

Efecto de los lipoaminoácidos (NAGly/OIGly) sobre la neurotransmisión, la conducta relacionada con la ansiedad y la obesogénesis en un modelo murino C57BL/6

Effect of lipoaminoacids (NAGly/OIGly) on neurotransmission, anxiety-related behavior, and obesogenesis in a C57BL/6 murine model

Ricardo E. Ramírez-Orozco¹, Yancarlo Ojeda-Aguilar², Karina A. Pedroza-García¹, David Masuoka³, Judith Martín del Campo-Cervantes¹ y Denisse Calderón-Vallejo^{4*}

¹Departamento de Nutrición; ²Departamento de Psicología; ³Departamento de Estomatología; ⁴Departamento de Morfología. Universidad Autónoma de Aguascalientes, Ags., México

Resumen

Antecedentes: La obesidad es un problema importante que se ha asociado cada vez más con el desarrollo de diversas morbilidades en las últimas décadas. La composición de nutrientes en la dieta y sus interacciones pueden servir como mediadores potenciales dentro del sistema endocannabinoide, desempeñando un papel en estas condiciones. Estas pueden incluir ansiedad, depresión y desequilibrios nutricionales, entre otros. **Objetivo:** Evaluar el efecto de los lipoaminoácidos N-araquidonoil glicina (NAGly) y N-oleoil glicina (OIGly) sobre la neurotransmisión relacionada con el apetito y el comportamiento, el peso y el tejido graso. **Método:** Cuarenta y dos ratones C57BL/6 fueron asignados a seis grupos según la dieta y el tratamiento. Se administró NAGly u OIGly durante siete días. Se evaluó el peso, la masa grasa, la serotonina y el factor neurotrófico derivado del cerebro, junto con pruebas de comportamiento relacionadas con la ansiedad. **Resultados:** El grupo OIGly desarrolló un aumento de peso y grasa corporal más significativo, y todos los grupos tratados con lipoaminoácidos mostraron niveles más bajos de serotonina. Finalmente, los grupos NAGly y OIGly mostraron una menor locomoción, disminuyendo su actividad motora en la prueba de campo abierto. Los factores dietéticos y posibles mediadores, como los lipoaminoácidos, pueden interactuar, contribuyendo a la aparición de alteraciones en el desarrollo de comorbilidades de la obesidad. Estudios futuros serían cruciales para mejorar nuestra comprensión de la complejidad de esta condición. **Conclusión:** La naturaleza compleja de la obesidad y sus interacciones con estas moléculas que pueden participar y mediar en procesos del sistema endocannabinoide demandan más investigación sobre los factores dietéticos y sus efectos sobre la salud.

Palabras clave: N-araquidonoilglicina. N-oleoilglicina. Serotonina. Factor neurotrófico derivado del cerebro. Tejido graso. Comportamiento similar a la ansiedad.

*Correspondencia:

Denisse Calderón-Vallejo
E-mail: denisse.calderon@edu.uaa.mx

Fecha de recepción: 12-11-2024
Fecha de aceptación: 13-11-2024
DOI: 10.24875/ANC.M24000025

Disponible en línea: 07-07-2025
Arch Neurocién (Mex). 2025;30(3):111-120
www.archivosdeneurociencias.mx

2954-4122 / © 2024 Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía. Publicado por Permanyer. Este es un artículo *open access* bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Abstract

Background: Obesity is a significant problem that has been increasingly associated with the development of various morbidities in recent decades. The composition of nutrients in the diet and their interactions can serve as potential mediators within the endocannabinoid system, playing a role in these conditions. These may include anxiety, depression, nutritional imbalances, among others. **Objective:** To evaluate the effect of the lipoaminoacids N-arachidonoyl glycine (NAGly) and N-oleoyl glycine (OIGly) on neurotransmission related to appetite and behavior, weight, and fat tissue. **Method:** Forty-two C57BL/6 mice were assigned to six groups according to diet and treatment. NAGly or OIGly was administered for 7 days. Weight, fat mass, serotonin, and brain-derived neurotrophic factor were evaluated, along with anxiety-related behavioral tests. **Results:** The OIGly group developed more significant weight gain and body fat, and all groups treated with lipoaminoacids showed lower serotonin levels. Finally, the NAGly and OIGly groups showed lower locomotion, decreasing their motor activity in the open field test. Dietary factors and possible mediators, such as lipoaminoacids, can interact, contributing to the appearance of alterations in the development of obesity comorbidities. Further studies would be crucial to improve our understanding of the complexity of this condition. **Conclusion:** The complex nature of obesity and its interactions with these molecules that may participate and mediate in endocannabinoid system processes demands further research into dietary factors and their effects on health.

Keywords: N-arachidonoyl glycine. N-oleoyl glycine. Serotonin. Brain-derived neurotrophic factor. Fat tissue. Anxiety-like behavior.

Antecedentes

La obesidad ha surgido como un problema mundial en las últimas décadas. El último Estudio de Carga Global de Enfermedades reportó que se calcula que más de 2,000 millones de personas en todo mundo tienen sobrepeso. La Organización Mundial de la Salud (OMS) define la obesidad como un índice de masa corporal $> 30 \text{ kg/m}^2$, asociando la acumulación excesiva de grasa a un mayor riesgo para la salud¹. Debido a las múltiples comorbilidades asociadas a esta patología, la obesidad representa una carga significativa para el sector sanitario. Algunas de estas comorbilidades son diabetes tipo 2, hipertensión, enfermedades cardiovasculares, cáncer (endometrial, de mama, colorectal, de cuello uterino, entre otros), hígado graso no alcohólico, desequilibrios hormonales y trastornos del estado de ánimo^{2,3}.

El conocimiento de los lipoaminoácidos se descubrió inicialmente en bacterias; no obstante, más recientemente, estas moléculas endógenas también se han hallado en tejidos de mamíferos tales como la médula espinal, el intestino y el cerebro. Se ha planteado la hipótesis de que existe una relación con los endocannabinoides debido a las similitudes estructurales compartidas y las posibles rutas de activación. Por ejemplo, se sugiere que lipoaminoácidos tales como la N-araquidonoil glicina (NAGly) desempeñan un papel como análogo de la anandamida (AEA). Este lipoaminoácido se forma a través de la conjugación enzimática del ácido araquidónico y la glicina, y también puede sintetizarse como un metabolito oxidativo de la AEA⁴.

Aunque la actividad de la NAGly aún no se ha aclarado del todo, parece actuar a través del receptor huérfano acoplado a la proteína G GPR18, lo cual aumenta la movilización del calcio y la actividad de MAPK en presencia de NAGly como agonista endógeno^{5,6}. Se han explorado varios mecanismos de señalización de la interacción de NAGly con GPR18; los resultados implicaron la acción del receptor acoplado a $G\alpha i/o$; en este contexto, la activación de los receptores de endocannabinoides se asocia a rutas de señalización tales como JNK, MAPK, AKT y p44/42, entre otras⁵. Múltiples estudios han demostrado diversas funciones que la NAGly podría mediar, tales como propiedades analgésicas y anti-inflamatorias⁴, modulación de células gliales y neuronales durante lesiones excitotóxicas⁵, inhibición de los canales de Ca^{2+} operados por almacenamiento neuronal⁷, migración de células microgliales⁸ y vasorrelajación⁹. Más recientemente, se ha propuesto que la NAGly pudiera jugar un papel en el circuito de hambre-saciedad, llevando a episodios hiperfágicos agudos¹⁰, lo cual sugiere la presencia de posibles funciones asociadas al metabolismo energético.

Por otro lado, la N-oleoil glicina (OIGly) es un lipoaminoácido derivado del aceite de oliva y sintetizado endógenamente a partir del ácido oleico. Se ve degradado por la amida hidrolasa de los ácidos grasos. La OIGly se ha detectado en lípidos del cerebro de ratas, médula espinal, riñón, piel, hígado, bazo y ovarios¹¹. Este compuesto endógeno afecta la locomoción, hipertermia, anti-nocicepción, atenuación de la recompensa

de la nicotina y rescate de la pérdida ósea^{11,12}. También se ha asociado a una disminución de las propiedades gratificantes de los alimentos altamente palatables mediante la activación del receptor activado por proliferadores de peroxisomas α (PPAR α)¹³ y posibles roles en el metabolismo lipídico, mejorando tanto la adipogénesis como la sensibilidad a la insulina¹⁴. Dentro de las mitocondrias del tejido adiposo marrón (BAT), estas moléculas podrían activar la proteína desacoplante 1 (UCP1), también conocida como termogenina¹⁵. No obstante, la comprensión de estos mecanismos permanece incompleta.

Los trastornos de ansiedad se encuentran entre las patologías psiquiátricas más frecuentes, que pueden surgir de diversos factores como episodios estresantes, adversidades en la infancia y herencia. Las relaciones propuestas incluyen la actividad del sistema serotoninérgico y las catecolaminas¹⁶. Además, la presencia de obesidad se ha asociado a un mayor riesgo de desarrollar trastorno de pánico, ansiedad y síntomas depresivos más graves^{17,18}. Asimismo, dietas inadecuadas, tales como las ricas en grasas y azúcares, comúnmente conocidas como dieta de la cafetería (CAF), contribuyen a un entorno proinflamatorio en el cuerpo y pueden llevar a la obesidad al aumentar el tono endocannabinoide hiperactivo, fomentando la adipogénesis. Esto se asocia a niveles más altos de 2-araquidonoil glicerol (2-AG) y AEA en personas con sobrepeso¹⁹. Los lipoaminoácidos son similares a los endocannabinoides, algunos de los cuales están asociados a la ingesta de alimentos e hiperfagia. No obstante, este efecto sigue sin ser concluyente ya que este papel podría depender de la estructura de estas moléculas. Una mayor ingesta de carne y grasas, una dieta típica en la obesidad, podría sintetizar más ácido araquidónico, generando, más productos de descomposición oxidativa y, posiblemente, aumentando los niveles de estos; su presencia se ha asociado a un aumento agudo en la secreción de la proteína asociada a agutí (AgRP), un neuropéptido asociado al gasto energético y la ingesta de alimentos. Este efecto podría contribuir a una ingesta descontrolada de alimentos; sumado a esto, la obesidad se asocia a comportamientos compatibles con la ansiedad que podrían influir en el impacto de los endocannabinoides en la alimentación^{20,21}.

La serotonina es un neurotransmisor que juega un papel esencial en el hipocampo, una estructura cerebral especializada que participa en la regulación cognitiva y emocional; una reducción en el volumen del hipocampo y una función alterada se han asociado a

los trastornos depresivos mayores, deterioro memorístico y del estado de ánimo y comportamientos compatibles con la ansiedad²². La serotonina es el neurotransmisor más investigado asociado a la presencia de comportamientos de ansiedad en modelos *in vivo*. Este trastorno se asocia a irregularidades en la neurotransmisión mediada por 5-HTT²³; esta disrupción en la señalización serotoninérgica también se ha asociado al desarrollo de la obesidad^{24,25}. Asimismo, el factor neurotrófico derivado del cerebro (FNDC) actúa a modo de neurotransmisor y se expresa en múltiples regiones del cerebro, mediando efectos antidepressivos. La expresión del FNDC juega un papel vital en la mejora de los síntomas de ansiedad²⁶. En este sentido, es indispensable aclarar el posible papel que desempeñan estos lipoaminoácidos; estos datos podrían proporcionar evidencia experimental para una mejor comprensión de los papeles que juegan NAGly y OIGly en procesos asociados a la dieta, la obesidad y las funciones neurológicas.

Objetivo

El objetivo de este estudio fue valorar el efecto de los lipoaminoácidos NAGly y OIGly y la dieta sobre el aumento de peso y tejido graso, la presencia de comportamientos compatibles con la ansiedad (locomoción, exploración, posición erguida y movimientos de cabeza) y los niveles de neurotransmisores 5-HT y FNDC.

Métodos

Animales y consideraciones éticas

Todos los experimentos se realizaron utilizando ratones C57BL/6 machos de 10 semanas de edad ($n = 42$), que fueron adquiridos y alojados en las instalaciones de animales de la Universidad Autónoma de Aguascalientes. Los ratones fueron alojados (3-4 ratones/jaula) en jaulas de plexiglás en un ambiente libre de patógenos a una temperatura de 22-24°C, con suficiente espacio en el piso, bajo un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas y con acceso *ad libitum* a comida y agua. El manejo de los animales siguió las pautas establecidas por la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999: "Especificaciones técnicas para la producción, manejo y uso de animales de laboratorio". Los animales se asignaron aleatoriamente a 6 grupos, cada grupo alojado por separado: grupo control ($n = 7$), grupo de dieta obesogénica o CAF ($n = 7$),

grupo de dieta estándar con NAGly (n = 7), grupo de dieta CAF con NAGly (n = 7), grupo de dieta estándar con OIGly (n = 7) y grupo de dieta CAF con OIGly (n = 7).

Dietas experimentales

Durante 12 semanas, los ratones fueron alimentados según sus respectivos grupos. Los grupos de peso saludable recibieron una dieta estándar (LabDiet™ #5001) compuesta por 28.6% de proteínas, 13.3% de lípidos y 57.9% de carbohidratos (extracto libre de nitrógeno). Por el contrario, los grupos CAF recibieron una dieta obesogénica (dieta alta en grasas/azúcares) consistente en un 11% de proteínas, 53% de lípidos, 36% de carbohidratos y 354.46 mg de sodio. Los ingredientes incluían tocino, papas fritas, pellets de dieta estándar, galletas, chocolate líquido, malvaviscos, cereales ricos en azúcar y paté de cerdo en una proporción de 1:1:1:1:1:1:2, respectivamente. Esta dieta se asemejaba al modelo propuesto por Cárdenas et al.²⁷.

Dosificación y administración de NAGly y OIGly

Durante la última semana del estudio, se administró NAGly (Cayman Chemical™, artículo: 90051) a concentraciones de 1600 nM (0.57 mg) y OIGly (Cayman Chemical™, artículo: 90269) a concentraciones de 1600 nM (0.54 mg) diariamente durante 7 días consecutivos mediante inyecciones subcutáneas a sus respectivos grupos. Las inyecciones se administraron consistentemente dentro del mismo marco temporal cada día, entre las 10:00 y 11:00 am, utilizando un volumen de 100 µL/ratón y disueltas en una solución salina. La dosis y el régimen de administración se establecieron con base en los escritos reportados donde estos lipoaminoácidos exhiben efectos a dosis mínimas de 10 pg a 3 µM (por ejemplo, intratecal, intraperitoneal y subcutánea) tal y como se muestra en estudios previos^{20,28,29}.

Evaluación de comportamientos compatibles con la ansiedad: prueba de campo abierto (OFT) y laberinto elevado en cruz (EPM)

Tras la 12ª semana, en el último día de administración de lipoaminoácidos, los ratones se aclimataron 2 horas antes del inicio de las pruebas de comportamiento.

Este proceso dio inicio colocando a los ratones en sus jaulas dentro de un ambiente controlado sin olores, ruidos ni otras variables inductoras de estrés. Para minimizar el estrés en los animales, la OFT se realizó el primer día, seguida del EPM el segundo día. Durante la OFT, cada ratón se colocó individualmente en una cámara acrílica de color mate que medía 44 × 44 × 50 cm (Panlab® Harvard Apparatus), equipada con un actímetro infrarrojo para la detección de movimiento. El campo abierto se dividió digitalmente en 2 zonas para el análisis: una zona central, que comprendía un cuadrado central de 24 × 24 cm y otra periférica (ZP) rodeándolo. Después, la actividad de los ratones se analizó empleando el *software* ACTITRACK® versión 2.7 para evaluar varios parámetros, incluida la distancia recorrida, el tiempo de exploración, la velocidad, la tigmotaxis (la ubicación de los ratones en la periferia) y la frecuencia de veces en las que el ratón se paraba sobre 2 patas o realizaba posiciones erguidas, tanto en la zona central como en la ZP de la cámara.

El aparato EPM consistía en 2 brazos cerrados (35 × 5 cm), 2 brazos abiertos opuestos (35 × 5 cm) y 1 plataforma central (5 × 5 cm) elevada a 66 cm del suelo. Los ratones se colocaron en la plataforma central frente a un brazo abierto y su actividad ambulatoria y comportamiento fueron monitorizados durante 10 minutos. Se registraron el número de entradas y tiempo transcurrido en los brazos abiertos, la posición erguida y los movimientos de cabeza. Ambos aparatos fueron limpiados con etanol al finalizar cada prueba. Cada evento se grabó con una cámara de video REALME® 200 MP OIS Superzoom Dual-view capaz de realizar videograbaciones 4K/30fps. Los videos se analizaron con el *software* LINCE PLUS a efectos de investigar el comportamiento.

Medida del tejido adiposo: grasa subcutánea y epididimal

Tras las pruebas de comportamiento, los ratones fueron sacrificados bajo anestesia profunda con una sobredosis de pentobarbital sódico administrado por vía intraperitoneal. Se recogieron y pesaron tanto los tejidos adiposos subcutáneos como epididimales.

Determinación de los niveles de serotonina (5-HT) y FNDC

Tras la eutanasia de cada ratón, se recogió inmediatamente una fracción de suero (100 µL de suero/ratón) mediante punción cardíaca que fue almacenada a

-20 °C en tubos Eppendorf™ para la determinación posterior de los niveles de serotonina y FNDC. El hipocampo se extrajo quirúrgicamente y fue almacenado a -80 °C para analizar las concentraciones de serotonina y FNDC. Posteriormente, el hipocampo se homogeneizó en un buffer de lisis y se incubó a 4 °C durante 1 minuto mientras se agitaba; los sobrenadantes se recogieron del tejido homogeneizado mediante centrifugación. Las concentraciones totales de neurotransmisores se evaluaron con kits de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) (Serotonina/5-Hidroxitriptamina de ratón [MyBioSource™, artículo: MBS723181] y FNDC de ratón [Invitrogen™, artículo: MBS355435]), utilizados según las especificaciones del fabricante.

Análisis estadístico

La normalidad de la distribución de los datos se evaluó utilizando la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Se empleó un análisis de varianza unidireccional, así como la prueba *post hoc* de Tukey para comparar las diferencias entre grupos. Los datos se expresan como media y desviación estándar (\pm DE) o porcentajes. El análisis se realizó utilizando el Paquete Estadístico para Ciencias Sociales versión 20. La significación estadística se consideró a partir de valores $p < 0.05$, denotada como * $p < 0.05$. ** $p < 0.01$ y *** $p < 0.001$.

Resultados

Papel de los lipoaminoácidos en el peso corporal y contenido de tejido graso

Se registró el aumento de peso en cada grupo ($n = 7$ por grupo) durante 12 semanas. Al final de este periodo, todos los grupos pesaban más que el grupo control ($30,8 \pm 1,3$ g; $p = 0,01$). Independientemente de la asignación de la dieta, los grupos que recibieron lipoaminoácidos mostraron mayores aumentos de peso y los ratones con la dieta con CAF y la administración de OIGly registraron el mayor aumento ($39,1 \pm 7,0$ g; $p = 0,01$) (Fig. 1A). No obstante, los grupos que recibieron lipoaminoácidos no mostraron diferencias con respecto al grupo a dieta con CAF.

En cuanto a los depósitos de tejido graso, los grupos con dieta CAF presentaban más grasa subcutánea, tal y como se esperaba. No obstante, el grupo de OIGly a dieta con CAF fue el que más grasa corporal tuvo ($1,14 \pm 0,3$ g; $p = 0,0007$) (Fig. 1B). Se observó una tendencia similar en la grasa epididimal, con una

diferencia entre el control y los grupos CAF (OIGly + dieta CAF: $1,77 \pm 0,6$ g frente a dieta CAF: $0,8 \pm 0,3$ g; $p = 0,04$) (Fig. 1C).

Lipoaminoácidos en los niveles de serotonina y FNDC

Se evaluaron los niveles de serotonina en suero e hipocampo. El análisis reveló que los niveles de neurotransmisores en el hipocampo fueron más bajos en los grupos que recibieron inyecciones de NAGly y OIGly, independientemente de la dieta. La disminución más notable se observó en los ratones que recibieron la dieta con CAF y el compuesto OIGly. En cambio, no se observaron variaciones significativas en los niveles de suero entre los grupos estudiados (Tabla 1). Tampoco se observaron diferencias sustanciales en el FNDC en ninguno de los grupos con niveles normales.

Comportamientos compatibles con la ansiedad: resultados del OFT y EPM

Los grupos control y de dieta CAF mostraron las distancias más significativas recorridas, promediando $1570,2 \pm 339,6$ y $1670,2 \pm 304,7$ cm, respectivamente, sin diferencia significativa. No obstante, los grupos tratados con los lipoaminoácidos OIGly y NAGly registraron las distancias más cortas promediando $876,5 \pm 390,6$ y $1021,6 \pm 270,3$ cm, respectivamente. Se debe mencionar que todas las diferencias fueron estadísticamente significativas entre los grupos control y CAF frente a los grupos OIGly y NAGly (Figs. 2A y B). Los grupos tratados con lipoaminoácidos y a dieta de la CAF recorrieron distancias intermedias (OIGly + CAF: $1220,4 \pm 282,3$ cm y NAGly + CAF: $1132,8 \pm 321,1$ cm, respectivamente; $p < 0,01$). Se observaron resultados similares en los movimientos totales, con OIGly y NAGly registrando la menor locomoción ($28 \pm 16,4$ y $32,5 \pm 14,5$, respectivamente; $p < 0,01$). En cambio, los grupos control y CAF mostraron una mayor actividad locomotora ($59,8 \pm 20,2$ y $64 \pm 14,9$) (Figs. 2C y D).

En cuanto a la prueba EPM, no se hallaron diferencias significativas en el tiempo transcurrido en los brazos abiertos o cerrados, en el centro, comportamiento de erguimiento, ni en los movimientos de cabeza entre los diferentes grupos (Figs. 3A, C, D, E y G-J). No obstante, hubo una excepción: en los brazos cerrados, el grupo tratado con OIGly + CAF pasó menos tiempo que el grupo control (valor medio; $p < 0,01$) (Fig. 3B y F).

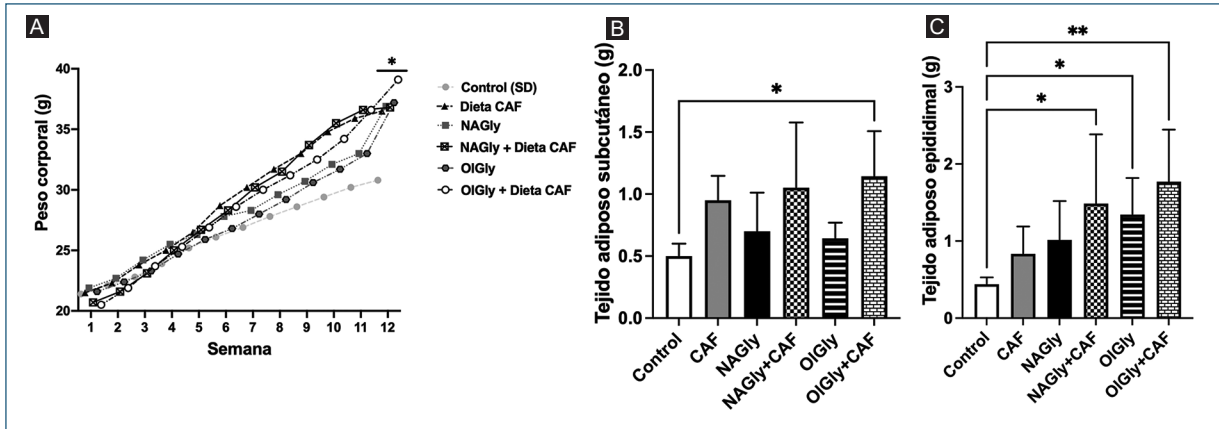


Figura 1. Evaluación del aumento de peso y tejido graso. **A:** comparativa del aumento final de peso; **B** y **C:** peso del tejido graso (subcutáneo y epididimario). DE: dieta estándar; NAGly: N-araquidonoil glicina; OIGly: N-oleoil glicina; CAF: dieta de cafetería. (n = 42); *p < 0.05. **p < 0.01 y ***p < 0.001.

Tabla 1. Concentraciones de serotonina y BDNF

Moléculas	Control	CAF	NAGly	NAGly + CAF	OIGly	OIGly + CAF	p
Serotonina en suero (ng/ml)	437 ± 12	424 ± 48.5	434 ± 31.8	445 ± 39	451 ± 16.2	410 ± 20.8	0.5
Serotonina en hipocampo (ng/ml)	2060 ± 72.8	2078 ± 54.9	1389 ± 47.3*	1413 ± 33.6*	1414 ± 28.6*	1393 ± 29.3*	< 0.0001
FNDC en hipocampo (pg/ml)	4573 ± 1681	5694 ± 640	7473 ± 2597	6222 ± 2421	6407 ± 1314	7615 ± 1703	0.2

La determinación de serotonina y FNDC se realizó mediante ELISA. Los datos expresan media y desviación estándar. *: Diferente de los grupos control y CAF. FNDC: factor neurotrófico derivado del cerebro; CAF: dieta de cafetería; NAGly: N-araquidonoil glicina; OIGly: N-oleoil glicina. (n = 42).

Discusión

En las últimas décadas, el papel de estos lipoaminoácidos se ha asociado principalmente a la nocicepción, el dolor y la inflamación. No obstante, recientes descubrimientos han revelado nuevas funciones potenciales asociadas a la reactividad biológica y el metabolismo energético. Anteriores estudios han descrito qué papel juegan en la homeostasis energética, tal y como se observa en OIGly, que activan neuronas ricas en proteína relacionada con el agutí (AgRP) a través del receptor de cannabinoides tipo 1, induciendo hiperfagia²⁰. Se ha observado un comportamiento similar en ratones tratados con NAGly durante los primeros días de administración por Ernesto et al.¹⁰ Estos hallazgos plantean dudas sobre si desequilibrios nutricionales, tales como la obesidad y los efectos de los lipoaminoácidos, podrían contribuir a la exacerbación del sobrepeso y otros trastornos que podrían aparecer con el paso del tiempo, tales como comportamientos compatibles con la ansiedad.

Nuestros resultados confirmaron el aumento de peso entre los grupos que recibieron lipoaminoácidos. Este

efecto se observó tanto en los grupos estándar como en los grupos con dieta CAF. Estudios previos han documentado la influencia de una dieta alta en grasas sobre comportamientos de hiperfagia, así como un aumento del almacenamiento de grasas, especialmente en aquellos sujetos expuestos desde las primeras etapas de la vida, incluida la fase intrauterina a través de la dieta materna. Este efecto se ha atribuido a la actividad de los EC, que altera la composición del tejido adiposo pardo (TAP)³⁰. Además, moléculas de estrés como el cortisol pueden modular esta activación, lo cual acarrea a una movilización y acción más significativa de AEA y 2-AG en los EC. Asimismo, NAGly, considerado un análogo de AEA, es capaz de mediar este efecto aumentando los niveles de estas moléculas y, en consecuencia, la actividad de los EC, lo cual provoca alteraciones en la ingesta de alimentos similares a OIGly a través de la activación indirecta de los receptores CB1 y CB2³¹.

Se han observado diferentes resultados, donde OIGly, al activar PPAR α , es capaz de inhibir la absorción intestinal de grasa, la adipogénesis y la

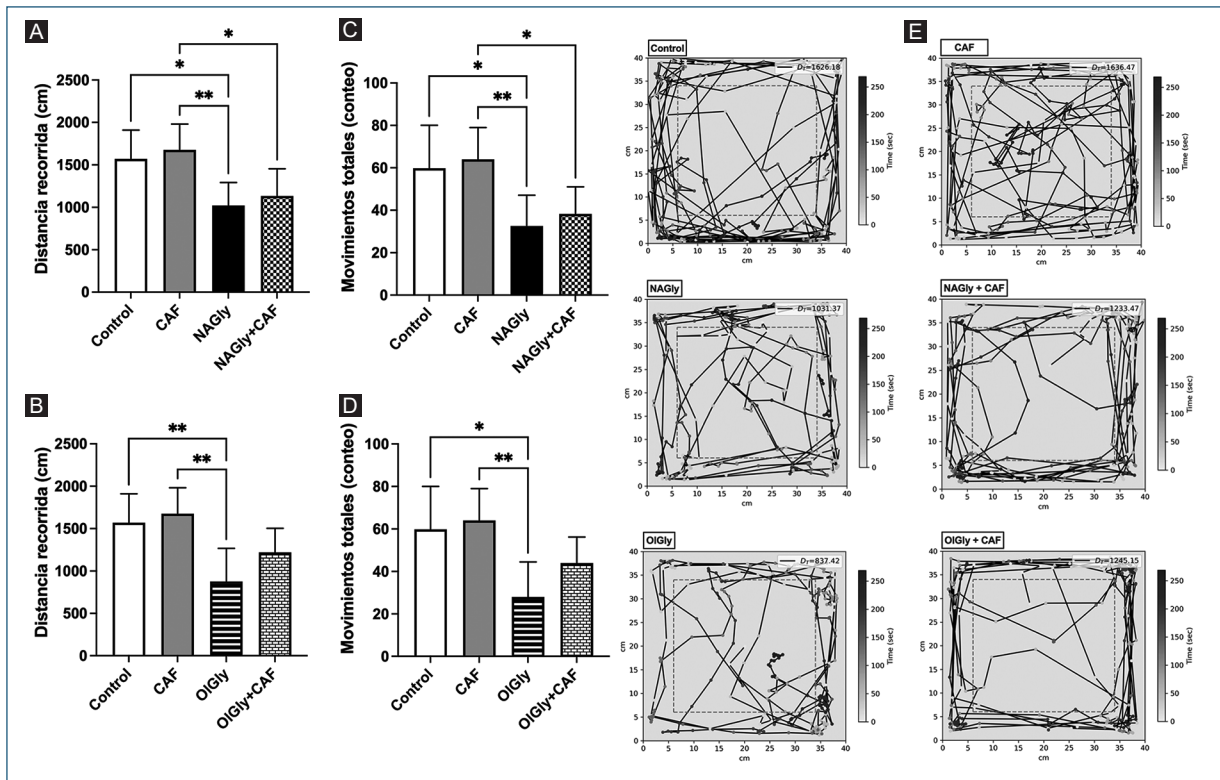


Figura 2. Pruebas de comportamiento compatible con la ansiedad: prueba de campo abierto. **A y B:** efectos de NAGly y OIGly en las variables de locomoción en la OFT; **C y D:** efectos de NAGly y OIGly en la locomoción (recuento total de movimientos) en la OFT; **E:** comportamiento ambulatorio según el grupo. Prueba de campo abierto: trayectoria registrada de cada grupo (representación). NAGly: N-araquidonoil glicina; OIGly: N-oleoil glicina; CAF: dieta de cafetería; OFT: prueba de campo abierto. (n = 42); *p < 0.05. **p < 0.01 y *** p < 0.001.

insulinorresistencia y aumentar la saciedad¹³. Las discrepancias en nuestros resultados podrían atribuirse al tipo de dieta proporcionada por Forte et al., con un 18% de ácido oleico¹³. Se ha observado que, a mayores concentraciones, menor preferencia por esta dieta³². Esto podría explicar, en parte, el menor consumo de alimentos altamente palatables, en contraste con nuestra dieta CAF basada en patatas fritas, tocino, chocolate, malvaviscos, paté de cerdo y cereales ricos en azúcar. Otro factor contribuyente podría ser el tiempo de administración de lipoaminoácidos. Nuestro estudio los administró de manera aguda durante 7 días y la administración crónica se ha asociado a los efectos beneficiosos mencionados anteriormente. En estudios realizados por Wu et al., se observó un aumento agudo en el Ca²⁺ intracelular, junto a un posterior aumento de la liberación de AgRP de las células. Este neuropéptido juega un papel esencial en el apetito²⁰.

El proceso de adipogénesis se ha asociado a la actividad de los receptores CB1, particularmente en el

tejido adiposo blanco y el hígado, afectando este último principalmente los procesos de fibrogénesis y lipogénesis³³. La activación de CB1 depende principalmente de AEA y 2-AG; un aumento en estos podría mejorar la actividad y expresión del receptor γ activador de proliferadores de peroxisomas, la proteína de unión a ácidos grasos en adipocitos (aP2) y la proteína alfa de unión potenciadora a CCAAT^{34,35}. Estos fomentan la proliferación, diferenciación y acumulación de adipocitos y triglicéridos. También se ha informado sobre la actividad mejorada de la lipoproteína lipasa y el aumento en la recaptación de glucosa, lo cual podría ayudar a explicar algunos de los resultados obtenidos en nuestro estudio.

OIGly se ha asociado a la expresión de ARNm de los receptores CB1 y CB2 y una vía de señalización Akt amplificada (a través de la fosforilación estimulada por insulina), estimulando los procesos de adipogénesis en la línea celular 3T3-L1. Además, OIGly ha mostrado inhibición de la expresión de la proteína de caja

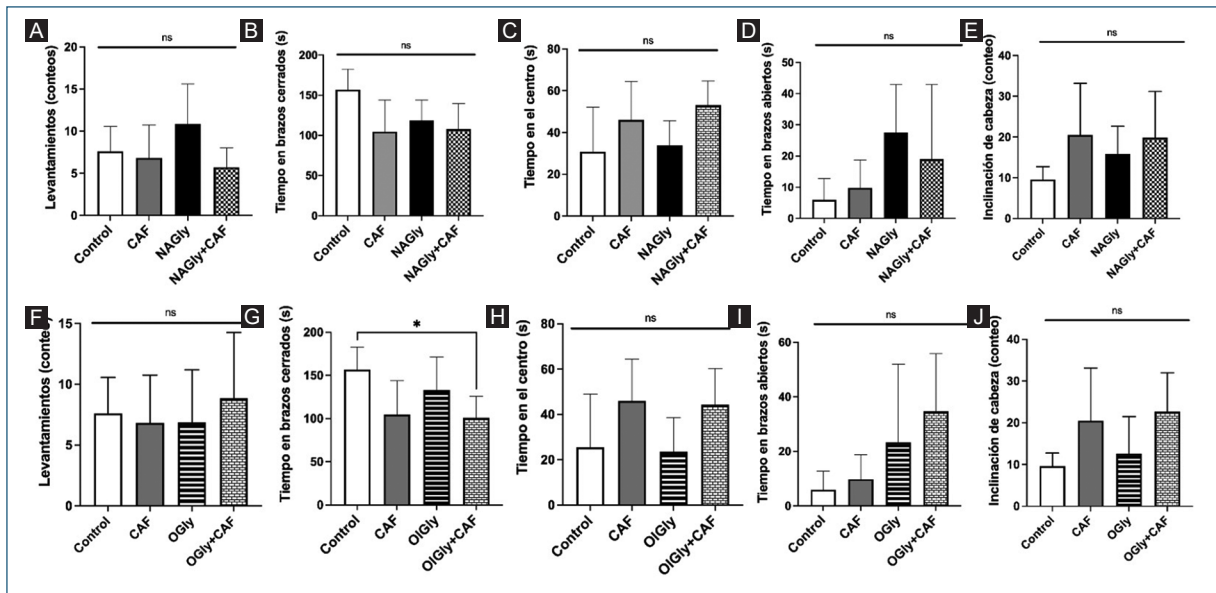


Figura 3. Pruebas de comportamiento compatible con la ansiedad: laberinto elevado en cruz. **A:** efectos de NAGly en el comportamiento de posición erguida; **B:** efectos de NAGly en el tiempo con los brazos cerrados (segundos); **C:** efectos de NAGly en el tiempo en el centro (segundos); **D:** efectos de NAGly en el tiempo con los brazos abiertos (segundos); **E:** efectos de NAGly en el recuento de los movimientos de cabeza; **F:** efectos de OIGly en el comportamiento de posición erguida; **G:** efectos de OIGly en el tiempo con los brazos cerrados (segundos); **H:** efectos de OIGly en el tiempo en el centro (segundos); **I:** efectos de OIGly en el tiempo con los brazos abiertos (segundos); **J:** efectos de OIGly en el recuento de los movimientos de cabeza. NAGly: N-araquidonoil glicina; OIGly: N-oleoil glicina; CAF: dieta de cafetería; EPM: laberinto elevado en cruz. (n = 42); *p < 0.05, **p < 0.01 y *** p < 0.001.

forkhead O1 (FoxO1), contribuyendo al incremento de la masa grasa¹⁵.

Por otro lado, NAGly podría inducir actividad termogénica en el TAP³⁰, una función asociada al receptor CB2. No obstante, también se ha informado que, tras exposiciones a corto y largo plazo, una dieta alta en grasas altera la expresión de UCP1, aunque estos resultados aún deben confirmarse con hallazgos contrastados^{36,37}. Este contexto podría explicar la diferencia entre los resultados de OIGly y NAGly en el almacenamiento de masa grasa. Es esencial evaluar y vincular el depósito de grasa y la actividad termogénica influida por estas moléculas, considerando que durante la obesidad se propone un aumento de los niveles de ARNm de UCP1, lo cual sugiere una adaptación para contrarrestar una ingesta exagerada de energía^{38,39}.

Los resultados de este estudio revelan un descenso significativo de los niveles de serotonina en el hipocampo en los grupos que recibieron los compuestos NAGly y OIGly, solos o en combinación con una dieta CAF. Estos hallazgos coinciden con investigaciones previas que indican que estas moléculas podrían

activar el sistema endocannabinoide, modulando la liberación de serotonina. Específicamente, la activación de los receptores CB1 inhibe la liberación de serotonina y la neurotransmisión en varias regiones cerebrales, incluidos los núcleos del rafe, la corteza prefrontal y el hipocampo⁴⁰. No obstante, el papel preciso de la serotonina en la regulación de la función del hipocampo no termina de entenderse del todo, probablemente por la compleja naturaleza del sistema serotoninérgico²². La reducción de los niveles de serotonina en el hipocampo propiciados por NAGly y OIGly resulta intrigante, lo cual abre la oportunidad de profundizar en los mecanismos subyacentes de este resultado y explorar la relación con morbilidades neurológicas tales como la ansiedad, los comportamientos depresivos, las respuestas al estrés y la función de la memoria.

En cuanto a los resultados del FNDC, no se observaron cambios significativos en el hipocampo, lo cual sugiere que la dieta CAF y la administración de NAGly y OIGly no modifican la concentración del FNDC en esta región cerebral, al menos no en la dosificación a corto plazo.

Por otro lado, observamos una diferencia en la locomoción de los animales. Los grupos NAGly y OIGly exploraron mucho menos, recorriendo distancias más cortas que los grupos control y CAF. Este hallazgo coincide con el estudio realizado por Piscitelli et al.⁴¹ que demostró que OLGly, en un modelo de lesión cerebral traumática leve, redujo los comportamientos depresivos⁴¹; esta observación podría atribuirse a los efectos neuroprotectores que se han asociado específicamente a moléculas como la Npalmitoil serina, Naraquidonoil serina, 2AG y, adicionalmente, el derivado oleico de serina, que está químicamente asociado a OLGly⁴², contribuyendo posiblemente a estos efectos. No obstante, se requieren más estudios para evaluar completamente los mecanismos moleculares subyacentes a estos resultados.

Otros autores han advertido sobre la sobreinterpretación de resultados al estudiar la ansiedad en ratones, enfatizando que no deben tomarse diferentes mediciones de forma aislada, ya que algunas podrían no estar directamente relacionadas (por ejemplo, locomoción y tigmotaxis). En este sentido, estas mediciones deben complementarse con hallazgos de otras pruebas⁴³⁻⁴⁶. Nuestro estudio sugiere que las distancias recorridas y los movimientos totales de los ratones en diferentes grupos que recibieron lipoaminoácidos podrían activar posibles mediadores de mecanismos ansiolíticos, reduciendo la actividad locomotora. Por último, la prueba EPM solo reveló diferencias notables en los comportamientos compatibles con la ansiedad en los grupos control y OIGly + CAF en el tiempo con los brazos cerrados. Se debe mencionar que este estudio se centró en grupos específicos y podría no ser extrapolable universalmente a todos los ratones u otras especies.

Conclusiones

La obesidad es una enfermedad compleja que implica múltiples alteraciones, razón por la cual comprender este problema global requiere examinar sus interacciones a diversos niveles. Una de estas interacciones es con el sistema endocannabinoide y su activación. Una dieta inadecuada no solo contribuye al desarrollo de la obesidad, sino que también podría influir en la activación de los mecanismos de señalización asociados a los circuitos de hambre y saciedad, lo cual acarrea un aumento de los episodios de ingesta de alimentos y crea un ciclo vicioso. En este sentido, es crucial seguir estudiando el impacto potencial de los macro y micronutrientes y su relación con estas

moléculas. La naturaleza compleja de la obesidad y sus interacciones con el sistema endocannabinoide y las moléculas implicadas en él requieren una mayor investigación. Además, los indicadores conductuales identificados en este estudio podrían contribuir a nuestra comprensión de los comportamientos compatibles con la ansiedad asociados a la obesidad. No obstante, se necesita una investigación profunda para comprender completamente las complejidades de esta relación en diferentes contextos.

Agradecimientos

Queremos agradecer especialmente a Claudia Berenice Barragán Barrón, Nayeli Pulido e Irma Hernández; al personal del Departamento de Nutrición y del Departamento de Fisiología y Farmacología de la Universidad Autónoma de Aguascalientes por su apoyo en este proyecto.

Contribuciones de los autores

Y. Ojeda-Aguilar y D. Masuoka: redacción parcial del manuscrito y análisis estadístico. K.A. Pedroza-García y J. Martín del Campo-Cervantes: redacción parcial del manuscrito y procedimientos experimentales. D. Masuoka y R.E. Ramírez-Orozco: coordinador del proyecto, redacción principal del manuscrito, diseño de la fórmula de la dieta y diseño gráfico.

Financiamiento

Este proyecto no recibió financiación de instituciones o patrocinadores distintas a la Universidad Autónoma de Aguascalientes.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Consideraciones éticas

Protección de seres humanos y animales. Los autores declaran que los procedimientos seguidos cumplieron con los estándares éticos del comité responsable de experimentación en seres humanos y se apegaron a la Asociación Médica Mundial y la Declaración de Helsinki. Los procedimientos fueron aprobados por el Comité de Ética institucional.

Confidencialidad, consentimiento informado y aprobación ética. El estudio no involucra datos personales de pacientes ni requiere aprobación ética. No aplican las guías SAGER.

Declaración sobre el uso de inteligencia artificial. Los autores declaran que no se utilizó inteligencia artificial generativa en la redacción de este manuscrito.

Referencias

- Global Burden of Disease Collaborative Network. Global Burden of Disease Study 2019 (GBD 2019) Covariates 1980-2019. Seattle, United States of America: Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME); 2020.
- Ylli D, Sidhu S, Parikh T, Burman KD, Feingold KR, Anawalt B, et al. Endocrine changes in obesity. *Perioper Anesth Care Obese Patient*. 2022;6:41-9.
- Dionysopoulou S, Charmandari E, Bargiota A, Vlahos N, Mastorakos G, Valsamakis G. The Role of Hypothalamic Inflammation in Diet-Induced Obesity and Its Association with Cognitive and Mood Disorders. *Nutrients*. 2021;13:1-21.
- Burstein SH, Zurier RB. Cannabinoids, endocannabinoids, and related analogs in inflammation. *AAPS J*. 2009;11:109-19.
- Grabiec U, Hohmann T, Ghadban C, Rothgänger C, Wong D, Antonietti A, et al. Protective effect of N-Arachidonoyl Glycine-GPR18 signaling after excitotoxic lesion in murine organotypic hippocampal slice cultures. *Int J Mol Sci*. 2019;20:1266.
- Console-Bram L, Brailoiu E, Brailoiu GC, Sharir H, Abood ME. Activation of GPR18 by cannabinoid compounds: a tale of biased agonism. *Br J Pharmacol*. 2014;171:3908-17.
- Deveci A, Hasna J, Bouron A. Inhibition of store-operated calcium channels by N-arachidonoyl glycine (NAGly): no evidence for the involvement of lipid-sensing G protein coupled receptors. *Sci Rep*. 2020;10:2649.
- McHugh D, Hu SS, Rimmerman N, Juknat A, Vogel Z, Walker JM, et al. N-arachidonoyl glycine, an abundant endogenous lipid, potently drives directed cellular migration through GPR18, the putative abnormal cannabinoid receptor. *BMC Neurosci*. 2010;11:44.
- Parmar N, Ho WS. N-arachidonoyl glycine, an endogenous lipid that acts as a vasorelaxant via nitric oxide and large conductance calcium-activated potassium channels. *Br J Pharmacol*. 2010;160:594-603.
- Ernesto RO, Alejandra PG, David M, Alberto C, Anahí AM, Alejandro MM. Putative role of N-Arachidonoyl glycine (NAGly) Acute hyperphagia in BALB/c mice. *Emirates J Food Agric*. 2021;33:245-52.
- Hanuš L, Shohami E, Bab I, Mechoulam R. N-Acyl amino acids and their impact on biological processes. *Biofactors*. 2014;40:381-8.
- Rock EM, Limebeer CL, Sullivan MT, DeVuono MV., Lichtman AH, Di Marzo V, et al. N-Oleoylglycerine and N-Oleoylalanine Do not modify tolerance to nociception, hyperthermia, and suppression of activity produced by morphine. *Front Synaptic Neurosci*. 2021;13:620145.
- Forte N, Roussel C, Marfella B, Lauritano A, Villano R, De Leonibus E, et al. Olive oil-derived endocannabinoid-like mediators inhibit palatable food-induced reward and obesity. *Commun Biol*. 2023;6:959.
- Wang S, Xu Q, Shu G, Wang L, Gao P, Xi Q, et al. N-Oleoyl glycine, a associated with activation of CB1 receptor and Akt signaling pathway in 3T3-L1 adipocytelipoamino acid, stimulates adipogenesis. *Biochem Biophys Res Commun*. 2015;466:438-43.
- Gao Y, Shabalina IG, Braz GR, Cannon B, Yang G, Nedergaard J. Establishing the potency of N-acyl amino acids versus conventional fatty acids as thermogenic uncouplers in cells and mitochondria from different tissues. *Biochim Biophys Acta Bioenerg*. 2022;1863:148542.
- Thibaut F. Anxiety disorders: a review of current literature. *Dialogues Clin Neurosci*. 2017;19:87-8.
- Bandelow B, Baldwin D, Abelli M, Bolea-Alamanac B, Bourin M, Chamberlain SR, et al. Biological markers for anxiety disorders, OCD and PTSD: a consensus statement. Part II: neurochemistry, neurophysiology and neurocognition. *World J Biol Psychiatry*. 2017;18:162-214.
- Rajan TM, Menon V. Psychiatric disorders and obesity: a review of association studies. *J Postgrad Med*. 2017;63:182-90.
- Alvheim AR, Malde MK, Osei-Hyiaman D, Lin YH, Pawlosky RJ, Madsen L, et al. Dietary linoleic acid elevates endogenous 2-AG and anandamide and induces obesity. *Obesity (Silver Spring)*. 2012;20:1984-94.
- Wu J, Zhu C, Yang L, Wang Z, Wang L, Wang S, et al. N-Oleoylglycerine-induced hyperphagia is associated with the activation of agouti-related protein (AgRP) neuron by cannabinoid receptor type 1 (CB1R). *J Agric Food Chem*. 2017;65:1051-7.
- Umathe SN, Manna SS, Utturwar KS, Jain NS. Endocannabinoids mediate anxiolytic-like effect of acetaminophen via CB1 receptors. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2009;33:1191-9.
- Dale E, Pehrson AL, Jeyarajah T, Li Y, Leiser SC, Smagin G, et al. Effects of serotonin in the hippocampus: how SSRIs and multimodal antidepressants might regulate pyramidal cell function. *CNS Spectr*. 2016;21:143-61.
- Garani R, Watts JJ, Mizrahi R. Endocannabinoid system in psychotic and mood disorders, a review of human studies. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2021;106:110096.
- Van Galen KA, Ter Horst KW, Serlie MJ. Serotonin, food intake, and obesity. *Obes Rev*. 2021;22:e13210.
- Zangrossi H, Del Ben CM, Graeff FG, Guimarães FS. Serotonin in panic and anxiety disorders. *Handb Behav Neurosci*. 2020;31:611-33.
- Règue-Guyon M, Lanfumey L, Mongeau R. Neuroepigenetics of neurotrophin signaling: neurobiology of anxiety and affective disorders. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2018;158:159-93.
- Cardenas-Perez RE, Fuentes-Mera L, De la Garza AL, Torre-Villalvazo I, Reyes-Castro LA, Rodriguez-Rocha H, et al. Maternal overnutrition by hypercaloric diets programs hypothalamic mitochondrial fusion and metabolic dysfunction in rat male offspring. *Nutr Metab (Lond)*. 2018;15:38.
- McHugh D, Page J, Dunn E, Bradshaw HB. $\Delta(9)$ -Tetrahydrocannabinol and N-arachidonoyl glycine are full agonists at GPR18 receptors and induce migration in human endometrial HEC-1B cells. *Br J Pharmacol*. 2012;165:2414-24.
- Bondarenko AI, Panasjuk O, Drachuk K, Montecucco F, Brandt KJ, Mach F. The quest for endothelial atypical cannabinoid receptor: BK(Ca) channels act as cellular sensors for cannabinoids *in vitro* and *in situ* endothelial cells. *Vascul Pharmacol*. 2018;102:44-55.
- Dias-Rocha CP, Almeida MM, Santana EM, Costa JC, Franco JG, Pazos-Moura CC, et al. Maternal high-fat diet induces sex-specific endocannabinoid system changes in newborn rats and programs adiposity, energy expenditure and food preference in adulthood. *J Nutr Biochem*. 2018;51:56-68.
- Morena M, Patel S, Bains JS, Hill MN. Neurobiological interactions between stress and the endocannabinoid system. *Neuropsychopharmacology*. 2016;41:80-102.
- Asran AA, Abd El-Galil YM, Abo-Hashem AA, Khidr FK. Palatability of some field rodents to certain vegetable oils baits. *Assiut J Agric Sci*. 2009;40:169-76.
- Kunos G, Osei-Hyiaman D. Endocannabinoids and liver disease. IV. Endocannabinoid involvement in obesity and hepatic steatosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2008;294:G1101-4.
- Muccioli GG, Naslain D, Bäckhed F, Reigstad CS, Lambert DM, Delzenne NM, et al. The endocannabinoid system links gut microbiota to adipogenesis. *Mol Syst Biol*. 2010;6:392.
- Jung KM, Lin L, Piomelli D. The endocannabinoid system in the adipose organ. *Rev Endocr Metab Disord*. 2022;23:51-60.
- Kim DI, Liao J, Emont MP, Park MJ, Jun H, Ramakrishnan SK, et al. An OLTAM system for analysis of brown/beige fat thermogenic activity. *Int J Obes (Lond)*. 2018;42:939-45.
- Rong JX, Qiu Y, Hansen MK, Zhu L, Zhang V, Xie M, et al. Adipose mitochondrial biogenesis is suppressed in db/db and high-fat diet-fed mice and improved by rosiglitazone. *Diabetes*. 2007;56:1751-60.
- Hojna S, Jordan MD, Kollias H, Pausova Z. High-fat diet induces emergence of brown-like adipocytes in white adipose tissue of spontaneously hypertensive rats. *Hypertens Res*. 2012;35:279-86.
- Zhang G, Sun Q, Liu C. Influencing factors of thermogenic adipose tissue activity. *Front Physiol*. 2016;7:29.
- Haj-Dahmane S, Shen RY. Modulation of the serotonin system by endocannabinoid signaling. *Neuropharmacology*. 2011;61:414-20.
- Piscitelli F, Guida F, Luongo L, Iannotti FA, Boccella S, Verde R, et al. Protective effects of N-Oleoylglycerine in a mouse model of mild traumatic brain injury. *ACS Chem Neurosci*. 2020;11:1117-28.
- Smoum R, Bar A, Tan B, Milman G, Attar-Namdar M, Ofek O, et al. Oleoyl serine, an endogenous N-acyl amide, modulates bone remodeling and mass. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107:17710-5.
- Han J, Nepal P, Odelade A, Freely FD, Belton DM, Graves JL Jr, et al. High-Fat diet-induced weight gain, behavioral deficits, and dopamine changes in young C57BL/6J mice. *Front Nutr*. 2020;7:591161.
- Gould TD, Dao DT, Kovacsics CE. Mood and anxiety related phenotypes in mice. *NeuroMethods*. 2009;42:1-20.
- Seibenhener ML, Wooten MC. Use of the open field maze to measure locomotor and anxiety-like behavior in mice. *J Vis Exp*. 2015;96:e52434.
- Simon P, Dupuis R, Costentin J. Thigmotaxis as an index of anxiety in mice. Influence of dopaminergic transmissions. *Behav Brain Res*. 1994;61:59-64.