individualmente en cajas de acrílico (45 x 25 x 20 cm) en una habitación con temperatura constante de  $23 \pm 2$  °C y ciclo de luz invertido de 12 h luz/ 12 h oscuridad, con agua y alimento *ad libitum* hasta el inicio de los

procedimientos conductuales. Todos los experimentos fueron realizados durante la fase oscura, entre las 12:00 y 14:00 h. Los procedimientos fueron aprobados por el Comité de Bioética del Instituto de Neurobiología de la UNAM con el número de proyecto 007 y estuvieron en concordancia con la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999: Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

Para lograr el objetivo, se realizaron 3 experimentos, en los cuales las ratas fueron asignadas a los grupos acorde a la **Tabla 1**:

1. Efecto del estrés en el CCPA, IL- CAS y Extinción en ratas adolescentes.
2. Comparación de grupos con CCPA y distintos estresores.
3. Comparación con inmovilización como único estresor.

	Experimento 1	Experimento 2	Experimento 3
<b>Grupo</b>	Adolescentes n=36	Adultos n=29	Adultos n=60
Control CAS (intacto)	-	-	12
Control CAS	-	-	12
CAS inmovilización	-	-	12
Control CCPA	16	12*	12
CCPA inmovilización	10	9*	12
CPPA choque plantar	10	8	-

**Tabla 1.** CAS: azúcar novedosa, Intacto: sin corte/sangrado, CCPA: consumo crónico y permanente de azúcar. Control: libre de estrés. "Inmovilización" y "choque plantar" indican el estresor aplicado. Todos los grupos, excepto el "intacto" tuvieron toma de muestra sanguínea vía corte de la cola. \*Datos utilizados en el Experimento 3.

## ***Procedimiento***

### **Consumo crónico y permanente de azúcar.**

Las ratas tuvieron acceso *ad libitum* durante 21 días a un bebedero con capacidad de 500 g lleno de agua con azúcar al 10% peso/volumen. La cantidad de líquido consumido se calculó pesando la botella y restando del peso registrado el día anterior.

La ingesta energética total se calculó sumando las calorías provenientes de alimento sólido, obtenidas con la fórmula [(g de alimento x 3.36 kcal/peso de rata) x1000] a las calorías de agua azucarada obtenidas con la fórmula [(g de agua dulce x 0.4 kcal/peso de rata) x1000].

### **Aplicación de estresor.**

***Inmovilización.*** Las ratas se colocaron durante 20 minutos dentro de un Decapicone®, al que previamente se le amplió la apertura de respiración. El periodo de inmovilización transcurrió en la caja individual y en la ubicación habitual.

***Choque plantar.*** Las ratas recibieron una descarga con intensidad de 1 mA durante 1 s, colocándolas directamente en el compartimento oscuro de un aparato de entrenamiento de evitación inhibitoria.

### **Determinación de corticosterona.**

#### ***Obtención de suero.***

Con base en la evidencia de que los niveles plasmáticos de corticosterona son significativamente mayores que los basales hasta 45 minutos después de terminada la inmovilización o el choque plantar (García et al., 2000), se determinó realizar la obtención de sangre 30 minutos después de concluir la aplicación del estresor. Para ello, se inmovilizó a las ratas por aproximadamente 2 minutos con Decapicone® y se realizó un corte diagonal cercano al extremo de la cola. Se obtuvo aproximadamente 1 ml de sangre que se dejó reposar al menos 25

minutos. Posteriormente, se centrifugó a 5000 r/m con temperatura de 4°C durante 20 minutos. Se desechó la fracción roja y se congeló la muestra a -70°C.

### *Ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA)*

Se realizó utilizando un kit ELISA para corticosterona ADI-900-097 del laboratorio Enzo LifeSciences siguiendo las instrucciones del fabricante para el manejo de muestras pequeñas y se realizó la lectura a 415 nm.

### *Condicionamiento de aversión al sabor y extinción de la memoria aversiva.*

Al término del consumo crónico (día 21, **Fig. 1**), las ratas se privaron de líquidos durante 18 horas y, posteriormente se registró una línea base (LB) ofreciendo a cada rata una probeta con 40 ml de agua simple o azucarada (según su grupo) durante 20 minutos y midiendo el consumo.

El procedimiento se repitió a las 24 horas y, 30 minutos después del consumo, cada rata recibió una inyección intraperitoneal de LiCl (cloruro de litio SIGMA®, en dilución de 127 mg/10 ml de agua desionizada, osmolaridad 0.3, volumen de inyección: 3 ml) para obtener la primera adquisición (ADQ) y 24 horas después se realizó la primera evocación (EVO) volviendo a registrar el consumo de agua azucarada, este procedimiento se repitió dos veces más para un total de 3 adquisiciones y 3 evocaciones, ya que está demostrado que las ratas expuestas a consumo crónico y permanente de azúcar requieren hasta 4 adquisiciones o más para lograr la asociación aversiva (Vera-Rivera et al., 2018).

Posteriormente, se realizaron tres sesiones de extinción de memoria aversiva, en las cuales las ratas bebieron el agua azucarada sin recibir el estímulo aversivo de inyección de LiCl.

### **Cirugía (Anexo 1).**

Las ratas fueron anestesiadas con una solución preparada con 1 ml de Zoletil + 0.8 ml de Xilacina + 1.2 ml de solución salina, inyectada en volumen de 1 ml/ kg. Posteriormente, se colocaron en un aparato estereotáxico en el cual, siguiendo las coordenadas AP + 1.2, ML  $\pm$  5.2 y DV -4 con respecto a Bregma para llegar a la CI (Paxinos & Watson, 2014), se implantaron bilateralmente cánulas de acero inoxidable con longitud de 12 mm y calibre 23 que fueron fijadas mediante 2 tornillos de acero yacrílico dental. Al término del procedimiento, las ratas recibieron una dosis de 5 mg/kg del analgésico tramadol y se les dejó en recuperación durante 7 días.

### **Inyecciones en la corteza insular (Anexo 1).**

Se utilizaron jeringas Hamilton de 10  $\mu$ l a las cuales se les colocaron inyectores de acero calibre 30 con longitud de 14 mm y fueron conectadas a una bomba de inyección automática KdScientific. 20 minutos antes de la Adquisición 1, cada rata fue inyectada bilateralmente durante un minuto con 5  $\mu$ g/0.5  $\mu$ L de propanolol o 0.5  $\mu$ L de solución salina, según su grupo. El inyector se mantuvo en posición 1 minuto extra para permitir la difusión del fármaco. Los procedimientos de adquisición, evocación y extinción sucedieron conforme a lo descrito previamente.

### **Análisis histológico (Anexo 1).**

Veinticuatro horas después de la última extinción, las ratas recibieron una dosis letal de pentobarbital sódico (1ml/0.5kg) seguida de perfusión intracardiaca con solución salina al 9%. El cuerpo fue decapitado y el cerebro conservado por 3 días en solución de formaldehído al 10% y 3 días más en solución de sacarosa al 30%. Después, con un microtomo se realizaron cortes coronales de 50  $\mu$ m de espesor abarcando toda la longitud anteroposterior de la CI, que fueron colocados en portaobjetos y secados a temperatura ambiente por 3 a 5 días. Posteriormente, se

tiñeron con violeta de Cresilo y se revisaron bajo luz estereoscópica para evaluar el sitio de implantación de las cánulas conforme a las coordenadas estereotáxicas (Paxinos & Watson, 2014).

### ***Tinción con Violeta de Cresilo (Anexo 1).***

Previamente se disolvieron 1.25 g de violeta en 500 ml de alcohol al 25% y la mezcla se dejó en agitación por 24 horas. Las laminillas con los cortes se incubaron en cloroformo durante 25 minutos y pasaron a un tren de tinción con la siguiente secuencia: 2 minutos en alcohol al 25%, 25 minutos en violeta de Cresilo, 30 segundos en alcohol al 50%, 1 minuto en alcohol al 70%, 40 segundos en solución diferenciadora (alcohol al 70% con ácido acético glacial), 20 segundos en alcohol al 95%, 1 minuto en alcohol absoluto, 1 minuto en solución 1:1 de alcohol y xilol, 2 minutos en xilol.

### ***Análisis estadístico***

Por medio del software GraphPad Prism versión 9.5.1 (San Diego, CA. EE.UU.) se realizaron, primero, las pruebas de normalidad D'Agostino y Pearson y Shapiro-Wilk para evaluar la distribución de los datos y, posteriormente, el análisis paramétrico con ANOVA de dos vías de medidas repetidas y, de ser el caso, prueba post hoc de Tukey, que permite comparar las medias de todos los grupos. Además, se utilizó la prueba de Dunnett de comparaciones múltiples para evaluar las diferencias intragrupo durante las sesiones de condicionamiento aversivo y las extinciones, ya que esta prueba permite comparar las medias contra un grupo control, que en este caso fueron sesiones control: la primera adquisición y la primera evocación. Para la significancia de las diferencias se consideró el valor  $p < 0.05$ . Todos los resultados se expresan como medias  $\pm$  errores estándar de la media (EEM).

## **Resultados**

### **1.1 Experimento 1. Efecto del estrés en el CCPA, IL- CAS y Extinción en ratas adolescentes.**

Los resultados muestran que durante el CCPA todas las ratas adolescentes mantuvieron una ganancia de peso en porcentaje constante, similar entre los grupos y, tanto las ingestas de líquido y alimento como la ingesta energética total, también fueron similares entre los grupos.

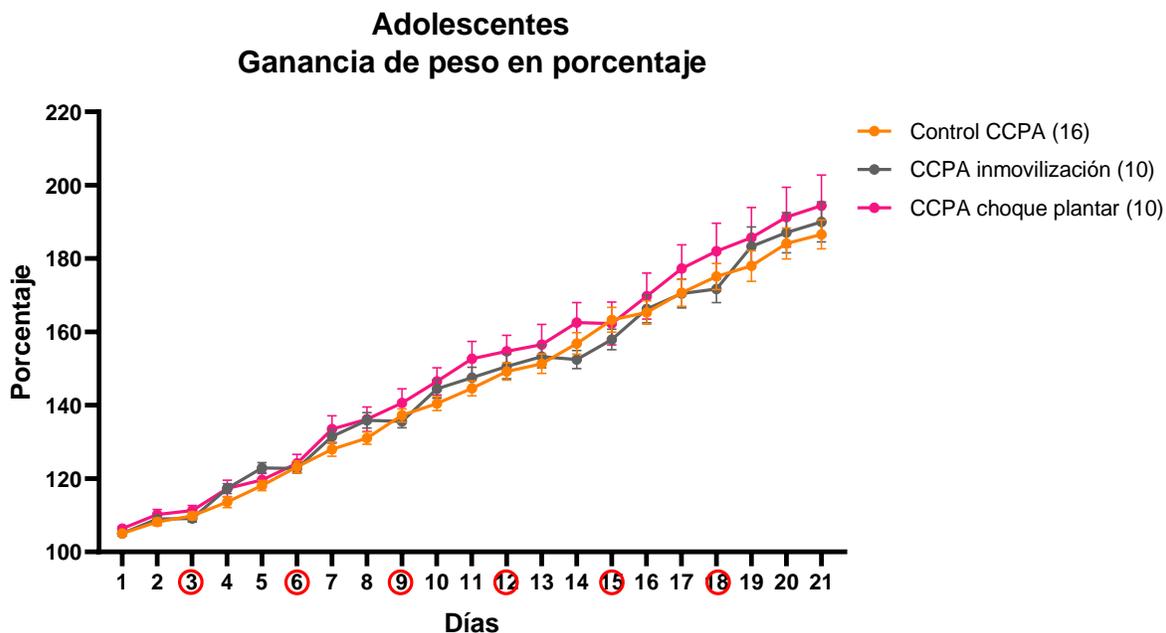
La segunda toma de muestra sanguínea (día 12) ocasionó una ligera disminución en los consumos de líquido y alimento en los grupos estresados el día 13.

En cuanto a la ganancia de peso en porcentaje con respecto al peso inicial, la prueba ANOVA de 2 vías no reveló diferencias por grupo ( $F_{2, 33} = 0.6006$ ,  $p=0.5544$ ), pero sí diferencias significativas entre días ( $F_{1,399, 46.18} = 578.3$ ,  $p<0.0001$ ), sin interacción ( $F_{40, 660} = 1.176$ ,  $p=0.2152$ ) (**Fig.2**).

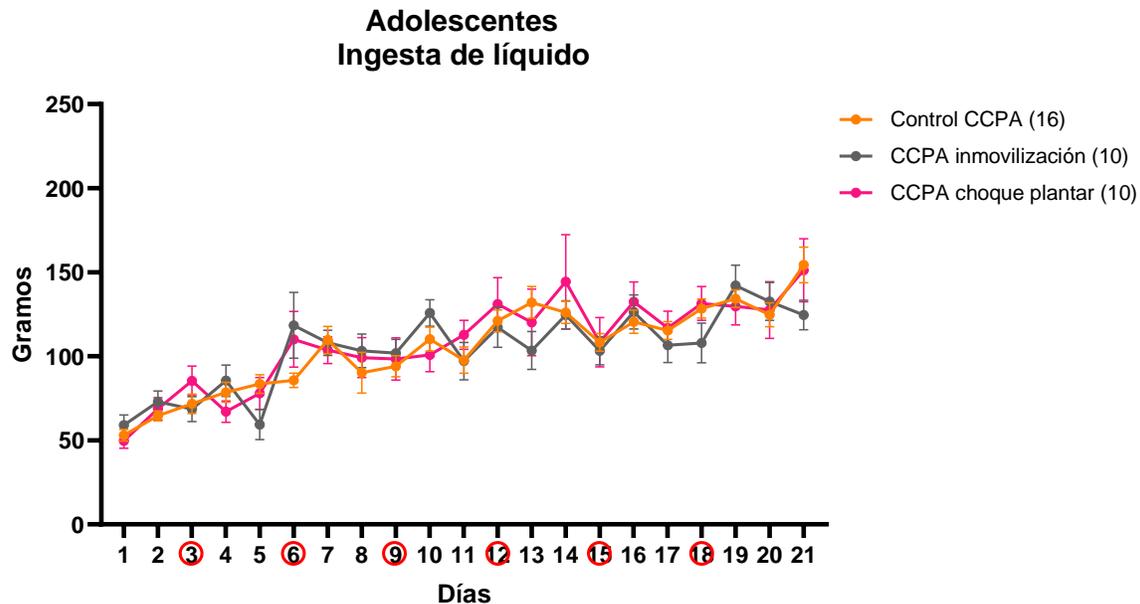
Respecto a la ingesta de líquido (**Fig.3**), el mismo análisis, no mostró diferencia por grupo ( $F_{2, 33} = 0.08770$ ,  $p=0.9162$ ) pero sí diferencias significativas entre días ( $F_{8,055, 265.8} = 28.59$ ,  $p<0.0001$ ) así como interacción ( $F_{40, 660} = 1.476$ ,  $p=0.0316$ ).

Al analizar la ingesta de alimento (**Fig. 4**), la ANOVA de 2 vías reveló diferencias entre días ( $F_{10,14, 334.6} = 8.457$ ,  $p<0.0001$ ), así como interacción significativa ( $F_{40, 660} = 4.511$ ,  $p<0.0001$ ), pero sin diferencias por grupo ( $F_{2, 33} = 2.024$ ,  $p=0.1482$ ).

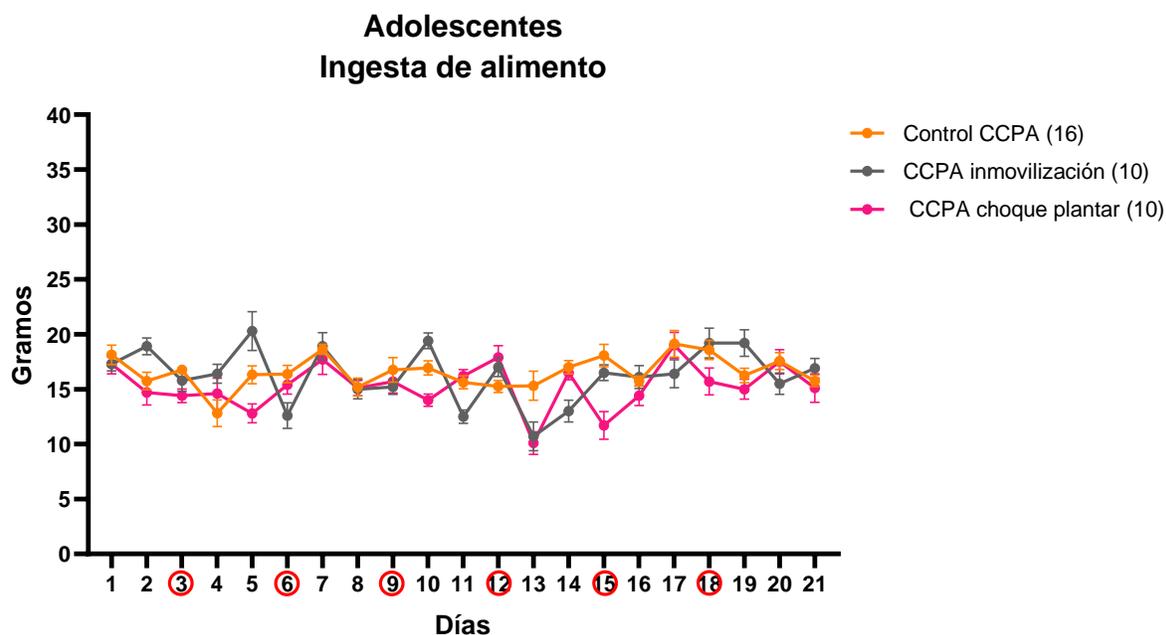
Por otra parte, el análisis de la ingesta energética total (**Fig. 5**) mostró diferencias significativas entre días ( $F_{8,798, 290.3} = 17.03$ ,  $p<0.0001$ ) así como interacción ( $F_{40, 660} = 3.215$ ,  $p<0.0001$ ), sin presentar diferencias por grupo ( $F_{2, 33} = 0.9966$ ,  $p=0.3800$ ).



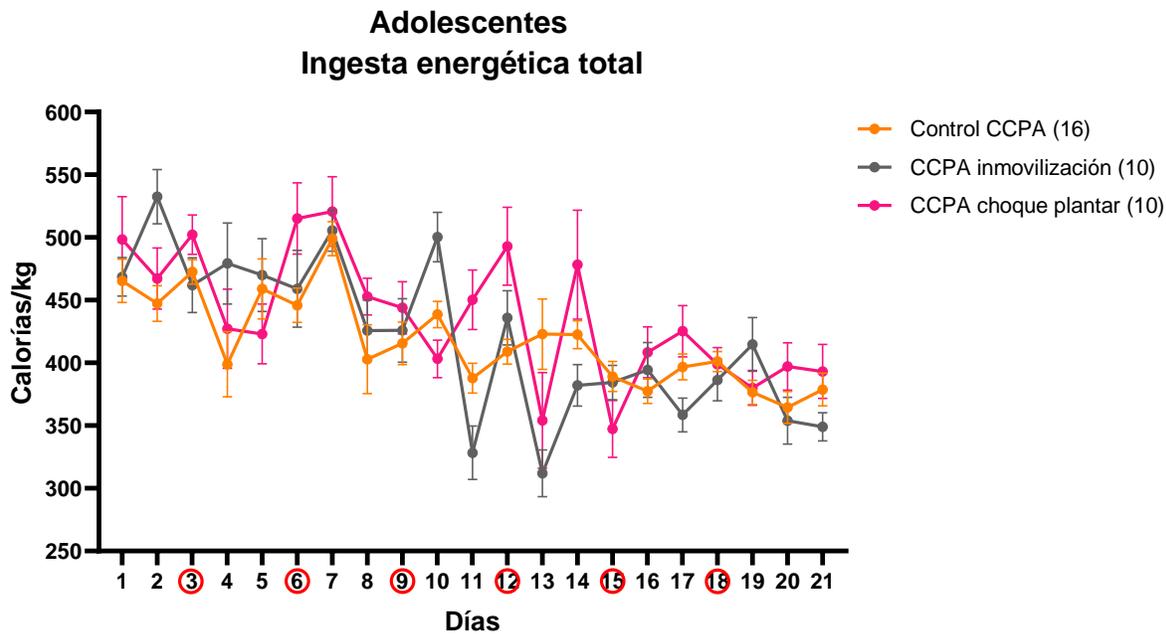
**Figura 2.** Porcentaje de ganancia de peso respecto al día 1, de ratas adolescentes. CCPA inmovilización (n=10), CCPA choque plantar(n=10), y ratas control CCPA (n=16). Consumo crónico y permanente de azúcar (CCPA). Círculos indican la aplicación de estresor. Media  $\pm$  EEM.



**Figura 3.** Ingesta de líquido en gramos de ratas adolescentes. CCPA inmovilización (n=10) o CCPA choque plantar(n=10), y las ratas control CCPA (n=16). Consumo crónico y permanente de azúcar (CCPA). Círculos indican la aplicación de estresor. Media  $\pm$  EEM.



**Figura 4.** Ingesta de alimento en gramos de ratas adolescentes. CCPA inmovilización ( $n=10$ ) o CCPA choque plantar( $n=10$ ), y las ratas control CCPA ( $n=16$ ). Consumo crónico y permanente de azúcar (CCPA). Círculos indican la aplicación de estresor. Media  $\pm$  EEM.



**Figura 5.** Ingesta energética total de ratas adolescentes. CCPA inmovilización ( $n=10$ ) o CCPA choque plantar( $n=10$ ), y las ratas control CCPA ( $n=16$ ). Consumo crónico y permanente de azúcar (CCPA). Círculos indican la aplicación de estresor. Media  $\pm$  EEM.

Durante la evaluación del CAS y la extinción de la memoria aversiva, todos los grupos de ratas adolescentes presentaron una memoria de aversión significativa durante la primera evocación, sin embargo, el grado de aversión estuvo en el límite del 50% con respecto al consumo observado durante la primera adquisición, lo que indica una IL del CAS similar en todos los grupos. La memoria de aversión se incrementó en la segunda evocación, luego de dos sesiones de adquisición, aunque el grupo con choque plantar tuvo un consumo similar al de su primera evocación. Para la tercera evocación de la memoria todos los grupos mostraron una mayor aversión que en su primera evocación.

En la primera extinción de la memoria aversiva, los grupos estresados tuvieron consumos similares a la primera evocación, lo que indica una lentitud en el aprendizaje apetitivo, al no alcanzar aún los niveles de consumo observados durante la primera adquisición (& **Fig. 6**); sólo el grupo inmovilizado mostró una extinción completa de la memoria aversiva, al alcanzar el nivel de consumo de la primera adquisición en la tercera extinción.

El análisis ANOVA de 2 vías, aplicada a las sesiones del CAS y las sesiones de extinción de la memoria (**Fig. 6**), reveló diferencias significativas entre sesiones ( $F_{3,402, 112.3} = 71.61$ ,  $p < 0.0001$ ), pero ninguna diferencia por grupo ( $F_{2, 33} = 1.675$ ,  $p = 0.2028$ ), y tampoco interacción ( $F_{14, 231} = 0.2690$ ,  $p = 0.9964$ ). La prueba post hoc Dunnett mostró que, durante la primera adquisición, el grupo Control CCPA no tiene diferencias con la línea base ( $p = 0.99$ ), pero sí con la primera ( $p < 0.01$ ), segunda y tercera evocación de la memoria aversiva ( $p < 0.0001$ ); así como con la primera extinción ( $p < 0.001$ ), la segunda extinción ( $p = 0.001$ ) y la tercera extinción ( $p < 0.05$ ).

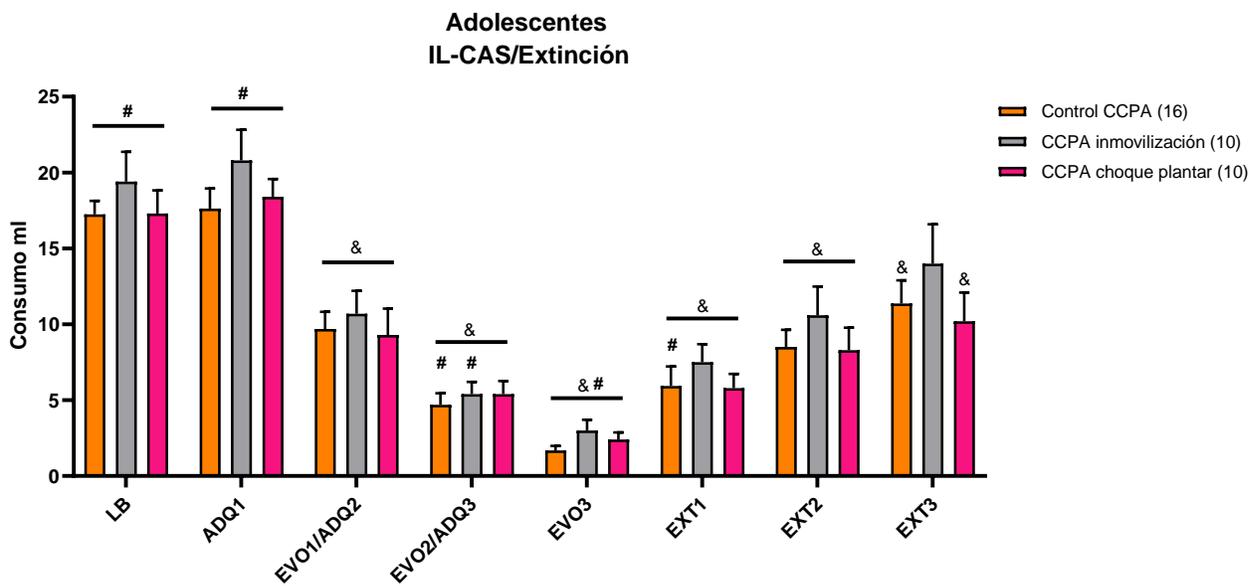
Asimismo, la primera adquisición del grupo CCPA inmovilización no mostró diferencia con su respectiva línea base ( $p = 0.97$ ), pero fue significativamente diferente con la primera

evocación ( $p < 0.05$ ), la segunda y tercera evocación ( $p < 0.001$ ); también con la primera extinción ( $p < 0.001$ ) y con la segunda ( $p < 0.05$ ) pero no tuvo diferencia en la tercera extinción ( $p = 0.36$ ).

También, con respecto a su primera adquisición, el grupo CCPA choque plantar no mostró diferencia con su línea base ( $p = 0.98$ ), pero sí tuvo diferencias con la primera evocación ( $p < 0.05$ ), la segunda y tercera evocación y la primera ( $p < 0.001$ ), segunda ( $p < 0.01$ ) y tercera extinción ( $p = 0.05$ ).

Al comparar los consumos de cada grupo respecto a su primera evocación se encontró que, el grupo CCPA control tuvo diferencias en su línea base ( $p < 0.001$ ), la primera adquisición, la segunda evocación ( $p < 0.01$ ), la tercera evocación ( $p < 0.0001$ ) y la primera extinción ( $p < 0.01$ ).

Así mismo, respecto a su primera evocación, el grupo CCPA inmovilización tuvo diferencias en la línea base, la primera adquisición ( $p < 0.05$ ), la segunda evocación y la tercera evocación ( $p < 0.01$ ). Mientras que, el grupo choque plantar mostró diferencias en la línea base, la primera adquisición ( $p < 0.05$ ) y la tercera evocación ( $p < 0.01$ ).



**Figura 6.** Consumos durante la línea base (LB), adquisición (ADQ), evocación (EVO), extinción (EXT) de ratas adolescentes con previo consumo crónico y permanente de azúcar (CCPA). Inmovilización (n=10), choque plantar (n=10) y ratas control (n=16). Media  $\pm$  EEM.  $p < 0.05$ , & vs. ADQ1, # vs. EVO1.

## 1.2 Efecto del estrés en el CCPA, IL-CAS y Extinción de la memoria aversiva en ratas adultas

### 1.2.1 Experimento 2. Comparación de grupos con CCPA y distintos estresores

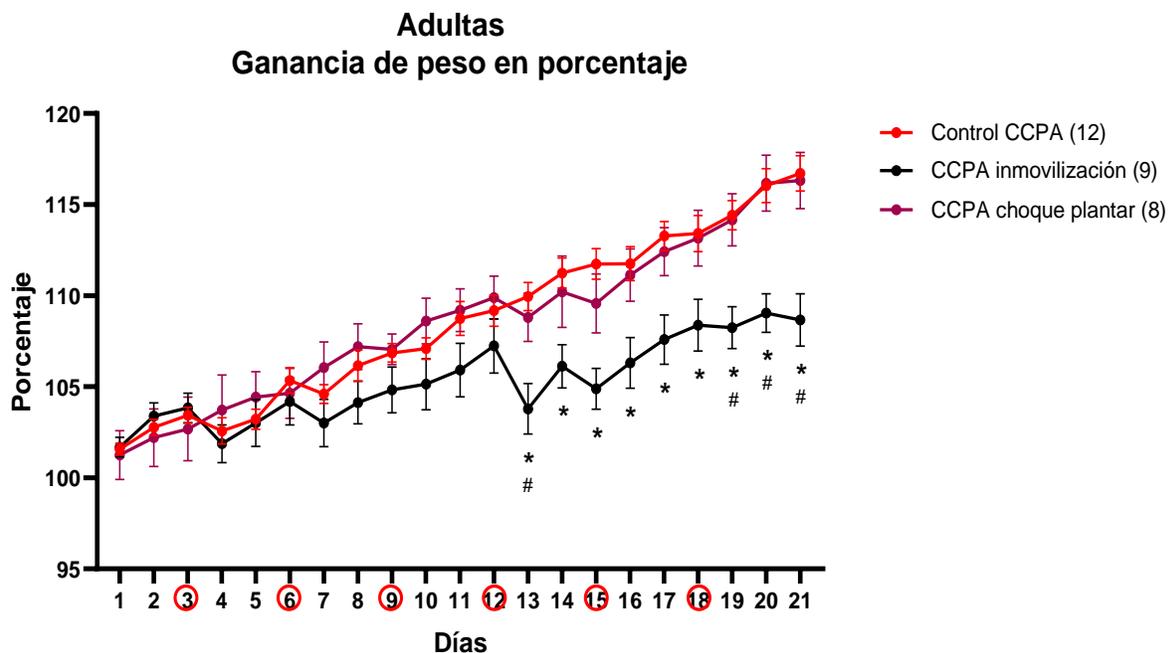
Los resultados indican que la ganancia de peso del grupo con inmovilización fue menor durante la tercera semana de consumo crónico de azúcar. Además, las ratas que fueron inmovilizadas disminuyeron su ingesta de alimento. Sin embargo, todos los grupos tuvieron similitud en la ingesta de líquido y, dado que las comparaciones se realizaron con la ingesta energética normalizada a calorías/kg, tampoco se encontró diferencia en la ingesta energética total.

La segunda toma de muestra sanguínea (día 12) ocasionó una marcada disminución en los consumos de líquido y alimento en los grupos estresados el día 13.

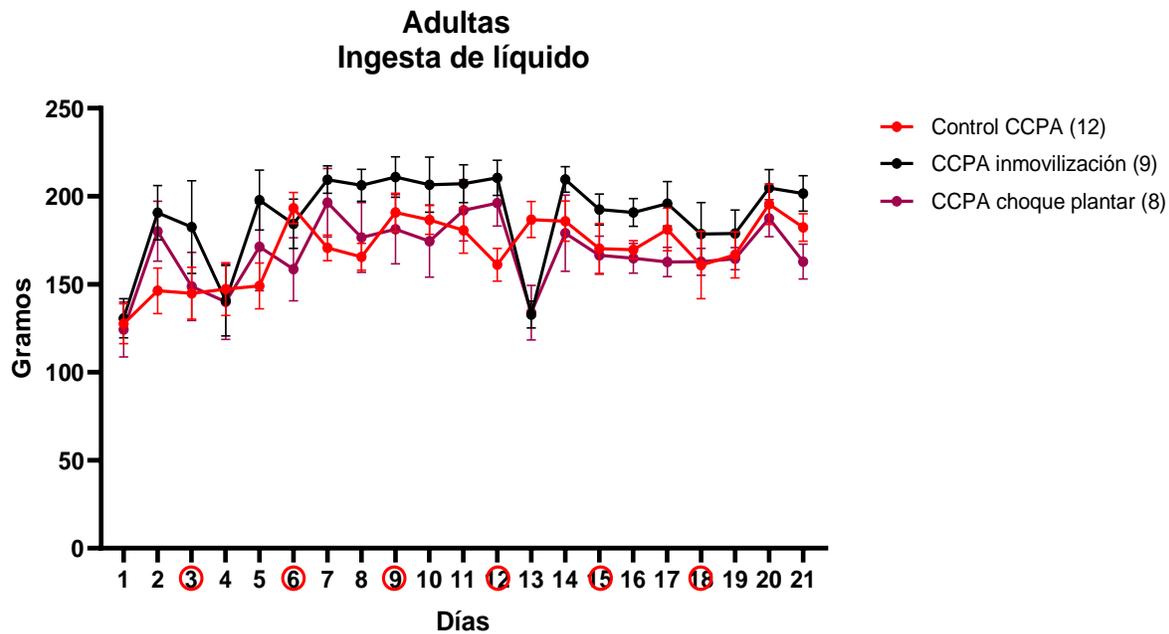
La prueba ANOVA de 2 vías aplicada a la ganancia de peso en ratas adultas (**Fig. 7**), reveló diferencias por grupo ( $F_{2, 26} = 4.440$ ,  $p = 0.0219$ ), entre días ( $F_{3, 736, 97.12} = 88.49$ ,  $p < 0.0001$ ) así como interacción ( $F_{40, 520} = 5.271$ ,  $p < 0.0001$ ). La prueba post hoc de Tukey mostró diferencias entre los

grupos Control CCPA y CCPA inmovilización los días 13 al 21 ( $p < 0.05$ ) y entre CCPA inmovilización y CCPA choque plantar los días 13, 19, 20 y 21 ( $p < 0.05$ ).

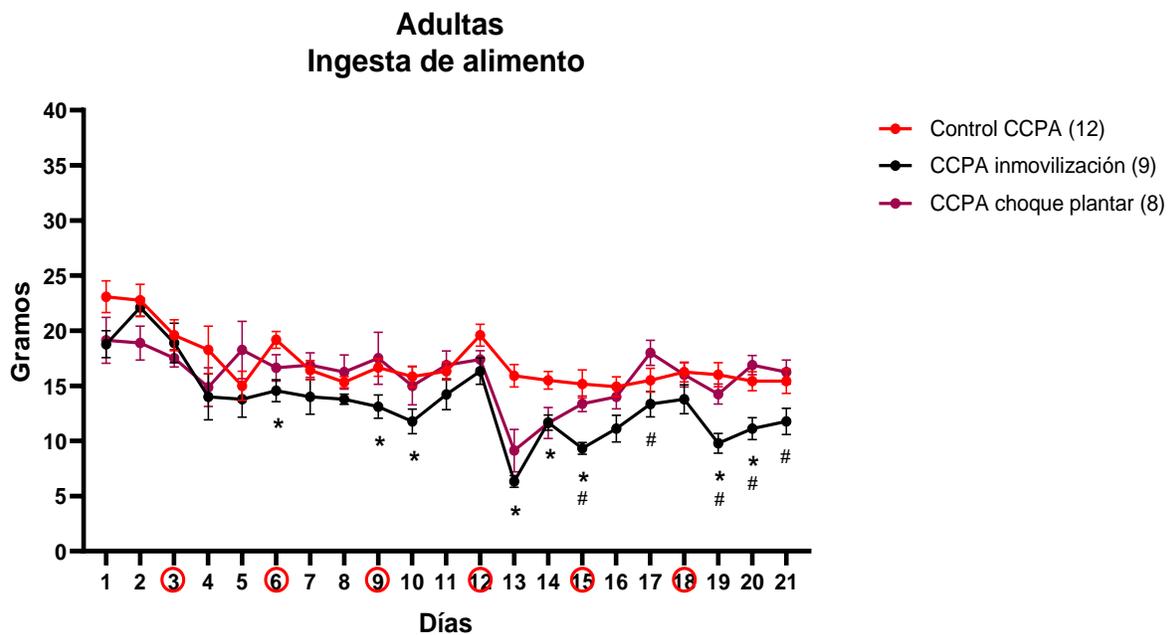
En la ingesta de líquidos (**Fig. 8**) el mismo análisis de ANOVA no reveló ninguna diferencia por grupo ( $F_{2, 26} = 1.710$ ,  $p = 0.2$ ), pero sí diferencias significativas entre días ( $F_{6, 473, 168.3} = 8.234$ ,  $p < 0.001$ ) así como interacción ( $F_{40, 520} = 1.720$ ,  $p < 0.01$ ). Asimismo, en la ingesta de alimento (**Fig. 9**), se encontraron diferencias por grupo ( $F_{2, 26} = 6.094$ ,  $p = 0.0068$ ), entre días ( $F_{6, 411, 166.7} = 17.53$ ,  $p < 0.0001$ ) e interacción significativa ( $F_{40, 520} = 2.359$ ,  $p < 0.0001$ ). La prueba Tukey reveló diferencia entre los grupos Control CCPA y CCPA inmovilización los días 6, 9, 10, 13, 14, 15, 19 y 20 ( $p < 0.05$ ); diferencia entre Control CCPA y CCPA choque plantar el día 13 ( $p < 0.05$ ); diferencia entre CCPA inmovilización y CCPA choque plantar los días 15, 17, 19, 20 y 21 ( $p < 0.05$ ). Por otra parte, la ingesta energética total no demostró diferencias por grupo ( $F_{2, 26} = 0.4990$ ,  $p = 0.6128$ ), aunque sí reveló diferencia entre días ( $F_{6, 597, 171.5} = 15.61$ ,  $p < 0.0001$ ) así como interacción significativa ( $F_{40, 520} = 3.326$ ,  $p < 0.0001$ ) (**Fig. 10**).



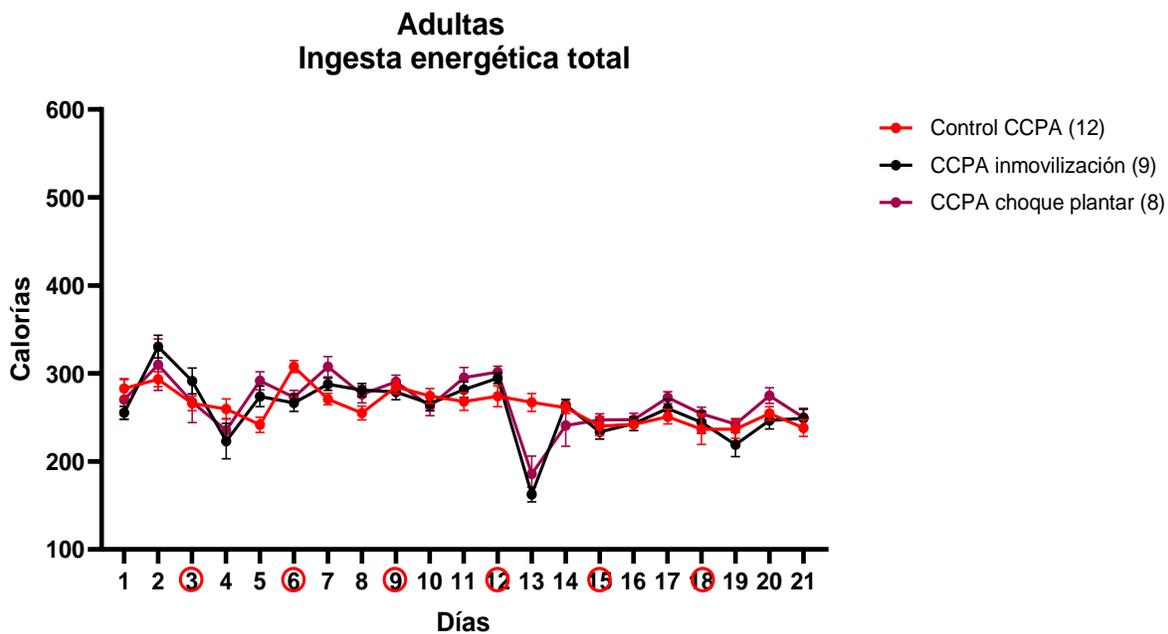
**Figura 7.** Porcentaje de ganancia de peso de ratas adultas con consumo crónico y permanente de azúcar (CCPA): inmovilización ( $n=9$ ) choque plantar ( $n=8$ ) y ratas control ( $n=12$ ). Círculos señalan aplicación de estresor. Media  $\pm$  EEM. El grupo inmovilizado obtuvo menor ganancia de peso ( $p<0.05$ ) \* vs. Control, # vs. Choque plantar.



**Figura 8.** Ingesta de líquido en gramos de ratas adultas con consumo crónico y permanente de azúcar (CCPA): inmovilización ( $n=9$ ) o choque plantar ( $n=8$ ) y las ratas control ( $n=12$ ). Círculos señalan aplicación de estresor. Media  $\pm$  EEM.



**Figura 9.** Ingesta de alimento en gramos de ratas adultas con consumo crónico y permanente de azúcar (CCPA): inmovilización ( $n=9$ ) choque plantar ( $n=8$ ) y ratas control ( $n=12$ ). Círculos señalan aplicación de estresor. Media  $\pm$  EEM. El consumo del grupo inmovilizado fue menor por días ( $p<0.05$ ) \* vs. Control, # vs. Choque plantar.

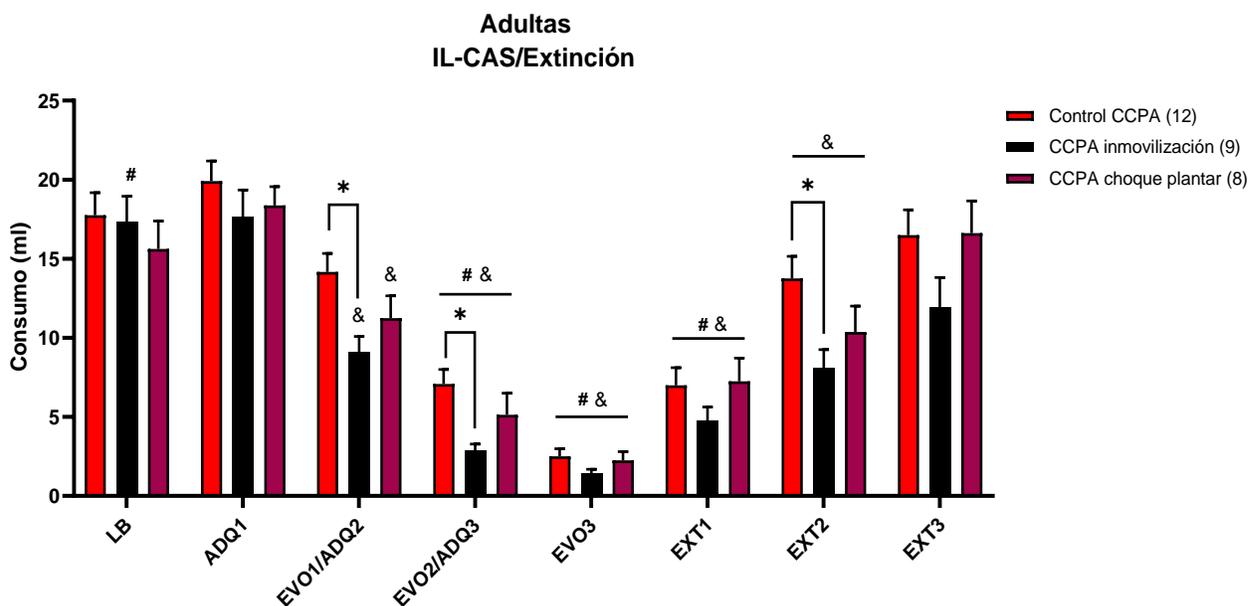


**Figura 10.** Ingesta energética total de ratas adultas con consumo crónico y permanente de azúcar (CCPA): inmovilización ( $n=9$ ) o choque plantar ( $n=8$ ) y las ratas libres de estrés ( $n=12$ ). Círculos indican aplicación de estresor. Media  $\pm$  EEM.

Durante las sesiones de CAS y extinción de la memoria aversiva, el grupo que recibió inmovilización mostró una tendencia de menor consumo durante todas las sesiones que fue significativa durante la primera y segunda evocación de la memoria aversiva, lo que indica una menor IL del CAS; así como en la segunda extinción de la memoria aversiva, lo que indica dificultad para el re-aprendizaje apetitivo. Por otro lado, el choque plantar no generó diferencias entre grupos. Durante la primera evocación de la memoria aversiva, los tres grupos mostraron IL del CAS al consumir arriba del 50% respecto a lo registrado durante la primera adquisición. Todos los grupos mostraron incremento gradual en la memoria de aversión conforme la repetición de adquisiciones del CAS. La extinción de la memoria aversiva también fue gradual y se completó durante la tercera extinción, cuando los grupos ya no mostraron diferencias significativas respecto a la primera adquisición.

El análisis ANOVA de dos vías de los datos del CAS y las extinciones de la memoria de aversión (**Fig.11**) reveló diferencias por grupo ( $F_{2, 26} = 4.113, p=0.0281$ ) y entre días ( $F_{3,994, 103.8} = 85.31, p<0.0001$ ), pero ninguna interacción ( $F_{14, 182} = 1.246, p=0.2457$ ). La prueba de Tukey mostró diferencias entre los grupos Control CCPA y CCPA inmovilización durante la primera ( $p<0.01$ ) y segunda evocación ( $p<0.1$ ), así como en la segunda extinción ( $p<0.05$ ). Por otra parte, al evaluar diferencias respecto a su primera adquisición, la prueba de Dunnett reveló diferencias para el grupo Control CCPA con la segunda ( $p<0.001$ ) y la tercera evocación ( $p<0.001$ ), así como con la primera ( $p<0,001$ ) y segunda extinción ( $p<0.05$ ). Adicionalmente, el grupo CCPA inmovilización mostró diferencias entre la primera adquisición y las tres evocaciones ( $p<0.05$ ); así como con la primera y segunda extinción ( $p<0.01$ ). Asimismo, el grupo CCPA choque plantar mostró diferencias significativas con las tres sesiones de evocación ( $p<0.05$ ), y con las primera y segunda extinción ( $p<0.05$ ).

Al evaluar las diferencias respecto a su primera evocación, el grupo Control CCPA mostró diferencias en la segunda ( $p=0.01$ ) y tercera evocación ( $p<0.0001$ ) y la primera extinción ( $p<0.001$ ). Por su parte, el grupo CCPA inmovilización mostró diferencias entre su primera evocación y la línea base ( $p<0.01$ ), la primera adquisición ( $p<0.05$ ), la segunda ( $p<0.001$ ) y tercera evocación ( $p<0.0001$ ) y la primera extinción ( $p<0.01$ ). El grupo CCPA choque plantar mostro diferencias entre su primera evocación respecto a la primera adquisición, la segunda evocación ( $p<0.05$ ), la tercera evocación ( $p<0.001$ ) y la primera extinción ( $p<0.05$ ).



**Figura 11.** Consumos de ratas adultas con previo consumo crónico y permanente de azúcar (CCPA): inmovilización ( $n=9$ ) o choque plantar ( $n=8$ ) y las ratas control ( $n=12$ )  $p<0.05$  \* ratas control vs. ratas inmovilizadas, & vs. ADQ1, # vs. EVO1. Media  $\pm$  EEM. Línea base (LB), adquisición (ADQ), evocación (EVO), extinción (EXT).

### 1.2.2 Experimento 3. Comparación con inmovilización como único estresor

Con base en los resultados obtenidos, en los que el efecto del choque plantar como estresor no tuvo efectos significativos en la ganancia de peso ni en las ingestas de líquido, alimento y energética total durante el consumo crónico, ni tampoco durante los consumos de las sesiones de CAS o extinción de la memoria aversiva, se decidió continuar únicamente con la inmovilización

como estresor y sumar dos grupos sin consumo de azúcar al protocolo de 21 días, un grupo Control CAS, libre de estrés y un grupo CAS inmovilización, que recibió 6 sesiones de estrés.

Los resultados indican que, en ratas libres de estrés, la ingesta de azúcar induce una mayor ganancia de peso que se manifiesta a partir de la tercera semana de consumo crónico. En contraparte, la inmovilización provoca una disminución en la ganancia de peso, de manera que, al término de 21 días, existe una diferencia de peso significativa entre los grupos con consumo crónico de azúcar. Por otro lado, el peso del grupo inmovilizado que consumió azúcar no se diferenció del peso de los grupos con consumo de agua, aunque el peso del grupo inmovilizado que bebió agua si fue menor que el de su control en algunos días.

Además, en las ratas con consumo crónico de azúcar, la inmovilización acentuó la reducción en la ingesta de alimento sólido. Por otro lado, el consumo de líquido y la ingesta energética total fueron mayores en los grupos con consumo crónico de azúcar.

La segunda toma de muestra sanguínea (día 12) ocasionó una marcada disminución en los consumos de líquido y alimento y en el peso del grupo IL inmovilización el día 13.

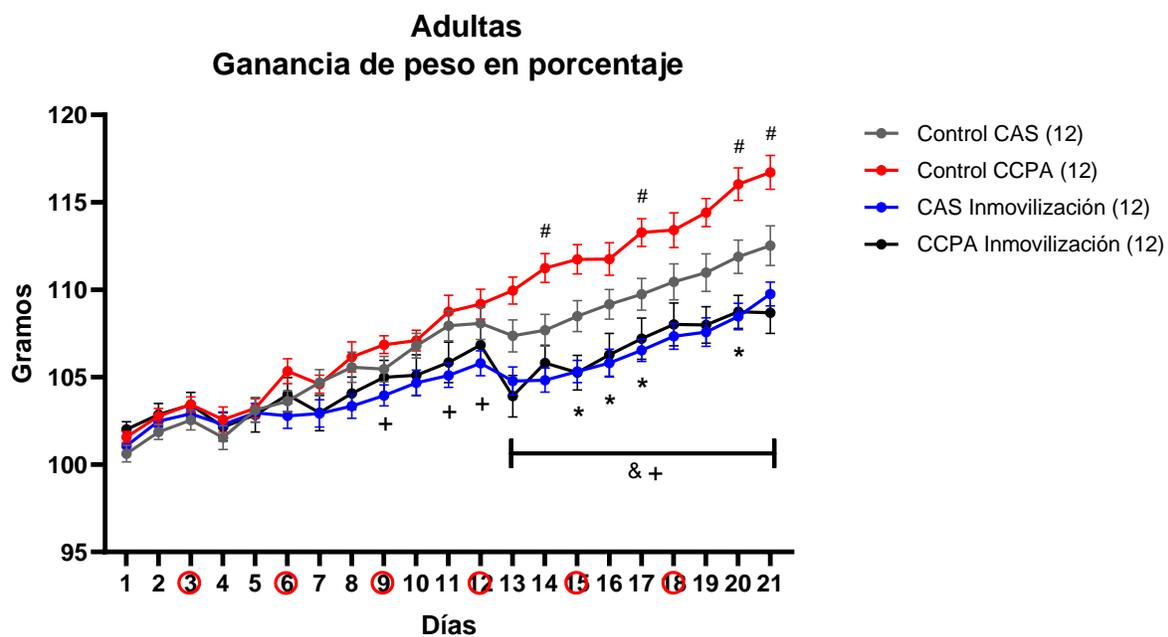
Los resultados de estos nuevos grupos al analizar el porcentaje de ganancia de peso con una ANOVA de dos vías (**Fig. 12**), mostraron diferencias por grupo ( $F_{3, 44} = 6.414$ ,  $p = 0.0011$ ), entre días ( $F_{4, 511, 198.5} = 164.8$ ,  $p < 0.001$ ) e interacción ( $F_{60, 880} = 7.632$ ,  $p < 0.0001$ ). La prueba de Tukey ubicó las diferencias entre los grupos Control CAS y CAS inmovilización los días 15, 16, 17 y 20 ( $p < 0.05$ ), entre los grupos Control CAS y Control CCPA los días 14, 17, 20 y 21 ( $p < 0.05$ ), entre el grupo Control CCPA y CCPA inmovilización desde el día 13 hasta el 21 ( $p < 0.05$ ). Entre los grupos Control CCPA y CAS inmovilización, la diferencia se observó en los días 9, 11 y 12 ( $p < 0.05$ ) y se acentuó del día 13 al 21 ( $p < 0.001$ ).

En la ingesta de líquido (**Fig.13**) se encontraron diferencias por grupo ( $F_{3, 44} = 202.3$ ,  $p < 0.001$ ), entre días ( $F_{6, 672, 293.6} = 6.619$ ,  $p < 0.001$ ) e interacción ( $F_{60, 880} = 3.632$ ,  $p < 0.001$ ), con la prueba post hoc señalando diferencia entre los grupos con agua y los grupos con azúcar todos los días ( $p < 0.01$ ), con diferencia entre los grupos Control CAS y CAS inmovilización únicamente los días 16 y 19 ( $p < 0.05$ ) y, entre los grupos con azúcar solamente los días 7, 12 y 13 ( $p < 0.05$ ).

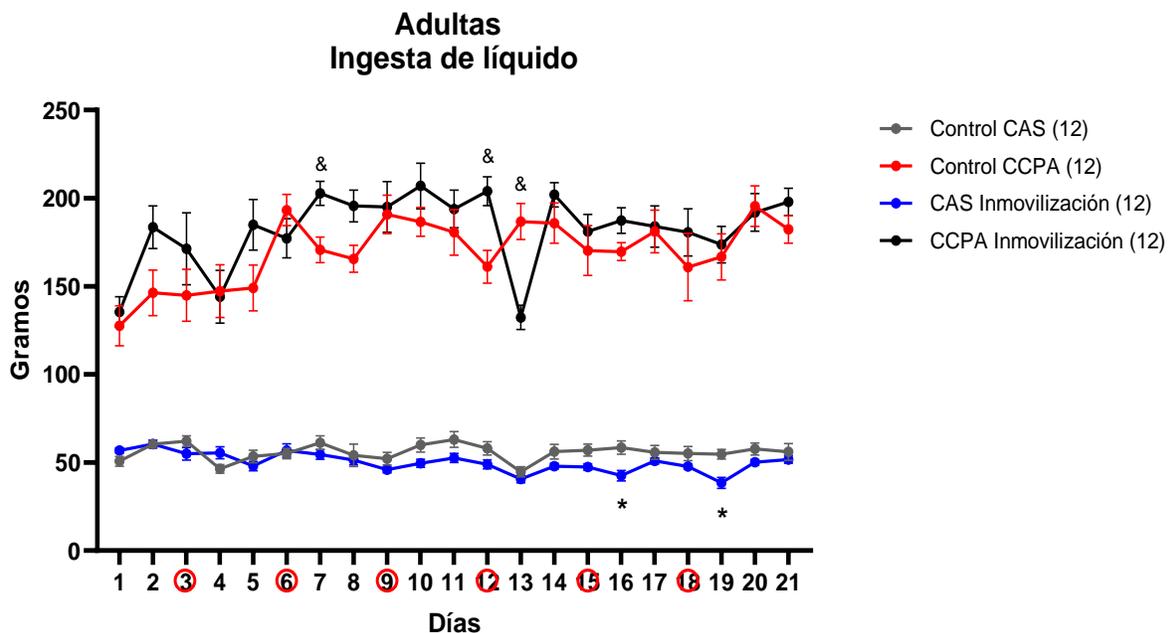
Al analizar el consumo de alimento (**Fig. 14**) se encontraron diferencias por grupo ( $F_{3, 44} = 136.5$ ,  $p < 0.0001$ ), entre días ( $F_{9, 619, 423.2} = 27.78$ ,  $p < 0.0001$ ) e interacción ( $F_{60, 880} = 5.026$ ,  $p < 0.0001$ ). Con la prueba de Tukey se identificó diferencia entre los grupos Control CAS y Control CCPA los días 2, 3 y del 5 al 21 ( $p < 0.01$ ), entre el grupo Control CAS y CAS inmovilización únicamente el día 1 ( $p < 0.05$ ), entre el grupo Control CAS y CCPA inmovilización los días 1 al 21 ( $p < 0.01$ ), entre el grupo Control CCPA y CCPA inmovilización los días 6, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 19 y 20 ( $p < 0.01$ ), entre el grupo Control CCPA y CAS inmovilización del día 1 al 3 ( $p < 0.01$ ) y del 5 al 21 ( $p < 0.001$ ) y entre los grupos CAS inmovilización y CCPA inmovilización los días 1 al 21 ( $p < 0.001$ ).

Respecto a la ingesta energética total (**Fig. 15**), se encontraron diferencias por grupo ( $F_{3, 44} = 16.83$ ,  $p < 0.0001$ ), entre días ( $F_{10, 45, 459.8} = 27.87$ ,  $p < 0.0001$ ) e interacción ( $F_{60, 880} = 4.554$ ,  $p < 0.0001$ ). Con la prueba de Tukey se encontró que los grupos Control CAS y Control CCPA se diferenciaron los días 1, 4, 6, 7, 8, 9, 12, 13, 14, 16, 19, 20 y 21 ( $p < 0.05$ ); el grupo Control CAS fue diferente del CAS inmovilización los días 1, 2, 20 y 21 ( $p < 0.05$ ). Los grupos Control CAS y CCPA inmovilización se diferenciaron los días 2, 7, 8, 9, 12, 14, 16, 18 y 21 ( $p < 0.05$ ). Los grupos Control CCPA y CAS inmovilización se diferenciaron los días 3, 6, 7, 9, 12, 13, 14 y 16 ( $p < 0.05$ ). Los grupos Control CCPA y CCPA inmovilización tuvieron diferencias los días 6 ( $p < 0.05$ ) y 13

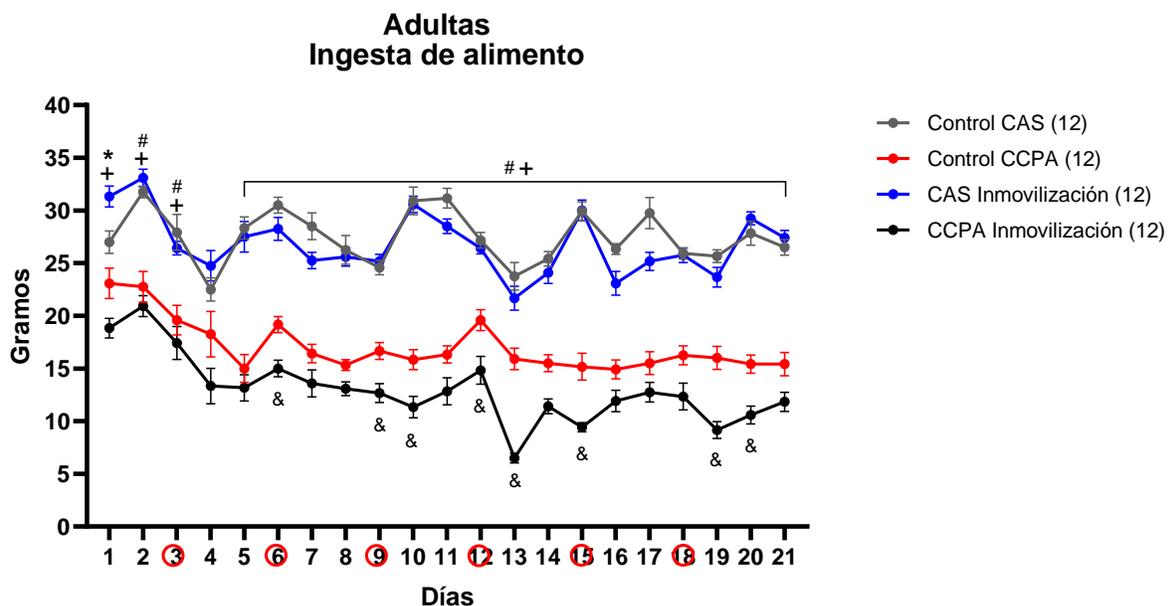
( $p < 0.01$ ). Por último, los grupos inmovilizados se diferenciaron los días 7, 8, 9, 12, 14, 15, 16 ( $p < 0.05$ ).



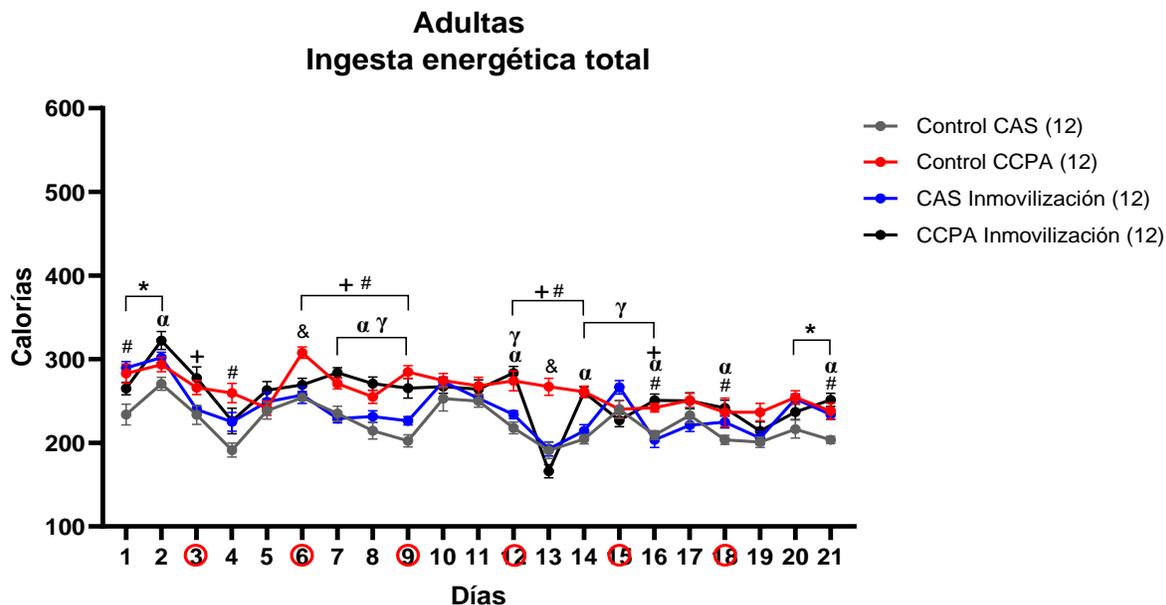
**Figura 12.** Porcentaje de ganancia de peso ratas adultas; consumo crónico y permanente de azúcar (CCPA) ( $n=12$  para todos los grupos)  $p < 0.05$  \* Control CAS vs. CAS inmovilización, # Control CAS vs. Control CCPA, + Control CCPA vs. CAS inmovilización, & Control CCPA vs. CCPA inmovilización. Círculos rojos: días de inmovilización. Datos mostrados como media  $\pm$  EEM.



**Figura 13.** Ingesta de líquido de ratas adultas. Consumo crónico y permanente de azúcar (CCPA) ( $n=12$  para todos los grupos). Los grupos con CCPA se diferenciaron de los grupos CAS durante los 21 días ( $p<0.05$ ), \* Control CAS vs. CAS inmovilización, & Control CCPA vs. CCPA inmovilización. Círculos rojos: días de inmovilización. Media  $\pm$  EEM.



**Figura 14.** Ingesta de alimento de ratas adultas con y sin consumo crónico y permanente de azúcar (CCPA) ( $n=12$  para todos los grupos). El grupo CCPA inmovilización se diferenció de los grupos Control CAS y CAS inmovilización durante los 21 días ( $p<0.05$ ), \* Control CAS vs. CAS inmovilización, # Control CAS vs. Control CCPA, + Control CCPA vs. CAS inmovilización, & Control CCPA vs. CCPA inmovilización. Círculos rojos: días de inmovilización. Media  $\pm$  EEM.



**Figura 15.** Ingesta energética total de ratas adultas con y sin consumo crónico y permanente de azúcar (CCPA). ( $n=12$  para todos los grupos).  $P<0.05$ . \* Control CAS vs. CAS inmovilización, # Control CAS vs. Control CCPA, + Control CCPA vs. CAS inmovilización, & Control CCPA vs. CCPA inmovilización,  $\alpha$  Control CAS vs. CCPA inmovilización,  $\gamma$  CAS inmovilización vs. CCPA inmovilización. Círculos rojos: días de inmovilización. Media  $\pm$  EEM.

Para completar la interpretación de los resultados de la IL-CAS y la extinción de la memoria aversiva (**Fig. 16**) y su adecuada comparación con un control experimental de CAS intacto, sin preexposición a azúcar; y con la finalidad de corroborar que la manipulación y la obtención de muestra sanguínea no tuvieran efecto sobre los resultados, se realizó un último análisis incorporando un grupo CAS intacto a partir del día 22 de la fase experimental (**Fig.1**).

Los resultados muestran que todos los grupos disminuyeron su consumo en cada sesión de la evocación de la memoria aversiva y aumentaron su consumo con cada extinción de la memoria de aversión. Durante la primera evocación de la memoria aversiva, los grupos libres de estrés sin preexposición a azúcar tuvieron un consumo inferior al 50% con lo cual se confirma que adquirieron aversión hacia el sabor dulce y ésta se acentuó con la repetición de adquisiciones de CAS; aunque ambos grupos incrementaron su consumo durante las extinciones de la memoria aversiva, éstos fueron menores a la primera adquisición, por lo cual se considera que su extinción

no fue completa. El grupo sin preexposición al azúcar que recibió inmovilización tuvo un consumo, durante la primera evocación, cercano al 50% de la primera adquisición del CAS, es decir, presentó una memoria de aversión atenuada; además, su consumo no disminuyó durante la segunda evocación sino hasta la tercera evocación aversiva, indicando dificultad para aumentar la formación de la memoria de aversión; en la primera sesión de extinción su consumo fue significativamente mayor, evidenciando un proceso de re-aprendizaje apetitivo más rápido ya que, al término de las sesiones, su extinción fue completa. Respecto a los grupos con consumo crónico de azúcar, el grupo inmovilizado mostró una tendencia de menor consumo desde la primera evocación del CAS (IL del CAS); y tanto el grupo con consumo crónico de azúcar libre de estrés como el inmovilizado presentaron IL del CAS; además, el grupo libre de estrés obtuvo consumos significativamente mayores que los grupos que bebieron agua durante la primera y segunda evocación de la memoria aversiva, así como en la primera y segunda extinción de la aversión. Durante la tercera extinción, los dos grupos con consumo crónico de azúcar tuvieron extinciones completas, es decir, el consumo fue igual que el observado durante la primera adquisición del CAS. Por lo tanto, el grupo sin preexposición a azúcar que fue inmovilizado (CAS-inmovilización) presentó consumos similares al de los grupos altamente pre-expuestos al azúcar durante las sesiones de adquisición y evocación de la memoria aversiva y las sesiones de extinción de la memoria de aversión.

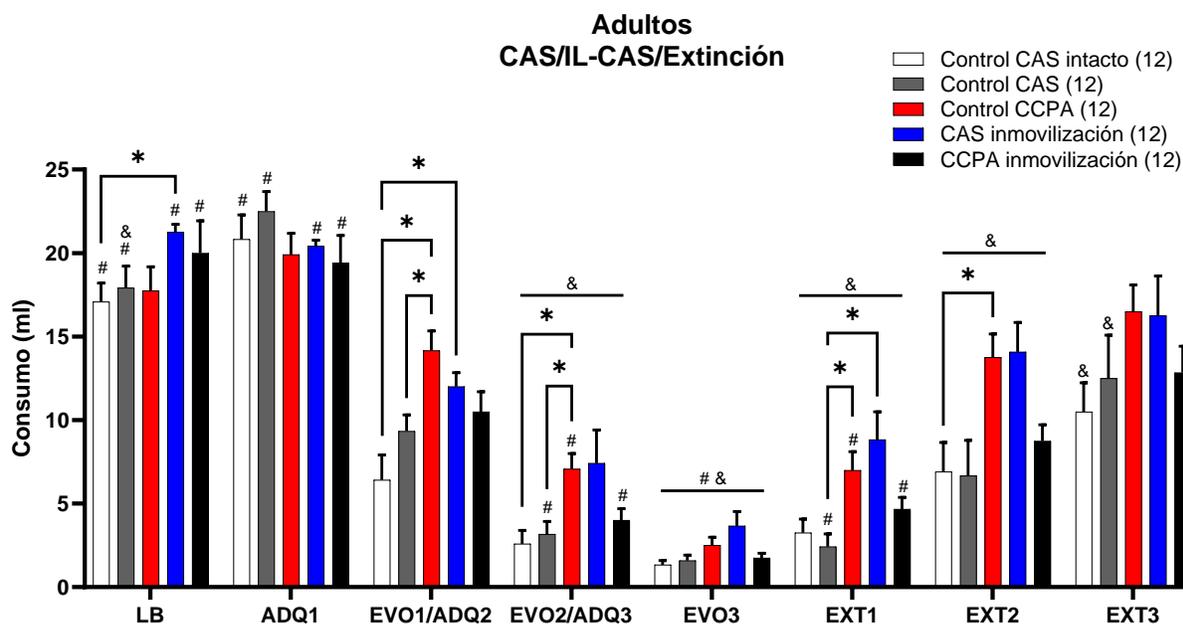
Los datos mostraron, a través de una ANOVA de dos vías, diferencias por grupo ( $F_{4, 55} = 4.470$ ,  $p = 0.0034$ ), entre días ( $F_{3, 725, 204.8} = 194.6$ ,  $p < 0.0001$ ) e interacción ( $F_{28, 385} = 2.267$ ,  $p = 0.0003$ ). Con la prueba post hoc, se ubicó la diferencia entre los grupos Control CAS Intacto y CAS inmovilización durante la línea base ( $p < 0.05$ ). En la primera evocación se diferenciaron los grupos Control CAS Intacto y Control CCPA ( $p < 0.01$ ), Control CAS Intacto y CAS

inmovilización ( $p < 0.05$ ) y, Control CAS y Control CCPA ( $p < 0.05$ ). Al comparar la segunda evocación, se encontraron diferencias entre los grupos Control CAS Intacto y Control CCPA ( $p = 0.01$ ) y entre Control CAS y Control CCPA ( $p < 0.05$ ). En la sesión de primera extinción, el grupo Control CAS se diferenció de los grupos Control CCPA ( $p < 0.05$ ) y CAS inmovilización ( $p < 0.05$ ); en la segunda extinción, la diferencia se ubicó entre los grupos Control CAS Intacto y Control CCPA ( $p < 0.05$ ).

Con respecto a su primera adquisición del CAS, el grupo Control CAS Intacto tuvo diferencias en las tres sesiones de evocación de la memoria aversiva y en la primera extinción de la memoria de aversión ( $p < 0.0001$ ), la segunda ( $p < 0.001$ ) y la tercera ( $p < 0.05$ ). El grupo Control CAS mostró diferencia en la línea base ( $p < 0.05$ ), en las tres sesiones de evocación y en la primera, segunda ( $p < 0.0001$ ) y tercera extinción ( $p < 0.05$ ). Por otra parte, el grupo Control CCPA tuvo diferencia en la segunda y tercera evocación de la memoria aversiva ( $p < 0.0001$ ) y en la primera ( $p = 0.0001$ ) y la segunda extinción ( $p < 0.05$ ). El grupo CAS inmovilización mostró diferencia con la primera ( $p < 0.0001$ ), segunda ( $p < 0.001$ ) y tercera evocación y las extinciones de la memoria, la primera ( $p < 0.0001$ ) y la segunda ( $p < 0.05$ ). Adicionalmente, el grupo CCPA inmovilización tuvo diferencia en la primera ( $p < 0.01$ ), segunda y tercera evocación de la memoria aversiva y la primera ( $p < 0.0001$ ) y segunda extinción de la aversión ( $p < 0.001$ ).

Al comparar con la primera evocación, el grupo Control CAS Intacto mostró diferencia con su línea base ( $p < 0.01$ ), la primera adquisición del CAS ( $p < 0.0001$ ) y la segunda evocación de la memoria aversiva ( $p < 0.05$ ). El grupo Control CAS mostró diferencias con la línea base ( $p = 0.001$ ), la primera adquisición del CAS, la segunda y tercera evocación de la memoria aversiva y la primera extinción ( $p < 0.0001$ ). El grupo Control CCPA tuvo diferencias en la segunda ( $p < 0.01$ ) y tercera evocación de la memoria aversiva ( $p < 0.0001$ ) y en la primera extinción ( $p < 0.001$ ). El

grupo CAS inmovilización tuvo diferencias en la línea base, la primera adquisición del CAS y la tercera evocación ( $p < 0.0001$ ). Finalmente, el grupo CCPA inmovilización mostró diferencias en la línea base ( $p < 0.001$ ), la primera adquisición del CAS ( $p < 0.01$ ), la segunda y tercera evocación ( $p < 0.0001$ ) y la primera extinción ( $p < 0.01$ ).

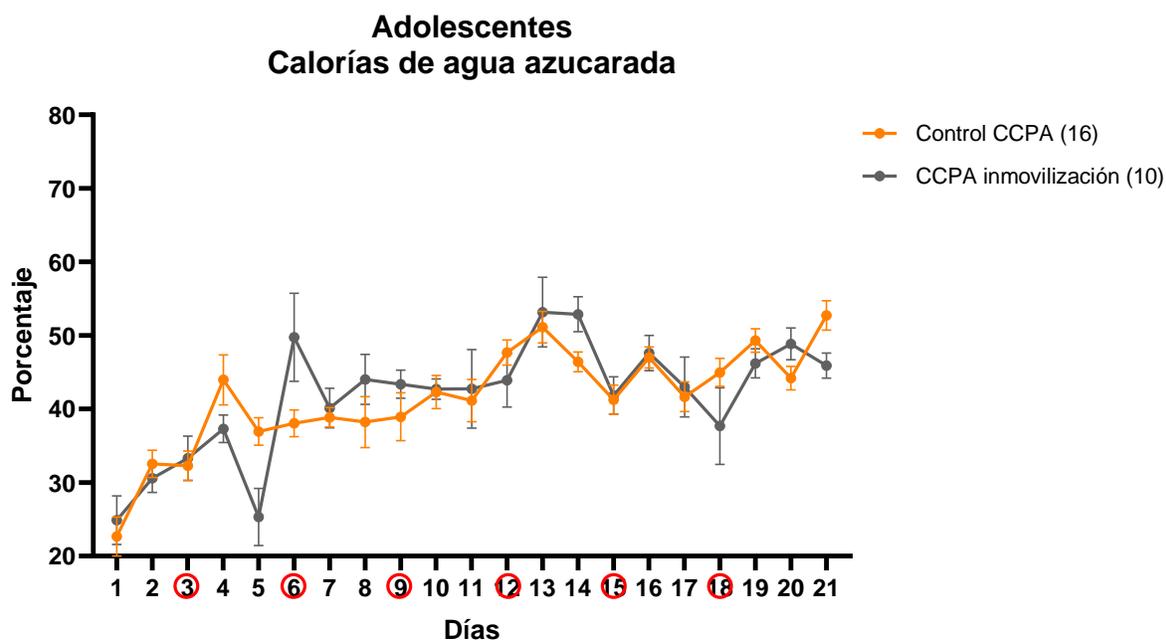


**Figura 16.** Condicionamiento aversivo al sabor (CAS) y Extinción en ratas adultas con y sin previo consumo crónico y permanente de azúcar (CCPA) ( $n=12$  para todos los grupos)  $p < 0.05$  \* diferencia entre grupos, & vs. ADQ1, # vs. EVO1. Datos mostrados como media  $\pm$  EEM. LB= línea base, ADQ= adquisición, EVO=evocación, EXT= extinción. Intacto: sin corte/sangrado.

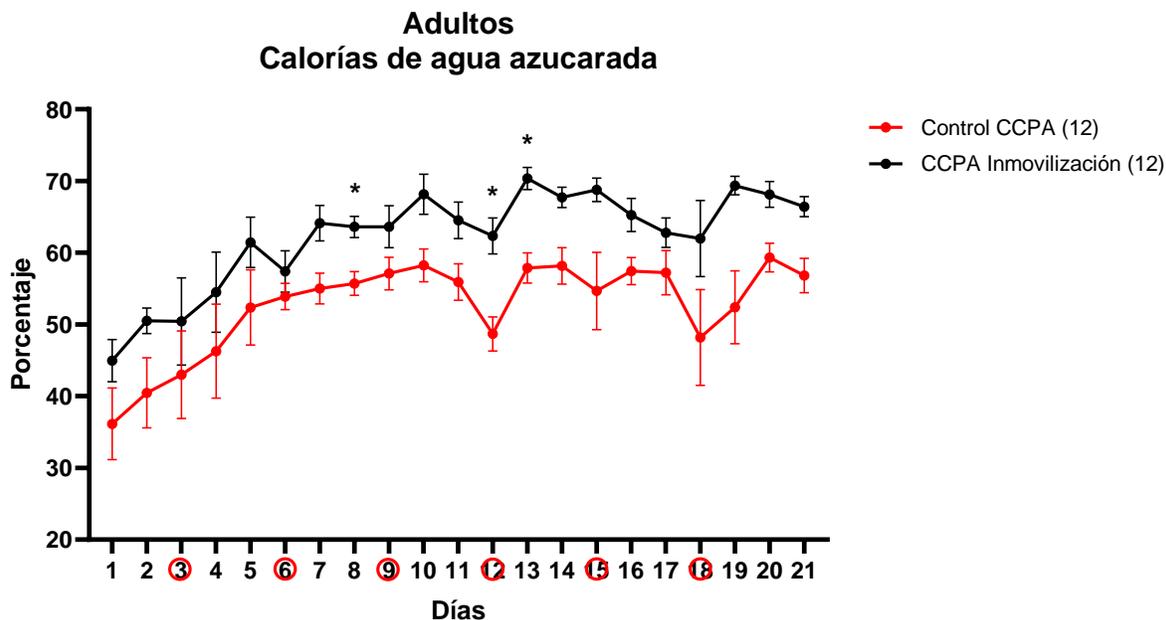
### 1.3 Comparación del porcentaje de ingesta calórica proveniente de azúcar en ratas adolescentes y adultas sometidas a inmovilización

Aunque los datos anteriores no mostraron diferencias entre grupos en la ingesta energética total, se realizó un nuevo análisis comparando el porcentaje de calorías ingeridas provenientes de agua azucarada. Los resultados muestran que en las ratas adolescentes la inmovilización no produjo cambios en este aspecto (**Fig.17**), mientras que las ratas adultas sometidas a este estresor tuvieron un mayor consumo de calorías de azúcar (**Fig.18**).

Para las ratas adolescentes, el análisis ANOVA de dos vías no encontró diferencias por grupo ( $F_{1, 24} = 0.0052$ ,  $p=0.94.27$ ), aunque sí hubo diferencias por día ( $F_{7.819, 187.7} = 16.26$ ,  $p<0.0001$ ) e interacción ( $F_{20, 480} = 2.428$ ,  $p=0.0006$ ). Respecto a las ratas adultas, sí se encontró diferencia por grupo ( $F_{1, 22} = 13.97$ ,  $p=0.0011$ ), día ( $F_{4.283, 94.23} = 9.086$ ,  $p<0.0001$ ) e interacción ( $F_{20, 440} = 0.5236$ ,  $p=0.9569$ ), las diferencias significativas se presentaron los días 8, 12 y 13.



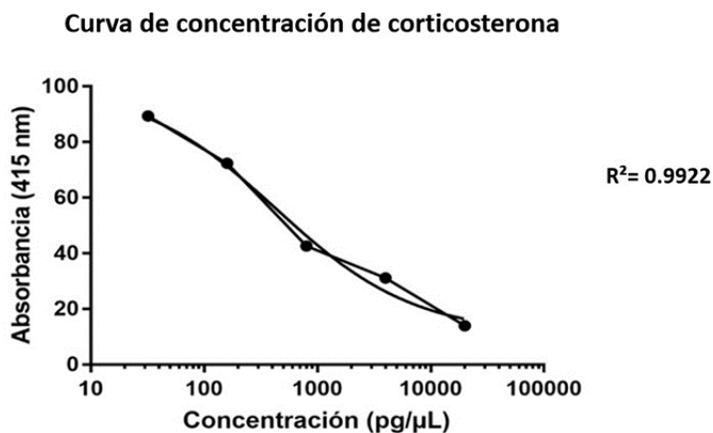
**Figura 17.** Porcentaje de calorías ingeridas provenientes de azúcar en ratas adolescentes. Consumo crónico y permanente de azúcar (CCPA). Círculos rojos: días de inmovilización. Datos mostrados como media  $\pm$  EEM.



*Figura 18.* Porcentaje de calorías ingeridas provenientes de azúcar en ratas adultas. Consumo crónico y permanente de azúcar (CCPA). \*  $p < 0.05$ . Círculos rojos: días de inmovilización. Datos mostrados como media  $\pm$  EEM.

#### 1.4 Comparación de niveles de corticosterona plasmática con distintos estresores

Para evaluar la concentración de corticosterona se realizó un análisis de dosis respuesta con cuatro parámetros, obteniendo una curva de concentración con  $R^2 = 0.9922$  (Fig. 19). Sin embargo, por no fue posible detectar corticosterona en ninguna muestra sanguínea.



*Figura 19.* Curva de concentración de corticosterona.

## *Discusión*

Los resultados obtenidos en este estudio demuestran que, en ratas adolescentes, la ganancia de peso, la ingesta de líquidos y la ingesta energética total, durante el consumo crónico y permanente de azúcar, se mantiene constante independientemente de ser sometidas a estrés. Esta ausencia de cambios podría relacionarse con previos resultados que muestran la capacidad de la ingesta del sabor dulce para reducir los niveles plasmáticos de ACTH y corticosterona, en ratas adultas con ingesta limitada a azúcar (Ulrich-Lai et al., 2010); que es mayor en ratas adolescentes con consumo permanente de azúcar. Otro factor para considerar en los presentes resultados, referente a la respuesta hormonal, es la edad de las ratas adolescentes durante su primera sesión de estrés, DPN 40, una edad en la que se han reportado niveles de testosterona basales y posteriores al estrés significativamente altos (Foilb et al., 2011; Romeo & Sciortino, 2021) y mostrado que la testosterona es capaz de disminuir, a nivel de la hipófisis, la concentración de ACTH (Kitay, 1963) y los niveles plasmáticos de ACTH y corticosterona en ratas gonadectomizadas (Ajdžanović et al., 2015). Lo anterior, podría explicar la baja susceptibilidad a los estresores en las ratas más jóvenes, en las que se requieren altas concentraciones de ACTH para tener altas concentraciones de corticosterona, mientras que las ratas de 60 y 70 días, si bien tienen mayores niveles de testosterona, presentan una mayor sensibilidad a ACTH y, con un ligero aumento de esta hormona, presentan niveles altos de corticosterona (Foilb et al., 2011).

La ganancia de peso, la ingesta de líquido y alimento y la ingesta energética total de las ratas adultas que recibieron choque plantar se mantuvieron sin diferencias, lo anterior podría atribuirse a las características con las que este estresor fue aplicado, ya que con diferente intensidad y frecuencia ha demostrado ser capaz de elevar la corticosterona plasmática (Retana-Márquez et al., 2003) y provocar cambios en la memoria (Almaguer-Melian et al., 2012).

Por otra parte, aunque la aplicación de estresores ha mostrado incrementar el consumo de bebidas endulzadas, cuando éstas se ofrecen de manera intermitente (Lamontagne et al., 2021; Ulrich-Lai et al., 2010), los estresores no indujeron una mayor ingesta en el volumen de agua azucarada en las ratas con consumo crónico de azúcar adolescentes o adultas. Esto sugiere que el incremento marcado en la ingesta de líquidos de las ratas ocasionado por el acceso ad libitum a bebidas endulzadas (Vera-Rivera et al., 2018) posiblemente este cercano al volumen límite de líquidos tolerado en un día.

En las ratas adultas, el grupo con consumo crónico de azúcar que no recibió estrés obtuvo una ganancia de peso significativamente mayor. Anteriormente, se habían reportado dos estudios en ratas con consumo crónico de azúcar y, al término de 14 días, en uno se encontró mayor ganancia de peso del grupo tratado respecto a sus controles (Vera-Rivera et al., 2018) y en el otro no se encontró diferencia en el peso (Caynas-Rojas et al., 2019). En el presente estudio el consumo crónico de azúcar tuvo una duración de 21 días y el incremento en la ganancia de peso inició alrededor del día 13, esto sugiere que el efecto del consumo crónico de azúcar sobre el peso corporal depende de su duración.

La disminución en la ganancia de peso resultante de la inmovilización ha sido estudiada en extenso (Krahn et al., 1990; Retana-Márquez et al., 2003; Rybkin et al., 1997; Scherer et al., 2011), evidenciando la participación de la corticosterona plasmática en este efecto (Retana-Márquez et al., 2003; Scherer et al., 2011). En el presente estudio, tanto el grupo inmovilizado que consumió agua como el que consumió azúcar disminuyeron su ganancia de peso, mostrando que el consumo crónico de azúcar no contrarresta el efecto de la inmovilización sobre el peso corporal.

En ratas sin consumo de azúcar, se ha propuesto que la reducción en la ganancia de peso inducida por la inmovilización se debe a una disminución en la ingesta de alimento provocada por

la liberación de CRH (Krahn et al., 1990); por otro lado, las ratas libres de estrés con consumo crónico de azúcar disminuyen su consumo de alimento sólido (Vera-Rivera et al., 2018). En el presente estudio, las ratas adultas con ingesta crónica de azúcar que fueron inmovilizadas redujeron significativamente su ingesta de alimento, sin embargo, no se observó disminución en su ingesta energética total. Esto se explica al evaluar la preferencia de obtención de energía, donde se observa que estas ratas obtuvieron el mayor porcentaje de calorías a partir del agua azucarada.

En contraparte, la reducción en la ganancia de peso y en la ingesta de alimento observadas en las ratas adultas inmovilizadas, no ocurre en las adolescentes; este hallazgo refuerza la idea de que la edad está involucrada en la respuesta al estrés (i.e., inmovilización) a lo largo del consumo crónico de azúcar.

Respecto al aprendizaje apetitivo del sabor dulce, se ha demostrado que las ratas adultas con consumo crónico de azúcar que reciben una sesión de adquisición del CAS presentan una alta inhibición latente debida a la preexposición, requiriendo hasta cuatro o más sesiones de adquisición del CAS para lograr la asociación aversiva y, además, extinguen rápidamente la memoria aversiva (Vera-Rivera et al., 2018). En el presente estudio, las ratas adolescentes tuvieron consumos similares en todas las sesiones de adquisición del CAS y extinción de la memoria aversiva. Así mismo, todos los grupos con consumo crónico de azúcar mostraron inhibición latente del CAS durante la primera evocación de la memoria aversiva, e incrementaron la memoria de aversión conforme la repetición de adquisiciones de CAS. Además, el grupo inmovilizado fue el único que logró una extinción completa de la memoria aversiva, lo cual demuestra que del estrés inducido por la inmovilización acelera el aprendizaje apetitivo en ratas adolescentes con consumo crónico de azúcar.

Todas las ratas adultas con consumo crónico de azúcar mostraron inhibición latente del CAS durante la primera evocación e incrementaron la memoria aversiva con la repetición de adquisiciones, sin embargo, las ratas con inmovilización presentaron mayor memoria de aversión (menores consumos durante las primeras dos evocaciones), indicando que, en ratas adultas, este estresor durante el consumo permanente y prolongado de azúcar disminuye la inhibición latente del CAS. Las ratas adultas inmovilizadas también tuvieron un menor consumo durante la segunda extinción, mostrando que la inmovilización retrasa el re-aprendizaje apetitivo en las ratas adultas (efecto contrario a lo observado en adolescentes), sin embargo, durante la tercera extinción todas las ratas adultas completaron la extinción de la memoria aversiva.

La inmovilización como estresor, aplicada días previos al aprendizaje, ocasiona un detrimento del CAS, así como una aceleración de la extinción de la memoria de aversión, generando un efecto de IL del CAS similar al observado en ratas altamente expuestas al azúcar. Este hallazgo, demuestra que, en ratas macho adultas, la previa exposición a un estresor disminuye el aprendizaje aversivo hacia un sabor novedoso y acorta el tiempo de extinción de la memoria aversiva, incluso tras la repetición de adquisiciones y concuerda con previas evidencias que indican que la respuesta hormonal, debida a experiencias estresantes, altera diferencialmente la formación y evocación de la memoria (Bahtiyar et al., 2020; Ferry et al., 1999; Roozendaal et al., 2006).

### ***Conclusiones***

Las ratas adolescentes con consumo crónico de azúcar sometidas a estrés no presentan cambios en la ganancia de peso, las ingestas de líquido o alimento, así como tampoco en la ingesta energética total. Tampoco se ve modificada la inhibición latente del condicionamiento de aversión

por la preexposición al sabor dulce. Sin embargo, la inmovilización durante el consumo crónico de azúcar en ratas adolescentes acorta el tiempo de extinción de la memoria de aversión.

En ratas adultas se presenta un incremento en la ganancia de peso después de 14 días de consumo crónico de azúcar.

En ratas adultas, la inmovilización durante el consumo crónico de azúcar acentúa la disminución en el consumo de alimento sólido, incrementa el porcentaje de calorías ingeridas proveniente de agua azucarada y disminuye la ganancia de peso. Además, genera una tendencia de menor inhibición latente durante el condicionamiento de aversión y un retardo relativo en la extinción de la memoria de aversión.

Las ratas adultas sometidas a inmovilización, sin preexposición al azúcar presentan una inhibición latente del condicionamiento de aversión al sabor significativa y requieren menor tiempo para extinguir la memoria de aversión.

El choque plantar durante el consumo crónico de azúcar no produce cambios en la ganancia de peso ni en las ingestas de líquido y alimento o ingesta energética total de las ratas macho adultas, y tampoco afecta la inhibición latente del condicionamiento de aversión al sabor ni la extinción de la memoria de aversión.

## Anexo 1

### Objetivo

Evaluar los efectos del antagonista propranolol en la corteza insular administrado antes de la evocación del CAS.

### Sujetos

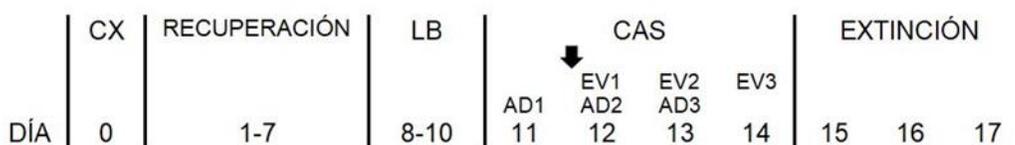
Los grupos para la evaluación farmacológica se muestran en la **Tabla A1**.

Grupo	Adultos n= 13
Solución salina	6
Propranolol	7

**Tabla A1.** Grupos con inyección en Corteza Insular. Solución salina 0.5  $\mu$ L, Propranolol 5  $\mu$ g/0.5  $\mu$ L.

### Diseño evaluación farmacológica

La línea de tiempo del experimento para evaluar el efecto del propranolol en la CI se muestra en la **Figura A1**.



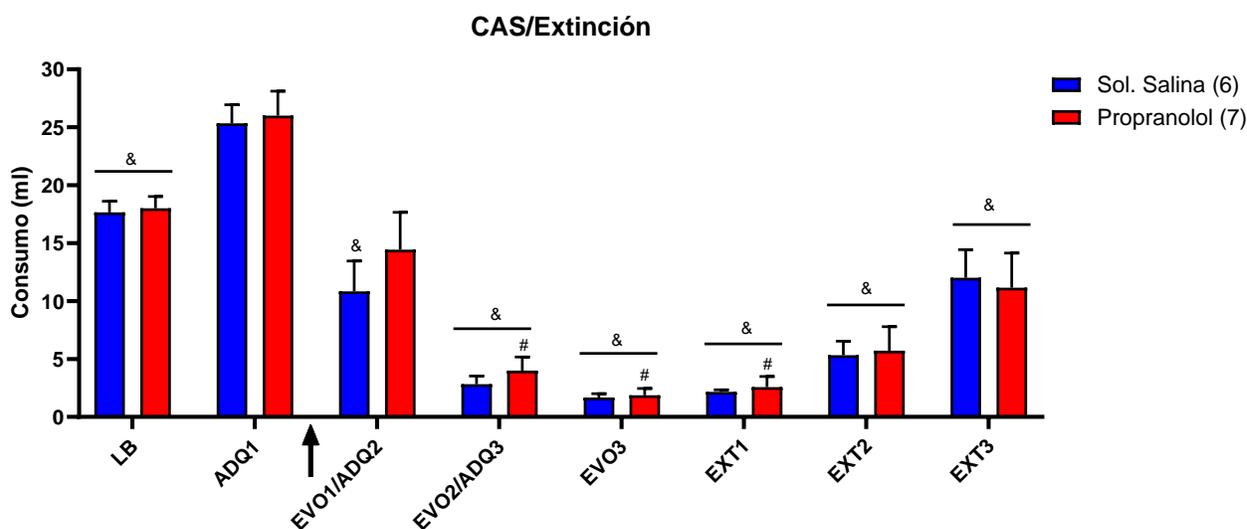
**Figura A1.** CX: cirugía, LB: línea base, CAS: condicionamiento de aversión al sabor, AD: adquisición, EV: evocación. Inyección de propranolol 20 min antes de la primera evocación (flecha).

### Resultados

Los efectos del antagonista propranolol en la CI antes de la primera evocación se muestran en la **Figura A2**. Los resultados señalan que los grupos mantuvieron consumos similares durante todas las sesiones, mostrando disminución gradual en los consumos a partir de la primera evocación, lo

que indica que adquirieron aversión. Ambos grupos mantuvieron consumos similares durante las siguientes evocaciones e incrementaron gradualmente su consumo durante las sesiones de extinción; sin embargo, durante la tercera extinción su consumo fue inferior al de la primera adquisición, mostrando dificultad para el re-aprendizaje apetitivo.

El análisis ANOVA de dos vías mostró diferencia entre sesiones ( $F_{2,536, 27.90} = 57.15$   $P < 0.0001$ ) sin encontrar diferencias por grupo ( $F_{1, 11} = 0.2436$ ,  $p = 0.6313$ ), ni interacción significativa ( $F_{7, 77} = 0.3278$ ,  $p = 0.93$ ). La prueba de Dunnett de comparaciones múltiples, respecto a su primera adquisición mostró, en el grupo Solución salina, diferencia con su línea base ( $p = 0.01$ ), con las tres sesiones de evocación ( $p < 0.05$ ), y las tres sesiones de extinción ( $p < 0.05$ ). Asimismo, el grupo Propranolol mostró diferencia con su línea base ( $p < 0.05$ ), con la segunda y tercera evocación ( $p = 0,001$ ), y las tres sesiones de extinción ( $p < 0,05$ ). Al comparar respecto a la primera evocación, el grupo Solución salina únicamente mostró diferencia con la primera adquisición ( $p < 0.05$ ), mientras que el grupo Propranolol tuvo diferencias con la segunda y tercera evocación y la primera extinción ( $p < 0.05$ ).



**Figura A2.** Consumos durante condicionamiento aversivo al sabor (CAS) y la extinción de ratas macho adultas. Solución Salina ( $n=6$ ) y Propranolol ( $n=7$ ). No hubo diferencias entre grupos en las sesiones ( $p < 0.05$ ), & vs. ADQ1, # vs. EVO1. Media  $\pm$  EEM.

*Abreviaturas: LB= línea base, ADQ= adquisición, EVO, EXT=extinción. La flecha indica el momento de la inyección, 20 minutos antes de EVOI.*

## **Discusión**

El bloqueo de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos de la CI antes de la primera evocación de la memoria aversiva no produce diferencias en el condicionamiento de aversión al sabor y la extinción de la memoria aversiva; sin embargo, aunque previamente se ha estudiado el bloqueo de estos receptores antes de la adquisición del condicionamiento de aversión al sabor dulce con sacarina, encontrando que no están involucrados en esta etapa del aprendizaje asociativo del sabor (Miranda et al., 2008; Osorio-Gómez et al., 2021), no hay otros estudios en que se haya realizado el bloqueo antes de la evocación del CAS con sacarosa y dado que la muestra es pequeña, se requieren replicar el estudio para obtener resultados concluyentes.

## Referencias

- Aguilar-Rivera, M., Kim, S., Coleman, T. P., Maldonado, P. E., & Torrealba, F. (2020). Interoceptive insular cortex participates in sensory processing of gastrointestinal malaise and associated behaviors. *Scientific Reports*, *10*(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78200-w>
- Avena, N. M., Bocarsly, M. E., Rada, P., Kim, A., & Hoebel, B. G. (2008). After daily bingeing on a sucrose solution, food deprivation induces anxiety and accumbens dopamine/acetylcholine imbalance. *Physiology & Behavior*, *94*(3), 309–315. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2008.01.008>
- Bergström, A., Jayatissa, M. N., Thykjær, T., & Wiborg, O. (2007). Molecular pathways associated with stress resilience and drug resistance in the chronic mild stress rat model of depression—A gene expression study. *Journal of Molecular Neuroscience*, *33*(2), 201–215. <https://doi.org/10.1007/s12031-007-0065-9>
- Berridge, C. W., & Waterhouse, B. D. (2003). The locus coeruleus-noradrenergic system: Modulation of behavioral state and state-dependent cognitive processes. *Brain Research Reviews*, *42*(1), 33–84. [https://doi.org/10.1016/S0165-0173\(03\)00143-7](https://doi.org/10.1016/S0165-0173(03)00143-7)
- Borodovitsyna, O., Flamini, M., & Chandler, D. (2017). Noradrenergic Modulation of Cognition in Health and Disease. *Neural Plasticity*, *2017*. <https://doi.org/10.1155/2017/6031478>
- Bouton, M. E. (2000). A learning theory perspective on lapse, relapse, and the maintenance of behavior change. *Health Psychology*, *19*(1, Suppl), 57–63. <https://doi.org/10.1037/0278-6133.19.Suppl1.57>

- Bureš, J., Burešová, O., & Křivánek, J. (1988). Brain and behavior: Paradigms for research in neural mechanisms. *Brain and behavior: Paradigms for research in neural mechanisms.*, 304–304.
- Campese, V. D., Sears, R. M., Moscarello, J. M., Diaz-Mataix, L., Cain, C. K., & LeDoux, J. E. (2016). The neural foundations of reaction and action in aversive motivation. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*, 27, 171–195.  
[https://doi.org/10.1007/7854\\_2015\\_401](https://doi.org/10.1007/7854_2015_401)
- Caynas-Rojas, S., Rodríguez-García, G., Delint-Ramírez, I., & Miranda, M. I. (2019). Differential function of medial prefrontal cortex catecholaminergic receptors after long-term sugar consumption. *Behavioural Brain Research*, 356, 495–503.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.06.009>
- Cifani, C., Polidori, C., Melotto, S., Ciccocioppo, R., & Massi, M. (2009). A preclinical model of binge eating elicited by yo-yo dieting and stressful exposure to food: Effect of sibutramine, fluoxetine, topiramate, and midazolam. *Psychopharmacology*, 204(1), 113–125.  
<https://doi.org/10.1007/s00213-008-1442-y>
- Corwin, R. L., Avena, N. M., & Boggiano, M. M. (2011). Feeding and reward: Perspectives from three rat models of binge eating. *Physiology and Behavior*, 104(1), 87–97.  
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2011.04.041>
- de Lima, R. M. S., dos Santos Bento, L. V., di Marcello Valladão Lugon, M., Barauna, V. G., Bittencourt, A. S., Dalmaz, C., & de Vasconcellos Bittencourt, A. P. S. (2020). Early life stress and the programming of eating behavior and anxiety: Sex-specific relationships with serotonergic activity and hypothalamic neuropeptides. *Behavioural Brain Research*, 379.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.112399>

- De Quervain, D. J.-F., Roozendaal, B., & McGaugh, J. L. (1998). Stress and glucocorticoids impair retrieval of long-term spatial memory. *Nature*, *394*(6695), 787–790. <https://doi.org/10.1038/29542>
- de Souza, J. A., do Amaral Almeida, L. C., Tavares, G. A., Falcão, L. de A. L., Beltrão, L. C., Costa, F. C. O., de Souza, F. L., da Silva, M. C., & de Souza, S. L. (2020). Dual exposure to stress in different stages of development affects eating behavior of male Wistar rats. *Physiology and Behavior*, *214*. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2019.112769>
- Diamond, D. M., Fleshner, M., Ingersoll, N., & Rose, G. (1996). Psychological stress impairs spatial working memory: Relevance to electrophysiological studies of hippocampal function. *Behavioral Neuroscience*, *110*(4), 661–672. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.110.4.661>
- Dudai, Y. (2002). *Memory from A to Z: Keywords, Concepts, and Beyond*. Oxford University Press.
- Faith, M., Allison, D., & Geliebter, A. (1997). Emotional eating and obesity: Theoretical considerations and practical recommendations. En S. Dalton (Ed.), *Overweight and weight management: The health professional's guide to understanding and practice* (pp. 439–465). Aspen Publishers.
- Fernández A., A., Martínez, R., Carrasco, I., & Palma, A. (2017). *Impacto social y económico de la doble carga de la malnutrición: Modelo de análisis y estudio piloto en Chile, el Ecuador y México*. CEPAL.
- Fidler Mis, N., Braegger, C., Bronsky, J., Campoy, C., Domellöf, M., Embleton, N. D., Hojsak, I., Hulst, J., Indrio, F., Lapillonne, A., Mihatsch, W., Molgaard, C., Vora, R., & Fewtrell, M. (2017). Sugar in Infants, Children and Adolescents: A Position Paper of the European

- Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Committee on Nutrition. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 65(6), 681–696. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000001733>
- Francis, H. M., & Stevenson, R. J. (2011). Higher reported saturated fat and refined sugar intake is associated with reduced hippocampal-dependent memory and sensitivity to interoceptive signals. *Behavioral Neuroscience*, 125(6), 943–955. <https://doi.org/10.1037/a0025998>
- Gaona-Pineda, E. B., Martínez-Tapia, B., Arango-Angarita, A., Valenzuela-Bravo, D., Gómez-Acosta, L. M., Shamah-Levy, T., & Rodríguez-Ramírez, S. (2018). Consumo de grupos de alimentos y factores sociodemográficos en población mexicana. *Salud Pública de México*, 60(3, may-jun), 272. <https://doi.org/10.21149/8803>
- García, A., Martí, O., Vallès, A., Dal-Zotto, S., & Armario, A. (2000). Recovery of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Response to Stress. *Neuroendocrinology*, 72(2), 114–125. <https://doi.org/10.1159/000054578>
- Garcia, J., & Koelling, R. A. (1967). A Comparison of Aversions Induced by X Rays, Toxins, and Drugs in the Rat. *Radiation Research Supplement*, 7, 439. <https://doi.org/10.2307/3583736>
- Gogolla, N. (2017). The insular cortex. *Current Biology*, 27(12), R580–R586. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.05.010>
- Halataei, B. A. S., Khosravi, M., Arbabian, S., Sahraei, H., Golmanesh, L., Zardooz, H., Jalili, C., & Ghoshooni, H. (2011). Saffron (*Crocus sativus*) aqueous extract and its constituent crocin reduces stress-induced anorexia in mice. *Phytotherapy Research*, 25(12), 1833–1838. <https://doi.org/10.1002/ptr.3495>
- Horovitz, O., Tsoory, M. M., Yovell, Y., & Richter-Levin, G. (2014). A rat model of pre-puberty (Juvenile) stress-induced predisposition to stress-related disorders: Sex similarities and sex

- differences in effects and symptoms. *World Journal of Biological Psychiatry*, 15(1), 36–48. <https://doi.org/10.3109/15622975.2012.745604>
- Hu, X., Chen, L. L., Zheng, J., Kong, W., Zhang, H. H., Zeng, T. S., Zhang, J. Y., Li, H. Q., Hu, D., & Liao, Y. F. (2013). Increases in systemic and local stress: A probable mechanism of visceral fat accumulation and insulin resistance in adult catch-up growth rats? *Experimental Biology and Medicine*, 238(1), 57–65. <https://doi.org/10.1258/ebm.2012.012207>
- Introini-Collison, I. B., Miyazaki, B., & McGaugh, J. L. (1991). Involvement of the amygdala in the memory-enhancing effects of clenbuterol. *Psychopharmacology*, 104(4), 541–544. <https://doi.org/10.1007/BF02245663>
- Joëls, M., Karst, H., & Sarabdjitsingh, R. A. (2018). The stressed brain of humans and rodents. *Acta Physiologica*, 223(2), e13066. <https://doi.org/10.1111/apha.13066>
- Katsu, Y., & Baker, M. E. (2021). Corticosterone. En *Handbook of Hormones* (pp. 935–937). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820649-2.00258-8>
- Klein, Z. A., Padow, V. A., & Romeo, R. D. (2010). The effects of stress on play and home cage behaviors in adolescent male rats. *Developmental Psychobiology*, 52(1), 62–70. <https://doi.org/10.1002/dev.20413>
- Kovacs, G. (1977). Dose-dependent action of corticosteroids on brain serotonin content and passive avoidance behavior. *Hormones and Behavior*, 8(2), 155–165. [https://doi.org/10.1016/0018-506X\(77\)90032-0](https://doi.org/10.1016/0018-506X(77)90032-0)
- Lamm, C., & Singer, T. (2010). The role of anterior insular cortex in social emotions. *Brain Structure and Function*, 214(5–6), 579–591. <https://doi.org/10.1007/s00429-010-0251-3>

- Lee, H., & Noh, J. (2015). Social exclusion intensifies anxiety-like behavior in adolescent rats. *Behavioural Brain Research*, *284*, 112–117. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.02.006>
- Long, V. A., & Fanselow, M. S. (2012). Stress-enhanced fear learning in rats is resistant to the effects of immediate massed extinction. *Stress*, *15*(6), 627–636. <https://doi.org/10.3109/10253890.2011.650251>
- Lubow, R. E., & Moore, A. U. (1959). Latent inhibition: The effect of nonreinforced pre-exposure to the conditional stimulus. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, *52*(4), 415–419. <https://doi.org/10.1037/h0046700>
- Marcolin, M. L., Hodges, T. E., Baumbach, J. L., & McCormick, C. M. (2019). Adolescent social stress and social context influence the intake of ethanol and sucrose in male rats soon and long after the stress exposures. *Developmental Psychobiology*, *61*(1), 81–95. <https://doi.org/10.1002/dev.21800>
- Markus, C. R., Rogers, P. J., Brouns, F., & Schepers, R. (2017). Eating dependence and weight gain; no human evidence for a ‘sugar-addiction’ model of overweight. *Appetite*, *114*, 64–72. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2017.03.024>
- Martin-Soelch, C., Linthicum, J., & Ernst, M. (2007). Appetitive conditioning: Neural bases and implications for psychopathology. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *31*(3), 426–440. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2006.11.002>
- Miranda, M. I., Sabath, E., Nuñez-Jaramillo, L., & Purón-Sierra, L. (2011).  $\beta$ -Adrenergic receptors in the insular cortex are differentially involved in aversive vs. Incidental context memory formation. *Learning and Memory*, *18*(8), 502–507. <https://doi.org/10.1101/lm.212611>

- Moraga-Amaro, R., Cortés-Rojas, A., Simon, F., & Stehberg, J. (2014). Role of the insular cortex in taste familiarity. *Neurobiology of Learning and Memory*, *109*, 37–45. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2013.11.012>
- Noble, E. E., Hsu, T. M., Liang, J., & Kanoski, S. E. (2019). Early-life sugar consumption has long-term negative effects on memory function in male rats. *Nutritional Neuroscience*, *22*(4), 273–283. <https://doi.org/10.1080/1028415X.2017.1378851>
- OMS. (1986). *La salud de los jóvenes; un desafío para la sociedad*. OMS.
- Ortolani, D., Oyama, L. M., Ferrari, E. M., Melo, L. L., & Spadari-Bratfisch, R. C. (2011). Effects of comfort food on food intake, anxiety-like behavior and the stress response in rats. *Physiology and Behavior*, *103*(5), 487–492. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2011.03.028>
- Paxinos, G., & Watson, C. (2014). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Academic Press.
- Pérez-Morales, E., Jiménez-Cruz, A., Alcántara-Jurado, L., Armendáriz-Anguiano, A., & Bacardí-Gascón, M. (2014). Association of obesity and eating in the absence of hunger among college students in a Mexican-USA border city. *Journal of Community Health*, *39*(3), 432–436. <https://doi.org/10.1007/s10900-013-9791-9>
- Revusky, S. H., & Bedarf, E. W. (1967). Association of Illness with Prior Ingestion of Novel Foods. *Science*, *155*(3759), 219–220. <https://doi.org/10.1126/science.155.3759.219>
- Reyes-López, J., Nuñez-Jaramillo, L., Morán-Guel, E., & Miranda, M. I. (2010). Differential effects of  $\beta$ -adrenergic receptor blockade in the medial prefrontal cortex during aversive and incidental taste memory formation. *Neuroscience*, *169*(1), 195–202. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.04.054>

- Rojas Ramírez, A. T., & García-Méndez, M. (2017). Construcción de una Escala de Alimentación Emocional. *Revista Iberoamericana de Diagnóstico y Evaluación - e Avaliação Psicológica*, 45(3), 85–95. <https://doi.org/10.21865/RIDEP45.3.07>
- Romeo, R. D., Patel, R., Pham, L., & So, V. M. (2016). Adolescence and the ontogeny of the hormonal stress response in male and female rats and mice. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 70, 206–216. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.05.020>
- Roozendaal, B., & McGaugh, J. L. (1996). Amygdaloid Nuclei Lesions Differentially Affect Glucocorticoid-Induced Memory Enhancement in an Inhibitory Avoidance Task. *Neurobiology of Learning and Memory*, 65(1), 1–8. <https://doi.org/10.1006/nlme.1996.0001>
- Roozendaal, B., & McGaugh, J. L. (1997). Basolateral Amygdala Lesions Block the Memory-enhancing Effect of Glucocorticoid Administration in the Dorsal Hippocampus of Rats. *European Journal of Neuroscience*, 9(1), 76–83. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.1997.tb01355.x>
- Roozendaal, B., Portillo-Marquez, G., & McGaugh, J. L. (1996). Basolateral amygdala lesions block glucocorticoid-induced modulation of memory for spatial learning. *Behavioral Neuroscience*, 110(5), 1074–1083. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.110.5.1074>
- Saper, C. B., Chou, T. C., & Elmquist, J. K. (2002). The Need to Feed. *Neuron*, 36(2), 199–211. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(02\)00969-8](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(02)00969-8)
- Seewoo, B. J., Hennessy, L. A., Feindel, K. W., Etherington, S. J., Croarkin, P. E., & Rodger, J. (2020). Validation of chronic restraint stress model in young adult rats for the study of depression using longitudinal multimodal MR imaging. *eNeuro*, 7(4), 1–22. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.01113-20.2020>

- Segerdahl, A. R., Mezue, M., Okell, T. W., Farrar, J. T., & Tracey, I. (2015). The dorsal posterior insula subserves a fundamental role in human pain. *Nature Neuroscience*, *18*(4), 499–500. <https://doi.org/10.1038/nn.3969>
- Spear, L. P. (2000). The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *24*(4), 417–463. [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(00\)00014-2](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(00)00014-2)
- Ulrich-Lai, Y. M., Christiansen, A. M., Ostrander, M. M., Jones, A. A., Jones, K. R., Choi, D. C., Krause, E. G., Evanson, N. K., Furay, A. R., Davis, J. F., Solomon, M. B., De Kloet, A. D., Tamashiro, K. L., Sakai, R. R., Seeley, R. J., Woods, S. C., & Herman, J. P. (2010). Pleasurable behaviors reduce stress via brain reward pathways. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *107*(47), 20529–20534. <https://doi.org/10.1073/pnas.1007740107>
- Ulrich-Lai, Y. M., Fulton, S., Wilson, M., Petrovich, G., & Rinaman, L. (2015). Stress exposure, food intake and emotional state. *Stress*, *18*(4), 381–399. <https://doi.org/10.3109/10253890.2015.1062981>
- Uphouse, L., Hiegel, C., Sarkar, J., Hurlburt, J., Templeton, C., Guptarak, J., & Maswood, N. (2008). Female gonadal hormones, mild restraint, and male preference. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *90*(4), 758–762. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2008.05.026>
- van Strien, T. (2018). Causes of Emotional Eating and Matched Treatment of Obesity. *Current Diabetes Reports*, *18*(6). <https://doi.org/10.1007/s11892-018-1000-x>
- Vera-Rivera, G., Miranda, M.-I., Rangel-Hernández, J. A., Badillo-Juárez, D., Fregoso-Urrutia, D., & Caynas-Rojas, S. (2018). Effects of caloric or non-caloric sweetener long-term

consumption on taste preferences and new aversive learning. *Nutritional Neuroscience*, 23(2), 128–138. <https://doi.org/10.1080/1028415x.2018.1478654>

Yaribeygi, H., Panahi, Y., Sahraei, H., Johnston, T. P., & Sahebkar, A. (2017). The impact of stress on body function: A review. *EXCLI Journal*, 16, 1057–1072. <https://doi.org/10.17179/excli2017-480>