

Análisis del patrón de expresión de *EBF2* en el hipotálamo lateral de ratón

Xico Acosta^a, Viviana Zomosa^a y Román Vidal-Tamayo^{b*}

^aDepartamento de Bioquímica y Medicina Molecular, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Nuevo León, Madero y Dr. Aguirre Pequeño S.N., Monterrey, N.L. México.

^bDivisión de Ciencias Básicas, Universidad de Monterrey, Av. Ignacio Morones Prieto 4500 Pte., 66238, San Pedro Garza García, N.L., México.

*roman.vidaltamayo@udem.edu

Palabras clave: EBF2, orexina, hipotálamo, MCH, CART.

Introducción

El área lateral del hipotálamo (LHA) es una región del mismo que juega un papel fundamental en la regulación de aspectos clave de la homeostasis, como activación, ingesta, balance energético, estrés, recompensa y conducta motivada. Sin embargo, estos mecanismos no se conocen a fondo debido a la complejidad y heterogeneidad neuronal del LHA.¹

Se han reportado diferentes poblaciones neuronales en LHA, positivas a distintos marcadores. Algunas de éstas son orexina+, MCH+, CART+, neurotensina+, LepRB+, entre otras.^{1,2}

EBF2 es un factor de transcripción que tiene un papel importante en el desarrollo del sistema nervioso en el embrión, y ciertas funciones continúan en el adulto.³

Algunos estudios han puesto en evidencia que existe una relación entre EBF2 y las orexinas (gen *HCRT*), ya que la ausencia o disminución de uno resulta en la disminución del otro^{4,5}, y en un estudio *in vitro*, se evidenció que EBF2 es capaz de regular positivamente la expresión de *HCRT*⁶. Sin embargo, no se conoce si esto sucede *in vivo* ya que no hay estudios que evidencien su expresión en las neuronas de orexina. Ese es el objetivo de este estudio.

Parte experimental

La estrategia general consiste en extraer el cerebro de ratones C57BL/6 adultos (tres hembras y tres machos) previamente anestesiados y perfundidos con formaldehído al 4%. Después de un proceso de postfijación en formaldehído al 4% y de crioprotección en sacarosa al 30%, se realizan cortes coronales de 16 µm de grosor.

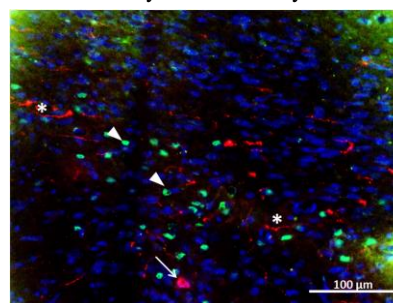
Para determinar si hay presencia de EBF2 en las neuronas de orexina, se realizó un ensayo de inmunofluorescencia de doble marcaje con anticuerpos dirigidos contra EBF2 y orexina-B (OXB), con DAPI para distinguir núcleos. Se complementó con ensayos de inmunofluorescencia con anticuerpos dirigidos hacia EBF2 y un segundo marcaje contra otras poblaciones neuronales del LHA: MCH, CART y neurotensina.

Resultados y discusión

En el ensayo de OXB/EBF2, se analizaron las células orexina+ del hipotálamo lateral, y no se encontraron células que co-localizan con EBF2. Sin embargo, se encontró una población positiva a EBF2 en la misma región que las OXB+. Se encontró que las EBF2+ en LHA y en otras regiones (como núcleos septales), se suelen acompañar de prolongaciones de orexina

(figura 1).

En los ensayos de MCH+ y CART+ se encontró que tampoco



hay una colocación con EBF2+. Con el anticuerpo utilizado para neurotensina no se pudieron apreciar somas, por lo que el resultado no es concluyente.

Figura 1. LHA, células EBF2+ (canal verde,

puntas de flecha) y células OXB+ (canal rojo), soma (flecha) y prolongaciones (asteriscos).

Conclusiones

Las neuronas de orexina no expresan EBF2 en el adulto. Sin embargo, hay presencia de células positivas a EBF2 en el hipotálamo lateral, las cuales no pertenecen a las poblaciones MCH+ o CART+. Como perspectivas, se planea analizar otras poblaciones como LepRb+, GABA+ y glutamato+, buscar colocación con receptores de orexina, y analizar cerebros de embriones de ratón para averiguar si EBF2 pudiera regular la expresión de *HCRT* durante el desarrollo embrionario.

Referencias

- Bonnayon, P.; Mickelsen, L. E.; Fujita, A.; de Lecea, L.; Jackson, A. C. *J. Physiol.* **2016**, 594 (22), 6443–6462.
- Brown, J. A.; Woodworth, H. L.; Leininger, G. M. *Front. Syst. Neurosci.* **2015**, 9 (February), 1–25.
- Green, Y. S.; Vetter, M. L. EBF Factors Drive Expression of Multiple Classes of Target Genes Governing Neuronal Development. *Neural Dev.* **2011**, 6 (1), 19.
- Honda, M.; Eriksson, K. S.; Zhang, S.; Tanaka, S.; Lin, L.; Salehi, A.; Hesla, P. E.; Maehlen, J.; Gaus, S. E.; Yanagisawa, M.; et al. *PLoS One* **2009**, 4 (1), 1–14.
- De La Herrán-Arita, A. K.; Zomosa-Signoret, V. C.; Millán-Aldaco, D. A.; Palomero-Rivero, M.; Guerra-Crespo, M.; Drucker-Colín, R.; Vidaltamayo, R. *Neuroscience* **2011**, 183, 134–143.
- Sánchez-García, A.; Cabral-Pacheco, G.; Zomosa-Signoret, V.; Ortiz-López, R.; Camacho, A.; Tabera-Tarello, P.; Garnica-López, J.; Vidaltamayo, R. *Mol. Med. Rep.* **2017**, 1–8.