

Caracterización histológica de las dendritas de la amígdala por alto consumo de fructosa en un modelo experimental de isquemia cerebral

Histological features of dendrites in the amygdala due to high fructose consumption in an experimental model of cerebral ischemia

Manuela Correa-Cuartas,¹ Angie Usuga-Sucerquia,¹ Samuel Veloza-Bueno,¹ Signed Prieto- Bohórquez,² Javier Rodríguez-Velasquez,³ Anibal Arteaga-Noriega,⁴ Johanna Andrea Gutierrez-Vargas⁵

Resumen

Introducción. Se ha demostrado que el alto consumo de fructosa magnifica la lesión por isquemia cerebral en foco isquémico y región de penumbra. Sin embargo, la isquemia también produce cambios en áreas exofocales como la amígdala, una estructura importante en el procesamiento emocional. Por lo tanto, el objetivo de la investigación fue caracterizar los cambios histológicos de las dendritas de la amígdala provocados por alto consumo de fructosa en un modelo experimental de isquemia cerebral. **Método.** Se utilizaron ratas Wistar alimentadas con alimento estándar; al grupo control se les suministró agua y al grupo fructosa (HDF) se les suministró add libitum 20% de fructosa en agua durante 11 semanas. Algunas ratas fueron sometidas a una isquemia cerebral. Por lo tanto, se tuvieron cuatro grupos experimentales: Sham control, Sham HDF, Isquemia control, Isquemia HDF. Se realizaron cortes coronales de los cerebros -de 50 um- y se realizó inmunohistoquímica de la proteína asociada a microtúbulos 2 (MAP2). Se capturaron imágenes que fueron procesadas en el software Image J. **Resultados.** Se encontró pérdida de inmunoreactividad de dendritas en grupos isquémicos, y además inmunoreactividad de MAP2 tipo acúmulos en los grupos HDF. **Conclusión.** De acuerdo con lo anterior tanto la isquemia como el alto consumo de fructosa generan alteraciones dendríticas en la amígdala.

Palabras clave: amígdala, dendritas, fructosa, isquemia

Abstract

Introduction. High fructose consumption has been shown to magnify cerebral ischemic injury in the ischemic focus and penumbra region. However, ischemia also produces changes in exofocal areas such as the amygdala, an important structure in emotional processing. Therefore, the objective of the investigation was to characterize the histological changes of the amygdala dendrites caused by high fructose consumption in an experimental model of cerebral ischemia. **Method.** Wistar rats fed with standard food were used; the control group was given water and the fructose (HDF) group was given add libitum 20% fructose in water for 11 weeks. Some rats were subjected to cerebral ischemia. Therefore, there were four experimental groups: Sham control, Sham HDF, Ischemia control, Ischemia HDF. 50 um coronal sections of the brains were made and microtubule-associated protein 2 (MAP2) immunohistochemistry was performed. Images were captured and processed in Image J software. **Results.** Loss of dendrite immunoreactivity was found in ischemic groups, and also cluster-type MAP2 immunoreactivity in HDF groups. **Conclusion.** According to the above, both ischemia and high fructose consumption generate dendritic alterations in the amygdala.

Keywords: amygdala, dendrites, fructose, ischemia

Rev. Ecuat. Neurol. Vol. 31, N° 2, 2022

Introducción

El accidente cerebrovascular (ACV) es una condición fisiopatológica caracterizada por la disminución transitoria o permanente, focal o global, del flujo sanguíneo en el cerebro¹. Representa un problema de salud pública en todo

el mundo. Se estima que 1 de cada 20 muertes en Estados Unidos en el 2011 fue por un ACV y entre 2009-2012 el 2.6% de los estadounidenses ≥ 20 años padecieron esta patología, convirtiéndose en una de las enfermedades cardiovasculares con mayor morbilidad y mortalidad a nivel mundial²

¹Facultad de Ciencias de la Salud. Corporación universitaria Remington. Medellín, Colombia.

²Subdirectora Grupo Insight. Bogotá, Colombia

³Director Grupo Insight. Bogotá, Colombia

⁴Grupo de Investigación en Epidemiología y Bioestadística- Grupo de Investigación en Salud Familiar y Comunitaria. Medellín, Colombia.

⁵Profesor Asociado, Corporación Universitaria Remington. Calle 51 No. 51-27. Medellín, Colombia

Correspondencia:

Johanna Andrea Gutierrez Vargas

Ph.D. Profesor Asociado

Corporación Universitaria Remington

Dirección: Calle 51 No. 51-27. Medellín, Colombia.

E-mail: johanna.gutierrez@uniremington.edu.co

A través de los años se han buscado factores de riesgo modificables en los cuales impactar y realizar prevención de forma temprana, tales como tabaquismo, dislipidemia, hipertensión, la diabetes mellitus y la obesidad.³

La obesidad ha sido identificada como una de las comorbilidades mayormente asociada a enfermedades cardiovasculares y por ende al accidente cerebrovascular. En estudios anteriores se ha calculado que más de 2.5 millones de personas mueren al año debido a la obesidad y el sobrepeso.⁴ Una de las principales causas de esta problemática es la fácil adquisición y accesibilidad en tiendas de cadena, restaurantes y colegios a alimentos procesados de alta densidad calórica y elevadas cantidades de azúcares y grasas, los cuales ayudan al aumento calórico diario.² Sin embargo, muchos de estos productos incluyen entre sus componentes gran cantidad de fructosa, esto como resultado de la implementación del jarabe de maíz de alta fructosa (JMAF) en la industria alimentaria desde el siglo pasado,⁴ que por sus grandes capacidades edulcorantes se logró utilizar menor cantidad para lograr el mismo objetivo que se tenía con el azúcar convencional y conseguir niveles de glucosa plasmática más bajos de los que registraban con los consumos de sacarosa.⁵

Previos estudios han demostrado que el alto consumo de fructosa magnifica la lesión por isquemia cerebral en un modelo experimental, esto visto en regiones tales como la corteza motora y el hipocampo que son consideradas áreas de penumbra isquémica⁴ así como un déficit en el desempeño motor y de memoria y aprendizaje de los animales sometidos a la dieta.⁶ Adicionalmente, se ha estimado desde el punto de vista microestructural a partir del tercer día de la isquemia, se ha reportado una disminución de la inmunorreactividad en dendritas y el soma neuronal de la proteína asociada a microtúbulos 2 (MAP2) en regiones directamente afectadas por el cese de riego sanguíneo.⁷

Sin embargo, la isquemia también produce cambios en el tejido cerebral en áreas que no están relacionadas con la zona de isquemia. Dichos cambios han sido denominados “cambios exofocales” provocados por señales químicas o eléctricas que se originaron del foco isquémico.⁷ Numerables estructuras son consideradas zonas exofocales, entre ellas, la amígdala, una estructura pequeña situada en el lóbulo temporal que juega un papel importante en la memoria y en el procesamiento emocional en el marco del reconocimiento expresivo, auditivo y conductual de las emociones;⁸ tal procesamiento es dirigido por un conjunto de circuitos anatómicos y conexiones complejas como las proyecciones y señales sensoriales.⁹ Previos estudios han demostrado alteración morfológica en la amígdala luego de una isquemia cerebral, a través de la caracterización histológica por Nissl.¹⁰ Estas zonas exofocales son poco valoradas y generalmente las consecuencias funcionales se observan tiempos tardíos post-infarto. Por lo tanto, el objetivo de la presente investigación es

determinar el efecto del alto consumo de fructosa sobre la inmunorreactividad de MAP2 en la amígdala en un modelo animal de isquemia cerebral.

Materiales y métodos

Animales

Ratas albinas Wistar hembras de cuatro meses de edad con un peso de 240 a 360 g fueron utilizadas en el presente estudio. Las ratas fueron criadas y alojadas en las instalaciones de animales en SIU (Sede de Investigación Universitaria), Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. Las ratas fueron mantenidas en un ciclo de luz/oscuridad de 12:12 h y recibieron comida y agua ad libitum. Cuatro o cinco animales fueron alojados por caja. Todos los experimentos con animales fueron aprobados por el Comité de Ética de Experimentación Animal de la Universidad de Antioquia, sede Medellín, Colombia, y se realizaron de conformidad con las normas colombianas (ley 84/1989 y resolución 8430/1993).

Dieta

Los animales fueron divididos en dos grupos según el peso inicial para asegurar que ambos grupos de animales iniciaran con el mismo peso promedio. Los dos grupos fueron: control y HFD. El grupo de control recibió agua normal y el grupo HFD recibió de forma “ad libitum” 20 % de fructosa en agua (D(-)-fructosa (USP, BP, Ph. Eur.) grado farmacéutico durante 11 semanas. Ambos grupos fueron alimentados con alimento estándar (Laboratory Autoclavable Rodent Diet 5010, LabDiet, St Louis, MO, USA) durante las 11 semanas. El consumo de agua (ml) y alimento (g) fueron registrados cada dos días.

Modelo de isquemia cerebral

Después de 11 semanas de dieta, los animales en los grupos de control y HFD se dividieron aleatoriamente en subgrupos simulados e isquémicos: sham control (n = 5), sham HFD (n = 5), isquemia control (n = 5) e isquemia HFD (n = 5). Las ratas se anestesiaron con ketamina (90 mg/kg) y xilazina (5 mg/kg) y recibieron una mezcla de isoflurano al 2-4 % y oxígeno al 96 % a través de una máquina de anestesia por inhalación. Se implementó una variación en el modelo isquémico cerebral global, a saber, una oclusión de 2 vasos (2-VO). La arteria carótida común (CCA) derecha se ocluyó permanentemente con una sutura de nylon de calibre 6,0 y la CCA izquierda se obstruyó durante 20 min con un clip vascular. Después de 20 min, se retiró el clip vascular para permitir la reperfusión. Las ratas simuladas se sometieron al mismo procedimiento sin la oclusión de CCA.

Análisis histológico

Los animales fueron sacrificados, los cerebros se extrajeron cuidadosamente y se fijaron posteriormente.

con paraformaldehído al 4% a 4°C durante 48 h, seguido de conservación con un gradiente de sacarosa (7, 25 y 30%) a 4°C; Luego, los cerebros se colocaron en una criopreservación. solución a -20°C. Se realizaron cortes coronales de 50 µm obtenidos con un vibratomo (VT1000STM, Leica Microsystems, Nussloch, Alemania). El bregma seleccionado para el análisis histológico de la amígdala fue de -3,12. Para la inmunotinción, las secciones se permeabilizaron con Tritón X100 al 0,3 % y se bloquearon con BSA al 1 %. en PBS, usando protocolos previamente descritos para inmunohistoquímica para el anticuerpo primario evaluado anti-MAP2 (monoclonal de ratón, Sigma-Aldrich Cat# M1406, RRID:AB_477171, 1:1000). Los cortes de la amígdala fueron analizados usando el microscopio Zeiss Axio Scope A1 y fotografiados en 40X y 100X utilizando una cámara Zeiss AxioCam ERc 5s. Las imágenes fueron modificadas a un sistema binario ImageJ (versión 1.8.0) y se obtuvo la densidad integrada (unidades relativas) de cada imagen utilizando el mismo software.

Resultados

La isquemia y el alto consumo de fructosa generan pérdida de la inmunoreactividad de MAP2

Nosotros encontramos que, tanto el grupo isquemia control como el grupo isquemia con alto consumo de fructosa tuvieron reducción de la inmunoreactividad de MAP2 en el hemisferio derecho (Figura 1A), lo cual fue corroborado cuando se realizó la cuantificación, donde se observa que dicha reducción es estadísticamente significativa (Figura 1B). Sin embargo, el hemisferio izquierdo no presentó disminución estadísticamente significativa de dicha inmunoreactividad en los grupos isquémicos comparados con el control (Figura 1B). Adicionalmente, tampoco se encontró una diferencia entre los valores de inmunoreactividad de los animales sham control con respecto a los valores de los animales sham con alto consumo de fructosa (Figura 1)

El alto consumo de fructosa genera cambios morfológicos en las dendritas

Teniendo en cuenta que los resultados más relevantes estuvieron enmarcados en el hemisferio derecho, secciones de cerebro de dicho hemisferio fueron observadas y analizadas en mayor detalle en 100x. Se observan unos puntos más oscuros de inmunoreactividad de MAP2 a lo largo de las dendritas tanto en el grupo sham que consumió fructosa, como en el grupo isquémico que con-

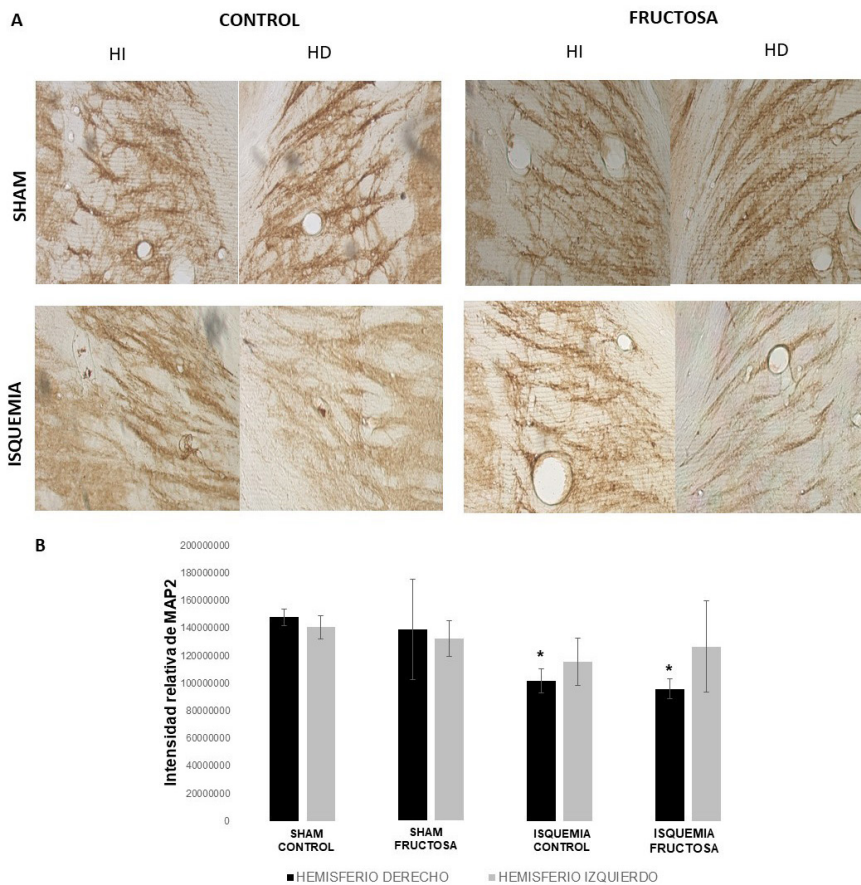


Figura 1. Pérdida de inmunoreactividad de MAP2 producto de la isquemia. A. Fotografías de inmunohistoquímica de MAP2 del hemisferio derecho e izquierdo de la amígdala (10x). B. Cuantificación de la inmunoreactividad de MAP2. n = 4, *p < 0.05.

sumió fructosa, si estos son comparados con el grupo sham control (Figura 2, cabezas de flechas). Adicionalmente, en el grupo isquemia control se observa poca inmunoreactividad (Figura 2), lo cual soporta el resultado anteriormente mostrado en la figura 1.

Discusión

La fisiopatología del daño neuronal y la pérdida de las ramificaciones dendríticas a nivel estructural y conformacional debido a la obstrucción del flujo sanguíneo se encuentra bien establecida. Este evento comienza con un fracaso energético ocasionado por la interrupción de gradientes iónicos, lo que conlleva a acumulación de calcio intracelular y formación de radicales libres de oxígeno. Estos fenómenos moleculares en conjunto con los procesos inflamatorios propician un ambiente de acidosis y apoptosis celular en el tejido neuronal lo que incrementa el daño de la lesión y el cambio progresivo en la morfología neuronal.¹¹ Dicha morfología a nivel del citoesqueleto es dada principalmente por microfilamentos, filamentos intermedios y microtúbulos, estos últimos se ubican especialmente en las dendritas y son organizados por las proteínas asociadas a microtúbulos (MAP2).^{11,12}

Cambios y alteraciones significativas en la configuración morfológica de las dendritas frente a un ACV han sido ampliamente reportados.^{13,14} Mages y colaboradores en el 2021 encontraron reducción de MAP2 asociada a la isquemia de forma temprana y uniforme en la zona focal isquémica, en comparación con los controles.¹⁵ Otro estudio

realizado en el año 2020 con modelos animales de isquemia cerebral encontró reducción en la longitud de las dendritas y daño neuronal en la corteza cerebral.¹⁶ Estos hallazgos argumentados en la literatura son congruentes con los resultados obtenidos en este estudio, donde se observó pérdida en las dendritas a las 48 horas post-isquemia en la región de la amígdala, reflejados mediante inmunohistoquímica en la reducción significativa de MAP2.

Adicionalmente, nosotros encontramos que ratas que sufrieron una isquemia cerebral y que consumieron altas cantidades de fructosa de igual manera tuvieron pérdida significativa de MAP2 en la amígdala del hemisferio derecho. Pérez y colaboradores en 2020 encontraron el mismo hallazgo, pero en regiones de hipocampo y corteza cerebral,⁴ lo que indica que no solo en la amígdala ocurren cambios ante estos eventos sino también en otras estructuras cerebrales.¹⁰ En este mismo estudio se encontró que los animales obesos producto del consumo de fructosa tenían una mayor pérdida de inmunoreactividad NeuN en diferentes áreas del cerebro a las 48 h post-isquemia.⁴ De hecho, la pérdida de inmunoreactividad de MAP2 y NeuN en dicha investigación estuvo asociada a la pérdida de inmunomarcaje de otros marcadores de plasticidad como el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) y aumento en la respuesta astrocitaria e inflamatoria.⁴

El consumo de fructosa o también llamado jarabe de maíz es una gran problemática a nivel mundial, se ha relacionado con un aumento de la obesidad y trastornos metabólicos siendo relacionado con los factores de riesgo de

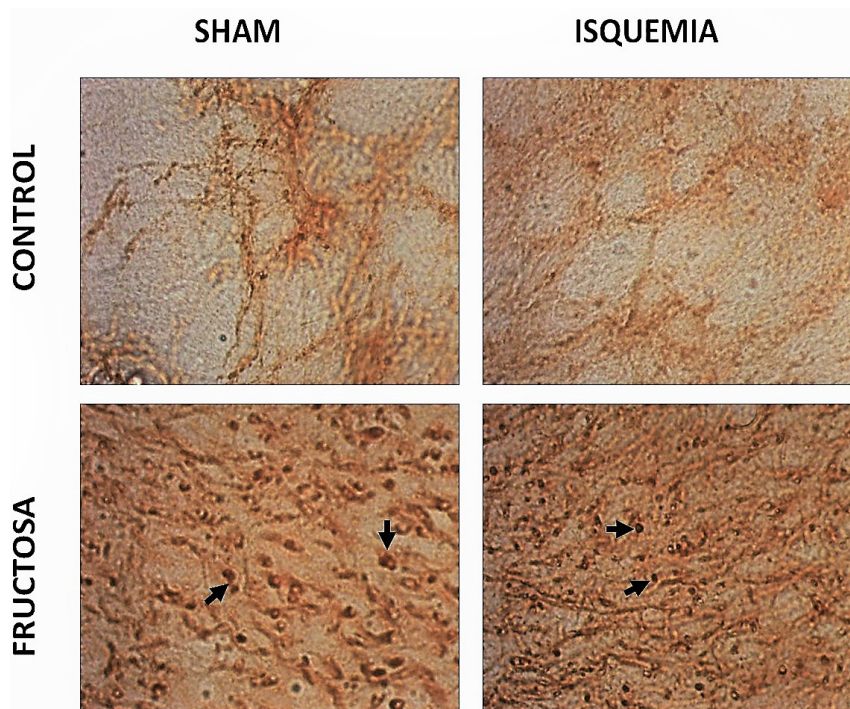


Figura 2. Inmunoreactividad en acúmulos en las dendritas en los grupos que consumieron fructosa. Fotografías de inmunohistoquímica de MAP2 del hemisferio derecho de la amígdala (100x). n=4.

enfermedad cardiovascular, en especial el accidente cerebrovascular.¹⁷ Un estudio demostró que después de haber sometido a las ratas a un alto consumo de fructosa se presentó reducción de aproximadamente 40% de la neurogénesis cerebral; en nuestro estudio pese a que no se encontró reducción significativa de la inmunoreactividad de MAP2 en el grupo sham fructosa, sí se observan acúmulos de inmunoreactividad en dicho grupo, lo cual nos puede sugerir alteración de las dendritas producto del solo consumo de fructosa.¹⁸

Estos acúmulos o puntos más intensos a lo largo de las dendritas es la primera vez que se ha reportado bajo estas condiciones, sin embargo, otros autores relacionan este fenómeno con la gravedad de la lesión isquémica focal aguda.⁴

Se ha demostrado que la amígdala cumple funciones en la memoria, en el procesamiento emocional y en el reconocimiento expresivo y conductual de las emociones, como lo son el miedo y el placer.^{8,19} Se han estudiado en modelos animales las repercusiones funcionales del daño a nivel de la amígdala donde se ha encontrado por medio de pruebas de funcionamiento cognitivo en los roedores que en tiempos tardíos de isquemia la depresión y la ansiedad son las principales consecuencias neuropsiquiátricas después de un ACV.²⁰ Estos hallazgos animales son respaldados por estudios en humanos donde encontraron que los pacientes con accidente cerebrovascular presentaron déficit cognitivo asociado a una reducción significativa del tamaño de la amígdala.²¹ De los muchos trastornos posteriores al ictus, la depresión, la ansiedad, la incontinencia emocional, la propensión a la ira y la fatiga son síntomas frecuentes e importantes.²² Por lo tanto, los análisis realizados en la región de la amígdala son importantes ya que, ante un evento cerebrovascular las estrategias terapéuticas en gran medida están enfocadas en realizar rehabilitación en las fases agudas puesto que es un periodo crucial donde se ha encontrado mejor respuesta al tratamiento, omitiendo muchas veces las repercusiones tardías como son las alteraciones en las emociones y la depresión post isquemia.²³

Este estudio muestra que alteraciones histológicas posteriores a una isquemia y producto de alto consumo de fructosa afectan de manera importante la estructura dendrítica de la amígdala lo cual podría estar relacionado con los cambios emocionales en los pacientes que sufren ACV como se discutió anteriormente y, con el impacto emocional que genera la recurrencia del consumo de azúcares en nuestro día a día.

Conclusiones

La isquemia a través de un modelo global de 2-VO y, el alto consumo de fructosa generan pérdida de la inmunoreactividad de MAP2 en amígdala en un modelo experimental. Adicionalmente, el alto consumo de fructosa a su vez genera cambios morfológicos en las dendritas de

dicha región. Por lo tanto, no solo un evento isquémico sino el consumo elevado de fructosa en la dieta desencadena daño dendrítico de la amígdala lo cual podría estar representado de forma tardía en posibles alteraciones emocionales y de memoria, evaluaciones funcionales que podrían ser tenidas en cuenta en futuros estudios.

Referencias

1. Arango-Dávila CA, Muñoz Ospina BE, Castaño DM, Potes L, Umbarila Prieto J. Assessment transcallosal Diaschisis in a model of focal cerebral ischemia in rats. *Colomb Med (Cali)*. el 30 de junio de 2016;47(2):87–93.
2. Wright SM, Aronne LJ. Causes of obesity. *Abdom Imaging*. octubre de 2012;37(5):730–2. <https://doi.org/10.1007/s00261-012-9862-x>
3. Patel SA, Winkel M, Ali MK, Narayan K MV, Mehta NK. Cardiovascular mortality associated with 5 leading risk factors: national and state preventable fractions estimated from survey data. *Ann Intern Med*. el 18 de agosto de 2015;163(4):245–53. <https://doi.org/10.7326/M14-1753>
4. Pérez-Corredor PA, Gutiérrez-Vargas JA, Ciro-Ramírez L, Balcazar N, Cardona-Gómez GP. High fructose diet-induced obesity worsens post-ischemic brain injury in the hippocampus of female rats. *Nutritional Neuroscience*. el 2 de enero de 2022;25(1):122–36. <https://doi.org/10.1080/1028415X.2020.1724453>
5. Caliceti C, Calabria D, Roda A, Cicero AFG. Fructose Intake, Serum Uric Acid, and Cardiometabolic Disorders: A Critical Review. *Nutrients*. el 18 de abril de 2017;9(4):395. <https://doi.org/10.3390/nu9040395>
6. Patience Ojo O, Perez-Corredor PA, Gutierrez-Vargas JA, Busayo Akinola O, Cardona-Gómez GP. Lasting metabolic effect of a high-fructose diet on global cerebral ischemia. *Nutr Neurosci*. el 8 de noviembre de 2020;1–14. <https://doi.org/10.1080/1028415X.2020.1841482>
7. Buriticá E, Arango-Dávila CA, Pimienta H, Escobar MI. Cambios exofocales en la isquemia cerebral focal experimental: una visión experimental y su correlato clínico. *Colombia Médica*. 2008;39(3):85–94.
8. Brierley B, Shaw P, David AS. The human amygdala: a systematic review and meta-analysis of volumetric magnetic resonance imaging. *Brain Research Reviews*. el 1 de junio de 2002;39(1):84–105. [https://doi.org/10.1016/S0165-0173\(02\)00160-1](https://doi.org/10.1016/S0165-0173(02)00160-1)
9. Janak PH, Tye KM. From circuits to behaviour in the amygdala. *Nature*. el 15 de enero de 2015;517(7534):284–92. <https://doi.org/10.1038/nature14188>
10. Duque J, Zuluaga M, Noriega AA, Vargas JAG. Áreas exofocales de lesión a mediano y largo término post-isquemia cerebral. *Revista Chilena de Neuropsicología*. 2019;14(2 (Diciembre)):35–9. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7853001>

11. Arango Davila C, Escobar Betancourt M, Cardona Gómez GP, Pimienta Jiménez H. Fisiopatología de la isquemia cerebral focal: aspectos básicos y proyección a la clínica. *Rev neurol (Ed impr)*. 2004;156–65. <https://doi.org/10.33588/rn.3902.2004012>
12. Dawson DA, Hallenbeck JM. Acute focal ischemia-induced alterations in MAP2 immunostaining: description of temporal changes and utilization as a marker for volumetric assessment of acute brain injury. *J Cereb Blood Flow Metab*. enero de 1996;16(1):170–4. <https://doi.org/10.1097/00004647-199601000-00020>
13. Gonzalez CLR, Kolb B. A comparison of different models of stroke on behaviour and brain morphology. *Eur J Neurosci*. octubre de 2003;18(7):1950–62. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2003.02928.x>
14. Brown CE, Boyd JD, Murphy TH. Longitudinal in vivo imaging reveals balanced and branch-specific remodeling of mature cortical pyramidal dendritic arbors after stroke. *J Cereb Blood Flow Metab*. abril de 2010;30(4):783–91. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2009.241>
15. Mages B, Fuhs T, Aleithe S, Blietz A, Hobusch C, Härtig W, et al. The Cytoskeletal Elements MAP2 and NF-L Show Substantial Alterations in Different Stroke Models While Elevated Serum Levels Highlight Especially MAP2 as a Sensitive Biomarker in Stroke Patients. *Mol Neurobiol*. 2021;58(8):4051–69. <https://doi.org/10.1007/s12035-021-02372-3>
16. Mauceri D, Buchthal B, Hemstedt TJ, Weiss U, Klein CD, Bading H. Nasally delivered VEGFD mimetics mitigate stroke-induced dendrite loss and brain damage. *Proc Natl Acad Sci U S A*. el 14 de abril de 2020;117(15):8616–23. <https://doi.org/10.1073/pnas.2001563117>
17. Rizkalla SW. Health implications of fructose consumption: A review of recent data. *Nutr Metab (Lond)*. el 4 de noviembre de 2010;7(1):82. <https://doi.org/10.1186/1743-7075-7-82>
18. van der Borght K, Köhnke R, Göransson N, Deierborg T, Brundin P, Erlanson-Albertsson C, et al. Reduced neurogenesis in the rat hippocampus following high fructose consumption. *Regulatory Peptides*. el 25 de febrero de 2011;167(1):26–30. <https://doi.org/10.1016/j.regpep.2010.11.002>
19. Arango D CA, Pimienta J HJ, Escobar B MI. DEPRESIÓN POSTISQUEMIA CEREBRAL UNA APROXIMACIÓN FISIOPATOLÓGICA Y CLÍNICA. *Revista Colombiana de Psiquiatría*. diciembre de 2000;29(4):321–44.
20. Camargos QM, Silva BC, Silva DG, Toscano EC de B, Oliveira B da S, Bellozi PMQ, et al. Minocycline treatment prevents depression and anxiety-like behaviors and promotes neuroprotection after experimental ischemic stroke. *Brain Res Bull*. febrero de 2020;155:1–10. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2019.11.009>
21. Sachdev PS, Chen X, Joscelyne A, Wen W, Brodaty H. Amygdala in Stroke/Transient Ischemic Attack Patients and Its Relationship to Cognitive Impairment and Psychopathology: The Sydney Stroke Study. *The American Journal of Geriatric Psychiatry*. el 1 de junio de 2007;15(6):487–96. <https://doi.org/10.1097/JGP.0b013e3180581fe6>
22. Kim JS. Post-stroke Mood and Emotional Disturbances: Pharmacological Therapy Based on Mechanisms. *J Stroke*. septiembre de 2016;18(3):244–55. <https://doi.org/10.5853/jos.2016.01144>
23. Castellanos-Pinedo F, Hernández-Pérez JM, Zurdo M, Rodríguez-Fúnez B, Hernández-Bayo JM, García-Fernández C, et al. Influence of Premorbid Psychopathology and Lesion Location on Affective and Behavioral Disorders After Ischemic Stroke. *JNP*. julio de 2011;23(3):340–7. <https://doi.org/10.1176/jnp.23.3.jnp340>