

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE MEDICINA



**ESTUDIO DE LA PROGRAMACIÓN FETAL POR NUTRIENTES SOBRE LA
ESTRUCTURA CEREBRAL DURANTE EL ENVEJECIMIENTO EN RATÓN**

Por

GABRIELA CRUZ CARRILLO

ASESOR: DR. C. ALBERTO CAMACHO MORALES

MONTERREY, N. L.

JULIO, 2023

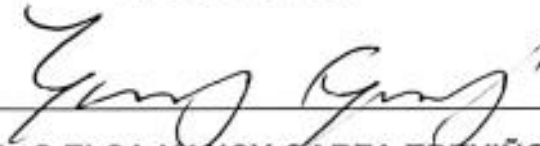
ESTUDIO DE LA PROGRAMACIÓN FETAL POR NUTRIENTES SOBRE LA ESTRUCTURA CEREBRAL DURANTE EL ENVEJECIMIENTO EN RATÓN.

Aprobación de Tesis:



DR. C. ALBERTO CAMACHO MORALES

Director de Tesis



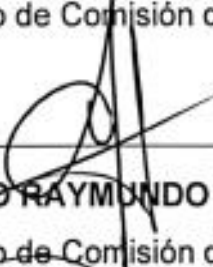
DRA. C. ELSA NANCY GARZA TREVIÑO

Co-director de Tesis



DRA. C. SONIA AMELIA LOZANO SEPÚLVEDA

Miembro de Comisión de Tesis



DR. C. GERARDO RAYMONDO PADILLA RIVAS

Miembro de Comisión de Tesis



DRA. C. DIANA RESENDEZ PEREZ

Miembro de Comisión de Tesis

DR. MED. FELIPE ARTURO MORALES MARTÍNEZ

Subdirector de Estudios de Posgrado

Agradecimientos

Quisiera expresar mi profunda gratitud a todas las personas e instituciones que han contribuido de manera significativa en la realización de esta tesis doctoral. Sin su apoyo, orientación y aliento, este logro no habría sido posible.

En primer lugar, deseo agradecer a la Universidad por brindarme la oportunidad de llevar a cabo este doctorado y por proporcionarme el ambiente académico propicio para crecer como investigador.

Mi más sincero agradecimiento al Dr. Camacho, guía durante todo el desarrollo de esta investigación. Gracias por su apoyo constante, sus valiosas sugerencias y por desafiarme a alcanzar mis mejores capacidades.

Agradezco también a los miembros del comité de tesis, por su tiempo y dedicación para evaluar y mejorar este trabajo con sus comentarios y recomendaciones.

No puedo pasar por alto mencionar a mis compañeros de laboratorio, su amistad han sido un pilar fundamental en este proyecto.

Un agradecimiento especial a mis padres y hermana por su amor incondicional y su apoyo constante.

También deseo extender mi gratitud a mis amigos. Su presencia ha sido un equilibrio perfecto para mantener la cordura en este arduo proceso.

Gracias a todos por ser parte de este viaje académico y por creer en mí. Este logro es el resultado del esfuerzo colectivo y el apoyo brindado por cada uno de ustedes.

¡Gracias!

Dedicatoria

Esta tesis está dedicada a todas las personas que han sido pilares fundamentales en mi camino hacia el conocimiento y el crecimiento personal.

Lugar de trabajo

El presente trabajo se llevó a cabo en el Departamento de Bioquímica y Medicina Molecular de la Facultad de Medicina, la Unidad de Neurociencias del Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud (CIDICS), de la Universidad Autónoma de Nuevo León, el Laboratorio Nacional de Imagenología por Resonancia Magnética del Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México. Este trabajo fue apoyado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México (CONACYT) para G. Cruz-Carrillo (Número de Beca: 855559) y Programa de Apoyo a la Investigación Científica y Tecnológica PAICYT 2021, 2022.

Índice

Resumen	11
Abstract	13
1. INTRODUCCIÓN.....	15
2. ANTECEDENTES	20
2.1 El envejecimiento y deterioro cognitivo.....	20
2.2 Señalización celular durante la memoria a corto y largo plazo	24
2.3 Técnicas de Resonancia Magnética	30
2.4 Cambios en la estructura cerebral y efectos en la cognición.....	35
2.5 Alteraciones en la materia blanca cerebral y efectos en la cognición	36
2.6 Cambios en la estructura y función cerebral durante el envejecimiento fisiológico.....	39
2.7 Contribuciones metabólicas en el desarrollo de deterioro cognitivo	42
2.8 Inflamación metabólica crónica y su efecto en la función cerebral y cognición.....	45
2.9 Neuroinflamación durante el envejecimiento y deterioro cognitivo	46
2.10 Programación metabólica por nutrientes, inflamación y su efecto potencial en el deterioro cognitivo	48
2 ANTECEDENTES DIRECTOS	57
3. JUSTIFICACIÓN	60
4. HIPÓTESIS.....	61
5. OBJETIVOS	62
6. MATERIAL Y MÉTODOS	63
7. RESULTADOS	76
8. DISCUSION.....	102
9. CONCLUSIÓN.....	110

10. REFERENCIAS 110

Índice de Tablas

Tabla 1: Coordenadas de los cambios volumétricos en regiones cerebrales comparando
CON vs CAF 90

Tabla 2: Valores de p de la comparación del tensor de difusión de FA entre los grupos
CON y CAF 2 y 12 meses..... 95

Tabla 3: Valores de p de la comparación del tensor de difusión de ADC entre los grupos
CON y CAF 2 y 12 meses..... 96

Tabla 4: Valores de p de la comparación del tensor de difusión de AD entre los grupos
CON y CAF 2 y 12 meses..... 97

Tabla 5: Valores de p de la comparación del tensor de difusión de RD entre los grupos
CON y CAF 2 y 12 meses..... 97

Tabla 6: Resultados del análisis de regresión de las variables conductuales y estructurales
de CON vs CAF 2 meses..... 101

ABREVIATURAS

AD	Difusividad axial
ADC	Coeficiente de difusión aparente
AMPA	a-amino-3-hidroxi-5-metilsoxazol-4-propionato
BDNF	Factor neurotrófico derivado del cerebro
CA1	Cornus Ammonum 1
CA2	Cornus Ammonum 2
CA3	Cornus Ammonum 3
CAF	Dieta de cafetería
CaMKII	quinasa de proteína dependiente de calcio/calmodulina
CON	Dieta Control
DG	Giro dentado
DMB	morfometría basada en deformación
DTI	Resonancia magnética con tensor de difusión
DWI	imágenes ponderadas por difusión
EA	enfermedad de Alzheimer
EC	corteza entorrinal
FA	anisotropía fraccional
FC	conectividad funcional
HFD	dieta alta en grasa

Hpp	Hipocampo
IMC	Índice de masa corporal
LCR	Líquido cefalorraquídeo
LTD	depresión a largo plazo
LTM	memoria a largo plazo
LTP	potenciación a largo plazo
MAPK	quinasa activada por mitógenos
MD	difusividad media
NAc	Núcleo accumbens
NMDA	ácido N-metil-D-aspartico
NORT	Prueba de reconocimiento de objeto novedoso
pAMPK	AMP fosforilada
PFA	Paraformaldehído
PFC	Corteza prefrontal
PKC	proteína quinasa C
RD	longitudinal y la difusividad radial
RF	radiofrecuencia
RM	resonancia magnética
STM	memoria a corto
TBSS	Tract-Based Spatial Statistics
TE	Tiempo de eco

TR	Tiempo de repetición
VTA	Área tegmental ventral
WMH	sustancia blanca

Resumen

La exposición prenatal a dietas con alto contenido energético se ha asociado con alteraciones cerebrales que aumentan el riesgo de presentar alteraciones conductuales y cognitivas en la descendencia (Gawlińska et al., 2021). Aunque se sabe que la obesidad materna y la exposición a estas dietas se relacionan al desarrollo de enfermedades crónico degenerativas y problemas de salud mental en la descendencia (Maldonado-Ruiz et al., 2022; Montalvo-Martínez et al., 2023; Seremak-Mrozikiewicz et al., 2014; Tabachnik et al., 2017; Trujillo-Villarreal et al., 2021), aún se desconoce cómo las dietas afectan específicamente la estructura y función cerebral y el deterioro cognitivo. La exposición a un entorno adverso durante el desarrollo, incluyendo la obesidad materna y otros factores, puede influir en la susceptibilidad a largo plazo de desarrollar enfermedades crónicas y trastornos conductuales y cognitivos en la descendencia. **Objetivo.** En este estudio se emplearon ratones hembra expuestos a dietas hiper-energéticas durante el embarazo para investigar su efecto en los cambios en la estructura cerebral y el rendimiento cognitivo de su descendencia a los dos y doce meses de edad. Se identificó que la exposición prenatal a la dieta afectó el circuito fimbria-fórnix del cerebro, involucrado en el aprendizaje y la memoria, en la descendencia lo que podría aumentar el riesgo de desarrollar comportamientos aberrantes en etapas tempranas de la vida. Estos hallazgos resaltan la importancia de comprender los efectos de la exposición prenatal a dietas ricas en energía en la codificación de la actividad cerebral y la estructura, así como en el comportamiento de la

descendencia. Nuestra investigación proporciona información relevante para abordar los desafíos de salud asociados con la obesidad materna y las dietas poco saludables durante el embarazo, y destaca la necesidad de intervenciones tempranas para prevenir o mitigar los efectos negativos en el desarrollo cerebral y el funcionamiento cognitivo.

DR. C. ALBERTO CAMACHO MORALES
Director de Tesis

Abstract

Prenatal exposure to energy-dense diets has been associated with brain abnormalities that increase the risk of developing behavioral and cognitive impairments in offspring (Gawlińska et al., 2021). Although it is known that maternal obesity and exposure to these diets are related to chronic degenerative diseases and mental health problems (Maldonado-Ruiz et al., 2022; Montalvo-Martínez et al., 2023; Seremak-Mrozikiewicz et al., 2014; Tabachnik et al., 2017; Trujillo-Villarreal et al., 2021) in offspring, how it specifically affects brain structure and function and cognitive decline is still unknown. Exposure to an adverse environment during development, including maternal obesity and other factors, may influence long-term susceptibility to chronic disease and behavioral and cognitive disorders in offspring. This study used female mice exposed to high-energy diets during pregnancy to investigate their effect on the brain structure and cognitive performance of their offspring at two and twelve months of age. The brain's fimbria-fornix circuitry, involved in learning and memory, was found to be affected by diet during the prenatal window, which could increase the risk of developing aberrant behaviors early in life.

These findings highlight the importance of understanding the effects of prenatal exposure to energy-dense diets on brain activity encoding and structure, as well as behavior in offspring. This research provides relevant information to address the health challenges associated with maternal obesity and unhealthy diets during pregnancy, and highlights the need for early interventions to prevent or mitigate negative effects on brain development and cognitive functioning.

DR. C. ALBERTO CAMACHO MORALES

Director de Tesis

1. INTRODUCCIÓN

El envejecimiento de la población mundial es una realidad contemporánea innegable. El Informe Mundial sobre Envejecimiento y Salud confirma que, por primera vez en la historia de la humanidad, la esperanza de vida de las personas en todo el mundo es mayor a los 60 años (Beard et al., 2016). Por ejemplo, datos biodemográficos sugieren que la mitad de los niños vivos en 2010 en países con las mayores expectativas de vida pueden alcanzar la edad de 100 años (Vaupel, 2010). Sin embargo, el envejecimiento incrementa la probabilidad de desarrollar alteraciones cognitivas y patologías degenerativas relacionadas con las mismas. En este sentido, se estima que en todo el mundo existen actualmente 47 millones de personas afectadas por demencia, y se diagnostican alrededor de 8 millones de nuevos casos anualmente. Cerca del 60-75% de los nuevos casos, desarrollarán la enfermedad de Alzheimer (EA), seguida de demencia vascular y cuerpos de Lewy (Gaugler et al., 2016).

A la fecha, no están del todo claro los mecanismos moleculares y fisiológicos que se asocian al envejecimiento como un factor de riesgo para el deterioro cognitivo. Sin embargo, la evidencia clínica y preclínica demuestra que durante el deterioro cognitivo leve se presenta inflamación sistémica y central (Barrientos et al., 2015; Corona et al., 2012; Gaugler et al., 2016). Se conoce que la microglía, representa a las células inmunes residentes del cerebro, que se asocian a la inflamación cerebral y muestran defectos en su umbral de activación durante el

envejecimiento lo que favorece el daño cerebral (M. G. Frank et al., 2006, 2010; Rozovsky et al., 1998).

Aunque aún se encuentra en investigación, se ha demostrado que la exposición a una dieta alta en grasa (HFD) en adultos jóvenes es uno de los factores relacionados con la inducción de inflamación sistémica de bajo grado en el cerebro y en los tejidos periféricos (Cano et al., 2009; Lorenzo et al., 2008; Xu et al., 2002). Inicialmente, se identificó que la exposición a dieta HFD induce inflamación cerebral, principalmente en el hipotálamo (Milanski et al., 2009). Se conoce que la ingesta de una dieta calórica y alta en grasa induce rápidamente inflamación hipotalámica, que se relaciona con el aumento de la expresión de genes inflamatorios y gliosis. De interés, la inflamación hipotalámica temprana puede observarse semanas antes de la expansión e inflamación del tejido adiposo, lo que sugiere que la señalización inflamatoria del hipotálamo es uno de los primeros contribuyentes a la génesis del fenotipo obeso, y no es simplemente una consecuencia de la acumulación y expansión del tejido adiposo e inflamación periférica (Macedo, Souza, Glezer, & Gaspar, 2019). Asimismo, a nivel del hipocampo, la ingesta de dieta alta en grasa en el adulto joven no parece promover inflamación, pero si sensibiliza a la microglía para responder a futuros estímulos inflamatorios (Sobesky et al., 2014, 2016). De interés, en ausencia de tales estímulos, no se detecta respuesta inflamatoria ni se observan alteraciones de la memoria y el aprendizaje (Miller & Spencer, 2014; Sobesky et al., 2014, 2016; Spencer et al., 2017). Estas evidencias confirman la presencia de un estado pro-inflamatorio sistémico y central a nivel de la microglía, que correlaciona con alteraciones en los procesos neurobiológicos de memoria y

aprendizaje. Se propone que la ingesta de una dieta con alto valor calórico es uno de los detonantes en el desarrollo de la inflamación cerebral. Sin embargo, los mecanismos moleculares que favorecen el perfil pro-inflamatorio durante la exposición a una dieta alta en calorías, y que deterioran los procesos neurobiológicos de aprendizaje y memoria no están completamente definidos.

Un segundo factor altamente relevante en el desarrollo de deterioro cognitivo es el envejecimiento del individuo. De hecho, el impacto de la dieta y la nutrición en el deterioro cognitivo asociado con la edad es un campo de activa investigación (Crichton et al., 2013; Livingston et al., 2017). De acuerdo a esto, la exposición a dietas con alto contenido energético puede ocurrir en etapas prenatales. Nuestro grupo de investigación ha reportado que la exposición prenatal a la dieta de cafetería (una fórmula dietética de alto contenido energético) promovió alteraciones cerebrales estructurales, incluida la reducción del volumen en el núcleo accumbens (NAc), el hipocampo y el córtex prefrontal (Trujillo-Villarreal et al., 2021). En particular, las alteraciones cerebrales estructurales se asociaron positivamente con comportamientos patológicos en la descendencia, como comportamientos similares al autismo y la depresión (Maldonado-Ruiz et al., 2022; Trujillo-Villarreal et al., 2021). Aunque todavía se está investigando, un balance energético positivo como el que se produce durante la obesidad o la exposición prenatal a dietas hiperenergéticas también es capaz de promover anomalías en la estructura cerebral en bebés y en individuos adultos (Verstynen et al., 2012; Ward et al., 2005). Por ejemplo, los individuos obesos experimentaron una disminución del volumen cerebral total, independientemente de la edad y la morbilidad (Verstynen et al.,

2012; Ward et al., 2005). Asimismo, en los individuos humanos obesos se observó una atrofia de la materia gris en las cortezas temporal, frontal y occipital, y una reducción de la integridad de la materia blanca en el cerebro (Gunstad et al., 2008; Shefer et al., 2013). De hecho, un aumento del índice de masa corporal durante las etapas previas al embarazo o durante la gestación altera la microestructura de la sustancia blanca en el cerebro del niño (Hasebe et al., 2021; Norr et al., 2021; Verdejo-Román et al., 2019) o predispone a una disminución del volumen en el hipocampo izquierdo en la edad adulta (Jacka et al., 2015), respectivamente. Sin embargo, no se ha documentado la contribución de la exposición prenatal a dietas hiperenergéticas sobre la conformación estructural del cerebro y la codificación de la actividad para el comportamiento aberrante después del nacimiento.

La exposición prenatal a diferentes factores ambientales puede tener un impacto significativo en el desarrollo y la salud de la descendencia. Entre estos factores, la nutrición materna durante el embarazo ha sido reconocida como un determinante crucial de los resultados fetales y maternos. Con el creciente interés en la programación fetal y el impacto a largo plazo de la calidad y disponibilidad de la nutrición durante el embarazo, surge la necesidad de una mejor comprensión de los costos médicos, financieros y sociales de la desnutrición o malnutrición durante este período crítico. En resumen, la exposición prenatal a una dieta hipercalórica puede tener consecuencias a largo plazo en la salud y el desarrollo de la descendencia. La programación fetal por una dieta hipercalórica se asocia con un mayor riesgo de obesidad, trastornos metabólicos y alteraciones cerebrales en la descendencia. Es fundamental una mayor comprensión de los mecanismos subyacentes para

desarrollar estrategias efectivas de prevención y tratamiento que promuevan un ambiente prenatal saludable y optimicen los resultados de salud a lo largo de la vida.

Con base en los antecedentes, en el presente estudio caracterizamos en un modelo murino el efecto de la exposición a dietas hiperenergéticas durante la etapa prenatal sobre las alteraciones macro y microestructurales del cerebro mediante análisis de resonancia magnética estructural y de difusión, y su asociación con el rendimiento del aprendizaje y la memoria en la descendencia a corto y largo plazo.

Comprender los mecanismos detrás de la programación fetal por una dieta hipercalórica es crucial para el desarrollo de estrategias preventivas y terapéuticas.

2. ANTECEDENTES

2.1 El envejecimiento y deterioro cognitivo

El envejecimiento es un fenómeno universal que ocurre en la mayoría de los organismos vivos y es una de las mayores preocupaciones de la humanidad en nuestros días, basadas en el desarrollo de patologías crónico-degenerativas relacionadas con el mismo. El envejecimiento se define como la disminución funcional dependiente del tiempo, que se cree se asocia con varias modificaciones moleculares en los diversos órganos del cuerpo que se acumulan a lo largo de la vida de una persona (M. Jung & Pfeifer, 2015; S. E. Jung et al., 2017). Desde el aislamiento de las primeras cepas de larga vida de *Caenorhabditis elegans* en 1983, se han realizado estudios exhaustivos de envejecimiento con un conocimiento en constante expansión de los mecanismos moleculares y celulares de la vida y la enfermedad. Sin embargo, a pesar de las diversas hipótesis o propuestas formuladas para explicar su causa y el mecanismo del envejecimiento a lo largo de los años, no se cuenta con una teoría única que pueda explicar el envejecimiento, lo que nos muestra claramente la complejidad y diversidad de este proceso fisiológico.

Como un paso hacia la comprensión del proceso de envejecimiento, se han realizado esfuerzos para identificar y clasificar sus características celulares y moleculares (López-Otín et al., 2013). Recientemente, en 2023, Lopez-Otín et al. enumeraron doce características distintivas del envejecimiento: inestabilidad genómica, desgaste de los telómeros, alteraciones epigenéticas, pérdida de proteostasis, macroautofagia deshabilitada, detección de nutrientes desregulada, disfunción mitocondrial, senescencia celular, agotamiento de las células madre, comunicación intercelular alterada, inflamación crónica y disbiosis (López-Otín et al., 2023). Dado que estas características aparecen simultáneamente durante el proceso de envejecimiento y se encuentran interconectadas, identificar la relación causal precisa entre ellas sigue siendo un gran desafío que no ha sido resuelto. La interdependencia de los rasgos del envejecimiento destaca el hecho de que, el envejecimiento es un proceso complejo que debe ser entendido en su totalidad. En consecuencia, cada uno de los rasgos debe considerarse como un punto importante para la futura investigación del proceso de envejecimiento, así como para el desarrollo de nuevos tratamientos contra el envejecimiento prematuro.

El envejecimiento cognitivo es un proceso ampliamente documentado en la literatura científica. Mientras que algunas habilidades cognitivas, como el vocabulario, resisten el envejecimiento e incluso pueden mejorar con la edad, otras habilidades, como el razonamiento conceptual, la memoria y la velocidad de procesamiento, disminuyen gradualmente con el tiempo (Harada et al., 2013; Wisdom et al., 2012).

Primeramente, la memoria se divide en dos tipos principales: memoria declarativa y memoria no declarativa. La memoria declarativa se refiere al recuerdo consciente de hechos y eventos, y se subdivide en memoria semántica (conocimiento general y uso del lenguaje) y memoria episódica (recuerdos de eventos personales específicos). Mientras que la memoria episódica muestra disminuciones a lo largo de la vida, la memoria semántica tiende a disminuir en etapas más tardías de la vida (Harada et al., 2013; Rönnlund et al., 2005). Por otro lado, la memoria no declarativa se refiere a los recuerdos fuera de la conciencia, como la memoria de procedimiento, que implica habilidades motoras y cognitivas. A diferencia de la memoria declarativa, la memoria no declarativa se mantiene relativamente constante a lo largo de la vida (Lezak et al., 2012). El estudio de Willoughby en 1929 fue el primero en documentar una disminución de la memoria entre las edades de 20 y 70 años (Willoughby, 1929) y además se ha reportado que, en el envejecimiento transversal, la capacidad de memoria alcanza su punto máximo a los 25 años y luego se deteriora lentamente a un ritmo de aproximadamente 0.5% por año (Morley, 2018).

Adicionalmente, los conceptos de inteligencia cristalizada y fluida se utilizan para describir patrones de cambio cognitivo a lo largo de la vida. La inteligencia fluida es la capacidad de aprender y usar nueva información y usarla para resolver problemas. Como, por ejemplo, los recuerdos que generalmente se ven afectados por el envejecimiento. Por su parte, la inteligencia cristalizada se basa en la capacidad de utilizar el conocimiento previo, el razonamiento lógico y las habilidades adquiridas para resolver problemas, comprender conceptos complejos, comunicarse de manera efectiva y enfrentar situaciones diversas. Esta forma de inteligencia se relaciona con la memoria a largo plazo, el lenguaje, el vocabulario, la comprensión lectora, el conocimiento general y otras habilidades específicas que se han desarrollado con el tiempo. El vocabulario y el conocimiento general son ejemplos de habilidades cristalizadas. Las habilidades cristalizadas permanecen estables o mejoran gradualmente a un ritmo de 0.02 a 0.003 desviaciones estándar por año durante la sexta y séptima décadas de la vida. (Salthouse, 2012). Debido a que la inteligencia cristalizada se debe a la acumulación de información basada en las experiencias de la vida, los adultos mayores tienden a desempeñarse mejor en tareas que requieren este tipo de inteligencia en comparación con los adultos más jóvenes (Harada et al., 2013). De hecho, el aumento en el tiempo de procesamiento es uno de los rasgos usados para definir las alteraciones de la memoria asociadas con el envejecimiento (Park & Festini, 2017).

2.2 Señalización celular durante la memoria a corto y largo plazo.

Una de las estructuras cerebrales más importantemente involucrada en la codificación de la memoria es el hipocampo. A lo largo de su eje longitudinal, el hipocampo se puede dividir funcionalmente en partes dorsales, intermedias y ventrales, que incluyen a las zonas CA1, CA2, CA3 y giro dentado (DG) a lo largo del eje transversal. Además, el hipocampo integra un circuito trináptico canónico que se origina desde el nodo de entrada del DG a CA3 y finalmente al nodo de salida CA1. La zona de CA1 forma la salida principal del hipocampo que se proyecta dorsalmente hacia el córtex subicular y entorrinal mientras que CA1 ventral (vCA1) se dirige a la corteza prefrontal medial (mPFC), núcleo accumbens (NAc) y amígdala. A través de distintas proyecciones eferentes, el hipocampo procesa selectivamente la información contingente del comportamiento hacia las distintas vías subsecuentes. (Yang & Wang, 2017).

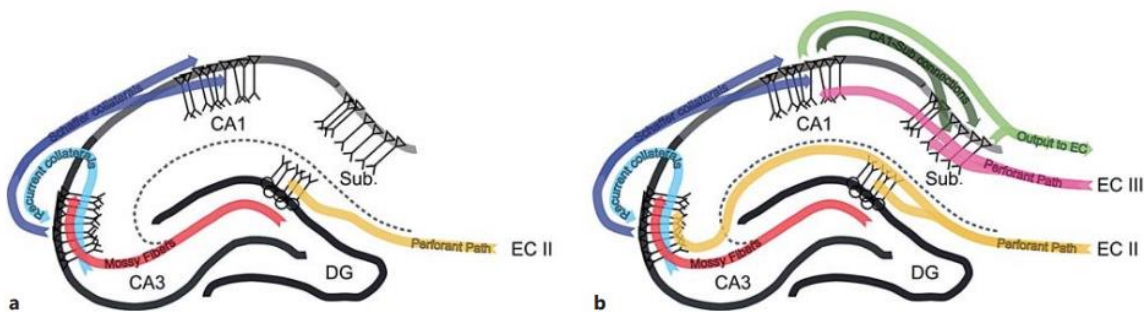


Figura 1. Representación esquemática de la conectividad del hipocampo. a) La vía trisináptica tradicional que comprende la sinapsis de la vía entorrinal-dentada (DG), CA3 y

la sinapsis CA3-CA1 Schaffer. b) Diagrama que incluye las proyecciones paralelas de la capa II y III de la corteza entorrinal paralela (EC), así como la incorporación del subículo y las proyecciones CA1 y subiculares a la EC (Witter et al., 2017).

Molecularmente, las neuronas del hipocampo responden eficientemente a la integración sensorial para el establecimiento del aprendizaje y de la memoria. La potenciación a largo plazo (LTP, por sus siglas en inglés), LTD (depresión a largo plazo) y la memoria a corto (STM, por sus siglas en inglés) y memoria a largo plazo (LTM, por sus siglas en inglés) son conceptos fundamentales en el estudio de la memoria y el aprendizaje.

La memoria de trabajo o memoria a corto y largo plazo (STM y LTM) son sistemas de memoria distintos que desempeñan roles importantes en nuestra capacidad para procesar y retener información. La memoria de trabajo es un sistema temporal y limitado que nos permite mantener y manipular activamente la información relevante en nuestra mente mientras llevamos a cabo tareas cognitivas (D'Esposito & Postle, 2015), se refiere básicamente a la retención temporal de información durante un período de tiempo limitado, generalmente de segundos a minutos mientras que la LTM es el proceso mediante el cual la información se almacena de manera duradera en el cerebro. Implica la formación y consolidación de recuerdos a largo plazo, que pueden persistir durante días, semanas, meses o incluso años. La consolidación de la memoria implica una serie de cambios estructurales y funcionales en el cerebro, incluyendo la activación de rutas neuronales específicas.

La LTP es un fenómeno neurofisiológico que se produce en las sinapsis neuronales cuando hay una estimulación intensa y repetitiva. Esta estimulación provoca cambios duraderos en la fuerza y eficiencia de las conexiones sinápticas, lo que se traduce en una mayor eficacia en la transmisión de señales entre neuronas. La LTP se considera uno de los principales mecanismos subyacentes del aprendizaje y la memoria, ya que fortalece las conexiones entre las neuronas involucradas a una determinada experiencia o información. (Alkadhi, 2021).

La relación entre la LTP y la LTM es estrecha, ya que la LTP se considera un proceso celular y molecular que subyace a la formación de la LTM. Los cambios sinápticos asociados con la LTP facilitan la transmisión de señales entre neuronas, lo que mejora la codificación y recuperación de la información almacenada en la LTM. Además, la consolidación de la LTM se ha asociado con la activación de mecanismos similares a los observados en la LTP (Cotton & Ricker, 2022). Por otro lado, la LTD implica una disminución duradera en la eficacia sináptica después de una estimulación repetitiva y sostenida en sentido contrario. Durante la LTD, la activación de las vías sinápticas desencadena cambios que debilitan la conexión sináptica, como una disminución en la liberación de neurotransmisores y una reducción en la sensibilidad de los receptores postsinápticos. Estos cambios conducen a una disminución en la transmisión de señales entre las neuronas (Baltaci et al., 2019). La LTD es importante en la eliminación y debilitamiento de conexiones sinápticas menos relevantes o no deseadas, lo que permite la reorganización y adaptación de las redes neuronales. La interacción entre la LTP y la LTD es crucial para la formación de la memoria. Estos procesos pueden ocurrir en sinapsis cercanas

dentro de una red neuronal y pueden regularse mutuamente (Malenka & Bear, 2004). Esta interacción finamente equilibrada entre la LTP y la LTD permite la adaptación y plasticidad de las redes neuronales, lo que facilita la adquisición, el almacenamiento y la recuperación de la información en la memoria.

Durante el desarrollo de memoria y aprendizaje se generan cambios en la eficiencia neuronal que se le conoce como plasticidad sináptica. La plasticidad sináptica es la capacidad del sistema nervioso para modificar la fuerza y eficacia de las conexiones entre las neuronas. Se refiere a los cambios estructurales y funcionales que ocurren en las sinapsis, las conexiones especializadas entre las neuronas. Estos cambios pueden involucrar la formación de nuevas conexiones sinápticas, el fortalecimiento o debilitamiento de las conexiones existentes, y la reorganización de los circuitos neuronales. La plasticidad sináptica es fundamental para el aprendizaje y la memoria, ya que permite la adaptación del sistema nervioso en respuesta a la experiencia y el almacenamiento de la información a largo plazo.

Dentro de los mecanismos moleculares que se relacionan con la regulación de la plasticidad sináptica se encuentra el BDNF (Factor Neurotrófico Derivado del Cerebro). La activación del receptor de quinasa B relacionada con tropomiosina (pTrkB) por el BDNF desencadena una cascada de señalamiento intracelular que conduce a la activación de la señalización de la proteína quinasa B (pAkt). (Cunha et al., 2010) Esta señalización de Akt regula la traducción y el transporte de proteínas sinápticas, lo que promueve la plasticidad sináptica durante el aprendizaje y la memoria. El BDNF también afecta a los receptores de N-metil-D-aspartato (NMDA), que desempeñan un papel crucial en la plasticidad sináptica. El BDNF

activa la apertura de canales de iones activados por Na^+ , lo que resulta en una entrada de Ca^{2+} y mejora la activación de glutamato de los receptores de NMDA. La activación de los receptores de NMDA por glutamato induce la inducción de LTP (Noble et al., 2011)

Además, el BDNF está asociado con la proteína quinasa activada por AMP fosforilada (pAMPK). La activación de pAMPK aumenta la expresión de BDNF en el cerebro, lo que sugiere que desempeña un papel crucial en la promoción de la plasticidad sináptica (Baltaci et al., 2019). En cuanto a los mecanismos postsinápticos que conducen a un aumento en la transmisión sináptica, se ha descubierto que existen sinapsis silenciosas durante el desarrollo que no son capaces de ser activadas por los neurotransmisores liberados hasta que se activan por un estímulo adecuado. Estas sinapsis silenciosas contienen receptores de NMDA, pero no contienen receptores de AMPA (ácido α -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico), lo que las hace "silenciosas" en condiciones fisiológicas. Sin embargo, después de la inducción de la LTP, se produce la inserción de receptores de AMPA en la membrana postsináptica, lo que hace que la sinapsis sea competente para la neurotransmisión (Alkadhi, 2021). La entrada de calcio (Ca^{2+}) a través de los receptores de NMDA es crucial para la inducción de LTP. Se han identificado diversas enzimas dependientes de calcio, como la CaMKII (quinasa de proteína dependiente de calcio/calmodulina), las calpaínas, PKA (proteína quinasa A), diferentes isoformas de PKC (proteína quinasa C), MAPK (quinasa activada por mitógenos) y quinasas de tirosina, que pueden alterar la función y estructura de las espinas dendríticas (Hayashi, 2022). Estas vías de señalización desempeñan roles

complejos y variados en las diferentes fases de la LTP durante la plasticidad sináptica y favorecen el desarrollo eficiente de memoria y aprendizaje.

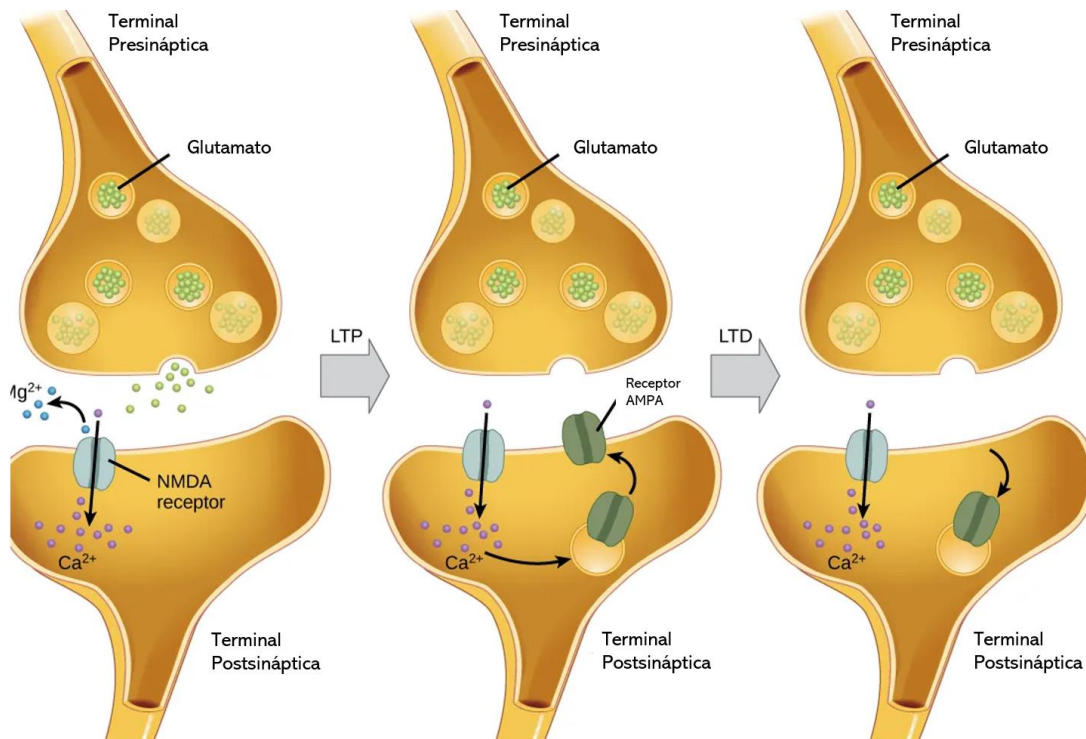


Figura 2 La modulación postsináptica por BDNF es un proceso en el cual el factor neurotrófico BDNF afecta la transmisión sináptica y la plasticidad en el hipocampo. La activación de los receptores postsinápticos TrkB por BDNF provoca la despolarización de la neurona postsináptica, posiblemente mediante la apertura de canales de Na^{+} , y al mismo tiempo activa canales de Ca^{2+} , lo que resulta en un aumento en la concentración de Ca^{2+} . Durante la transmisión sináptica, la despolarización de la célula postsináptica causada por la activación de los receptores TrkB potencia la apertura de los receptores de NMDA al remover un bloqueo de Mg^{2+} en el canal del receptor, lo cual facilita la inducción de la plasticidad y la LTP en la célula postsináptica. (Manabe, 2002)

2.3.1 Técnicas de Resonancia Magnética

El estudio de la función y estructura cerebral ha desarrollado diferentes estrategias de análisis global del cerebro a través de la imagen de resonancia magnética (RM). La RM es una técnica de imagen no invasiva que genera imágenes transversales de estructuras internas mediante el uso de radiación electromagnética no ionizante. La RM aprovecha típicamente el fenómeno de la resonancia magnética nuclear, en el cual los núcleos atómicos, expuestos a un fuerte campo magnético, absorben y reemiten ondas electromagnéticas a una frecuencia característica o "resonante", en el rango de radiofrecuencia (RF). Dada la riqueza de información contenida en la señal, que se refiere a la bioquímica de los tejidos y sus propiedades estructurales generales, la RM es increíblemente versátil. Las técnicas utilizadas para obtener y analizar la señal pueden adaptarse para mejorar los factores de interés, proporcionando imágenes de alta resolución de estructuras particulares, como tractos de materia blanca, lesiones y arterias. Hoy en día, las aplicaciones clínicas de la RM son vastas, abarcando aplicaciones neurológicas, psiquiátricas, cardíacas, abdominales, musculoesqueléticas y vasculares, lo que convierte a la RM en una de las herramientas de imagen más poderosas y flexibles (Yousaf et al., 2018). La RM está basada en las propiedades magnéticas de los núcleos atómicos, en este caso del hidrógeno, utiliza pulsos de radiofrecuencia los cuales actúan sobre el campo magnético del resonador generando un efecto de precesión en los protones H⁺ con el pulso de radiofrecuencia, los protones adquieren energía y con

el tiempo se relajan hasta llegar a su estado de energía original. La diferencia en los tiempos de relajación es captada por una antena la cual permite construir una imagen bidimensional y/o tridimensional (Huettel et al., 2004). Las técnicas empleadas para obtener y analizar la señal se pueden adaptar para aumentar los factores de interés, proporcionando imágenes de alta resolución de estructuras particulares, incluidos tractos de materia blanca, lesiones y arterias (Yousaf et al., 2018). Así mismo, la RM es una técnica que se ha implementado para el estudio de trastornos psiquiátricos (Liu et al., 2015), ya que permite el estudio específico de regiones cerebrales y en modelos animales se puede emplear en experimentos *in vivo* o *ex vivo*, proporcionando múltiples mecanismos de contraste para investigar diferentes aspectos de la neuroanatomía y la fisiología (Lerch et al., 2010). Los estudios modernos de RM del cerebro brindan la oportunidad de sondear *in vivo* los cambios en los biomarcadores de imagen estructurales y funcionales durante el proceso de envejecimiento. De hecho, los investigadores han observado muchas medidas de neuroimagen de la estructura y función cerebrales que indican deterioro durante el envejecimiento adulto, siendo el grosor cortical, la carga de hiperintensidad de la sustancia blanca (WMH) y la conectividad funcional (FC) los parámetros más destacados (Schulz et al., 2022).

2.3.2 Deformación Basada en Morfometría

La morfometría basada en deformación (DMB) es una aplicación de la RM en donde las imágenes de alta resolución de sujetos individuales se mapean a una imagen de plantilla utilizando rutinas de normalización no lineal tridimensional. El principio básico consiste en analizar estas deformaciones locales de una imagen e inferir las diferencias locales en la estructura cerebral. Esto permite la medición automatizada de alteraciones estructurales en todo el cerebro. La DMB utiliza los siguientes pasos; normalización, registro no-lineal y análisis estadístico (Schröder & Faber, 2011; Zhao et al., 2018). Esta técnica fue descrita por primera vez como una caracterización de las diferencias entre los campos vectoriales que permiten detectar diferencias globales o generales en la forma del cerebro, estos campos vectoriales son los campos utilizados en deformación para efectuar variantes no lineales que son aplicados a una plantilla que se ajusta a un espacio anatómico estándar. La DMB es una caracterización de las diferencias en los campos vectoriales que describen diferencias globales o generales en la forma del cerebro, es decir, estos campos vectoriales son los campos de deformación utilizados para efectuar variantes no lineales de normalización espacial, cuando una de las imágenes es una plantilla que se ajusta a algún espacio anatómico estándar. La implementación de esta técnica es completamente reproducible, su validez se establece en términos de la estimación de los campos de deformación y las plantillas utilizadas en el análisis (Ashburner et al., 1998).

2.3.4 Resonancia magnética con tensor de difusión (DTI)

La DTI es una segunda aplicación de la RM que cuantifica la restricción del movimiento browniano de las moléculas de agua en el tejido cerebral, proporcionando un análisis microestructural de la sustancia blanca (Barry et al., 2021). Se ha aplicado a una enorme variedad de estudios neurocientíficos, como la esquizofrenia, las lesiones cerebrales traumáticas, la esclerosis múltiple, el autismo y el envejecimiento. Se han realizado investigaciones anatómicas sobre la estructura de la red del lenguaje, la asimetría y localización de la sustancia blanca en gemelos y hermanos, y variabilidad de los tractos de fibras, entre otras. En investigaciones recientes se ha intentado modelar el "conectoma" humano analizando la conectividad cerebral estructural frente a la funcional, medida mediante DTI y RM funcional.

La DTI proporciona una medida indirecta de las características del tejido según su métrica; por ejemplo, una difusión paralela DTI es sensible a la integridad axonal, mientras que una difusión perpendicular DTI muestra (pero no es específica) una alteración de la mielina y una densidad axonal disminuida.

Las métricas de la DTI notificadas recientemente incluyen la anisotropía fraccional (FA), una medida del grado de direccionalidad de la difusión del agua, y la difusividad media (DM), la tasa media de difusión del agua (Alexander et al., 2007; Soares et al., 2013; Amlien y Fjell, 2014; Bennett y Madden, 2014; Alves et al.,

2015). Más recientemente, las métricas DTI reportadas también han incluido la difusividad axial (AD), la tasa de difusión de agua a lo largo del eje longitudinal y la difusividad radial (RD), la tasa de difusión de agua a lo largo de los ejes perpendiculares (Alexander et al., 2007; Alves et al., 2015). Juntas, la FA y la DM proporcionan información sobre los cambios en las barreras a la difusión; el aumento de la AxD se ha asociado con la degeneración axonal y el aumento de la RD se ha relacionado con la desmielinización (Bosch et al., 2012; Bennett y Madden, 2014; Kantarci, 2014; Alves et al., 2015; Schulz et al., 2022).

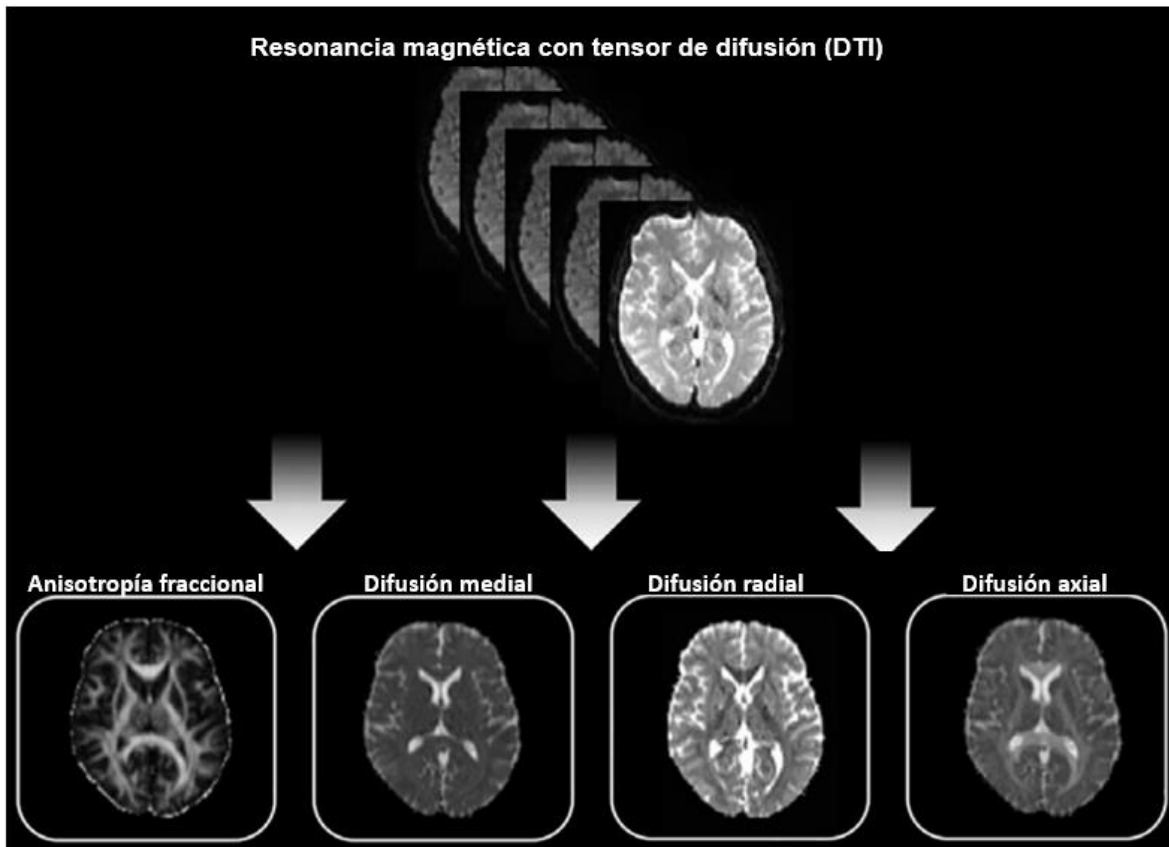


Figura 3. La resonancia magnética de difusión ofrece una visión única de la microestructura tisular y la tractografía de fibras debido a su sensibilidad al patrón de desplazamiento de las

moléculas de agua durante el tiempo de difusión. Las métricas obtenidas de DTI, como la anisotropía fraccional (FA) y la difusividad media (MD), se han utilizado para evaluar las propiedades del tejido.

2.4 Cambios en la estructura cerebral y efectos en la cognición

Empleando la tecnología de imágenes con resonancia magnética (MRI) con Deformación Basada en Morfometría, han logrado identificar cambios en el volumen cerebral en sujetos y modelos animales con defectos en la cognición. Aunque los estudios post mortem e *in vivo* revelan un encogimiento lineal moderado del cerebro en humanos y otros primates, exámenes más detallados de los volúmenes regionales han demostrado que no todas las estructuras cerebrales se ven afectadas en la misma medida. Por ejemplo, en lo que respecta al volumen total del cerebro, la mayoría de los estudios *in vivo* confirman, independientemente de las variaciones metodológicas, que el cerebro se encoge con la edad de forma lineal y moderada; el encogimiento cerebral relacionado con la edad, se debe principalmente a la reducción del volumen de materia gris, más que de materia blanca (Courchesne, Chisum, Townsend et al., 2000; Good, Johnsrude, Ashburner et al., 2001; Jernigan, Press, and Hesselink 1990; Jernigan, Archibald, Berhow et al., 1991).

No obstante, algunos informes indican que la reducción de la sustancia blanca es la principal responsable de la pérdida de volumen cerebral durante el envejecimiento normal (Guttmann, Jolesz, Kikinis y otros, 1998; Jernigan, Archibald, Fenema-Notestine y otros, 2001; Salat, Kaye y Janowsky, 1999). En particular, en

algunos análisis se confirma una relación curvilínea entre la edad y el volumen de sustancia blanca. La implicación es que el volumen de la sustancia blanca aumenta entre el final de la adolescencia y la mediana edad y luego, tras alcanzar una meseta, disminuye (Bartzokis, Beckson, Lu et al., 2001; Courchesne et al., 2000).

Los estudios de neuroimagen basados en estructuras representan un prometedor grupo de biomarcadores, siendo la morfometría un método clásico para detectar la atrofia cerebral. Los estudios de morfometría han identificado una gran similitud en el córtex olfativo y el hipocampo al principio del periodo prodrómico o fase inicial de la EA en comparación con los controles de ancianos sanos (Pennanen et al., 2004). Durante la fase de demencia de la EA, se han identificado varias atrofas en las cortezas temporal, parietal, cingulada posterior, frontal y en la ínsula (Duarte et al., 2006). Roquet y sus colegas mostraron un menor volumen de la materia gris en el lóbulo extratemporal, el lóbulo frontal, la ínsula y el cuneus anterior

2.5.1 Alteraciones en la materia blanca cerebral y efectos en la cognición

Diversos estudios han confirmado la alteración en la materia blanca en diversas regiones cerebrales asociadas a defectos en la cognición.

El fórnix, el principal tracto eferente del hipocampo de materia blanca (Teipel et al. 2016) que desempeña un papel primordial en la memoria episódica, que disminuye en el envejecimiento normal (Head et al. 2008) y también suele ser el primer dominio cognitivo afectado en la EA (Salmon y Butters 1992). Los estudios de imágenes de tensor de difusión muestran que la microestructura de la materia

blanca del fórnix se relaciona con la memoria episódica en adultos mayores cognitivamente normales (Metzler-Baddeley et al. 2011) y en aquellos con riesgo de EA (Mielke et al. 2012). En particular, los cambios microestructurales del fórnix son detectables en portadores presintomáticos de mutaciones familiares de EA, años antes de que desarrollen disfunción cognitiva y cuando el volumen de materia gris aún está preservado (Ringman et al. 2007), lo que sugiere que la integridad del fórnix puede ser útil para predecir el deterioro de la memoria.

Los estudios neuropatológicos en la EA documentan la pérdida de láminas de mielina, pero axoplasma de apariencia relativamente normal, lo que sugiere desmielinización primaria en la EA (Terry et al. 1964). Además, se muestra que la reducción de la densidad de mielina, pero no de la densidad axonal, contribuye a la rarefacción de la materia blanca en adultos mayores cognitivamente normales que se refiere a la disminución de la densidad de la sustancia blanca en el cerebro y que en el contexto del envejecimiento o ciertas condiciones patológicas, como trastornos neurodegenerativos, se ha observado que la rarefacción de la materia blanca es un fenómeno común (Murray et al. 2012).

Se ha sugerido que la alteración de la mielina puede ser el resultado de anomalías en la microestructura de la materia blanca o de un aumento del líquido extracelular entre las fibras o las vainas axonales (Alba-Ferrara y de Erausquin, 2013). La teoría de la alteración de la integridad de la mielina está respaldada por pruebas de estudios post mortem (p. ej., Aston et al., 2004), así como por estudios histológicos (p. ej., Hof et al., 2003) y genéticos (Hakak et al., 2001) que han informado de disfunción de la mielina, así como de anomalías en el número y la

función de los oligodendrocitos (Vostrikov et al., 2007) que pueden contribuir a la disfunción cognitiva.

Relativamente menos estudios han examinado la relación entre la microestructura de la materia blanca y medidas específicas de la memoria y la función ejecutiva. Mielke et al. (2009) observaron que una menor FA se correspondía con un peor rendimiento en pruebas de memoria (Prueba de Aprendizaje Verbal de California, Escala de Memoria de Wechsler (WMS) Memoria Lógica) y función ejecutiva (Prueba de Trazado de Rutas) en el fórnix y el cíngulo, pero en este estudio no se exploró la difusividad.(Cordero-Grande et al., 2019) .En otro estudio, Serra et al. (2010) también observaron una relación entre la AF en la radiación talámica anterior derecha y el fórnix y el recuerdo de memoria inmediata (Prueba de figuras complejas de Rey) y entre la FA en el cuerpo calloso y el recuerdo de memoria retardada (Prueba de aprendizaje de 15 palabras)(Juránek et al., 2012).

En conclusión, los estudios demuestran que la alteración en la materia blanca en diferentes regiones cerebrales está asociada con defectos en la cognición. El fórnix, un tracto de materia blanca que desempeña un papel crucial en la memoria episódica, disminuye tanto en el envejecimiento normal como en la EA. Los estudios de imágenes de tensor de difusión han revelado que la microestructura de la materia blanca del fórnix se relaciona con la memoria episódica en adultos mayores cognitivamente normales y en aquellos con riesgo de EA. Además, los estudios neuropatológicos confirman la reducción de la densidad de mielina, pero no de la densidad axonal, lo cual indica que contribuye a la rarefacción de la materia blanca

en adultos mayores cognitivamente normales. Se ha sugerido que esta alteración puede ser el resultado de anomalías en la microestructura de la materia blanca o de un aumento del líquido extracelular entre las fibras o las vainas axonales. Asimismo, se ha observado una relación entre la microestructura de la materia blanca y medidas específicas de la memoria y la función ejecutiva. Estos hallazgos respaldan la importancia de la integridad de la materia blanca en la función cognitiva y proporcionan información relevante para comprender los trastornos neurodegenerativos y el deterioro cognitivo asociado.

2.6 Cambios en la estructura y función cerebral durante el envejecimiento fisiológico

El desarrollo de envejecimiento fisiológico integra la alteración de diversos procesos que involucran al sistema nervioso periférico y el sistema nervioso central. Por ejemplo, a nivel central se ha identificado un decremento constante del volumen de la materia gris después de los 20 años (Terry & Katzman, 2001). Se ha comprobado que el volumen del cerebro y/o su peso disminuyen con la edad a un ritmo de alrededor del 5% por década a partir de los 40 años, y que el ritmo real de disminución puede aumentar con la edad, especialmente por encima de los 70. La forma en que esto ocurre no está tan clara. Con frecuencia se afirma que la reducción de la materia gris se debe a la muerte de las células neuronales, pero no está del todo claro si esto es lo único responsable o incluso si es la principal vía afectada (Peters, 2006). Los sistemas del lóbulo temporal medial, como la amígdala

y el hipocampo, se han investigado principalmente en la memoria asociada a las emociones. La amígdala está especializada para el procesamiento de la emoción, mientras que el hipocampo es esencial para la memoria episódica y es una estructura crítica involucrada en la memoria espacial y no espacial (Buzsáki & Moser, 2013). Por lo tanto, la comunicación entre la amígdala y el hipocampo puede servir para la recolección de eventos a voluntad (Zeidman & Maguire, 2016). Aunque se desconocen las causas específicas del decremento de volumen cerebral durante el envejecimiento, se ha propuesto que la muerte de las neuronas ha sido implicada como una posible causa de la pérdida de volumen de materia gris (Harada et al., 2013).

Adicionalmente, el hipocampo ha sido ampliamente investigado en relación con la evaluación de los cambios relacionados con la edad en el cerebro, ya que desempeña un papel crucial en la memoria y el aprendizaje. Se ha demostrado que el hipocampo es vulnerable al envejecimiento y a la neurodegeneración. Se ha observado que la atrofia del hipocampo progresa más rápidamente en pacientes con EA que en adultos sanos. Además, la corteza entorrinal, que sirve como centro de retransmisión entre el hipocampo y las áreas de asociación, presenta cambios estructurales y funcionales durante el envejecimiento. Por ejemplo, se ha reportado una disminución temprana en el volumen y el espesor cortical de la corteza entorrinal en personas mayores. Estos cambios pueden contribuir a dificultades en la orientación espacial, la navegación y el reconocimiento de lugares (Harada et al., 2013). Adicionalmente, la atrofia del sistema límbico también progresa más rápido

que la del cuerpo estriado (0.4% por año para el hipocampo, 0.7% por año para el tálamo y 0.2% por año para el núcleo caudado) (Ota & Shah, 2022).

Durante el envejecimiento fisiológico normal, también se producen cambios en la sustancia blanca del cerebro. La sustancia blanca está compuesta por fibras nerviosas mielinizadas que conectan diferentes regiones del cerebro, permitiendo la transmisión de información entre ellas. Se han observado cambios en la microestructura de las fibras de la sustancia blanca con el envejecimiento. Estos cambios pueden incluir una disminución en la integridad y coherencia de las fibras nerviosas, lo que puede afectar la transmisión de señales entre diferentes regiones cerebrales (Schulz et al., 2022). Uno de los primeros meta-análisis empleando DTI de 41 estudios de región de interés (Sexton et al., 2011) identificó alteraciones generalizadas mediante la FA y MD. Se identificó una FA baja en la sustancia blanca de los lóbulos frontal y temporal, el genu y esplenio del cuerpo calloso, el cíngulo anterior, medio y posterior, el cíngulo parahipocampal, el fascículo uncinado y el fascículo longitudinal superior. Además, se observó una DM elevada en la sustancia blanca de todos los lóbulos cerebrales, el genu y el esplenio del cuerpo calloso, el cíngulo posterior, el fascículo uncinado y el hipocampo. En un metaanálisis más reciente de 13 estudios de TBSS (Tract-Based Spatial Statistics) donde se pueden identificar y comparar diferencias en la microestructura de la sustancia blanca entre diferentes grupos de sujetos o condiciones, se encontró, una FA baja y una DM alta en la EA en comparación con adultos sanos que envejecían, generalmente en las regiones parietal y temporal (Bas-Hoogendam, 2019; Santos et al., 2018).

En general, estos hallazgos destacan los cambios relacionados con la edad en la estructura y función del cerebro, especialmente en áreas implicadas en la memoria y el procesamiento emocional. Se ha observado una disminución constante del volumen de la materia gris, particularmente en regiones como el hipocampo y la corteza entorrinal, que desempeñan un papel crucial en la memoria y el aprendizaje. Estas regiones pueden experimentar atrofia más rápida en casos de EA. Sin embargo, es importante tener en cuenta que el envejecimiento fisiológico normal es un proceso complejo y heterogéneo, y las características individuales pueden variar.

2.7 Contribuciones metabólicas en el desarrollo de deterioro cognitivo

El deterioro cognitivo resulta de una interacción compleja de varios factores. El predictor independiente más importante del deterioro cognitivo es la edad, pero otros factores contribuyentes incluyen parámetros demográficos, genéticos, socioeconómicos y ambientales, incluida la nutrición. Existe amplia evidencia que respalda una relación entre la dieta y las funciones cognitivas (Dominguez & Barbagallo, 2018). Por lo tanto, los enfoques nutricionales para prevenir o retrasar el deterioro cognitivo podrían tener un notable impacto en la salud pública.

La sociedad actual muestra que un gran porcentaje de sujetos exhiben un balance positivo de energía, que se presenta en la obesidad. La accesibilidad a alimentos abundantes y ricos en calorías, junto con un estilo de vida sedentario, han contribuido, paradójicamente, al aumento de la esperanza de vida en el siglo

pasado. La ingesta de alimentos con alto contenido energético y el sedentarismo han llevado a la aparición de enfermedades crónicas no transmisibles, incluidas la obesidad y el sobrepeso (Sepúlveda & Murray, 2014). Una revisión sistemática de 28 estudios longitudinales realizados entre 2003 y 2013 con un seguimiento de 5-40 años mostró un mayor riesgo de demencia de inicio tardío en participantes con sobrepeso y obesidad en la mediana edad (40 a los 65) (riesgo de hasta 2,44 veces) (Emmerzaal et al., 2015). Los datos de cohortes humanas indican que la obesidad se asocia linealmente con la aparición de deterioro cognitivo y aumenta el riesgo de enfermedad neurodegenerativa al exacerbar la lesión cerebral y acelerar el envejecimiento cerebral (Farruggia & Small, 2019). Además, cada vez hay más evidencia de que la dieta habitual, independientemente del aumento de peso y la obesidad, también está asociada con el rendimiento cognitivo y el deterioro cognitivo relacionado con la edad (Leigh & Morris, 2020). El mecanismo detrás de esta asociación aún no se ha aclarado, pero se han sugerido varios posibles mediadores. El sobrepeso y las consecuencias vasculares relacionadas con la obesidad, es decir, hipertensión, dislipidemia aterogénica y/o diabetes, también son factores de riesgo para la demencia (De La Torre, 2013). Sin embargo, la mayoría de los análisis en los estudios tienen en cuenta estos posibles factores de confusión. Se han encontrado altos niveles de proteínas amiloides en plasma en personas obesas (Jahangiri et al., 2013). Un estudio longitudinal mostró que tener sobrepeso u obesidad en la mediana edad se asoció con una integridad de la barrera hematoencefálica (BBB) más baja casi 25 años después (Dominguez & Barbagallo, 2018; Gustafson et al., 2007).

Un balance positivo de energía que se presenta en la obesidad también se asocia con alteraciones cerebrales a nivel de estructura. Por ejemplo, los estudios de imágenes cerebrales sugieren que la obesidad está asociada con la atrofia neural. Por ejemplo, individuos obesos presentan disminución del volumen cerebral, independientemente de la edad y la morbilidad (Verstynen et al., 2012; Ward et al., 2005), mientras que otros reportan atrofia de la materia gris en las cortezas temporal, frontal y occipital, hipocampo, tálamo y mesencéfalo, e integridad reducida de la materia blanca en todo el cerebro (Gunstad et al., 2008; Shefer et al., 2013).

El procesamiento deficiente de las elecciones intertemporales puede contribuir a decisiones dietéticas deficientes en personas obesas (por ejemplo, una mayor sensibilidad a la recompensa inmediata de consumir alimentos altamente apetecibles e hipercalóricos, mientras se minimizan las consecuencias negativas para la salud y el metabolismo a largo plazo). Este procesamiento de toma de decisiones subóptimo puede considerarse un factor de riesgo significativo en un entorno obesogénico en el que el control consciente de la ingesta de energía es fundamental para mantener un peso corporal saludable (Dye et al., 2017).

2.8 Inflamación metabólica crónica y su efecto en la función cerebral y cognición

Durante la obesidad, se desarrolla un estado de inflamación crónica de bajo grado que afecta a diversos sistemas celulares y tejidos, incluido el cerebro. La inflamación metabólica o metainflamación se caracteriza por la producción de citoquinas y lípidos inflamatorios, involucrando tanto al sistema inmunitario innato como al adaptativo (Bilbo & Tsang, 2010). En el contexto de la obesidad, se observa inflamación en diferentes áreas del cerebro, incluido el hipotálamo, que muestra un aumento en la expresión de genes inflamatorios y gliosis. Se ha descubierto que la inflamación hipotalámica ocurre antes de la inflamación del tejido adiposo, lo que sugiere que la señalización inflamatoria en el hipotálamo contribuye al desarrollo del fenotipo obeso y no es simplemente una consecuencia de la inflamación periférica. Además, la acumulación y activación de macrófagos en el tejido adiposo durante la obesidad también contribuye a mantener un estado crónico de inflamación de bajo grado a través de la liberación de citocinas proinflamatorias.

La inflamación ha sido implicada en trastornos del comportamiento, ya que se ha observado un aumento de citocinas inflamatorias en pacientes con trastornos del comportamiento y un vínculo entre la dieta alta en grasas y el comportamiento depresivo en modelos animales. Los pacientes que presentan trastornos del comportamiento muestran niveles plasmáticos elevados de citocinas como TNF- α , IL-6 e IL-1 β , así como un aumento de la expresión de marcadores inflamatorios en las células sanguíneas (Mechawar & Savitz, 2016). De hecho, el aumento del consumo de dieta alta en grasas se relaciona con el comportamiento depresivo y los trastornos emocionales en ratones (Arcego et al., 2018; Wang et al., 2017).

En resumen, la obesidad está asociada con un estado de inflamación crónica de bajo grado que afecta múltiples sistemas celulares y tejidos, incluido el cerebro. La inflamación en el hipotálamo y en el tejido adiposo contribuye a mantener este estado inflamatorio, y se ha relacionado con trastornos del comportamiento y disfunción cerebral.

2.9 Neuroinflamación durante el envejecimiento y deterioro cognitivo

Similar a lo que ocurre durante el desarrollo de un fenotipo obeso, el envejecimiento se asocia con un perfil proinflamatorio de bajo grado, que afecta especialmente al cerebro. La acumulación de citocinas proinflamatorias, como la IL-1 β , en regiones cerebrales clave como el hipocampo, puede deteriorar la memoria en animales jóvenes (Jurgens et al., 2012). Además, se ha observado que los desafíos periféricos, como infecciones o lesiones traumáticas, generan una mayor neuroinflamación en ratas ancianas en comparación con ratas jóvenes. En ratones de edad avanzada, se ha demostrado que la inyección periférica del lipopolisacárido (LPS), un componente bacteriano, produce elevaciones exageradas y prolongadas de las citocinas IL-1 β e IL-6 en el cerebro, específicamente en el hipocampo (Corona et al., 2012; Godbout et al., 2005). Esto sugiere que existe un mecanismo central que potencia la respuesta neuroinflamatoria en animales ancianos. El hipocampo tiene receptores de IL-1 altamente expresados y una densa población de microglía, lo que lo hace especialmente susceptible a la inflamación (Yang et al., 2013). Además, la proximidad del hipocampo a los ventrículos laterales y los órganos circunventriculares, que carecen de una barrera hematoencefálica normal,

contribuye a su mayor sensibilidad a la inflamación (Barrientos et al., 2015; Katsuura et al., 1990; Pitossi et al., 1997).

Como se mencionó, el hipocampo es fundamental para el aprendizaje contextual y espacial y la conciencia, la navegación y los recuerdos episódicos. Este es especialmente sensible a citocinas proinflamatorias como la IL-1 β , cuando se elevan por encima de los niveles basales en el hipocampo, deterioran la memoria dependiente del hipocampo. La elevación de IL-1 β en el hipocampo interfiere con la LTP, un proceso fundamental para el aprendizaje y la memoria (Bliss & Collingridge, 1993). La LTP es el fortalecimiento persistente de las sinapsis en respuesta a la actividad neuronal, y su bloqueo por IL-1 β ha sido demostrado tanto *in vitro* como *in vivo*. La administración de un antagonista del receptor de IL-1 en ratas ancianas previene el déficit de LTP inducido por infección periférica, lo que sugiere una relación causal entre el aumento de IL-1 β y las alteraciones en la plasticidad sináptica.

Aunque los mecanismos celulares precisos por los cuales IL-1 β interfiere con la LTP no están completamente comprendidos, se ha establecido una conexión entre los aumentos de IL-1 β y las alteraciones en la función sináptica y la memoria (Chapman et al., 2010). Estos hallazgos resaltan la importancia de la inflamación en el deterioro cognitivo asociado al envejecimiento y proporcionan un punto de partida para investigaciones futuras sobre los mecanismos moleculares involucrados.

En resumen, el envejecimiento se caracteriza por un perfil proinflamatorio que afecta al cerebro, especialmente al hipocampo. Las citocinas proinflamatorias, como la IL-1 β , pueden deteriorar la memoria y la plasticidad sináptica en el hipocampo. Comprender los mecanismos subyacentes a esta interacción entre la inflamación y la función cerebral es crucial para el desarrollo de estrategias terapéuticas que aborden el deterioro cognitivo asociado al envejecimiento.

2.10 Programación metabólica por nutrientes, inflamación y su efecto potencial en el deterioro cognitivo

La programación fetal por ingesta de alimento calórico o la presencia de obesidad materna incrementan la susceptibilidad en la descendencia de desarrollar alteraciones metabólicas y de comportamiento en etapas tempranas de la vida (Tabachnik et al., 2017). La obesidad en el embarazo es un problema creciente de salud pública ya que su presencia se asocia con una serie de efectos adversos para la madre y el feto, incluida diabetes gestacional, preeclampsia, e inclusive muerte intrauterina (Bilbo & Tsang, 2010; Cedergren, 2004). Nuestro grupo de investigación y algunos otros, ha demostrado que los efectos negativos de la presencia de obesidad materna en la descendencia se presentan inclusive a nivel del sistema nervioso central y pueden permanecer a largo plazo y estar presentes hasta la segunda generación (Camacho, 2017; Maldonado-Ruiz et al., 2019; Segovia et al., 2014).

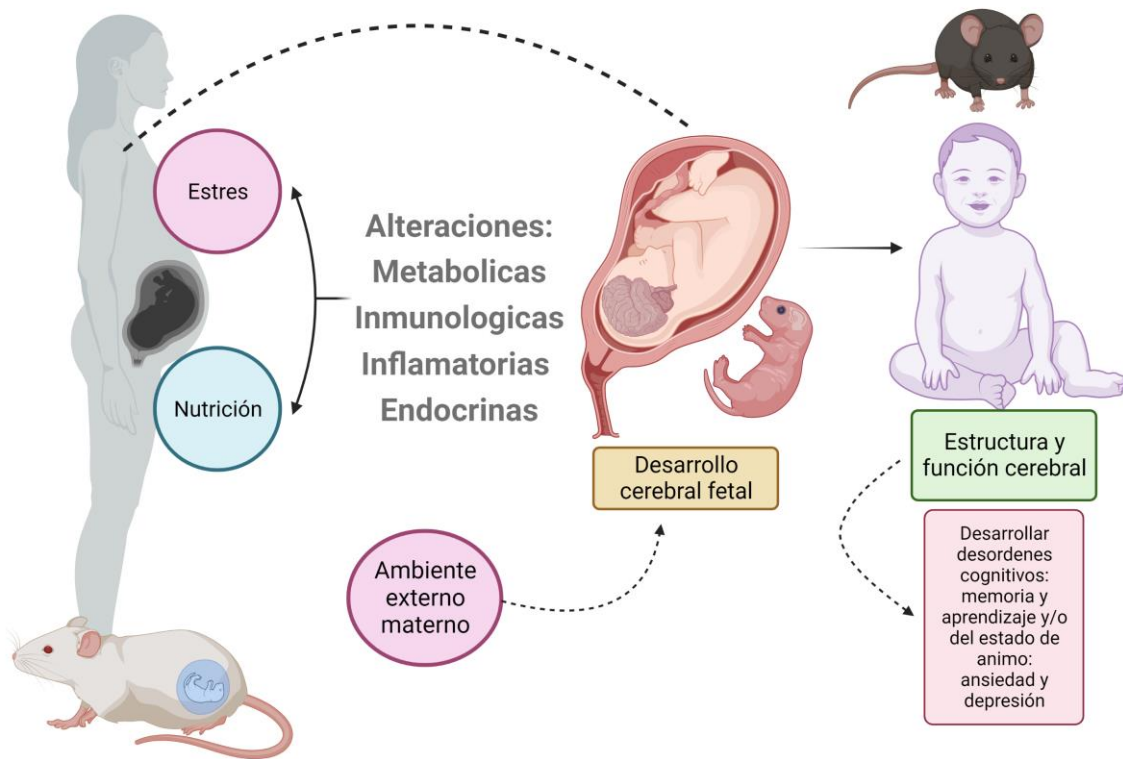


Figura 4. Efectos interactivos de la nutrición prenatal y el estrés en la programación fetal del cerebro de la descendencia y los resultados del desarrollo neurológico. La exposición prenatal al estrés y la deficiencia de nutrientes pueden afectar negativamente el desarrollo cerebral del feto, aumentando el riesgo de trastornos neurológicos en la descendencia. Estos efectos interactivos pueden ser mediados por mecanismos como la absorción de nutrientes, respuestas inflamatorias y cambios genéticos. Es crucial promover una nutrición adecuada y reducir el estrés durante el embarazo para garantizar un desarrollo cerebral saludable y minimizar los riesgos neurológicos en la descendencia.

La dieta alta en calorías es un término general aplicado a varios patrones dietéticos que contienen grandes cantidades de calorías provenientes de proteínas enriquecidas, carbohidratos, grasas o alguna combinación de estos

macronutrientes. Trabajos previos en roedores han demostrado que estas dietas pueden provocar deterioro cognitivo y cambios estructurales en el sistema nervioso central (Ferreira et al., 2018). Es ampliamente aceptado que el consumo de una dieta alta en grasa y la obesidad conducen a la inflamación crónica inducida por la obesidad en varios tejidos, incluido el cerebro (Pistell et al., 2010). Cada vez hay más pruebas que respaldan el papel importante del entorno intrauterino en la conformación del desarrollo fetal y la salud infantil y el riesgo de enfermedad posterior al nacimiento.

El cerebro fetal es particularmente plástico, por lo que incluso los cambios sutiles en la estructura y función producidos por las condiciones en el útero pueden tener implicaciones a largo plazo. Estudios han demostrado que la obesidad materna puede programar la inflamación en el cerebro de la descendencia a largo plazo (Bilbo & Tsang, 2010; McNaull et al., 2010; Shaftel et al., 2008). Además, se ha observado que la obesidad materna se correlaciona con la inflamación en el hipotálamo y puede estar presente en el cerebro de la descendencia expuesta a una dieta alta en calorías (Czeh et al., 2011).

En este contexto, se plantea que la microglía, células inmunes del cerebro, se infiltran durante la gestación temprana y desempeñan un papel crucial en la regulación de la neuroinmunidad y el desarrollo de las sinapsis (Hoeffel & Ginhoux, 2018). Sin embargo, las alteraciones inflamatorias durante el desarrollo cerebral pueden llevar a que las células microgliales cambien de funciones fisiológicas a patológicas, tanto de forma aguda como persistente (Paolicelli & Ferretti, 2017).

Estudios han demostrado que los descendientes de madres expuestas a una dieta rica en grasas trans durante el embarazo y la lactancia muestran una mayor actividad inmune basal y un aumento de la microglía activa en la edad adulta. Estos cambios se acompañan de una respuesta exagerada de la interleucina-1 β (IL-1 β), un marcador de la activación microglial, al estímulo del LPS (Bilbo & Schwarz, 2009; Bolton & Bilbo, 2014; Hoeijmakers et al., 2015).

En el hipocampo, se sabe que un aumento de citocinas aumenta el número de células microgliales en el CA1, al mismo tiempo que reduce las arborizaciones dendríticas y la complejidad neuronal. De manera similar, en el CA3 y el DG del hipocampo, la densidad de la microglía aumenta después de la exposición a las citocinas (Murmu et al., 2006). Además, las citoquinas pueden disminuir el volumen total del hipocampo, la neurogénesis y las conexiones sinápticas (Schepanski et al. 2018).

En resumen, la obesidad materna durante el embarazo puede programar la inflamación en el cerebro de la descendencia, especialmente en el hipocampo. La microglía juega un papel importante en la regulación de la neuroinmunidad y el desarrollo sináptico, pero las alteraciones inflamatorias pueden conducir a cambios patológicos en las células microgliales. Estos hallazgos destacan la importancia de comprender los efectos de la obesidad materna en el desarrollo cerebral y la función cognitiva de la descendencia.

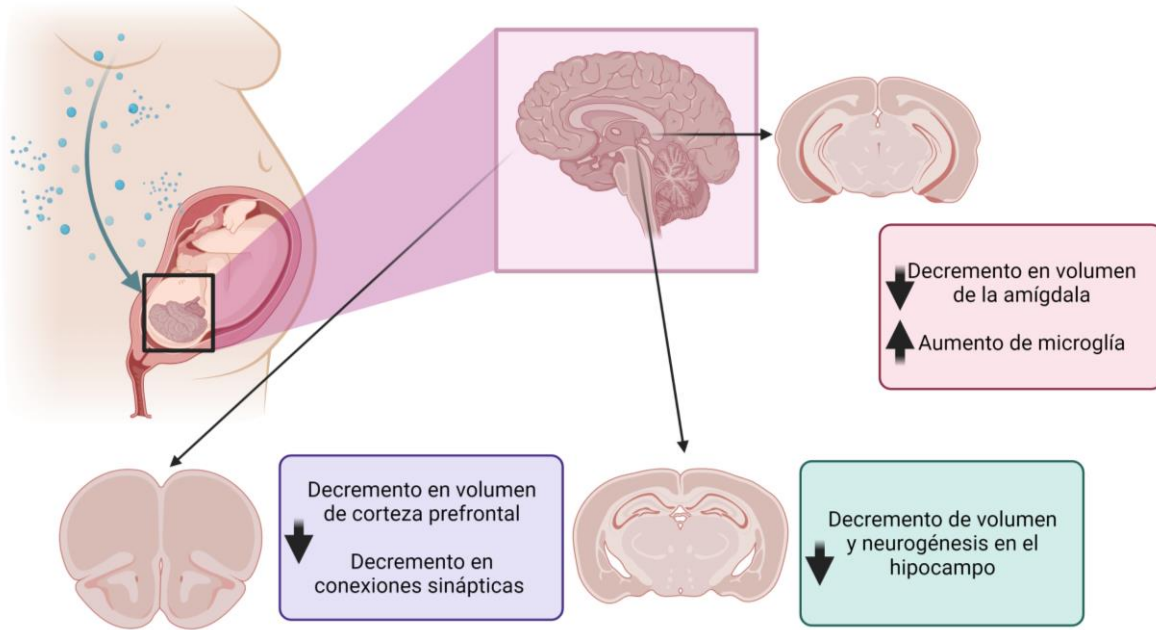


Figura 5. Las citocinas maternas pueden cruzar de forma transplacentaria al feto y afectar de manera diferencial el desarrollo cerebral de la descendencia al interferir, por ejemplo, con la diferenciación celular, el crecimiento axonal y la conectividad sináptica. Las regiones del cerebro representadas aquí son de importancia fundamental para la salud mental debido a su participación en las funciones cognitivas.

A pesar de la evidencia experimental que justifica la presencia de la activación de la microglía durante la programación fetal por nutrientes o bien durante la presencia de obesidad materna, no existen datos experimentales que demuestren que, en estos escenarios, se promueve el desarrollo de deterioro cognitivo en la descendencia. Con ello, se propone que durante la obesidad o sobrealimentación materna se modula positivamente la expresión de un perfil de inflamación cerebral que impacta negativamente en los mecanismos neurobiológicos de la memoria y aprendizaje.

Dado que algunos de los estudios observacionales resumidos anteriormente resaltan que el momento en que ocurren los desafíos prenatales puede ser crucial para desencadenar cambios en el neurodesarrollo fetal, a continuación, se describirán brevemente los aspectos clave del desarrollo cerebral fetal durante la gestación de humano y roedor.

El desarrollo cerebral en humanos y ratones sigue procesos similares. Sin embargo, existen diferencias específicas según el sexo, ya que las hembras tienen una maduración cerebral más rápida, lo que deja a los machos en mayor riesgo de interrupciones en el desarrollo (Robb et al., 2017). En ratones, el desarrollo cerebral continúa después del nacimiento, lo que reduce la ventana de tiempo en la que los mediadores biológicos maternos pueden afectar el cerebro de la descendencia (Schepanski et al., 2018).

En ambos roedores y humanos, el desarrollo cerebral comienza con la neurulación, que forma el tubo neural y permite la producción posterior de neuronas a partir de células madre neurales, conocido como neurogénesis. En las etapas tempranas del desarrollo humano, alrededor de la semana 4 de gestación, el tubo neural comienza a formarse en diferentes regiones (Knuesel et al., 2014). El cerebro se desarrolla rápidamente y cubre la mayoría del cerebro, excepto el cerebelo y el bulbo raquídeo, antes de la semana 11. Durante el segundo trimestre del embarazo, se establece la conectividad cerebral a través de la sinaptogénesis, gliogénesis y apoptosis, junto con la invasión de células microgliales. A mediados del tercer trimestre, comienza el ajuste fino de la conectividad neuronal con la proliferación de vainas de mielina en las neuronas del sistema nervioso central. Después del nacimiento, las

conexiones neuronales previamente establecidas se reducen según la actividad neuronal(Ginhoux et al., 2010).

En ratones, el desarrollo neural comienza a mediados del embarazo, seguido de la neurulación y la formación del tubo neural. La producción de neuronas, su migración y la formación de sinapsis ocurren casi simultáneamente. Además, las células microgliales derivadas del saco vitelino invaden el feto a partir del día 9 del embarazo. Dado que la gestación de los ratones es mucho más corta que la de los humanos, algunos procesos del desarrollo continúan después del nacimiento en los ratones(Knuesel et al., 2014).

En resumen, el desarrollo cerebral en humanos y ratones sigue procesos similares, pero con diferencias según el sexo y el tiempo de desarrollo. El estudio de los marcadores maternos en el desarrollo fetal de ratones debe centrarse en hitos completados antes del nacimiento, mientras que, en humanos, el desarrollo cerebral progresa rápidamente durante el embarazo, con varios procesos que definen la conectividad cerebral y la invasión de células microgliales.

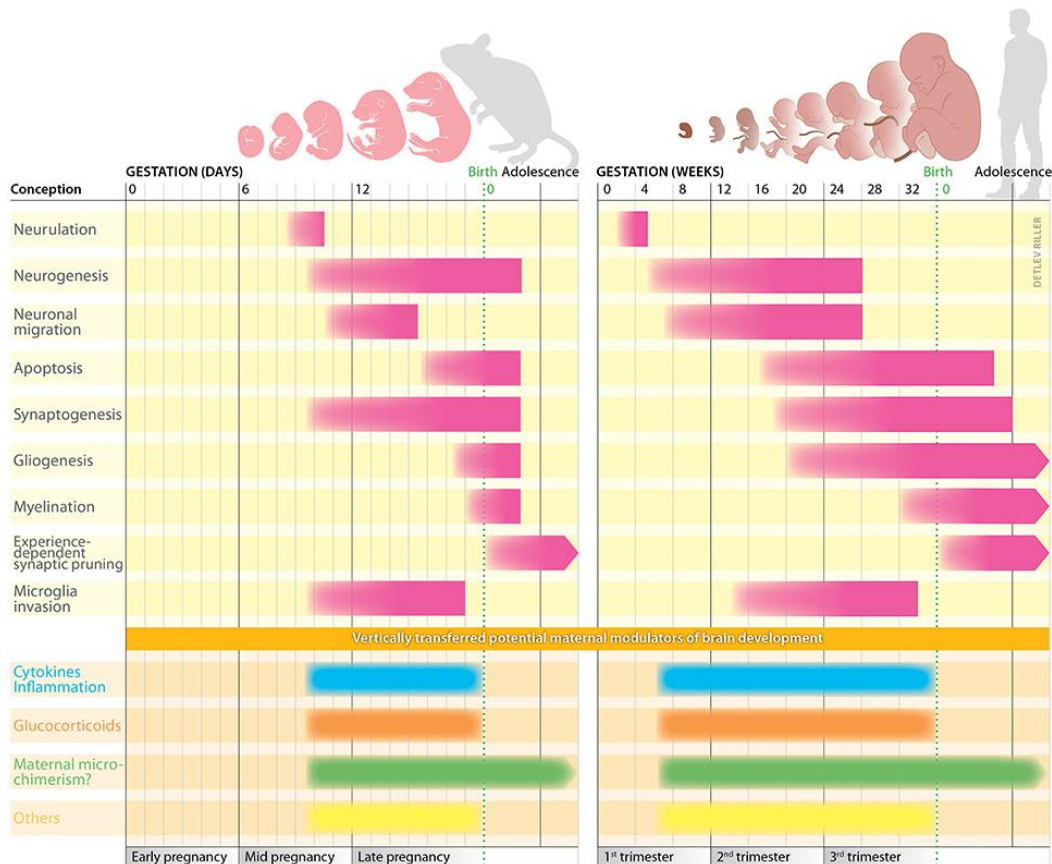


Figura 6. Hitos del desarrollo cerebral en ratones y humanos. Los hitos del desarrollo que subyacen al desarrollo del cerebro en ratones y humanos son muy susceptibles a los desafíos y pueden ser modulados por marcadores maternos transferidos verticalmente durante el embarazo. Por lo tanto, el momento y la intensidad de los desafíos determinan claramente el impacto y el daño que pueden causar (Schepanski et al. 2018).

La programación fetal causada por una dieta alta en grasas durante el embarazo puede tener efectos negativos en el desarrollo cognitivo y la neuroinflamación en la descendencia (Fuentes et al., 2012). La exposición prenatal a una dieta alta en grasas está asociada con déficits en tareas de aprendizaje y memoria en animales (Liu et al., 2021; Sarker & Peleg-Raibstein, 2019). Estos

efectos pueden ser resultado de la interrupción de la señalización de la insulina y la resistencia a la insulina en el cerebro de la descendencia, lo cual afecta la función neuronal y los procesos cognitivos (Camer et al., 2015; Jiang et al., 2013).

Algunos informes documentaron que las crías expuestas a dietas de alto contenido energético desarrollaron anomalías conductuales dependientes del hipocampo que codifican defectos en el aprendizaje espacial y el rendimiento de la memoria durante las pruebas de Morris con agua y el laberinto de Barnes (Miller y Spencer, 2014; Peleg-Raibstein, 2021). De hecho, en un modelo murino de obesidad inducida por dieta, los descendientes machos de padres obesos mostraron un rendimiento de aprendizaje defectuoso (Gerstein et al., 2013). En consecuencia, las variaciones en el consumo de energía durante las etapas prenatales alteran la función del hipocampo y el rendimiento del procesamiento cognitivo, el aprendizaje y la memoria (Gerstein et al., 2013). Sin embargo, estudios previos documentaron resultados mixtos que no mostraban ninguna influencia de las dietas prenatales en el rendimiento cognitivo, mientras que otros investigadores documentaron un rendimiento cognitivo mejorado o empeorado (Bilbo y Tsang, 2010; Page et al., 2014; Robb et al., 2017). Esta evidencia sugiere el efecto perjudicial de las dietas altas en energía durante la programación prenatal en la modulación del rendimiento cognitivo positivo o negativo en la descendencia, potencialmente afectando a la función dependiente del hipocampo (Jacka et al., 2015).

ANTECEDENTES DIRECTOS

El efecto de la exposición prenatal a dietas hiperenergéticas sobre el comportamiento está empezando a descifrarse. Hemos informado de que la exposición prenatal a la dieta de cafetería (una fórmula dietética de alto contenido energético) promovía alteraciones cerebrales estructurales, incluida la reducción del volumen en el NAc, el hipocampo y el córtex prefrontal (Trujillo-Villarreal et al., 2021). En particular, las alteraciones cerebrales estructurales se asociaron positivamente con comportamientos patológicos en la descendencia, como comportamientos similares al autismo y la depresión (Maldonado-Ruiz et al., 2022; Trujillo-Villarreal et al., 2021). Aunque todavía se está investigando, un balance energético positivo como el que se produce durante la obesidad o la exposición prenatal a dietas hiperenergéticas también es capaz de promover anomalías cerebrales estructurales en bebés y en individuos adultos (Verstynen et al., 2012; Ward et al., 2005). Por ejemplo, los individuos obesos experimentaron una disminución del volumen cerebral total, independientemente de la edad y la morbilidad (Verstynen et al., 2012; Ward et al., 2005). Asimismo, en los individuos humanos obesos se observó una atrofia de la materia gris en las cortezas temporal, frontal y occipital, y una reducción de la integridad de la materia blanca en el cerebro (Gunstad et al., 2008; Shefer et al., 2013). De hecho, un aumento del índice de masa corporal durante las etapas previas al embarazo o durante la gestación altera la microestructura de la sustancia blanca en el cerebro del niño (Hasebe et al., 2021; Norr et al., 2021; Verdejo-Román et al., 2019) o predispone a una disminución del volumen en el hipocampo izquierdo en la edad adulta (Jacka et al., 2015),

respectivamente. Sin embargo, no se ha documentado la contribución de la exposición prenatal a dietas hiperenergéticas sobre la conformación estructural del cerebro y la codificación de la actividad para el comportamiento aberrante después del nacimiento.

En conclusión, la programación fetal causada por una dieta alta en grasas durante el embarazo puede tener efectos negativos en el desarrollo cognitivo y la neuroinflamación en la descendencia. Estudios han demostrado que la exposición prenatal a una dieta alta en grasas está asociada con déficits en tareas de aprendizaje y memoria en animales. Además, se ha observado que esta dieta induce la inflamación crónica en el cerebro de los descendientes, lo cual puede contribuir a un rendimiento cognitivo disminuido. Además, se ha sugerido que las modificaciones epigenéticas pueden mediar los efectos a largo plazo de la dieta alta en grasas durante la programación fetal. Estos cambios epigenéticos pueden alterar los patrones de expresión génica y afectar el desarrollo y funcionamiento del cerebro. Estudios han demostrado que la exposición prenatal a una dieta alta en grasas puede inducir modificaciones epigenéticas en el cerebro de la descendencia, lo cual resulta en alteraciones en la expresión génica y déficits cognitivos (Cheray & Joseph, 2018; Etchegaray & Mostoslavsky, 2016; Yan & Yang, 2014).

En resumen, la exposición prenatal a una dieta alta en grasas puede llevar a déficits cognitivos y neuroinflamación en la descendencia. Estos hallazgos resaltan la importancia de promover una alimentación saludable durante el embarazo para reducir el riesgo de déficits cognitivos en la descendencia. Sin embargo, se necesita más investigación para comprender los mecanismos precisos de la programación

fetal causada por una dieta alta en grasas y desarrollar intervenciones que puedan mitigar estos resultados adversos.

3. JUSTIFICACIÓN

La programación fetal por nutrientes favorece alteraciones metabólicas, inmunes y conductuales en la descendencia. La sobrenutrición se ha relacionado con cambios en el volumen y la conectividad cerebral, lo que puede aumentar el riesgo de deterioro cognitivo y trastornos emocionales. A la fecha, se desconocen los efectos de la programación fetal en las alteraciones de la estructura, que afecten tempranamente las capacidades de memoria y aprendizaje.

En este trabajo empleamos un modelo murino para identificar el efecto de la exposición materna a dieta con alto contenido energético en la estructura de regiones cerebrales de la descendencia implicadas en la memoria y el aprendizaje. Para ello, empleamos un enfoque experimental utilizando ratones como modelo animal, lo que permite una mejor comprensión de los posibles mecanismos biológicos involucrados en los efectos observados. Los resultados obtenidos pueden proporcionar información importante y relevante para futuras investigaciones y para la aplicación de estrategias de intervención en la salud prenatal.

4. HIPÓTESIS

La programación materna con dieta con alto contenido energético favorece tempranamente en la descendencia F1 macho de madres expuestas a dietas hipercalóricas, cambios en la estructura cerebral de regiones implicadas en la memoria y el aprendizaje.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo General:

Identificar el efecto de la programación nutricional materna en la estructura de regiones cerebrales de la descendencia implicadas en la memoria y el aprendizaje

5.2 Objetivos Específicos:

1. Determinar el efecto de la exposición materna a dieta calórica en la memoria y el aprendizaje a corto y largo plazo de la descendencia
2. Identificar las alteraciones macroestructurales en regiones cerebrales implicadas en la memoria y el aprendizaje de la descendencia
3. Identificar las alteraciones microestructurales en regiones cerebrales implicadas en la memoria y el aprendizaje de la descendencia
4. Realizar modelos de asociación entre la conducta y los cambios en estructura cerebral

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.2 Estrategia Experimental:

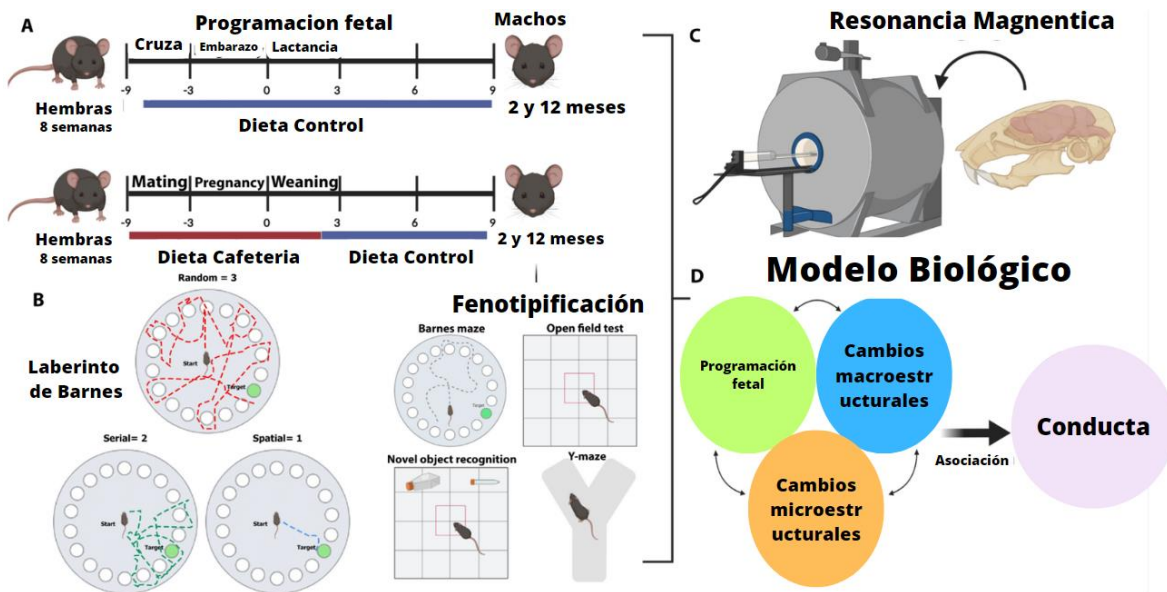


Figura 7. Modelo de programación prenatal y fenotipado conductual. A) Para la programación prenatal, las hembras C57BL6 fueron alimentadas con dietas chow o CAF durante 9 semanas (antes del embarazo, embarazo y lactancia) las crías fueron alimentadas con dieta chow después del destete en el día postnatal 21. B) A los 2 y 12 meses de edad, los ratones macho se expusieron a un protocolo de pruebas de comportamiento que incluyó: alternancia forzada, alternancia espontánea (laberinto en Y), laberinto de Barnes, NORT y prueba de campo abierto. Se muestran las estrategias de búsqueda empleadas por los ratones en el laberinto de Barnes, ordenadas desde altamente espacial (abajo a la derecha) hasta no espacial (arriba): búsqueda espacial, búsqueda en serie y búsqueda aleatoria y cada puntuación dada. C) Se realizó una RM para analizar las alteraciones cerebrales macroestructurales (morfometría basada en deformación, DBM) y microestructurales (imágenes de tensor de difusión, DTI) en la descendencia. D) Se realizó

un modelo biológico que integra el efecto de la exposición a la dieta prenatal, las métricas DBM y DTI que predicen los resultados del comportamiento.

5.3 Metodología

Se emplearon 10 ratones hembra de la cepa C56BL/6 de una edad aproximada de 8-10 semanas y de un peso de 30 g las cuales se cruzaron para obtener un total de 48 ratones machos. Los modelos fueron manejados en el laboratorio de Neurometabolismo y Bioterio del CIDICS de acuerdo con la NOM-062-ZOO-1999. Los ejemplares se mantuvieron en cajas individuales a temperatura de 20-23°C y con un ciclo de luz/oscuridad de 12h. Con disponibilidad de agua y alimento acorde al experimento.

Programación fetal:

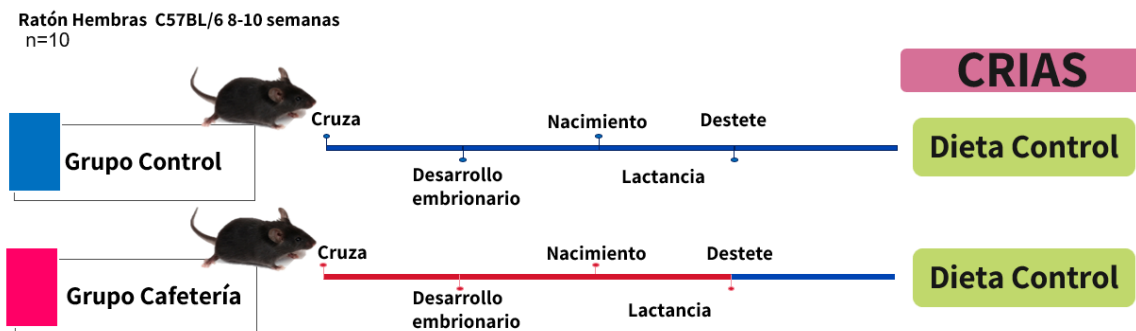


Figura 8. Grupos experimentales evaluados. Grupo 1 hembras con dieta control durante las 9 semanas, Grupo 2 hembras con dieta de cafetería por 9 semanas. Las 9 semanas incluyen 3 semanas antes de la cruza, el desarrollo embrionario y hasta el destete. Las crías solo fueron expuestas a dieta control.

○ **Dieta Hipercalórica:**

Para la dieta hipercalórica se realizó una mezcla de los siguientes componentes

Dieta de cafetería
Galletas Marías
Papitas "Sabritas Original"
Chocolate líquido Hershey's
Tocino Fud
Pate de cerdo Zwan
Polvo de pellets de comida estándar

La cual contiene 372 kcal/100 g distribuidas en 39% carbohidratos, 49% lípidos y 12% proteínas.

Ambas dietas se administraron por 9 semanas como se indicó en la figura. Diariamente se alimentó a los ratones con el equivalente al 10% del peso corporal. El peso se registró al momento de la eutanasia.

Batería de pruebas conductuales:

La batería de pruebas conductuales se realizó en los descendientes ratones macho expuestos a la dieta control y cafetería, respectivamente, y ambos fueron expuestos a cuatro pruebas de memoria en el siguiente orden: Campo abierto,

NORT, Alternancia forzada del laberinto Y, laberinto de Barnes y alternancia espontánea del laberinto Y. Se siguió un orden específico para llevar a cabo las pruebas para que los ratones pudieran tener varios días de descanso entre las tareas y para evitar los efectos de arrastre de las pruebas siguientes. Se colocaron señales visuales en las paredes del área de pruebas para todas las pruebas, excepto la NORT. Todos los ratones se habituaron a la sala de pruebas durante 1 hora antes de cada día de prueba. Todas las pruebas conductuales fueron realizadas por el mismo experimentador para evitar el estrés adicional de los animales; el experimentador no conocía los grupos. Durante los ensayos, los ratones no podían ver al experimentador, ya que estaban separados por una pared. Además, para evitar cualquier estrés metabólico en los ratones, omitimos las pruebas que implicaban la restricción de alimentos (Wolf et al., 2016)

1.Campo abierto:

Los sujetos fueron sometidos a la prueba de campo abierto descrita por nuestro grupo (Maldonado-Ruiz et al., 2022). La cámara de campo abierto es una arena cuadrada de policarbonato transparente de 50 × 50 × 50 cm. Las crías (ratones macho y hembra) se sujetaron por la base de la cola y se colocaron en una de las cuatro esquinas de la arena de campo abierto. Se les dejó explorar la arena durante 5 minutos. Tras los 5 minutos de prueba, se devolvía a los ratones a sus jaulas y se limpió la zona de campo abierto con alcohol etílico al 70%. La actividad se grabó en video durante 5 minutos con un sistema automático de sensores de movimiento (OMNIALVA, Inc). Se cuantificó la distancia total recorrida, el porcentaje de inactividad, el tiempo pasado en el centro y en los bordes de la arena.

Las variables de comportamiento durante la prueba de campo abierto incluyeron: 1. Duración del tiempo que los ratones cruzaron una de las líneas rojas con las cuatro patas hacia el cuadrado central. 2. Duración del tiempo que los ratones pasaron en los bordes de la arena. 3. Duración de la inmovilidad de los ratones.

2.Prueba de reconocimiento de objeto novedoso (NORT)

La prueba NORT se llevó a cabo como se ha descrito anteriormente (Bevins y Besheer, 2006). Se utilizaron arenas cuadradas idénticas (40 × 40 cm) rodeadas de paredes (35 cm de altura). En resumen, la prueba se realizó como un programa de tres pasos que consistía en una fase de habituación de 15 minutos en la que el ratón exploraba libremente la caja vacía, un paso de familiarización que consistía en colocar los dos objetos idénticos en el campo abierto y, por último, la prueba de reconocimiento en la que se colocaban los dos objetos familiares, uno con la copia por triplicado (para garantizar que no hay señales olfativas residuales en el objeto utilizado anteriormente) y el otro por un objeto novedoso. Después de cada ensayo, los objetos y las cajas se limpiaron con etanol al 70% para eliminar las pistas olfativas. El tiempo de exploración del objeto nuevo se midió en segundos; los ratones con menos de 7 s de interacción total con el objeto en cualquiera de los ensayos se excluyeron del análisis (Kalueff et al., 2006). El tiempo de exploración de los objetos se midió como sigue:

Interacción con el objeto [%] para el objeto familiar se calculó como $(\text{interacción con el objeto familiar} \times 100) / (\text{interacción con el objeto familiar} + \text{interacción con el objeto novedoso})$ e interacción con el objeto [%] para el objeto novedoso se calculó como

(interacción con el objeto novedoso \times 100) / (interacción con el objeto familiar + interacción con el objeto novedoso).

3.Laberinto en Y

Alternancia forzada. Se realizó la prueba utilizando un laberinto en Y simétrico, cada brazo tenía 35 cm de largo, 5 cm de ancho y 10 cm de alto, y la pared al final de cada brazo estaba marcada con una señal visual diferente. Seguimos el protocolo reportado por Andrea Wolf y colaboradores (Wolf et al., 2016) con ligeras modificaciones. En resumen, la prueba consistió en un ensayo de muestra de 15 minutos (T1) seguido de un ensayo de recuperación de 15 minutos (T2). En T1, el ratón se colocó en el extremo del brazo de inicio, de cara a la pared y alejado del centro. A continuación, se permitía al ratón explorar dos brazos del laberinto en Y, mientras que la entrada al tercer brazo estaba bloqueada por una barrera. Tras el ensayo de muestra, se devolvió al ratón a su jaula de origen durante un intervalo de 30 minutos entre ensayos. En T2, se retiró la barrera del brazo 3, se volvió a colocar al ratón en el brazo inicial y se le permitió acceder a los tres brazos del laberinto. Después de cada animal y entre T1 y T2, se limpió el laberinto con etanol al 70% para evitar las señales de olor. El tiempo en el brazo nuevo (segundos) se contabilizó según el número de segundos que el ratón pasaba explorando el brazo nuevo.

Alternancia espontánea. Utilizando el laberinto en Y descrito anteriormente, cada brazo se designó como "A", "B" y "C". Se colocó al ratón en un brazo del laberinto en Y, mirando hacia el centro, y se le permitió explorar los brazos del

laberinto en Y. Una entrada en un brazo se produce cuando todas las 4 patas del ratón han entrado en el laberinto. Se produce una entrada en el brazo cuando las 4 patas del ratón cruzan el umbral de la zona central y entran en el brazo y el hocico del animal se orienta hacia el extremo del brazo. Se produce una alternancia espontánea cuando un ratón entra en un brazo diferente del laberinto en cada una de 3 entradas de brazo consecutivas (Miedel et al., 2017). El porcentaje de alternancia espontánea se calcula con la siguiente fórmula:

$$\text{Alternancia espontanea \%} = \frac{\# \text{ Alternancia espontanea}}{\text{numero total de entradas} - 2} \times 100$$

Laberinto de Barnes:

La prueba consistió en una fase de adaptación, adquisición espacial y dos ensayos de sondeo (memoria a corto y largo plazo) como describiremos: En el periodo de adaptación, los ratones fueron guiados suavemente hasta la caja de escape y permanecieron allí durante 2 min. Después, durante la adquisición espacial, los ratones realizaron 4 ensayos al día durante 4 días, con un intervalo entre ensayos de 15 minutos. Brevemente, se colocó a los ratones en el centro del laberinto dentro de una cámara cilíndrica negra de inicio. Transcurridos 10 s, se levantaba la cámara y se dejaba al ratón explorar libremente el laberinto durante 3 minutos. Durante estos 3 minutos, el experimentador midió el número de errores totales y la latencia primaria. Finalmente, la prueba de memoria de referencia corta se realizó el día 5, 24 h después del último día de entrenamiento, y la prueba de

memoria de referencia larga se realizó 7 días después del último entrenamiento, que sería el día 12. Durante estos ensayos, los ratones disponían de 30 segundos para finalizar la prueba y el experimentador medía el número total de errores y la latencia para escapar.

Se analizaron las respectivas tácticas de búsqueda empleadas por los ratones para identificar el agujero objetivo con el fin de determinar los aspectos cualitativos del aprendizaje espacial. El método de búsqueda aleatoria implica una búsqueda desorganizada en el laberinto con varios cruces centrales. El método en serie implica que el ratón corre hasta el borde y visita los agujeros siguientes en el sentido de las agujas del reloj o en sentido contrario. El método espacial es la técnica de búsqueda más eficaz, y consiste en ir directamente al agujero objetivo o a otro agujero cercano antes de ir al objetivo. La puntuación global de la estrategia para una rata se generó de la siguiente manera: aleatoria = 3, en serie = 2 y espacial = 1, y esta puntuación se evaluó cada día como se informó anteriormente (Zhu et al., 2016). La caja de escape está preparada con termocol (28 cm x 22 cm x 21 cm), y los ratones pueden acceder a ella a través de un tubo de plástico transparente (50 cm de largo, 5 cm de diámetro), que se encuentra debajo del orificio objetivo. El paradigma consiste en una plataforma circular (92 cm de diámetro) con 20 agujeros (diámetro del agujero: 5 cm) a lo largo del perímetro.

Fijación ex-vivo y análisis de Resonancia Magnética por morfometría basada en la deformación (DBM)

Posterior al fenotipado conductual, los ratones fueron sacrificados mediante una inyección intraperitoneal de 1 mL de pentobarbital (PiSA Agropecuaria) en sobredosis. Se realizó una disección dérmica desde la región abdominal hasta la parte superior de la caja torácica, exponiendo el corazón. A continuación, se perforó el ventrículo izquierdo del corazón desde su vértice y se realizó un corte en la aurícula derecha, para abrir el sistema circulatorio. Se perfundió PBS 0,1M + Heparina + solución de lavado Prohance (4 mM) utilizando una bomba de infusión (Fisher Scientific GP1000) a un flujo de 1 mL/min. Posteriormente, se cambió la solución de lavado por la solución de fijación, que incluía paraformaldehído al 4% (PFA) en PBS 0,1M + Prohance 4 mM, durante 25 min, siguiendo el mismo flujo que se informó previamente (Cárdenas-Tueme et al., 2022). Se recogió el cerebro protegido por el cráneo y las muestras se almacenaron a 4 °C en PFA Prohance 4 mM al 4% durante 24 horas y luego se cambió la solución a una solución de almacenamiento que contenía PBS 0,1M con azida sódica al 0,02% y Prohance 4 mM hasta el análisis por RMN (2 meses).

Para la adquisición de la RMN, los cráneos se sumergieron y se fijaron dentro de tubos de plástico llenos de Fomblin (un fluorocarbono perfluoropoliéter químicamente inerte; Solvay Solexis, Inc.). Las imágenes se realizaron en un escáner Bruker de 7 T y 16 cm de diámetro (Pharmascan 70/16) utilizando un sistema Paravision 7 y una bobina de volumen Tx/Rx para ratones con un diámetro interior de 72 mm. A continuación, adquirimos dos tipos de secuencias: Una

secuencia FLASH ponderada en T1 con codificación espacial tridimensional (TR/TE = 31,56/8,64 s, flip angle = 20 grados, promedios = 1) con una resolución isométrica de 0,069 mm. Las imágenes ponderadas por difusión (DWI) se adquirieron utilizando imágenes ecoplanares segmentadas con codificación espacial tridimensional (TR/TE = 250/19,24 s, flip angle = 90 grados, promedios = 1, número de segmentos = 64 espaciales, resolución 0,135 × 12,42 × 0,200 mm³). La codificación de la difusión se aplicó en 32 direcciones únicas con b=1000s/mm², así como en 8 volúmenes sin sensibilización de la difusión (es decir, b=0 s/mm²).

Procesamiento de datos de imágenes

El análisis estructural se realizó mediante la conversión de DICOM a formato MINC, y luego se preprocesó utilizando un pipeline interno basado en MINC-Tools (<https://github.com/CoBrALab/minc-toolkit-extras/blob/master/mouse-preprocessing-v5.sh>) y el pipeline pydpiper (<https://github.com/Mouse-Imaging-Centre/pydpiper>). Todos los análisis se realizaron utilizando la versión 1.8 de pydpiper (Friedel et al., 2014), la versión 3.6.3 de R studio (Rstudio, 2020) y los paquetes RMINC versión 1.5.2.2 (Lerch, J., 2017) y tidyverse versión 1.3.1 (Wickham et al., 2019). Todas las imágenes ponderadas en T1 se preprocesaron utilizando una tubería interna basada en MINC-Tools y ANTs, que realizó los siguientes pasos: imagen central, máscara completa y corrección de campo N4Bias. A continuación, utilizamos un enfoque basado en el registro de imágenes para evaluar las diferencias anatómicas entre los grupos. El registro de imágenes encuentra una transformación espacial suave que alinea de la mejor manera posible

una imagen con otra, de forma que las características anatómicas correspondientes se superponen. Utilizamos un enfoque de registro automatizado basado en la intensidad del grupo (Lerch, J., 2017) para alinear todos los cerebros en el estudio en un sistema de coordenadas común, produciendo una imagen promedio de las 45 exploraciones T1w. Las deformaciones no lineales (warps) que alinean cada una de las imágenes con la plantilla se convierten entonces en un templado de cómo difieren. Para evaluar las diferencias de volumen entre los grupos, realizamos el DBM, ya que proporciona una definición continua, vóxel por vóxel, de los cambios de volumen (expansión/contracción) relacionados con su grupo de dieta. Las deformaciones fueron entonces mapeadas desde los escaneos individuales de vuelta a la imagen promedio. Los campos de deformación finales se calcularon con un registro difeomórfico simétrico codicioso (el algoritmo SyN en ANTS)(Avants et al., 2008) (Avants, B. et al., 2008; Bird, S. et al., 2009) y luego se invirtieron y difuminaron con un núcleo de suavizado gaussiano de 0,1 mm FWHM. Se extrajeron los determinantes Jacobianos de estas deformaciones, dando una medida de expansión/contracción del volumen local en cada vóxel del cerebro. Se utilizaron los determinantes relativos jacobianos transformados logarítmicamente (con un suavizado de 0,2 mm) para evaluar las diferencias entre grupos, ya que estiman mejor una distribución normal. Los conjuntos de datos de DWI se trataron para eliminar el ruido (Cordero-Grande et al., 2019) y se corrigieron para las distorsiones inducidas por el movimiento y las corrientes parásitas mediante transformaciones lineales (12 grados de libertad). Se utilizó el paquete de software MRtrix 3.0 para estimar el tensor de difusión (Tournier et al., 2019), a partir del cual obtuvimos los

valores propios correspondientes (λ_1 , λ_2 y λ_3). A partir de ellos, creamos mapas cuantitativos de FA, coeficiente de difusión aparente (ADC), difusividad axial (es decir, λ_1 ; D_{\parallel}) y difusividad radial ($[\lambda_2 + \lambda_3]/2$; D_{\perp}). Los parámetros de las imágenes de tensor de difusión (DTI) se analizaron utilizando los mapas de difusividad principal (con la ayuda de las imágenes ponderadas sin difusión) para delinear manualmente las regiones de interés (ROI), la fimbria, el cuerpo caloso, el fórnix y la cápsula interna.

Análisis estadísticos

Los datos se presentan como media \pm SEM para todos los datos. Todos los análisis estadísticos, incluida la comprobación de la normalidad de la distribución de los datos, se llevaron a cabo utilizando el programa GraphPad Prism 9.0 y el programa estadístico IBM SPSS versión 22, y un valor p corregido $< 0,05$ se consideró significativo. Se comprobó la normalidad de todos los resultados mediante la prueba de Shapiro-Wilk. Las diferencias significativas en el rendimiento cognitivo durante los datos del fenotipo conductual se muestran como la media \pm SEM y las diferencias significativas en * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$. El análisis estadístico sobre la DBM se realizó utilizando los determinantes jacobianos transformados en logaritmos como variable dependiente, y el "grupo de dieta" como variable independiente. Comparamos los dos grupos utilizando un modelo lineal general y los análisis se corrigieron para comparaciones múltiples utilizando la tasa de falsos descubrimientos (FDR) al 10%. Además, extrajimos los valores jacobianos de los picos significativos en la región fimbria-fórnix y la corteza somatosensorial primaria.

Estos análisis se realizaron en el estudio R versión 3.6.3. Se compararon los resultados de FA, AD, ADC y RD de cada región de interés para los grupos CON y CAF utilizando la prueba t-student. Los datos se presentan como media \pm SEM para todos los datos.

Los jacobianos de las regiones de interés se correlacionaron con los datos de comportamiento y métricas de difusión para explorar su patrón de asociación utilizando la correlación de Pearson y se corrigieron utilizando el FDR al 5%. Estos análisis se realizaron en la versión 3.6.3 del estudio R.

7. RESULTADOS

Efecto de la programación prenatal mediante la dieta CAF en el comportamiento cognitivo de la descendencia a los 2 y 12 meses de edad.

En esta primera etapa se comprobó si la exposición prenatal a la dieta CAF afectaba al peso corporal de las crías macho. Encontramos un aumento significativo del peso corporal a los 2 meses de edad, en comparación con las crías macho nacidas de madres alimentadas con dieta control ($t[16]=3,516$ $p=0,0029$), mientras que a los 12 meses el peso entre los grupos no fue diferente. Las crías expuestas a la dieta CAF no mostraron diferencias significativas durante la prueba de campo abierto en comparación con el grupo de control ($t[16]=0,8646$ $p=0,400$). Precisamente, la distancia total recorrida en las crías de control fue de 35943 mm mientras que las crías expuestas a la dieta CAF recorrieron 39042 mm a los 2 meses, comparado con 39042 y 35028 mm a los 12 meses respectivamente.

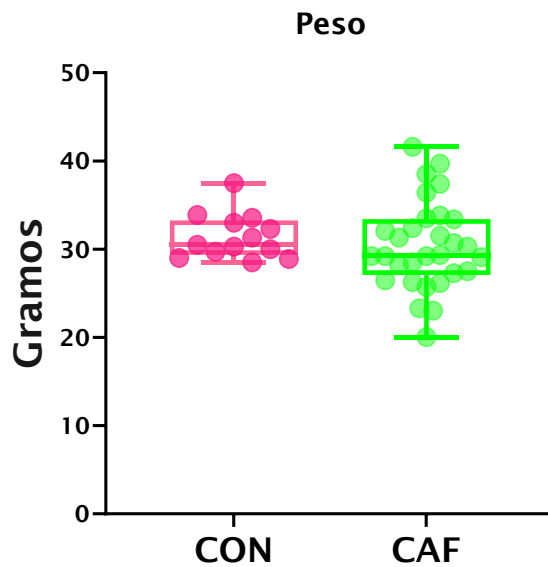
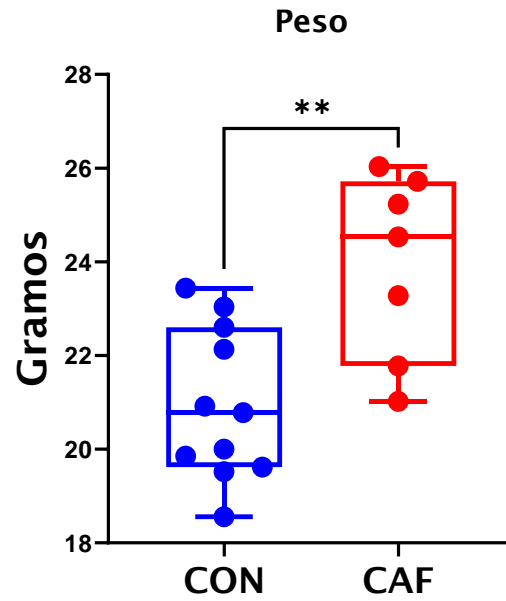


Figura 9. Las crías expuestas a la dieta CAF mostraron un aumento de peso significativamente mayor en comparación con el grupo de control a los 2 meses. Los datos se expresan como media \pm SEM y las diferencias estadísticas se representaron siguiendo el análisis de la prueba "t". Para 2 meses CAF (n = 7) CON (n = 11) y 12 meses CON (n=13) CAF (30) *p < 0,05, **p < 0,005, ***p < 0,001, ****p < 0,0001 frente al grupo de control. Abreviaturas: CAF: cafetería; CON: control

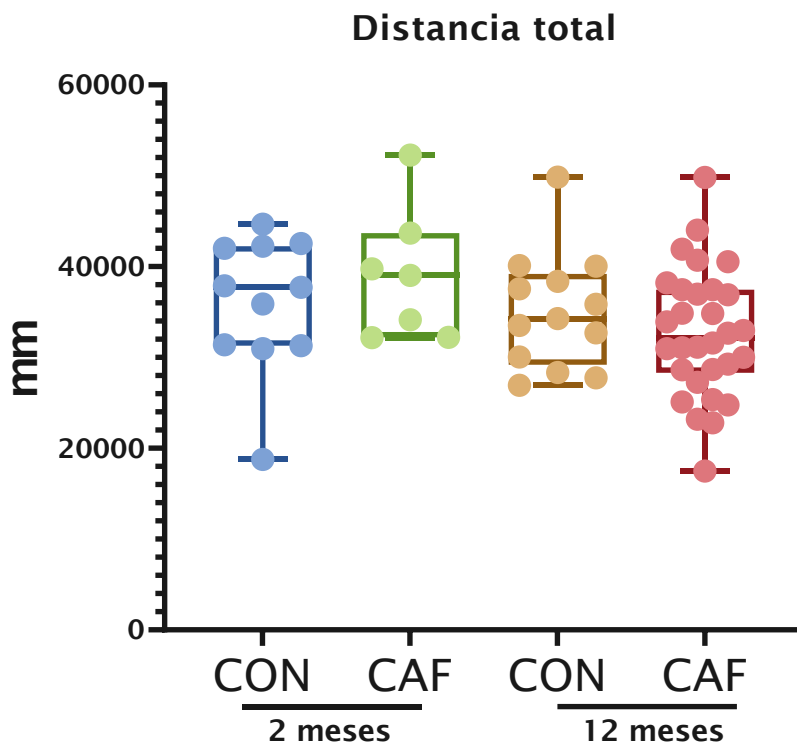


Figura 10. Comparación de la distancia total recorrida. Los datos se expresan como media \pm SEM y las diferencias estadísticas se representaron siguiendo el análisis ANOVA. Para 2 meses CAF (n = 7) CON (n = 11) y 12 meses CON(n=13) CAF (30) *p < 0,05, **p < 0,005, ***p < 0,001, ****p < 0,0001 frente al grupo de control. Abreviaturas: CAF: cafetería; CON: control

Fenotipificación conductual

Se diagnosticó el fenotipo conductual individual en las crías de los sujetos expuestos a la dieta CON o CAF, respectivamente, para determinar el efecto del envejecimiento en el deterioro cognitivo. Utilizamos la prueba de campo abierto para diagnosticar la ansiedad cuantificando el tiempo que se ubicaban los ratones en los bordes de la arena. Normalmente, los roedores suelen preferir no estar en el centro

de la arena, lo que sugiere un comportamiento similar a la ansiedad. Encontramos que las crías expuestas a la dieta CAF pasaron significativamente más tiempo en los bordes del campo abierto a los 2 meses de edad ($t[16] = 2,132$, $p=0,0489$) mientras que no hubo diferencia significativa a los 12 meses de edad ($t[40] = 0,4530$, $p=0,6530$). Este resultado confirma un comportamiento similar a la ansiedad en las crías macho de las madres expuestas a una dieta alta en energía durante la gestación y la lactancia a edades tempranas.

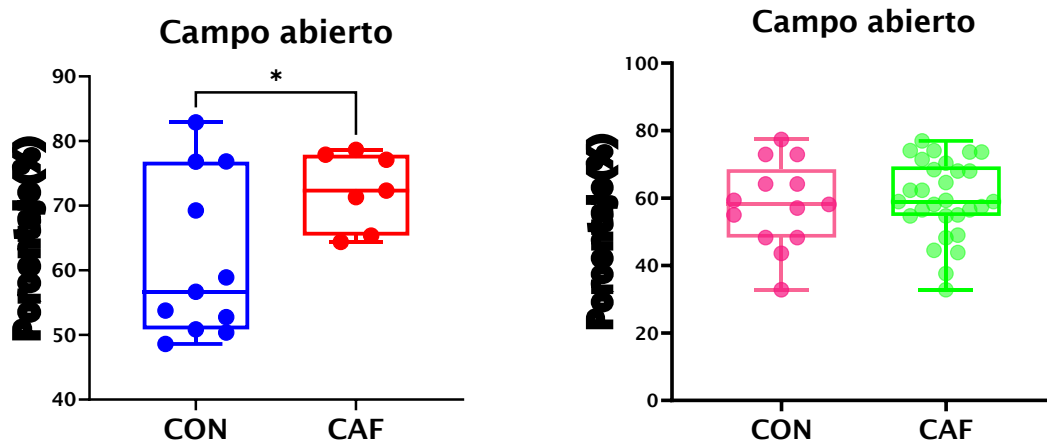


Figura 11. Tiempo de permanencia en los bordes expresado en porcentaje en el centro de la prueba en campo abierto. Las crías expuestas a la dieta CAF mostraron un porcentaje significativamente mayor en comparación con el grupo de control a los 2 meses. Los datos se expresan como media \pm SEM y las diferencias estadísticas se representaron siguiendo el análisis de la prueba "t". Para 2 meses CAF (n = 7) CON (n = 11) y 12 meses CON(n=13) CAF (30) * $p < 0,05$, ** $p < 0,005$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$ frente al grupo de control. Abreviaturas: CAF: cafetería; CON: control.

Alternancia forzada

Para evaluar el efecto de la exposición prenatal a la dieta CAF en la memoria de trabajo espacial de la descendencia, utilizamos la prueba de alternancia forzada basada en laberinto en Y. En primer lugar, encontramos que el 80,82% de las crías expuestas a la dieta control (CON) durante la programación prenatal reconocieron el brazo bloqueado como novedoso y de primera elección en comparación con sólo el 57,14% de los sujetos nacidos de madres expuestas a la dieta CAF, sin embargo, no mostró una asociación significativa ($p=0.5495$). Además, no encontramos diferencias significativas en la descendencia expuesta a la dieta CAF en el tiempo de permanencia en el brazo novedoso en comparación con los sujetos control ($F(3, 57) = 1.431, p=0.2432$). Estos resultados confirman que la exposición prenatal a la dieta CAF, no altera el rendimiento de la memoria espacial de corto plazo en la descendencia macho a ambas edades evaluadas.

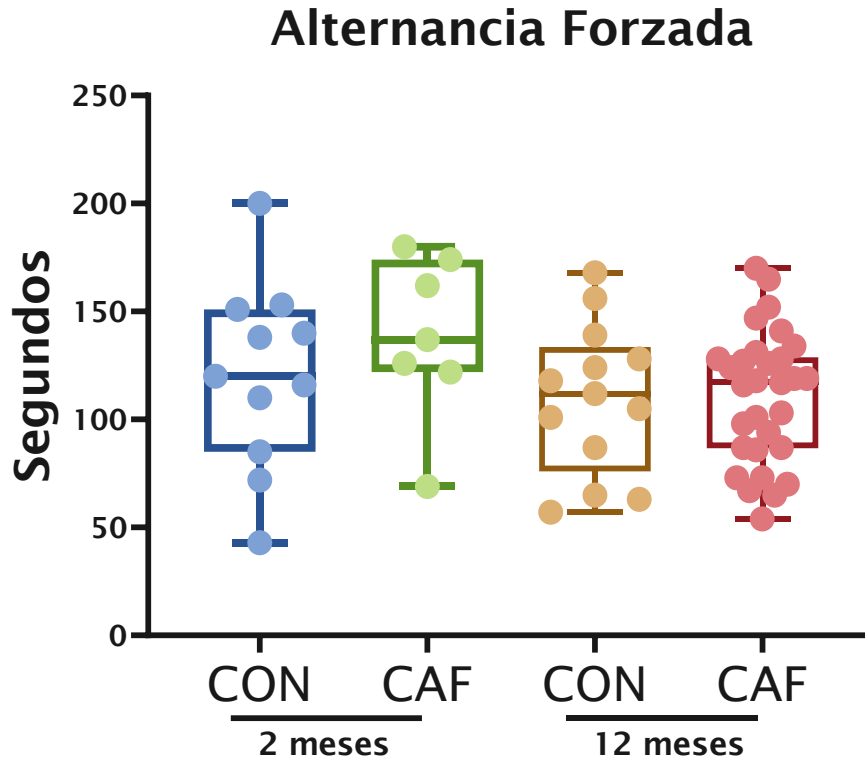


Figura 12. El tiempo pasado en el brazo novedoso se cuantificó 15 min después de la sesión de familiarización. Los resultados muestran el tiempo pasado (s) en el brazo de la novela entre los grupos. Los datos se expresan como media \pm SEM y las diferencias estadísticas se representaron siguiendo el análisis ANOVA. Para 2 meses CAF (n = 7) CON (n = 11) y 12 meses CON(n=13) CAF (30) *p < 0,05, **p < 0,005, ***p < 0,001, ****p < 0,0001 frente al grupo de control. Abreviaturas: CAF: cafetería; CON: control.

Alternancia espontánea

Para medir la memoria espacial utilizando el laberinto en Y y la actividad exploratoria de los animales en un tiempo corto, se calculó el porcentaje de alternancia espontánea. Como resultados no encontramos diferencias significativas en las crías expuestas a la dieta CAF en comparación con los sujetos expuestos a la dieta

control, ($F(3, 57) = 0.07867, p=0.9713$), lo que confirma de nueva cuenta que no existen alteraciones en el rendimiento de la memoria espacial en tiempo corto causadas por las dietas de alto contenido energético.

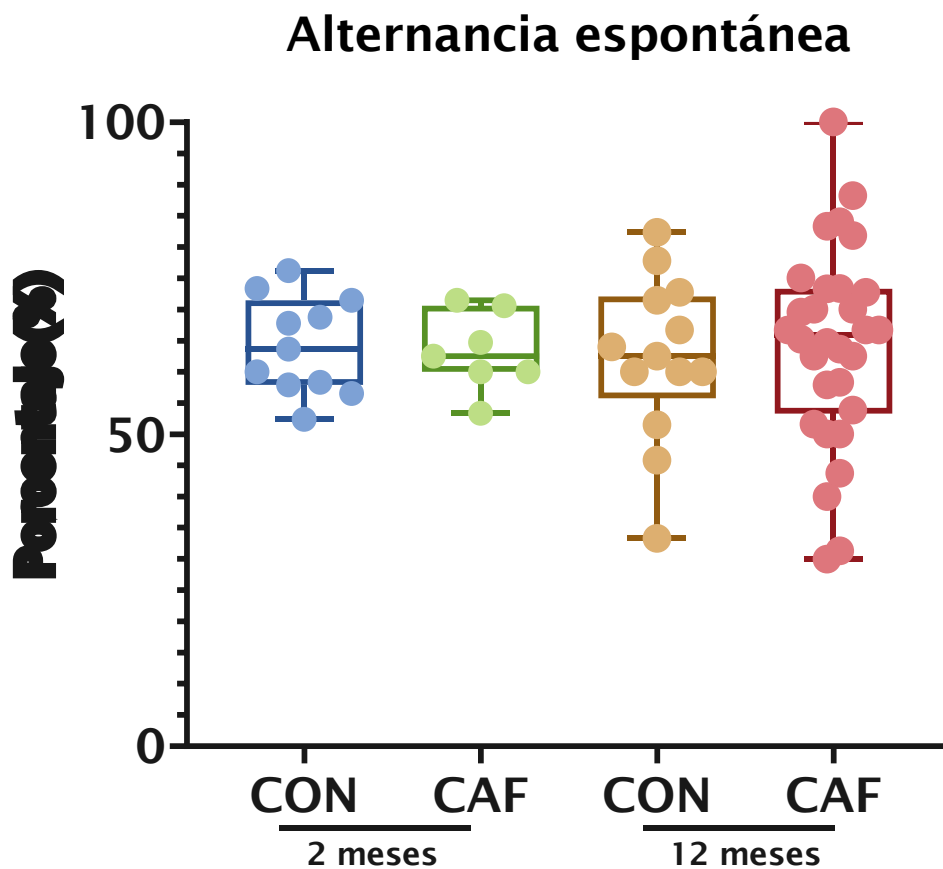


Figura 13. Alternancia espontánea en laberinto en Y. Los datos se expresan como media \pm SEM y las diferencias estadísticas se representaron siguiendo el análisis ANOVA. Para 2 meses CAF ($n = 7$) CON ($n = 11$) y 12 meses CON ($n=13$) CAF (30) * $p < 0,05$, ** $p < 0,005$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$ frente al grupo de control. Abreviaturas: CAF: cafetería; CON: control.

Reconocimiento de objeto novedoso

La prueba de NORT evalúa la memoria de reconocimiento en ratones basándose en la tendencia natural de los roedores a explorar un objeto nuevo durante un periodo de tiempo más largo en comparación con uno familiar. No se encontraron diferencias significativas en las crías expuestas a la dieta CAF o control durante la etapa prenatal, mostrando el mismo índice de interacción de la actividad exploratoria durante la prueba ($F(3, 57) = 2.049$ $p = 0.1171$).

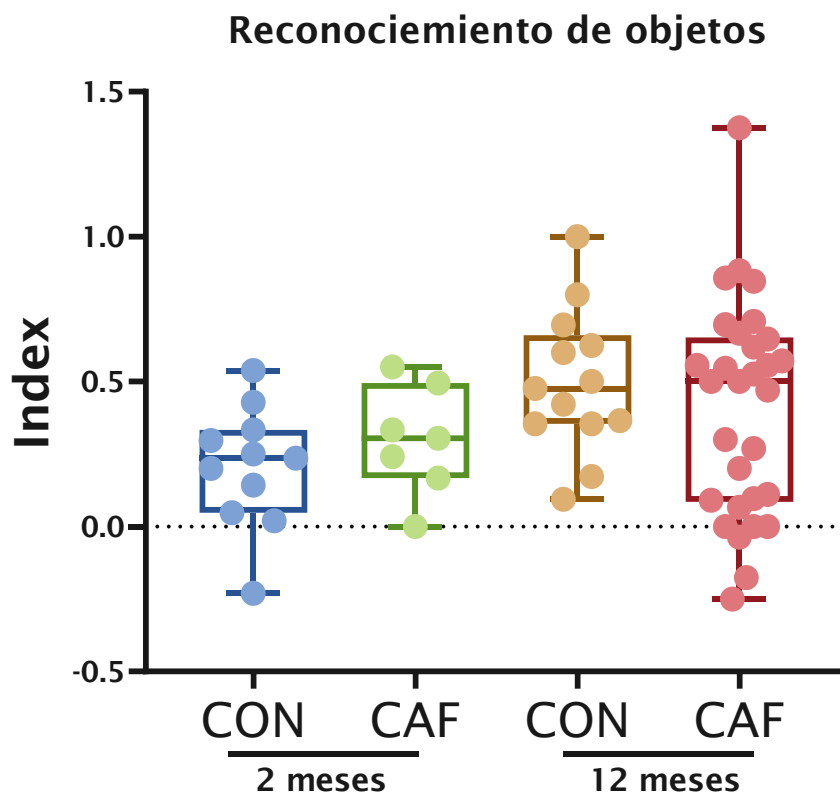


Figura 14. El tiempo dedicado al objeto y al objeto nuevo se representa como índice de interacción con el objeto. Los datos se expresan como media \pm SEM y las diferencias estadísticas se representaron siguiendo el análisis ANOVA. Para 2 meses CAF ($n = 7$) CON

(n = 11) y 12 meses CON(n=13) CAF (n=30) *p < 0,05, **p < 0,005, ***p < 0,001, ****p < 0,0001 frente al grupo de control. Abreviaturas: CAF: cafetería; CON: control.

Laberinto de Barnes

Para evaluar la memoria espacial y el rendimiento del aprendizaje durante los horarios a corto y largo plazo, utilizamos la prueba clásica del laberinto de Barnes. Como se describe en Materiales y Métodos, las crías fueron entrenadas y se puntuó el número total de errores antes de llegar a la salida, así como la latencia para entrar en la caja de escape en la plataforma. Encontramos una disminución significativa en la latencia para alcanzar la salida en el primer día de entrenamiento en las crías expuestas a la dieta CAF en comparación con los sujetos control (p= 0,0023). Sin embargo, no se identificaron cambios importantes en la latencia para entrar en la caja de escape del día 1 al 4 de entrenamiento entre los grupos.

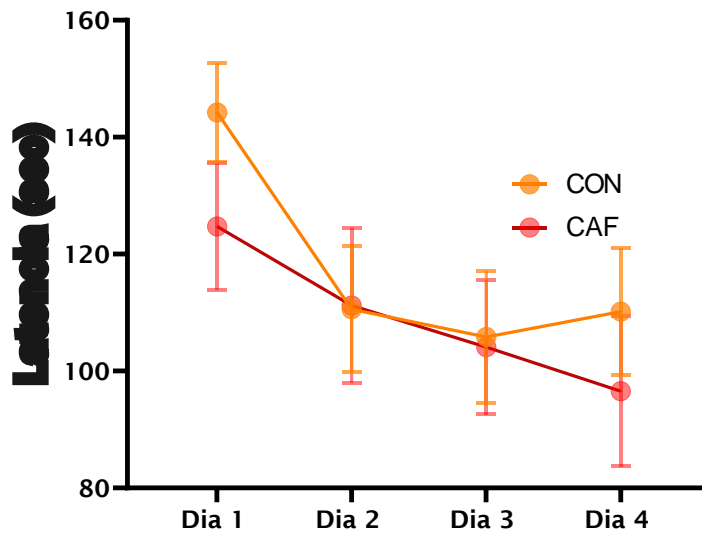
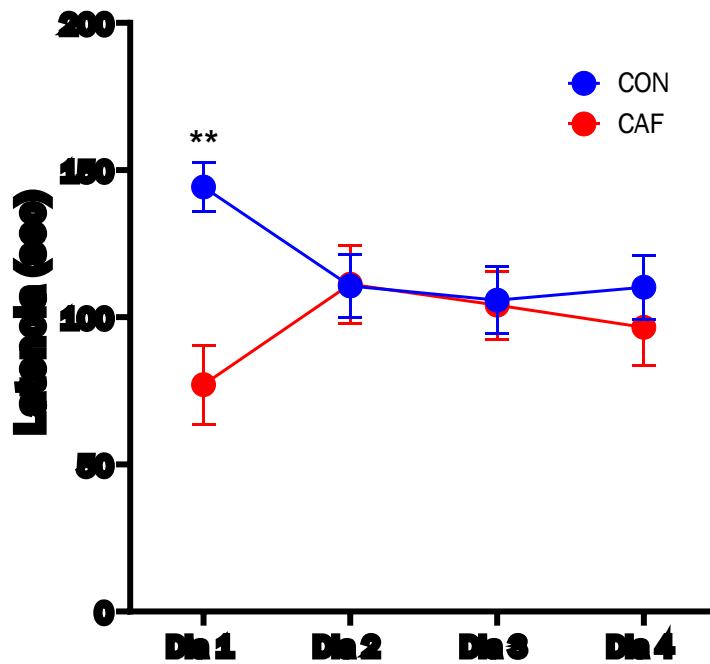
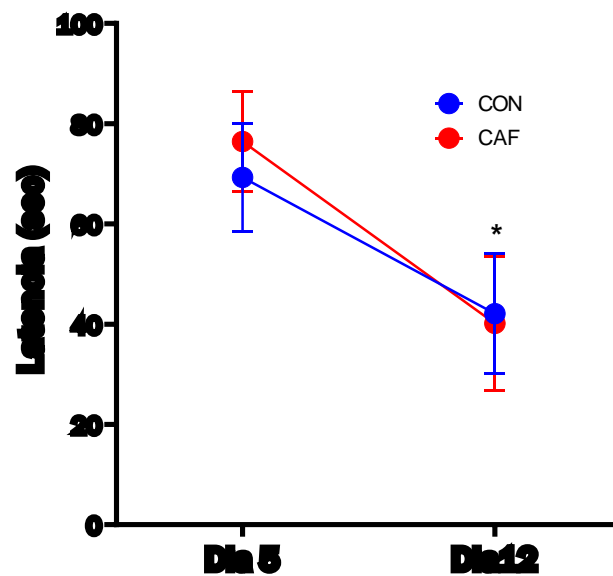


Figura 15. Curva de aprendizaje. Los resultados muestran la latencia hasta la salida (s) hasta que se encontró la salida durante 4 días de entrenamiento. Los datos se expresan como media \pm SEM y las diferencias estadísticas se representaron siguiendo el análisis ANOVA. Para 2 meses CAF (n = 7) CON (n = 11) y 12 meses CON(n=13) CAF (30) *p < 0,05, **p < 0,005, ***p < 0,001, ****p < 0,0001 frente al grupo de control. Abreviaturas: CAF: cafetería; CON: control.

La memoria a corto plazo (STM) en las crías expuestas a la dieta CAF o CON se evaluó un día después de las sesiones de entrenamiento de cuatro días. No se encontraron diferencias significativas importantes entre ambos grupos para el día 5. La memoria espacial y el rendimiento del aprendizaje durante la programación a largo plazo (LTM) se evaluaron el día 12 después del entrenamiento en ambas edades. No encontramos diferencias en la memoria y el rendimiento del aprendizaje en las crías expuestas a la dieta control durante la etapa prenatal. En particular, las crías expuestas a la dieta CAF mostraron un deterioro en la memoria espacial y el rendimiento de aprendizaje durante el programa a largo plazo (día 12) en comparación con su propio rendimiento en el día 5 ($p= 0.0433$) a los 2 y 12 meses($p=0.0286$).



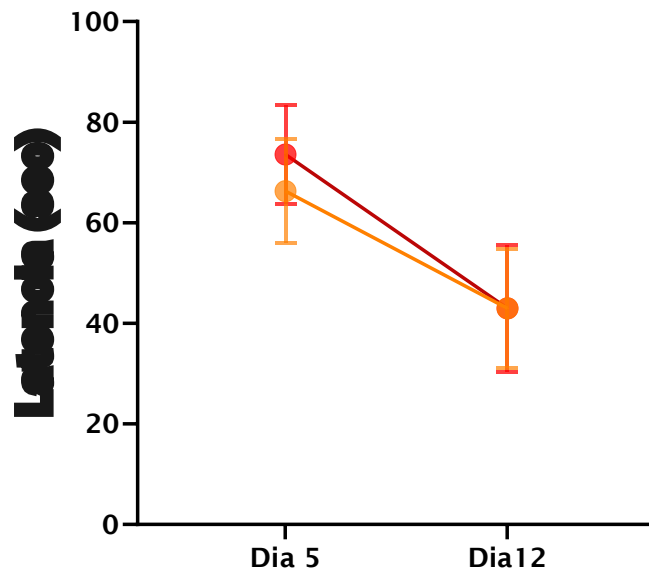


Figura 16. Los resultados muestran la latencia hasta que se encuentra la salida, tanto para STM como para LTM. Los datos se expresan como media \pm SEM y las diferencias estadísticas se representaron siguiendo el análisis ANOVA. Para 2 meses CAF (n = 7) CON (n = 11) y 12 meses CON(n=13) CAF (30) *p < 0,05, **p < 0,005, ***p < 0,001, ****p < 0,0001 frente al grupo de control. Abreviaturas: CAF: cafetería; CON: control.

Finalmente, los resultados de las estrategias de búsqueda se muestran en la figura 17. La cuantificación de todas las trayectorias potenciales en las crías nacidas de madres expuestas a la dieta CAF o CON mostró una disminución significativa de la estrategia aleatoria en los días de prueba. Estos resultados confirman que la exposición prenatal a la dieta CAF no compromete la búsqueda espacial y la memoria en las crías a los 2 meses y 12 meses de edad.

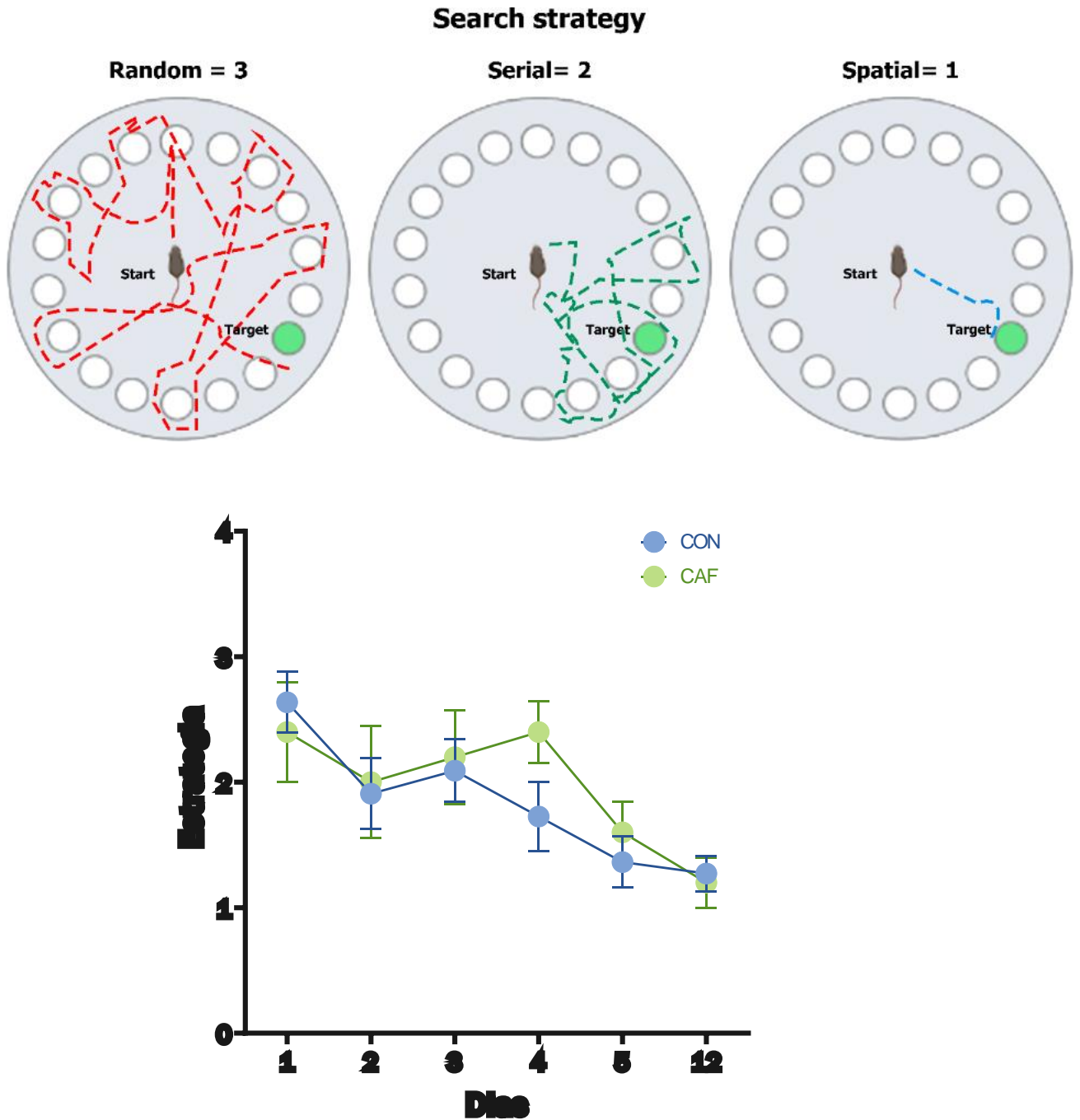


Figura 17. Puntuación de estrategia obtenida durante los ensayos del laberinto de Barnes que la puntuación espacial (1), la puntuación serial (2) y la puntuación aleatoria (3). Los datos se expresan como media \pm SEM y las diferencias estadísticas se representaron siguiendo el análisis ANOVA. Para 2 meses CAF (n = 7) CON (n = 11) *p < 0,05, **p < 0,005, ***p < 0,001, ****p < 0,0001 frente al grupo de control. Abreviaturas: CAF: cafetería; CON: control.

Las dietas de alto contenido energético programan alteraciones macroestructurales cerebrales en las crías

Realizamos un análisis global de MRI mediante DBM para caracterizar selectivamente las alteraciones macroestructurales cerebrales relacionadas con el volumen regional en la descendencia expuesta a la dieta CAF o control durante el desarrollo. Globalmente, el análisis por pares mostró diferencias locales significativas en el volumen cerebral de la descendencia expuesta a la dieta CAF durante la etapa prenatal en comparación con los sujetos expuestos a la dieta Control. Utilizando el atlas de coordenadas de 40 micras de DSUR (Mouse Brain Atlases), identificamos dos cambios estructurales puntuales significativos, mostrando un menor volumen en la región de la fimbria-fórnix ($p < 0,0001$) y un mayor volumen en la corteza somatosensorial primaria ($p < 0,0001$) de los sujetos expuestos a la dieta CAF en comparación con los expuestos a la dieta control. Se calculó la regresión lineal simple para predecir la contribución jacobiana de la dieta (CAF vs CON) sobre los cambios en la corteza somatosensorial primaria o el volumen de la fimbria-fornix. Se encontró una ecuación de regresión significativa para predecir la corteza somatosensorial primaria ($F(1, 16) = 67,74$, $** p = 3,83e-07$) y para predecir la fimbria-fornix ($F(1, 16) = 50,9$, $*** p = 2,37e-06$), con un R^2 ajustado de 0,7459. La corteza somatosensorial primaria predicha es igual a $-0,14110$ (CON) + $0,17766$ (CAF) valor jacobiano, mientras que la fimbria-fornix predicha es igual a $+0,09919$ (CON) - $0,12310$ (CAF) valor jacobiano. De forma selectiva, la exposición prenatal a la dieta CAF aumentó $0,12766$ jacobianos en el córtex somatosensorial

primario, mientras que disminuyó 0,12310 jacobianos en la fimbria-fornix en la descendencia. Los cambios volumétricos en las regiones cerebrales comparando el valor de CON frente al de CAF se representaron en la tabla.

Tabla 1: Coordenadas de los cambios volumétricos en regiones cerebrales comparando CON vs CAF

Región	X	Y	Z	t-value
Corteza somatosensorial primaria	1.769999839	-2.709999703	2.120000049	10.92
Fimbria-fornix	-0.430000111	-2.949999698	-0.1599999	-8.86

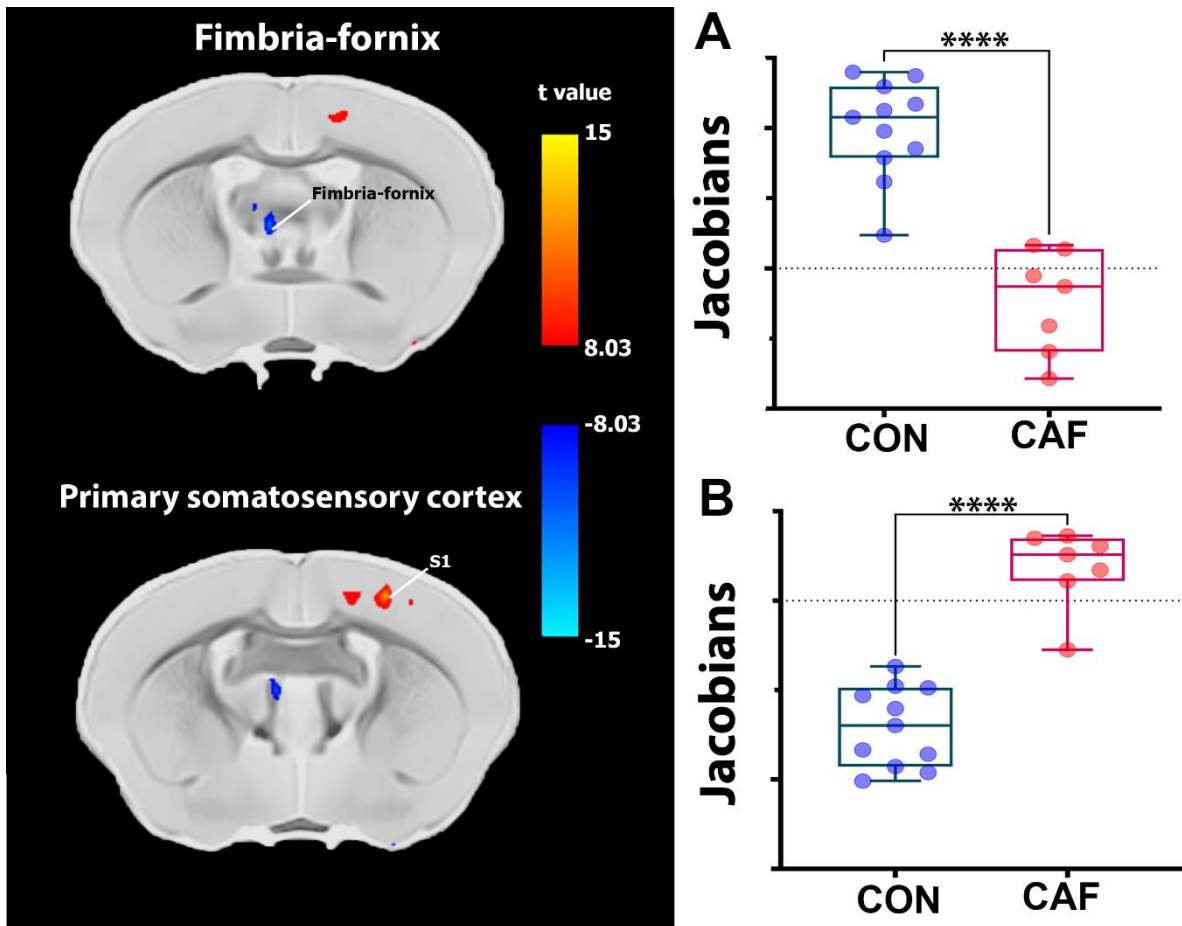


Figura 18. Las hembras C57BL6 fueron alimentadas con dietas chow (CON) o CAF, y la descendencia fue analizada mediante análisis de RM. Comparación del volumen cerebral mediante DBM. Imágenes RM de datos DBM de crías CAF vs crías CON. ROI = fimbria-fornix y corteza somatosensorial primaria (Izquierda), boxplot del pico de volumen relativo. Los resultados son significativos con un FDR del 10%. Los boxplots muestran el volumen relativo (eje y = jacobianos) en cada grupo (eje x). Los datos se expresan como media \pm SEM y las diferencias estadísticas se representaron siguieron análisis de prueba "t". * $p = 0,03$, ** $p = 0,002$, *** $p = 0,0002$. CAF (n = 7) CON (n = 11). Abreviaturas: CAF: cafetería; CON: control; DBM: morfometría basada en la deformación; IRM: resonancia magnética; ROI: análisis de la región de interés.

De la identificación de los dos cambios estructurales puntuales significativos en el grupo de edad de 2 meses y debido a nuestro interés en estas regiones, para el

análisis de morfometría de los grupos de 12 meses se extrajeron los valores específicos de los picos de las regiones obtenidas a los 2 meses, encontrando que a los 12 meses no existen diferencias significativas en los jacobianos obtenidos en la fimbria- fórnix ni en la corteza somatosensorial primaria.

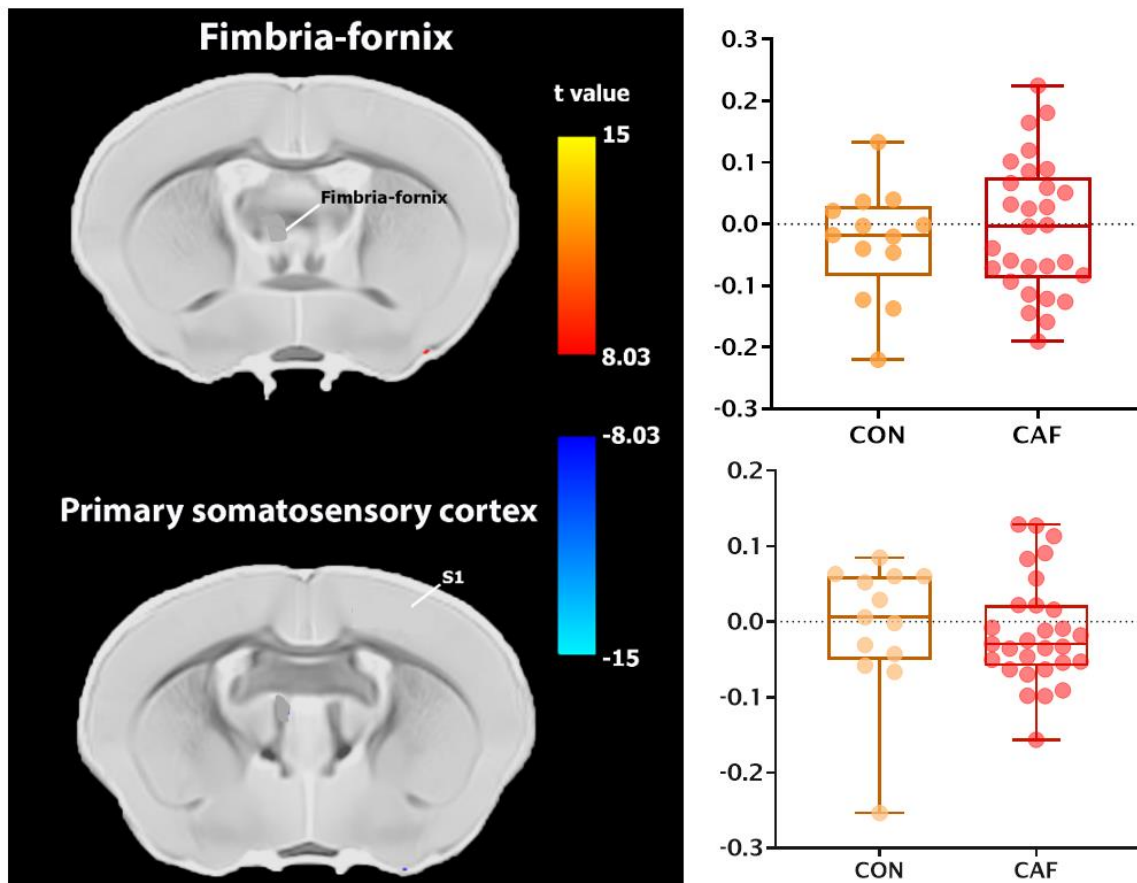


Figura 19. Comparación del volumen cerebral mediante DBM. Imágenes MRI de datos DBM de crías CAF vs crías control. ROI = fimbria-fornix y corteza somatosensorial primaria (Izquierda), boxplot del pico de volumen relativo. Los resultados son significativos con un FDR del 10%. Los boxplots muestran el volumen relativo (eje y = jacobianos) en cada grupo (eje x). Los datos se expresan como media \pm SEM y las diferencias estadísticas se representaron siguieron análisis de prueba "t". * $p = 0,03$, ** $p = 0,002$, *** $p = 0,0002$.

CAF (n = 30) CON (n = 13). Abreviaturas: CAF: cafetería; CON: control; DBM: morfometría basada en la deformación; IRM: resonancia magnética; ROI: análisis de la región de interés.

Las alteraciones microestructurales del cerebro en ROIs específicos y su conectividad son dependientes de la dieta.

A continuación, realizamos un análisis DTI para revelar las anomalías microestructurales en los ROIs encontrados por el análisis DBM en las crías expuestas a la dieta CAF durante la etapa prenatal a los 2 meses. En la figura 20, los tensores de difusión se visualizan como elipses coloreadas según su orientación, superpuestas al correspondiente mapa de anisotropía fraccional. Los animales de control mostraron tensores de difusión significativamente más alargados (indicando una alta anisotropía fraccional), en comparación con los tensores de las crías expuestas a la dieta CAF (mostrando una baja anisotropía fraccional). Junto a esta imagen presentamos los boxplots correspondientes a las métricas de la DBM en la ROI del fórnix-fimbria que proporcionan el pico obtenido por el análisis de la DBM. De manera notable, encontramos un valor de anisotropía fraccional significativamente menor ($t(16)=2,695 * (p=0,0166)$), con un aumento concomitante de la difusividad axial ($t(16)=2,440 * (p= 0,0267)$), difusividad radial ($t(16)=2. 150 * (p= 0,0472)$) y coeficiente de difusión aparente ($t(16)=2,504 * (p= 0,0235)$) valores en la descendencia expuesta prenatalmente a la dieta CAF en comparación con los sujetos expuestos a la dieta control. Por el contrario, no encontramos cambios

importantes en la corteza somatosensorial primaria en la ROI utilizando la métrica dMRI.

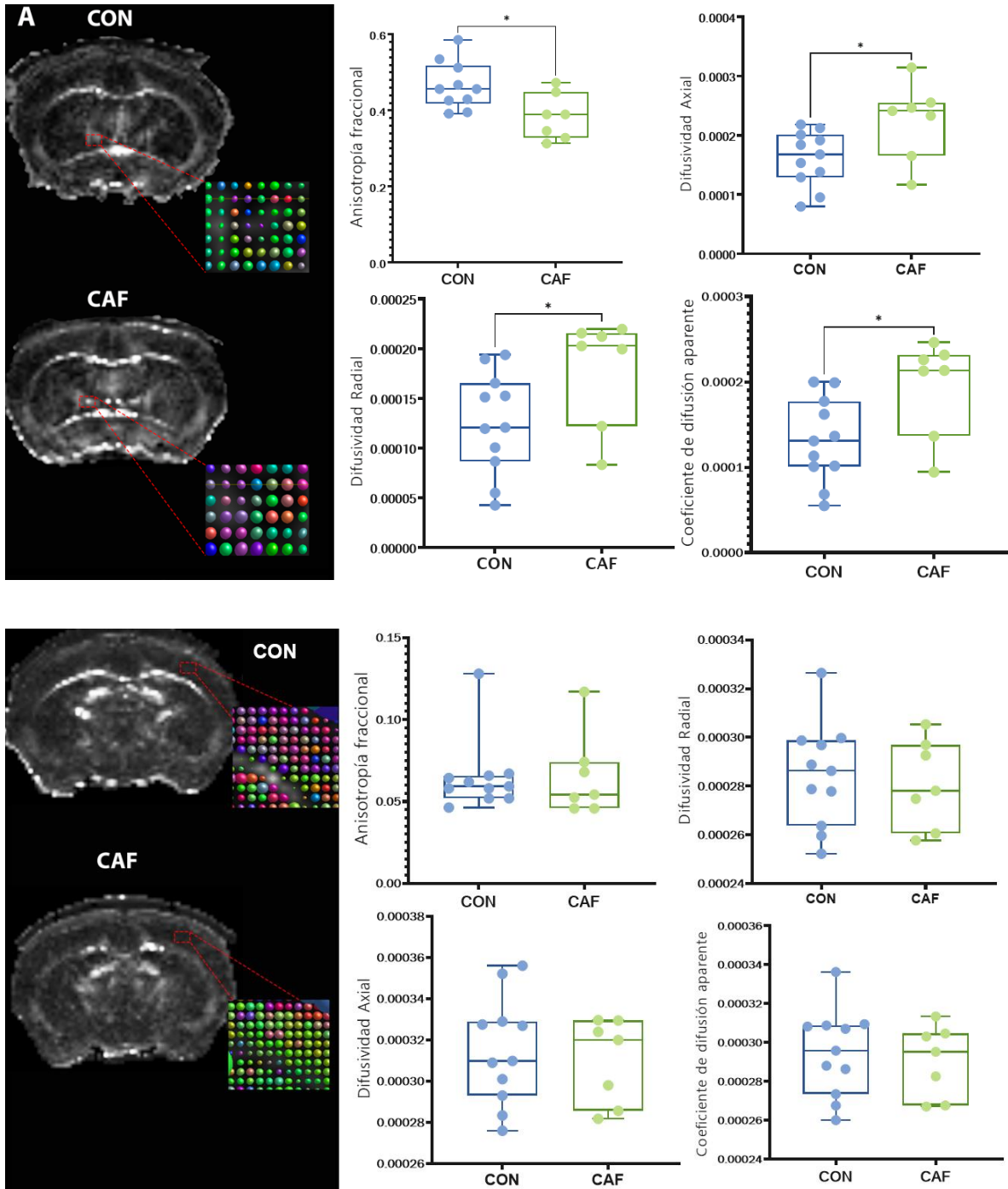


Figura 20. La exposición prenatal a dietas hiperenergéticas promovió cambios cerebrales de difusión en la descendencia. Las hembras C57BL6 fueron alimentadas con dietas chow

(CON) o CAF como se describe en el texto, y la descendencia fue analizada mediante RMN. Mapas RGB-FA de crías CAF (abajo a la izquierda) y Control (arriba a la izquierda). Los mapas FA se basan en la dirección de las fibras (azul, caudal-rostral; rojo, izquierda-derecha; y verde, dorsal-ventral). La imagen ampliada en el ROI fimbria-fornix muestra las elipses del tensor de difusión. Los gráficos de caja muestran la comparación de los valores de anisotropía fraccional, difusividad radial, coeficiente de difusión aparente, coeficiente de difusión aparente en la fimbria-fornix. Los datos se expresan como media + /- SEM seguido de prueba t. * p = 0,03, ** p = 0,002, *** p = 0,0002. CAF (n = 7) CON (n = 11). G-J). Los boxplots muestran la comparación de los valores de anisotropía fraccional, difusividad axial, difusividad radial, coeficiente de difusión aparente en la corteza somatosensorial primaria. Los datos se expresan como media ± SEM y las diferencias estadísticas se representaron siguieron análisis de prueba "t". * p = 0.03. Abreviaturas: CAF: cafetería; CON: control; AF: anisotropía fraccional; ROI: análisis de región de interés; RGB-FA: Rojo verde azul de anisotropía fraccional.

Para los análisis de regiones de sustancia blanca cerebral adicionales se usaron los grupos CON y CAF de 2 y 12 meses. Los cambios en las regiones cerebrales identificadas por el análisis DTI según su valor p se representaron en las siguientes tablas 2 a 5.

Tabla 2: Valores de p de la comparación del tensor de difusión de FA entre los grupos CON y CAF 2 y 12 meses.

Región	ANOVA	CON 2 VS CAF 2	CON 2 VS CON 12	CON 2 VS CAF 12	CAF2 VS CON12	CAF 2 VS CAF 12	CON 12 VS CAF 2
Cuerpo caloso	F (3, 55) = 15.83 P<0.0001	0.9284	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.8376
Capsula Interna derecha	F (3, 55) = 12.82	>0.9999	0.0075	<0.0001	0.0225	0.0003	0.4930

	P<0.0001						
Capsula Interna izquierda	F (3, 55) = 26.75 P<0.0001	0.9719	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.7906
Fimbria derecha	F (3, 55) = 30.40 P<0.0001	0.5660	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.8564
Fimbria Izquierda	F (3, 55) = 41.34 P<0.0001	0.9991	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.8794
Fórnix cuerpo	F (3, 54) = 2.146 P=0.1051	0.3200	0.1393	0.0981	0.9988	>0.9999	0.9986

Tabla 3: Valores de p de la comparación del tensor de difusión de ADC entre los grupos CON y CAF 2 y 12 meses.

Región	ANOVA	CON 2 VS CAF 2	CON 2 VS CON 12	CON 2 VS CAF 12	CAF2 VS CON12	CAF 2 VS CAF 12	CON 12 VS CAF 2
Cuerpo calloso	F (3, 55) = 0.7999 P=0.4993	0.9715	0.9441	0.7356	0.7835	0.5262	0.9772
Capsula Interna derecha	F (3, 55) = 11.40 P<0.0001	>0.9999	0.0267	<0.0001	0.0313	0.0003	0.4273
Capsula Interna izquierda	F (3, 54) = 14.70 P<0.0001	0.9799	0.0035	<0.0001	0.0032	<0.0001	0.6190
Fimbria derecha	F (3, 55) = 1.415 P=0.2481	0.8245	0.7891	0.7425	0.3330	0.2665	>0.9999
Fimbria Izquierda	F (3, 55) = 3.325 P=0.0261	0.9887	0.2037	0.0356	0.4976	0.2071	0.9529
Fórnix cuerpo	F (3, 55) = 3.956 P=0.0126	0.0301	0.4349	0.9970	0.3774	0.0160	0.3678

Tabla 4: Valores de p de la comparación del tensor de difusión de AD entre los grupos CON y CAF 2 y 12 meses.

Región	ANOVA	CON 2 VS CAF 2	CON 2 VS CON 12	CON 2 VS CAF 12	CAF2 VS CON12	CAF 2 VS CAF 12	CON 12 VS CAF 2
Cuerpo caloso	F (3, 113) = 1.315 P=0.2731	0.3248	0.8996	0.9995	0.6563	0.2542	0.8881
Capsula Interna derecha	F (3, 55) = 2.599 P=0.0613	0.8849	0.8510	0.2392	0.4699	0.0821	0.7317
Capsula Interna izquierda	F (3, 55) = 1.291 P=0.2865	0.7127	>0.9999	0.8513	0.7222	0.2416	0.7923
Fimbria derecha	F (3, 55) = 4.004 P=0.0119	0.7639	0.0265	0.0176	0.4268	0.4694	0.9904
Fimbria Izquierda	F (3, 55) = 1.289 P=0.2874	0.9993	0.3659	0.6980	0.4100	0.7163	0.8321
Fórnix cuerpo	F (3, 55) = 2.838 P=0.0463	0.1087	0.0746	0.5544	0.9965	0.4277	0.3728

Tabla 5: Valores de p de la comparación del tensor de difusión de RD entre los grupos CON y CAF 2 y 12 meses.

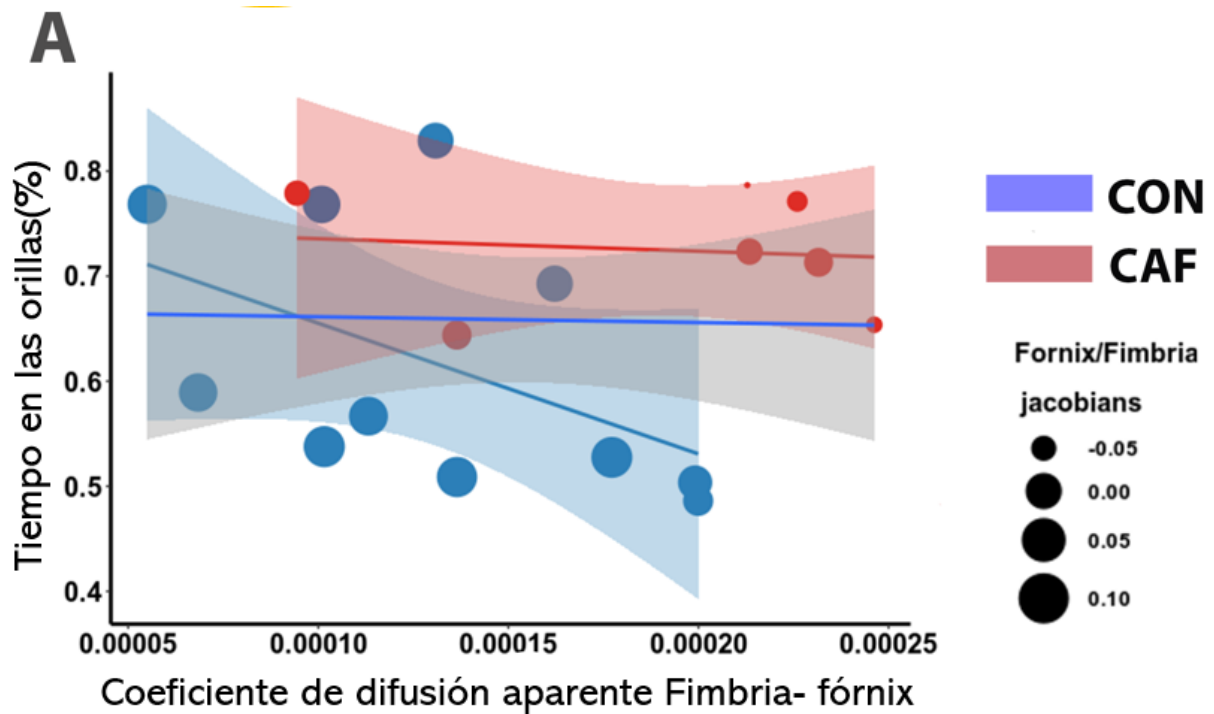
Región	ANOVA	CON 2 VS CAF 2	CON 2 VS CON 12	CON 2 VS CAF 12	CAF2 VS CON12	CAF 2 VS CAF 12	CON 12 VS CAF 2
Cuerpo caloso	F (3, 55) = 3.123 P=0.0331	0.9674	0.3533	0.1222	0.2289	0.0846	0.9840
Capsula Interna derecha	F (3, 55) = 21.96 P<0.0001	>0.9999	0.0002	<0.0001	0.0016	<0.0001	0.2902
Capsula Interna izquierda	F (3, 55) = 32.50 P<0.0001	0.9276	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.5754
Fimbria derecha	F (3, 55) = 7.634 P=0.0002	0.8975	0.0160	0.0088	0.0063	0.0039	0.9932
Fimbria Izquierda	F (3, 55) = 13.31 P<0.0001	0.9434	0.0002	<0.0001	0.0088	0.0015	0.9925

Fórnix cuerpo	F (3, 55) = 5.207 P=0.0031	0.0569	0.9934	0.6777	0.0805	0.0014	0.4369
----------------------	----------------------------------	--------	--------	--------	--------	--------	--------

La disminución de las métricas dMRI en la fimbria-fórnix predice el comportamiento de las crías expuestas a la dieta CAF

Realizamos una regresión lineal múltiple para predecir la asociación entre la dieta (CAF frente a CON), los cambios de volumen y las métricas dMRI en la fimbria-fórnix con los resultados conductuales de las crías. De acuerdo con nuestro modelo matemático, probamos varias interacciones entre las pruebas de fenotipo conductual (alternancia forzada del laberinto Y, campo abierto, NORT, laberinto de Barnes o alternancia espontánea del laberinto Y) y los valores de anisotropía fraccional. Con base en esto, el tiempo de permanencia en el brazo novedoso en la prueba del laberinto Y durante la prueba de alternancia forzada y el tiempo de permanencia en los bordes en la prueba de campo abierto se mostraron como las dos interacciones principales para realizar el análisis. Nuestro análisis de regresión múltiple identificó la interacción entre las métricas dMRI y el volumen de fimbria-fórnix y el comportamiento en las crías expuestas a la dieta CAF. En consecuencia, las métricas dMRI y el volumen de la fimbria-fórnix encontrados en las crías expuestas prenatalmente a la dieta CAF predicen significativamente un mayor tiempo de permanencia en los bordes durante las pruebas de campo abierto, lo que sugiere una mayor puntuación de ansiedad. Por el contrario, las crías expuestas a la dieta control mostraron una interacción negativa, mostrando un mayor volumen de fimbria-fórnix, una disminución del valor del coeficiente de difusión aparente y

una menor puntuación de ansiedad. En el análisis de regresión múltiple mostrado, se encontró que el R^2 ajustado= era de 0,6116. Por último, un menor volumen de fimbria-fórnix y un mayor valor del coeficiente de difusión aparente mostraron un efecto no significativo para predecir los resultados de la alternancia forzada en las crías expuestas a la dieta CAF durante la programación prenatal



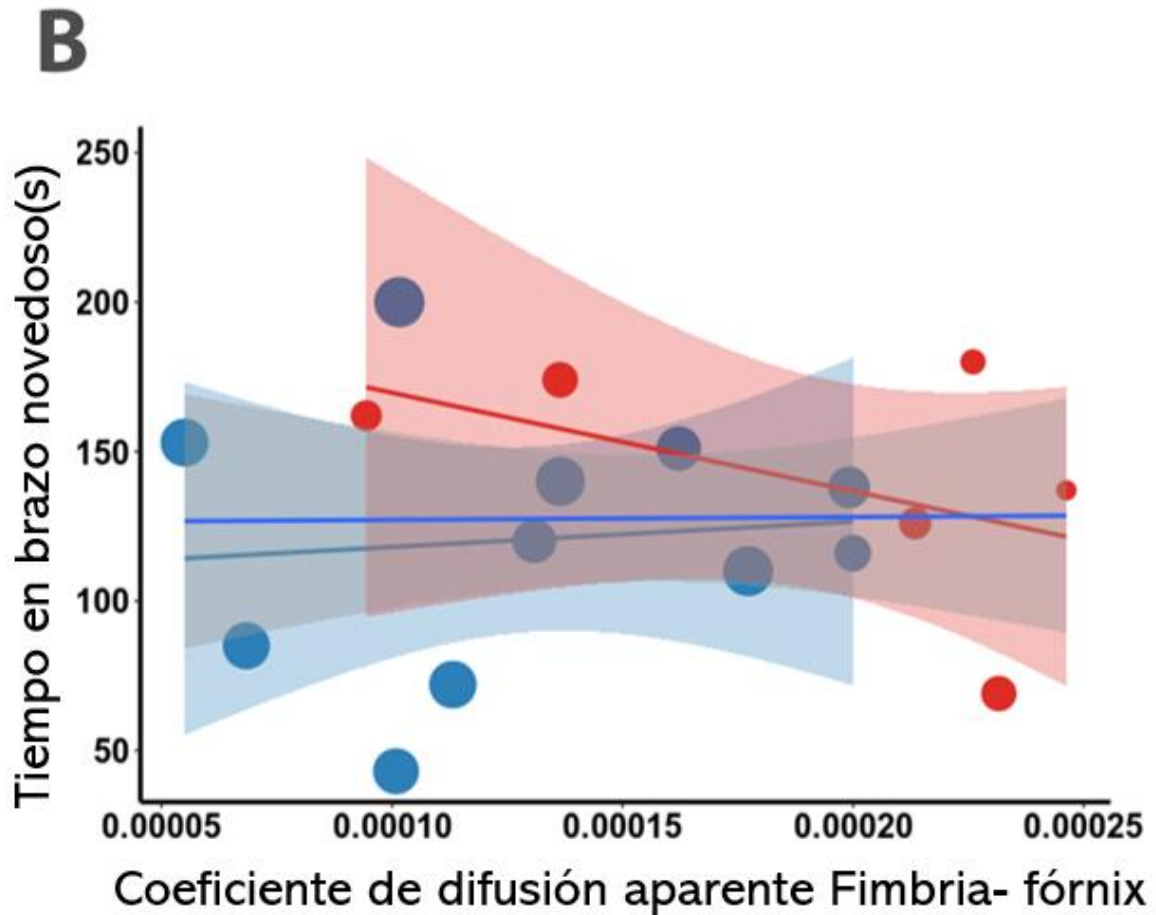


Figura 21. Cambios en las métricas de difusión en fimbria-fórnix seguidos de la exposición a la dieta CAF predicen la ansiedad en la descendencia. A) Tiempo de alternancia forzada pasado en el brazo novedoso en el laberinto en Y de los grupos CAF y control según la disminución de volumen en fimbria-fórnix y el coeficiente de difusión aparente en fimbria-fórnix. B) Tiempo de permanencia en bordes expresado como ansiedad en test de campo abierto de los grupos CAF y control según la disminución de volumen en fimbria-fórnix y el coeficiente de difusión aparente en fimbria-fórnix.

Tabla 6: Resultados del análisis de regresión de las variables conductuales y estructurales de CON vs CAF 2 meses.

Parametro	p-valor	R2 Ajustada	F-statistic, DF	Predictores	Coefficientes	p-valor
edges_OF ~DIET*ADC_FIMPEAK*fimbria_fornix	0.01295	0.611	4.82 7,10	Intercept	2.21	0.0002
				DIETCAF	-1.52	0.004
				ADC_FIMPEAK	-8601	0.002
				fimbria_fornix	-12.75	0.005
Parametro	p-valor	R2 Ajustada	F-statistic, DF	Predictores	Coefficientes	p-valor
time_in_a ~DIET*ADC_FIMPEAK*fimbria_fornix	0.329	0.1193	1.32 7,10	Intercept	-364.0	0.1265
				DIETCAF	60.77	0.0234
				ADC_FIMPEAK	2538e6	0.0568
				fimbria_fornix	4229	0.0554

8.DISCUSIÓN

La exposición prenatal a dietas de alto contenido energético aumenta la susceptibilidad a alteraciones conductuales de la descendencia en las primeras etapas de la vida. Los rasgos neurobiológicos que codifican los comportamientos aberrantes durante el desarrollo tras una exposición a fórmulas alimentarias calóricas no se conocen del todo. En este estudio, caracterizamos el volumen cerebral dependiente de la dieta y las alteraciones de difusión utilizando análisis de DBM y dMRI, prediciendo el comportamiento cognitivo en la descendencia en las primeras etapas de la vida. Identificamos que la descendencia expuesta a la dieta CAF durante la etapa prenatal promovió una disminución del volumen en la región fimbria-fornix y en la anisotropía fraccional, mientras que aumentó los valores de difusividad axial, difusividad radial y coeficiente de difusión aparente. Existen reportes donde no se encontraron efectos de las dietas alta en azúcar y CAF en la prueba de condicionamiento del miedo, lo que indica que no interfieren con la adquisición y memoria del miedo (Tovote et al., 2015). Esto indica que las dietas no condujeron a cambios estructurales o funcionales en el hipocampo, cuya integridad es necesaria para un aprendizaje y memoria contextual sin problemas, y en la amígdala, que se sabe que está involucrada en la respuesta conocida (Ferreira et al., 2018).

En nuestro modelo biológico identificamos que la disminución del volumen en la fimbria-fórnix y el aumento del coeficiente de difusión aparente predicen el tiempo de permanencia en los bordes como rasgo de ansiedad en las crías expuestas a la dieta CAF durante la programación prenatal. Nuestros datos proponen que la

exposición prenatal a dietas de alto contenido energético prepara cambios volumétricos selectivos en el circuito fimbria-fórnix que integran alteraciones de la sustancia blanca que se asemejan a un fenotipo de ansiedad en la descendencia.

Enriquecimos el análisis del fórnix-fimbria en las crías expuestas prenatalmente a la dieta CAF utilizando imágenes de RM con tensor de difusión (DTI). La DTI es un análisis basado en la RM que cuantifica la restricción del movimiento browniano de las moléculas de agua en el tejido cerebral, proporcionando un análisis microestructural de la sustancia blanca (Barry et al., 2021). El DTI proporciona una medida indirecta de las características del tejido según su métrica; por ejemplo, un DTI de difusión paralela es sensible a la integridad axonal, mientras que un DTI de difusión perpendicular muestra (pero no es específica) una alteración de la mielina y una densidad axonal disminuida. Encontramos que los hijos de CAF a los 2 meses de edad tenían una menor anisotropía fraccional y una mayor difusividad axial, difusividad radial y coeficiente de difusión aparente. En reportes, el rastreo cuantitativo de fibras reveló correlaciones inversas entre la anisotropía fraccional y la memoria de trabajo y la resolución de problemas en sujetos humanos sano (Thomas et al., 2011) y el mayor volumen de fimbria-fórnix y el valor de anisotropía fraccional predicen una mejor memoria espacial (Dahmani et al., 2020; Valladolid-Acebes et al., 2011) y el rendimiento de la memoria adulta (Benear et al., 2020) que apoyan nuestros principales hallazgos. En particular, en un informe reciente en el que se utilizó RM de difusión y tractografía de deconvolución esférica, los autores asociaron los cambios en las métricas de microestructura del fórnix a las cualidades de búsqueda de novedad y curiosidad (Valji et al., 2019). Este resultado apoya

nuestro principal hallazgo, lo que sugiere que las crías expuestas prenatalmente a la dieta CAF a los 2 meses de edad mostraron un comportamiento diferente ante lugares novedosos durante las pruebas.

Por último, realizamos un modelo biológico de regresión múltiple para predecir el efecto de la exposición prenatal a la dieta sobre los cambios en la estructura cerebral que favorecen el fracaso cognitivo en la descendencia. Informes previos documentaron que las crías de madres alimentadas con dieta CAF desarrollaron ansiedad (Ribeiro et al., 2018; Santos et al., 2018). Nuestro modelo predice que una disminución del volumen en la fimbria-fórnix y un aumento de su coeficiente de difusión aparente se asocia con un largo tiempo de permanencia en los bordes que se asemeja a un comportamiento similar a la ansiedad en las crías expuestas a la dieta CAF durante la etapa prenatal. La fimbria-fórnix es el principal tracto axonal de sustancia blanca que rodea el hipocampo, y está implicada en la coordinación de la respuesta de aprendizaje, memoria y las emociones (Benear et al., 2020; Rootman et al., 2022; Triplett et al., 2022) y se han descrito cambios de volumen en la fimbria-fórnix en humanos que muestran ansiedad. Se espera que una atrofia hipocampal esté asociada a una menor salida hipocampal en la fimbria, provocando un menor volumen de la misma. Por ejemplo, un estudio de DTI en humanos halló una correlación positiva entre las puntuaciones de ansiedad rasgo y los valores de anisotropía fraccional en el fórnix (Modi et al., 2013). En particular, se hallaron rasgos relacionados con la ansiedad en varias patologías cerebrales, como la anorexia nerviosa o la enfermedad de Huntington, que se correlacionaban con valores bajos de anisotropía fraccional, una difusión media alta o una disminución

del volumen del fórnix y en la fimbria (Frank et al., 2013; Gabery et al., 2021; Kazlouski et al., 2011; Martin Monzon et al., 2016). Cabe destacar que algunos informes también documentaron alteraciones microestructurales relacionadas con la exposición a una dieta alta en grasas (60% de calorías procedentes de grasas), como la alteración de la neurogénesis en el hipocampo (Niculescu & Lupu, 2009) o la reducción de la mielinización en la corteza medial (Graf et al., 2016). En consecuencia, estas pruebas sugieren que la exposición prenatal a dietas hipercalóricas promueve una integridad defectuosa de la sustancia blanca en el fórnix que predice un comportamiento similar a la ansiedad en la descendencia.

Proponemos un modelo tentativo en el que la exposición prenatal a la dieta CAF provoca cambios selectivos en el volumen y los parámetros difusionales en la fimbria-fórnix. Precisamente, basándonos en los datos de dMRI combinados con valores de volumen más bajos obtenidos por el análisis DMB, sugerimos que la fimbria-fórnix muestra menos integridad axonal, desmielinización y una organización de fibras más pobre junto con menos celularidad. Esta desmielinización y organización aberrante puede conducir a un comportamiento similar a la ansiedad en la descendencia a los 2 meses.

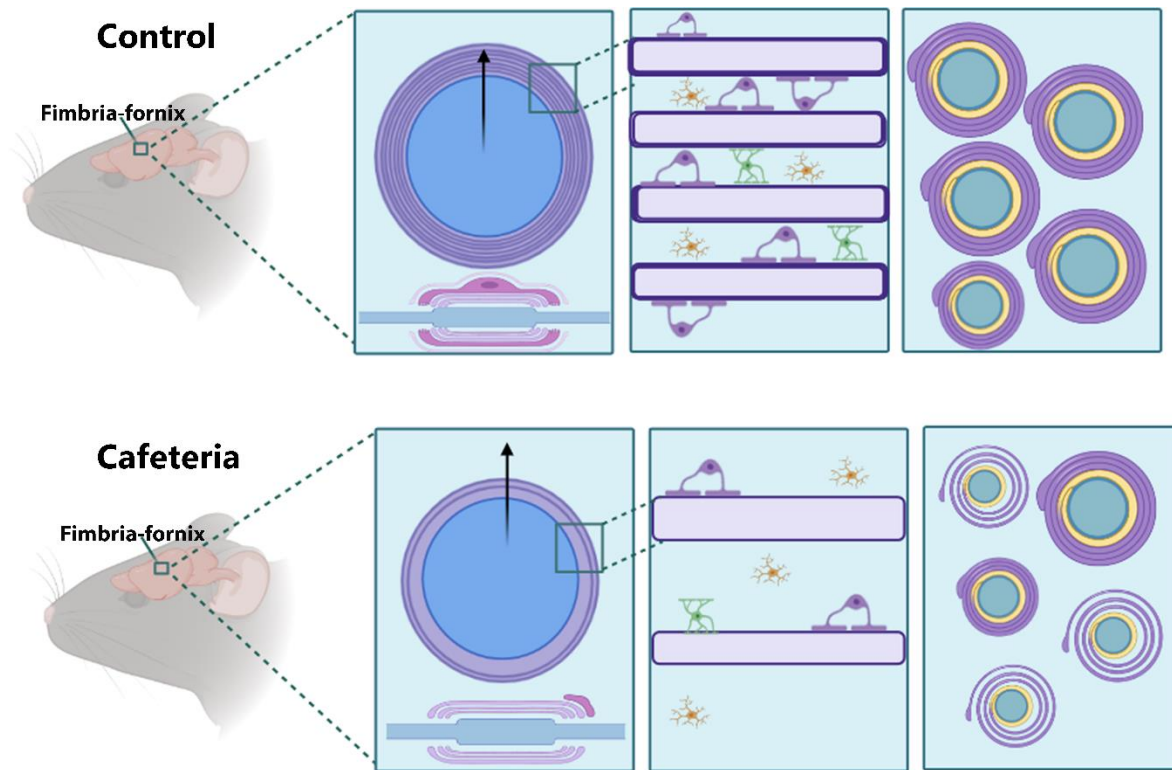


Figura 22. Modelo teórico que resume los hallazgos actuales en la descendencia expuesta prenatalmente a CAF frente a las dietas de control. A) En la descendencia de control, los axones están rodeados por vainas de mielina y están estrechamente dispuestos, lo que restringe la difusión de agua. Por el contrario, proponemos que, de acuerdo con métricas más altas de difusividad axial, difusividad radial y valores de coeficiente de difusión aparente, se asemejan a la degradación de las barreras fisiológicas a la difusión de agua. B) La difusión y un aumento de la difusividad en todas las direcciones en la descendencia con dieta CAF. Estas métricas podrían sugerir potencialmente una distorsión de la arquitectura axonal y la desmielinización. La difusión de agua a lo largo de la dirección perpendicular aumenta a medida que se interrumpe la mielina, lo que da como resultado una mayor difusividad radial. Se cree que la difusividad axial aumenta con la infiltración celular y los cambios en el agua extracelular. Finalmente, la descendencia CAF presenta también menor volumen en fimbria-fórnix podría indicar menor celularidad.

Las pruebas identificaron un declive dependiente de la edad en la integridad de la fimbria-fórnix mediante el rastreo cuantitativo de fibras, donde se observó tanto un aumento de la difusión axonal como de los coeficientes de difusión radial (Thomas et al., 2011; Zahr et al., 2009). Todavía quedan por evaluar algunas limitaciones potenciales para confirmar totalmente nuestro modelo tentativo. Por ejemplo, se debe integrar un T2 multicompartimental o una transferencia de magnetización para resolver con precisión las ambigüedades de la DTI y evaluar directamente la conformación de la mielina, lo que sería de interés para una futura línea de investigación.

A nivel neurofisiológico, el hipocampo es un candidato lógico para el deterioro de la memoria espacial y/o contextual causado por la dieta CAF, ya que esta región del cerebro también regula el comportamiento alimentario (Davidson et al., 2019). Se ha demostrado que una dieta CAF aumenta la neuroinflamación y reduce la neurogénesis en el hipocampo, lo cual, en la mayoría de los estudios, se correlaciona con un deterioro de la memoria espacial/contextual a nivel conductual (Beilharz et al., 2016, 2014; Ferreira et al., 2018; Gomez-Smith et al., 2016; Reichelt et al., 2015). Curiosamente, un estudio gestacional no encontró deterioro de la dieta materna CAF en las crías, pero tampoco efectos sobre el BDNF hipocampal (Mucellini et al., 2019). Resultados similares en cuanto al deterioro de la memoria espacial y la alteración de la formación hipocampal también se han encontrado con dietas HF/HS (Lalanza & Snoeren, 2021).

El hipocampo adulto y regiones relacionadas a este parecen ser vulnerables a las dietas altas en calorías solo bajo ciertas condiciones, como después de un consumo crónico (Farr et al., 2008; Heyward et al., 2012) o alimentación con dietas muy altas en calorías (Murray et al., 2009; Pistell et al., 2010). En conjunto, estos datos sugieren que los posibles efectos perjudiciales de las dietas altas en calorías en la cognición son multifactoriales y podrían depender de la composición de las dietas, la duración del tratamiento y la edad en la que se comienza a consumir estas dietas de manera continua (Ferreira et al., 2018).

Estudios en humanos sugieren que las dietas ricas en grasas y azúcares son un factor de riesgo de deterioro cognitivo en adultos, de aumento de la vulnerabilidad a la demencia e incluso, de ralentización del desarrollo de las habilidades cognitivas de los niños (Davidson et al., 2019; Morris et al., 2015). Debido a esto con respecto a los hallazgos obtenidos de los análisis a los 12 meses de edad, en la literatura se han explorado el deterioro cognitivo, la ansiedad y los déficits de memoria en ratones C57BL6 expuestos a dietas altas en grasas durante un período de 12 meses y aun que existe discrepancia entre los datos obtenidos. Algunos hallazgos clave son por ejemplo el estudio de Alkadhi et al. donde examinaron el rendimiento cognitivo de ratones de edad avanzada mediante la prueba del laberinto acuático de Morris y reportaron un deterioro cognitivo significativo relacionado con la edad a los 12 meses durante el envejecimiento fisiológico (Corona et al., 2012; Khan et al., 2017). Con respecto al factor de la dieta, Kanoski et al. encontraron que una dieta alta en grasas perjudicó la memoria en una nueva tarea de reconocimiento de objetos en ratones (Kanoski et al., 2007). En otro estudio de Richetto et al.

investigaron el impacto de la activación inmune prenatal en la función cognitiva en ratones adultos, donde encontraron problemas de flexibilidad cognitiva y memoria de trabajo a los 12 meses (Weber-Stadlbauer et al., 2017). Por último, Abiega et al. investigaron el papel de la microglía en la función de la memoria. Observaron alteraciones de la memoria en ratones con función microglial alterada, que persistieron a los 12 meses (Sanguino-Gómez et al., 2022). Adicionalmente, se ha reportado el impacto de la exposición a largo plazo a una dieta alta en grasas en la estructura del cerebro en ratones donde observaron reducciones significativas en el grosor cortical en la corteza prefrontal y el hipocampo (Stranahan et al., 2008). Estos cambios estructurales se asociaron con deterioros cognitivos, incluidos déficits en la función ejecutiva y la memoria espacial. A pesar de evidencia que sustenta el deterioro cognitivo a la edad de 12 meses, en nuestro estudio no se encontraron diferencias significativas en esta, esto se puede deber a el estímulo específico de nuestra dieta CAF y al estímulo indirecto de la programación fetal, ya que en otros estudios que utilizan una dieta similar a esta no han encontrado que la dieta CAF perjudique la memoria de reconocimiento en la prueba del reconocimiento de objetos novedosos o el paradigma de aprendizaje asociativo de la prueba de condicionamiento del miedo en múltiples estudios (Beilharz et al., 2018, 2016, 2014; Ferreira et al. , 2018; Leffa et al., 2015; Reichelt et al., 2015), por lo que se necesitan más pruebas para revelar más completamente los mecanismos cerebrales que subyacen a los cambios en la memoria espacial/contextual y de reconocimiento producidos por una dieta de comida hipercalórica (chatarra).

9. CONCLUSIÓN

La descendencia macho de madres expuestas a la dieta CAF mostró un aumento de volumen en la corteza somatosensorial primaria y un volumen reducido de fimbria-fórnix, que se correlaciona con alteraciones en la integridad de materia blanca a los 2 meses.

La exposición prenatal a la dieta CAF estimula la aparición de anomalías estructurales y de difusión en la descendencia, lo que resulta en un fenotipo de comportamiento similar a la ansiedad efecto que no se encontró a los 12 meses.

Nuestro estudio destaca el circuito fimbria-fórnix como un nodo subyacente afectado por la dieta durante la ventana prenatal, lo que podría aumentar el riesgo de desarrollar comportamientos aberrantes en las primeras etapas de la vida.

Estos resultados tienen implicaciones importantes para la comprensión de los efectos de la nutrición materna en el desarrollo fetal y la salud mental de la descendencia. Además, resaltan la importancia de una alimentación saludable durante el embarazo para promover un desarrollo cerebral óptimo.

En resumen, el estudio demuestra que la exposición prenatal a una dieta de tipo cafetería tiene consecuencias negativas en el comportamiento de ansiedad y en la estructura cerebral de la descendencia de ratones etapas tempranas. Estos hallazgos respaldan la evidencia de potenciales trastornos emocionales y cognitivos en la descendencia debidos a la mala alimentación.

10. REFERENCIAS

1. Avants, B. B., Epstein, C. L., Grossman, M., & Gee, J. C. (2008). Symmetric diffeomorphic image registration with cross-correlation: evaluating automated labeling of elderly and neurodegenerative brain. *Medical Image Analysis*, 12(1), 26–41. <https://doi.org/10.1016/J.MEDIA.2007.06.004>
2. Barrientos, R. M., Kitt, M. M., Watkins, L. R., & Maier, S. F. (2015). Neuroinflammation in the normal aging hippocampus. In *Neuroscience*. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.03.007>
3. Barry, E. F., Loftus, J. P., Luh, W. M., de Leon, M. J., Niogi, S. N., & Johnson, P. J. (2021). Diffusion tensor-based analysis of white matter in the healthy aging canine brain. *Neurobiology of Aging*. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2021.04.021>
4. Beard, J. R., Officer, A., De Carvalho, I. A., Sadana, R., Pot, A. M., Michel, J. P., Lloyd-Sherlock, P., Epping-Jordan, J. E., Peeters, G. M. E. E., Mahanani, W. R., Thiyagarajan, J. A., & Chatterji, S. (2016). The World report on ageing and health: A policy framework for healthy ageing. In *The Lancet*. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)00516-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)00516-4)
5. Benear, S. L., Ngo, C. T., & Olson, I. R. (2020). Dissecting the Fornix in Basic Memory Processes and Neuropsychiatric Disease: A Review. In *Brain Connectivity*. <https://doi.org/10.1089/brain.2020.0749>
6. Bilbo, S. D., & Tsang, V. (2010). Enduring consequences of maternal obesity for brain inflammation and behavior of offspring. *The FASEB Journal*. <https://doi.org/10.1096/fj.09-144014>
7. Buzsáki, G., & Moser, E. I. (2013). Memory, navigation and theta rhythm in the hippocampal-entorhinal system. In *Nature Neuroscience*. <https://doi.org/10.1038/nn.3304>

8. Camacho, A. (2017). Obesogenic diet intake during pregnancy programs aberrant synaptic plasticity and addiction-like behavior to a palatable food in offspring. *Behavioural Brain Research*. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.05.014>
9. Camer, D., Yu, Y., Szabo, A., Fernandez, F., Dinh, C. H. L., & Huang, X. F. (2015). Bardoxolone methyl prevents high-fat diet-induced alterations in prefrontal cortex signalling molecules involved in recognition memory. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2015.01.004>
10. Cano, P., Cardinali, D. P., Ríos-Lugo, M. J., Fernández-Mateos, M. P., Reyes Toso, C. F., & Esquifino, A. I. (2009). Effect of a high-fat diet on 24-hour pattern of circulating adipocytokines in rats. *Obesity*. <https://doi.org/10.1038/oby.2009.200>
11. Cedergren, M. I. (2004). Maternal morbid obesity and the risk of adverse pregnancy outcome. *Obstetrics and Gynecology*. <https://doi.org/10.1097/01.AOG.0000107291.46159.00>
12. Cordero-Grande, L., Christiaens, D., Hutter, J., Price, A. N., & Hajnal, J. V. (2019). Complex diffusion-weighted image estimation via matrix recovery under general noise models. *NeuroImage*, *200*, 391–404. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROIMAGE.2019.06.039>
13. Corona, A. W., Fenn, A. M., & Godbout, J. P. (2012). Cognitive and behavioral consequences of impaired immunoregulation in aging. In *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. <https://doi.org/10.1007/s11481-011-9313-4>
14. Crichton, G. E., Bryan, J., & Murphy, K. J. (2013). Dietary Antioxidants, Cognitive Function and Dementia - A Systematic Review. *Plant Foods for Human Nutrition*. <https://doi.org/10.1007/s11130-013-0370-0>
15. Cruz-Carrillo, G., Montalvo-Martínez, L., Cárdenas-Tueme, M., Bernal-Vega, S., Maldonado-Ruiz, R., Reséndez-Pérez, D., Rodríguez-Ríos, D., Lund, G., Garza-

- Ocañas, L., & Camacho-Morales, A. (2020). Fetal Programming by Methyl Donors Modulates Central Inflammation and Prevents Food Addiction-Like Behavior in Rats. *Frontiers in Neuroscience*. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00452>
16. Cunha, C., Brambilla, R., & Thomas, K. L. (2010). A simple role for BDNF in learning and memory? *Frontiers in Molecular Neuroscience*. <https://doi.org/10.3389/neuro.02.001.2010>
17. Czeh, M., Gressens, P., & Kaindl, A. M. (2011). The yin and yang of microglia. In *Developmental Neuroscience*. <https://doi.org/10.1159/000328989>
18. Dahmani, L., Courcot, B., Near, J., Patel, R., Amaral, R. S. C., Chakravarty, M. M., & Bohbot, V. D. (2020). Fimbria-Fornix Volume Is Associated With Spatial Memory and Olfactory Identification in Humans. *Frontiers in Systems Neuroscience*. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2019.00087>
19. Darowski, E. S., Helder, E., Zacks, R. T., Hasher, L., & Hambrick, D. Z. (2008). Age-Related Differences in Cognition: The Role of Distraction Control. *Neuropsychology*. <https://doi.org/10.1037/0894-4105.22.5.638>
20. de la Garza, A. L., Garza-Cuellar, M. A., Silva-Hernandez, I. A., Cardenas-Perez, R. E., Reyes-Castro, L. A., Zambrano, E., Gonzalez-Hernandez, B., Garza-Ocañas, L., Fuentes-Mera, L., & Camacho, A. (2019). Maternal Flavonoids Intake Reverts Depression-Like Behaviour in Rat Female Offspring. *Nutrients*, *11*(3), 572. <https://doi.org/10.3390/NU11030572>
21. De La Torre, J. C. (2013). Vascular risk factors: A ticking time bomb to alzheimer's disease. *American Journal of Alzheimer's Disease and Other Dementias*. <https://doi.org/10.1177/1533317513494457>
22. Dominguez, L. J., & Barbagallo, M. (2018). Nutritional prevention of cognitive decline and dementia. In *Acta Biomedica*. <https://doi.org/10.23750/abm.v89i2.7401>
23. Duarte, A., Hayasaka, S., Du, A., Schuff, N., Jahng, G. H., Kramer, J., Miller, B., &

- Weiner, M. (2006). Volumetric correlates of memory and executive function in normal elderly, mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neuroscience Letters*, 406(1–2), 60–65. <https://doi.org/10.1016/J.NEULET.2006.07.029>
24. Emmerzaal, T. L., Kiliaan, A. J., & Gustafson, D. R. (2015). 2003-2013: A decade of body mass index, Alzheimer's disease, and dementia. In *Journal of Alzheimer's Disease*. <https://doi.org/10.3233/JAD-141086>
25. Frank, G. K. W., Shott, M. E., Hagman, J. O., & Yang, T. T. (2013). Localized brain volume and white matter integrity alterations in adolescent anorexia nervosa. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, 52(10). <https://doi.org/10.1016/J.JAAC.2013.07.007>
26. Frank, M. G., Barrientos, R. M., Biedenkapp, J. C., Rudy, J. W., Watkins, L. R., & Maier, S. F. (2006). mRNA up-regulation of MHC II and pivotal pro-inflammatory genes in normal brain aging. *Neurobiology of Aging*. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2005.03.013>
27. Frank, M. G., Barrientos, R. M., Watkins, L. R., & Maier, S. F. (2010). Aging sensitizes rapidly isolated hippocampal microglia to LPS ex vivo. *Journal of Neuroimmunology*. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2010.05.022>
28. Fu, Q., Olson, P., Rasmussen, D., Keith, B., Williamson, M., Zhang, K. K., & Xie, L. (2016). A short-term transition from a high-fat diet to a normal-fat diet before pregnancy exacerbates female mouse offspring obesity. *International Journal of Obesity*. <https://doi.org/10.1038/ijo.2015.236>
29. Fuentes, F., Zimmer, D., Atienza, M., Schottenfeld, J., Penkala, I., Bale, T., Bence, K. K., & Arregui, C. O. (2012). Protein tyrosine phosphatase PTP1B is involved in hippocampal synapse formation and learning. *PLoS ONE*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0041536>
30. Gabery, S., Kwa, J. E., Cheong, R. Y., Baldo, B., Ferrari Bardile, C., Tan, B., McLean,

- C., Georgiou-Karistianis, N., Poudel, G. R., Halliday, G., Pouladi, M. A., & Petersén, Å. (2021). Early white matter pathology in the fornix of the limbic system in Huntington disease. *Acta Neuropathologica*, 142(5), 791–806. <https://doi.org/10.1007/S00401-021-02362-8/FIGURES/5>
31. Gaugler, J., James, B., Johnson, T., Scholz, K., & Weuve, J. (2016). 2016 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's and Dementia*. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2016.03.001>
32. Gawlińska, K., Gawliński, D., Korostyński, M., Borczyk, M., Frankowska, M., Piechota, M., Filip, M., & Przegaliński, E. (2021). Maternal dietary patterns are associated with susceptibility to a depressive-like phenotype in rat offspring. *Developmental Cognitive Neuroscience*, 47. <https://doi.org/10.1016/J.DCN.2020.100879>
33. George, G., Draycott, S. A. V., Muir, R., Clifford, B., Elmes, M. J., & Langley-Evans, S. C. (2019). The impact of exposure to cafeteria diet during pregnancy or lactation on offspring growth and adiposity before weaning. *Scientific Reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/S41598-019-50448-X>
34. Ginhoux, F., Lim, S., Hoeffel, G., Low, D., & Huber, T. (2013). Origin and differentiation of microglia. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. <https://doi.org/10.3389/fncel.2013.00045>
35. Graf, A. E., Lallier, S. W., Waidyaratne, G., Thompson, M. D., Tipple, T. E., Hester, M. E., Trask, A. J., & Rogers, L. K. (2016). Maternal high fat diet exposure is associated with increased hepcidin levels, decreased myelination, and neurobehavioral changes in male offspring. *Brain, Behavior, and Immunity*, 58, 369–378. <https://doi.org/10.1016/J.BBI.2016.08.005>
36. Gunstad, J., Paul, R. H., Cohen, R. A., Tate, D. F., Spitznagel, M. B., Grieve, S., & Gordon, E. (2008). Relationship between body mass index and brain volume in

- healthy adults. *International Journal of Neuroscience*.
<https://doi.org/10.1080/00207450701392282>
37. Gustafson, D. R., Karlsson, C., Skoog, I., Rosengren, L., Lissner, L., & Blennow, K. (2007). Mid-life adiposity factors relate to blood-brain barrier integrity in late life. *Journal of Internal Medicine*. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2007.01869.x>
38. Harada, C. N., Natelson Love, M. C., & Triebel, K. L. (2013). Normal cognitive aging. In *Clinics in Geriatric Medicine*. <https://doi.org/10.1016/j.cger.2013.07.002>
39. Hoeijmakers, L., Lucassen, P. J., & Korosi, A. (2015). The interplay of early-life stress, nutrition, and immune activation programs adult hippocampal structure and function. *Frontiers in Molecular Neuroscience*.
<https://doi.org/10.3389/fnmol.2014.00103>
40. Honey, C. J., Sporns, O., Cammoun, L., Gigandet, X., Thiran, J. P., Meuli, R., & Hagmann, P. (2009). Predicting human resting-state functional connectivity from structural connectivity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *106*(6), 2035–2040.
https://doi.org/10.1073/PNAS.0811168106/SUPPL_FILE/0811168106SI.PDF
41. Jahangiri, A., Wilson, P. G., Hou, T., Brown, A., King, V. L., & Tannock, L. R. (2013). Serum amyloid A is found on ApoB-containing lipoproteins in obese humans with diabetes. *Obesity*. <https://doi.org/10.1002/oby.20126>
42. Jiang, T., Yin, F., Yao, J., Brinton, R. D., & Cadenas, E. (2013). Lipoic acid restores age-associated impairment of brain energy metabolism through the modulation of Akt/JNK signaling and PGC1 α transcriptional pathway. *Aging Cell*.
<https://doi.org/10.1111/accel.12127>
43. Jung, M., & Pfeifer, G. P. (2015). Aging and DNA methylation. *BMC Biology*.
<https://doi.org/10.1186/s12915-015-0118-4>
44. Jung, S. E., Shin, K. J., & Lee, H. Y. (2017). DNA methylation-based age prediction

- from various tissues and body fluids. In *BMB Reports*.
<https://doi.org/10.5483/BMBRep.2017.50.11.175>
45. Kazlouski, D., Rollin, M. D. H., Tregellas, J., Shott, M. E., Jappe, L. M., Hagman, J. O., Pryor, T., Yang, T. T., & Frank, G. K. W. (2011). Altered fimbria-fornix white matter integrity in anorexia nervosa predicts harm avoidance. *Psychiatry Research*, *192*(2), 109. <https://doi.org/10.1016/J.PSCYCHRESNS.2010.12.006>
46. Lecoutre, S., Oger, F., Pourpe, C., Butruille, L., Marousez, L., Dickes-coopman, A., Laborie, C., Guinez, C., Lesage, J., Vieau, D., Junien, C., Eberlé, D., Gabory, A., Eeckhoute, J., & Breton, C. (2017). Maternal obesity programs increased leptin gene expression in rat male offspring via epigenetic modifications in a depot-specific manner. *Molecular Metabolism*, *6*(8), 922–930. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2017.05.010>
47. Lezak, M. D., Howieson, D. B., Bigler, E. D., & Tranel, D. (2012). Neuropsychological Assessment Chapter 3. In *Neuropsychological Assessment*.
48. Liu, X., Li, X., Xia, B., Jin, X., Zou, Q., Zeng, Z., Zhao, W., Yan, S., Li, L., Yuan, S., Zhao, S., Dai, X., Yin, F., Cadenas, E., Liu, R. H., Zhao, B., Hou, M., Liu, Z., & Liu, X. (2021). High-fiber diet mitigates maternal obesity-induced cognitive and social dysfunction in the offspring via gut-brain axis. *Cell Metabolism*. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2021.02.002>
49. Livingston, G., Sommerlad, A., Orgeta, V., Costafreda, S. G., Huntley, J., Ames, D., Ballard, C., Banerjee, S., Burns, A., Cohen-Mansfield, J., Cooper, C., Fox, N., Gitlin, L. N., Howard, R., Kales, H. C., Larson, E. B., Ritchie, K., Rockwood, K., Sampson, E. L., ... Mukadam, N. (2017). Dementia prevention, intervention, and care. In *The Lancet*. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31363-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31363-6)
50. López-Otín, C., Blasco, M. A., Partridge, L., Serrano, M., & Kroemer, G. (2013). The hallmarks of aging. In *Cell*. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.05.039>

51. Lorenzo, M., Fernández-Veledo, S., Vila-Bedmar, R., Garcia-Guerra, L., De Alvaro, C., & Nieto-Vazquez, I. (2008). Insulin resistance induced by tumor necrosis factor-alpha in myocytes and brown adipocytes. In *Journal of animal science*. <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0462>
52. Maldonado-Ruiz, R., Montalvo-Martínez, L., Fuentes-Mera, L., & Camacho, A. (2017). Microglia activation due to obesity programs metabolic failure leading to type two diabetes. *Nutrition & Diabetes*, 7, e254. <https://doi.org/10.1038/nutd.2017.10>
53. Maldonado-Ruiz, Roger, Cárdenas-Tueme, M., Montalvo-Martínez, L., Vidaltamayo, R., Garza-Ocañas, L., Reséndez-Perez, D., & Camacho, A. (2019). Priming of hypothalamic ghrelin signaling and microglia activation exacerbate feeding in rats' offspring following maternal overnutrition. *Nutrients*. <https://doi.org/10.3390/nu11061241>
54. Martin Monzon, B., Hay, P., Foroughi, N., & Touyz, S. (2016). White matter alterations in anorexia nervosa: A systematic review of diffusion tensor imaging studies. *World Journal of Psychiatry*, 6(1), 177–186. <https://doi.org/10.5498/wjp.v6.i1.177>
55. Masuyama, H., & Hiramatsu, Y. (2012). Effects of a high-fat diet exposure in utero on the metabolic syndrome-like phenomenon in mouse offspring through epigenetic changes in adipocytokine gene expression. *Endocrinology*. <https://doi.org/10.1210/en.2011-2161>
56. Masuyama, H., Mitsui, T., Eguchi, T., Tamada, S., & Hiramatsu, Y. (2016). The effects of paternal high-fat diet exposure on offspring metabolism with epigenetic changes in the mouse *adiponectin* and *leptin* gene promoters. *American Journal of Physiology - Endocrinology And Metabolism*. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00095.2016>

57. Masuyama, H., Mitsui, T., Nobumoto, E., & Hiramatsu, Y. (2015). The effects of high-fat diet exposure in utero on the obesogenic and diabetogenic traits through epigenetic changes in Adiponectin and Leptin gene expression for multiple generations in female mice. *Endocrinology*. <https://doi.org/10.1210/en.2014-2020>
58. McNaul, B. B. A., Todd, S., McGuinness, B., & Passmore, A. P. (2010). Inflammation and anti-inflammatory strategies for Alzheimer's disease - A mini-review. In *Gerontology*. <https://doi.org/10.1159/000237873>
59. Milanski, M., Degasperi, G., Coope, A., Morari, J., Denis, R., Cintra, D. E., Tsukumo, D. M. L., Anhe, G., Amaral, M. E., Takahashi, H. K., Curi, R., Oliveira, H. C., Carnevali, J. B. C., Bordin, S., Saad, M. J., & Velloso, L. A. (2009). Saturated Fatty Acids Produce an Inflammatory Response Predominantly through the Activation of TLR4 Signaling in Hypothalamus: Implications for the Pathogenesis of Obesity. *Journal of Neuroscience*. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2760-08.2009>
60. Miller, A. A., & Spencer, S. J. (2014). Obesity and neuroinflammation: A pathway to cognitive impairment. *Brain, Behavior, and Immunity*. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2014.04.001>
61. Modi, S., Trivedi, R., Singh, K., Kumar, P., Rathore, R. K. S., Tripathi, R. P., & Khushu, S. (2013). Individual differences in trait anxiety are associated with white matter tract integrity in fornix and uncinate fasciculus: preliminary evidence from a DTI based tractography study. *Behavioural Brain Research*, 238(1), 188–192. <https://doi.org/10.1016/J.BBR.2012.10.007>
62. Morley, J. E. (2018). An Overview of Cognitive Impairment. *Clinics in Geriatric Medicine*, 34(4), 505–513. <https://doi.org/10.1016/j.cger.2018.06.003>
63. Niculescu, M. D., & Lupu, D. S. (2009). High fat diet-induced maternal obesity alters fetal hippocampal development. *International Journal of Developmental Neuroscience*. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2009.08.005>

64. Noble, E. E., Billington, C. J., Kotz, C. M., & Wang, C. (2011). The lighter side of BDNF. In *American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology*. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00776.2010>
65. Paolicelli, R. C., Bolasco, G., Pagani, F., Maggi, L., Scianni, M., Panzanelli, P., Giustetto, M., Ferreira, T. A., Guiducci, E., Dumas, L., Ragozzino, D., & Gross, C. T. (2011). Synaptic pruning by microglia is necessary for normal brain development. *Science*. <https://doi.org/10.1126/science.1202529>
66. Paolicelli, R. C., & Ferretti, M. T. (2017). Function and dysfunction of microglia during brain development: Consequences for synapses and neural circuits. In *Frontiers in Synaptic Neuroscience*. <https://doi.org/10.3389/fnsyn.2017.00009>
67. Park, D. C., & Festini, S. B. (2017). Theories of memory and aging: A look at the past and a glimpse of the future. In *Journals of Gerontology - Series B Psychological Sciences and Social Sciences*. <https://doi.org/10.1093/geronb/gbw066>
68. Pennanen, C., Kivipelto, M., Tuomainen, S., Hartikainen, P., Hänninen, T., Laakso, M. P., Hallikainen, M., Vanhanen, M., Nissinen, A., Helkala, E. L., Vainio, P., Vanninen, R., Partanen, K., & Soininen, H. (2004). Hippocampus and entorhinal cortex in mild cognitive impairment and early AD. *Neurobiology of Aging*, *25*(3), 303–310. [https://doi.org/10.1016/S0197-4580\(03\)00084-8](https://doi.org/10.1016/S0197-4580(03)00084-8)
69. Pistell, P. J., Morrison, C. D., Gupta, S., Knight, A. G., Keller, J. N., Ingram, D. K., & Bruce-Keller, A. J. (2010). Cognitive impairment following high fat diet consumption is associated with brain inflammation. *Journal of Neuroimmunology*. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2009.11.010>
70. Ramírez-López, M. T., Vázquez, M., Bindila, L., Lomazzo, E., Hofmann, C., Blanco, R. N., Alén, F., Antón, M., Decara, J., Ouro, D., Orio, L., Suarez, J., Lutz, B., Rodríguez de Fonseca, F., & Gómez de Heras, R. (2016). Exposure to a Highly Caloric Palatable Diet During Pregestational and Gestational Periods Affects

- Hypothalamic and Hippocampal Endocannabinoid Levels at Birth and Induces Adiposity and Anxiety-Like Behaviors in Male Rat Offspring. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2015.00339>
71. Ribeiro, A. C. A. F., Batista, T. H., Veronesi, V. B., Giusti-Paiva, A., & Vilela, F. C. (2018). Cafeteria diet during the gestation period programs developmental and behavioral courses in the offspring. *International Journal of Developmental Neuroscience*. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2018.05.001>
72. Rönnlund, M., Nyberg, L., Bäckman, L., & Nilsson, L. G. (2005). Stability, growth, and decline in adult life span development of declarative memory: Cross-sectional and longitudinal data from a population-based study. *Psychology and Aging*. <https://doi.org/10.1037/0882-7974.20.1.3>
73. Rootman, M. S., Kornreich, L., Osherov, A. N., & Konen, O. (2022). DWI Hyperintensity in the Fornix Fimbria on MRI in Children. *American Journal of Neuroradiology*. <https://doi.org/10.3174/ajnr.A7437>
74. Rose, C. R., Blum, R., Kafitz, K. W., Kovalchuk, Y., & Konnerth, A. (2004). From modulator to mediator: Rapid effects of BDNF on ion channels. In *BioEssays*. <https://doi.org/10.1002/bies.20118>
75. Rozovsky, I., Finch, C. E., & Morgan, T. E. (1998). Age-related activation of microglia and astrocytes: In vitro studies show persistent phenotypes of aging, increased proliferation, and resistance to down-regulation. *Neurobiology of Aging*. [https://doi.org/10.1016/S0197-4580\(97\)00169-3](https://doi.org/10.1016/S0197-4580(97)00169-3)
76. Salthouse, T. (2012). Consequences of Age-Related Cognitive Declines. *Annual Review of Psychology*. <https://doi.org/10.1146/annurev-psych-120710-100328>
77. Segovia, S. A., Vickers, M. H., Gray, C., & Reynolds, C. M. (2014). Maternal obesity, inflammation, and developmental programming. In *BioMed Research International*. <https://doi.org/10.1155/2014/418975>

78. Sepúlveda, J., & Murray, C. (2014). The state of global health in 2014. In *Science*.
<https://doi.org/10.1126/science.1257099>
79. Seremak-Mrozikiewicz, A., Barlik, M., & Drews, K. (2014). [Fetal programming as a cause of chronic diseases in adult life]. *Ginekologia Polska*, *85*(1), 43–48.
<https://doi.org/10.17772/GP/1689>
80. Shaftel, S. S., Griffin, W. S. T., & Kerry, K. M. (2008). The role of interleukin-1 in neuroinflammation and Alzheimer disease: An evolving perspective. In *Journal of Neuroinflammation*. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-5-7>
81. Shefer, G., Marcus, Y., & Stern, N. (2013). Is obesity a brain disease? In *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*.
<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2013.07.015>
82. Sobesky, J. L., Barrientos, R. M., De May, H. S., Thompson, B. M., Weber, M. D., Watkins, L. R., & Maier, S. F. (2014). High-fat diet consumption disrupts memory and primes elevations in hippocampal IL-1 β , an effect that can be prevented with dietary reversal or IL-1 receptor antagonism. *Brain, Behavior, and Immunity*.
<https://doi.org/10.1016/j.bbi.2014.06.017>
83. Sobesky, J. L., D'Angelo, H. M., Weber, M. D., Anderson, N. D., Frank, M. G., Watkins, L. R., Maier, S. F., & Barrientos, R. M. (2016). Glucocorticoids mediate short-term high-fat diet induction of neuroinflammatory priming, the NLRP3 inflammasome, and the danger signal HMGB1. *ENeuro*.
<https://doi.org/10.1523/ENEURO.01113-16.2016>
84. Spencer, S. J., D'Angelo, H., Soch, A., Watkins, L. R., Maier, S. F., & Barrientos, R. M. (2017). High-fat diet and aging interact to produce neuroinflammation and impair hippocampal- and amygdalar-dependent memory. *Neurobiology of Aging*.
<https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2017.06.014>
85. Tabachnik, T., Kisliouk, T., Marco, A., Meiri, N., & Weller, A. (2017). *Thyroid*

- Hormone-Dependent Epigenetic Regulation of Melanocortin 4 Receptor Levels in Female Offspring of Obese Rats.* 158(November 2016), 842–851.
<https://doi.org/10.1210/en.2016-1854>
86. Terry, R. D., & Katzman, R. (2001). Life span and synapses: Will there be a primary senile dementia? In *Neurobiology of Aging*. [https://doi.org/10.1016/S0197-4580\(00\)00250-5](https://doi.org/10.1016/S0197-4580(00)00250-5)
87. Thomas, A. G., Koumellis, P., & Dineen, R. A. (2011). The fornix in health and disease: An imaging review. *Radiographics*. <https://doi.org/10.1148/rg.314105729>
88. Tournier, J. D., Smith, R., Raffelt, D., Tabbara, R., Dhollander, T., Pietsch, M., Christiaens, D., Jeurissen, B., Yeh, C. H., & Connelly, A. (2019). MRtrix3: A fast, flexible and open software framework for medical image processing and visualisation. In *NeuroImage*. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2019.116137>
89. Trujillo-Villarreal, L. A., Romero-Díaz, V. J., Marino-Martínez, I. A., Fuentes-Mera, L., Ponce-Camacho, M. A., Devenyi, G. A., Mallar Chakravarty, M., Camacho-Morales, A., & Garza-Villarreal, E. E. (2021). Maternal cafeteria diet exposure primes depression-like behavior in the offspring evoking lower brain volume related to changes in synaptic terminals and gliosis. *Translational Psychiatry*. <https://doi.org/10.1038/s41398-020-01157-x>
90. Valji, A., Priemysheva, A., Hodgetts, C. J., Costigan, A. G., Parker, G. D., Graham, K. S., Lawrence, A. D., & Gruber, M. J. (2019). White matter pathways supporting individual differences in epistemic and perceptual curiosity. *BioRxiv*, 1–33. <https://doi.org/10.1101/642165>
91. Valladolid-Acebes, I., Stucchi, P., Cano, V., Fernández-Alfonso, M. S., Merino, B., Gil-Ortega, M., Fole, A., Morales, L., Ruiz-Gayo, M., & Olmo, N. Del. (2011). High-fat diets impair spatial learning in the radial-arm maze in mice. *Neurobiology of Learning and Memory*. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2010.11.007>

92. Vaupel, J. W. (2010). Biodemography of human ageing. In *Nature*.
<https://doi.org/10.1038/nature08984>
93. Verstynen, T. D., Weinstein, A. M., Schneider, W. W., Jakicic, J. M., Rofey, D. L., & Erickson, K. I. (2012). Increased body mass index is associated with a global and distributed decrease in white matter microstructural integrity. *Psychosomatic Medicine*. <https://doi.org/10.1097/PSY.0b013e318261909c>
94. Ward, M. A., Carlsson, C. M., Trivedi, M. A., Sager, M. A., & Johnson, S. C. (2005). The effect of body mass index on global brain volume in middle-aged adults: A cross sectional study. *BMC Neurology*. <https://doi.org/10.1186/1471-2377-5-23>
95. Wickham, H., Averick, M., Bryan, J., Chang, W., D' L., McGowan, A., François, R., Grolemond, G., Hayes, A., Henry, L., Hester, J., Kuhn, M., Lin Pedersen, T., Miller, E., Bache, S. M., Müller, K., Ooms, J., Robinson, D., Seidel, D. P., ... Yutani, H. (2019). Welcome to the Tidyverse. *Journal of Open Source Software*, 4(43), 1686.
<https://doi.org/10.21105/JOSS.01686>
96. Williams, L., Seki, Y., Vuguin, P. M., & Charron, M. J. (2014). Animal models of in utero exposure to a high fat diet: A review. In *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2013.07.006>
97. Willoughby, R. R. (1929). Incidental learning. *Journal of Educational Psychology*.
<https://doi.org/10.1037/h0071404>
98. Wisdom, N. M., Mignogna, J., & Collins, R. L. (2012). Variability in wechsler adult intelligence scale-IV subtest performance across age. *Archives of Clinical Neuropsychology*. <https://doi.org/10.1093/arclin/acs041>
99. Witter, M. P., Kleven, H., & Kobro Flatmoen, A. (2017). Comparative Contemplations on the Hippocampus. *Brain, Behavior and Evolution*.
<https://doi.org/10.1159/000475703>
100. Wolf, A., Bauer, B., Abner, E. L., Ashkenazy-Frolinger, T., & Hartz, A. M. S.

- (2016). A Comprehensive Behavioral Test Battery to Assess Learning and Memory in 129S6/Tg2576 Mice. *PloS One*, 11(1).
<https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0147733>
101. Xu, H., Teoman Uysal, K., David Becherer, J., Arner, P., & Hotamisligil, G. S. (2002). Altered tumor necrosis factor- α (TNF- α) processing in adipocytes and increased expression of transmembrane TNF- α in obesity. *Diabetes*.
<https://doi.org/10.2337/diabetes.51.6.1876>
102. Yang, Y., & Wang, J. Z. (2017). From structure to behavior in basolateral amygdala-hippocampus circuits. In *Frontiers in Neural Circuits*.
<https://doi.org/10.3389/fncir.2017.00086>
103. Yoshii, A., & Constantine-Paton, M. (2007). BDNF induces transport of PSD-95 to dendrites through PI3K-AKT signaling after NMDA receptor activation. *Nature Neuroscience*. <https://doi.org/10.1038/nn1903>
104. Zahr, N. M., Rohlfing, T., Pfefferbaum, A., & Sullivan, E. V. (2009). Problem solving, working memory, and motor correlates of association and commissural fiber bundles in normal aging: A quantitative fiber tracking study. *NeuroImage*.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2008.09.046>
105. Zeidman, P., & Maguire, E. A. (2016). Anterior hippocampus: The anatomy of perception, imagination and episodic memory. In *Nature Reviews Neuroscience*.
<https://doi.org/10.1038/nrn.2015.24>