



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN DE BDNF Y
RECEPTORES DE GLUCOCORTICOIDES,
5-HT_{1A} Y 5-HT_{2A} EN HIPOCAMPO DE LA
PROGENIE DE MADRES OBESAS

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIOLÓGICO

PRESENTA:

PABLO FRANCISCO CUESTA ZACARÍAS

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Marco Antonio Cerbón Cervantes



CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX.

2017



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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: Elena Zambrano González

VOCAL: Profesor: Ignacio Camacho Arroyo

SECRETARIO: Profesor: Marco Antonio Cerbón Cervantes

1er. SUPLENTE: Profesor: Aliesha Araceli González Arenas

2do. SUPLENTE: Profesor: José Vergara De la Fuente

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción Humana. Instituto Nacional de Perinatología-Facultad de Química, UNAM.

El presente trabajo fue realizado en colaboración con el Laboratorio de Programación del Desarrollo a cargo de la **Dra. Elena Zambrano González** del Departamento de Biología de la Reproducción del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INNSZ) del cual se obtuvieron las muestras biológicas con las cuales se realizó el proyecto.

INDICE

RESUMEN **4**

INTRODUCCIÓN **5**

- A) Obesidad femenina y gestación 6
- B) Obesidad: Efectos sobre la progenie 8
- C) Estrategias contra la obesidad 11

MARCO TEÓRICO **12**

- A) Hipocampo 12
- B) Serotonina 13
 - a) Serotonina y neurodesarrollo 15
 - b) Receptores 15
 - i) Características del Receptor 5-HT_{1A} 15
 - ii) Receptor 5-HT_{1A} y memoria 17
 - iii) Características del Receptor 5-HT_{2A} 17
 - iv) Receptor 5-HT_{2A} y memoria 18
- C) Glucocorticoides 19
 - a) Receptor de glucocorticoides 21
 - b) Glucocorticoides y memoria 22
- D) BDNF 23

JUSTIFICACIÓN **24**

OBJETIVOS **25**

- A) Objetivo General 25
- B) Objetivos Particulares 25

HIPÓTESIS **25**

MATERIAL Y METODOLOGÍA **26**

A) <u>Sujetos experimentales</u>	<u>26</u>
B) <u>Tratamientos</u>	<u>26</u>
C) <u>Disección de tejidos</u>	<u>27</u>
D) <u>Extracción y cuantificación del ARN total</u>	<u>27</u>
E) <u>Síntesis de ADN complementario (Transcriptasa reversa y reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR))</u>	<u>28</u>
F) <u>Análisis de la expresión del receptor a glucocorticoides, 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, y para BDNF por PCR cuantitativo (qPCR)</u>	<u>28</u>
G) <u>Análisis estadístico</u>	<u>30</u>

RESULTADOS **31**

DISCUSIÓN **34**

A) <u>Glucocorticoides y el neurodesarrollo</u>	<u>34</u>
B) <u>Receptor a glucocorticoides</u>	<u>35</u>
C) <u>Inflamación, radicales libres y obesidad</u>	<u>37</u>
D) <u>Receptores de serotonina</u>	<u>38</u>
E) <u>Serotonina y corticosterona</u>	<u>39</u>
F) <u>Receptor 5-HT_{1A}</u>	<u>39</u>
G) <u>Receptor 5-HT_{2A}</u>	<u>40</u>
H) <u>BDNF</u>	<u>41</u>

CONCLUSIONES **42**

REFERENCIAS **43**

Resumen

La obesidad es una enfermedad multifactorial caracterizada por la acumulación excesiva de grasa. Estudios en roedores, reportan que la progenie de madres obesas presenta alteraciones metabólicas y déficits cognitivos, indicando que la obesidad materna en la gestación afecta la siguiente generación.

El aprendizaje y memoria están regulados por diferentes neurotransmisores entre ellos el sistema serotoninérgico. Los receptores de serotonina 5HT_{1A} y 5HT_{2A} participan en la consolidación de la memoria. Por otro lado, los glucocorticoides son un subgrupo de hormonas esteroideas, importantes para el eje hipotálamo-hipofisario-adrenal (HHA). El hipocampo presenta una elevada densidad de receptores a glucocorticoides (GR) ya que éste constituye un punto de retroalimentación negativa del eje HHA y participan en el proceso de aprendizaje. El BDNF es una neurotrofina que actúa como factor de crecimiento para el neurodesarrollo, además de modular la plasticidad sináptica en relación al aprendizaje y memoria.

El objetivo de este estudio fue analizar la expresión de BDNF, RG, 5HT_{1A} y 5HT_{2A} en hipocampo de la progenie de ratas obesas. Previamente, se obtuvieron ratas machos de la generación F1 cuyas madres tuvieron los siguientes tratamientos: control (CTRL), dieta grasa (MO), intervención en la dieta un mes previo a la gestación (PG) y durante la gestación (G) las cuales a los 110 días de vida se sacrificaron y se extrajo el hipocampo. Posteriormente se extrajo el ARNm mediante el método fenol-cloroformo, se sintetizó ADNc y se realizó un qRT-PCR para determinar la expresión de BDNF, RG, 5HT_{1A} y 5HT_{2A}.

Los resultados muestran que la dieta grasa materna provoca una disminución en la expresión de BDNF, RG, 5HT_{1A} y 5HT_{2A} en hipocampo, lo cual se relaciona con el déficit cognitivo, mientras que ambas intervenciones en la dieta normalizan dicha expresión, excepto en 5HT_{2A} posiblemente por afectaciones en el neurodesarrollo causadas por un ambiente adverso uterino provocado por la dieta rica en grasa y la obesidad materna.

Introducción

La obesidad es una enfermedad crónica, compleja y reversible de carácter metabólico que se caracteriza por la acumulación excesiva de grasa debido a un aumento en la ingesta de alimentos ricos en grasa y azúcares, pero con poca cantidad de vitaminas, minerales y otros micronutrientes, aunado a un descenso en la actividad física; llevando a un desequilibrio energético entre las calorías ingeridas y las gastadas (Rivera et al., 2015; Cone 1999; NHL y BI. 2012). La Organización Mundial de la Salud (OMS) define como obesidad cuando el IMC (índice de masa corporal, cociente entre el peso de un individuo y la estatura al cuadrado) es igual o superior a 30 kg/m². También se considera signo de obesidad un perímetro abdominal en hombres mayor o igual a 102 cm y en mujeres mayor o igual a 88 cm (OMS, 2014).

Este trastorno es multifactorial, ya que en su desarrollo pueden intervenir diversas causas tanto exógenas como endógenas entre las que se encuentran predisposición genética, estilo de vida (sedentarismo), factores sociales y ambientales; así como alteraciones hormonales o enfermedades asociadas (NHL y BI. 2012).

Estadísticas

La obesidad es un problema mundial, ya que afecta a personas cualquier edad, sexo y grupo étnico (Ortega-González et al., 2015; OMS. 2015, INEGI. 2015). Cada año, como mínimo 2.8 millones de adultos fallecen por las consecuencias del sobrepeso o la obesidad, entre ellas ciertos tipos de cáncer, cardiopatía isquémica y diabetes (NHL y BI. 2012; Lau et al., 2015). Este problema grave de salud ha ido aumentando llegando a un 15% de la población en los últimos 10 años (Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Estados Unidos (NHANES); Ortega-González et al., 2015).

Obesidad femenina y gestación

La obesidad y la diabetes en mujeres se han incrementado a la par de lo que sucede en la población general. De acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud 2012, las mujeres, especialmente en edad reproductiva, ocupan los primeros lugares en sobrepeso, obesidad y en diabetes cuando se comparan con hombres (Gutiérrez et al., 2012; ENSANUT 2012), ya que la prevalencia de sobrepeso y obesidad en mujeres es de 73%, con un promedio del perímetro de cintura de 92.6 cm, valor muy por arriba del propuesto por la Federación Internacional de Diabetes y la OMS para definir obesidad (OMS, 2014). Al analizar por subgrupos de edad a la población femenina, la media del IMC de 20 a 29 años de edad es de 26.6 kg/m² y en el grupo de 30 a 39 años es de 29 kg/m² (Figura 1) (Barquera et al., 2013), por lo que se podría decir que durante la etapa reproductiva de la mujer comienza a darse un aumento importante en el índice de masa corporal y problemas de sobrepeso u obesidad.

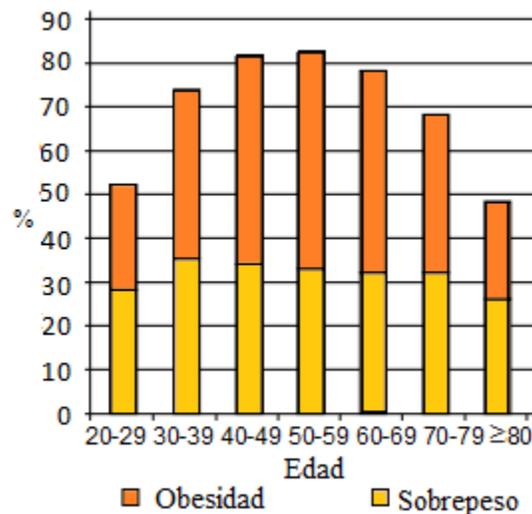


Figura 1. Porcentaje de mujeres mexicanas que presentan sobrepeso y obesidad por década de edad. Se observa que, a mayor edad, el índice de masa corporal se va aumentando debido a factores hormonales, capacidades físicas disminuidas y falta de tiempo que provocan sedentarismo entre otros. Tomado de Ortega-González et al., 2015

Tales estadísticas son preocupantes, debido a que cada vez existe un mayor número de mujeres que llega a su primer embarazo con diabetes, obesidad o ambas y este fenómeno se perpetúa en las siguientes gestaciones (Barquera et al., 2012).

La sobrenutrición y la diabetes materna conllevan mayores riesgos obstétricos y para el recién nacido que en una mujer con peso adecuado. En las mujeres gestantes con obesidad se han encontrado mayores concentraciones de citosinas pro-inflamatorias circulantes, mayor resistencia a la insulina, alteraciones del metabolismo y de las concentraciones de glucosa y lípidos, lo que puede ocasionar la sobrenutrición y macrosomía fetal. (Barquera et al., 2012; Ramsay et al., 2002). Por lo que se refiere a las complicaciones maternas, el riesgo de abortos espontáneos (Metwally et al., 2008) y diabetes gestacional es mayor (Linne et al., 2003) así también la probabilidad de padecer hipertensión es tres veces mayor en mujeres con obesidad y se eleva cuatro veces más en mujeres con obesidad mórbida (O'Brien et al., 2003). En relación con la preeclampsia el riesgo es del doble; además, el riesgo de cesárea se incrementa incluso a 33.8% (Oveson et al., 2011), igual que el de complicaciones anestésicas, infección, hemorragia posparto y eventos tromboembólicos (Heslehurst et al., 2008; Sebire et al., 2001; Knight, et al., 2011).

En la obesidad materna para el recién nacido existe un mayor riesgo de anomalías congénitas (Rankin et al., 2010), prematuridad (Heslehurst et al., 2008) o muerte neonatal (Oveson et al., 2011). Así también, la obesidad materna se ha identificado como un factor de riesgo para malformaciones fetales por ejemplo del sistema nervioso central (SNC) y defectos oro-faciales las cuales son cuatro veces más que una mujer sin obesidad (Rasmussen et al., 2009). Por lo cual, el Instituto de Medicina de los Estados Unidos a partir de 1990 sugirió la vigilancia de la ganancia adecuada de peso durante el embarazo según el IMC pre gestacional de la mujer y de esta manera reducir los riesgos asociados con la obesidad materna y la sobrenutrición fetal (Rasmussen et al., 2009).

Obesidad: Efectos sobre la progenie

La obesidad tiene diversos efectos negativos sobre el individuo que la padece, sin embargo, recientes estudios revelan que la progenie de individuos obesos también se ve afectada (Hinkle et al., 2012). Estudios epidemiológicos y en modelos animales han demostrado la relación entre obesidad materna durante el desarrollo temprano con la predisposición de alteraciones fisiológicas, anatómicas y funcionales en la vida adulta de la progenie (Flanagan et al., 2000, Sánchez et al., 2004, Ashino et al., 2012). De estas evidencias ha surgido la hipótesis de que muchos padecimientos podrían estar relacionados con un cambio en la programación durante la etapa fetal “Desarrollo de la salud y la enfermedad DOHAD” la cual propone que una mala nutrición fetal provoca adaptaciones endócrinas que alteran de forma permanente la morfología, fisiología y el metabolismo del individuo adulto (Flanagan et al., 2000). Esta programación se altera durante periodos críticos del desarrollo con lo que provoca efectos que a largo plazo permanecen incluso en la etapa adulta indicando que durante esta etapa se le deben de proveer al feto los nutrientes necesarios (cantidad y calidad) para su correcto desarrollo (Thompson, 2007; Jackson et al., 2010; Hernández et al., 2016).

Un modelo que está siendo ampliamente estudiado por diversos grupos de investigación es el de la obesidad materna en ratas, en el cual las futuras madres son alimentadas con altos contenidos de grasa. La mayoría de estudios revela que las madres obesas (MO) tienen un incremento importante en el peso, un índice elevado de adiposidad, concentraciones elevadas de leptina e hígado graso (Vega et al., 2013). Mientras que sus crías (las cuales han sido alimentadas con una dieta balanceada) presentan un mayor peso corporal, una elevada cantidad de tejido adiposo, además al momento del destete presentan hiperglucemia, hiperfagia e incremento en fosfolípidos y colesterol (Steenweg et al., 2015; Anne et al., 1997; Guo et al., 1995; Song et al., 2015; Ashino et al., 2012; Samuelsson et al., 2008; King et al., 2006; Hernández et al., 2016). Otros estudios revelan que las crías de ambos sexos presentan un peso normal al nacimiento y al destete (día 21 postnatal), pero a partir de la pubertad se incrementa el peso a expensas del tejido

adiposo hipertrofiado; además presentan elevadas concentraciones de colesterol, triglicéridos y leptina (Samuelsson et al., 2008; Bautista et al., 2015; Hernández et al., 2016). Lo cual indica que efectivamente la exposición durante el desarrollo a una mala nutrición provoca alteraciones metabólicas a largo plazo en las crías.

En otros modelos animales como oveja y primates (Figura 2) se han obtenido resultados similares, observando que el hecho de que la madre consuma dietas con alto contenido de grasas durante toda la vida y/o durante la gestación y la lactancia produce alteraciones en las crías, como: rápida ganancia de peso, hiperfagia en la edad adulta, además los mecanismos de regulación de la ingesta y saciedad se ven alterados (Ashino et al., 2012; Zambrano et al., 2005; Grant et al., 2011; Long et al., 2010).

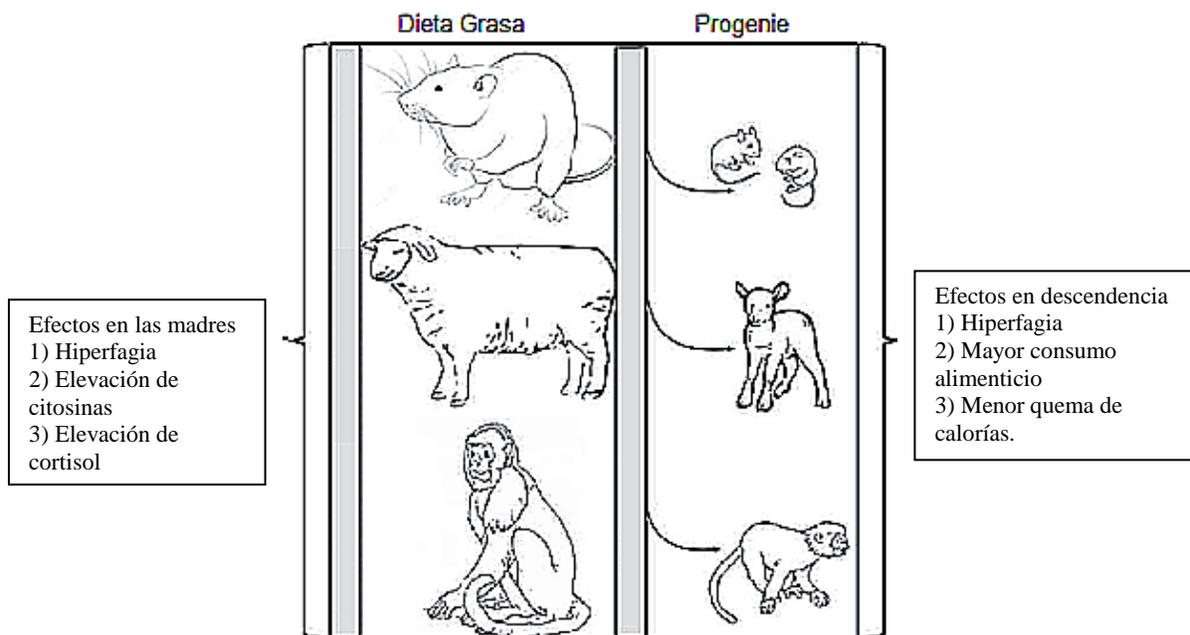


Figura 2. Efectos metabólicos sobre la descendencia de madres obesas en distintos modelos animal. Editado de Hernández et al. 2016.

Recientemente se han reportado evidencias de que la exposición prenatal a la obesidad materna y enfermedades metabólicas (diabetes, hipertensión y padecimientos maternos relacionados con dieta) por un periodo largo de tiempo, genera un impacto negativo sobre el comportamiento y trastornos del aprendizaje en las crías (Visser et al., 2011).

En humanos, los estudios que se han realizado sobre la asociación entre la obesidad materna con problemas de aprendizaje y memoria son escasos. Entre ellos está la asociación de la obesidad materna con un lenguaje pobre y disminuido en niños de 8 años, en donde no se encontró deficiencia cognitiva (Hinkle et al., 2012). Otro estudio reporta una asociación entre obesidad materna con calificaciones bajas en matemáticas y problemas de lectura (Tanda et al., 2013). Además, un estudio en infantes Afro-americanos de familias de escasos recursos, reporta una relación entre la obesidad materna y un IQ bajo en sus hijos (Neggers et al., 2013).

Por otro lado, en estudios previos del grupo de la **Dra. Zambrano** realizados en ratas macho, crías de madres obesas, muestran los efectos negativos de la obesidad materna a nivel cognitivo en la prueba de condicionamiento operante, en donde las crías de madres obesas requieren un mayor número de sesiones para aprender a asociar el refuerzo positivo con la tarea de presionar la palanca (baja asociación y retención) (Rodríguez et al., 2012) indicando que una dieta rica en grasa durante toda la vida de las madres incluyendo la etapa gestacional y la lactancia genera daños a nivel cognitivo sobre las crías. Además, se analizó la concentración de corticosterona tanto en las madres como en las crías, en el que se observó que las madres obesas presentaban una concentración alta de corticosterona, mientras que en las intervenciones en la dieta (PG y G) hubo una normalización en éstos (Figura 3) (Rodríguez et al., 2012). Dicha elevación en los glucocorticoides pudo generar alteraciones en el neurodesarrollo de las crías, ya que esta hormona al ser lipofílica puede atravesar la barrera placentaria en etapas críticas del desarrollo fetal, lo cual podría relacionarse con alteraciones cognitivas.

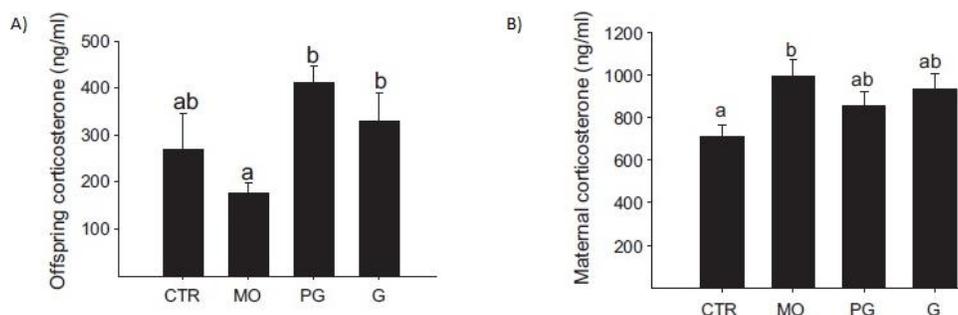


Figura 3: A) Niveles de corticosterona en crías de madres de distintas dietas. B) Niveles de corticosterona en madres de distintas dietas Rodríguez et al., 2012.

Estrategias contra la obesidad

El sobrepeso y la obesidad son en gran parte prevenibles (NHL y BI, 2012), se han realizado estudios en modelos animal (rata, oveja o primates no humanos), debido a las implicaciones éticas de trabajar con humanos, además es muy largo el tiempo para evaluar los efectos transgeneracionales de la obesidad. Estos modelos animales han mostrado que la mala nutrición en madres genera efectos adversos sobre el feto, predisponiéndolo a alteraciones metabólicas como obesidad y diabetes, este fenómeno se conoce como “programación” (Nathanielsz 2013) ya que prevalece a la siguiente generación (Srinivasan et al., 2006; Samuelsson et al., 2008). Así también, hay estudios que indican que diferentes intervenciones como el cambio de dieta en un individuo con sobrepeso u obesidad mejora su metabolismo a largo plazo (Nathanielsz 2013). Estudios de crías de madres obesas muestran que el cambio en la dieta a edad temprana les permite bajar su IMC y la normalizar la concentración de leptina (Bautista et al., 2015).

Recientemente el grupo de la **Dra. Zambrano** y cols. analizaron los efectos preventivos del cambio de dieta sobre el aprendizaje y memoria en crías macho de madres obesas, mediante la prueba de condicionamiento operante (Figura 4), que muestra que la intervención en la dieta un mes previo a la gestación (PG) no revierte el déficit cognitivo (baja asociación/retención) causado por la exposición a la dieta grasa materna, mientras que la intervención durante la gestación (G) revierte parcialmente los efectos negativos de la obesidad materna en esta prueba (Rodríguez et al., 2012). Indicando que la obesidad materna causa alteraciones en el aprendizaje y la memoria, aún con cambio en dieta (PG y G), respecto al CTRL.

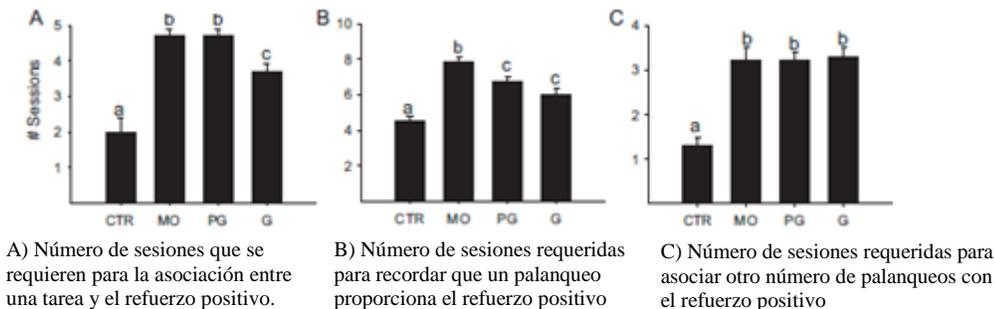


Figura 4. Condicionamiento operante entre grupos de crías macho de madres obesas (MO) e intervenciones en la dieta un mes previo a la gestación (PG) y durante la gestación (G). Se muestra que la dieta grasa materna provoca disminución en la asociación y retención en la prueba de condicionamiento operante, por otro lado las intervenciones en la dieta no logran revertir este efecto del todo (Rodríguez et al., 2012).

MARCO TEORICO

Como se mencionó anteriormente la dieta grasa a lo largo de la vida de la madre produce en la progenie cambios en el sistema nervioso central que se ven reflejados en problemas relacionados con la memoria y el aprendizaje, ambos son dos procesos cognitivos trascendentales para la adaptación y la supervivencia de los organismos. Ambas conductas son procesadas en el sistema nervioso central y su regulación requiere de la participación de diversas estructuras cerebrales, como el hipocampo, el cual está asociado en parte con la memoria declarativa (Olivares-Hernández et al., 2015). Previamente para la evaluación de la memoria dependiente de hipocampo se realizó la prueba de condicionamiento operante en el laboratorio de la Dra. Zambrano. (Rodríguez et al., 2012).

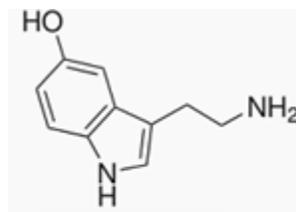
Hipocampo

El hipocampo es una estructura ubicada en el lóbulo temporal medial del cerebro que forma parte del sistema límbico. El hipocampo se ha considerado un área crítica para la adquisición del aprendizaje espacial y la consolidación de la memoria a corto y largo plazo y orientación espacial (Andersen et al., 2007) funcionando como mediador entre la adquisición de las nuevas experiencias (asociadas sobre todo a la codificación del emplazamiento espacial y la memoria episódica) y su transmisión a las estructuras donde serán consolidadas. Existe una fuerte interconexión con el componente emocional que acompaña a la información, lo que mantiene el concepto de integración hipocampal con el sistema límbico (Phelps, 2004; Eichenbaum y Cohen, 2014).

En la conectividad externa, otras estructuras envían fibras al hipocampo, como la amígdala, que proyecta al subículo, y al septum que envía axones colinérgicos a la región CA1 hipocampal (Teles et al., 2013), el locus coeruleus que envía proyecciones noradrenérgicas (Loy et al., 1980) y el núcleo de rafe con proyecciones serotonérgicas (Azmitia, 1981). Por lo que hay una regulación en la función hipocampal desde otras áreas cerebrales. Las principales conexiones son glutamatérgicas, aunque existen poblaciones de interneuronas que utilizan el ácido γ - amino-butírico (GABA) para formar parte de los circuitos locales.

Serotonina

La serotonina (5-HT) influye sobre casi todas las funciones cerebrales, regula el sueño, actividad sexual, apetito, ritmos circadianos, funciones neuroendocrinas, temperatura corporal, dolor, actividad motora y funciones cognitivas como el aprendizaje (Orgen. 1985) y la memoria, entre otras (Buhot et al., 2000). La 5-HT es una indolalquilamina constituida por un grupo indol, un hidroxilo y un grupo amina (Figura 5) (Frazer et al., 1999).



Serotonina
(5-Hidroxitriptamina)

Figura 5. Molécula de serotonina.

Su síntesis se da a partir del aminoácido triptofano, presente en el torrente sanguíneo proveniente de la dieta. Dado que el 5-HT no puede cruzar la barrera hematoencefálica toda la 5-HT del SNC es sintetizada localmente. Esta síntesis se lleva a cabo en los núcleos del rafe con grupos celulares clasificadas desde el B1 al B9 (Dahlström et al., 1964), en el que sus proyecciones B1 a B4 se dirigen hacia la médula espinal, bulbo y cerebelo principalmente, mientras que de B5 a B9 se distribuye hacia el hipotálamo, tálamo e hipocampo (Figura 6) (Rudnick, 2006).

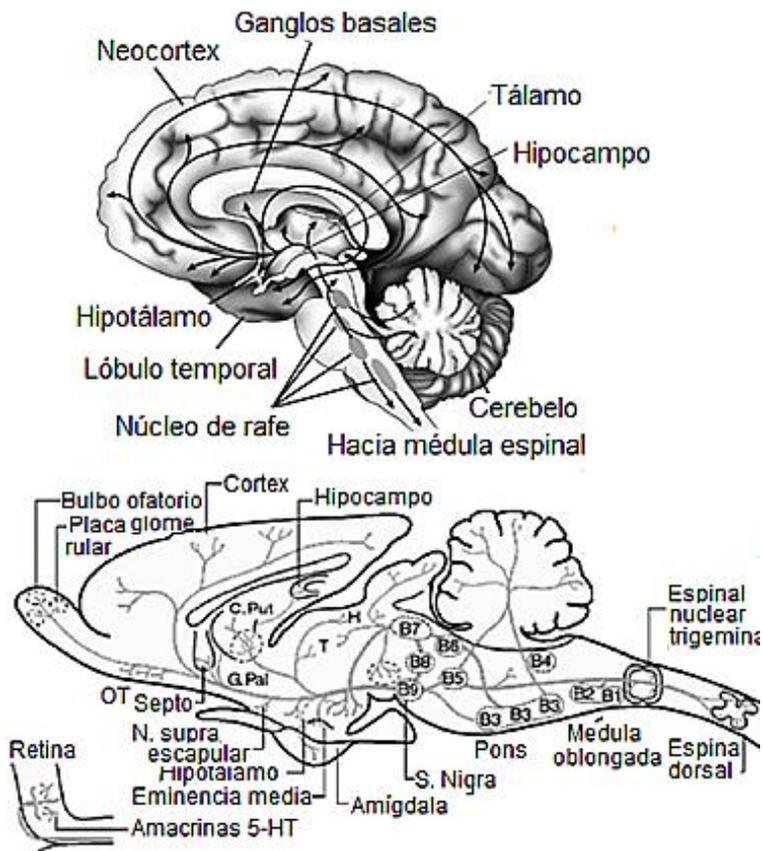


Figura 6. Se muestran vista sagital de las proyecciones neuronales de los núcleos del rafe B₁-B₉ según la clasificación de Dahlström y Fuxe (1964). A: Localización de núcleos del rafe y sus proyecciones en humano. B. Localización de núcleos del rafe y sus proyecciones en rata (Tomada de Hensler et al., 1994).

La síntesis de 5-HT se lleva a cabo a través de dos enzimas, la Triptofano hidroxilasa (TPH) y la hidroxitriptofano descarboxilasa. Una vez sintetizada ésta se empaqueta en vesículas y ante un estímulo es liberada a la hendidura sináptica donde interactúa con sus receptores. Los receptores de 5-HT (en su mayoría) activan sistemas enzimáticos que producen la estimulación de la adenilato-ciclasa, responsable del paso del ATP a AMPc (5-HT₄, 5, 6 y 7), su inhibición (5-HT₁), o la estimulación de la fosfolipasa C, responsable de la conversión del fosfatidil inositol-4,5-difosfato (PIP₂) en inositol trifosfato (IP₃) y diacilglicerol (DAG) (5-HT₂) (Fischer, 1973). Estos mecanismos de segundos mensajeros estimulan a protein cinasas, cuyo resultado final es la fosforilación de proteínas, que se consideran terceros mensajeros y efectores finales del mensaje a la segunda neurona (Rudnick, 2006). La neurotransmisión finaliza cuando el neurotransmisor es metabolizado por enzimas como la monoamino oxidasa (MAO) o al ser retirado de

la hendidura sináptica mediante la recaptura del mismo por la propia neurona que lo liberó o por células circundantes mediante el sistema de recaptura (SERT) (Rudnick, 2006).

Serotonina y neurodesarrollo

En ratas, las neuronas serotoninérgicas del tallo cerebral son las primeras neuronas en diferenciarse y juegan un papel clave en la regulación de la neurogénesis (Azmitia, 2001). Los cuerpos celulares del rafe se proyectan con amplitud a lo largo del sistema nervioso central. La serotonina además de actuar sobre las neuronas adyacentes también es capaz de pasar por difusión a través de los tejidos y viajar por la circulación participando como neuromodulador y en el desarrollo. En el sistema nervioso central 5-HT puede regular la diferenciación de progenitores neurales, alterar el desarrollo cerebral, perfeccionar la formación de circuitos neuronales, promover la sobrevivencia neuronal, estimular a astrocitos a secretar factores tróficos como S100 β , modular la dirección de axones y actuar como un neuromodulador de sinapsis y circuitos (Trakhtenberg y Goldberg, 2012). Se ha observado que durante el desarrollo los niveles de serotonina y del ARNm de la TPH se incrementa 35 veces en el rafe dorsal entre el día 18 y 22 postnatales (Rind et al, 2000).

Receptores de Serotonina

Los receptores serotoninérgicos constituyen al menos 15 subtipos, clasificados en siete familias que van de la 5-HT₁ a la 5-HT₇ de acuerdo al segundo mensajero en su vía de señalización (Valdizán et al., 2009). Sin embargo, el presente estudio se centró en el análisis de los receptores 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A}.

Receptor 5-HT_{1A}

La familia de los receptores 5-HT₁ está constituida por cinco subtipos de receptores con elevada homología en su secuencia de aminoácidos y se encuentran acoplados preferencialmente, aunque no exclusivamente, a proteínas Gi/o para inhibir la formación de AMPc (Peroutka y Snyder, 1979).

La localización de los receptores 5-HT_{1A} es amplia y se distribuyen a través de casi todo el SNC, presentando una mayor densidad en los núcleos del rafe (presinápticos; inhiben la síntesis y liberación presináptica de 5-HT o autorregulatorios), áreas del septo lateral (amígdala), el hipocampo y en la corteza entorrinal (postsinápticos) (Pazos y Palacios, 1985; Khawaja, 1995). Sin embargo, y pese a ser estas las principales zonas de expresión del receptor 5-HT_{1A} (Hall et al., 1997). Este receptor se ubica en la zona somatodendrítica de la neurona (Pazos y Palacios, 1985). Dada su localización somatodendrítica (Figura 7) a nivel de los núcleos del rafe, su grado de activación será responsable de controlar el tono serotoninérgico central y los niveles de serotonina que se van a liberar en las distintas regiones de inervación, ya que diversos estudios señalan que el receptor 5-HT_{1A} participa en la regulación de la síntesis, almacenamiento y liberación de serotonina, así como en el control de la actividad eléctrica de estas neuronas. (De Montigny y Blier, 1992; Barnes y Sharp, 1999).

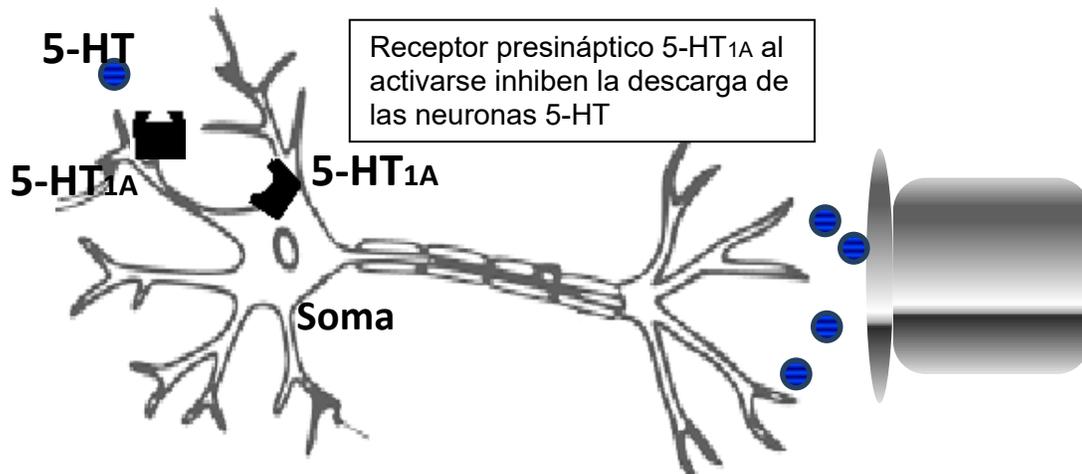


Figura 7. Receptor 5-HT_{1A} en área somatodendrítica de neurona 5-HT.

Este receptor al activarse provoca apertura de canales de K⁺, lo que conduce a una hiperpolarización del potencial de membrana dificultando la conducción del impulso nervioso (Colino y Halliwell, 1987). Otros mecanismos de transducción de señales acoplados al receptor 5-HT_{1A} son la inhibición de los canales de Ca²⁺ (Penington y Kelly, 1990), la activación de la enzima fosfolipasa C (PLC) (Fargin et al., 1989), la estimulación del enzima óxido nítrico sintasa (Carmena et al., 1998).

Este receptor también activa otras cascadas de segundos mensajeros, como las vías Mitogen-Activated Protein Kinases (MAPK) y los receptores/canales N-metil-D-aspartato) (Drago et al., 2008).

Receptor 5-HT_{1A} y memoria

El receptor 5-HT_{1A} está implicado en diversas patologías de carácter psiquiátrico y cognitivo (Varrault y Bockaert, 1992). Mediante el uso del agonista 8-hidroxi-2-[di-n-propilamino] tetralin] (8-OH-DPAT) se ha podido estudiar este receptor en procesos del aprendizaje y memoria, en específico la consolidación de la información. Se ha reportado que el pre-entrenamiento con este fármaco provoca un aumento en la expresión del receptor 5-HT_{1A} en la amígdala, núcleo del septal y distintas áreas corticales (parietal, temporal y retoespenial granular) y el núcleo de rafe bajo una administración de una dosis de 0.3 mg/kg de 8-OH-DPAT favoreciendo la consolidación de la memoria; por otro lado hay una disminución en la expresión de este receptor en la región CA1 del hipocampo, en hipotálamo dorsal y algunas áreas corticales (frontal, occipital y cingulado) (Luna et al., 2005; Manuel et al., 2005; Meneses et al., 2004; Tomie et al., 2003). Otro estudio muestra que en las áreas hipocampales CA2-CA4, hay un aumento en la cantidad de estos receptores presente produciendo una disminución en la retención en la prueba de laberinto acuático de Morris (Topi et al., 2006).

Receptor 5-HT_{2A}

La familia de los receptores 5-HT₂ está acoplado a proteínas G (GPCR) utilizando en su vía de señalización proteínas Gq/11 (Pritchett et al., 1988). El receptor 5-HT_{2A} se encuentra presente especialmente en áreas corticales (la neocorteza, la corteza entorrinal y piriforme), núcleo caudado, accumbens, bulbo olfatorio, hipocampo y corteza prefrontal (Aghajanian y Marek, 1999; Pritchett et al., 1988; Pazos et al., 1985) y en neuronas piramidales glutamatérgicas de la corteza cerebral (Wright et al., 1995).

Este receptor está implicado en numerosas funciones (Serretti et al., 2007). Los receptores 5-HT₂ se acoplan positivamente a la fosfolipasa (PL) C, conduciendo a la acumulación de inositol trifosfato a la elevación del Ca²⁺ intracelular, sin embargo, el receptor 5-HT_{2A} además activa otras fosfolipasas como la PLA2, así como la vía de ERK en neuronas o la PLD en células no neuronales (Raymond et al., 2001). La activación de los receptores 5-HT_{2A} induce excitación neuronal en diversas regiones cerebrales (Aghajanian y Marek, 1999).

Receptor 5-HT_{2A} y memoria

Se ha considerado que el hipocampo es una de las estructuras cerebrales más importantes en la consolidación de la memoria (Luna-Munguia et al., 2005), y dado que el receptor 5-HT_{2A} se encuentra en alta densidad en el hipocampo, este se ha considerado como una pieza clave para la consolidación de la memoria. La administración de metilendioximetamfetamina (antagonista del receptor 5-HT_{2A}) a ratones produce un deterioro en la consolidación de la memoria en la prueba de condicionamiento operante (Zhang et al., 2015).

Se ha encontrado que la activación del receptor 5-HT_{2A} genera un aumento en el flujo extracelular de glutamato en el hipocampo dorsal, y un aumento en la frecuencia de los disparos sinápticos en CA1 (Zhang et al., 2015) produciendo la consolidación de la memoria. Por otro lado, el agonista inverso del receptor 5-HT_{2A}, la pimavanserina, produce mejoría en la memoria en combinación con fármacos antipsicóticos (Snigdha et al., 2010).

La activación del receptor además induce la expresión del factor neurotrófico derivado del cerebro; *brain-derived neurotrophic factor* por sus siglas en inglés (BDNF) permitiendo la formación de espinas dendríticas (Yoshida et al., 2011), por lo que participa en la plasticidad sináptica en hipocampo y con ello el aprendizaje y la consolidación de la memoria (Vaidya et al., 1997).

También se ha reportado que los glucocorticoides permiten la activación del receptor 5-HT_{2A}, y que participan en la consolidación de la memoria (Elias et al., 2003).

Glucocorticoides

Los glucocorticoides son hormonas de la familia de los corticosteroides que participan en distintos procesos del organismo que van desde la regulación del metabolismo de carbohidratos hasta procesos con actividad antiinflamatoria e inmunosupresora. Estructuralmente tiene como base un ciclo pentano perhidrofenantreno constituido por 21 carbonos. El cortisol es el principal glucocorticoide endógeno en humanos, y la corticosterona en diversas especies animales, como la rata, el ratón y el pollo (Figura 8).

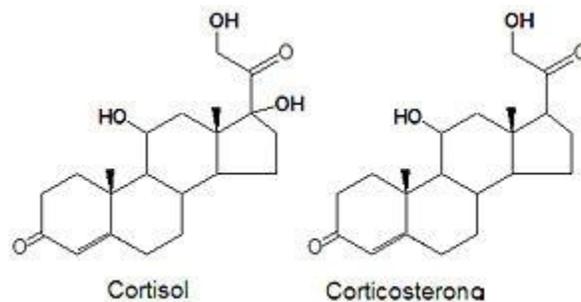


Figura 8. Muestra el esqueleto del cortisol como representante de los glucocorticoides en humanos, mientras que la corticosterona como representante de los glucocorticoides en rata, ratón y pollo.

Los glucocorticoides son sintetizados principalmente en la zona fasciculata de la corteza de la glándula adrenal (Calandra, 1985). Su síntesis y secreción son reguladas a través de la comunicación jerárquica entre distintos órganos endócrinos compuesta por el hipotálamo, la glándula hipófisis y la corteza adrenal, en lo que se denomina el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA) (un sistema que, en condiciones basales, presenta patrones de secreción pulsátil y circadiana de las diferentes hormonas que lo componen) (McMaster 2007; Kleiman et al., 2007). En repuesta a diversas señales, el hipotálamo secreta la hormona liberadora de corticotropina (CRH), la cual a su vez activa la síntesis de proopiomelanocortina (POMC) y la liberación de la hormona adrenocorticotropina (ACTH) en los corticotropos de la glándula hipófisis. Esta hormona actúa sobre la corteza adrenal promoviendo la síntesis y secreción de glucocorticoides (Simpson, 1988). Los niveles circulantes de glucocorticoides son mantenidos, en parte, por la retroalimentación negativa establecida dentro del eje HHA (Figura 9) la alta

concentración de cortisol disminuye la secreción de ACTH, disminuyendo entonces la síntesis y secreción de glucocorticoides (Vinson et al., 1992). Una vez liberados, los glucocorticoides se transportan en forma libre (15%), o unidos a proteínas plasmáticas, como la globulina fijadora de cortisol (80%) y la albúmina (5%) (Westphal, 1986). Sólo la hormona libre es capaz de ingresar dentro de las células, y por lo tanto ser biológicamente activa (Van der Laan, 2008).

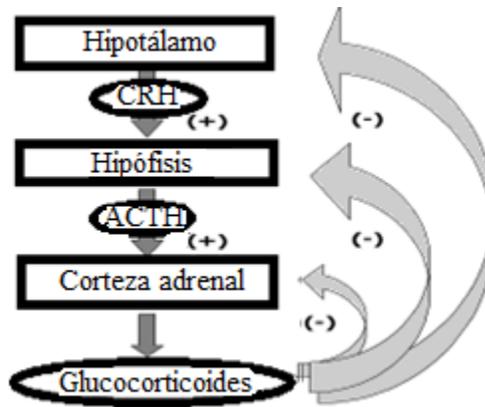


Figura 9. Representación esquemática del eje HHA. La CRH liberada por el hipotálamo, actúa en la hipófisis, donde activa la secreción de la ACTH, esta al estimular la corteza adrenal, tiene como efecto la secreción y producción de glucocorticoides (circulantes en torrente sanguíneo ejercen efectos inhibitorios sobre el eje HHA, y frenan la secreción de ACTH de la hipófisis y de CRH del hipotálamo) (Sandi C, et al., 1996).

La acción de los glucocorticoides es dependiente de su concentración, ya que en baja concentración los efectos se ejercen sobre enzimas involucradas en el metabolismo de hidratos de carbono, lípidos y proteínas, sin embargo en una concentración alta, por ejemplo en situaciones de estrés agudo se activan mecanismos antiinflamatorios e inmunosupresores, estos efectos están relacionados a la capacidad de los glucocorticoides de inhibir la síntesis y/o liberación de citocinas como $TNF\alpha$, IL1, IL2, IL3, IL4, IL5, IL6, IL8, IL10, IL13, e interferón y en diversos tipos celulares, como células T, macrófagos y neutrófilos (McMaster, 2007; Cole, 2006; Chen, 2008; Almawi et al 1996; Fushimi et al., 1998; Kunicka et al., 1993; Rolfe et al., 1992). A nivel crónico esto puede generar un efecto contrario, es decir, un proceso inflamatorio en distintas áreas del cerebro, particularmente en el hipocampo. Existen estudios que revelan que en la obesidad hay un proceso crónico de inflamación en el que genera atrofas en el cerebro, particularmente en el hipocampo, por lo que produce alteraciones en el

aprendizaje y la memoria (Elias et al., 2003, 2005; Cournot et al., 2006; Sabia et al., 2009; Miller et al., 2014).

La reacción del eje HHA al estrés está modulada en su intensidad y su duración por la retroalimentación de los glucocorticoides a nivel de hipocampo, siendo las neuronas hipocampales muy sensibles al exceso o a la insuficiencia de glucocorticoides (Sapolsky et al., 2000). El aumento de glucocorticoides debido a estrés crónico incrementa la expresión de citocinas pro-inflamatorias como el factor de necrosis tumoral α e IL-6, además de la presencia de especies reactivas de oxígeno, que generan una alteración en el eje HHA, una reducción en la densidad de las espinas neuronales, apoptosis neuronal y una reducción en el volumen del hipocampo, por lo que esta alteración podría producir deficiencias en el aprendizaje y la memoria (Sapolsky, 1985; Woolley et al., 1990; Kerr et al., 1991; Magarinos and McEwen, 1995).

Receptor de glucocorticoides

Los glucocorticoides producen su acción a través de su unión al receptor de glucocorticoides (RG), el cual pertenece a la superfamilia de receptores nucleares que actúan como factores de transcripción luego de unirse a sus ligandos específicos (Escriva et al., 2004) se encuentra en casi todos los tipos celulares, regulando una gran diversidad de sistemas fisiológicos.

El RG es una proteína modular organizada en tres dominios estructurales y funcionalmente bien definidos ya que cuenta con un dominio N-terminal, que contiene la región de activación (AF-1) independiente de ligando; un dominio de unión al ADN, además de una región de dimerización del receptor; y la porción C-terminal, llamada dominio de unión al ligando (LBD) (Figura 10) (Kumar R, 2005). Este último dominio no sólo contiene el sitio de unión al ligando, sino que también presenta una segunda región de activación (AF-2), el sitio de unión a chaperonas y otras proteínas (Kumar, 1999). Además de estos dominios presenta dos señales de localización nuclear presentes en la región comprendida entre el DBD y el LBD (Picard y Yamamoto, 1987).

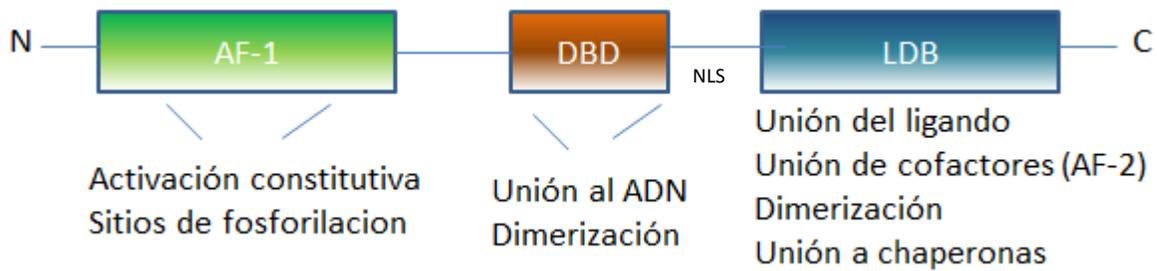


Figura 10. Estructura modular del GR en el que se muestra en forma esquemática los tres dominios del GR, con sus características principales. AF-1→ función de activación-1; DBD--> dominio de unión al ADN; LBD→ dominio de unión al ligando; NLS→ señal de localización nuclear. Adaptado de Moore et al., 2006.

Glucocorticoides y memoria

Los glucocorticoides al ser lipofílicos atraviesan la barrera hematoencefálica por lo que pueden acceder fácilmente al cerebro; aunado a ello las áreas cerebrales implicadas en los procesos de aprendizaje y memoria como el hipocampo presentan una elevada densidad de RG (De Kloet et al., 1999).

Hay una relación funcional entre la liberación de corticosterona y el nivel de aprendizaje y por ende la retención de memoria, ya que los glucocorticoides participan en su consolidación (Pugh et al., 1997). En condiciones basales la administración intra-hipocampal de corticosterona o de agonistas sintéticos de los RG potencia la consolidación de la memoria en diversas pruebas, mientras que la administración intracerebral de antagonistas produce el efecto contrario (Micheau et al., 1985; Roozendaal et al., 1997). Por otro lado, el estrés crónico afecta negativamente los procesos de aprendizaje y memoria (Sandi et al., 2001; Bodnoff et al., 1995), así como las propiedades estructurales y funcionales de las células piramidales del hipocampo (Magariños et al., 1995). También se ha reportado que el estrés crónico genera, en fase de agotamiento, una hipercortisolemia crónica, la cual es neurotóxica para las estructuras como el hipocampo donde se manifiesta en una atrofia de las neuronas piramidales en CA3 y una disminución del volumen y el número de neuronas en giro dentado (McEwen et al., 2002). Esta atrofia hipocampal producida por estrés implica una disminución de la neurogénesis y disminución de la síntesis de factores neurotróficos como el BDNF (Sapolsky et al., 2000; Sheline et al., 2002).

BDNF

BDNF es la neurotrofina de mayor expresión en el cerebro de los mamíferos, principalmente en la corteza cerebral y el hipocampo, aunque también se presenta en amígdala, cerebelo e hipotálamo, manteniendo la supervivencia y diferenciación de las neuronas de las diferentes áreas cerebrales (Duman et al, 2001; Zhou et al., 2004).

BDNF participa en procesos de plasticidad sináptica, ya que el incremento en su concentración local se ha propuesto como mecanismo principal en la regulación del procesamiento de la información en el hipocampo (Aicardi et al., 2004). Las neurotrofinas desempeñan un papel crítico en el desarrollo del cerebro y continúan ejerciendo su acción de manera importante en la plasticidad del sistema nervioso maduro (Thoenen, 1995). Asimismo, son requeridas para la neurogénesis, el mantenimiento de la función neuronal y la integridad estructural de las neuronas (Duman et al, 2001, Duman, 2002). La relevancia de BDNF como regulador de la morfología neuronal en el SNC, queda bien definida por estudios realizados en ratones *Knock out* para BDNF, en donde se produce una disminución significativa de la arborización dendrítica en neuronas de la corteza, del cuerpo estriado y del hipocampo (Gorski et al 2003; Rauskolb et al 2010).

El BDNF juega un papel importante en mecanismos de aprendizaje y memoria, es transportado desde las neuronas granulares del giro dentado a las neuronas piramidales de CA3. En ausencia de este factor, las células entran en procesos de apoptosis (Caetano et al, 2007).

Existen estudios en el que relacionan este factor neurotrófico con el neurodesarrollo, donde se hicieron evaluaciones de niveles plasmáticos de BDNF en pacientes adultos con trastorno de déficit de atención e hiperactividad (presentan deficiencias en el neurodesarrollo en etapa fetal, y se cree que se debe a una deficiencia de BDNF en esa etapa) comparándolo contra individuos sanos, por lo que se puede hallar una implicación entre este factor neurotrófico y la participación de éste con el neurodesarrollo (Leibrock et al., 1989; Conner et al., 2008).

JUSTIFICACIÓN

Recientes hallazgos en modelos animales han mostrado que la progenie de madres obesas presenta alteraciones no sólo de carácter metabólico, sino que la dieta grasa materna durante la gestación puede provocar alteraciones en el SNC que se manifiestan, por ejemplo; en problemas de aprendizaje y memoria (Rodríguez et al., 2012). Se ha propuesto la obesidad materna genera efectos negativos sobre la progenie, ya que el medio intrauterino es adverso para un desarrollo fetal adecuado, lo que podría generar alteraciones en el neurodesarrollo por lo que se plantea la posibilidad de que algunos sistemas que participan en el neurodesarrollo y la memoria como el sistema serotoninérgico puedan verse afectados.

Por otro lado, el hipocampo, además de participar en la consolidación de la información es un punto de retroalimentación negativa del eje HHA. Aunque en condiciones crónicas de estrés, los glucocorticoides pueden generar un efecto contrario que produzca inflamación en distintas áreas del cerebro, principalmente el hipocampo y con ello alteraciones en la memoria. Así mismo el Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) está involucrado en mecanismos de aprendizaje y memoria. Existen estudios que muestran la relación entre este factor neurotrófico y el neurodesarrollo dado que se encuentran involucrados en etapas tempranas del desarrollo del individuo (fetal hasta infantil), por lo que BDNF es de alta importancia en el desarrollo neuronal, la memoria y el aprendizaje.

Por otro lado, se plantea la posibilidad de que cambios en la dieta de las madres durante la gestación y un mes previo puedan mejorar las condiciones uterinas y con ello prevenir las alteraciones en el sistema nervioso central de la progenie.

OBJETIVO GENERAL Y PARTICULARES

Objetivo general

- Evaluar el efecto de la dieta materna con un alto contenido de grasa durante la gestación y lactancia sobre la expresión de BDNF, receptores a glucocorticoides, 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A} en hipocampo de ratas macho.

Objetivos particulares

- Evaluar el efecto de la exposición a la obesidad materna durante el desarrollo de la progenie sobre la expresión de BDNF, los receptores a glucocorticoides, 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A} en ratas macho.
- Evaluar el efecto de dos intervenciones en la dieta (cambio a dieta control); durante la gestación y un mes previo a esta sobre la expresión del ARNm para BDNF, los receptores a glucocorticoides, 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A} en el hipocampo de la progenie de madres obesas.

HIPÓTESIS

- El consumo de alimentación rica en grasa por parte de la madre modificará la expresión del ARNm de BDNF, los receptores a glucocorticoides, 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A} en el hipocampo de la progenie de madres obesas, las cuales se relacionarán con las alteraciones cognitivas previamente observadas.
- Un cambio a dieta control (balanceada) en madres obesas previo a la gestación o durante esta puede revertir o atenuar los efectos de la dieta rica en grasa sobre los niveles de expresión de BDNF, los receptores a glucocorticoides, 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A}, y con ello explicar recuperación parcial en el aprendizaje y la memoria.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras biológicas utilizadas se obtuvieron del Laboratorio de Programación del Desarrollo a cargo de la **Dra. Elena Zambrano González** del Departamento de Biología de la Reproducción del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INNSZ). Tanto el alojamiento de sujetos experimentales como los tratamientos administrados a cada grupo se realizaron en el INNSZ y formaron parte de los proyectos a cargo de la Dra. Zambrano González. **NOTA:** El mantenimiento, apareamiento, tratamientos y manipulación de los animales fue a cargo del grupo de la **Dra. Zambrano**, sin intervención alguna de nuestra parte.

Sujetos experimentales

Previamente ratas hembra de la cepa Wistar fueron mantenidas desde su nacimiento (luz de 7:00 a 19:00hr a temperatura controlada de 22-23°C) en el bioterio de Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INNSZ) a los 21 días de vida postnatal (DVP) las hembras fueron destetadas y asignadas a los grupos descritos a continuación.

Tratamientos

Al destete las hembras fueron asignadas al azar a alguno de los siguientes grupos (Tabla 1) Control (CTR) las cuales recibieron una dieta estandarizada para animales de laboratorio la cual estaba balanceada en su contenido de nutrientes (Zeigler Rodent RQ 22-5, USA) la cual contenía 22% de proteína, 5% de grasa, 31% de polisacáridos, 31% azúcares simples, 4% de fibra, 6% de minerales y 1% de vitaminas. Al resto de las hembras se le asignó al grupo de dieta alta en grasas (obesidad materna; MO) la cual contenía 23.5% de proteína, 20% de grasa animal, 5% grasa, 20.2% polisacáridos, 20.2% de azúcares simples, 5% de fibra, 5% de minerales y 1% de vitaminas (Para mayor detalle revisar Rodríguez et al., 2012).

Al día 90 (30 días antes del comienzo de la gestación) una tercera parte de las hembras del grupo MO fueron asignadas al grupo de intervención en la dieta pre-gestacional (PG) y se les comenzó a alimentar con la dieta CTR. Al día 120, todas las hembras fueron apareadas y se asignó ese día como día de concepción. Ese mismo día la mitad de las hembras MO restantes se asignó al grupo de

intervención en la dieta durante la gestación (G) y se comenzaron a alimentar con dieta CTR en el día del apareamiento. Ambos grupos de intervenciones mantuvieron la dieta CTR durante la gestación y la lactancia. Posteriormente a partir del día del parto (DVP 0 de las crías) las crías fueron mantenidas con sus madres hasta el destete (DVP 21), a partir de ese día se sexaron, se alojaron de acuerdo al grupo que se les asignó a sus madres según la dieta con la que se alimentaron (Tabla 1) y se les mantuvo a todos con dieta CTR a libre acceso. Para este estudio solo se utilizaron crías macho con “n” de 4 por grupo, las cuales provenían de diferentes camadas (Para mayor detalle ver Rodríguez et al., 2012).

Tabla 1. Dietas asignadas cada grupo experimental. Se muestran los periodos temporales en los que se realizaron cada una de las manipulaciones en la dieta de las madres (Modificado de Rodríguez et al., 2012).

Grupos	Días PN 21-90	Días PN 90-120	Gestación	Lactancia
Control (CTR)	Control	Control	Control	Control
Madres Obesas (MO)	Grasa	Grasa	Grasa	Grasa
Intervención Pre-gestacional (PG)	Grasa	Control	Control	Control
Intervención Gestacional (G)	Grasa	Grasa	Control	Control

Disección de tejidos

Posteriormente a los 110 días de vida postnatal se les practicó eutanasia y extrajo el encéfalo en condiciones asépticas, se disecó el hipocampo y almacenó a -70°C en el Laboratorio de Programación del Desarrollo del INNSZ por el grupo de la Dra Zambrano. Posteriormente fueron transportadas en hielo seco a la facultad de Química, UNAM, donde fueron procesados para el análisis de la expresión de los receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, a glucocorticoides y BDNF (n=4 por grupo).

Extracción y cuantificación del ARN total.

Los tejidos previamente descritos se utilizaron para la extracción de ARN total mediante el método tiocianato guanidinio fenol-cloroformo. Este método consistió en colocar el tejido para ser homogenizado en 1000 µL de trizol, posteriormente se adicionaron 200 µL de cloroformo y las muestras se centrifugaron a 12 000 G durante 15 minutos a 4°C, inmediatamente después, se colectó la fase acuosa y se agregaron 500 µL de isopropanol, para precipitar el ARN, para ello las muestras se incubaron 24 horas a 4°C. Posteriormente se centrifugaron bajo las mismas

condiciones. El ARN precipitado se lavó con etanol al 75% en agua tratada previamente con 0.1% de dietil-pirocarbonato (DEPC), el precipitado de ARN se resuspendió en un volumen total de 30 μ l de agua DEPC.

Posteriormente se evaluó la cantidad obtenida a través del índice de absorbancia 260/280nm y la integridad a través de geles de agarosa (Figura 11).

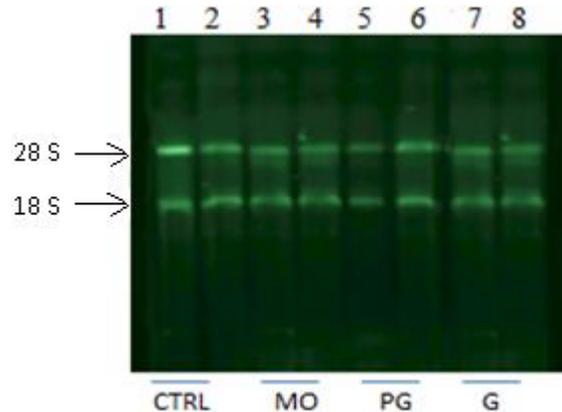


Figura 11. Fotografía de un gel de agarosa representativo teñido con Gel Red[®] para observar la integridad del ARN extraído de tejido hipocampal de un individuo de cada grupo. Se distinguen las bandas del ARN ribosomal correspondientes a las subunidades 28S y 18S, en las cuales también se observa la ausencia de contaminación con ADN genómico.

Síntesis de ADN complementario (Transcriptasa reversa y reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR)).

Posteriormente se llevó a cabo la síntesis del ácido desoxirribonucleico complementario (ADNc) empleando la transcriptasa reversa del virus de la leucemia murina de Molovney. Se tomaron 5 μ g de ARN de cada muestra, se adicionaron agua estéril y Oligo dT 1 μ g/ μ L a un volumen total de 13 μ L. Las muestras se desnaturalizaron a 65°C durante 5 minutos. Inmediatamente después se incubaron a 4°C durante 5 minutos. Posteriormente, se adicionó un volumen total de 7 μ L de la mezcla de reacción que contiene amortiguador para RT 5X, dNTPs (2.5 mM) e inhibidor de ARNasa (1 U/ μ L) y retrotranscriptasa (200 U/ μ L) a 42°C durante 1 hora. Con una etapa final a 70°C durante 5 minutos.

Análisis de la expresión del receptor a glucocorticoides, 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, y para BDNF por PCR cuantitativo (qPCR)

Previamente, se utilizó el ADNc de una muestra correspondiente al grupo CTRL elegida al azar, la cual se utilizó para realizar los rangos dinámicos (curva

estándar) para validar la eficiencia de amplificación de las sondas utilizadas y determinar las concentraciones de ADNc a utilizar para el análisis de la expresión de cada uno de los genes como se muestra en la Figura 12. Se realizaron curvas standard para cada una de las sondas utilizadas a partir de diluciones seriales del ADNc 1:10, los valores de Ct que se obtuvieron a partir de la amplificación se graficaron para formar una regresión semilogarítmica.

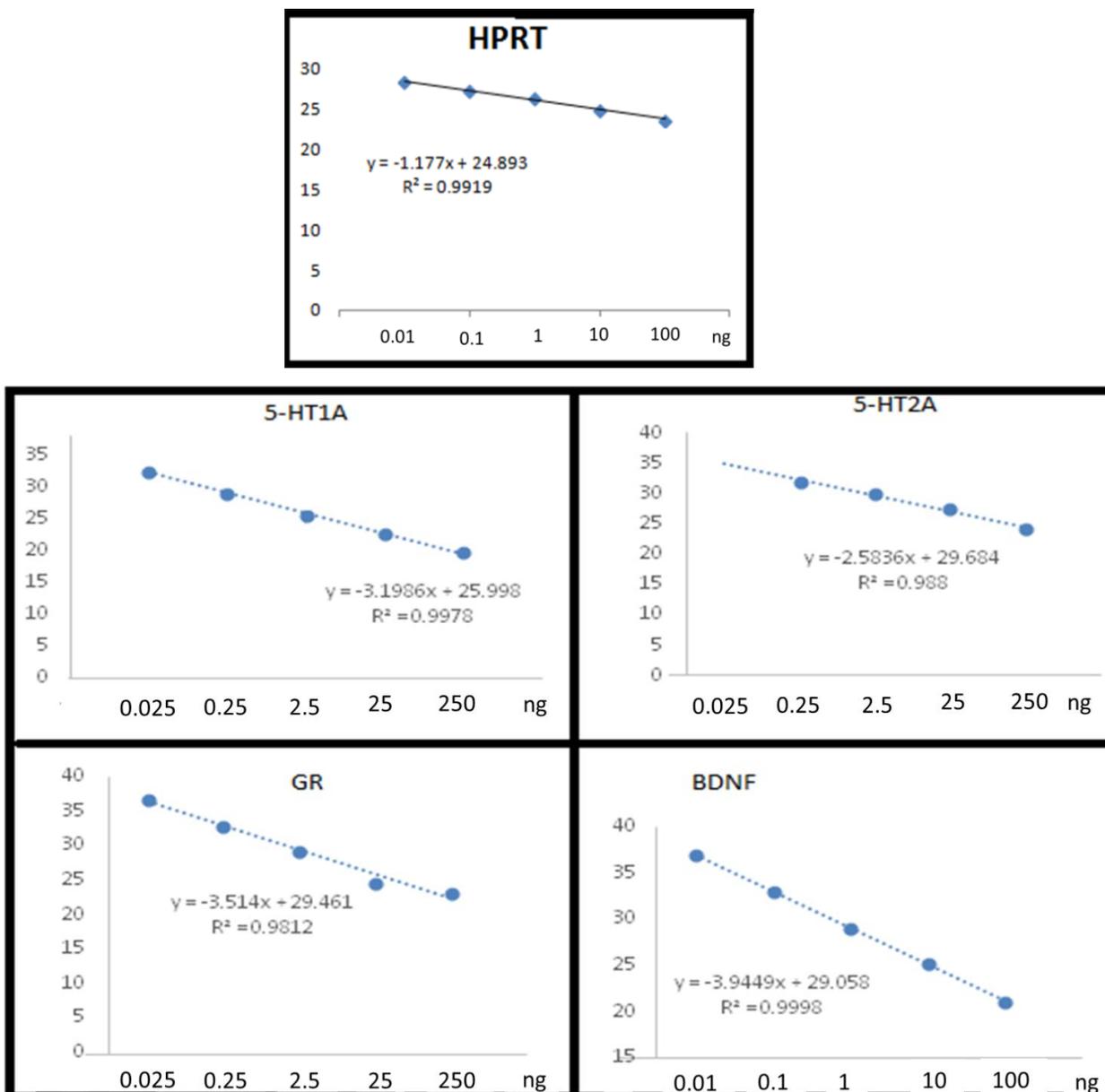


Figura 12. Rangos dinámicos para los genes evaluados en este estudio (5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, GR y BDNF) y el gen de normalización HPRT.

Para el análisis de la expresión de los genes de interés se emplearon 25 ng de ADNc por reacción para un análisis por triplicado de cada una de las muestras los cuales se utilizaron para realizar un qRT-PCR (40 ciclos a 95°C de desnaturalización, 60°C de alineamiento y 60°C de elongación) en el cual se usó mezcla de reacción TaqMan[®] Gene Expression Master Mix (Applied Biosystems). Las sondas TaqMan[®] fueron: para el receptor 5-HT_{1A} (Rn00561409_s1), 5-HT_{2A} (Rn005684473_m1), el receptor a glucocorticoides (Rn01405583_m1) y BDNF (Rn02531967_s1), utilizando como gen endógeno Hipoxantina de guanina fosforibotransferasa (HPRT) (Rn01527840_m1).

Análisis estadístico

El programa Sequence detection software 1.3 (Applied Biosystem) se utilizó para el análisis de los datos. Para calcular los cambios relativos en la expresión de los genes a analizar se utilizó el método comparativo de Ct ($2^{-\Delta\Delta CT}$), calculando la desviación estándar de $2^{-\Delta\Delta CT}$ para tres experimentos independientes.

Todos los datos numéricos se expresan como media \pm E.E. de tres experimentos independientes. El análisis estadístico para cada serie de datos se realizó utilizando un análisis de varianza de una vía (ANOVA) seguido de prueba Post-hoc de Newman Keuls.

Resultados

La figura 13 muestra el nivel de expresión del ARNm del RG. El grupo MO presenta un aumento significativo en el nivel de expresión del RG respecto al grupo CTR. Por otra parte, no hay diferencia significativa entre las intervenciones (PG y G) contra el grupo MO, como se muestra en la Figura 13.

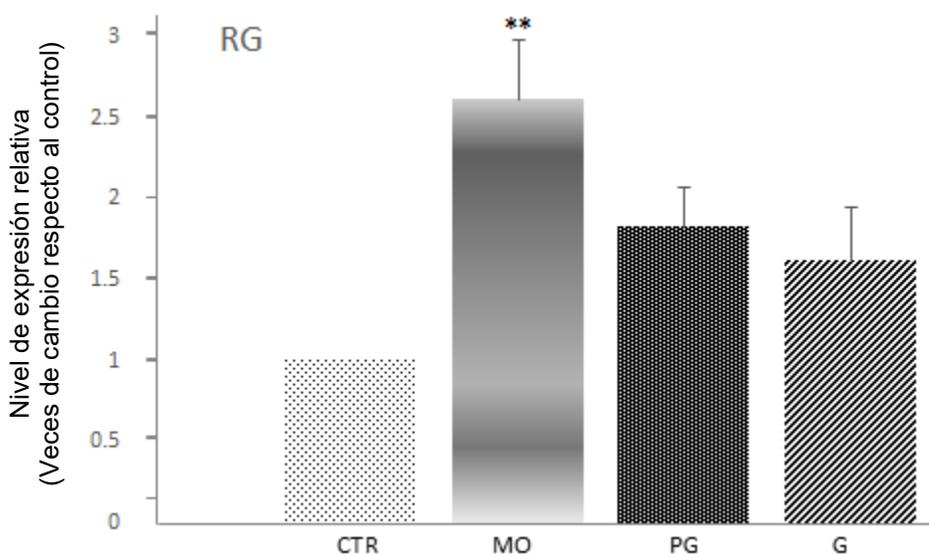


Figura 13. Nivel de expresión relativa del receptor a glucocorticoides en hipocampo de crías macho de madres experimentales de distintas dietas (Control (CTR), Madres Obesas (MO), Intervención Pre-gestacional (PG) e Intervención Gestacional (G)). Media \pm EE. n = 4 * p<0.05 (0.0105) vs CTRL. Se muestra que la dieta grasa produce un incremento en la expresión del RG.

La figura 14 muestra el nivel de expresión del ARNm del receptor 5-HT_{1A}. El grupo MO presenta un aumento significativo del nivel de expresión del receptor 5-HT_{1A} en hipocampo (p<0.01) respecto el CTR. Por otra parte, las intervenciones PG y G parecen contrarrestar los efectos de la dieta grasa materna sobre la expresión de este receptor al normalizar su expresión.

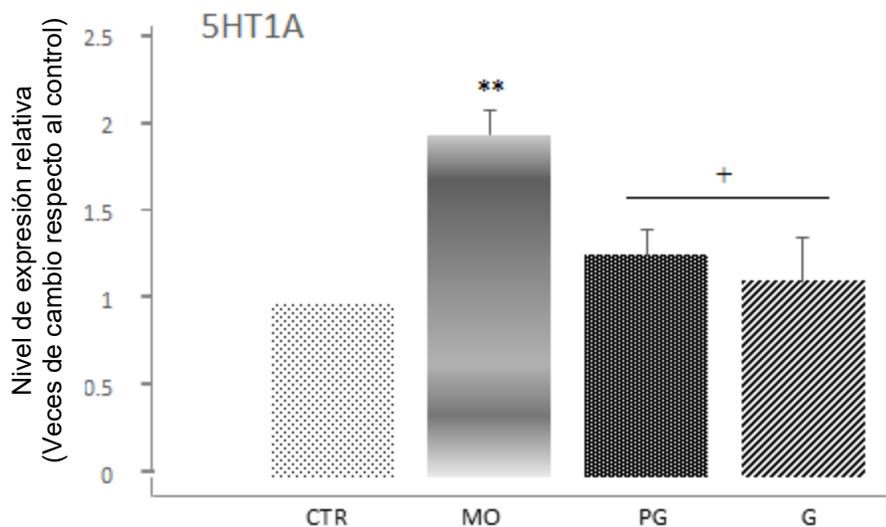


Figura 14. Nivel de expresión relativa del receptor 5-HT_{1A} en hipocampo de crías macho de madres experimentales de distintas dietas (Control (CTR), Madres Obesas (MO), Intervención Pre-gestacional (PG) e Intervención Gestacional (G)). Media ± EE. n = 4 * p<0.01 (0.007) vs CTRL. + p<0.01 (0.007) vs MO. La dieta grasa materna produce un incremento en la expresión del receptor 5HT_{1A}, mientras que las intervenciones normalizan dicha expresión.

En cuanto a la expresión del receptor 5-HT_{2A} se muestra en la Figura 15. Se observa que la obesidad materna (MO) produce en las crías macho una disminución en la expresión del receptor 5-HT_{2A} en hipocampo (p<0.001), mientras que las intervenciones PG y G no logran revertir este efecto, presentando una disminución significativa en el nivel de expresión del receptor 5-HT_{2A} respecto el CTR.

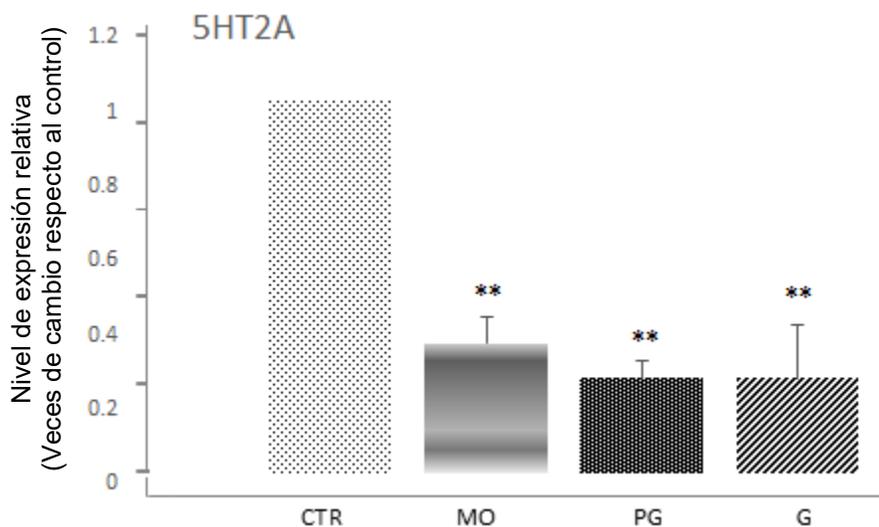


Figura 15. Nivel de expresión relativa del receptor 5-HT_{2A} en hipocampo de crías macho de madres experimentales de distintas dietas (Control (CTR), Madres Obesas (MO), Intervención Pre-gestacional (PG) e Intervención Gestacional (G)). Media ± EE. n = 4 * p<0.0001 vs CTRL. La dieta grasa en madres produce una disminución de este receptor sin que las intervenciones en la dieta lo normalicen.

Los niveles de expresión relativa del ARNm para BDNF se muestran en la Figura 16. En el caso de las crías de madres con dieta grasa (MO) presentan una disminución significativa en el nivel de expresión de BDNF respecto a su control ($p < 0.001$). Mientras que, las intervenciones (PG y G) logran revertir esta disminución.

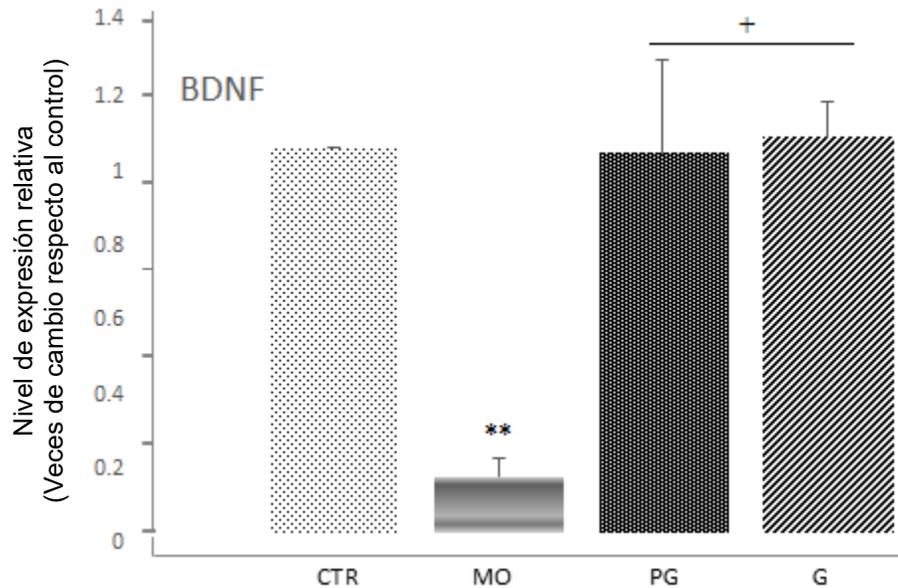


Figura 16. Nivel de expresión relativa de BDNF en hipocampo de crías macho de madres experimentales de distintas dietas (Control (CTR), Madres Obesas (MO), Intervención Pre-gestacional (PG) e Intervención Gestacional (G)). Media \pm EE. $n = 4$ * $p < 0.01$ (0.0011) vs CTRL, + $p < 0.01$ (0.0011) vs MO.

DISCUSIÓN

La dieta de la sociedad moderna está plagada de alimentos con alto contenido energético, ya que posee altos niveles de grasas y azúcares. El consumo crónico de este tipo de dieta se ha asociado con efectos adversos sobre la salud y recientemente a alteraciones en el sistema nervioso central, ya que diferentes reportes indican que existen alteraciones en las funciones cognitivas (Tozuka et al., 2010). Tanto en modelo animal como humano se ha observado que la obesidad materna tiene un impacto negativo sobre la salud y el fenotipo de la progenie, ya que puede predisponer a la obesidad, dislipidemia, diabetes tipo 2 e hipertensión (Srinivasan et al., 2006).

Recientemente, en estudios realizados en ratas en el INNSZ por el grupo de la Dra. Zambrano, se ha observado que la obesidad durante la gestación provoca alteración de la regulación en los centros del apetito en el hipotálamo, aumento desregulado de la cantidad de glucocorticoides en la madre y el feto, cambios en el metabolismo, así como, un incremento de especies reactivas de oxígeno en hígado de la madre (Zambrano et al., 2016). Más importante aún, se ha documentado que la dieta y la función metabólica de la madre puede afectar el desarrollo y las funciones del cerebro en la progenie durante su desarrollo en el útero bajo los efectos de este tipo de dieta (Tozuka et al., 2010).

Glucocorticoides y el neurodesarrollo

Existe una hipótesis que relaciona condiciones adversas durante la gestación con el neurodesarrollo de la progenie (Zuluaga, 2001). Por ejemplo, condiciones que generan una producción exacerbada de glucocorticoides, existen estudios en modelos animales (oveja, ratas y primates no humanos) que muestran que alta cantidad de glucocorticoides (causadas por estrés crónico) en la madre durante la gestación pueden causar diversas alteraciones en las crías. Existen diversas causas que pueden originar estrés materno como: factores psicosociales, complicaciones obstétricas, enfermedades psiquiátricas o cambios en la dieta o incremento excesivo de peso que producen respuestas fisiológicas en la madre, que repercuten en el bienestar fetal. Por lo que las respuestas emocionales y

fisiológicas de la madre a los estresores se traducen en cambios fisiológicos y metabólicos (hipoxia, aumento de las concentraciones de cortisol, desnutrición, sobrenutrición, etc.) que pueden afectar la unidad materno-fetal y, con ello, el ambiente uterino (Linnet et al., 2003).

En el modelo de obesidad utilizado por el grupo de Zambrano y cols. se ha reportado una concentración elevada de corticosterona durante la gestación (día 19), los cuales podrían generar un ambiente intrauterino adverso, provocando alteraciones en aprendizaje y memoria (Rodríguez et al., 2012), que podría estar vinculada a los cambios en el nivel de expresión del factor neurotrófico BDNF y receptores a glucocorticoides, 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A} analizados en el presente trabajo.

Receptor a glucocorticoides

Nuestros resultados muestran que las crías de MO presentan una alta expresión del ARNm para receptores a glucocorticoides, aunque estudios previos muestran que este grupo presenta baja concentración de corticosterona respecto al CTR (Figura 3) por lo que la alta expresión del receptor podría ser la respuesta compensatoria para intentar captar la mayor cantidad de corticosterona ante la disminución (Lupien, 1997).

Sin embargo, el déficit en la memoria y aprendizaje también puede deberse a que las crías de MO presentan una baja cantidad de glucocorticoides en su sistema, ya que hay estudios que reportan que una baja cantidad de glucocorticoides genera alteraciones en la memoria (Araya. 2013), por ejemplo; la adrenalectomía a ratas para evitar la síntesis de glucocorticoides interfiere con la formación de la memoria en distintas pruebas de aprendizaje, incluido el condicionamiento aversivo (Pugh et al., 1997) y el laberinto acuático de Morris (Roosendaal et al., 1996). Por lo que la alta cantidad de glucocorticoides en el útero durante la etapa fetal podrían provocar una baja producción de éstos durante su vida, lo cual podría en conjunto provocar un déficit cognitivo sobre las crías de MO.

Los presentes resultados también muestran que en las crías de madres que tuvieron intervenciones en la dieta (PG y G) presentan una normalización en el nivel de expresión de los RG, lo cual concuerda con lo previamente descrito en

cuanto a los niveles de glucocorticoides, sin embargo en ambas intervenciones se sigue presentando un déficit en la memoria, (Rodríguez et al., 2012), esto puede deberse a la exposición crónica de una cantidad moderadamente elevada de glucocorticoides del ambiente uterino materno (Oitzl, 1992). A pesar de la normalización de RG, esto no fue suficiente para una normalización en la memoria y aprendizaje, según lo observado en el estudio previo (Figura 4).

Existen estudios que revelan que el cortisol debe encontrarse en el SNC en una cantidad óptima para un funcionamiento adecuado sobre la memoria a largo plazo de manera potenciada, ya que si la cantidad de cortisol es baja o muy elevada esta función se ve alterada (McEwen, 1994). Por otra parte, si la concentración de cortisol es elevada, éstos pueden provocar la atrofia de dendritas de neuronas piramidales de la región CA3 del hipocampo, por lo que una exposición crónica o una elevada cantidad de glucocorticoides está relacionada con cambios neuroanatómicos que pueden causar daño sobre el funcionamiento de las estructuras, y posiblemente sus receptores (McEwen, 1994). Para el caso de nuestro estudio la cantidad de glucocorticoides generó un daño en el proceso cognitivo según los resultados observados en las pruebas de memoria y aprendizaje de un estudio previo (Rodríguez et al., 2012).

El efecto del cortisol sobre el SNC en desarrollo, cognición y la conducta en humanos, ha sido menos estudiado, en algunos estudios se utiliza un modelo de seguimiento de niños nacidos de madres tratadas con corticosteroides para la maduración de órganos del feto con amenaza de parto prematuro (French et al., 2004). Aunque su administración repetitiva en el tratamiento puede intervenir en el desarrollo del SNC, cognitivo y conductual en la vida postnatal del feto, ya que en modelo animal se ha observado que con el tratamiento análogo para humanos hay retraso en el crecimiento corporal (Ikegami et al., 1997) y en la mielinización del SNC (Huang et al., 2001), reducción en la proliferación celular en el giro dentado del hipocampo (Tauber et al., 2006), incremento en la locomoción (Hauser et al., 2007) y aumento de la reactividad del eje HHA (De Vries et al., 2007; Uno et al., 1994). También se ha reportado el mismo efecto negativo atribuido al estrés

materno prenatal, cuyo mecanismo central es el incremento de corticosteroides (Owen et al., 2005).

Estudios en conejillos de indias han mostrado que la exposición a factores de estrés en la última etapa de la gestación induce programación crítica en el eje HHA. La concentración elevada de cortisol, aún en etapa prenatal, son responsables de daño endotelial vascular, lo cual es un factor de riesgo cardiovascular importante en la vida adulta. De la misma manera, el efecto contra regulador de los glucocorticoides puede contribuir al desarrollo de resistencia a la insulina y otros componentes del síndrome metabólico, incluida la obesidad abdominal. Con la finalidad de contrarrestar el estímulo excesivo de los glucocorticoides sobre el hipocampo, la respuesta endócrina del feto es disminuir la expresión de receptores a glucocorticoides ante este estrés en hipocampo (De Kloet, 2004; Lupien, 1997); esta respuesta persiste a lo largo de la vida y, por lo tanto, el mecanismo de retroalimentación negativa sobre la secreción de CRH y de ACTH se ve interrumpido o alterado, lo cual genera entonces un estímulo persistente de producción de cortisol sobre la glándula adrenal (Levitt et al., 2000). A pesar de existir mecanismos protectores a nivel de la placenta que impiden el paso excesivo de glucocorticoides hacia el feto (por medio de la enzima limitante 11β -hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 2 o 11β -HSD2 que desactiva el cortisol), es factible que en situaciones de estrés materno exagerado estos esteroides alcancen la circulación fetal, induciendo todos los efectos antes mencionados de hipercortisolismo y cambios en la programación (Levitt et al., 2000).

Inflamación, radicales libres y obesidad

Existen estudios que revelan que en la obesidad hay una exposición crónica a citosinas pro-inflamatorias (IL-1, IL-6) asociada a procesos inflamatorios ya que aumenta la cantidad de macrófagos infiltrados en el tejido adiposo, estas células son liberadoras de radicales libres (especies reactivas de oxígeno y óxido nítrico) en el organismo, por lo que genera daños celulares asociados a la resistencia a insulina y otras enfermedades (Zhang et al., 2015). Esto en el proceso de desarrollo fetal se puede generar alteraciones en el neurodesarrollo que se ven

manifestados sobre el deterioro del sistema auditivo, visual (Rees, 2004) y una disminución en el número de neuronas en el hipocampo, produciendo alteraciones en el aprendizaje y la memoria (Elias et al., 2003; 2005; Cournot et al., 2006; Sabia et al., 2009).

Estudios previos de Rodríguez et al. (2012) muestran que la dieta grasa materna provoca un déficit de aprendizaje y la memoria en las crías (Figura 4) que podría relacionarse con la exposición a glucocorticoides elevados en la madre durante la gestación y lactancia, ya que se ha reportado que un exceso de glucocorticoides provocados por estrés crónico, induce un proceso inflamatorio en distintas áreas del cerebro, particularmente el hipocampo, lo cual puede provocar alteraciones en el proceso de aprendizaje y memoria (Elias et al., 2003, 2005; Cournot et al., 2006; Sabia et al., 2009).

Receptores de serotonina

Dado que este receptor participa en la consolidación de la memoria, existen estudios que han demostrado que la sobreexpresión o hipo expresión del receptor 5-HT_{1A} provoca alteraciones negativas sobre la memoria (Yasuno et al., 2003).

Por lo que la sobreexpresión de este receptor concuerda con los resultados de la evaluación de la memoria y el aprendizaje en el estudio previo, ya que las crías macho de madres obesas tuvieron un déficit en el aprendizaje y en la memoria como se muestra en la Figura 4 (Rodríguez et al., 2012). Por otra parte los grupos de las crías de madres con una intervención en la dieta (PG y G) presentaron normalización en la expresión de este receptor, aunque esto no es suficiente para presentar una recuperación significativa en su capacidad cognitiva en la prueba de condicionamiento operante.

La expresión del gen del receptor postsináptico 5-HT_{1A} está regulada de manera inhibitoria por los glucocorticoides. De esta manera, por ejemplo, se ha podido comprobar que los niveles de ARNm para este receptor disminuyen en respuesta al estrés a largo plazo. La activación del receptor 5-HT_{1A} como autorreceptor y como heterorreceptor, se produce una hiperpolarización de la membrana y

disminución de la excitabilidad neuronal (Gross 2002). Lo que se relaciona con un déficit cognitivo.

Serotonina y corticosterona

Hay evidencias que muestran que el estrés agudo aumenta el recambio del sistema 5-HT, al aumentar la liberación de 5-HT en el núcleo accumbens, hipotálamo lateral y amígdala. Aunque al volverse crónico este estrés disminuye la 5-HT almacenada en la zona presináptica debido a un aumento en la expresión del autorreceptor 5-HT_{1A}. Ante un aumento en la cantidad de glucocorticoides circulantes, estos tienden a potenciar la transmisión serotoninérgica, que en cierto momento puede servir de efecto compensatorio no sostenido en tiempo, aunque de manera crónica ocurre un proceso de agotamiento de los sistemas neuro-hormonales compensatorios en el que se producen cuadros de desesperanza aprendida, con la disminución de la expresión de los receptores 5-HT_{1A} hipocámpales implicados en la ansiólisis inicial, así como el aumento de la expresión de los receptores 5-HT_{2A} en la zona postsináptica en corteza, relacionados con la producción de ansiogénesis (Pérez Restrepo 2008).

Durante el desarrollo fetal, previo a que la 5-HT se comience a sintetizar por el SNC una importante fuente de serotonina proviene de la placenta, para el desarrollo del prosencéfalo durante esta etapa el bloqueo de la acción de la enzima triptófano hidroxilasa para evitar la síntesis de serotonina produce alteraciones en el desarrollo del prosencéfalo de las crías (Bonnin et al., 2011).

Receptor 5-HT_{1A}

Nuestro estudio muestra que la obesidad materna provoca un incremento de la expresión del receptor 5-HT_{1A} en las crías, esto puede deberse a que sistema serotoninérgico de la cría es modificado por la madre.

Por otro lado, dado que la concentración de corticosterona se encuentra normalizada se esperaría que el nivel de expresión del receptor 5-HT_{1A} se normalizará también, ya que se ha demostrado que los RG participan en la regulación de la expresión del receptor 5-HT_{1A} en hipocampo (Neumaiera et al.,

2000). Se ha observado que el receptor 5-HT_{1A/B} son responsables de participar en respuesta ante el estrés (Julius 1998) ya que un nivel elevado de estrés genera una disminución en la expresión del receptor 5-HT_{1A} en giro dentado (Neumaiera et al., 2000), esto concuerda con un estudio en ratas en el que se observó que la administración crónica de IFN- α fomenta una disminución del receptor 5-HT_{1A} (Neumaiera et al., 2000). Por lo que las condiciones de estrés a las cuales la madre estaba sometida por su obesidad pudieron generar estos efectos de disminución en el receptor de ésta, por lo que la cría pudo compensar este efecto con una sobreexpresión.

Además, se ha observado que los niveles de receptores de 5HT cambian durante el desarrollo hasta llegar a sus niveles definitivos en la tercera semana (Igyv-May et al., 1994; Jacobs y Azmitia, 1992) por lo que alteraciones en el neurodesarrollo también podrían afectar los patrones de expresión de este receptor.

Otro factor que pudo alterar la expresión de este receptor es la regulación por BDNF, ya que esta neurotrofina es de gran importancia en el funcionamiento en la neurotransmisión serotoninérgica y en la plasticidad de las neuronas serotoninérgicas en hipocampo del cerebro adulto por regulación sináptica (Korte et al. 1995; Yu y Chen 2008), por lo que una baja expresión de BDNF genera un déficit en la regulación de los receptores de 5-HT.

Receptor 5-HT_{2A}

Nuestros resultados muestran que tanto las crías MO como las intervenciones presentan una disminución en su expresión del ARNm para el receptor 5-HT_{2A}. La relevancia del receptor 5-HT_{2A} para el proceso de la memoria y el aprendizaje, se conoce a partir de estudios con antagonistas de este receptor se ha establecido que su sobreexpresión o deficiencia genera alteraciones sobre la memoria y el aprendizaje (Luna-Munguia et al., 2005; Zhang et al., 2015), estas alteraciones se observaron en las pruebas realizadas en un estudio previo (Figura 4), en el que no presentaban mejoría, ya que hubo disminución tanto de aprendizaje y uno de memoria (Rodríguez et al., 2012).

Este daño puede deberse a que en dicho estudio se reportó que en las madres, la obesidad durante la gestación produce un incremento en la concentración de glucocorticoides (Rodríguez et al., 2012), y la exposición crónica a cantidades altas de glucocorticoides a lo largo de la vida de un individuo (inclusive la exposición durante la etapa fetal) produce alteraciones electrofisiológicas que en algún momento generarán una disfunción, atrofia y muerte neuronal en el hipocampo manifestándose como déficit cognitivo relacionado con la reducción del aprendizaje espacial y memoria (Lupien et al., 1998). En condiciones normales se ha observado que la expresión del gen del receptor 5-HT_{2A} se aumenta por el estrés crónico o con la administración de glucocorticoides, ya que se ha reportado que los glucocorticoides permiten la activación del receptor 5-HT_{2A}, esto evaluado en un estudio realizado en ratas macho con adrenalectomía en el que evaluaron la influencia de los glucocorticoides sobre el funcionamiento del receptor 5-HT_{2A} (Chaouloff et al., 1993), por lo que esto puede afectar sobre la memoria.

BDNF

Existen pocos estudios que hagan una relación entre la dieta grasa materna y la expresión de BDNF, en nuestro estudio las madres fueron alimentadas con una dieta alta en grasa desde el momento de su destete hasta la lactancia de sus crías lo cual produce una disminución significativa del ARNm para BDNF en el hipocampo de las crías macho, mientras que las intervenciones en la dieta revierten esta disminución. Recientemente un estudio realizado en ratones en el cual se alimentó a las madres con una dieta rica en grasa durante la gestación hasta la lactancia se evaluaron los efectos de dicha dieta sobre el nivel de expresión de BDNF en las crías, mostrando que en etapas tempranas de la vida de las crías hay una disminución de la expresión de BDNF, sin embargo, esta disminución se normaliza en la etapa adulta (Tozuka et al., 2010). Dichos datos contrastan con los obtenidos en el presente estudio posiblemente debido a que en este estudio únicamente se analiza el efecto de dieta grasa durante el embarazo y la lactancia, mientras que nuestro estudio muestra los efectos de la dieta grasa

durante toda la vida, lo cual podría impactar a largo plazo en la programación del individuo.

Además, estudios muestran que la exposición a altos niveles de glucocorticoides disminuye el número de ramificaciones dendríticas (Wooley et al., 1990; Watanabe et al., 1992), por lo que una exposición a estos durante la gestación puede resultar dañina sobre la progenie. Algunos reportes muestran que un alto nivel de glucocorticoides de manera crónica provoca disminución de la síntesis de factores neurotróficos como BDNF y atrofia hipocampal generando una disminución de la neurogénesis (Sapolsky et al., 2000; Sheline et al., 2002). También se ha reportado una disminución en BDNF en hipocampo durante la etapa fetal ante una insuficiencia crónica placentaria (Dieni et al., 2000).

Por lo que la exposición crónica a una dieta alta en grasa podría generar efectos permanentes sobre el nivel de expresión de BDNF. Por otra parte, las crías de madres con intervención en la dieta (PG y G) tuvieron una recuperación en la expresión de BDNF, esto puede deberse a lo anteriormente mencionado, la exposición crónica a una dieta grasa.

CONCLUSIONES

Esta investigación indica que la obesidad materna genera en la progenie, alteraciones sobre la expresión a nivel de ARNm de BDNF, receptores a glucocorticoides y serotonina 5-HT_{1A} y 5-HT_{2A} en hipocampo, y posiblemente sobre otros, lo cual indica que la dieta grasa materna durante la gestación y lactancia producen efectos a largo plazo.

Los resultados obtenidos en los grupos correspondientes a las intervenciones en la dieta de la madre (PG y G) indican que es posible evitar o disminuir algunos daños sobre el sistema serotoninérgico, BDNF y RG, sin embargo la dieta grasa materna produce daños en la programación fetal que no pueden revertirse totalmente con el cambio de dieta un mes previo a la gestación, por lo que se requieren realizar intervenciones con mayor anticipación.

REFERENCIAS

- Aghajanian GK y Marek GJ, 1999. Serotonin and hallucinogens. *Neuropsychopharmacology* 21, 16S-23S.
- Aicardi G, Argilli E, Cappello S, Santi S, Riccio M, Thoenen H y Canossa M, 2004. "Induction of long-term potentiation and depression is reflected by corresponding changes in secretion of endogenous brain-derived neurotrophic factor." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101(44): 15788-15792.
- Almawi WY, Beyhum HN, Rahme AA, Rieder MJ, 1996. Regulation of cytokine and cytokine receptor expression by glucocorticoids. *J Leukoc Biol*; 60 (5):563-72.
- Andersen P, Morris R, Amaral D, Bliss T, & O'Keefe J, 2007. *The hippocampus book*. (Oxford University Press ed. Oxford 2007).
- Anne Buisson MS, Huiqing Lu MS, Feng Guo MS, KL Catherine Jen, 1997. High-fatfeeding of different fats during pregnancy and lactation in rats: Effects on maternal metabolism, pregnancy outcome, milk and tissue fatty acid profiles. *Nutrition Research*; 17(10):1541 -54.
- Araya V, 2013. Trastornos de la glándula suprarrenal: Diagnóstico y tratamientos. [REV. MED. CLIN. CONDES; 24(5) 768-777]}
- Ashino NG, Saito KN, Souza FD, Nakutz FS, Roman EA, Velloso LA, Torsoni AS & Torsoni MA, 2012. Maternal high-fat feeding through pregnancy and lactation predisposes mouse offspring to molecular insulin resistance and fatty liver. *The Journal of nutritional biochemistry*. 23(4): 341-8. Epub 2011/05/06.
- Azmitia EC, 2001. Modern views on an ancient chemical: serotonin effects on cell proliferation, maturation, and apoptosis. *Brain. Res. Bull.* 56(5): 413-424.
- Barnes NM & Sharp T, 1999. A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology* 38, 1083-1152.
- Barquera S, Campos I & Hernández L, 2012. *Obesidad en adultos: los retos de la cuesta abajo. Encuesta Nacional en Salud y Nutrición 2012*. Instituto Nacional de Salud Pública.
- Barquera S, Campos-Nonato I & Hernández-Barrera L, 2013. Prevalencia de obesidad en adultos mexicanos, ENSANUT 2012. *Salud Pública*; 55 (5 Suppl 2):S151-S160.
- Bautista CJ, Guzmán C, Rodríguez-González GL & Zambrano E, 2015. Improvement in metabolic effects by dietary intervention is dependent on the precise nature of the developmental programming challenge. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*, 6(4), 327-334.
- Bautista CJ, Montano S, Ramirez V, Morales A, Nathanielsz PW, Bobadilla NA, Changes in milk composition in obese rats consuming a high-fat diet.
- Bodnoff SR, Humphreys AG, Lehman JC, Diamond DM, Rose GM & Meaney MJ, 1995. Enduring effects of chronic corticosterone treatment on spatial learning, synaptic plasticity, and hippocampal neuropathology in young and mid-aged rats. *J Neurosci*; 15: 61-9.

- Bonnin A, Goeden N, Chen K, Wilson ML, King J, Shih JC, Blakely RD, Deneris ES, Levitt P, 2011. A transient placental source of serotonin for the fetal forebrain. *Nature*; 472:347–350.
- Brabham T, Phelka A, Zimmer C, Nash A, López JF & Vázquez DM, 2000. Effects of prenatal dexamethasone on spatial learning and response to stress is influenced by maternal factors. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*; 279, 899-909.
- Buhot MC, Martin S, Segu L, 2000. Role of serotonin in memory impairment. *Ann Me*; 32:210–21.
- Caetano SC, Fonseca M, Hatch JP, Olvera RL, Nicoletti M, Hunter K, Lafer B, Pliszka SR, Soares JC, 2007. Medial temporal lobe abnormalities in pediatric unipolar depression. *Neurosci Lett*; 427(3): 142-7.
- Calandra R, De Nicola A, 1985. *Endocrinología Molecular*.
- Chen T, 2008. Nuclear receptor drug discovery. *Curr Opin Chem Biol*; 12 (4):418-26.
- Cole TJ, 2006. Glucocorticoid action and the development of selective glucocorticoid receptor ligands. *Biotechnol Annu Rev*; 12:269-300.
- Colino A. & Halliwell JV, 1987. Differential modulation of three separate K-conductances in hippocampal CA1 neurons by serotonin. *Nature*; 328, 73-77.
- Cone RD, 1999. The central melanocortin system and energy homeostasis. *Trends Endocrinol. Metab*; 10, 211–216. 10.1016/S1043-2760(99)00153-8
- Conner AC, Kissling C, Hodges E, Hünnerkopf R, Clement RM, Dudley E, 2008. Neurotrophic factor-related gene polymorphisms and adult attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) score in a high-risk male population. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*; 147B: 1476-80.
- Cournot M, Marquie JC, Ansiau, D, Martinaud C, Fonds H, Ferrieres J, et al., 2006. Relation between body mass index and cognitive function in healthy middle-aged men and women. *Neurology* 67 (7), 1208–1214.
- Dahlström A, Fuxe K, 1964. Evidence for the existence of monoamine. Containing neurons in the central nervous system i. monoamines in the cell bodies of brainstem neurons. *Acta Physiol Scand*. 232: 1-55.
- De Kloet ER, Oitzl MS, Joëls M, 1999. Stress and cognition: are corticosteroids good or bad guys? *Trends Neurosci*; 22: 422-6.
- De Kloet ER, Vreugdenhil E, Oitzl MS, Joëls M, 1998. Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. *Endocr Rev*; 19: 269-301.
- De Kloet ER, 2004. Hormones and the stressed brain. *Ann N Y Acad Sci*; 1018:1-15. Review.
- De Montigny C & Blier P, 1992. Potentiation of 5-HT neurotransmission by short-term lithium: in vivo electrophysiological studies. *Clin Neuropharmacol*; 15 supp, 610A-611A.
- De Vries A, Holmes MC, Heijnis A, Seier JV, Heerden J, Louw J, et al. 2007. Prenatal dexamethasone exposure induces changes in nonhuman primate offspring cardiometabolic and hypothalamic-pituitary-adrenal axis function. *Journal of Clinical Investigation*; 117(4), 1058-1067.

- Dodic M, Hantzis V, Duncan J, Rees S, Koukoulas I, Johnson K, et al. 2002. Programming effects of short prenatal exposure to cortisol. *The FASEB Journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*; 16(9): 1017-1026.
- Drago A, Ronchi DD, Serretti A, 2008. 5-HT1A gene variants and psychiatric disorders: a review of current literature and selection of SNPs for future studies. *Int J Neuropsychopharmacol*;11(5):701-21.
- Duman RS, Nakagawa S, Malberg J et al. 2001. Regulation of adult neurogenesis by antidepressant treatment. *Neuropsychopharmacology*; 25(6): 836-44.
- Duman RS, 2002. Synaptic plasticity and mood disorders. *Mol Psychiatry*; 7(Suppl 1): S29-34.
- Eichenbaum H y Cohen, NJ, 2014. "Can we reconcile the declarative memory and spatial navigation views on hippocampal function?" *Neuron* 83(4): 764-770.
- Elias MF, Elias PK, Sullivan LM, Wolf PA, D'Agostino RB, 2003. Lower cognitive function in the presence of obesity and hypertension: the Framingham heart study. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 27 (2), 260–268
- Emgard M, Paradisi M, Pirondi S, Fernandez M, Giardino L & Calza L, 2007. Prenatal glucocorticoid exposure affects learning and vulnerability of cholinergic neurons. *Neurobiology of Aging*; 28, 112-121.
- Escriva H, Bertrand S, Laudet V, 2004. The evolution of the nuclear receptor superfamily. *Essays Biochem*; 40:11-26.
- Fargin A, Raymond JR, Regan JW, Cotecchia S, Lefkowitz RJ & Caron MG, 1989. Effector coupling mechanisms of the cloned 5-HT1A receptor. *J Biol Chem*; 264, 14848-14852.
- Fischer E, 1973. Biogenic Amines in Schizophrenia in: *Orthomolecular Psychiatry. Treatment of Schizophrenia*. Hawkins, D; Pauling, L. Freeman Ed. San Francisco.
- Flanagan DE, Moore VM, Godsland IF, Cockington RA, Robinson JS, Phillips DI, 2000. Fetal growth and the physiological control of glucose tolerance in adults: a minimal model analysis. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*; 278(4):E700 -6. Epub 2000/04/06.
- Chaouloff F, Baudrie V and Coupry I, 1993 Behavioural and biochemical evidence that glucocorticoids are not involved in DOI-elicited 5-HT 2 receptor down-regulation. *Groupe de Neuropharmacologie, CNRS, CHU Necker, 156 rue de Vaugirard, 75015.*
- Frazer A, Hensler JG, 1999. Serotonin, en: Siegel, G.J., Angranoff, B.W., Albers, R.W., Fisher, S.K., Uhler, M.D. (Eds.), *Basic neurochemistry. Molecular, cellular and medical aspects*. 6a. ed., Raven Press, NewYork. P.p. 263-292.
- French NP, Hagan R, Evans SF, Mullan A, & Newnham JP, 2004. Repeated antenatal corticosteroids: Effects on cerebral palsy and childhood behavior. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 190, 588-595.

- Fushimi T, Shimura S, Suzuki S, Saitoh H, Okayama H & Shirato K, 1998. Suppression of gene expression and production of interleukin 13 by dexamethasone in human peripheral blood mononuclear cells. *Tohoku J Exp Med*; 185 (2):157-60.
- Gorski JA, Zeiler SR, Tamowski S & Jones KR, 2003. Brain-derived neurotrophic factor is required for the maintenance of cortical dendrites. *J Neurosci*; 23: 6856-65
- Grant WF, Gillingham MB, Batra AK, Fewkes NM, Comstock SM, Takahashi D, et al. 2011. Maternal high fat diet is associated with decreased plasma n-3 fatty acids and fetal hepatic apoptosis in nonhuman primates. *PloS one*; 6(2):e17261. Epub 2011/03/03
- Gross J, 2002. Emotion regulation: Affective, cognitive, and social consequences. *Psychophysiology*; 39: 281–291.
- Guo F & Jen KL, 1995. High-fat feeding during pregnancy and lactation affects offspring metabolism in rats. *Physiology & behavior*; 57(4):681 -6. Epub 1995/04/01.
- Gutiérrez JP, Rivera-Domarco J, Shamah-Levy T, et al. 2012. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados.
- Haines DE, Mihailoff GA, Bloedel JR, 2003. Cerebelo. In: Haines DE, ed. *Principios de neurociencia*. España. Elsevier Science; 443-4.
- Hall H, Lundkvist C, Halldin C, Farde L, Pike VW, McCarron JA, Fletcher A, Cliffe IA, Barf T, Wikstrom H. y Sedvall G, 1997. Autoradiographic localization of 5-HT_{1A} receptors in the post-mortem human brain using [3H]WAY-100635 and [11C] WAY-100635. *Brain Res* 745, 96-108.
- Hauser J, Dettling-Artho A, Pilloud S, Maier C, Knapman A, Feldon, J Pryce CR 2007. Effects of prenatal dexamethasone treatment on postnatal physical, endocrine, and social development in the common marmoset monkey. *Endocrinology*, 148, 1813-1822.
- Hauser J, Knapman A, Zürcher NR, Pilloud S, Maier C, Diaz-Heijtz R, et al. 2008. Effects of prenatal dexamethasone treatment on physical growth, pituitary-adrenal hormones, and performance of motor, motivational, and cognitive tasks in juvenile and adolescent common marmoset monkeys. *Endocrinology*, 149(12), 6343-6355.
- Hernández A, Morales A, Zambrano E & Bautista C, 2016. LA OBESIDAD MATERNA: UNA HUELLA EN EL FUTURO. *Revista de la Escuela de Medicina Dr. José Sierra Flores Universidad del Noreste / 30 (1): 37-46.*
- Heslehurst N, Simpson L, Eills J, et al. 2008. The impact of maternal BMI on pregnancy outcomes with immediate short-term obstetric resource implications: a meta-analysis. *Obesity*; 9:635–83.
- Hinkle SN, Schieve LA, Stein AD, Swan DW, Ramakrishnan U and Sharma AJ, 2012. Associations between maternal prepregnancy body mass index and child neurodevelopment at 2years of age. *Int.J.Obes*; 36, 13 12–1319. doi:10.1038/ijo.2012.143
- Holsboer F, 1999. The rationale for corticotropin-releasing hormone receptor (CRH-R) antagonists to treat depression and anxiety. *J Psychiatr Res*; 33 (3):181-214.

- Huang WL, Harper CG, Evans SF, Newnham JP, & Dunlop SA, 2001. Repeated prenatal corticosteroid administration delays myelination of the corpus callosum in fetal sheep. *International Journal of Developmental Neurosciences*; 19, 415-425.
- Igvy-May N, Tamir H, Gershon MD, 1994. Synaptic properties of serotonergic growth cones in developing rat brain. *J. Neurosci*; 14: 1101-1029.
- Ikegami M, Jobe AH, Newnham J, Polk DH, Willet KE, & Sly P, 1997. Repetitive prenatal glucocorticoids improve lung function and decrease growth in preterm lambs. *American Journal of respiratory and Critical Care Medicine*; 156, 178-184.
- Jackson AA, Burdge GC, Lillycrop KA, 2010. Diet, nutrition and modulation of genomic expression in fetal origins of adult disease. *World review of nutrition and dietetics*; 101:56-72. Epub 2010/05/04.
- Jacobs BL, Azmitia EC, 1992. Structure and function of the brain serotonergic system. *Physiol. Rev.* 72: 165-229.
- Jones MT, Gillham B, 1988. Factors involved in the regulation of adrenocorticotrophic hormone/beta-lipotrophic hormone. *Physiol Rev*; 68 (3):743-818.
- Julius D, 1988. Serotonin receptor knockouts: a moody subject. *Proc Natl Acad Sci USA*; 95:15153–15154. [PubMed: 9860934]
- Kerr DS, Campbell LW, Applegate MD, Brodish A, Landfield PW, 1991. Chronic stress-induced acceleration of electrophysiologic and morphometric biomarkers of hippocampal aging. *J. Neurosci.* 11 (5), 1316–1324.
- Khawaja X, 1995. Quantitative autoradiographic characterisation of the binding of [3H] WAY-100635, a selective 5-HT_{1A} receptor antagonist. *Brain Res* 673, 217-225.
- King JC, 2006. Maternal obesity, metabolism, and pregnancy outcomes. *Annual review of nutrition*; 26:271-91. Epub 2006/05/18.
- Kleiman A, Tuckermann JP, 2007. Glucocorticoid receptor action in beneficial and side effects of steroid therapy: lessons from conditional knockout mice. *Mol Cell Endocrinol*; 275 (1-2):98-108
- Kloet ER, Joels M, Holsboer F, 2005. Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nat Rev Neurosci*; 6 (6):463-75.
- Knight M, Kurinczuk JJ, Spark P, et al. 2011. UK Obstetric Surveillance System. Extreme obesity in pregnancy in the United Kingdom. *Obstet Gynecol*; 115:989–97.
- Korte M, Carroll P, Wolf E, Brem G, Thoenen H & Bonhoeffer T, 1995. Hippocampal long-term potentiation is impaired in mice lacking brain-derived neurotrophic factor. *Proc. Natl Acad. Sci*; 92, 8856–8860.
- Kumar R, Thompson EB, 2005. Gene regulation by the glucocorticoid receptor: structure: function relationship. *J Steroid Biochem Mol Biol*; 94 (5):383-94.
- Kumar R, Thompson EB, 1999. The structure of the nuclear hormone receptors. *Steroids*; 64 (5):310-9.

- Kunicka JE, Talle MA, Denhardt GH, Brown M, Prince LA, Goldstein G, 1993. Immunosuppression by glucocorticoids: inhibition of production of multiple lymphokines by in vivo administration of dexamethasone. *Cell Immunol*; 149 (1):39-49.
- Leibrock J, Lottspeich F, Hohn A, Hofer M, Hengerer B, Masiakowski P, 1989. Molecular cloning and expression of brain-derived neurotrophic factor. *Nature*; 341: 149-52.
- Levitt NS, Lambert EV, Woods D, Hales N, Andrew R, Seckl JR, 2000. Impaired glucose tolerance and elevated blood pressure in low birth weight, non-obese, young south African adults: early programming of cortisol axis. *J Clin Endocrinol Metab*; 85: 4611-8.
- Linne Y, Dye L, Barkelin B, 2003. Weight development over time in parous women: The SPAWN study: 15 years follow up. *Int J Obes Relat Metab Disord*; 27:1516–22.
- Linnet KM, Dalsgaard S, Obel C, Wisborg K, Henriksen TB, Rodriguez A, 2003. Maternal lifestyle factors in pregnancy risk of attention deficit hyperactivity disorder and associated behaviors: review of the current evidence. *Am J Psychiatry*; 160(6):1028-40. Review.
- Long NM, George LA, Uthlaut AB, Smith DT, Nijland MJ, Nathanielsz PW, 2010. Maternal obesity and increased nutrient intake before and during gestation in the ewe results in altered growth, adiposity, and glucose tolerance in adult offspring. *Journal of animal science*; 88(11):3546 -53. Epub 2010/07/14.
- Loy R, Koziell DA, Lindsey JD & Moore RY, 1980. "Noradrenergic innervation of the adult rat hippocampal formation." *J Comp Neurol* 189(4): 699-710.
- Luna-Munguia H, Manuel-Apolinar L, Rocha L, Meneses A, 2005. 5-HT_{1A} receptor expression during memory formation. *Psychopharmacology (Berlin)*; 181, 309–318.
- Lupien SJ, De Leon M, de Santi S, Convit A, Tarshish C, Nair NP, Thakur M, McEwen BS, Hauger RL, Meaney MJ, 1998. Cortisol levels during human aging predict hippocampal atrophy and memory deficits. *Nature Neuroscience* 1, 69 - 73 doi:10.1038/271
- Magarinos AM, McEwen BS, 1995. Stress-induced atrophy of apical dendrites of hippocampal CA3c neurons: involvement of glucocorticoid secretion and excitatory amino acid receptors. *Neuroscience* 69 (1), 89–98.
- Manuel-Apolinar L, Rocha L, Pascoe D, Castillo E, Castillo C, Meneses A, 2005. Modifications of 5-HT₄ receptor expression in rat brain during memory consolidation. *Brain Research* 1042, 73–81.
- McEwen B. Cortisol, Cushing's syndrome, and a shrinking brain-new evidence for reversibility. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 1947-8.
- McEwen BS, 1994. Glucocorticoid-biogenic amine interaction in relation to mood and behavior. *Hormones and Behavior*; 28, 396-405.
- McEwen BS, Weiss JM, Schwartz LS, 1968. Selective retention of corticosterone by limbic structures in rat brain. *Nature*; 220 (5170), 911–912.
- Meneses A, Manuel-Apolinar L, Rocha L, Castillo E, Castillo C, 2004. Expression of the 5-HT receptors in rat brain during memory consolidation. *Behavioural Brain Research*; 152, 425–436.

- Metwally M, Ong KJ, Ledger WL, 2008. Does high body mass index increase the risk of miscarriage after spontaneous and assisted conception? *Fertil Steril*; 90:714–26.
- Micheau J, Destrade C & Soumireu-Mourat B, 1985. Time-dependent effects of posttraining intrahippocampal injections of corticosterone on retention of appetitive learning tasks in mice. *Eur J Pharmacol*; 106: 39-46.
- Miller-Alyson, Spencer Sara J, 2014 Obesity and neuroinflammation: A pathway to cognitive impairment. DOI: 10.1016/j.bbi.2014.04.001
- Moore JT, Collins JL, Pearce KH, 2006. The nuclear receptor superfamily and drug discovery. *ChemMedChem*; 1(5):504-23.
- Nathanielsz PW, Ford SP, Long NM, 2013. Interventions to prevent adverse fetal programming due to maternal obesity during pregnancy. *Nutr Rev.*; 71(Suppl. 1), S78–S87.
- National Heart, Lung and Blood Institute. 2012. Health Topic: Sobrepeso y la obesidad. USA.gov. Recuperado de <https://www.nhlbi.nih.gov/health-spanish/health-topics/temas/obe>.
- Neggers, YH, Goldenberg RL, Ramey SL, & Cliver SP, 2003. Maternal prepregnancy body mass index and psychomotor development in children. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 82,235–240.doi:10.1034/j.1600- 0412.2003.00090.x
- Neumaiera John F, Timothy J, Sextona Mark W, Hamblina & Sheryl G, Beckd, 2000. Corticosteroids regulate 5-HT1A but not 5-HT1B receptor mRNA in rat hippocampus
- O'Connor TG, Heron J, Golding J, Beveridge M, Glover V, 2002. Maternal antenatal anxiety and children behavioral/emotional problems at 4 years. Report from the Avon Longitudinal Study of Parents and Children. *Br J Psychiatry*; 180:502-8.
- O'Brien TE, Ray JG, Chan WS, 2003. Maternal body mass index and the risk of preeclampsia: a systematic overview. *Epidemiology*; 14:368-74.
- Oitzl M, De Kloet ER, 1992. Selective corticosteroid antagonists modulate specific aspects of spatial orientation learning. *Behav Neurosci*; 106: 62-71.
- Olivares H, Juárez A, García G, 2015. Hipocampo: neurogénesis y aprendizaje. *Rev Med UV* 1: 20-29.
- Ortega GC, Aguilera PJR, Arce SL, Barquera CS y col. 2015. Consenso de diagnóstico y tratamiento de la obesidad en la mujer en edad reproductiva y en el climaterio. *Ginecol Obstet Mex*; 83:363-391.
- Oveson P, Tasmussen S, Kesmodel U, 2011. Effect of prepregnancy maternal overweight and obesity on pregnancy outcome. *Obstet Gynecol*; 118:305–12.
- Owen D, Andrews MH, & Matthew SG, 2005. Maternal adversity, glucocorticoids and programming of neuroendocrine function and behavior. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*; 29, 209-226.
- Pazos A, Cortes R, & Palacios JM, 1985. Quantitative autoradiographic mapping of serotonin receptors in the rat brain. II. Serotonin-2 receptors. *Brain Res*; 346, 231-249.

- Penington NJ & Kelly JS, 1990. Serotonin receptor activation reduces calcium current in an acutely dissociated adult central neuron. *Neuron*; 4, 751-758.
- Pérez Restrepo 2008. pruebas endocrinas en psiquiatría. En: *Psiquiatría clínica*. Carlos Gomez Restrepo Guillermo Hernandez Bayona, Alejandro Rojas Urrego, Hernan Santacruz Oleas, Miguel Uribe Restrepo (Eds. Tercera, editorial medica panamericana)
- Peroutka SJ, & Snyder SH, 1979. Multiple serotonin receptors: differential binding of [3H]5-hydroxytryptamine, [3H]lysergic acid diethylamide and [3H]spiroperidol. *Mol Pharmacol* 16, 687-699. *Pharmacol Ther* 92, 179-212.
- Phelps EA, 2004. "Human emotion and memory: interactions of the amygdala and hippocampal complex." *Curr Opin Neurobiol* 14(2): 198-202.
- Pritchett DB, Bach AW, Wozny M, Taleb O, Dal Toso R, Shih JC & Seeburg PH, 1988. Structure and functional expression of cloned rat serotonin 5HT2 receptor. *EMBO J* 7, 4135-4140.
- Pugh CR, Tremblay D, Fleshner M, Rudy JW, 1997. A selective role for corticosterone in contextual fear conditioning. *Behav Neurosci*; 111: 503-11
- Ramsay JE, Ferrell WR, Crawford L, 2002. Maternal obesity is associated with dysregulation of metabolic, vascular, and inflammatory pathways. *J Clin Endocrinol Metab*; 87:4231–7
- Rankin J, Tennant PWG, Stothard KJ, P W G Tennant, K J Stothard, M Bythell, C D Summerbell & R Bell, 2010. Maternal body mass index and congenital anomaly risk: a cohort study. *Int J Obes*; 34:1371–80.
- Rasmussen KM, Yaktine AL, 2009. Committee to Reexamine IOM Pregnancy Weight Guidelines. Institute of Medicine. *Weight Gain. During Pregnancy: Reexamining the Guidelines*. The National Academies Press Washington D.C. Pp.71-110.
- Rauskolb S, Zagrebelsky M, Dreznjak A, Deogracias R, Matsumoto T, 2010. Global deprivation of brain-derived neurotrophic factor in the CNS reveals an area-specific requirement for dendritic growth. *J Neurosci* 30: 1739-49
- Raymond JR, Mukhin YV, Gelasco A, Turner J, Collinsworth G, Gettys TW, Grewal JS & Garnovskaya MN, 2001. Multiplicity of mechanisms of serotonin receptor signal transduction.
- Raymond JR, Mukhin YV, Gettys TW & Garnovskaya MN, 1999. The recombinant 5-HT1A receptor: G protein coupling and signalling pathways. *Br J Pharmacol* 127, 1751-1764.
- Rees S, Harding R, 2004. Brain development during fetal life: influences of the intra- uterine environment [Review]. *Neurosci Lett*;361(1-3):111-4
- Rivera Heidi M, Christiansen Kelly J & Sullivan L, 2015. The role of maternal obesity in the risk of neuropsychiatric disorders. *Front. Neurosci.* 9:194. doi: 10.3389/fnins.2015.00194
- Rodriguez JS, Rodriguez-González GL, Reyes-Castro LA, Ibáñez C, Ramírez A, Chavira R, Larrea F, Nathanesz, Zambrano E, 2012. Maternal obesity in the rat programs male offspring exploratory, learning and motivation behavior: prevention by dietary intervention pre-gestation or in gestation. *Int. J. Devl Neuroscience* 30 (2012) 75–81

- Rolfe FG, Hughes JM, Armour CL, Sewell WA, 1992. Inhibition of interleukin 5 gene expression by dexamethasone. *Immunology*; 77 (4):494-9.
- Roozendaal B, Bohus B, McGaugh JL, 1996. Dose-dependent suppression of adreno-cortical activity with metyrapone: effects on emotion and learning. *Psychoneuroendocrinology*; 21: 681-93.
- Roozendaal B, McGaugh JL, 1997. Basolateral amygdala lesions block the memory-enhancing effect of glucocorticoid administration in the dorsal hippocampus of rats. *Eur J Neurosci*; 9: 76-83.
- Rudnick G, 2006. Serotonin transporters-structure and function. *J Membr Biol* 213, 101-110.
- Sabia S, Kivimaki M, Shipley MJ, Marmot MG, Singh-Manoux A, 2009. Body mass index over the adult life course and cognition in late midlife: the Whitehall II Cohort Study. *Am. J. Clin. Nutr.* 89 (2), 601–607.
- Samuelsson AM, Matthews PA, Argenton M, Christie MR, McConnell JM, Jansen EH, 2008. Diet-induced obesity in female mice leads to offspring hyperphagia, adiposity, hypertension, and insulin resistance: a novel murine model of developmental programming. *Hypertension*; 51(2):383 -92. Epub 2007/12/19.
- Samuelsson AM, Matthews PA, Argenton M, Christie MR, McConnell JM, Jansen EH, Piersma AH, Ozanne SE, Twinn DF, Remacle C, Rowlerson A, Poston L, Taylor PD, 2008. Diet-induced obesity in female mice leads to offspring hyperphagia, adiposity, hypertension, and insulin resistance: a novel murine model of developmental programming. *Hypertension*; 51, 383–392.
- Sánchez-Castillo, Pichardo-Ontiveros, López-R, 2004. Epidemiología de la obesidad *Gac Méd Méx* Vol.140, Suplemento No. 2, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán"
- Sandi C, Merino JJ, Cordero MI, Touyarot K, Venero C, 2001. Effects of chronic stress on contextual fear conditioning and the hippocampal expression of the neural cell adhesion molecule, its polysialylation, and L1. *Neuroscience*; 102: 329-39.
- Sandi C, Venero C, Guaza C, 1996. Novelty-related rapid locomotor effects of corticosterone in rats. *Eur J Neurosci*; 8: 794-800.
- Sandra D, Tomoya M, & Yves-Alain B, 2000. BDNF and its pro-peptide are stored in presynaptic dense core vesicles in brain neurons. *J Cell Bio* 2000 775-788.
- Sapolsky R, 2000. Glucocorticoids and hippocampal atrophy in neuropsychiatric disorders. *Arch Gen Psychiatry*; 57: 925-35.
- Sapolsky RM, 1985. A mechanism for glucocorticoid toxicity in the hippocampus: increased neuronal vulnerability to metabolic insults. *J. Neurosci.* 5 (5), 1228– 1232.
- Sebire NJ, Jolly M, Harris JP, 2001. Maternal obesity and pregnancy outcome: A study of 287,213 pregnancies in London. *Int J Obes Relat Metab Disord*; 25:1175-82.
- Serretti A, Drago A. & De Ronchi D, 2007. HTR2A gene variants and psychiatric disorders: a review of current literature and selection of SNPs for future studies. *Curr Med Chem* 14, 2053-2069.
- Sheline Y, Mittler B, Mintun M, 2002. The hippocampus and depression. *Eur Psychiatry* 2002; 17 (Suppl 3): 299-305.

- Simpson ER, Waterman MR, 1998. Regulation of the synthesis of steroidogenic enzymes in adrenal cortical cells by ACTH. *Annu Rev Physiol*; 50:427-40.
- Song Y, Yu Y, Wang D, Chai S, Liu D, Xiao X, 2015. Maternal high-fat diet feeding during pregnancy and lactation augments lung inflammation and remodeling in the offspring. *Respiratory physiology & neurobiology*; 207:1-6. Epub 2014/12/17.
- Srinivasan M, Katewa SD, Palaniyappan A, Pandya JD, Patel M.S, 2006. Maternal high-fat diet consumption results in fetal malprogramming predisposing to the onset of metabolic syndrome-like phenotype in adulthood. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab*; 291, 792–799.
- Steenweg-de Graaff JC, Tiemeier H, Basten MG, Rijlaarsdam J, Demmelmair H, Koletzko B, 2015. Maternal LC-PUFA status during pregnancy and child problem behavior: the Generation R Study. *Pediatric research*; 77(3):489-97. Epub 2014/12/19.
- Tanda R, Salsberry, PJ, Reagan PB, & Fang MZ, 2013. The impact of pre-pregnancy obesity on children's cognitive test scores. *Matern. Child Health J*; 17,222–229.
- Tauber SC, Schlumbohm C, Schilg L, Fuchs E, Nau R, & Gerber J, 2006. Intrauterine exposure to dexamethasone impairs proliferation but not neuronal differentiation in the dentate gyrus of newborn common marmoset monkeys. *Brain Pathology*, 16, 209-217.
- Teles-Grilo Ruivo, LM & Mellor JR, 2013. "Cholinergic modulation of hippocampal network function." *Front Synaptic Neurosci* 5: 2.
- Thoenen H. Neurotrophins & neuronal plasticity. *Science* 1995; 270(5236): 593-8. Factor neurotrófico derivado del cerebro en el trastorno depresivo mayor Vol. 5 Número 1. Enero-Abril 2010 pp 19-21 www.medigraphic.org.mx nen, 1995.
- Thompson JN. Fetal nutrition and adult hypertension, diabetes, obesity, and coronary artery disease. *Neonatal network : NN*. 2007;26(4):235 -40. Epub 2007/08/23.
- Tomie A Di Poce J, Aguado A, Janes A, Benjamin D, Pohorecky L, 2003. Effects of autoshaping procedures on 3H-8-OH-DPAT-labeled 5-HT1a binding and 125I-LSD-labeled 5-HT2a binding in rat brain. *Brain Research* 975, 167–178.
- Tozuka Y, Kumon M, Wada E, Onodera M, Mochizuki H, & Wada K, 2010. Maternal obesity impairs hippocampal BDNF production and spatial learning performance in young mouse offspring.
- Trakhtenberg EF, Goldberg JL, 2012. The role of serotonin in axon and dendrite growth. *Int. Rev. Neurobiol.* 106,105-26.
- Uno H, Eisele S, Sakai A, Shelton S, Baker E, & DeJesus O, 1994. Neurotoxicity of glucocorticoids in the primate brain. *Hormones and Behavior*, 28(4), 336-348.
- Van der Laan S, Meijer OC, 2008. Pharmacology of glucocorticoids: beyond receptors. *Eur J Pharmacol*; 585 (2-3):483-91.
- Vega CC, Reyes-Castro LA, Bautista CJ, Larrea F, Nathanielsz PW, Zambrano E, 2015. Exercise in obese female rats has beneficial effects on maternal and male and female offspring metabolism. *Int J Obes (Lond)*; 39(4):712 -9. Epub 2013/08/21.

- Vinson GW, Hinson J, 1992. *The Adrenal Cortex*. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall.
- Visser SN, Danielson ML, Bitsko RH, Holbrook JR, Kogan MD, Ghandour RM, 2014. Trends in the parent-report of healthcare provider-diagnosed and medicated attention-deficit/hyperactivity disorder: United States, 2003-2011. *J. Am. Acad. Child Adolescent Psychiatry* 53, 34–46.e2.
- Watanabe Y, Gould E, McEwen BS, 1992. Stress induces atrophy of apical dendrites of hippocampal CA3 pyramidal neurons. *Brain Res* 588:341-345.
- Westphal U. Steroid–protein interactions II. *Monogr. Endocrinology* 1986; 27:1-63.
- Wooley CS, Gould E, McEwen BS, 1990. Exposure to excess glucocorticoids alters dendritic morphology of adult hippocampal pyramidal neurons. *Brain Res* 531:225-271
- Woolley CS, Gould E, McEwen BS, 1990. Exposure to excess glucocorticoids alters dendritic morphology of adult hippocampal pyramidal neurons. *Brain Res.* 531 (1–2), 225–231.
- Wright DE, Seroogy KB, Lundgren KH, Davis BM, & Jennes L, 1995. Comparative localization of serotonin 1A, 1C, and 2 receptor subtype mRNAs in rat brain. *J Comp Neurol* 351, 357-373.
- Yasuno F, Suhara T, Nakayama T, Ichimiya T, Okubo Y, Takano A, Ando T, Inoue M, Maeda J, Suzuki K, 2003. Inhibitory effect of hippocampal 5-HT_{1A} receptors on human explicit memory. *Am J Psychiatry*; 160 (2):334-40
- Yoshida H, Kanamaru C, Ohtani A, Li F, Senzaki K, & Shiga T, 2011. Subtype specific roles of serotonin receptors in the spine formation of cortical neurons in vitro. *Neurosci Res.* 71, 311–314. doi:10.1016/j.neures.2011.07.1824
- Yu H, Chen Z, 2011. The role of BDNF in depression on the basis of its location in the neuronal circuitry. *Acta Pharmacologica Sinica*; 32, 3e11.
- Zambrano E, Martinez-Samayoa PM, Bautista CJ, Deas M, Guillen L, Rodriguez-Gonzalez GL, 2005. Sex differences in transgenerational alterations of growth and metabolism in progeny (F2) of female offspring (F1) of rats fed a low protein diet during pregnancy and lactation. *The Journal of physiology*; 566 (Pt1):225 -36. Epub 2005/04/30.
- Zambrano E, Ibañez C, Martínez P, Martínez S, Lomas C, Durand M & Rodriguez L, 2016. Maternal Obesity: Lifelong Metabolic Outcomes for Offspring from Poor Developmental Trajectories During the Perinatal Period
- Zhang G, Cinalli D, Barrera MP, & Stackman RW, 2015. “Activation of serotonin 5-HT_{2A} receptor delays the retrieval of spatial memory in a Morris- water maze task,” in *Proceedings of the Society of Neuroscience Conference*, Chicago.
- Zhou B, Cai Q, Xie Y, Sheng ZH, 2012. Snapin recruits dynein to BDNF-TrkB signaling endosomes for retrograde axonal transport and is essential for dendrite growth of cortical neurons. *Cell Rep* 2: 42-51
- Zuluaga JA, 2001. *Neurodesarrollo y estimulación*. 1st ed. Bogotá: Editorial Médica