

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE SALUD PÚBLICA Y NUTRICIÓN**



**LA INGESTA MATERNA DE UNA DIETA DE CAFETERÍA Y SU EFECTO
SOBRE EL COMPORTAMIENTO TIPO AUTISTA EN LA DESCENDENCIA
MACHO EN UN MODELO MURINO**

POR:

KARLA GABRIELA LÓPEZ NARCE

Como requisito parcial para obtener el Grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS EN NUTRICIÓN

Julio, 2024

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE SALUD PÚBLICA Y NUTRICIÓN**



TESIS

**LA INGESTA MATERNA DE UNA DIETA DE CAFETERÍA Y SU EFECTO
SOBRE EL COMPORTAMIENTO TIPO AUTISTA EN LA DESCENDENCIA
MACHO EN UN MODELO MURINO**

PRESENTA

KARLA GABRIELA LÓPEZ NARCE

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS EN NUTRICIÓN**

Monterrey, N. L., México

Julio, 2024

**LA INGESTA MATERNA DE UNA DIETA DE CAFETERÍA Y SU EFECTO SOBRE EL
COMPORTAMIENTO TIPO AUTISTA EN LA DESCENDENCIA MACHO EN UN
MODELO MURINO**

Aprobación de Tesis

Dr. Heriberto Castro García

Presidente

Dr. Alberto Camacho Morales

Secretario

Dra. Vania Urias Orona

Vocal

Dra. Blanca Edelia González Martínez

Subdirectora de Investigación, Innovación y Posgrado

COMITÉ DE EVALUACIÓN DE TESIS

El comité de evaluación de tesis **APROBADA** la tesis titulada “**LA INGESTA MATERNA DE UNA DIETA DE CAFETERÍA Y SU EFECTO SOBRE EL COMPORTAMIENTO TIPO AUTISTA EN LA DESCENDENCIA MACHO EN UN MODELO MURINO**” presentada por Karla Gabriela López Narce, con la finalidad de obtener el grado de Maestría en Ciencias en Nutrición.

Dr. Alberto Camacho Morales

Presidente

Dr. Heriberto Castro García

Secretario

Dra. Ana Laura Isabel de la Garza Hernández

Vocal

Monterrey, Nuevo León, julio 2024



FACULTAD DE SALUD PÚBLICA Y NUTRICIÓN

DRA. EN C. BLANCA EDELIA GONZÁLEZ MARTÍNEZ
Subdirectora de Investigación, Innovación y Posgrado
FASPYN/UANL

MSP. NOHEMÍ LILIANA NEGRETE LÓPEZ
Secretaria Académica de
Posgrado FASPYN/UANL
Presente.-

Me permito comunicar por este medio que se ha concluido tanto la revisión como sugerencias realizadas por el Comité de Evaluación de la Tesis titulada **“LA INGESTA MATERNA DE UNA DIETA DE CAFETERÍA Y SU EFECTO SOBRE EL COMPORTAMIENTO TIPO AUTISTA EN LA DESCENDENCIA MACHO EN UN MODELO MURINO “**, que ha sido realizada por: **Karla Gabriela López Narce**. Lo anterior a fin de que sea considerada para continuar con los trámites académicos y administrativos para obtener el grado de Maestría en Ciencias en Nutrición.

Sin otro particular por el momento, quedo de usted.

Atentamente,
“Alere Flammam Veritatis”
Monterrey, N.L. 20 de junio de 2024

Dr. Heriberto Castro García
DIRECTOR DE TESIS
Profesor Titular de Tiempo Completo
Facultad de Salud Pública y Nutrición



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Av. Dr. Eduardo Aguirre Pequeño y Yuriria, Col. Mitras Centro, Monterrey, Nuevo León, México, C.P. 64460
81 1340 4890 • www.faspyn.uanl.mx

AGRADECIMIENTOS

Agradezco profundamente a Dios por darme la fortaleza y perseverancia para completar esta tesis. Sin su guía y bendiciones, este logro no habría sido posible.

A mis padres, por haberme formado como la persona que soy en la actualidad. Su constante inspiración y apoyo inagotable me han acompañado a lo largo de este camino. Siempre han sido mi mayor motivación para seguir adelante.

Quiero agradecer a mi director de tesis, el Dr. Heriberto Castro García, por compartir conmigo sus conocimientos, tiempo y apoyo durante la realización de la tesis. Sus observaciones y exigencias fueron un marco de referencia para la calidad de mi trabajo. A la Dra. Ana Laura Isabel de la Garza Hernández, por sus valiosas aportaciones tanto en seminarios como en la escritura de la tesis. Al Dr. Alberto Camacho Morales, por compartir conmigo sus conocimientos y observaciones.

A mis compañeras de maestría, Rosy y Anael, por estar presentes en los logros y aciertos, así como en las frustraciones. Su compañía ha sido inestimable en los momentos más desafiantes.

Tabla de contenido

NOMENCLATURA.....	9
RESUMEN	10
ABSTRACT.....	11
INTRODUCCIÓN.....	12
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	13
2. ANTECEDENTES.....	14
2.1 Sobrealimentación	14
2.2 Trastorno del espectro autista	17
2.2.1 Etiología	18
2.3 Programación materna	21
2.4 Obesidad materna y efecto en el comportamiento tipo autista.....	23
2.5 Comportamiento social y de ansiedad en el TEA	24
2.6 Modelos animales de autismo.....	27
2.7 Galanina.....	29
2.8 Acciones fisiológicas de la galanina.....	29
3. JUSTIFICACIÓN.....	32
4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	33
5. HIPÓTESIS	33
6. OBJETIVOS.....	34
6.1 Objetivo general	34
6.2 Objetivos específicos.....	34
7. METODOLOGÍA	35
7.1 Estudio previo	35
Diseño experimental.....	35
Ratones hembra (madres).....	35
Dieta experimental.....	36
Ratones macho (descendencia).....	37
7.1.1 Nuestro estudio	39
7.3 Análisis de galanina.....	39
7.3.1 Análisis de ELISA	39
7.3.2 Análisis estadístico	42
8. BIOSEGURIDAD	43
8.1 Consideraciones éticas y de bioseguridad	43

9. RESULTADOS.....	44
10. DISCUSIÓN	52
11. CONCLUSIONES.....	56
REFERENCIAS.....	57

NOMENCLATURA

Símbolo o abreviatura	Significado
5-HT	Serotonina
AOS	Apnea obstructiva del sueño
CAF	Dieta de cafetería
CT	Dieta control
DA	Dopamina
ECV	Enfermedad cardiovascular
FFA	Ácido graso libre
Gal	Galanina
GC	Grasa corporal
GR	Gramos
GWG	Aumento de peso gestacional
HC	Hidratos de carbono
HDL	Lipoproteína de alta densidad
HFD	Dieta alta en grasas
HSC	Células madre hematopoyéticas
HTA	Hipertensión arterial
IL	Interleucina
IMC	Índice de masa corporal
LP	Lípidos
MIA	Activación inmune materna
PCR	Proteína C reactiva
PG	Picogramos
POS	Síndrome de ovario poliquístico
PT	Proteína
SNC	Sistema nervioso central
SOD2	Supresión de superóxido dismutasa
TEA	Trastornos del espectro autista
TG	Triglicéridos
TNF	Factor de necrosis tumoral
VLDL	Lipoproteína de muy baja densidad

RESUMEN

Introducción: La prevalencia de obesidad en mujeres en edad reproductiva ha ido en aumento a causa de dietas altas en grasas, provocando un mayor riesgo de desarrollar patologías durante el embarazo. Esta ganancia de peso conlleva a una alteración en el desarrollo de los órganos y del cerebro de la descendencia, alterando el neurodesarrollo cognitivo, neural y motor, desde el nacimiento del feto hasta su muerte. La galanina (GAL) a nivel plasmático es un biomarcador que ha sido utilizado para medir la gravedad de enfermedades neuropsiquiátricas (regulación del estado de ánimo y comportamiento), debido a que actúa como un neuromodulador.

Objetivo: Evaluar el efecto de la ingesta materna de una dieta de cafetería y su efecto sobre el comportamiento tipo autista en la descendencia macho en un modelo murino.

Materiales y métodos: Se analizaron los niveles circulantes de GAL en el suero de la descendencia macho del modelo murino C57BL6, con dieta materna tipo cafetería; CT (Grupo control, n=7); CAF (Grupo cafetería, n=8). Este análisis se realizó mediante la técnica de ELISA de captura y posteriormente se estudió el efecto de la ingesta materna sobre los niveles de GAL en las pruebas de comportamiento.

Resultados: Se mostró una diferencia estadísticamente significativa en los niveles de GAL entre el grupo control (305.36 ± 53.62 pg/mL) comparado con el grupo cafetería (72.48 ± 11.32 pg/mL) ($p < 0.05$ *t de student*). Comportamiento tipo social (Prueba de 3 cámaras): El análisis de correlación entre los niveles de GAL con las pruebas de sociabilidad, interacción con objeto extraño, tiempo en cámara del ratón y olfateo no indicó una asociación estadísticamente significativa (Correlación Rho de Spearman). Comportamiento tipo ansiedad (Prueba de campo abierto): No se encontró asociación estadísticamente significativa (Correlación Rho de Spearman) entre los niveles de GAL y pruebas que evalúan el comportamiento tipo ansiedad (Tiempo en el centro de la cámara (Seg) y tiempo en la zona periférica (Seg)).

Conclusión: Los niveles bajos de GAL sérica reportados en el grupo cafetería, podrían estar relacionados con el estado de madurez peptidérgico de esta hormona. Por otra parte, no se encontró asociación entre los niveles de GAL circulante con las pruebas de comportamiento, es posible que un mecanismo distinto al de la GAL en periferia, pudiera estar siendo modificado.

ABSTRACT

Introduction: The prevalence of obesity in women of reproductive age has been increasing due to high-fat diets, causing an increased risk of developing pathologies during pregnancy. This weight gain leads to an alteration in the development of the organs and the brain of the offspring, altering the cognitive, neural and motor neurodevelopment, from the birth of the fetus until its death. Galanin (GAL) at the plasma level is a biomarker that has been used to measure the severity of neuropsychiatric diseases (regulation of mood and behavior), since it acts as a neuromodulator.

Objective: To assess the effect of a maternal cafeteria diet on galanin in autism-like behavioral tests in the male offspring of a mouse model.

Materials and methods: Circulating GAL levels were analyzed in sleep in male offspring of the C57BL6 murine model. This analysis was performed using the ELISA technique (sandwich type) and the effect of maternal intake on GAL levels in behavioral tests was subsequently studied.

Results: A statistically significant difference was shown in galanin levels between the control group (305.36 ± 53.62 pg/mL) compared to the cafeteria group (72.48 ± 11.32 pg/mL) ($p < 0.05$ *student's t*). Social-type behavior (3-chamber test): Correlation analysis between galanin levels with tests of sociability, foreign object interaction, mouse chamber time, and sniffing did not indicate a statistically significant association (Spearman's Rho Correlation). Anxiety-like behavior (Open field test): No statistically significant association was found (Spearman's Rho Correlation) between galanin levels and tests that evaluate anxiety-like behavior (Time in the center of the chamber (Sec) and time in the peripheral zone (Sec)).

Conclusions: The low levels of galanin reported in the coffee group could be related to the state of peptidergic maturity of this hormone. On the other hand, no association was found between circulating galanin levels and behavioral tests; it is possible that a mechanism other than galanin in the periphery could be modified.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha visto un incremento de casos de personas con trastorno del espectro autista (TEA), al igual que un incremento de obesidad a nivel global (Fombonne, 2018). Estas cifras se encuentran con un mayor crecimiento en la población de mujeres en edad reproductiva, lo cual es preocupante debido al gran impacto que hay en la programación materna hacia la descendencia. Durante la gestación, el rápido crecimiento y la plasticidad hacen que el cerebro sea sensible a los efectos de factores ambientales que pueden conferir ventajas adaptativas o vulnerabilidad duradera. Los fetos están expuestos a muchos factores ambientales que pueden influir en su desarrollo, especialmente durante las primeras semanas de gestación, por lo tanto, una desregulación del entorno de la vida temprana puede aumentar el riesgo del feto de una variedad de trastornos psiquiátricos como: autismo, ansiedad, depresión y déficit social (Casey et al., 2022; Knuesel et al., 2014; Maher et al., 2020; Uddin et al., 2020)

La dieta de cafetería (CAF) es utilizada en diversos estudios con modelos animales por ser lo más cercano a una dieta occidental, simulando la alimentación que tiene el humano hoy en día. El impacto de la sobre nutrición de una dieta rica en grasas durante el embarazo y lactancia, tiene tal impacto que es considerado como “programación incorrecta”. La nutrición materna tiene efectos a largo plazo en el fenotipo de la descendencia, como cambios de morfología y fisiología, los cuales podrían generar una alteración en el comportamiento. Dentro de los cambios fisiológicos podemos encontrar a la GAL, la cual es un neuropéptido que se ha asociado con la regulación de diversas patologías y trastornos neuropsiquiátricos, como la depresión. Además, está involucrada en el control del estado de ánimo en donde se incluye la ansiedad (Saad et al., 2021).

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La obesidad materna es un problema de salud pública que se caracteriza como una condición inflamatoria sistémica, capaz de programar la inflamación en la descendencia a largo plazo desde la primera etapa de vida (Bilbo & Tsang, 2010; Rivera et al., 2015). En este sentido, la inflamación placentaria crónica y la estimulación de la respuesta inmune innata de la placenta pueden ser un vínculo importante entre la obesidad materna y los resultados del desarrollo neurológico fetal (Shook et al., 2020)

Diversos factores prenatales maternos forman parte de la etiología de diversas disfunciones estructurales y de comportamiento en la descendencia, aumentando el riesgo de desarrollar trastornos del espectro autista (Lyll et al., 2013). Una sobrealimentación materna con dieta tipo cafetería, tiene como consecuencia una alteración de niveles circulantes de hormonas, factores de crecimiento, citoquinas y mediadores inflamatorios (Kelly et al., 2020). Además, el impacto de la obesidad materna y el consumo de una dieta tipo cafetería, se encuentra asociado con trastornos del neurodesarrollo en la descendencia y el comportamiento similar a la ansiedad de manera multigeneracional (Fusco et al., 2019). En este sentido, una sobrealimentación con este tipo de dieta expone a la descendencia a una mayor susceptibilidad a mostrar anomalías metabólicas y conductuales relacionadas con TEA (Cárdenas-Tueme et al., 2020). En relación a lo anterior, se han descrito diversos neurotransmisores como reguladores del comportamiento, entre ellos la GAL, incluso se ha visto una asociación con el estrés y la ansiedad (relacionados con TEA) (Špková et al., 2017).

En base a estos estudios, se apoya la importancia de evaluar el efecto de una sobrealimentación materna sobre el nivel de neuropéptidos como la GAL en la descendencia. Además, se considera importante evaluar la asociación de dicho neuropéptido con pruebas de comportamiento social y de ansiedad. Este análisis podría generar nuevas vías de estudio relacionadas con los síntomas del TEA (Lalanza & Snoeren, 2021).

2. ANTECEDENTES

2.1 Sobrealimentación

La obesidad se define como la acumulación excesiva o distribución anormal de grasa corporal (Mayoral et al., 2020). En los últimos años la prevalencia de obesidad alrededor del mundo ha ido en aumento hasta convertirse en un problema de salud pública a nivel mundial. En el caso de mujeres embarazadas con obesidad (IMC >30 kg/m²) debido a una mala nutrición se han registrado 39 millones en el mundo (Bordeleau et al., 2021; Mayoral et al., 2020).

La obesidad entre las mujeres en edad reproductiva se encuentra asociada con la transmisión intergeneracional de obesidad entre madre e hijo. Por lo tanto, es importante señalar el incremento de obesidad antes del embarazo (Figura 1) (Tauqeer et al., 2018).

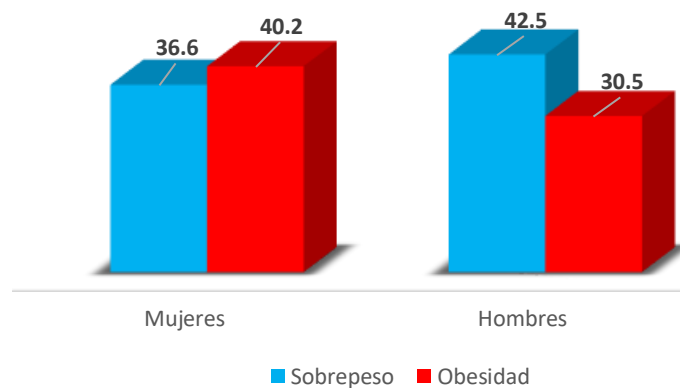


Figura 1. Porcentaje de población de 20 años y más de edad con sobrepeso y obesidad, por sexo (2018). En 2018, un mayor porcentaje de mujeres de 20 años y más sufría de obesidad (40.2%) en comparación con el sobrepeso (36.6%). En contraste, un mayor porcentaje de hombres de 20 años y más sufría de sobrepeso (42.5%) en comparación con la obesidad (30.5%). Adaptada de: González Block et al., 2017.

La mayoría de las mujeres que presentan obesidad no son infértiles; no obstante, la obesidad tiene un impacto negativo con la fecundidad y fertilidad (Brewer &

Balen, 2010). Esto es debido a que el tejido adiposo altera la secreción y la biodisponibilidad de las hormonas sexuales, además de crear un entorno físico oxidante que conduce a respuestas que dañan las mitocondrias, disminuye la calidad de los ovocitos y producción de gametos llegando a alterar el desarrollo normal del embrión (Brewer & Balen, 2010; Mariona, 2016; Silvestris et al., 2018).

En los últimos años se ha observado un incremento en el IMC de mujeres en edad reproductiva. Lo que causaría complicaciones a largo plazo en la salud de la descendencia de madres con obesidad como el desarrollo de enfermedades cardiovasculares (ECV) síndrome metabólico, diabetes, cáncer y trastornos psiquiátricos (Kelly et al., 2020). Sin embargo, el impacto negativo de la obesidad no solo repercute a la madre, sino también a la descendencia (Tabla 1) (Girchenko et al., 2018; Mariona, 2016).

Tabla 1. Complicaciones por incremento de IMC

Complicaciones en la madre	Complicaciones en la descendencia
Retraso en la concepción	Mayor riesgo de anomalías estructurales fetales
Preeclamsia	Bajo peso al nacer (definido como un peso al nacer de <2500 gr).
Trabajo de parto prematuro	Problemas de comportamiento regulatorio
Trabajo de parto disfuncional	Enfermedades neuropsiquiátricas
Morbilidad y mortalidad materna grave	
Diabetes gestacional	
HTA crónica y gestacional	
Apnea obstructiva del sueño (AOS)	
Embarazo prolongado Hemorragia postparto grave	
Aborto espontaneo	

Adaptada de (Girchenko et al., 2018; Mariona, 2016)

La obesidad materna se encuentra asociada con cambios en los niveles circulantes de hormonas como citoquinas y algunos mediadores inflamatorios. En un embarazo normal, el metabolismo materno se adapta para permitir la asignación de nutrientes para el crecimiento fetal y placentario. Sin embargo, esto se ve alterado en el caso de las madres con obesidad, causando un ambiente metabólico menos óptimo, logrando alterar la función placentaria, el crecimiento y el desarrollo fetal (Kelly et al., 2020).

El fenotipo metabólico característico de las mujeres que ingresan con obesidad en la etapa de embarazo, tiene una asociación con la homeostasis de la glucosa y los lípidos, las hormonas metabólicas y los medidores inflamatorios. Por ejemplo, en el caso de un embarazo normal el papel del metabolismo de la glucosa es fundamental para el regulamiento energético de la placenta y el feto. Mientras que los niveles de lípidos séricos se encuentran elevados en todas las mujeres durante el embarazo, las mujeres con obesidad presentan niveles más bajos de lipoproteínas de alta densidad (HDL) en el primer trimestre y posteriormente durante el segundo y tercer trimestre se muestran elevados los niveles de triglicéridos (TG) séricos, causando un mayor riesgo de dar a luz un bebé macrosómico (Kelly et al., 2020).

Los estudios en animales demuestran que el consumo materno de una dieta alta en grasas (HFD) está asociado con una mayor captación y transporte de ácidos grasos en la placenta, así como con la acumulación de lípidos fetales. En humanos, el contenido de lípidos en la placenta es aproximadamente entre un 17% y un 50% más alto en las placentas de mujeres con obesidad en comparación con las mujeres con un IMC normal. Por otra parte, el depósito de lípidos en la placenta puede estimular una respuesta inflamatoria y abrumar la capacidad mitocondrial para la oxidación de lípidos, lo que conduce a un aumento del estrés oxidativo. (Shook et al., 2020).

Una dieta inadecuada durante las etapas de desarrollo cerebral, puede resultar en una formación anormal del cerebro. Igualmente, depende del tipo de dieta, edad y duración del tipo de alimentación para contribuir al déficit estructural y funcional

(Alamy & Bengelloun, 2012). En este sentido, una sobrealimentación conduce a una neuro inflamación, que puede ser un mecanismo central a través del cual se entrelazan la obesidad y el deterioro cognitivo. Además, se suelen presentar alteraciones en algunas regiones del cerebro responsables del aprendizaje y la memoria, lo que representa alguna de la sintomatología del TEA (Lewis et al., 2019).

2.2 Trastorno del espectro autista

El TEA se define como un trastorno del desarrollo neurológico caracterizado por el deterioro de las habilidades socio comunicativas como: interacción social, comportamiento repetitivo y restringido, comunicación verbal y no verbal (Y. C. Chang et al., 2017; Hampson & Blatt, 2015; Liao et al., 2020). Igualmente, las personas con el espectro autista presentan anomalías en el procesamiento sensorial como problemas de sueño, ansiedad, hiperactividad depresión, agresión , autolesión, convulsiones y problemas de digestión (Kim et al., 2016). Otra de las deficiencias de interacción social que presentan las personas diagnosticadas con el espectro, es la reciprocidad socioemocional, la cual se manifiesta con una disminución de intereses, emociones o afectos compartidos (American Psychiatric Association, 2014). La gravedad del TEA se basa en el deterioro de la comunicación social y en patrones de comportamiento restringidos y repetitivos (Tabla 2) (American Psychiatric Association, 2014).

Tabla 2. Niveles de gravedad del trastorno del espectro del autismo

Nivel de gravedad	Comunicación social	Comportamientos restringidos y repetitivos
Grado 1 “Necesita ayuda”	-Dificultad para iniciar interacciones sociales y ejemplos claros de respuestas atípicas o insatisfactorias a la apertura social de otras personas. -Se muestra poco interés en las interacciones sociales.	-Interferencia con el funcionamiento de uno o más contextos. -Dificultad para alternar actividades. -Los problemas de organización y de planificación dificultan la autonomía.
Grado 2 “Necesita ayuda notable”	-Deficiencias notables de las aptitudes de comunicación social verbal y no verbal: -Problemas sociales aparentes incluso con ayuda. -Inicio limitado de interacciones sociales -Reducción de respuesta o respuestas no normales a la apertura social de otras personas.	-Dificultad de hacer frente a los cambios. -Comportamientos restringidos/ repetitivos aparecen con frecuencia interfieren con el funcionamiento. -Ansiedad y/o dificultad para cambiar la actividad que se encuentra realizando.
Grado 3 “Necesita ayuda muy notable”	-Las deficiencias graves de las aptitudes de comunicación social verbal y no verbal causan alteraciones graves del funcionamiento. -Inicio muy limitado de las interacciones sociales y respuesta mínima a la apertura social de otras personas.	-Extrema dificultad de hacer frente a los cambios u otros comportamientos restringidos/repetitivos interfieren notablemente con el funcionamiento en todos los ámbitos. -Ansiedad intensa. -Dificultad para cambiar la actividad que se encuentra realizando.

Adaptada de: (American Psychiatric Association, 2014).

La detección del TEA inicia en la primera infancia y se diagnostica en un promedio de los 5 a 6 años, para ello es necesario cumplir con una serie de criterios de diagnóstico (síntomas) que se presentan durante el desarrollo temprano, causando deficiencias funcionales (sociales y/u ocupacionales) de diversa gravedad (Casey et al., 2021).

2.2.1 Etiología

La gran exposición de factores ambientales dañinos, el comportamiento de la familia y la exposición de aspectos dañinos en el periodo intrauterino en las primeras etapas de vida son factores clave para el desarrollo de TEA (Figura 2) (J. Lu et al., 2022).

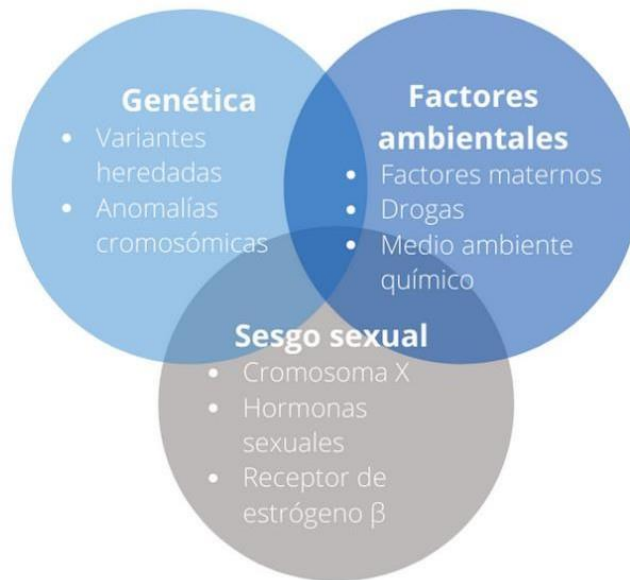


Figura 2. Etiología del TEA. La intersección de los tres círculos (Genética, Factores ambientales y Sesgo sexual) en el centro del diagrama indica que la etiología del TEA es multifactorial, involucrando la interacción compleja de factores genéticos, ambientales y el sesgo sexual. Adaptada de: (J. Lu et al., 2022).

Se estima que los factores genéticos y ambientales contribuyen por igual al desarrollo del TEA. Los trastornos metabólicos prenatales se asocian con una mayor prevalencia de TEA y otros trastornos en la descendencia. Estos factores afectan el neurodesarrollo a través de diversos procesos que incluyen la disfunción inmunitaria y el aumento del estrés oxidativo (J. Lu et al., 2022)..

Factores como la obesidad durante el embarazo, estrés psicosocial y preclamsia son considerados puntos de riesgo para desarrollar TEA (Tabla 3), debido a que pueden llegar a influir con el desarrollo entre un 17 a 50% (Maher et al., 2020; Schiavi et al., 2019). Por esta razón, ha habido un aumento en los últimos años de niños con diagnóstico de un trastorno mental, conductual y/o de déficit de neurodesarrollo, de modo que se estima que el 15% de los niños de 2 a 8 años tienen una o más discapacidades del neurodesarrollo (Sanchez et al., 2018).

Tabla 3. Las contribuciones de los factores ambientales al desarrollo de TEA

Factores ambientales	Mayor riesgo de TEA (%)
Obesidad	36%
Diabetes materna	62%
Diabetes mellitus gestacional	42%
Síndrome de ovario poliquístico (POS)	59%
Depresión materna	87%
Hipertensión materna	35%

Adaptada de: (J. Lu et al., 2022).

Durante los últimos 20 años se ha mostrado un aumento en la epidemiología del TEA en la población infantil, afectando al 1.5% de la población en el mundo (Casey et al., 2021; Fombonne et al., 2021). Mientras que los niveles de incidencia en la primera prueba epidemiológica emitida en México (Guanajuato, DF, Mérida y Puebla) en el 2012, mostraron una mayor prevalencia en los hombres en comparación con las mujeres (Fombonne et al., 2012). Cabe mencionar que el incremento en la prevalencia de problemas del neurodesarrollo ha tenido un aumento paralelo con la prevalencia de obesidad (por una HFD) en la sociedad (Sanchez et al., 2018).

Se ha sugerido que la obesidad materna afecta el desarrollo físico y cognitivo de la descendencia por medio de la programación materna, causada por el aumento de los niveles de ácidos grasos, glucosa, leptina y marcadores inflamatorios en la madre, provocadas por la obesidad (Adane et al., 2016).

2.3 Programación materna

Durante el embarazo la descendencia está expuesta a diversos factores de programación que llegan a tener efectos durante toda la vida. En esta etapa se desarrolla una programación neuronal en las regiones relacionadas con el aprendizaje y la memoria (Tsan et al., 2021). Dicha programación también regula el apetito y el gasto de energía mediante vías periféricas y centrales. Es por ello, que la programación materna se encuentra vinculada con diversas patologías en la descendencia al aumentar el riesgo de enfermedades metabólicas como la obesidad, al igual que enfermedades neurológicas como el autismo y la ansiedad (Cárdenas-Tueme et al., 2020; Maldonado-Ruiz et al., 2019).

El embarazo al igual que la obesidad presentan un estado de inflamación crónica, es decir, tienen una activación inmunitaria. Lo cual es importante destacar, debido a que la madre al tener obesidad antes del embarazo (obesidad pregrávida) ya se encuentra en estado de inflamación y este llega a aumentar durante esta etapa (Shook et al., 2020). La importancia de esto, deriva a que el 30% de las mujeres a nivel mundial tienen obesidad y el 20% la presenta en las primeras semanas de embarazo. Entre el 50 y 60% de las mujeres embarazadas con exceso de peso, incrementan este parámetro más allá del recomendado durante el embarazo, presentando así un mayor riesgo cardio metabólico y enfermedades endocrinas durante el tercer trimestre (Miguel-Soca et al., 2020).

La inflamación intrauterina se observa en aproximadamente el 20% de todos los embarazos y en un 85% en los nacimientos prematuros, teniendo en consecuencia alteraciones de varios procesos del neurodesarrollo (Goeden et al., 2016). La placenta al tratarse de un entorno materno- fetal, se encuentra implicada en la programación del desarrollo. De esta manera, cuando ocurre un embarazo con obesidad se pueden mostrar niveles elevados de macrófagos placentarios y ocurre una activación de vías inmunitarias proinflamatorias. La inflamación placentaria crónica y la estimulación de la respuesta inmune innata de la placenta forman parte de la asociación entre la obesidad materna y el desarrollo neurológico fetal (Figura 3) (Shook et al., 2020).

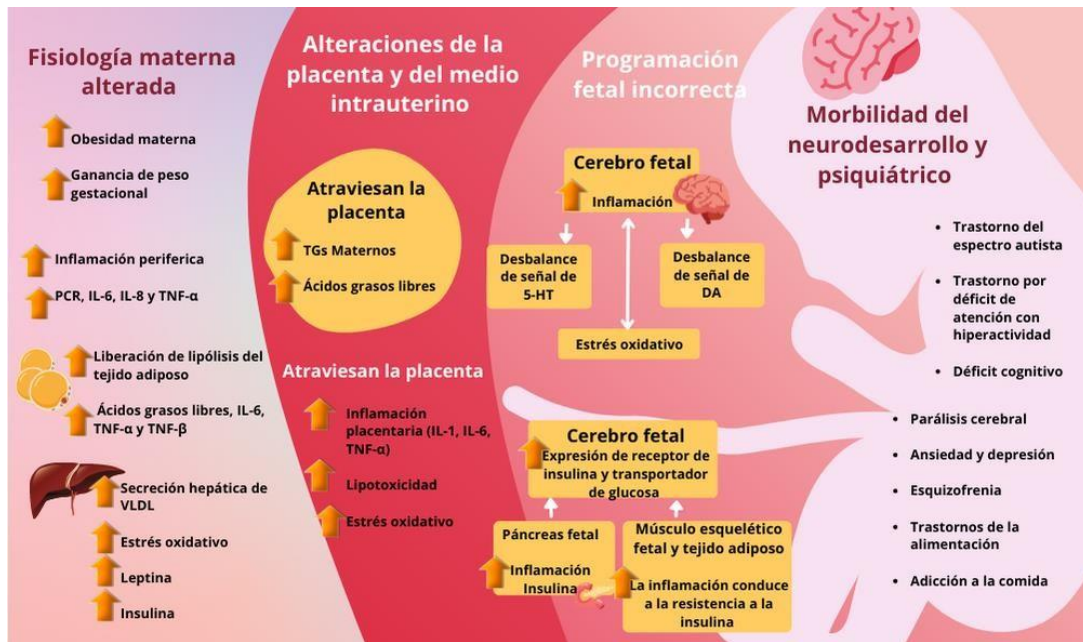


Figura 3. Mecanismos por los cuales la sobrealimentación materna deriva en morbilidad del neurodesarrollo en la descendencia. La sobrealimentación materna puede derivar en obesidad y ganancia de peso gestacional, así como en una alteración de la fisiología materna provocada por la liberación de lípidos del tejido adiposo, inflamación periférica y estrés oxidativo. Estos factores contribuyen a las alteraciones de la placenta y del medio intrauterino, ya que los niveles elevados de triglicéridos y ácidos grasos libres atraviesan la placenta, causando una programación fetal incorrecta. Adaptada de: (Edlow, 2017). CRP, proteína C reactiva; DA, dopamina; FFA, ácido graso libre; IL, interleucina; TG, triglicéridos; TNF, factor de necrosis tumoral; VLDL, lipoproteína de muybaja densidad; 5-HT, serotonina.

La obesidad pregrávida tiene como consecuencia una mayor acumulación de macrófagos en el tejido adiposo, al igual que un aumento gradual de resistencia a la insulina, glucosa posprandial, una mayor producción de glucosa hepática y leptina en plasma, teniendo como resultado una disfunción en la placenta (Basu et al., 2011; Kong et al., 2020; Miguel-Soca et al., 2020; Sureshchandra et al., 2018).

El contenido de lípidos en la placenta es aproximadamente de un 17 a un 50% más alto en las placentas de mujeres con obesidad en comparación con las mujeres con un peso normal. Este incremento de lípidos estimula la respuesta inflamatoria y

abruma la capacidad mitocondrial para la oxidación de lípidos, contribuyendo a la programación cerebral fetal adversa (Miguel-Soca et al., 2020; Shook et al., 2020).

Se sugiere que el entorno inmunitario materno- fetal, es una posible etiología en cuanto al TEA. Debido que las moléculas de señalización inmunitaria son un factor importante en el desarrollo del cerebro fetal, por lo que al haber una alteración durante la gestación hay un aumento de riesgo de trastornos en el sistema nervioso central (Careaga et al., 2017)

En la etapa de gestación la madre le puede transmitir a la descendencia un déficit en el desarrollo neurológico por medio de la infección activa y la respuesta inmunitaria (Meltzer & Van De Water, 2017). Durante esta etapa, la activación inmune materna (MIA) tiene un factor del 37% de riesgo de tener un descendiente con TEA, debido a los niveles elevados de citocinas, quimiocinas y otros marcadores inflamatorios en el suero materno. Estos pasan a través de la placenta y el líquido amniótico, hasta la barrera hematoencefálica fetal, llegando a afectar al cerebro de la descendencia provocando diversas anomalías neurológicas y de comportamiento. Estas pueden ser agudas y/o permanentes, como en el caso de autismo o esquizofrenia (Jones et al., 2017; Kirsten et al., 2018; Kumari et al., 2020; Lee et al., 2015). Se ha visto que la desregulación inmunológica en la descendencia por medio de la MIA, puede llegar a persistir después del nacimiento, afectando diversas regiones cerebrales (Wu et al., 2017).

2.4 Obesidad materna y efecto en el comportamiento tipo autista

En el 2015, Rivera y colaboradores realizaron un estudio mostrando que la obesidad materna aumenta el riesgo de trastornos neuropsiquiátricos en la descendencia, junto con alteraciones en el comportamiento social, aumento de comportamiento similar a la ansiedad y depresión, disminución de la cognición, además de adicción a la comida (Tabla 4). Debido a que durante la etapa de desarrollo la descendencia es sometida a niveles elevados de nutrientes como: ácidos grasos, y glucosa,

hormonas (leptina e insulina) y factores inflamatorios, causando un déficit en los circuitos neuronales involucrados en el comportamiento (Rivera et al., 2015).

Tabla 4. Efecto de sobrealimentación materna en la descendencia

Efecto secundario	Factor Materno
↑ Riesgo de TEA	↓ Ingesta dietética de ácidos grasos omega-3. ↑ IMC antes del embarazo ↑ Aumento de peso gestacional (GWG) ↑ Diabetes, hipertensión o preeclamsia

Adaptada de: (Rivera et al., 2015).

2.5 Comportamiento social y de ansiedad en el TEA

Dos comportamientos que destacan son la sociabilidad y ansiedad; la sociabilidad se ha caracterizado como la tendencia a buscar interacciones sociales, las cuales se dividen de acuerdo a los comportamientos que unen a los animales como afiliativos, parentales o copulatorios; mientras que el comportamiento que separa a los niveles es reconocido como comportamiento agresivo (Caldwell, 2012). El comportamiento afiliativo se distingue por mantener vínculos sociales entre compañeros y padres con su descendencia, teniendo como efecto secundario una reducción de ansiedad. Mientras que el comportamiento agresivo se utiliza para mantener y desarrollar jerarquías sociales, proteger a las crías y defender territorios. Como parte del comportamiento social, se deben de considerar los tipos de comunicación, en este caso, la comunicación no verbal forma parte de un factor importante en la conducta comunicativa al haber un déficit de contacto visual, lenguaje corporal, deficiencia de comprensión y uso de gestos y falta de expresión facial (American Psychiatric Association, 2014).

La ansiedad a pesar de existir desde hace muchos años, se reconoció como trastorno recientemente. En el siglo XVIII médicos la describían como “panofobia”

(miedo a todo), “trastorno nervioso” y neurastenia (debilidad de los nervios) (Bienvenu et al., 2010). La ansiedad se define como una respuesta anticipada a un daño o futura desgracia, acompañada de un sentimiento de disforia desagradable, tensión o conductas evitativas. No obstante, cierto grado de ansiedad le permite al ser humano poder sobrevivir, así mismo, puede llegar a perder su función al convertirse en una enfermedad (Quiroga, 2020). Algunos de los síntomas que se pueden presentar durante los episodios de ansiedad son: inquietud, fatiga, dificultad para concentrarse o quedarse con la mente en blanco, problemas de sueño, irritabilidad y tensión muscular (Tabla 5) (American Psychiatric Association, 2014). También se llegan a presentar sensaciones físicas como palpitaciones o mareos, al estar expuestos en situaciones de peligro (reales o imaginarias) es decir, pensamientos negativos que producen reacciones a nivel cerebral y hormonal (Maron & Nutt, 2017).

Tabla 5. Clasificación de signos y síntomas de la ansiedad

Signos y síntomas	Efecto en el organismo
Cognitivos	Se encuentra relacionado con preocupaciones excesivas sobre circunstancias reales o imaginarias del presente o del futuro inmediato.
Conductuales	Se presenta inquietud psicomotora, junto con una tendencia al llanto por sentimientos de impotencia.
Motores	Temblores, sobresaltos, sacudidas musculares, cefaleas, incapacidad para relajarse y cansancio.
Somáticos	La hiperactivación autonómica incentiva el surgimiento de síntomas cardiovasculares, sensoriales, digestivos y respiratorios.

Adaptada de: (Quiroga, 2020).

Al encontrarse el organismo en estado de ansiedad crónica, se pueden llegar a agravar o presentar diversos problemas endocrinos como hipo o hipertiroidismo, hipoglucemia, insuficiencia adrenal, hiperadrenocorticismos, feocromocitoma y menopausia. Además de problemas cardiovasculares, respiratorios, hematológicos (anemia), alteraciones metabólicas como diabetes mellitus, porfiria, hipoxia, hipocapnia, hipoglucemia, hiperpotasemia, hipercapnia e hiponatremia, al igual que

problemas neurológicos (neoplasia, encefalitis, disfunción vestibular, epilepsia temporal y migrañas) (Odalís Fernández López et al., 2012).

A pesar de que la ansiedad es una respuesta emocional adaptativa a situaciones estresantes, el grado de ansiedad excesiva y/o crónica tiene efectos nocivos para la salud. El estilo de vida (dieta) es un factor asociado con la ansiedad, ya que el desbalance de nutrientes en la dieta materna puede causar una programación (materna) incorrecta, un ejemplo de ello es el futuro afrontamiento de la descendencia (Besson et al., 2016; Tsan et al., 2021) Una madre con una dieta obesogénica produce una descendencia más reactiva teniendo alteraciones en el comportamiento y déficit de afrontamiento tipo ansiedad (Figura 4) como efecto secundario fisiológico, además de alteraciones en el desarrollo de la descendencia (Besson et al., 2016).

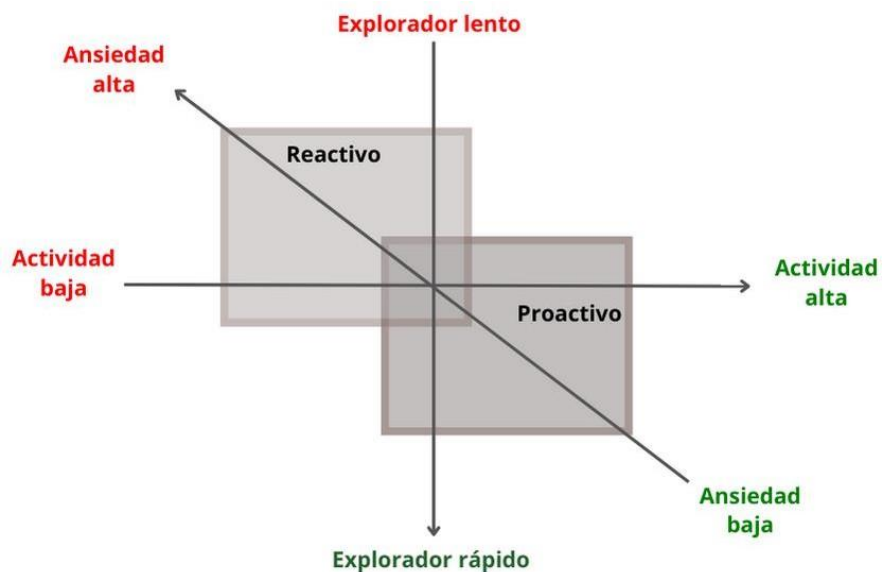


Figura 4. Ejes no paralelos de actividad individual, ansiedad y exploración definen conjuntamente el estilo de afrontamiento de un individuo. El comportamiento reactivo se encuentra relacionado con una mayor ansiedad, en comparación con un explorador activo que refleja un comportamiento proactivo, relacionado con bajos índices de ansiedad. Adaptada de: (Besson et al., 2016).

2.6 Modelos animales de autismo

Los modelos in vivo juegan un papel crucial en la investigación, debido a que los animales cuentan con un comportamiento social y jerárquico dentro de su estructura, facilitando el análisis de trastornos sociales y condiciones neuropsiquiátricas (Lalanza & Snoeren, 2021). Al tratarse de un trastorno de comportamiento, el diagnóstico de TEA es mediante la evaluación de este, por lo cual las pruebas que se realizan miden la interacción social (prueba de tres cámaras) y la ansiedad (prueba de campo abierto) (Y. C. Chang et al., 2017).

- Comportamiento tipo social (Prueba de tres cámaras):

La prueba social de tres cámaras, evalúa el deterioro social en el modelo murino con el comportamiento similar al TEA, y al tratarse de una prueba de comportamiento se evalúa la sociabilidad, novedad social, la tendencia de sociabilizar con otro ratón y la discriminación entre ratones conocidos y nuevos. En esta prueba los ratones expresan la capacidad de reconocer una novedad social y pasar más tiempo en una cámara para tener contacto físico con el ratón nuevo (n2) que con el ratón conocido (n1) (Figura 5) (Chang et al., 2017).

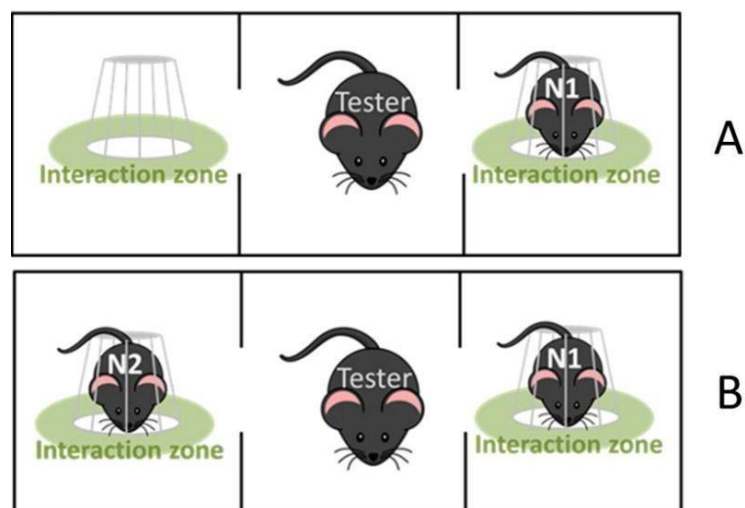


Figura 5. Prueba de tres cámaras. Prueba de comportamiento implementada en modelo murino para determinar el comportamiento de sociabilidad, al determinar el tiempo de interacción con un objeto extraño y el modelo murino. Adaptada de: (Y. C. Chang et al., 2017).

Como se muestra en la Figura 5, se encuentra señalado como apartado “A” la fase de sociabilidad de la prueba de preferencia social, mientras que en el apartado “B” se muestra la fase de novedad (Y. C. Chang et al., 2017).

La observación de la ansiedad se encuentra relacionada con el estrés del ratón, basado en comportamientos específicos de su especie, como una evaluación de riesgo, una de las pruebas utilizadas es la prueba de campo abierto (Sturman et al., 2018).

- Comportamiento tipo ansiedad (Prueba de campo abierto):

La prueba de campo abierto fue desarrollada por Calvin Hall en 1930 para medir la timidez en el modelo murino, hoy en día es analizado el tiempo pasado en el centro de la cámara como una lectura de ansiedad (Sturman et al., 2018). En la prueba de campo abierto (Figura 6), se coloca el ratón en una esquina de una caja con las medidas de 50 cm x 50 cm x 40 cm de alto, junto con un cámara para registrar el comportamiento del ratón durante el periodo de 10 minutos(Nakamoto et al., 2020)..

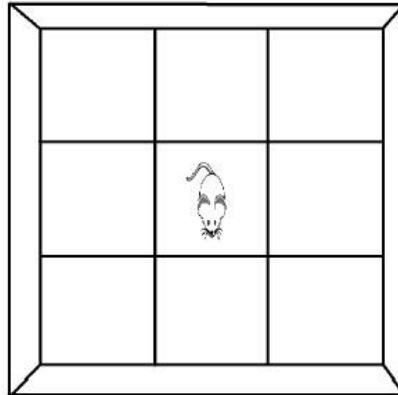


Figura 6. Prueba de campo abierto. Prueba de comportamiento utilizada en el modelo murino para determinar el comportamiento de ansiedad, al determinar el número de acicalamiento, tiempo en el centro y en las zonas periféricas. Adaptada de: (Nakamoto et al., 2020).

El propósito de esta prueba es presentar un conflicto entre los impulsos de explorar un entorno novedoso, medir el tiempo en el que el ratón se encuentre en el área central del campo abierto para poder medir la ansiedad (Nakamoto et al., 2020). Existe una serie de marcadores que se encuentran relacionado con el TEA, debido a que el aprendizaje, depresión, estrés y ansiedad se encuentra modulado por el sistema galaninérgico, debido a que la GAL se encuentra implicada en la neurotransmisión y neuromodulación (Špková et al., 2017).

2.7 Galanina

La galanina (GAL) es un neuropéptido que contiene 29 aminoácidos, se distribuye en el sistema nervioso central (SNC) y en los tejidos periféricos de humanos y ratas (Gopalakrishnan et al., 2021; Morais et al., 2016). La GAL es producida en el cerebro por la amígdala y el hipotálamo, los cuales se encargan de regular las emociones y la ingesta de alimentos (Gopalakrishnan et al., 2021; Keszler et al., 2019). Por otro lado, la GAL se expresa en la médula espinal, el sistema endocrino, el tracto gastrointestinal, los queratinocitos, en la piel, las glándulas sudoríparas ecrinas, el corazón y alrededor de los vasos sanguíneos (Gopalakrishnan et al., 2021; Špková et al., 2017). Debido a esto, se encuentra involucrada en diversos procesos fisiológicos y fisiopatológicos como motilidad gastrointestinal, contracción cardiovascular, función neuroendocrina, comportamiento, aprendizaje, memoria, estrés, inflamación, ansiedad y depresión (Špková et al., 2017; Swanson et al., 2005).

2.8 Acciones fisiológicas de la galanina

Las acciones fisiológicas de la GAL están mediadas por los subtipos de receptores acoplados a proteína G: como GalR1, que se distribuye de forma única por el SNC y la periferia (Morais et al., 2016; Špková et al., 2017; Swanson et al., 2005). El efecto pro depresivo de GALR1 se atribuye a su capacidad para modular las funciones de los receptores de serotonina (Figura 7) (García-Durán et al., 2021).



Figura 7. Actividad antidepresiva. Los receptores acoplados a la proteína G, como GALR1 y GALR2, participan como moduladores en las funciones de los receptores de serotonina .Adaptada de: (García-Durán et al., 2021).

La GAL a nivel plasmático es un biomarcador que ha sido utilizado para medir la gravedad de enfermedades neuropsiquiátricas como el trastorno depresivo mayor. Debido a que se encuentra distribuido en el sistema nervioso central (SNC) y los tejidos periféricos (Wang et al., 2014).

El 30% de la GAL sérica se origina en la hipófisis. Además, el tracto gastrointestinal es la principal fuente de GAL circulante. Sin embargo, no se sabe si la GAL liberada tiene alguna actividad sistémica importante (Zamłyński et al., 2007).

Un estudio realizado en el 2021 donde se estudió el nivel sérico de GAL en niños con TEA, reveló que existían niveles significativamente más altos de GAL sérica en niños con TEA que en niños sanos, además, estos niveles fueron más altos en aquellos con TEA severo. Por otra parte, el estudio también reveló una correlación positiva entre los niveles de GAL sérica y ciertos parámetros conductuales y psicológicos en pacientes con TEA, incluida la comunicación, la interacción social, la relación a las personas, adaptación al cambio, comunicación verbal, no verbal, miedo y nivel de actividad (Saad et al., 2021).

Estudios en modelos animales han indicado que la GAL endógena y exógena modula los comportamientos depresivos y similares a la ansiedad (Saad et al., 2021). Además, otros análisis han correlacionado diversas alteraciones en GAL y/o

receptores con trastornos de ansiedad y depresión (Juhasz et al., 2014; Karlsson & Holmes, 2006).

GAL está involucrada en la regulación del estado de ánimo, incluidos los comportamientos relacionados con la depresión y la ansiedad. Se ha propuesto que la activación de los receptores GAL 1 y GAL 3 da como resultado un comportamiento similar a la depresión, mientras que la estimulación del receptor GAL 2 conduce a efectos similares a los antidepresivos. Un modelo de ratones con los receptores de GAL 1 y GAL 2 desactivados mostraron un mayor comportamiento tipo ansiedad en la prueba de laberinto en cruz elevado, por otro lado, un antagonista del receptor GAL 3 generó efectos tipo ansiolítico en varias pruebas de comportamiento (Millón et al., 2015).

Como neurotransmisor, la GAL actúa a nivel neurofisiológico y conductual. La participación de la GAL en la regulación de la ansiedad y el estrés es probablemente uno de sus más importantes papeles. Además, coexiste con los sistemas de serotonina y norepinefrina en el cerebro de roedores y actúa como un neuromodulador inhibitorio de la función de norepinefrina, serotonina, dopamina, glutamato y acetilcolina. El patrón de expresión y las funciones neuro modificadoras de GAL sugieren un papel para este neuropéptido en los trastornos del estado de ánimo como la ansiedad y la depresión (Brunner et al., 2014).

3. JUSTIFICACIÓN

En los últimos 20 años ha habido un aumento en la epidemiología de TEA en la población infantil. De 197 países del mundo, 37 se encuentran en prevalencia, donde en México la incidencia es de 1 de cada 115 niños (Fombonne et al., 2012, 2016). Así mismo, se ha visto que una dieta materna de cafetería ejerce un déficit del comportamiento social en la descendencia (Noriega & Savelkoul, 2014). Debido a que el ambiente intrauterino es un factor importante en relación con el desarrollo cognitivo (Borge et al., 2017). Diversos estudios clínicos y preclínicos han estudiado la relación entre el desarrollo intrauterino y la primera infancia con los factores externos (dieta materna inadecuada) junto con el aumento de incidencia de TEA y alteraciones en el desarrollo del sistema nervioso central de manera permanente (Gawlińska, Gawliński, Borczyk, et al., 2021; Gawlińska, Gawliński, Filip, et al., 2021).

Se han descrito diversos biomarcadores que alteran el periodo perinatal provocando una neuroinflamación en la descendencia, conduciendo a una desregulación en el sistema inmunológico causando un desarrollo de TEA, por lo que el análisis de dichos biomarcadores a etapas tempranas podría ser una alternativa de diagnóstico (Noriega & Savelkoul, 2014).

Diversos autores han relacionada a la GAL y sus receptores (GAL 1 y GAL 2) con la regulación del estado de ánimo y comportamiento, por medio de estudios experimentales en modelos animales (Keszler et al., 2019; Wang et al., 2014). Igualmente, Saad y colaboradores han relacionado los niveles de GAL en suero y la gravedad de TEA en pacientes pediátricos, sugiriendo que la GAL es un biomarcador que podría tener un papel importante en la patogénesis del TEA (Saad et al., 2021).

4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es el efecto de la ingesta materna de una dieta de cafetería sobre el comportamiento tipo autista en la descendencia macho en un modelo murino?

5. HIPÓTESIS

La ingesta materna de una dieta de cafetería altera el comportamiento tipo autista en la descendencia macho en un modelo murino.

6. OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de la ingesta materna de una dieta de cafetería sobre el comportamiento tipo autista en la descendencia macho en un modelo murino.

6.2 Objetivos específicos

Objetivo 1:

Analizar los niveles de galanina sérica de la descendencia macho en un modelo murino.

Objetivo 2:

Asociar los valores de galanina sérica con los resultados de pruebas de comportamiento que evaluán tanto la sociabilidad (3 cámaras) como la ansiedad (Campo abierto) en la descendencia macho en un modelo murino.

7. METODOLOGÍA

7.1 Estudio previo

Diseño experimental

La presente investigación parte de un macro proyecto, el cual fue registrado bajo la clave: SA777-19 ante la secretaría de Investigación Científica y Desarrollo Tecnológico como parte del: Programa de Apoyo a la Investigación Científica y Tecnológica de la UANL. El responsable técnico fue el Dr. Heriberto Castro García.

El proyecto original utilizó un modelo experimental de ratones C57BL/6 (Genotipo: Wild Type o WT) en el que se estudió el efecto de la dieta materna de cafetería sobre la descendencia macho. En la figura 8 se muestra el diagrama de flujo general del diseño experimental.

Ratones hembra (madres)

El modelo experimental se realizó en ratones C57BL/6 WT hembras de 11 semanas de edad, con un peso aproximado de 21 a 22g, las cuales fueron proporcionadas por Servicios Científicos Tecnológicos y Comerciales S.A. de C.V. Tetrarium. Los animales se aclimataron durante 3 semanas en el Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud (CIDICS) en la Unidad de Apoyo e Investigación en Modelos Biológicos dentro del Bioterio. Todos los ratones se alojaron en cajas de polipropileno en un ambiente de 21 a 22°C con ciclos de luz/oscuridad de 12 horas.

Los animales fueron distribuidos de forma aleatoria en 2 grupos (8 ratones hembra por grupo) a los cuales se les administró una dieta experimental diferente durante 9 semanas: control (CT) y cafetería (CAF). Las 9 semanas corresponden a los tres períodos de intervención: período pregestacional, gestacional y posnatal, con duración de 3 semanas en cada período.

Durante la semana 4 experimental se volvió a hacer una distribución para tener de 2 a 3 ratones por jaula, posteriormente se colocó un ratón macho de la misma cepa C57BL/6 por jaula para iniciar la fase de apareamiento (1 semana). Al término de ésta se retiró al ratón macho y continuaron con sus respectivas dietas durante la gestación y lactancia. El peso de los ratones se registró tres veces por semana.

Dieta experimental

Dieta control:

Para la dieta control se utilizó Rodent Lab Chow Diet 5001 obtenida por la compañía LabDiet (Tabla 6).

Tabla 6. Composición calórica de la dieta control Rodent Lab Chow 5001

Por cada 100 gr.	kcal	%
Energía total	335	
Hidratos de carbono	190.95	57
Lípidos	43.55	13
Proteína	100.5	30

(LabDiet, 2021).

Dieta de cafetería:

La dieta de cafetería se elaboró a base de chocolate líquido, galletas, tocino, papas fritas, pienso molido y paté de cerdo, en una proporción 1:1:1:1:1:2, respectivamente (de la Garza et al., 2023). Se molieron todos los ingredientes y se mezclaron para formar una masa homogénea (Tabla 7).

Tabla 7. Composición calórica de la dieta cafetería

Por cada 100 gr.	kcal	%
Energía total	372	
Hidratos de carbono	145.08	39
Lípidos	182.28	49
Proteína	44.64	12

(de la Garza et al., 2023).

Ratones macho (descendencia)

Los ratones macho (descendencia) C57BL/6, fueron destetados a la semana 3 de vida, y agrupados como Grupo control, (n=7); CAF, Grupo cafetería (n=8). Los dos grupos recibieron dieta control hasta su sacrificio (Figura 8). A la semana 8 de vida, se realizaron dos pruebas de comportamiento: campo abierto y sociabilidad de 3 cámaras. Las crías fueron sacrificadas a la semana 10 de vida por decapitación con guillotina, y tras la disección del animal, se recolectó la sangre que posteriormente se almacenó 1h a 4°C y después se centrifugó a 1.000g durante 10 min para obtener el suero que finalmente se almacenó a -20°C.

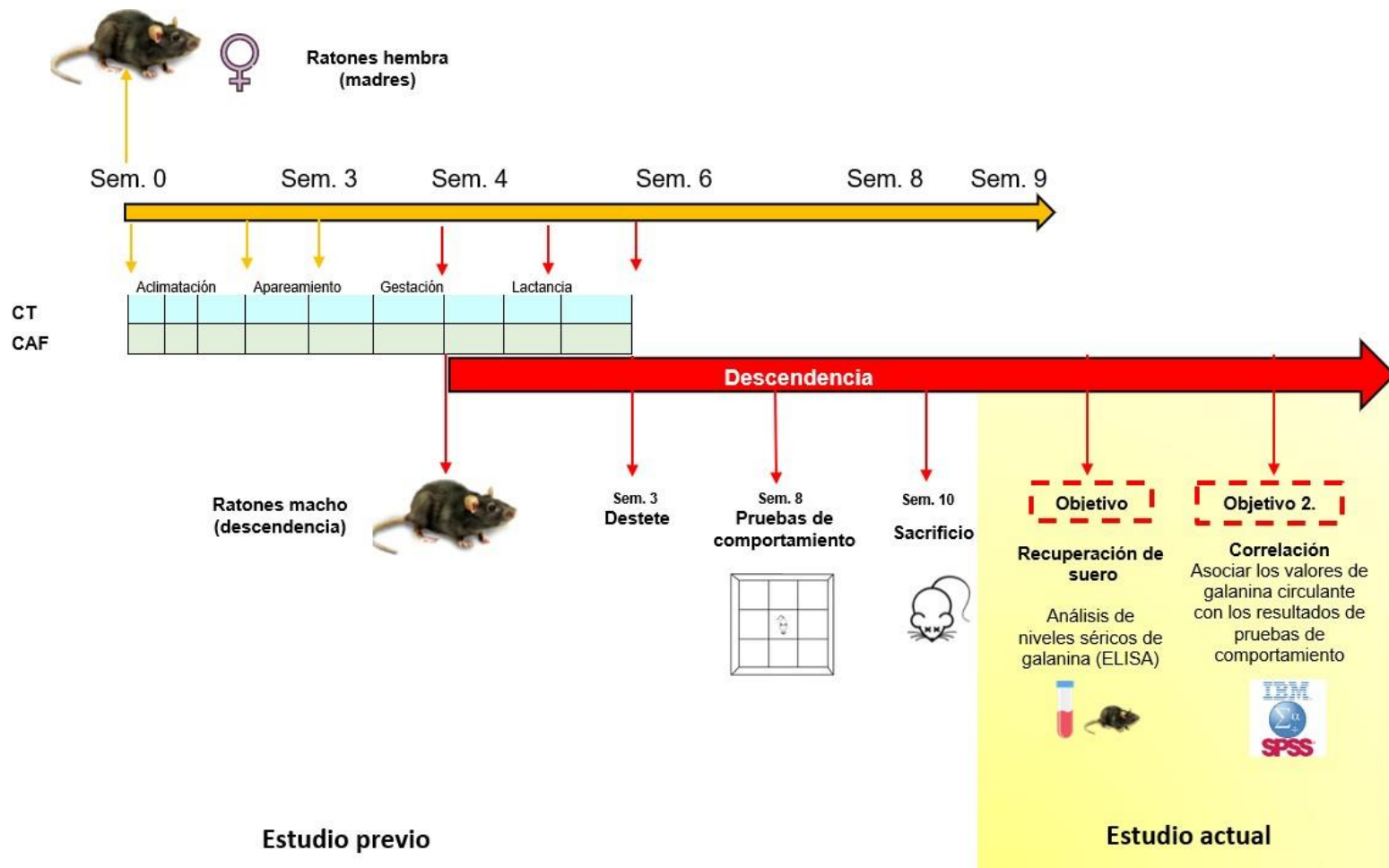


Figura 8. Gráfica del diseño experimental. Diseño experimental del proyecto, a partir de la implementación de la dieta materna en el modelo murino (semana 0 a 6), hasta el objetivo dos del proyecto. (correlación de pruebas de comportamiento con los niveles circulantes de GAL)

7.1.1 Nuestro estudio

El presente estudio inició con el análisis de los niveles circulantes de la GAL en el suero de la descendencia macho. Este análisis se llevó a cabo a través de la técnica de ELISA, la cual se describe a continuación:

7.3 Análisis de galanina

7.3.1 Análisis de ELISA

El método ELISA es empleado para analizar las interacciones biomoleculares (Weng & Zhao, 2015). Los niveles de GAL se determinaron en suero, utilizando el kit "Mouse Galanin (GAL) ELISA kit" de Abnova en el laboratorio del departamento de bioquímica y medicina molecular de la Facultad de Medicina. La técnica que se empleó se basa en el principio de un ELISA tipo sándwich, donde un anticuerpo policlonal se encuentra adherido en los pocillos de la placa. El protocolo consistió en una previa preparación de muestras y de reactivo estándar, los cuales se dejan reposar durante 10 minutos, posteriormente, se preparó una dilución en serie, para esto, se añadieron 0.5 ml de reactivo estándar en cada tubo (7 tubos), se preparó la solución de trabajo del reactivo de detección A y B (100x) 120 µl cada uno y se realizó una dilución a 100 veces, después se procedió a preparar el buffer de lavado diluyendo 1/25 con agua destilada al agregar 30 ml de tampón de lavado concentrado en 720 ml de agua destilada. Después de la preparación de reactivos se colocaron 50 µl de los estándares diluidos en los pocillos estándar junto con las muestras (50 µl) y se llevaron a agitación. Se realizó una incubación de 1 hora a 37°C y se eliminó la solución de los pocillos, se realizaron 3 lavados con buffer de lavado (300 µl) durante 1-2 minutos y se desechó el líquido restante, posteriormente se añadieron 100 µl de la solución de trabajo B en cada pocillo. Se selló la placa e incubó durante 45 min a 37°C y se lavó 5 veces. Después se añadieron 90 µl de TMB en cada pocillo, se cubrió la placa y se llevó a agitación para incubar a 37°C por 10 minutos. Finalmente se añadió la solución de parada y se leyó la absorbancia a 450 nm en un espectrofotómetro para placas de ELISA. La intensidad del color

registrado fue inversamente proporcional a la cantidad de marcador presente en las muestras (Figura 9). En base a las recomendaciones del protocolo no se realizaron diluciones de las muestras analizadas.

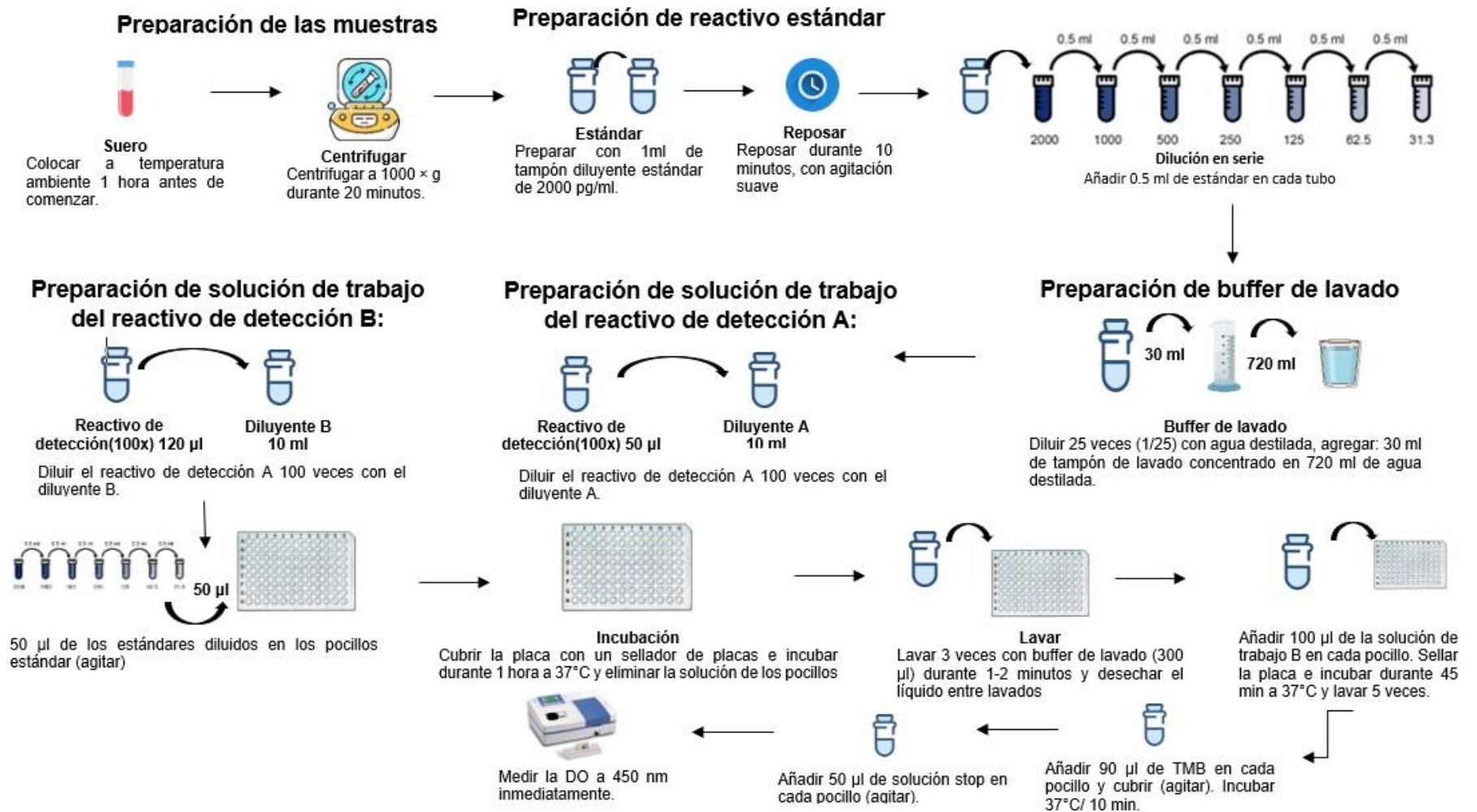


Figura 9. Estrategia general del trabajo. Protocolo empleado para ELISA de captura.

7.3.2 Análisis estadístico

En el análisis estadístico se empleó el programa SPSS versión 25.0. Para evaluar los niveles de GAL entre los grupos control y cafetería se utilizó la prueba *t-student* para muestras independientes, tomando como valor significativo un valor de $*p<0.05$ y $**p<0.01$ (Figura 8). Para evaluar la asociación entre los niveles de GAL circulante con los valores de la prueba de comportamiento, se utilizó el coeficiente de correlación por jerarquías de Spearman (Rho de Spearman) y se estableció un valor de $p<0.05$ para indicar una correlación estadísticamente significativa.

8. BIOSEGURIDAD

8.1 Consideraciones éticas y de bioseguridad

Durante la estancia en el laboratorio se hizo uso de: bata, guantes, cubre calzas, cofia, cubrebocas y lentes protectores. Todos los desechos contaminados con sangre se depositaron en bolsas rojas. Todos los residuos biológicos se desecharon en bolsas RPBI (Residuos Peligrosos Biológico-Infeciosos) que luego se almacenaron en congelación para luego ser incineradas, según lo marca la NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo.

9. RESULTADOS

La GAL se encuentra implicada en un amplio espectro de trastornos neuropsiquiátricos, como el déficit de comportamiento y autismo. Estudios en humanos han documentado la correlación directa entre los niveles de GAL en plasma y la gravedad del trastorno depresivo, mayormente en mujeres (Keszler et al., 2019). El propósito de este estudio fue evaluar el efecto de la ingesta materna de una dieta de cafetería sobre los niveles de GAL circulante en la descendencia con un comportamiento similar al autismo (ansiedad y déficit de sociabilidad).

Objetivo específico 1. Analizar los niveles de GAL circulante en el suero de la descendencia macho en un modelo murino a través de la técnica de ELISA.

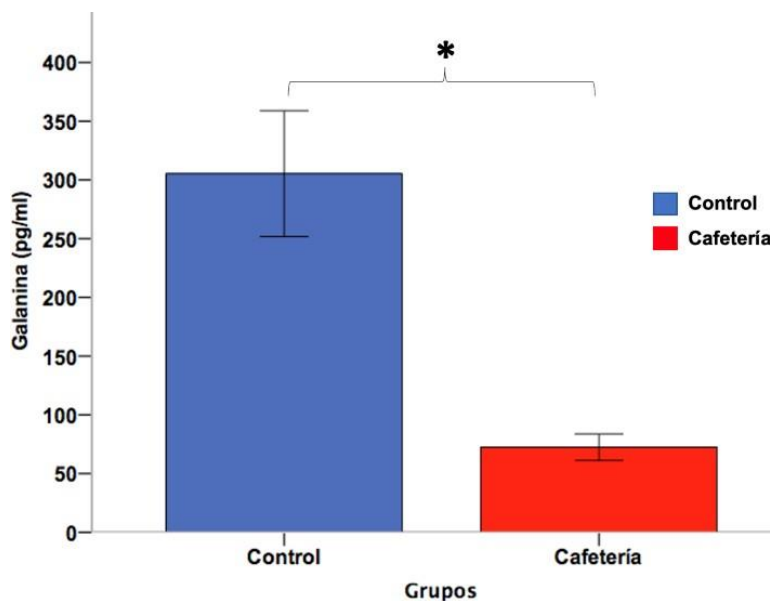


Figura 10. Niveles de galanina de los ratones crías macho. Niveles de GAL de los ratones crías macho. Los resultados se expresan como media \pm EEM. El análisis estadístico se realizó mediante la prueba *t-student* para muestras independientes. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$. CT (Grupo control, $n=7$); CAF (Grupo cafetería, $n=8$).

La figura 10 muestra menores niveles de GAL en los animales del grupo cafetería (72.48 ± 11.32 pg/mL), en comparación con el grupo control (305.36 ± 53.62 pg/mL). De acuerdo a los valores de GAL encontrados, el grupo cafetería presenta aproximadamente un 77% menos respecto al grupo control.

Objetivo específico 2. Asociar los valores de GAL circulante con los resultados de pruebas de comportamiento que evalúan tanto la sociabilidad (3 cámaras) como la ansiedad (Campo abierto) en la descendencia macho en un modelo murino.

Del estudio previo, se seleccionaron aquellas variables de comportamiento que dieron un resultado estadísticamente significativo y en donde se compararon los grupos control y cafetería en las crías macho. Dichas variables fueron: sociabilidad (Figura 12), interacción con objeto inanimado (Figura 13), tiempo en cámara de ratón extraño (Figura 14) y olfateo (Figura 15). Luego se realizó la correlación con los niveles de GAL circulante de nuestro estudio.

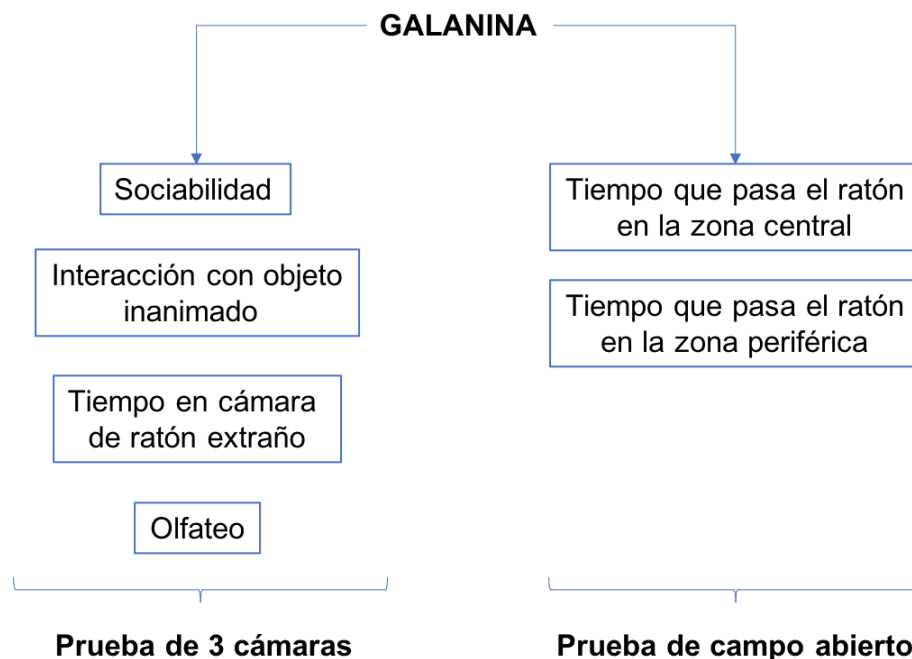


Figura 11. Pruebas de comportamiento. Pruebas utilizadas para determinar los comportamientos de sociabilidad (prueba de tres cámaras) y de ansiedad (prueba de campo abierto).

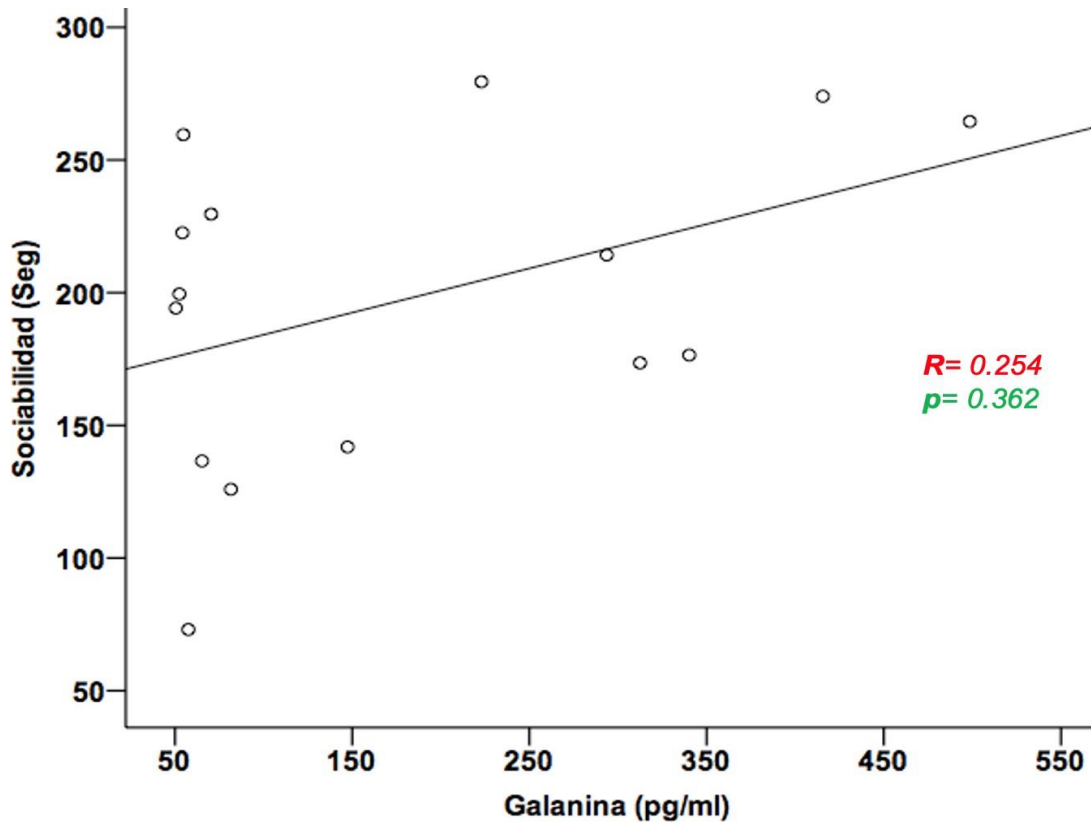


Figura 12. Correlación entre el comportamiento de sociabilidad y niveles de galanina. Correlación entre el comportamiento de sociabilidad y niveles de GAL. El análisis estadístico se realizó mediante el coeficiente de correlación por jerarquías de Spearman (Rho de Spearman). * $p < 0.05$ fue considerada como significativa. (Grupo control, $n=7$); (Grupo cafetería, $n=8$).

El análisis estadístico indicó que no existe una correlación significativa al comparar el comportamiento tipo sociabilidad con los niveles circulantes de GAL en las crías macho ($p=0.362$, $R= 0.254$).

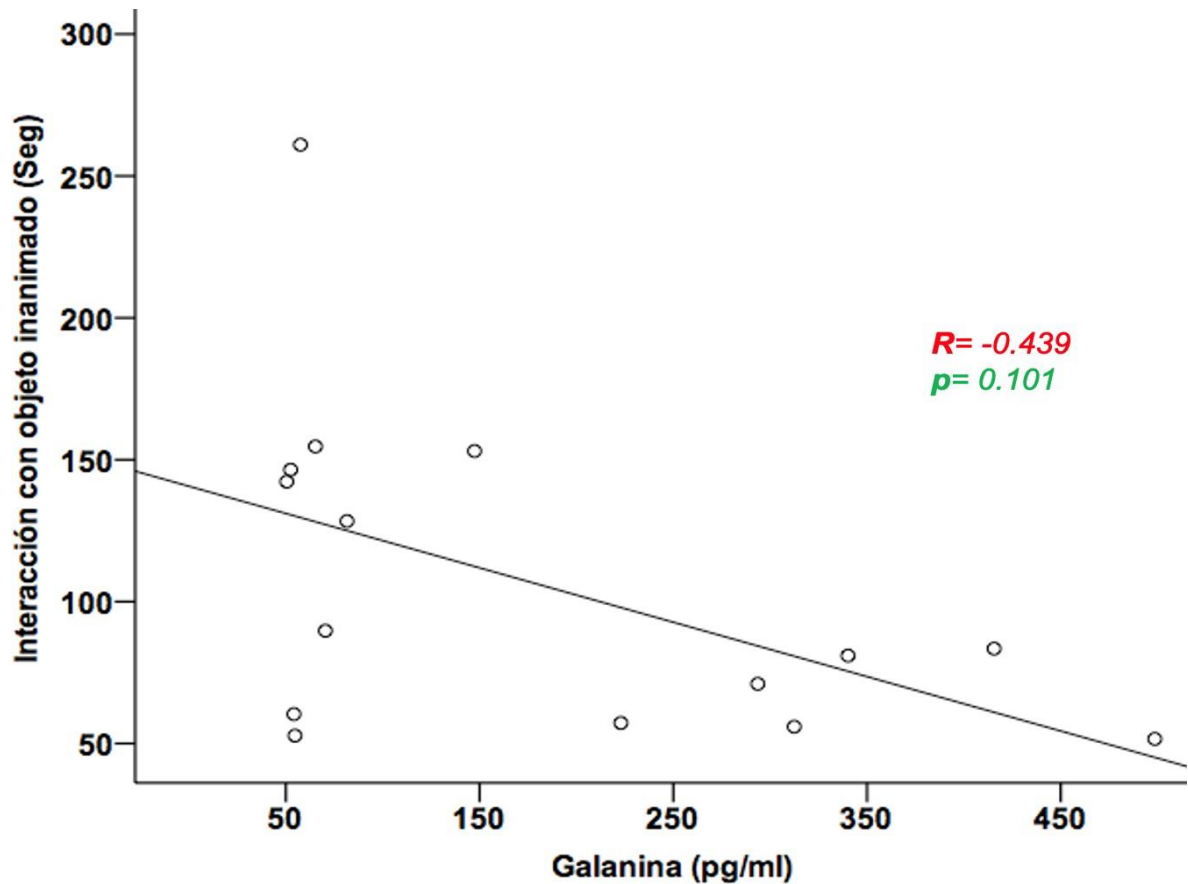


Figura 13. Correlación entre el tiempo de interacción con objeto inanimado y los niveles de galanina. Correlación entre el tiempo de interacción con objeto inanimado y los niveles de GAL. El análisis estadístico se realizó mediante el coeficiente de correlación por jerarquías de Spearman (Rho de Spearman). * $p > 0.05$ fue considerada como no significativa. (Grupo control, $n=7$); (Grupo cafetería, $n=8$).

Por otra parte, el análisis estadístico no mostró una correlación al comparar el tiempo de interacción que pasó el ratón con un objeto inanimado con los niveles circulantes de GAL, ($p= 0.101$, $R=- 0.439$).

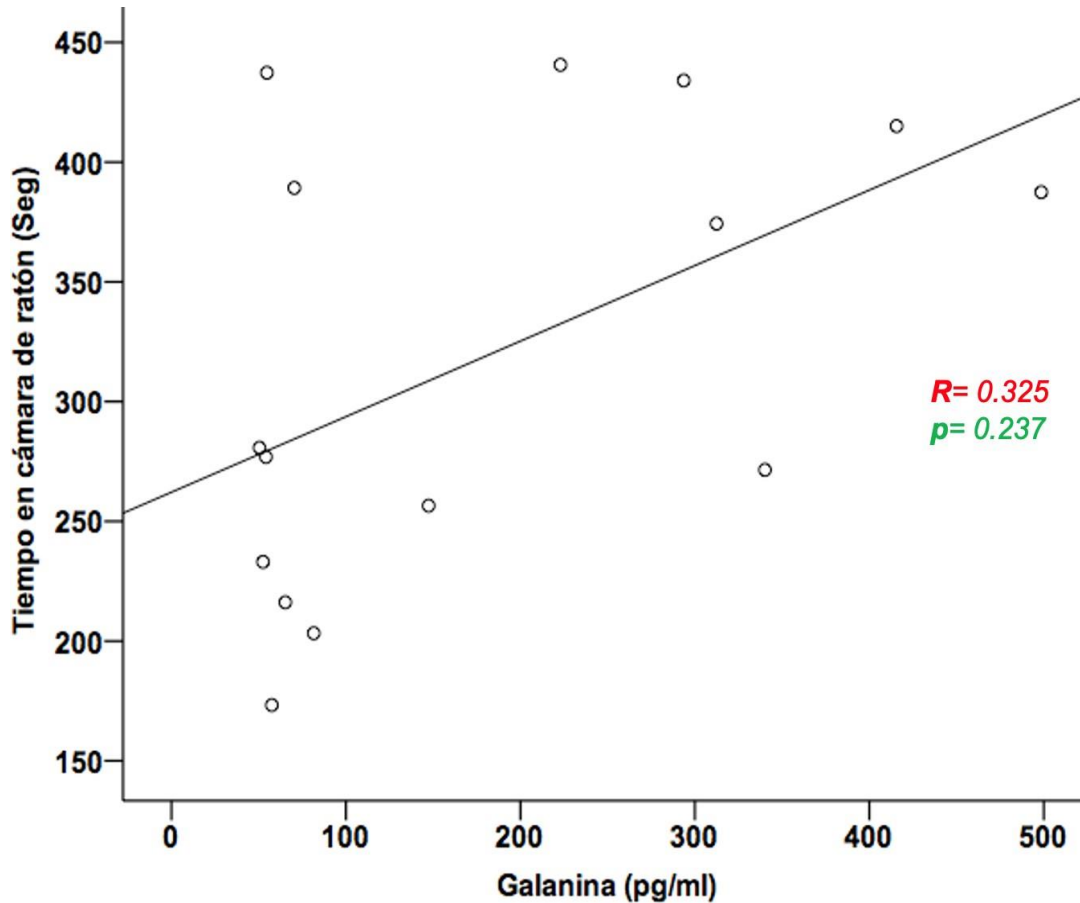


Figura 14. Correlación entre el tiempo de interacción en la cámara del ratón extraño y los niveles de galanina. Correlación entre el tiempo de interacción en la cámara del ratón extraño y los niveles de GAL. El análisis estadístico se realizó mediante el coeficiente de correlación por jerarquías de Spearman (Rho de Spearman). * $p < 0.05$ fue considerada como significativa. (Grupo control, $n=7$); (Grupo cafetería, $n=8$).

Respecto a la correlación entre el tiempo de interacción en la cámara del ratón extraño con los niveles circulantes de GAL en las crías macho, no se encontró un efecto estadísticamente significativo ($p = 0.325$, $R = 0.237$).

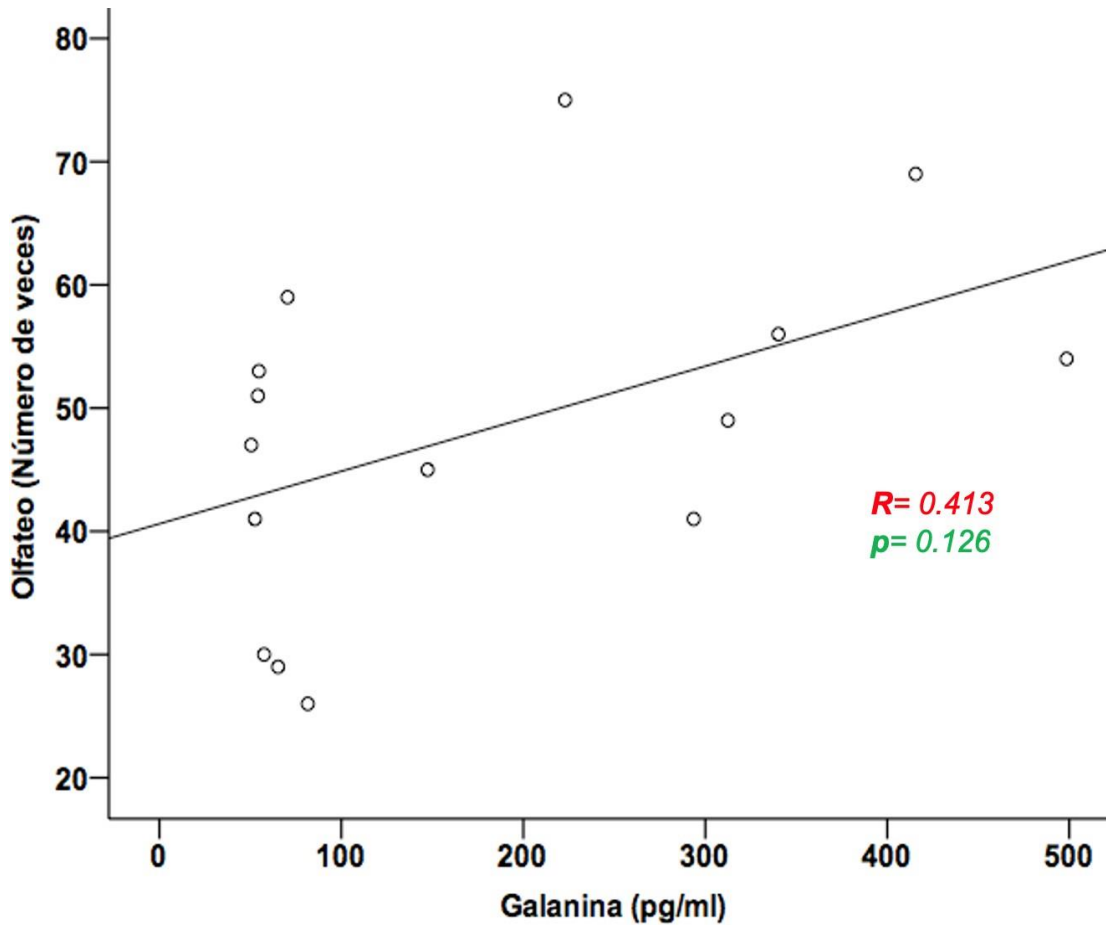


Figura 15. Correlación entre el número de olfateos y los niveles de galanina.

Correlación entre el número de olfateos y los niveles de GAL. El análisis estadístico se realizó mediante el coeficiente de correlación por jerarquías de Spearman (Rho de Spearman). * $p < 0.05$ fue considerada como significativa. (Grupo control, $n=7$); (Grupo cafetería, $n=8$).

Respecto a la correlación entre el número de olfateos con los niveles circulantes de GAL en las crías macho, no se encontró un efecto estadísticamente significativo ($p = 0.413$, $R = 0.126$).

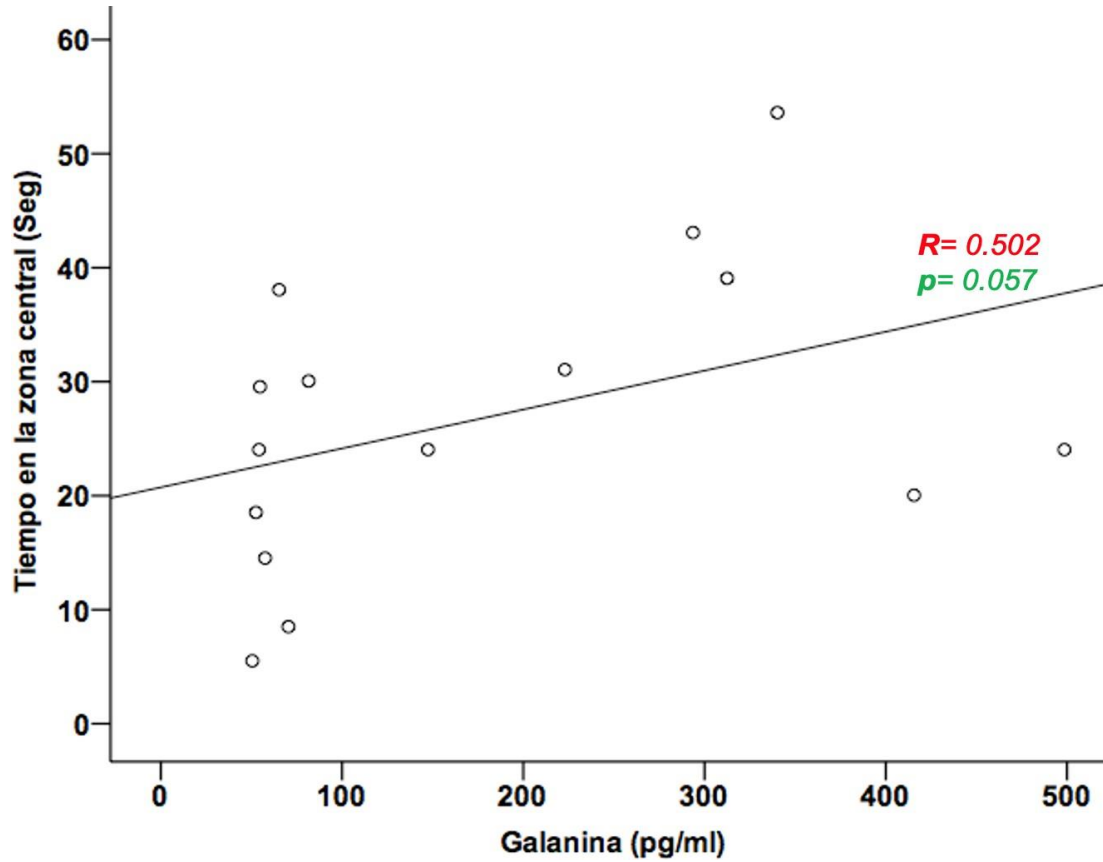


Figura 16. Correlación entre el tiempo en la zona central y los niveles de galanina. Correlación entre el tiempo en la zona central y los niveles de GAL. El análisis estadístico se realizó mediante el coeficiente de correlación por jerarquías de Spearman (Rho de Spearman). * $p < 0.05$ fue considerada como significativa. (Grupo control, $n=7$); (Grupo cafetería, $n=8$).

Del mismo modo, no se indicó una correlación estadísticamente significativa entre el tiempo que pasó el ratón en la zona central respecto a los niveles circulantes de GAL en las crías macho, a pesar que el dato numérico en el valor de p es cercano a 0.05 ($p = 0.057$, $R = 0.502$).

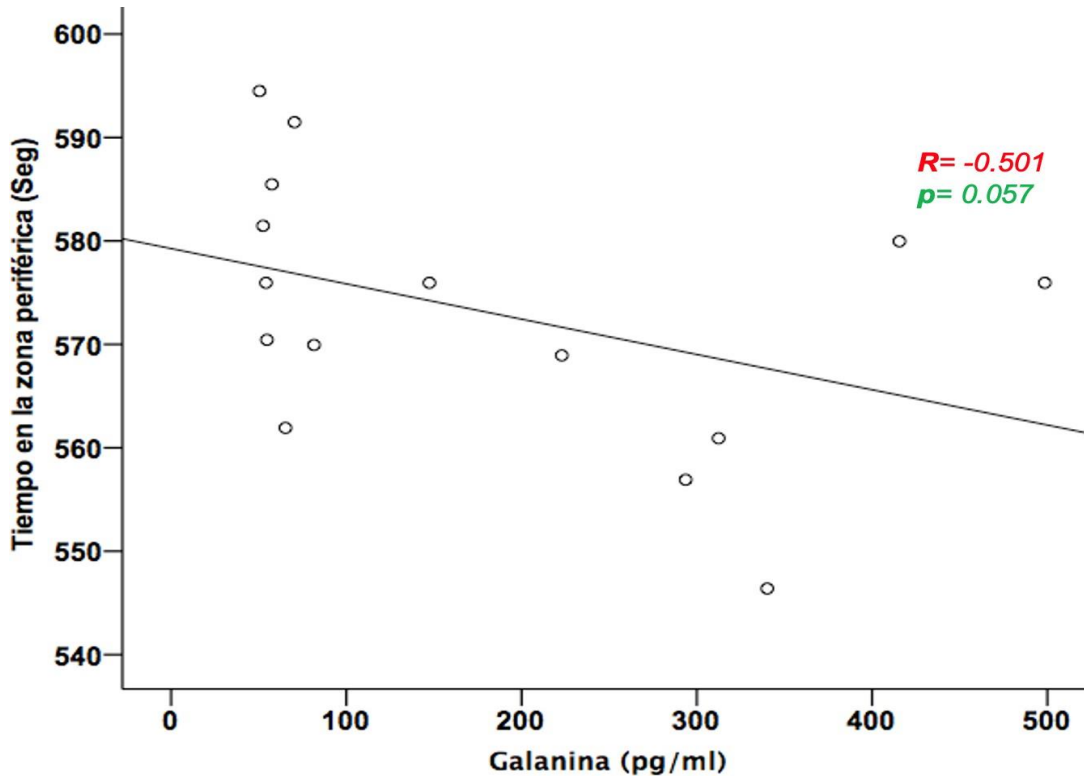


Figura 17. Correlación entre el tiempo en la zona periférica y los niveles de galanina.

Correlación entre el tiempo en la zona periférica y los niveles de GAL. El análisis estadístico se realizó mediante el coeficiente de correlación por jerarquías de Spearman (Rho de Spearman). * $p < 0.05$ fue considerada como significativa. (Grupo control, $n=7$); (Grupo cafetería, $n=8$).

La prueba estadística indicó que no existe asociación significativa entre el tiempo en la zona periférica y los niveles circulantes de GAL en las crías macho ($p= 0.057$, $R= -0.501$).

Es importante indicar que las pruebas correspondientes al campo abierto (Tiempo en la zona central y tiempo en la zona periférica), mostraron resultados muy similares, aunque sin valor significativo.

Por otra parte, en relación a las pruebas de campo abierto (Tiempo en la zona central y tiempo en la zona periférica) que evalúan el comportamiento tipo ansiedad en los modelos animales, la medición del tiempo en la zona periférica indicó una correlación negativa no significativa.

10. DISCUSIÓN

Durante el embarazo, la nutrición es un factor influyente en el desarrollo fetal, ya que las reservas energéticas y la dieta tienen la capacidad de suministrar nutrientes a través de la placenta (Phillips, 2006). La condición intrauterina asociada con la nutrición materna promueve la expresión de péptidos orexigénicos en el hipotálamo, como la GAL (Poon et al., 2012). La alteración de la programación materna crea una disfunción en la estructura de la placenta y su función, influyendo negativamente en el crecimiento fetal (G. Q. Chang et al., 2008; Poon et al., 2012).

En el 2002 Barker y colaboradores, identificaron que al realizar alteraciones en las dietas de los animales durante el embarazo (madres), se producían una serie de cambios fisiológicos o morfológicos en respuesta a las condiciones ambientales durante el desarrollo, identificándolo como plasticidad del desarrollo, ya que al estar en un ambiente cambiante la producción de fenotipos se adapta al entorno, de acuerdo a los suministros (nutrientes) que la madre pueda brindar (Barker et al., 2002).

Los lípidos desempeñan un papel fundamental en el desarrollo y la función del cerebro y el cuerpo humano al actuar como moléculas reguladoras. El metabolismo anormal de ácidos grasos (saturados, monoinsaturados o poliinsaturados) se ha asociado con el TEA. Debido a que los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), juegan un papel importante en el mantenimiento de la integridad estructural y funcional del sistema nervioso central (SNC). El desarrollo del cerebro se produce durante la etapa fetal, ya que un recién nacido ya tiene un tamaño del 70 % del cerebro de un adulto (Calderon & Kim, 2004; Clandinin et al., 1994). Por lo que, la alta ingesta de una HFD durante el periodo de desarrollo cerebral en el feto, puede conducir al desarrollo de conductas relacionadas con el TEA (Wong & Crawford, 2014).

Dieta de cafetería y su efecto sobre el TEA

En el 2021 Trujillo Villarreal y colaboradores, utilizaron dieta de cafetería en las etapas de pregestación, gestación y lactancia, encontraron una mayor predisposición a un comportamiento similar a la depresión en la descendencia, incluso describieron una disminución del volumen cerebral (Trujillo-Villarreal et al., 2021). Otro artículo estudió en el 2020 de Ke y colaboradores, utilizaron una cepa de ratón, similar al estudio previo, en donde también la dieta de cafetería fue suministrada durante pregestación, gestación y lactancia; encontraron mayor riesgo de deterioro cognitivo y depresión en la descendencia, específicamente vieron una alteración en los niveles de receptores de glucocorticoides en el hipocampo (Ke et al., 2020).

En este sentido, la exposición materna a la dieta de la cafetería durante el periodo perinatal, predispone a un comportamiento similar a la depresión en la descendencia, por lo que el entorno materno adverso y la dieta rica en grasas aumentan el riesgo de deterioro cognitivo.

El efecto de la dieta de cafetería sobre los niveles de galanina

Por otro lado, los estudios publicados en 1998 por Kozak, en el 2006 Beck y colaboradores, analizaron la influencia de una HFD en las madres durante la gestación y lactancia. El efecto lo analizaron a nivel fetal, encontrando una disminución en las funciones anabólicas, al igual que un déficit de peso corporal, los cuales se podrían ver relacionados con el estado neuropeptidérgico en las ratas, por ejemplo, el estado peptidérgico de la GAL no se encuentra en estado maduro al destete, por lo que podría seguir modificándose de acuerdo a la composición de la dieta. Debido a ello, Kozak y colaboradores sugieren seguir realizando estudios para poder determinar hasta qué punto las condiciones de una alimentación temprana impuesta por las madres con una HFD, podría seguir modificando los niveles de GAL en la descendencia (Kozak et al., 1998). Por otra parte, Beck y colaboradores consideraron que, una sobre alimentación de una HFD durante la última semana de gestación y lactancia, causa una diferenciación neuronal en el sistema nervioso

central a largo plazo en algunos neuropéptidos, como neuropéptido Y, GAL y orexina, esto, al llegar a la etapa adulta en la descendencia, ya que, durante este periodo los sistemas hipotalámicos son más sensibles al ambiente materno, como el factor metabólico y el ambiente nutricional (Beck et al., 2006). Por otra parte, Barton y colaboradores en 1995, identificaron que los ratones con una ingesta elevada en grasas estimulan el sistema opioide, causando niveles elevados de GAL (Barton et al., 1995). Nuestro estudio observó un nivel más bajo de GAL en las crías cuyas madres consumieron una HFD, en este sentido, no existe información reportada que asocie dietas hipercalóricas con el efecto de los niveles de GAL en la descendencia. Es probable que el estado de madurez peptidérgico de la GAL se esté modificando constantemente desde etapas tempranas asociado con la alimentación de la madre, como lo sugiere el único estudio realizado por Kozak en 1998. En base a esto, es importante realizar más investigaciones para poder afirmar que los niveles bajos de GAL en el grupo cafetería son el resultado de una programación, derivada de una alimentación alta en grasas y azúcares como la cafetería.

El efecto de niveles de galanina sobre el comportamiento

Los trastornos como la ansiedad, surgen debido al desbalance de neurotransmisores monoaminérgicos (dopamina, serotonina, noradrenalina, histamina y adrenalina). Diversos estudios han relacionado los niveles de GAL como moduladores del comportamiento tipo ansiedad, depresión, el estado de ánimo y las emociones al mediar el comportamiento con efectos tipo antidepresivos y anti ansiolíticos (Bing et al., 1993; Keszler et al., 2019; X. Lu et al., 2005). El estudio previo de cual partimos encontró un comportamiento similar a la ansiedad y déficit de sociabilidad en el grupo cafetería, por otra parte, nuestro análisis indicó niveles bajos de GAL en el mismo grupo, en este sentido, al momento de llevar a cabo las correlaciones, no encontramos una asociación directa entre los niveles de GAL circulante con el comportamiento tipo social y de ansiedad, característicos del TEA.

En base a lo anterior, es posible que un mecanismo distinto al de la GAL en periferia pudiera estar siendo modificado. Existen estudios que han relacionado factores estresantes a temprana edad con una alteración en diversos mecanismos neuronales a nivel cerebral (Juhász et al., 2014). Las crías de madres cafetería estuvieron expuestas a una HFD durante el periodo de lactancia, este estado metabólico de abundancia energética pudo modificar la expresión de diversos genes relacionados con la GAL como lo son Galr1, Galr2, Galr3, los cuales se han ligado con funciones cerebrales como disfunción del sistema límbico, cambios neuroplásticos y deficiencia de monoaminas, que éstos a su vez han generado un fenotipo de depresión y de ansiedad, éste último relacionado con una de las variables que se analizaron en el presente estudio. Por lo tanto, podría ser de gran interés evaluar la expresión génica en cerebro para buscar una posible asociación con las distintas pruebas de comportamiento como lo son la sociabilidad y ansiedad.

11. CONCLUSIONES

1. La presente investigación encontró un nivel más bajo de GAL en las crías cuyas madres consumieron una HFD, en este sentido, no existe información reportada que asocie dietas hipercalóricas maternas con el efecto de los niveles de GAL en la descendencia. Una de las posibles variantes es el estado de madurez peptidérgico de la GAL, el cual se modifica desde etapas tempranas asociado con la alimentación de la madre. En base a esto, se sugieren realizar más investigaciones para poder afirmar que los niveles bajos de GAL en el grupo cafetería son el resultado de una programación, derivada de una alimentación alta en grasas y azúcares como la cafetería.

2. No se encontró una correlación estadísticamente significativa entre los niveles de GAL con las pruebas de comportamiento tipo social y de ansiedad. En base a esto, es posible que un mecanismo distinto al de la GAL en periferia pudiera estar siendo modificado. Existen estudios que han relacionado factores estresantes a temprana edad con una alteración en diversos mecanismos a nivel cerebral. Las crías de madres cafetería estuvieron expuestas a una HFD durante el periodo de lactancia, este estado metabólico de abundancia energética pudo modificar la expresión de diversos genes relacionados con la GAL como lo son Galr1, Galr2, Galr3, los cuales se han ligado con funciones cerebrales como disfunción del sistema límbico, cambios neuroplásticos y deficiencia de monoaminas, que éstos a su vez han generado un fenotipo de depresión y de ansiedad, por lo tanto, sería de gran interés conocer la posible asociación en la expresión de estos genes con las pruebas de comportamiento.

REFERENCIAS

- Adane, A. A., Mishra, G. D., & Tooth, L. R. (2016). Maternal pre-pregnancy obesity and childhood physical and cognitive development of children: A systematic review. In *International Journal of Obesity* (Vol. 40, Issue 11).
<https://doi.org/10.1038/ijo.2016.140>
- Alamy, M., & Bengelloun, W. A. (2012). Malnutrition and brain development: An analysis of the effects of inadequate diet during different stages of life in rat. In *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* (Vol. 36, Issue 6).
<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2012.03.009>
- American Psychiatric Association. (2014). *DSM-5. Guía de Consulta de los Criterios Diagnósticos del DSM-5* (Médica Panamericana (ed.)). American Psychiatric Association.
- Barker, D. J. P., Eriksson, J. G., Forsén, T., & Osmond, C. (2002). Fetal origins of adult disease: Strength of effects and biological basis. *International Journal of Epidemiology*, 31(6). <https://doi.org/10.1093/ije/31.6.1235>
- Basu, S., Haghiac, M., Surace, P., Challier, J. C., Guerre-Millo, M., Singh, K., Waters, T., Minium, J., Presley, L., Catalano, P. M., & Hauguel-De Mouzon, S. (2011). Pregravid obesity associates with increased maternal endotoxemia and metabolic inflammation. *Obesity*, 19(3).
<https://doi.org/10.1038/oby.2010.215>
- Besson, A. A., Lagisz, M., Senior, A. M., Hector, K. L., & Nakagawa, S. (2016). Effect of maternal diet on offspring coping styles in rodents: a systematic review and meta-analysis. *Biological Reviews*, 91(4).
<https://doi.org/10.1111/brv.12210>
- Biennu, O. J., Wuyek, L. A., & Stein, M. B. (2010). Anxiety disorders diagnosis: Some history and controversies. In *Current Topics in Behavioral Neurosciences* (Vol. 2). https://doi.org/10.1007/7854_2009_4
- Bilbo, S. D., & Tsang, V. (2010). Enduring consequences of maternal obesity for

- brain inflammation and behavior of offspring. *The FASEB Journal*, 24(6).
<https://doi.org/10.1096/fj.09-144014>
- Bing, O., Möller, C., Engel, J. A., Söderpalm, B., & Heilig, M. (1993). Anxiolytic-like action of centrally administered galanin. *Neuroscience Letters*, 164(1–2).
[https://doi.org/10.1016/0304-3940\(93\)90846-D](https://doi.org/10.1016/0304-3940(93)90846-D)
- Bordeleau, M., Fernández de Cossío, L., Chakravarty, M. M., & Tremblay, M. È. (2021). From Maternal Diet to Neurodevelopmental Disorders: A Story of Neuroinflammation. In *Frontiers in Cellular Neuroscience*.
<https://doi.org/10.3389/fncel.2020.612705>
- Borge, T. C., Aase, H., Brantsæter, A. L., & Biele, G. (2017). The importance of maternal diet quality during pregnancy on cognitive and behavioural outcomes in children: A systematic review and meta-analysis. In *BMJ Open* (Vol. 7, Issue 9). <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2017-016777>
- Brewer, C. J., & Balen, A. H. (2010). The adverse effects of obesity on conception and implantation. In *Reproduction* (Vol. 140, Issue 3).
<https://doi.org/10.1530/REP-09-0568>
- Brunner, S. M., Farzi, A., Locker, F., Holub, B. S., Drexel, M., Reichmann, F., Lang, A. A., Mayr, J. A., Vilches, J. J., Navarro, X., Lang, R., Sperk, G., Holzer, P., & Kofler, B. (2014). GAL3 receptor KO mice exhibit an anxietylike phenotype. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(19). <https://doi.org/10.1073/pnas.1318066111>
- Calderon, F., & Kim, H. Y. (2004). Docosahexaenoic acid promotes neurite growth in hippocampal neurons. *Journal of Neurochemistry*, 90(4).
<https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2004.02520.x>
- Caldwell, H. K. (2012). Neurobiology of sociability. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 739. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-1704-0_12
- Cárdenas-Tueme, M., Montalvo-Martínez, L., Maldonado-Ruiz, R., Camacho-Morales, A., & Reséndez-Pérez, D. (2020). Neurodegenerative Susceptibility

During Maternal Nutritional Programming: Are Central and Peripheral Innate Immune Training Relevant? In *Frontiers in Neuroscience*.

<https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00013>

Careaga, M., Murai, T., & Bauman, M. D. (2017). Maternal Immune Activation and Autism Spectrum Disorder: From Rodents to Nonhuman and Human Primates. In *Biological Psychiatry* (Vol. 81, Issue 5).

<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2016.10.020>

Casey, S., Carter, M., Looney, A. M., Livingstone, V., Moloney, G., O’Keeffe, G. W., Taylor, R. S., Kenny, L. C., McCarthy, F. P., McCowan, L. M. E., Thompson, J. M. D., & Murray, D. M. (2021). Maternal Mid-Gestation Cytokine Dysregulation in Mothers of Children with Autism Spectrum Disorder. *Journal of Autism and Developmental Disorders*. <https://doi.org/10.1007/s10803-021-05271-7>

Casey, S., Carter, M., Looney, A. M., Livingstone, V., Moloney, G., O’Keeffe, G. W., Taylor, R. S., Kenny, L. C., McCarthy, F. P., McCowan, L. M. E., Thompson, J. M. D., & Murray, D. M. (2022). Maternal Mid-Gestation Cytokine Dysregulation in Mothers of Children with Autism Spectrum Disorder. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 52(9).

<https://doi.org/10.1007/s10803-021-05271-7>

Chang, G. Q., Gaysinskaya, V., Karatayev, O., & Leibowitz, S. F. (2008). Maternal high-fat diet and fetal programming: Increased proliferation of hypothalamic peptide-producing neurons that increase risk for overeating and obesity. *Journal of Neuroscience*, 28(46). <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2642-08.2008>

Chang, Y. C., Cole, T. B., & Costa, L. G. (2017). Behavioral phenotyping for autism spectrum disorders in mice. *Current Protocols in Toxicology*.

<https://doi.org/10.1002/cptx.19>

Clandinin, M. T., Jumpsen, J., & Suh, M. (1994). Relationship between fatty acid accretion, membrane composition, and biologic functions. *The Journal of*

- Pediatrics*, 125(5 PART 2). [https://doi.org/10.1016/S0022-3476\(06\)80733-X](https://doi.org/10.1016/S0022-3476(06)80733-X)
- de la Garza, A. L., Martínez-Tamez, A. M., Mellado-Negrete, A., Arjonilla-Becerra, S., Peña-Vázquez, G. I., Marín-Obispo, L. M., & Hernández-Brenes, C. (2023). Characterization of the Cafeteria Diet as Simulation of the Human Western Diet and Its Impact on the Lipidomic Profile and Gut Microbiota in Obese Rats. *Nutrients*, 15(1). <https://doi.org/10.3390/nu15010086>
- Edlow, A. G. (2017). Maternal obesity and neurodevelopmental and psychiatric disorders in offspring. *Prenatal Diagnosis*, 37(1). <https://doi.org/10.1002/pd.4932>
- Fombonne, E. (2018). Editorial: The rising prevalence of autism. In *Journal of Child Psychology and Psychiatry and Allied Disciplines* (Vol. 59, Issue 7). <https://doi.org/10.1111/jcpp.12941>
- Fombonne, E., MacFarlane, H., & Salem, A. C. (2021). Epidemiological surveys of ASD: advances and remaining challenges. In *Journal of Autism and Developmental Disorders* (Vol. 51, Issue 12). <https://doi.org/10.1007/s10803-021-05005-9>
- Fombonne, E., Marcin, C., Bruno, R., Tinoco, C. M., & Marquez, C. D. (2012). Screening for Autism in Mexico. *Autism Research*. <https://doi.org/10.1002/aur.1235>
- Fombonne, E., Marcin, C., Manero, A. C., Bruno, R., Diaz, C., Villalobos, M., Ramsay, K., & Nealy, B. (2016). Prevalence of Autism Spectrum Disorders in Guanajuato, Mexico: The Leon survey. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 46(5). <https://doi.org/10.1007/s10803-016-2696-6>
- Fusco, S., Spinelli, M., Cocco, S., Ripoli, C., Mastrodonato, A., Natale, F., Rinaudo, M., Livrizzi, G., & Grassi, C. (2019). Maternal insulin resistance multigenerationally impairs synaptic plasticity and memory via gametic mechanisms. *Nature Communications*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-019-12793-3>

- García-Durán, L., Flores-Burgess, A., Cantero-García, N., Puigcerver, A., Narváez, J. Á., Fuxe, K., Santín, L., Millón, C., & Díaz-Cabiale, Z. (2021). Galanin(1-15) potentiates the antidepressant-like effects induced by escitalopram in a rat model of depression. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(19). <https://doi.org/10.3390/ijms221910848>
- Gawlińska, K., Gawliński, D., Borczyk, M., Korostyński, M., Przegaliński, E., & Filip, M. (2021). A maternal high-fat diet during early development provokes molecular changes related to autism spectrum disorder in the rat offspring brain. *Nutrients*, 13(9). <https://doi.org/10.3390/nu13093212>
- Gawlińska, K., Gawliński, D., Filip, M., & Przegaliński, E. (2021). Relationship of maternal high-fat diet during pregnancy and lactation to offspring health. *Nutrition Reviews*, 79(6). <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuaa020>
- Girchenko, P., Lahti-Pulkkinen, M., Lahti, J., Pesonen, A. K., Hämäläinen, E., Villa, P. M., Kajantie, E., Laivuori, H., Reynolds, R. M., & Räikkönen, K. (2018). Neonatal regulatory behavior problems are predicted by maternal early pregnancy overweight and obesity: findings from the prospective PREDO Study. *Pediatric Research*, 84(6). <https://doi.org/10.1038/s41390-018-0199-1>
- Goeden, N., Velasquez, J., Arnold, K. A., Chan, Y., Lund, B. T., Anderson, G. M., & Bonnin, A. (2016). Maternal inflammation disrupts fetal neurodevelopment via increased placental output of serotonin to the fetal brain. *Journal of Neuroscience*, 36(22). <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2534-15.2016>
- Gopalakrishnan, L., Chatterjee, O., Raj, C., Pullimamidi, D., Advani, J., Mahadevan, A., & Keshava Prasad, T. S. (2021). An assembly of galanin–galanin receptor signaling network. *Journal of Cell Communication and Signaling*, 15(2). <https://doi.org/10.1007/s12079-020-00590-3>
- Hampson, D. R., & Blatt, G. J. (2015). Autism spectrum disorders and neuropathology of the cerebellum. In *Frontiers in Neuroscience*. <https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00420>
- Jones, K. L., Croen, L. A., Yoshida, C. K., Heuer, L., Hansen, R., Zerbo, O.,

- Delorenze, G. N., Kharrazi, M., Yolken, R., Ashwood, P., & Van De Water, J. (2017). Autism with intellectual disability is associated with increased levels of maternal cytokines and chemokines during gestation. *Molecular Psychiatry*, 22(2). <https://doi.org/10.1038/mp.2016.77>
- Juhasz, G., Hullam, G., Eszlari, N., Gonda, X., Antal, P., Anderson, I. M., Hökfelt, T. G. M., Deakin, J. F. W., & Bagdy, G. (2014). Brain galanin system genes interact with life stresses in depression-related phenotypes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(16). <https://doi.org/10.1073/pnas.1403649111>
- Karlsson, R. M., & Holmes, A. (2006). Galanin as a modulator of anxiety and depression and a therapeutic target for affective disease. *Amino Acids*, 31(3). <https://doi.org/10.1007/s00726-006-0336-8>
- Ke, X., Fu, Q., Sterrett, J., Hillard, C. J., Lane, R. H., & Majnik, A. (2020). Adverse maternal environment and western diet impairs cognitive function and alters hippocampal glucocorticoid receptor promoter methylation in male mice. *Physiological Reports*, 8(8). <https://doi.org/10.14814/phy2.14407>
- Kelly, A. C., Powell, T. L., & Jansson, T. (2020). Placental function in maternal obesity. In *Clinical Science* (Vol. 134, Issue 8). <https://doi.org/10.1042/CS20190266>
- Keszler, G., Molnár, Z., Rónai, Z., Sasvári-Székely, M., Székely, A., & Kótyuk, E. (2019). Association between anxiety and non-coding genetic variants of the galanin neuropeptide. *PLoS ONE*, 14(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0226228>
- Kim, K. C., Gonzales, E. L., Lázaro, M. T., Choi, C. S., Bahn, G. H., Yoo, H. J., & Shin, C. Y. (2016). Clinical and neurobiological relevance of current animal models of autism spectrum disorders. In *Biomolecules and Therapeutics*. <https://doi.org/10.4062/biomolther.2016.061>
- Kirsten, T. B., Casarin, R. C., Bernardi, M. M., & Felicio, L. F. (2018). Pioglitazone abolishes autistic-like behaviors via the IL-6 pathway. *PLoS ONE*.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197060>

- Knuesel, I., Chicha, L., Britschgi, M., Schobel, S. A., Bodmer, M., Hellings, J. A., Toovey, S., & Prinssen, E. P. (2014). Maternal immune activation and abnormal brain development across CNS disorders. In *Nature Reviews Neurology*. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2014.187>
- Kong, L., Chen, X., Gissler, M., & Lavebratt, C. (2020). Relationship of prenatal maternal obesity and diabetes to offspring neurodevelopmental and psychiatric disorders: a narrative review. In *International Journal of Obesity* (Vol. 44, Issue 10). <https://doi.org/10.1038/s41366-020-0609-4>
- Kozak, R., Mercer, J. G., Burlet, A., Moar, K. M., Burlet, C., & Beck, B. (1998). Hypothalamic neuropeptide Y content and mRNA expression in weanling rats subjected to dietary manipulations during fetal and neonatal life. *Regulatory Peptides*, 75–76. [https://doi.org/10.1016/S0167-0115\(98\)00094-9](https://doi.org/10.1016/S0167-0115(98)00094-9)
- Kumari, E., Velloso, F. J., Nasuhidehnavi, A., Somasundaram, A., Savanur, V. H., Buono, K. D., & Levison, S. W. (2020). Developmental IL-6 Exposure Favors Production of PDGF-Responsive Multipotential Progenitors at the Expense of Neural Stem Cells and Other Progenitors. *Stem Cell Reports*. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2020.03.019>
- Lalanza, J. F., & Snoeren, E. M. S. (2021). The cafeteria diet: A standardized protocol and its effects on behavior. In *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* (Vol. 122). <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2020.11.003>
- Lee, B. K., Magnusson, C., Gardner, R. M., Blomström, Å., Newschaffer, C. J., Burstyn, I., Karlsson, H., & Dalman, C. (2015). Maternal hospitalization with infection during pregnancy and risk of autism spectrum disorders. *Brain, Behavior, and Immunity*. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2014.09.001>
- Lewis, A. R., Singh, S., & Youssef, F. F. (2019). Cafeteria-diet induced obesity results in impaired cognitive functioning in a rodent model. *Heliyon*, 5(3). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01412>

- Liao, X., Yang, J., Wang, H., & Li, Y. (2020). Microglia mediated neuroinflammation in autism spectrum disorder. In *Journal of Psychiatric Research*.
<https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2020.07.013>
- Lu, J., Wang, Z., Liang, Y., & Yao, P. (2022). Rethinking autism: the impact of maternal risk factors on autism development. *American Journal of Translational Research*, 14(2), 1136–1145.
- Lu, X., Barr, A. M., Kinney, J. W., Sanna, P., Conti, B., Behrens, M. M., & Bartfai, T. (2005). A role for galanin in antidepressant actions with a focus on the dorsal raphe nucleus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(3). <https://doi.org/10.1073/pnas.0408891102>
- Lyall, K., Munger, K. L., O'Reilly, É. J., Santangelo, S. L., & Ascherio, A. (2013). Maternal dietary fat intake in association with autism spectrum disorders. *American Journal of Epidemiology*, 178(2). <https://doi.org/10.1093/aje/kws433>
- Maher, G. M., O'Keeffe, G. W., Dalman, C., Kearney, P. M., McCarthy, F. P., Kenny, L. C., & Khashan, A. S. (2020). Association between preeclampsia and autism spectrum disorder: a population-based study. *Journal of Child Psychology and Psychiatry and Allied Disciplines*, 61(2).
<https://doi.org/10.1111/jcpp.13127>
- Maldonado-Ruiz, R., Garza-Ocañas, L., & Camacho, A. (2019). Inflammatory domains modulate autism spectrum disorder susceptibility during maternal nutritional programming. In *Neurochemistry International*.
<https://doi.org/10.1016/j.neuint.2019.03.009>
- Mariona, F. G. (2016). Perspectives in obesity and pregnancy. In *Women's Health* (Vol. 12, Issue 6). <https://doi.org/10.1177/1745505716686101>
- Maron, E., & Nutt, D. (2017). Biological markers of generalized anxiety disorder. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 19(2).
<https://doi.org/10.31887/dcns.2017.19.2/dnutt>
- Mayoral, L. P. C., Andrade, G. M., Mayoral, E. P. C., Huerta, T. H., Canseco, S. P.,

- Rodal Canales, F. J., Cabrera-Fuentes, H. A., Cruz, M. M., Pérez Santiago, A. D., Alpuche, J. J., Zenteno, E., Ruíz, H. M., Cruz, R. M., Jeronimo, J. H., & Perez-Campos, E. (2020). Obesity subtypes, related biomarkers & heterogeneity. In *The Indian journal of medical research*.
https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_1768_17
- Meltzer, A., & Van De Water, J. (2017). The Role of the Immune System in Autism Spectrum Disorder. In *Neuropsychopharmacology* (Vol. 42, Issue 1).
<https://doi.org/10.1038/npp.2016.158>
- Miguel-Soca, P. E., Díaz, G. E. F., Benítez, S. N. G., & Montero, M. de los Á. L. (2020). Obesity, inflammation and pregnancy: A dangerous triad. *Revista Cubana de Obstetricia y Ginecología*, 46(4).
- Millón, C., Flores-Burgess, A., Narváez, M., Borroto-Escuela, D. O., Santín, L., Parrado, C., Narváez, J. A., Fuxe, K., & Díaz-Cabiale, Z. (2015). A role for galanin N-terminal fragment (1-15) in anxiety-and depression-related behaviors in Ra. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 18(3).
<https://doi.org/10.1093/ijnp/pyu064>
- Morais, J. S., Souza, M. M., Campanha, T. M. N., Muller, C. J. T., Bittencourt, A. S., Bortoli, V. C., Schenberg, L. C., & Beijamini, V. (2016). Galanin subtype 1 and subtype 2 receptors mediate opposite anxiety-like effects in the rat dorsal raphe nucleus. *Behavioural Brain Research*, 314.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.08.007>
- Nakamoto, C., Kawamura, M., Nakatsukasa, E., Natsume, R., Takao, K., Watanabe, M., Abe, M., Takeuchi, T., & Sakimura, K. (2020). GluD1 knockout mice with a pure C57BL/6N background show impaired fear memory, social interaction, and enhanced depressive-like behavior. *PLoS ONE*.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0229288>
- Noriega, D. B., & Savelkoul, H. F. J. (2014). Immune dysregulation in autism spectrum disorder. In *European Journal of Pediatrics*.
<https://doi.org/10.1007/s00431-013-2183-4>

- Odalís Fernández López, D., Bárbara Jiménez Hernández, D., Regla, D., Almirall, A., Darelys, D., Molina, S.-N., Rafaela, D. J., & Navarro, C. (2012). Manual para diagnóstico y tratamiento de trastornos ansiosos Manual for Diagnosis and Treatment of Anxiety Disorders. *MEDISAN*, 10(5).
- Phillips, I. W. D. (2006). External influences on the fetus and their long-term consequences. *Lupus*, 15(11). <https://doi.org/10.1177/0961203306069354>
- Poon, K., Barson, J. R., Fagan, S. E., & Leibowitz, S. F. (2012). Developmental changes in embryonic hypothalamic neurons during prenatal fat exposure. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 303(3). <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00238.2012>
- Quiroga Luis, Alba. Espiñeira Brañas, María Isabel. García González, J. (2020). *Trastornos de ansiedad*. Fistera. <https://www.fistera.com/guias-clinicas/trastornos-ansiedad/#33967>
- Rivera, H. M., Christiansen, K. J., & Sullivan, E. L. (2015). The role of maternal obesity in the risk of neuropsychiatric disorders. In *Frontiers in Neuroscience* (Vol. 9, Issue MAY). <https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00194>
- Saad, K., Abdel-Rahman, A. A., Al-Atram, A. A., Abdallah, A. E. M., Elhoufey, A., Abdelsalam, E. M. N., Nigm, D. A., Elshora, O., Ahmad, A. R., El-Tellawy, M. M., & Mahmoud, K. H. (2021). Serum Galanin in Children with Autism Spectrum Disorder. *Child Psychiatry and Human Development*. <https://doi.org/10.1007/s10578-021-01127-4>
- Sanchez, C. E., Barry, C., Sabhlok, A., Russell, K., Majors, A., Kollins, S. H., & Fuemmeler, B. F. (2018). Maternal pre-pregnancy obesity and child neurodevelopmental outcomes: a meta-analysis. In *Obesity Reviews* (Vol. 19, Issue 4). <https://doi.org/10.1111/obr.12643>
- Schiavi, S., Iezzi, D., Manduca, A., Leone, S., Melancia, F., Carbone, C., Petrella, M., Mannaioni, G., Masi, A., & Trezza, V. (2019). Reward-Related Behavioral, Neurochemical and Electrophysiological Changes in a Rat Model of Autism Based on Prenatal Exposure to Valproic Acid. *Frontiers in Cellular*

Neuroscience, 13. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00479>

- Shook, L. L., Kislal, S., & Edlow, A. G. (2020). Fetal brain and placental programming in maternal obesity: A review of human and animal model studies. *Prenatal Diagnosis*, 40(9). <https://doi.org/10.1002/pd.5724>
- Silvestris, E., de Pergola, G., Rosania, R., & Loverro, G. (2018). Obesity as disruptor of the female fertility. In *Reproductive Biology and Endocrinology* (Vol. 16, Issue 1). <https://doi.org/10.1186/s12958-018-0336-z>
- Špková, J., Kramáriková, I., Hynie, S., & Klenerová, V. (2017). The Galanin and Galanin receptor subtypes, its regulatory role in the biological and pathological functions. In *Physiological Research* (Vol. 66, Issue 5). <https://doi.org/10.33549/physiolres.933576>
- Sturman, O., Germain, P. L., & Bohacek, J. (2018). Exploratory rearing: a context- and stress-sensitive behavior recorded in the open-field test. *Stress*, 21(5). <https://doi.org/10.1080/10253890.2018.1438405>
- Sureshchandra, S., Marshall, N. E., Wilson, R. M., Barr, T., Rais, M., Purnell, J. Q., Thornburg, K. L., & Messaoudi, I. (2018). Inflammatory determinants of pregravid obesity in placenta and peripheral blood. *Frontiers in Physiology*, 9(AUG). <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01089>
- Swanson, C. J., Blackburn, T. P., Zhang, X., Zheng, K., Xu, Z. Q. D., Hökfelt, T., Wolinsky, T. D., Konkell, M. J., Chen, H., Zhong, H., Walker, M. W., Craig, D. A., Gerald, C. P. G., & Branchek, T. A. (2005). Anxiolytic- and antidepressant-like profiles of the galanin-3 receptor (Gal3) antagonists SNAP 37889 and SNAP 398299. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(48). <https://doi.org/10.1073/pnas.0508970102>
- Tauqeer, Z., Gomez, G., & Stanford, F. C. (2018). Obesity in Women: Insights for the Clinician. *Journal of Women's Health*, 27(4). <https://doi.org/10.1089/jwh.2016.6196>
- 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*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41398-020-01157-x>
- Tsan, L., Décarie-Spain, L., Noble, E. E., & Kanoski, S. E. (2021). Western Diet Consumption During Development: Setting the Stage for Neurocognitive Dysfunction. In *Frontiers in Neuroscience* (Vol. 15). <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.632312>
- Uddin, M. N., Yao, Y., Mondal, T., Matala, R., Manley, K., Lin, Q., & Lawrence, D. A. (2020). Immunity and autoantibodies of a mouse strain with autistic-like behavior. *Brain, Behavior, and Immunity - Health*, 4. <https://doi.org/10.1016/j.bbih.2020.100069>
- Wang, Y. J., Yang, Y. T., Li, H., Liu, P. Z., Wang, C. Y., & Xu, Z. Q. D. (2014). Plasma galanin is a biomarker for severity of major depressive disorder. *International Journal of Psychiatry in Medicine*, 48(2). <https://doi.org/10.2190/PM.48.2.d>
- Wong, C., & Crawford, D. A. (2014). Lipid Signalling in the Pathology of Autism Spectrum Disorders. In *Comprehensive Guide to Autism*. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4788-7_68
- Wu, W. L., Hsiao, E. Y., Yan, Z., Mazmanian, S. K., & Patterson, P. H. (2017). The placental interleukin-6 signaling controls fetal brain development and behavior. *Brain, Behavior, and Immunity*. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2016.11.007>
- Zamłyński, J., Chudek, J., Olejek, A., Kobylec-Zamłyńska, B., Mańka, G., Bodzek, P., & Więcek, A. (2007). Galanin concentrations in maternal circulation, amniotic fluid and umbilical cord blood during term labor: Relationship with maternal body mass and neonatal birth weight. *Gynecological Endocrinology*, 23(5). <https://doi.org/10.1080/09513590701281405>