



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Psicología

**ALTERACIONES DE LA MEMORIA VISUOESPACIAL EN
RATAS CON HIPERINSULINEMIA EN UN MODELO DE
SÍNDROME METABÓLICO**

Tesis

Que para obtener el grado de

Licenciada en Psicología

Presenta

María Celeste Sánchez Sugía

Director: David Erasmo García Díaz

Revisor: Víctor Manuel Rodríguez Molina

México, D. F.



2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Este trabajo fue realizado en el Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina de la UNAM, bajo la dirección del Dr. David Erasmo García Díaz. Gracias al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) (Clave del proyecto IN215813). Agradezco a la DGAPA-PAPIIT-UNAM la beca recibida.

Reconocimientos

Gracias al Dr. David E. García por su apoyo y experiencia a lo largo de la realización de esta tesis.

Al Dr. Víctor Rodríguez por estar siempre a mi lado en la revisión de este trabajo y a mis sinodales por sus valiosos comentarios.

Agradezco la colaboración y gran ayuda de la Dra. Marcia Hiriart Urdanivia del Instituto de Fisiología celular y del Dr. Enrique Hong Chong del departamento de Farmacología Sede Sur del CINVESTAV en las mediciones de insulina en plasma. Por otra parte, también se reconoce a la Dra. Marina Martínez Vargas de la Facultad de Medicina por la ayuda en la extracción de sangre.

Además, se reconoce la ayuda de la Dra. Irma Zarco Padrón de la Facultad de Medicina por proporcionar algunas ratas para algunos experimentos.

Se agradece a la Dra. María De La Luz Navarro Angulo y la Dra. Leticia Verdugo Díaz del Departamento de Fisiología en la Facultad de Medicina por su colaboración en las mediciones de la presión arterial.

Al Dr. David Elías Viñas, al Ing. Esteban Ruíz y la Ing. Aime Salazar Anguiano del Departamento de Ingeniería Eléctrica Sede Zacatenco del CINVESTAV los cuales proporcionaron el equipo de Bioimpedancia.

Gracias al Dr. Enrique Pinzón Estrada, jefe del Bioterio en la Facultad de Medicina, por proporcionar a los roedores utilizados en este trabajo.

Muchas gracias a la bióloga Isabel Arenas de la Facultad de Medicina por su valiosa ayuda y apoyo técnico en este trabajo.

A Guillermo Luna por la construcción del laberinto de Barnes y valiosa ayuda y a Luis Martínez, auxiliar de laboratorio por los cuidados que le dio a cada uno de los animales.

Por último, A Gabino Pérez por proporcionar el equipo para la medición de triglicéridos y al Ing. Amado García por el generador de ruido blanco.

Agradecimientos

A mis padres, las personas que más amo, esta tesis es también de ustedes. El apoyo incondicional que me han dado toda mi vida ha sido fundamental para llegar a ser la persona que ahora soy.

Mis hermanos:

Gabriel, admiro la forma en la defiendes tu filosofía de vida, eres y seguirás siendo una de mis personas favoritas. Gracias por todo lo que me has enseñado, parte de lo que soy te lo debo a ti.

Gloria, gracias por tu compañía y apoyo. He aprendido mucho creciendo a tu lado, sigamos en el mismo camino.

Agradezco al Dr. David E. García Díaz por haberme abierto las puertas del laboratorio y haber creído en mi capacidad para llevar a cabo este proyecto. Gracias por su enorme apoyo.

A la Facultad de Psicología y a la UNAM por el conocimiento y experiencia que obtuve a lo largo de los cuatro años de carrera.

A mis compañeros del laboratorio, fue un placer compartir este proyecto con ustedes, sé muy bien que sin su ayuda no lo hubiera logrado, aprendí mucho de ustedes:

Cinthya, por circunstancias o por lo que haya sido, en ti encontré a una excelente amiga, mi mayor apoyo; valoro mucho todo lo que me ayudaste dentro y fuera del laboratorio, muchas gracias.

kari, las pláticas y nuestros pensamientos muy diferentes me hicieron ver las cosas desde puntos de vista diferentes. Gracias por tu apoyo.

Adrián, gracias por la colaboración en los experimentos.

A Isa, Arturo, Héctor, Anahí y a la Dra. Julieta, por el apoyo y calidez que me dieron a lo largo de mi estancia en el laboratorio.

Señor Luis: nunca olvidaré todo su apoyo y enorme entusiasmo. Es una excelente persona, me dio mucho gusto haberlo conocido.

Dr. Víctor: infinitas gracias por la enorme ayuda que recibí de usted a lo largo de la realización de esta tesis. Aprendí y sigo aprendiendo de su experiencia, tanto académica como personal. Me siento muy afortunada por haberlo conocido porque ha enriquecido mi vida como no tiene idea.

Gabriela: mi hermana del alma, tu apoyo siempre ha sido incondicional. Gracias por estar siempre, por tu confianza en mí y por el cariño que crece y seguirá creciendo a lo largo de los años.

Citla: no hay ausencia cuando se puede hablar de espíritu a espíritu, ¿no es así? Eres una parte fundamental de lo que soy, has creído en mí hasta en los momentos en los que ni yo lo he hecho. Muchas gracias.

Toñito: agradezco a la vida por ponerte en mi camino, sin ti no lo hubiera logrado, todo lo que he vivido contigo me ha hecho crecer enormemente. Gracias por la confianza y por valorar esta amistad que cada vez se hace más fuerte. Eres un niño increíble que deseo tener siempre en mi vida.

Mike: gracias por escucharme y leerme; aunque la mayoría de las cosas las olvides en el momento, siempre me has dado consejos acertados y honestos con los que me has hecho sentir mejor. Eres muy importante para mí y te has ganado toda mi confianza.

Sebas: la profunda conexión que existe contigo es de lo que más le agradezco a la vida, tus palabras siempre han llegado en el momento adecuado y tu apoyo siempre ha sido incondicional.

Itzel: gracias por las pláticas y hacerme ver las cosas de una forma más realista. Me alegra mucho seguir contando con una persona tan linda como tú.

Tania: Eres una persona muy especial para mí y lo seguirás siendo siempre. Gracias por todo.

Raúl: Porque aunque no lo digas, crees en mí y me quieres, gracias por ese apoyo que no necesitó palabras.

Gracias a todos mis amigos y familiares que han estado a mi lado en esta etapa de mi vida y han creído en mí siempre.

A todos ustedes los quiero mucho.

ÍNDICE

Abreviaturas.....	1
I. Resumen.....	3
II. Introducción.....	5
III. Marco Teórico	
a. Síndrome metabólico.....	7
b. Modelos en roedores de síndrome metabólico.....	12
c. Síndrome metabólico y deterioro cognitivo.....	15
d. Insulina.....	16
1. Estructura, biosíntesis y secreción.....	16
2. Metabolismo.....	17
3. Efectos de la insulina.....	17
4. Receptores de insulina.....	18
5. Vías de señalización.....	22
6. Captación de glucosa por difusión facilitada.....	23
7. Control de glucemia por la insulina.....	24
8. Control de la secreción de insulina.....	25
9. Hiperinsulinemia y resistencia a la insulina.....	27
10. Insulina cerebral.....	29
11. El efecto de la insulina en la memoria y el aprendizaje visuoespacial.....	30
e. Memoria y aprendizaje.....	32
1. Memoria sensorial.....	33
2. Memoria a corto plazo.....	34
3. Memoria de trabajo.....	34
4. Memoria a largo plazo.....	36
5. Memoria no declarativa y memoria declarativa.....	36
6. Memoria visuoespacial.....	38
f. Formación hipocampal.....	40

g.	Bases moleculares de la memoria.....	43
h.	Papel de los receptores NMDA.....	44
i.	Mecanismos moleculares que subyacen a la potenciación a largo plazo.....	46
IV.	Planteamiento del problema.....	49
V.	Justificación.....	50
VI.	Objetivos.....	51
VII.	Hipótesis.....	51
VIII.	Metodología.....	52
a.	Sujetos.....	52
b.	Medición de ingesta.....	54
c.	Peso.....	54
d.	Prueba de tolerancia a la glucosa.....	54
e.	Medición de presión arterial.....	55
f.	Composición corporal.....	56
g.	Triglicéridos.....	58
h.	Pruebas de insulina.....	58
i.	Laberinto de Barnes.....	61
1.	Configuración de la sala.....	61
2.	Periodo de adaptación.....	64
3.	Adquisición de aprendizaje visuoespacial.....	65
4.	Primera evaluación de memoria a largo plazo.....	65
5.	Segunda evaluación de memoria a largo plazo.....	66
6.	Periodo de reversión.....	66
IX.	Análisis Estadístico.....	67
X.	Resultados.....	68
XI.	Discusión.....	85
XII.	Conclusiones.....	94
XIII.	Referencias.....	95

Abreviaturas

AINS	Actividad insulínica no suprimible
AP5	2-amino-5-fosfonopentanoato
APP	Proteína precursora de la proteína β -amiloide
ATP	Adenosina Trifosfato
ATP III	Panel de tratamiento de adultos III
BDNF	Factor neurotrófico derivado del cerebro
BHE	Barrera hemato-encefálica
CAMKII	Proteincinasa Ca ²⁺ /dependiente de calmodulina
dB	Decibel
DM2	Diabetes Mellitus tipo II
GLUT4	Transportador de glucosa tipo 4
Grb2	Adaptador proteico que contiene el dominio SH2
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
IDE	Enzima encargada de degradar a la insulina
IGF	Factor de crecimiento similar a la insulina
IGF-1R	Receptor para el factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1
IMC	Índice de Masa corporal
IMSS	Instituto Mexicano del seguro social
IRS	Sustrato de receptor de insulina
LCR	Líquido cefalorraquídeo
LTP	Potenciación a largo plazo
MAPK	Proteincinasa activada por mitógenos

MCP	Memoria a corto Plazo
MLG	Masa libre de grasa
MLP	Memoria a largo plazo
NMDA	N-metil-D-aspartato
NO	Óxido nítrico
OMS	Organización Mundial de la Salud
PAI-1	Factor inhibidor de la activación de3l plasminógeno-1
PCR	Proteína C Reactiva
PKC	Proteincinasa C
PEPs	Potenciales excitatoriospostsinápticos
PI3K	Fosfatidilinositol-3-cinasa
PTB	Dominio de homología 2 α Src
PTGI	Prueba de tolerancia a la glucosa intraperitoneal
RI	Receptor de insulina
RNAm	Ácido ribonucleico mensajero
RV	Reversión
SM	Síndrome metabólico
SNC	Sistema nervioso Central
TNF-α	Factor α de la necrosis tumoral
Tx	Tratamiento
βA	β -amiloide

ALTERACIONES DE LA MEMORIA VISUOESPACIAL EN RATAS CON HIPERINSULINEMIA EN UN MODELO DE SÍNDROME METABÓLICO

I. Resumen

En México existe una gran prevalencia del síndrome metabólico (SM), el cual puede provocar enfermedades cardiovasculares y diabetes mellitus tipo II (DM2). Además de estas enfermedades, también se relaciona con deterioro cognitivo, especialmente en la atención y la memoria visuoespacial.

La hiperinsulinemia, uno de los criterios empleados para diagnosticar el SM, se relaciona con el deterioro de la memoria visuoespacial; sin embargo, la conexión que existe entre ésta y la hiperinsulinemia dentro del SM, todavía no se ha aclarado.

Se desarrolló un modelo de SM en ratas macho Wistar por medio de una dieta alta en sacarosa. Para considerar que se instaló el SM en estas ratas, se midieron parámetros metabólicos. Las ratas tuvieron al menos tres criterios positivos (niveles altos de triglicéridos, alteración en la curva de tolerancia a la glucosa e hipertensión arterial) y sólo en una parte de la población se presentó hiperinsulinemia, por lo que se crearon dos grupos, ratas con SM con hiperinsulinemia y sin hiperinsulinemia.

Para evaluar la memoria y el aprendizaje visuoespacial se utilizó el laberinto de Barnes.

La relevancia de este estudio radica en el papel que juega la hiperinsulinemia dentro de un cuadro de SM, no sólo en la regulación de la captación de glucosa; sino también en la memoria visuoespacial que puede ser susceptible a afectarse.

Palabras clave: Memoria visuoespacial, hiperinsulinemia, Síndrome Metabólico.

II. Introducción

Uno de los principales problemas de salud pública en México, que se incrementó en los últimos años, es el síndrome metabólico (SM) el cual consiste en un conjunto de signos y síntomas que pueden llegar a ocasionar enfermedades graves, como la diabetes mellitus tipo II (DM2) y enfermedades cardiovasculares (Grundy et al., 2004); dentro de estas se considera: la cardiopatía isquémica, angina de pecho, infarto de miocardio, muerte súbita y la aterosclerosis que son las más comunes (Contreras y Santiago, 2011).

En México se realizaron estudios que muestran una elevada prevalencia de SM entre la población, según los criterios de la OMS, se considera que puede afectar a 6 millones de personas; sin embargo más de 14 millones estarían afectados si se aplicaran otros criterios (Carrillo, Sánchez, Elizondo, 2006).

Según el tercer informe del panel de expertos sobre detección, evaluación y tratamiento de la hipercolesterolemia en adultos, (ATP III, por sus siglas en inglés, *Adult Treatment Panel III*) (Grundy et al., 2004), se consideran seis componentes para caracterizar al SM: obesidad abdominal, dislipidemia aterogénica (clínicamente se presenta como niveles elevados de triglicéridos en suero y disminución en los niveles de colesterol, lipoproteínas de alta densidad, (HDL)), presión arterial elevada, estado proinflamatorio, estado protombótico y la resistencia a la insulina (\pm intolerancia a la glucosa), la cual puede presentar hiperinsulinemia.

Además de las complicaciones metabólicas inherentes al SM, también se puede relacionar con un deterioro cognitivo (Segura y Jurado, 2009). En la revisión de Segura y Jurado en el 2009 muestran que los factores de riesgo que componen al SM afectan el rendimiento cognitivo, asociado con mayor riesgo de padecer alguna demencia, especialmente Alzheimer, la cual se caracteriza principalmente por una pérdida progresiva de la memoria.

Por otra parte, Young y colaboradores en el 2006 realizaron un estudio en el que se comparó el rendimiento cognitivo en personas ancianas con y sin hiperinsulinemia o resistencia a la insulina, en el que los sujetos que presentaron niveles altos de insulina, mostraron menores puntajes en las pruebas de orientación, atención y memoria. Sin embargo, una de las limitantes más importantes en la evaluación es la edad de los participantes, ya que es una variable importante que pudo haber intervenido en el deterioro de las funciones cognitivas antes mencionadas.

A pesar de que se ha relacionado a los niveles de insulina con alteraciones en las funciones cognitivas (Schubert et al., 2004; Ho et al., 2004; Younget al., 2006; Costello et al., 2012) y por otra parte al SM con un deterioro cognitivo (Segura y Jurado, 2009), se necesita de estudios adicionales para mostrar que los cambios en los niveles de insulina en la instalación de SM pueda modificar la memoria y/o el aprendizaje visuoespacial.

Es así como el propósito de esta tesis fue mostrar si los cambios que se han observado en la memoria y aprendizaje espacial en un modelo de SM se deben,

entre otros factores, a las alteraciones en la insulina, específicamente, a la hiperinsulinemia. Este estudio se realizó mediante el laberinto de Barnes bajo un protocolo estandarizado que consta de 17 días.

III. Marco teórico

a) Síndrome Metabólico

Gerald Reavenen 1988 agrupó a la intolerancia a la glucosa, hipertensión, hipertrigliceridemia, hiperinsulinemia y la disminución del colesterol dentro de un síndrome denominado X, en lo que destacó su asociación con la morbilidad y mortalidad cardiovascular. A este síndrome se le ha dado diversos nombres, el más reciente es el deSM (Carrillo, Sánchez, Elizondo, 2006).

Según el ATP III, el SM es un conjunto de signos y/o síntomas que pueden llegar a provocar enfermedades cardiovasculares como: angina de pecho, infarto de miocardio, muerte súbita y la aterosclerosis, además de ser un precursor para el desarrollo de DM2 (Contreras y Santiago, 2011). Para que establecer el diagnóstico de SM, se debe identificar al menos tres de los siguientes criterios establecidos en la tabla 1.

Componentes clínicos del SM según ATP III (Grundy et al., 2004)

- **Obesidad abdominal:**clínicamente se manifiesta como un aumento en la circunferencia de la cintura (Grundy, 2004). Localizada sobre todo en la región supreumbilical del abdomen; este tipo de obesidad es más típica en los hombres (Soriguer, 1994).

Puede ser fácilmente evaluada por el índice cintura/cadera que se refiere al cociente resultante de dividir el perímetro de la cintura a nivel del ombligo por el perímetro de la cadera a nivel de las crestas iliacas. Cuando este dato es mayor a 0.95 en el hombre y 0.85 en la mujer ya puede hablarse de obesidad abdominal (Soriguer, 1994).

- **Dislipidemias aterogénicas:** son un conjunto de enfermedades asintomáticas, que tienen en común concentraciones anormales de lipoproteínas sanguíneas. Los altos niveles de lípidos en sus diferentes fracciones lipoproteicas conllevan a un incremento en el riesgo de enfermedad cardiovascular como principal causa de mortalidad, además de la lesión orgánica funcional pancreática y por depósito en otros órganos según el nivel de severidad y cronicidad (IMSS, 2012).

Se ha documentado primordialmente una elevación de los triglicéridos asociada a una disminución del colesterol HDL en el SM (Duperly et al., 2000).

El colesterol, los triglicéridos y los fosfolípidos necesitan para su transporte unirse a proteínas conocidas como lipoproteínas. La densidad de las lipoproteínas depende de su peso molecular.

Las lipoproteínas de alta densidad no son factor para la aparición de la aterosclerosis, debido a que contienen una alta proporción de proteínas y menor concentración de colesterol y fosfolípidos, pueden depurar parcialmente el colesterol de los tejidos periféricos, transportándolo al hígado para su eliminación (Garrido y Teijon, 2006); en cambio, las de baja

densidad tienen un alto índice aterogénico porque contienen concentraciones elevadas de triglicéridos y moderadas de colesterol y fosfolípidos (Garrido y Teijon, 2006). Éstos últimos, al terminar la hidrólisis, regresan a la circulación sanguínea como remanentes. Los remanentes son metabolizados por el hígado y algunos depositan colesterol en las paredes arteriales, el consumo de comida muy ricas en grasas saturadas, produce mayor cantidad de éstos (Casanueva et al., 2008).

- **Presión arterial elevada:** entidad clínica caracterizada por una elevación crónica de la presión arterial, usualmente por encima de 140/90 mmHg de presión sistólica (Canino, 1997).

En la hipertensión, la presión diastólica también se eleva por encima de lo normal, pero no hasta el mismo punto que la sistólica. Igualmente presenta variaciones pero dentro de un estrecho margen, y nunca de forma tan grande como la sistólica ($\geq 130/\geq 85$ mm Hg). Sin embargo la elevación sostenida de la presión diastólica tiene un significado de mayor importancia, debido a que indica el grado de resistencia periférica, lo que significa el esfuerzo que tiene que hacer el corazón en cada latido. Cuanto mayor es la presión diastólica, mayor será el esfuerzo del corazón (Banerjee, 2006). Una presión diastólica elevada se considera como hipertensión independientemente de si la presión sistólica está elevada o no (Banerjee, 2006).

- **Resistencia a la insulina /Hiperinsulinemia:** es una situación en la cual una concentración de insulina está asociada con una alta concentración sanguínea de glucosa (Tebar y Escobar, 2009).

- **Estado proinflamatorio:** recurre a una elevación de la proteína C reactiva (PCR) (Levine, 2010). Múltiples mecanismos aparentemente subyacen en las elevaciones de la PCR. Una de las causas es la obesidad, debido a que el exceso de tejido adiposo libera citoquinas que pueden suscitar mayores niveles de PCR (Grundy et al., 2004).
- **Estado protrombótico:** la tendencia al desarrollo de la trombosis indica que incluye alteraciones del endotelio, de la coagulación y de la fibrinólisis, y activación plaquetaria (Palomo, et al, 2009). El fibrinógeno, el PAI-1 (factor inhibidor de la activación del plasminógeno-1) y otros factores de coagulación no se determinan actualmente en la práctica clínica rutinaria. Ningún tratamiento específico se dirige al control directo de las concentraciones de estos factores (Levine, 2010).

Factores de riesgo	Niveles que lo definen
Obesidad abdominal, circunferencia de la cintura*+	
Hombres	>102 cm (>40)
Mujeres	>88 cm (>35)
Triglicéridos	≥150 mg/dL
HDL Colesterol	
Hombres	<40 mg/dL
Mujeres	<50 mg/dL
Presión arterial	≥130/≥85 mm Hg
Glucosa en ayuno	≥110 mg/dL ♦
<p>*El sobrepeso y la obesidad se asocian con resistencia a la insulina y al síndrome metabólico. Sin embargo, la presencia de obesidad abdominal está altamente correlacionada con factores de riesgo metabólico que se refiere a un IMC elevado. Por lo tanto, se toma en cuenta la medida de circunferencia de la cintura como indicador del peso corporal y así ser un componente del síndrome metabólico.</p> <p>+Algunos pacientes varones pueden desarrollar múltiples factores de riesgo metabólico cuando la circunferencia es ligeramente mayor, por ejemplo 94-102 cm (37-39). Estos pacientes pueden tener una fuerte contribución genética a la resistencia a la insulina. Éstos deben tener cambios benéficos en los hábitos de vida, al igual que los hombres con incrementos categóricos en la circunferencia de la cintura.</p> <p>♦La asociación Americana de la Diabetes ha establecido un punto de corte de ≥ 100 mg/dL, por encima del cual las personas tienen prediabetes (glucosa en ayunas) o diabetes. Este punto de corte nuevo debe ser aplicable para la identificación del límite inferior para definir una elevación de la glucosa como un criterio para el síndrome metabólico.</p>	

Los pacientes que tienen el SM presentan mayor riesgo de mortalidad como de morbilidad cardiovascular en comparación con los que no la presentan (Levine, 2010).

Además el riesgo de desarrollar una arteropatía coronaria es alrededor del doble en personas con síndrome metabólico. De los componentes individuales, la hiperglucemia, la hipertensión arterial y las bajas concentraciones de HDL son los que tienen una relación más firme con el riesgo de arteropatía coronaria. Dicho riesgo aumenta con el incremento del número de componentes del SM (Levine, 2010).

b) Modelos en roedores de síndrome metabólico

Como ya se mencionó anteriormente, el SM ha ido en aumento en los últimos años a nivel mundial por lo que se necesitan de nuevos estudios para conocer los distintos mecanismos por los que se desarrolla este síndrome.

Los estudios en modelos animales representan una valiosa herramienta para comprender los procesos fisiopatológicos asociados con el SM (Ayala et al, 2008).

Una gran parte de los trabajos se desarrollan en roedores (ratones y ratas principalmente), dada su similitud biológica con el hombre y el gran conocimiento que se tiene a todos los niveles (genético, molecular, enzimático, etc.) de estas especies, así como por su facilidad de desarrollar algunas de las características que se observan en el ser humano (Ayala et al, 2008).

Algunos de estos modelos son (Tabla 2) (Panchal y Brown, 2011):

- **Ratón *ob/ob*:** estos ratones desarrollan una mutación en el gen de leptina en el cromosoma 6, desarrolla obesidad, hiperinsulinemia, hiperigluceemia después de cuatro semanas de edad, la presencia de intolerancia a la glucosa se presenta más tarde. A diferencia de los seres humanos, estos ratones no desarrollan hipertensión.
- **Ratón *db/db*:** Estos ratones tienen una mutación en el gen del receptor de leptina presente en el cromosoma 4, lo que desarrolla un peso corporal más alto después de 6 semanas. Además, la hiperinsulinemia e intolerancia a la glucosa se observa después de 12 semanas de edad.

- **Rata *DiabeticZuckerfatt (ZDF)***: es un modelo de inicio temprano en la obesidad, tiene una mutación en el gen del receptor de leptina. Se presenta hipertrigliceridemia y la hiperinsulinemia después de 12-14 semanas de edad, además de presentar marcadores tempranos de inflamación como el TNF- α Y la IL-1 β después de 26 semanas de edad.
- **Rata *Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF)***: es un modelo de diabetes y obesidad, presenta hiperglucemia después de las 18 semanas de edad, sin embargo, presentan intolerancia a la glucosa a partir de 24 semanas.
- **Rata *Goto-Kakizaki (GK)***: ratas obesas y espontáneamente diabéticas por un deterioro inductor que disminuye la neogénesis y proliferación de las células β .
- **Rata Wistar dieta alta en sacarosa**: este modelo se realiza en ratas Wistar que no muestran una susceptibilidad particular en el desarrollo de la obesidad y la diabetes. Se realiza un cambio en la dieta en donde se da agua con 20% de sacarosa y comida normal *ad libitum*. Después de ocho semanas de tratamiento las ratas pueden presentar un incremento en la insulina plasmática y triglicéridos, además de un aumento en la presión arterial (Larqué et al., 2011).

Tabla 2. Diferentes modelos de roedores con los signos del síndrome metabólico. Representa los signos del síndrome metabólico en las diferentes edades. Los símbolos (+/-) indican la presencia y la ausencia de los parámetros alterados de SM a esa edad, respectivamente, mientras que U indica falta de disponibilidad de los datos (Modificada de Panchal y Brown, 2011).

*Los datos del modelo de Rata con dieta alta en sacarosa fueron tomados de Larqué et al., 2011 y solo en este caso se habla de semanas con la dieta alta en sacarosa.

Modelo de Roedor	Edad (semanas)	obesidad	hipertensión	Dislipidemias	Disfunción cardiovascular	Intolerancia a la glucosa	Hígado graso	Disfunción renal	Hiperinsulinemia
Ratón ob/ob	4	+	-	-	-	-	-	U	+
	12	+	-	-	-	+	+	U	+
	24	+	-	-	+	+	+	U	+
Ratón db/db	6	+	-	-	-	-	-	U	-
	12-13	+	-	+	+	+	-	U	+
	20	+	-	+	+	+	+	U	+
Rata ZDF	12-	+	+	+	+	-	-	-	+
	15	+	+	+	+	-	+	-	+
	20	+	+	+	+	-	+	+	+
	31-47								
Rata OLETF	8	-	-	+	-	-	-	-	U
	14	-	+	+	-	-	-	-	U
	20	+	+	+	-	-	-	-	U
	24	+	+	+	-	+	-	-	U
	34	+	+	+	-	+	+	-	U
	40	+	+	+	-	+	+	+	U
	60-66	+	+	+	+	+	+	+	U
Rata Goto-Kakizaki	4	-	-	-	-	+	-	-	U
	8	-	-	+	-	+	+	-	U
	20	-	-	+	+	+	+	-	U
	60	-	-	+	+	+	+	+	U
Rata Wistar adulta Dieta alta en sacarosa*	8	-	+	+	-	+	-	-	+

c) Síndrome metabólico y deterioro cognitivo

En los últimos años se ha relacionado al SM con deterioro cognitivo. Fue así como Segura y Jurado en el 2009 hicieron una revisión longitudinal con un seguimiento de tres años en pacientes con SM, los cuales mostraron alteraciones de reconocimiento en tareas de memoria. Por otro lado en el mismo estudio se compararon varios parámetros metabólicos de una muestra de pacientes diagnosticados con la enfermedad de Alzheimer y un grupo control de personas sanas, así se llegó a la conclusión de que el SM puede llegar a triplicar el riesgo de sufrir esta demencia.

Datos clínicos sugieren que la inflamación periférica está involucrada en la patogénesis de los síntomas neuropsiquiátricos asociados con el SM, debido a que este síndrome se asocia con la inflamación central y activación de citoquinas al alterar la actividad cerebral en áreas particularmente involucradas en el control de la conducta (Dinel et al., 2011).

Dinel y colaboradores en el 2011 al utilizar un modelo diabético en ratón transgénico (éste presentaba niveles plasmáticos elevados de leptina, insulina y corticosterona) observaron un deterioro en la memoria espacial, una tarea dependiente del hipocampo. Asimismo, encontraron un incremento inflamatorio debido a citoquinas y una reducción hasta del 60% en la expresión del RNAm de BDNF en el hipocampo, esto último, asociado a un deterioro en la plasticidad sináptica que lleva consigo un deterioro cognitivo.

Por otro parte; un estudio realizado en el 2012 por Yau y sus colaboradores tenían como objetivo determinar si la obesidad y el SMestán asociados con daños en el cerebro. Gracias a estudios de resonancia magnética funcional, se demostró que existe una reducción en el volumen hipocampal que se correlacionó con un menor puntaje en pruebas cognitivas, especialmente con una dificultad en tareas de memoria. Además, se mostró la resistencia a la insulina como el criterio más confiable para predecir cambios estructurales en el hipocampo.

d) Insulina

1.Estructura, Biosíntesis y secreción

La insulina es un polipéptido que contiene dos cadenas de aminoácidos unidos por puentes de disulfuro. Esta hormona se sintetiza en el retículo endoplásmico rugoso de las células β del páncreas. Después se transportan al aparato de Golgi, donde se empaca en gránulos rodeados por membrana. Estos gránulos se desplazan a la membrana plasmática por un proceso que implica la participación de microtúbulos y su contenido se libera por exocitosis. Una vez liberada, la insulina cruza las láminas basales de las células β y el endotelio fenestrado de los capilares vecinos para llegar al torrente sanguíneo (Ganong, 2006).

La insulina es sintetizada inicialmente como una única cadena de gran tamaño, la preproinsulina. En seres humanos el gen para la insulina se localiza en el brazo corto del cromosoma 11. Posee dos intrones y tres exones. La preproinsulina tiene un péptido señal de 23 aminoácidos (secuencia principal) que se elimina conforme entra al retículo endoplásmico. El resto de la molécula se pliega y se

forman puentes de disulfuro para formar la proinsulina. El segmento péptido que conecta a las cadenas α y β , el péptido conector (péptido C), facilita el plegamiento y más tarde se desprende en los gránulos antes de la secreción. En el procedimiento de la proinsulina participan dos proteasas, de las cuales no se ha establecido su actividad fisiológica. Normalmente, 90 a 97% del producto liberado de las células β es insulina junto con cantidades equimolares de péptido C, el resto es principalmente proinsulina. El péptido C puede medirse por radioinmunoanálisis y su nivel proporciona un índice de la función de las células β en pacientes que reciben insulina exógena (Ganong, 2006).

2. Metabolismo

La vida media de la insulina en circulación en humanos es de casi cinco minutos. La principal enzima involucrada es la proteasa de insulina, una enzima que se encuentra en la membrana celular y que se internaliza con la insulina. Debe notarse que los receptores de insulina se encuentran en muchas células en el cuerpo, además de las células clásicas “sensibles a la insulina” en las cuales la hormona incrementa la captación de glucosa. Casi todos los tejidos en el cuerpo pueden metabolizar algo de insulina. No obstante, 80% de la insulina secretada por lo general se degrada en hígado y riñones (Ganong, 2006).

3. Efectos de la insulina

Los efectos fisiológicos de la insulina son amplios y complejos. Sus acciones se dividen por conveniencia en rápidas, intermedias y tardías (Tabla 3). El efecto neto de la hormona es almacenar carbohidratos, proteínas y grasas. Por tanto, la

insulina se denomina en forma apropiada “hormona de la abundancia” (Ganong, 2006).

Tabla 3. Principales acciones de la insulina (Ganong, 2006).

Rápida (segundos)

Incrementa el transporte de glucosa, aminoácidos y de K⁺ al interior de las células sensibles a la insulina.

Intermedias (minutos)

Estimulación de la síntesis de proteínas
Inhibición de la degradación de proteínas
Activación de las enzimas glucolíticas y de la sintetasa de glucógeno
Inhibición de la fosforilasa y enzimas gluconeogénicas.

Tardía (horas)

Incremento en el RNAm para enzimas lipógenas y de otro tipo

4. Receptores de insulina

El receptor de insulina (RI) es una glucoproteína de 300 a 400 kDa (Jagua et al., 2008), es un dímero de dos unidades idénticas. Cada unidad consta de una cadena α y una cadena β unidas entre sí por un enlace disulfuro (Fig 1). Cada subunidad α se coloca completamente en el exterior de la célula, mientras que cada subunidad β se coloca principalmente en el interior, atravesando la membrana con un único segmento transmembranal. Las dos subunidades α se juntan para formar un centro de unión para una única molécula de insulina para interaccionar con las dos cadenas idénticas del receptor de insulina, lo que activa la vía de señalización (Berg, Tymoczko, Stryer, 2008). El receptor de insulina está en continuo reciclaje y, tras una vida media de 7 a 12 horas, se produce un proceso de endocitosis para una vez en el citoplasma ser degradado por los lisosomas (Tebar y Escobar, 2009).

El agrupamiento de un receptor oligomérico o la oligomerización de un receptor monomérico en torno a un ligando unido es una estrategia utilizada por muchos receptores para iniciar una señal, sobre todo en los receptores que contienen una proteína quinasa (Berg, Tymoczko, Stryer, 2008).

Cada subunidad β está formada fundamentalmente de un dominio proteína quinasa homólogo a la proteína quinasa A. esta quinasa se diferencia de una proteína quinasa A por dos hechos importantes. Primero, la quinasa del receptor de insulina es una tirosinaquinasa; es decir que cataliza la transferencia de un grupo fosforilo del ATP al grupo hidroxilo de la tirosina, en vez de hacerlo a la serina o la tronina, como ocurre con la proteína quinasa A (Berg, Tymoczko, Stryer, 2008).

Dado que esta tirosina quinasa es un componente del mismo receptor, al receptor de insulina se le denomina tirosina quinasa. Segundo, la quinasa del receptor de insulina está en una conformación inactiva cuando el dominio no ha sido modificado covalentemente. La quinasa se inactiva por la colocación de un bucle sin estructura (llamado bucle de activación) que se sitúa en el centro de la estructura (Berg, Tymoczko, Stryer, 2008).

La tirosina quinasa del receptor de insulina se activa por fosforilación. Dado que las dos subunidades del receptor se mantienen próximas una a la otra, también se fosforilan otros lugares del receptor. Éstos actúan como puntos de anclaje para otros sustratos incluyendo una clase de moléculas denominadas sustratos del

receptor de insulina (IRS “insulin-receptor substrates”) (Berg, Tymoczko, Stryer, 2008).

IRS-1 y IRS-2 son dos proteínas homólogas con una estructura modular. Cuando la quinasa del receptor de insulina se encuentra fosforilada, las moléculas de IRS actúan como proteínas adaptadoras: no activan el siguiente componente de la vía, una quinasa de lípidos; sino una se unen a la quinasa lipídica y la atraen a la membrana donde puede actuar sobre su sustrato, un lípido (Berg, Tymoczko, Stryer, 2008).

Los residuos de fosfotirosina en las proteínas IRS son reconocidos por otras proteínas que contienen una clase de dominio denominado homología 2 α Src (SH2) o PTB, están presentes en muchas proteínas de transducción de señales, se unen a fragmentos de polipéptidos que contienen residuos de fosfotirosina.

Factor de crecimiento similar a la insulina (IGF)

El plasma contiene varias sustancias con actividad insulínica además de la insulina. La actividad que no puede suprimirse por anticuerpos se ha denominado actividad insulínica no suprimible (AINS). La mayor parte son los factores de crecimiento con actividad insulínica (IGF-I), son polipéptidos. Existen pequeñas cantidades libres en el plasma pero grandes cantidades se unen a proteínas (Ganong, 2006). La unión específica de insulina se complica con la presencia de dos isoformas del receptor de insulina (IRa e IRb) y el ensamblaje de híbridos entre dichas isoformas y los receptores para el factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1R). La isoforma IRb del receptor de insulina une a insulina con

alta afinidad, mientras que la isoforma IRa une insulina o IGF-2 con afinidad similar (Blazqu ez, 2005).

Además, los receptores híbridos compuestos de dímeros ab formados a partir del receptor de IGF-1 y del receptor IRb unen de una manera selectiva IGF-1, mientras que los receptores híbridos compuestos del receptor de IGF-1 y del receptor IRa unen a los IGFs e insulina con afinidades similares. Sin embargo, no está muy claro cuál es el papel de esta complejidad funcional sobre el metabolismo, el crecimiento y la supervivencia celulares (Blazqu ez, 2005).

Es importante comparar el receptor de insulina con otros receptores relacionados. El RI es muy similar a los receptores para IGF-1 pero difiere de los receptores para IGF-2 (Fig 1) (Ganong, 2006).

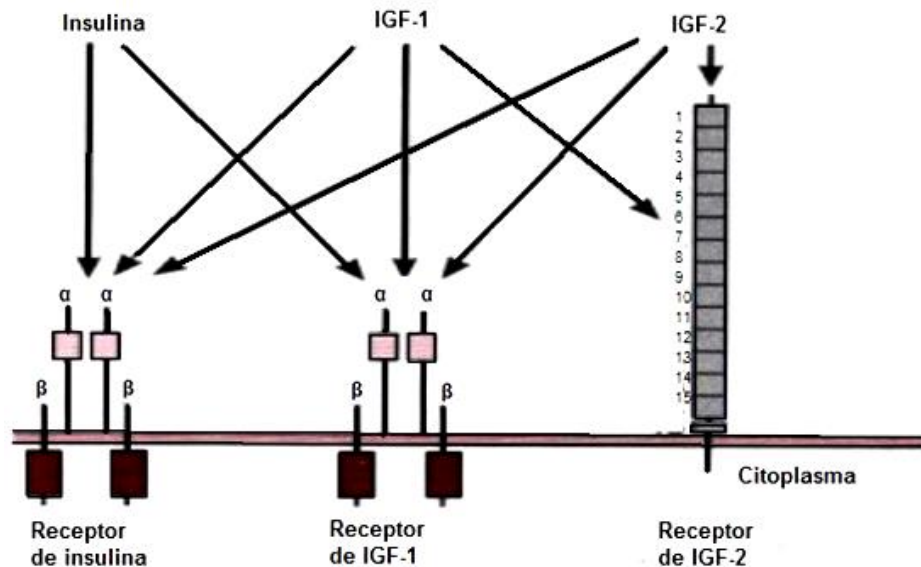


Fig 1. Receptores para insulina, IGF-1 e IGF-2. Cada hormona se une principalmente a su propio receptor, pero la insulina también se fija a los receptores para IGF-1; IGF-1 e IGF se unen a los tres receptores. Los cuadros oscuros son dominios de tirosina cinasa intracelulares. Obsérvase la notoria similitud entre los receptores de insulina y los de IGF-1; también las 15 secuencias repetidas en la porción extracelular del receptor IGF-2. (Modificado de Ganong, 2006)

Los receptores de insulina y de IGF-1 forman híbridos que modulan la selectividad y afinidad por la insulina y los factores de crecimiento similares a la insulina (IGF-1 e IGF-2). La unión de insulina o de IGF-1 estimula la autofosforilación en tirosina de la subunidad β del receptor, lo cual activa a la quinasa específica y recluta a los sustratos celulares IRS-1 e IRS-2 para su fosforilación en tirosina. El reclutamiento es regulado por la fosforilación en serina de las proteínas IRS, lo cual inhibe la interacción entre su dominio PTB y el receptor fosforilado (Blazquez, 2005).

5. Vías de señalización

El receptor de insulina puede seguir dos grandes vías de señalización (Lorenzo, 2008):

- 1) La vía de los activadores de mitógeno (proteincinasa activada por mitógenos –MAPK-)
- 2) La vía de la fosfatidilinositol-3-cinasa (PI3K)

Estas vías no pueden concebirse como absolutamente independientes, puesto que en determinadas circunstancias una puede activar a la otra (Fig2).

La vía de la MAPK se activa como consecuencia de la unión del Grb2 (adaptador proteico que contiene el dominio SH2) a la Sch-tirosinfosforilada o bien el dominio SH2 de los IRS. Esto le permite constituir asociaciones con la proteína intercambiadora de nucleótidos que actúan sobre los promotores del crecimiento de insulina e inducen su expresión genética (Lorenzo, 2008).

Sin embargo las respuestas metabólicas de la insulina están mediadas preferentemente por la segunda vía. Es decir, a través de la PI3K la cual está involucrada en numerosas acciones de la insulina(Lorenzo, 2008).

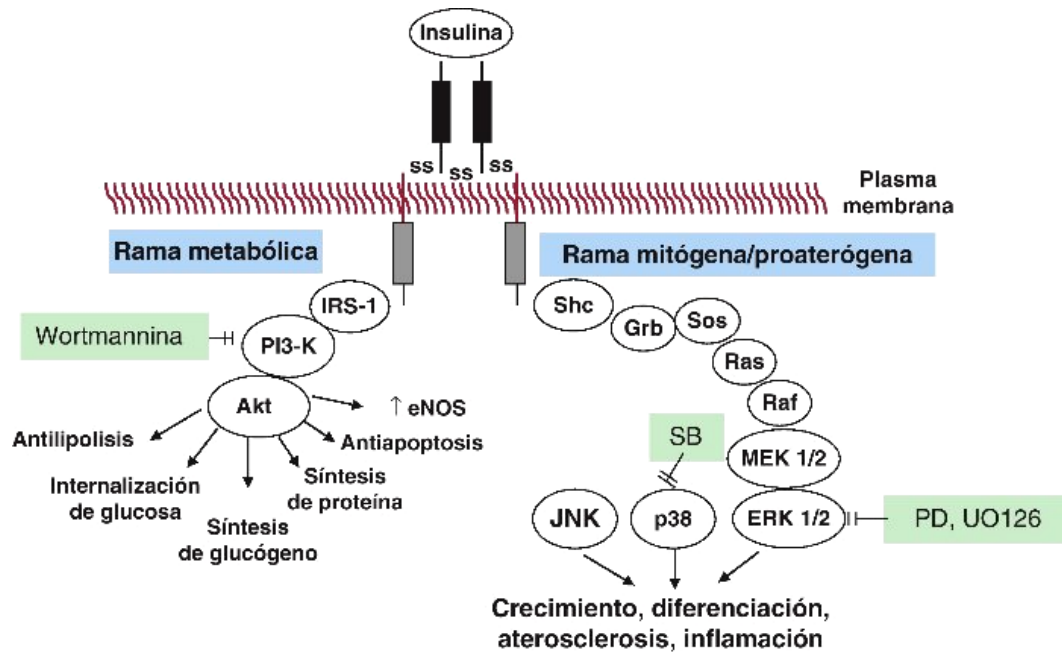


Fig 2. Vías de señalización de la insulina (Madonna, 2012).

6. Captación de glucosa por difusión facilitada

La PI3-K también interviene en varios efectos metabólicos de la insulina: activación de la glucógeno sintetasa, síntesis proteica, lipogénesis y la regulación de varios genes de la respuesta insulínica de células (Perman, 2007).

La captación de glucosa en el intestino y los túbulos contorneados proximales del riñón tiene lugar mediante un sistema de cotransporte glucosa sodio; en el resto del organismo ocurre por un sistema de difusión facilitada por transportadores. Se

conocen cinco isoformas de GLUT, pero las más importantes para la captación celular de la glucosa son 1, 2 y 4 (Perman, 2007).

El GLUT-1 se encuentra en la mayoría de los tejidos y permite la captación basal (gran afinidad por la glucosa y asegura el transporte aun en condiciones de hipoglucemia relativa) (Perman, 2007). Un ejemplo es el caso de las neuronas, no requieren la presencia de insulina, esto explica porque las neuronas captan glucosa independientemente de la concentración de insulina plasmática (Fernández, 2006).

El GLUT-2 se encuentra en el hígado (permite la regulación de la captación-liberación de glucosa y una captación libre, no dependiente de la tasa, en el hígado), en las células β del páncreas (regulación de secreción inducida por glucosa), en el riñón y en el intestino. El GLUT-4 se encuentra solo en los tejidos en los que el transporte es controlado por la insulina: musculo esquelético, tejido adiposo y corazón. La insulina no solo aumenta la cantidad de transportadores de la membrana (translocación y fusión a la membrana celular), sino también la actividad intrínseca de los GLUT-4(Perman, 2007).

7. Control de la glucemia por la insulina

La insulina aumentala permeabilidad a la glucosa de las células, especialmente el miocardio, musculo esquelético y tejido adiposo, facilitando su captación y su utilización metabólica. En las células cerebrales esto no ocurre ya que no necesitan la intervención de la insulina para captar glucosa. Tampoco en las

células hepáticas, que permiten la libre entrada de glucosa y están esencialmente equilibradas con las concentraciones extracelulares (Cuenca, 2006).

Otro de los efectos anabólicos de la insulina es estimular el almacenamiento de lípidos, ya que facilita la entrada de los ácidos grasos en los adipocitos y la lipogénesis, y éstos quedan almacenados como triglicéridos; por el contrario, inhibe la lipólisis en los mismos (Cuenca, 2006).

Sobre el metabolismo de las proteínas, la insulina facilita la captación celular de aminoácidos sanguíneos, de modo que reduce su concentración; aumenta la síntesis de proteínas e inhibe la proteólisis, sobretodo en el músculo (Cuenca, 2006).

En el cartílago y tejido óseo, la insulina y otros factores de crecimiento estimulan la síntesis de DNA, RNA y proteínas favoreciendo el crecimiento, es decir, posee una acción anabólica actuando de forma sinérgica con la hormona del crecimiento (Cuenca, 2006).

8. Control de la secreción de insulina

El exceso de glucosa estimula la producción de insulina. En humanos, el estímulo principal es el aumento de glucemia por encima de lo normal (80 mg/100 ml). Por debajo de 50 mg/100 ml la secreción de insulina es escasa o nula, siendo máxima por encima de 250 mg/100 ml (Cuenca, 2006).

Al ser la glucemia el estímulo más potente, su mecanismo de actuación sobre las células β que actúan como sensores y efectores es la siguiente (Cuenca, 2006):

1. Transporte de glucosa al interior de la célula β . En sus membranas se encuentra el transportados GLUT-2 que introduce la glucosa desde la sangre por difusión facilitada.
2. Una vez en el citoplasma, la glucosa es fosforilada por la glucocinasa a glucosa-6-fosfato, que se oxida a continuación (glucólisis).
3. El ATP cierra los canales de K^+ sensibles al mismo. Cuando la concentración de ATP sube en el interior de las células β , los canales de K^+ se cierran y despolarizan la membrana celular.
4. Esta despolarización abre canales de Ca^{2+} de la membrana sensibles a voltaje, que entra desde el exterior por gradiente electroquímico con el consiguiente aumento de su concentración citoplasmática.
5. El aumento de la concentración de Ca^{2+} produce la secreción de insulina por exocitosis de los gránulos de secreción que la contienen, en primer lugar a la sangre venosa pancreática y posteriormente llega a la circulación sistémica.

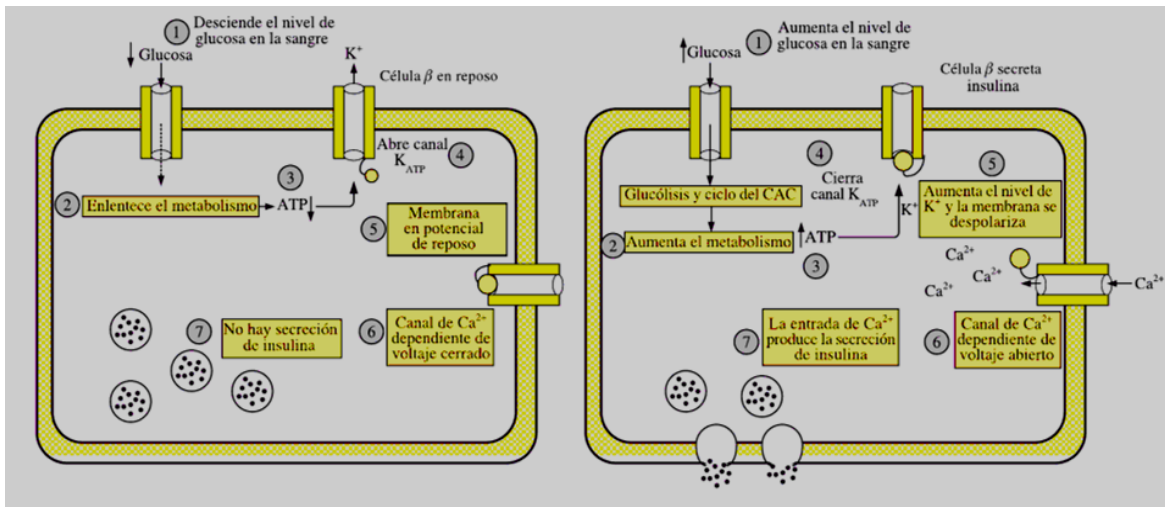


Fig. Control de la producción de insulina en las células β del páncreas (modificado de Cuenca, 2006)

9. Hiperinsulinemia y resistencia a la insulina

La resistencia a la insulina puede definirse como una respuesta subóptima de la glucosa a la insulina tanto endógena como exógena. Se debe a una disminución del transporte de glucosa estimulado por insulina. La resistencia endógena se define por la existencia de elevadas concentraciones de insulina sérica asociadas a concentraciones de glucemia normales o altas. Por otro lado, la resistencia a la insulina exógena es evidente cuando los pacientes diabéticos tratados con insulina requieren grandes dosis de ésta para el control de glucemia (Tébar y Escobar, 2009).

La resistencia a la insulina es un fenómeno poco conocido, en el cual los tejidos no responden a la insulina. En algunos pacientes, el número o la afinidad de los receptores de insulina disminuye, en otros, la unión de la insulina es normal, pero las respuestas posteriores al receptor, tales como la activación del transporte de

glucosa, están alteradas. Como regla general se puede decir que cuanto mayor es la cantidad de grasa en el cuerpo, mayor es la resistencia de las células normalmente a la insulina o a la acción de la misma debido a que las células grasas producen dos hormonas, factor α de la necrosis tumoral (TNF- α) y una proteína, la resistina, que parecen ser responsables de la inducción de la resistencia a la insulina. A consecuencia de ello, la sangre de un individuo obeso presenta niveles de insulina plasmática muy elevados (Devlin, 2006).

Hay distintas causas de resistencia a la insulina, una de ellas, aunque la menos frecuente, se debe a defectos hereditarios en la función de la célula diana, ya sean defectos primarios de causa desconocida o debido a mutaciones en el receptor de insulina. Sin embargo, las que se encuentran con mayor frecuencia son las causas secundarias, entre las que podemos encontrar DM2, obesidad y las que se refieren a los anticuerpos anti-insulina o su receptor. Por último, también hay una serie de enfermedades de causa desconocida que pueden cursar con resistencia a la insulina (Tébar y Escobar, 2009).

La resistencia a la insulina se puede presentar de múltiples formas. La presentación que se ha vuelto clásica es la hiperglucemia a pesar de dosis elevadas de insulina, pero la mayoría de los pacientes con resistencia a la insulina extrema no tienen hiperglucemia establecida (Tébar y Escobar, 2009), refiriéndome a ésta como una producción excesiva de glucosa hepática, aun con niveles de insulina normales o aumentados (Miralles y De Leiva, 2001).

En conclusión puede decirse que cuando hay resistencia a la acción de la insulina sobre el metabolismo de la glucosa, se desarrolla hiperinsulinemia como mecanismo compensador que intenta llevar a una condición de equilibrio de la glucosa.

10. Insulina cerebral

El origen de la insulina cerebral es motivo de discusiones; lo que se ha aceptado hasta el momento es que existe un sistema de transporte de insulina a través de la barrera hemato-encefálica (BHE). La insulina puede atravesar la BHE por un sistema de transporte mediado por el receptor de la insulina. En condiciones normales, los niveles de insulina cerebral se correlacionan con las concentraciones en la circulación periférica (Plum, Belgardt, Brüning, 2006; Jagua et al., 2008).

Se debe de tener en cuenta que, los efectos biológicos de la insulina en el cerebro dependen de la disponibilidad de la hormona, la unión de ésta a sus receptores y la activación de las moléculas efectoras que interviene en la señalización de su vía (Heras-Sandoval y Arias, 2009).

La insulina activa proteínas involucradas en procesos celulares como la transcripción, apoptosis, crecimiento neuronal y plasticidad sináptica (Heras-Sandoval y Arias, 2009). Además esta hormona y sus receptores no parecen tener un efecto directo sobre el metabolismo de la glucosa neuronal, pero juegan un papel modulador a través de la activación de cascadas de señalización específicas

en la transducción de señales en la actividad sináptica, involucrándose en procesos cognoscitivos como lo es la memoria (Schubert et al., 2004).

11. El efecto de la insulina en la memoria y aprendizaje visuoespacial

Existen dos vías (que compiten pero no se excluyen) por las que la insulina llega al cerebro: atravesando la BHE o sintetizándose directamente en el cerebro.

Aunque muchos estudios sugieren que esta última opción no ocurre, los resultados no son concluyentes, más bien, la síntesis de insulina en el SNC parece depender de la especie animal en estudio (por ejemplo, hay evidencia de síntesis en el cerebro de conejos, sin embargo, los resultados no son concluyentes en ratas) (Martínez et al., 2007).

El incremento de la concentración periférica de insulina aumenta de manera aguda la concentración en el cerebro y el líquido cefalorraquídeo (LCR). Sin embargo, el incremento periférico prolongado de la concentración de insulina reduce el número de receptores de insulina de la BHE y disminuye el transporte de insulina al cerebro (Martínez et al., 2007).

Existen dos tipos de receptores para la insulina en el cerebro adulto de los mamíferos, aunque ambos tipos parecen ser similares en cuanto a la transducción de la señal de la insulina: el tipo periférico que se encuentra solo en las células de la glía y otro tipo específico de las neuronas (Martínez et al., 2007). Cabe aclarar que las células cerebrales no necesitan de la intervención de la insulina para poder captar la glucosa (Cuenca, 2006).

La localización de los receptores de insulina es consistente con su implicación en los procesos de aprendizaje y memoria. Sin embargo, los efectos del incremento en la concentración de insulina son opuestos dependiendo de si la hiperinsulinemia es aguda o crónica. En seres humanos, la administración intravenosa aguda mejora la ejecución de tareas de memoria. Además, el aprendizaje también puede influir en la expresión o función de los receptores de insulina como se ha observado en el giro dentado y área CA1 del hipocampo de ratas. Sin embargo, la cronicidad de esta hiperinsulinemia puede producir efectos adversos sobre la memoria. En este sentido, por ejemplo, la DM2 se ha asociado con un deterioro del condicionamiento clásico y operante en ratas e incluso deterioro de la memoria verbal y visuoespacial en seres humanos (Martínez et al., 2007).

Evidentemente, las alteraciones en la señalización de la insulina suponen alteraciones en el balance energético celular de manera que el metabolismo celular y la actividad de determinadas enzimas se ven afectados. Por tanto, al desregularización de la insulina podría ser un factor más que contribuye al déficit energético asociado con algunas enfermedades neurodegenerativas. Diversos estudios muestran que en enfermos de Alzheimer los niveles de insulina en plasma y LCR son anormales y presentan un deterioro de la sensibilidad periférica a la insulina. Además, estos pacientes muestran también alteraciones en el número y funcionamiento de sus receptores de insulina, en general, la sensibilidad a la insulina se asocia con los procesos de aprendizaje y memoria, de manera que un deterioro en el funcionamiento de la insulina implica un peor funcionamiento en

tareas de aprendizaje y memoria tanto en ratas como en humanos. Se ha mostrado que una disminución en la concentración de insulina en el SNC así como una reducción del número de receptores de insulina en el cerebro llevan a una disminución de los niveles de acetilcolina y del flujo sanguíneo cerebral lo que conduce al deterioro del metabolismo oxidativo cerebral que podría interferir en el procesamiento de proteínas como la APP (la proteína precursora de la proteína β -amiloide) uno de los signos que se presenta en la enfermedad de Alzheimer (Martínez et al., 2007).

e) Memoria y aprendizaje

El aprendizaje es el proceso por el cual adquirimos nueva información o conocimiento. Por otra parte, la memoria constituye el proceso por el cual este conocimiento es codificado, almacenado y recuperado, es decir la persistencia del aprendizaje, es un estado que permite manifestarlo más tarde (Soriano et al., 2007).

Se ha definido a la memoria como la capacidad de retención y reproducción de las huellas de la experiencia anterior, lo que permite que el ser humano pueda acumular información y contar con los indicios de la experiencia anterior tras desaparecer los fenómenos que la motivaron (Luria, 1987). Esta función consta de tres etapas (Soriano et al., 2007):

- **La codificación** que se refiere al procesamiento de información que llega para ser almacenada. A su vez, esta etapa consta de dos fases separadas:

la adquisición (registro de las entradas sensoriales) y la consolidación (creación de una representación más fuerte durante el tiempo)

- **El almacenamiento**, el cual es resultado de la adquisición y consolidación de la información, crea y mantiene un registro permanente.
- **La recuperación**, tomándola como la utilización de la información almacenada para crear una representación consciente o para ejecutar un comportamiento.

Una de las formas como se puede subdividir a la memoria es el modelo de Atkinson y Shiffrin (1968) también llamado modelo modal o modelo estructural de la memoria (Aguilar et al., 2004) Véase Fig 3:

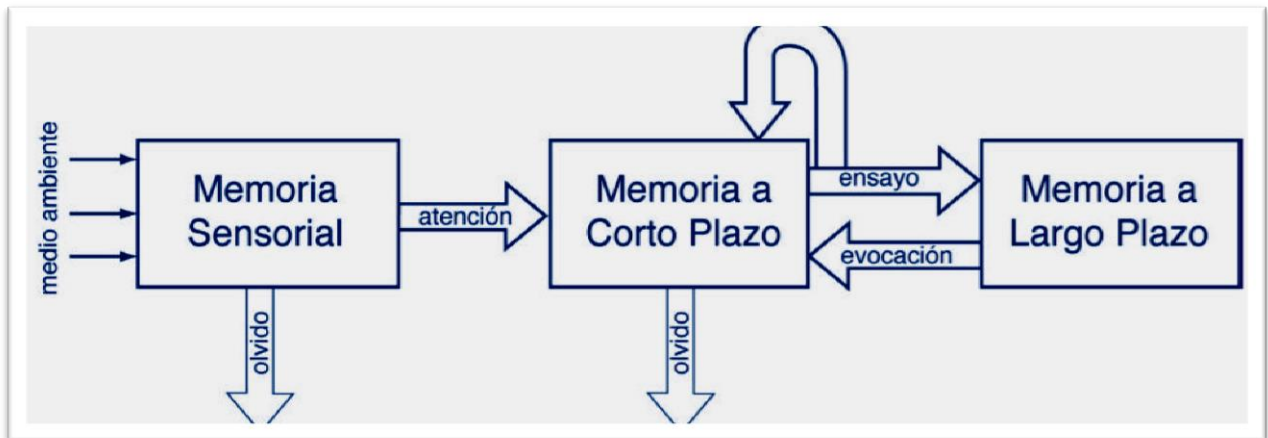


Fig 3. Modelo modal de la memoria de Atkinson&Shiffrin, 1968 (Modificada de Gutiérrez, 2011).

información por periodos muy breves de tiempo. Dura milisegundos o segundos y no es necesaria demasiada atención (Soriano et al., 2007). Se cree que cada modalidad sensorial tiene su propio sistema de registro (Aguilar et al., 2004).

2. Memoria a corto plazo (MCP): parte de la información almacenada en los registros sensoriales es transferida a la MCP (Aguilar et al., 2004), ésta se asocia con una retención de segundos o minutos (Soriano et al., 2007). La concepción clásica de la MCP se entiende como una estructura unitaria de capacidad limitada, cuyo funcionamiento es indispensable para el mantenimiento inmediato de la información, así como para asegurar una correcta transferencia del contenido a la memoria a largo plazo (MLP) (Aguilar et al., 2004).

Para Broadbent y Atkinson y Shiffrin, la memoria a corto plazo es un sistema que retiene la información precedente del exterior por un tiempo muy breve y bajo un formato especial mientras se transfiere a un sistema estable y permanente (Aguilar et al., 2004).

3. Memoria de trabajo: es la capacidad del sistema cognitivo de procesar y retener temporalmente en activo porciones limitadas de información, mientras son elaboradas e integradas con otras, como paso previo a su representación y almacenamiento en la memoria a largo plazo. (Aguilar et al., 2004)

Para Baddeley, el término memoria operativa o de trabajo se refiere a un sistema preparado para retener y manipular información de forma temporal mientras participa en tareas cognitivas tales como el aprendizaje, la recuperación, la comprensión o el razonamiento. Ésta enfatiza el papel de la memoria como sistema de control del procesamiento de la información (Aguilar et al., 2004).

Así, en 1974, Alan Baddeley y Graham Hitch dan dos elementos claves para diferenciar este tipo de memoria con la MCP: implica un sistema multicomponente, en lugar de un módulo unitario, y desempeña una función especial en otras tareas cognitivas como el aprendizaje, el razonamiento o la comprensión (Aguilar et al., 2004).

El modelo de memoria de trabajo incluye tres componentes (Fig 4): ejecutivo central, considerado como un sistema atencional de control que actúa conjuntamente a otros dos sistemas subsidiarios, el lazo fonológico o lazo articulatorio, implicado en la información auditiva y lo relacionado con el habla; y la agenda visuoespacial, relacionada con la información visual y espacial (Aguilar et al., 2004).



Fig 4. Modelo de la memoria de trabajo de Baddeley&Hitch, 1976 (Modificada de Gutiérrez, 2011)

Sin embargo, el término de memoria de trabajo posee un significado diferente en la literatura cognitiva y neurocientífica actual. Se refiere a la capacidad de mantener la información en el momento, *on-line*, mientras el sujeto trabaja con esta información; esta capacidad de memoria ha estado más vinculada a la corteza prefrontal que al hipocampo (Soriano et al., 2007).

4. Memoria a largo plazo (MLP): retiene la información que se transfiere desde la MCP mediante la repetición o algún otro proceso. Esta memoria es el depósito permanente de la información que hemos acumulado a lo largo de la vida. También se encuentran los recuerdos que nos permiten reconocer a las personas y los objetos familiares; esto quiere decir que contiene conocimiento que tiene que ver con el qué conocemos, memoria declarativa; y conocimiento sobre el cómo conocemos, memoria no declarativa). El recuerdo depende de que comprendamos lo que significa la información y seamos capaces de recuperarla (Aguilar et al., 2004). También tiene tres características principales: la codificación se realiza de la misma forma que en MCP, su capacidad es ilimitada (consta de un alto grado de organización) y la duración de los contenidos en la MLP se mantiene durante toda la vida del individuo (Aguilar et al., 2004). Se sostiene que el olvido que se produce en la MLP, no es tanto un fenómeno o problema de pérdida o decaimiento de la información, que sí ocurre en la memoria sensorial y en la MCP, como un problema vinculado a una deficiente codificación o a un problema de recuperación o acceso a la misma.

Como ya se había mencionado, la memoria a largo plazo puede clasificarse como declarativa o no declarativa, como a continuación se describe.

5. Memoria no declarativa (implícita) y memoria declarativa (explícita) La memoria se divide en dos grandes sistemas: la memoria implícita, también llamada de habilidades y la memoria declarativa (Fig 5). Se dividen así ya

que estos sistemas dependen de diferentes áreas del cerebro por lo cual se pueden afectar independientemente (Casals et al., 2005).

La memoria implícita está formada por un conjunto de facultades que después de un periodo de aprendizaje se vuelve automático; cuando sucede, esta actividad se puede realizar sin prestarle demasiada atención (Casals et al., 2005). Se recuerda de manera inconsciente, es rígida y está muy vinculada a las condiciones en las que se produjo el aprendizaje. Una norma general es que requiere repetición y práctica durante un periodo de tiempo y se olvida con una mayor dificultad. Éste tipo de memoria no requiere del hipocampo, un ejemplo, conducir un automóvil.

En contraste, la memoria declarativa está formada por los recuerdos que, una vez almacenados, se pueden explicar (Casals et al., 2005). Se recuerda de forma deliberada y consciente, es muy flexible y requiere e implica la asociación o relación de informaciones diferentes. Depende principalmente de la formación hipocampal; aunque también participan otras regiones como la corteza cerebral (Soriano et al., 2007). Además, Tulving en 1972 la dividió en:

- **Memoria semántica:** está formada por todos aquellos conocimientos que tenemos del mundo en general. Todos estos conocimientos se adquieren en un contexto espacio-tiempo concreto, al igual que la memoria episódica, pero es difícil conocer cuándo y cómo memorizamos estos conocimientos (Casals et al., 2005).
- **Memoria episódica (autobiográfica):** es la responsable del recuerdo de nuestra vida, es un tipo de memoria que se asocia con un tiempo y un

espacio concreto. Su característica principal es que podemos, gracias a estímulos (internos o externos), reexperimentar las mismas sensaciones que se tuvieron cuando se produjo el acontecimiento original (Casalset al., 2005).

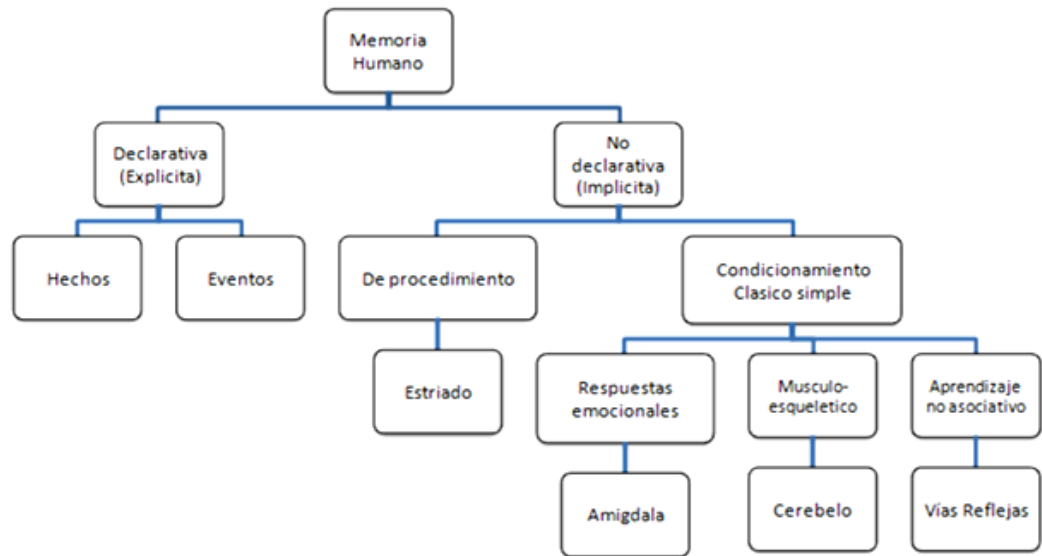


Fig 5. Subdivisiones de la memoria humana y regiones asociadas del cerebro. La memoria humana se divide típicamente en declarativa y no declarativa, también conocido como memoria explícita e implícita, respectivamente. (Modificado de Sweatt, 2010).

6. Memoria visuoespacial

La memoria visuoespacial es de tipo declarativa cuyo objetivo final es el almacenamiento de la representación espacio-perceptual de los lugares a los que se expone un animal, ésta es un ejemplo de un tipo de memoria dependiente del hipocampo en seres humanos y animales inferiores (Sweatt, 2010). Uno de los paradigmas utilizados en la evaluación de esta memoria en roedores es el laberinto circular de Barnes (Barnes, 1979).

Elchenbaum y Cohen proponen que la consolidación de las memorias declarativas se realiza en dos etapas (Soriano et al., 2007):

- **El primer estadio** implica interacciones entre el hipocampo y la región parahipocampal. Las neuronas parahipocampales reciben aferencias directas desde muchas áreas corticales, así éstas al recibir la información pueden codificar los estímulos o las configuraciones de estímulos para formar representaciones de acontecimientos. Dicha retroalimentación de esta estructura parece que proporciona el desarrollo de la secuencia o las características de la experiencia que son comunes entre diferentes episodios, es decir, el contexto. Una vez estas dos propiedades (secuencia y características comunes) han sido adquiridas por las neuronas parahipocampales, se considera que la memoria se ha consolidado allí en el sentido de que ya no se necesita la autorregulación del hipocampo.
- **El segundo estadio** de consolidación implica interacciones entre las áreas de asociación corticales y la región parahipocampal. En un inicio, las asociaciones corticales dependen de las entradas que la región parahipocampal envía a las áreas de asociación para informar los enlaces o relaciones entre las representaciones. Después, por medio de la activación de conexiones intracorticales, se acaba de completar la consolidación y el sistema hipocampal ya no es necesario. Podrían ocurrir durante las repeticiones de la experiencia de aprendizaje o durante los ensayos después de éste.

No se conoce con claridad cuánto dura la consolidación. Puede ser días o semanas, pero también meses o años; lo que parece depender de la naturaleza del material aprendido(Soriano et al., 2007).

Una de las teorías más importantes que guía la investigación en este campo es la hipótesis de O'keefe y Nadel, proponen que el hipocampo media el establecimiento de mapas cognitivos, es decir, la formación de una representación neuronal organizada del ambiente físico(Soriano et al., 2007).

La teoría de los mapas cognitivos está muy apoyada por el descubrimiento de las células del lugar en el hipocampo, neuronas que disparan sólo cuando la rata se encuentra en una localización de un espacio específico. Es como si construyera un mapa espacial delo que le rodea. Cuando entra en un nuevo ambiente, en minutos se "forman" nuevas células de lugar. El mapa al que constituyen estas células puede permanecer estable durante semanas(Soriano et al., 2007).

En 1971, John O'Keefe y John Dostrovsky descubrieron que el hipocampo puede formar una representación interna, como una especie de mapa del ambiente espacial. Existen pues, neuronas en el hipocampo que se activan cuando el animal se encuentra en una localización precisa en el espacio, se denominan células de lugar. De este modo, la actividad de las células del hipocampo parece indicar la localización en cada momento del animal en el espacio.

f) Formación hipocampal

La formación hipocampal es una región especializada del sistema límbico, localizada en el lóbulo temporal. Su estructura es sistemática: una sección de

cualquier parte perpendicular a su curvo eje longitudinal contiene los mismos circuitos (Carlson, 2005).

El hipocampo adecuadamente también es conocido anatómicamente como CornuAmmonis (Cuerno de Ammón). El CornuAmmonis (CA) lleva a cuatro subdivisiones anatómicas de esta estructura: CA1, CA2, CA3 y CA4 (Sweatt, 2010). Estas regiones tienen como una de sus principales características el tipo de células llamadas neuronas piramidales debido a su forma, aproximadamente del 90 % (Sweatt, 2010).

Los estímulos que son recibidos en las diversas áreas sensoriales corticales son canalizados al hipocampo a través de la corteza perirrinal y entorrinal, que son las áreas corticales localizadas en las inmediaciones anatómicas del hipocampo cerca de la fisura rinal en el lóbulo temporal, así las salidas de la corteza entorrinal y perirrinal proyectan al giro dentado y al hipocampo (a estas dos estructuras se les denominan conjuntamente como la formación hipocampal) (Sweatt, 2010).

En sí, las principales aferencias y eferencias neocorticales de la formación hipocampal se conducen a través de la corteza entorrinal. Las neuronas de ésta transmiten la información aferente a las células granulosas de la circunvolución dentada mediante un haz de axones llamado vía perforante. Estas neuronas envían luego axones al campo CA3 del hipocampo y las terminales de las fibras procedentes de la circunvolución dentada establecen sinapsis con espinas dendríticas de las células piramidales del campo CA3 (Carlson, 2005).

Los axones de las células piramidales de CA3 se ramifican en dos direcciones. Una de ellas termina en el campo CA1 adyacente, donde forma sinapsis con las espinas dendríticas de otras células piramidales. La otra rama viaja a través del trigono cerebral hacia estructuras del prosencéfalo basal, entre ellas el área septal y los cuerpos mamilares. Otro sistema de axones conecta las células piramidales de CA1 de un hemisferio cerebral con las correspondientes de otro. Las células piramidales de CA1 constituyen la principal fuente de eferencias del hipocampo: envían axones a neuronas del complejo subicular, cuyos axones proyectan a su vez desde la formación hipocampal a la corteza entorrinal (Carlson, 2005). Véase Fig 6.

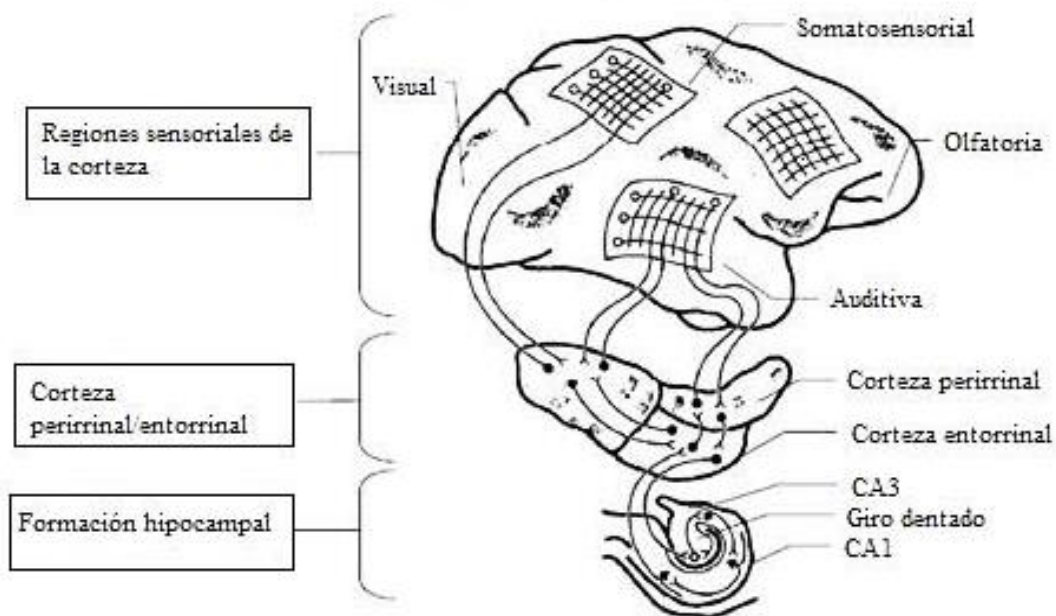


Fig 6. Conectividad hipocampal en el SNC. Ilustración de la vía sensorial de la corteza sensorial a través de la corteza entorrinal y perirrinal a la formación hipocampal. Adaptada de Squire y Zola-Morgan Copyright American Association for the Advancement of Science (Modificada de Sweatt, 2010).

La intervención del hipocampo es fundamental debido a la enorme plasticidad que poseen sus circuitos internos. Gracias a ellos puede modificar continuamente sus propias sinapsis y establecer los nexos necesarios para integrar recuerdos dispersos a lo largo y ancho de la corteza cerebral. Cuando una experiencia es evocada en forma repetitiva, estimula la sinapsis entre el hipocampo y la corteza, para generar una serie de señales entre las neuronas que promueven el fortalecimiento de tales uniones (Varela et al., 2005).

g) Bases moleculares de la memoria

Los esfuerzos encaminados a descubrir el sustrato molecular de la memoria fue con la publicación del doctor Donald Hebb: *la Organización del comportamiento*. Postulando que las sinapsis no eran estáticas sino que existían mecanismos por medio de los cuales eran fortalecidas, éstas fueron las bases de la teoría moderna de la plasticidad cerebral (revisado en Varela et al., 2005).

Varios estudios en los últimos años han permitido concluir que la memoria es almacenada en las sinapsis y para formar nuevos recuerdos es necesario modificar las existentes, incrementando su eficacia. De esta forma, han sido identificadas la potenciación a corto plazo que consiste en modificaciones de la sinapsis que duran minutos y la potenciación a largo plazo con duración de horas, días o años. Esta última se divide en fase temprana y otra tardía (Varela et al., 2005).

La fase temprana de la potenciación a largo plazo dura máximo tres horas y es capaz de mantener recuerdos por cortos periodos, pero no implica cambios

estructurales importantes en la sinapsis. Por el contrario, la fase tardía implica la síntesis activa de proteínas que van a transformar de manera permanente la arquitectura sináptica y comienza aproximadamente al cabo de ocho horas (Varela et al., 2005).

La potenciación a largo plazo no asociativa requiere algún tipo de efecto aditivo. Esto es, a nivel experimental, aplicar una serie de pulsos eléctricos a una alta frecuencia (40-60Hz) en una sola ráfaga producirá potenciación a largo plazo, pero no así la misma cantidad de pulsos administrados a baja frecuencia. Ahora se conoce la razón de este fenómeno. Un ritmo rápido de estimulación hace que los potenciales excitatorios postsinápticos (PEPs) se sumen porque cada uno de los sucesivos PEPs ocurre antes de que el anterior se haya extinguido. Esto significa que la estimulación rápida despolariza la membrana postsináptica mucho más que la lenta (Carlson, 2005).

Así, la potenciación a largo plazo requiere dos sucesos: activación de la sinapsis y despolarización de la neurona postsináptica (Carlson, 2005).

En el caso de la memoria el principal mediador es el glutamato, que interactúa con varios tipos de moléculas localizadas en la membrana celular, al ser el más importante en los procesos de plasticidad cerebral, el receptor NMDA (Varela et al., 2005).

h) Papel de los receptores NMDA

El receptor NMDA (Fig 7), desempeña una función primordial en la potenciación a largo plazo. Este receptor tiene algunas propiedades poco frecuentes. Se

encuentra en la formación hipocampal. Recibe su nombre a la molécula que lo activa específicamente: N-metil-D-aspartato. El receptor NMDA controla un canal iónico de calcio. Sin embargo, este canal generalmente está bloqueado por un ión de magnesio (Mg_2), el cual impide que los iones de calcio penetren en la célula incluso cuando el receptor es estimulado por glutamato. Pero si la membrana postsináptica esta despolarizada, el Mg^{2+} es expulsado del canal iónico y éste deja paso libre a los iones de Ca^{2+} . Así, estos últimos entran en la célula a través de canales controlados por receptores NMDA sólo cuando el glutamato está presente y la membrana postsináptica está despolarizada. Lo que significa que el canal iónico controlado por el receptor NMDA es un canal iónico controlado por neurotransmisor y por voltaje (Carlson, 2005).

La prueba más sólida que implica a los recetores NMDA en la potenciación a largo plazo procede de la investigación con fármacos que bloquean los receptores NMDA, como hace el AP5 (2-amino-5-fosfonopentanoato). Este compuesto impide que se establezca la potenciación a largo plazo en el campo CA1 y en la circunvolución dentada (Carlson, 2005).

Los biólogos celulares han descubierto que muchas células se sirven de los iones de calcio como segundos mensajeros. La entrada de iones de calcio a través de canales iónicos controlados por receptores NMDA es una etapa esencial de la potenciación a largo plazo (Carlson, 2005).

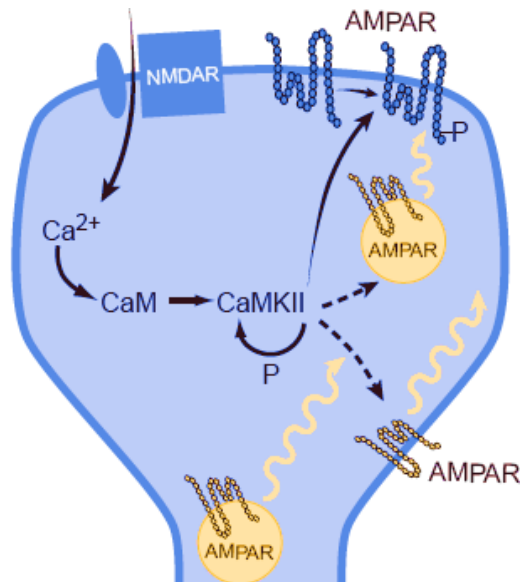


Fig 7.Receptor NMDA. Mecanismo molecular que subyace a la potenciación a largo plazo (modificada de Malenka, 1999).

i) Mecanismos moleculares que subyacen a la potenciación a largo plazo

A pesar de que la potenciación a largo plazo se descubrió hace más de 30 años, su base molecular no se comprendió bien hasta hace poco. Un adelanto clave en este esfuerzo se produjo a mediados de la década de 1980, cuando se descubrió que los antagonistas del tipo de receptor de glutamato NMDA prevenían la potenciación a largo plazo, pero no tenían efecto alguno sobre la respuesta sináptica evocada por la estimulación de baja frecuencia de las colaterales de Schaffer. Casi al mismo tiempo se observaron por primera vez las propiedades biofísicas singulares del receptor NMDA, como ya se describió, estos receptores son permeables a Ca^{2+} , pero se bloquea por las concentraciones fisiológicas de Mg^{2+} . Esta propiedad proporciona un conocimiento crítico sobre el modo de inducción de la potenciación a largo plazo. Así, durante la transmisión sináptica de

baja frecuencia, el glutamato liberado por las colaterales de Schaffer se une a receptores de glutamato tipos NMDA y AMPA/kainato. Aunque ambos tipos de receptores se unen al glutamato, si la neurona postsináptica se encuentra en su potencial de membrana en reposo normal, los canales NMDA serán bloqueados por iones Mg^{2+} y no fluirá corriente alguna. Dado que el bloqueo del canal de NMDA por el Mg^{2+} es dependiente del voltaje, la función de la sinapsis cambia mucho cuando se despolariza la célula postsináptica. Por lo tanto, las condiciones que inducen a la LTP, como la estimulación a alta frecuencia producen una despolarización prolongada que conduce a que el Mg^{2+} se expulse del canal de NMDA. La eliminación del Mg^{2+} permite que el Ca^{2+} ingrese en la neurona postsináptica, y el aumento resultante de en la concentración de Ca^{2+} en el interior de las espinas dendríticas de la célula postsináptica desencadena la LTP(Purves et al, 2008).

Varios tipos de observaciones permitieron confirmar que una elevación en las concentraciones de Ca^{2+} en la neurona CA1 postsináptica, debido a iones de Ca^{2+} que ingresan a través de los receptores NMDA, sirve como señal de segundo mensajero que induce LTP. Se da al activar cascadas de transducción de señales entre las que se incluyen proteincinasas en la neurona postsináptica: la proteincinasa Ca^{2+} /dependiente de calmodulina (CAMKII) y la proteincinasa C (PKC). Éstas fosforilan los receptores AMPA y aumenta su sensibilidad al glutamato, activando de este modo algunos canales receptores de otro modo silentes. Estas alteraciones hacen una contribución postsináptica en la expresión y mantenimiento de la LTP. Así vemos como el mantenimiento de la LTP se debe a

los receptores AMPA, mientras que la inducción depende en los receptores NMDA (Purves et al, 2008).

Posteriormente, la célula presináptica ha de ser informada que se ha inducido la LTP. Se ha postulado que un segundo mensajero activado por el Ca^{2+} como el óxido nítrico (NO), el cual es un gas fácilmente difundible de una célula a otra, pudiera ser el mensajero retrógrado involucrado en la LTP (Ortega y Franco, 2010).

Al igual que el almacenamiento de la memoria la LTP tiene dos fases (Ortega y Franco, 2010):

1. LTP temprana o LTP precoz que dura de 1 a 3 horas. No requiere síntesis de nuevas proteínas.
2. LTP tardía que dura más de 4 horas. Requiere síntesis de nuevas proteínas y ARN.

Esta fase tardía recluta la vía de transmisión de señales del AMPc-PKA-MAPK-CREB, la cual activa la expresión de un número de genes implicados en la activación persistente de PKA, y en el crecimiento de nuevas zonas de sinapsis (Ortega y Franco, 2010).

IV. Planteamiento del problema

La insulina y los receptores de ésta que se encuentran en el cerebro no parecen tener un efecto directo sobre el metabolismo de la glucosa neuronal, sin embargo, juegan un papel modulador a través de la activación de cascadas específicas de transducción de señales en la actividad sináptica involucrada en la memoria y el aprendizaje (Schubert et al., 2004).

Ho y colaboradores en el 2004, indujeron un modelo de resistencia a la insulina en el cual mostraron que esta alteración se asociaba con una disminución de la enzima encargada de degradar a la insulina en el cerebro (IDE) lo que se correlacionaba con un aumento en la producción β -amiloide (β A). De esta manera, se mostró que altas concentraciones de insulina en sangre (hiperinsulinemia) disminuye la eliminación de β A al promover la producción de placas amiloideas, una de las características principales de la enfermedad de Alzheimer (Heras-Sandoval y Arias, 2009).

En contraste, en el 2010, en un modelo de ratas a las cuales se les suministró por vía intracerebroventricular insulina justo antes de la consolidación del aprendizaje observaron que resultaba benéfica; sin embargo, cuando ésta se suministraba después de 23 horas, la memoria disminuía (McNay et al., 2010).

También, se mostró como la vía de señalización principal de la insulina (PI3K) influye en la actividad de los receptores NMDA, uno de los componentes indispensables para los procesos de LTP, que se considera el evento molecular

que subyace al establecimiento de la memoria y el aprendizaje (Costello et al., 2012).

Sin embargo, no se ha estudiado cuáles son los cambios en la memoria y aprendizaje al encontrar presente la hiperinsulinemia dentro de un cuadro de síndrome metabólico. Debido a que la mayoría de los estudios reportados se han realizado en modelos de Alzheimer o casos clínicos de personas en las que ya se ha instalado DM2 y además considerando la edad de los participantes (avanzada), pueden ser una variables importantes que influyan en el deterioro de la memoria (Zhong et al., 2012).

El presente trabajo buscó conocer cuáles son los cambios en la memoria visuoespacial de ratas Wistar en las cuales se instaló el SM por medio de un modelo estandarizado (Martínez, 2011) y considerado a la hiperinsulinemia como una variable de comparación.

¿La hiperinsulinemia como parte de un modelo de SM causa cambios en la memoria visuoespacial?

V. Justificación

Un número creciente de personas cursan con síndrome metabólico, entre el 36-46% de adultos solo en la ciudad de México y un alto porcentaje de éstas cursan además con hiperinsulinemia. Además, el 83 % de las personas que fueron diagnosticadas con SM (González et al., 2008) presentaron alteraciones de la memoria visuoespacial (Segura y Jurado, 2009). Por lo tanto, es importante

conocer si la hiperinsulinemia dentro de un cuadro de SM tiene un efecto sobre el tipo de memoria ya mencionada.

VI. Objetivos

General

- En un modelo de síndrome metabólico, mostrar si la hiperinsulinemia está relacionada con cambios en la memoria visuoespacial.

Particulares

- Inducir un modelo de SM por dieta alta en sacarosa.
- Determinar los niveles de insulina en ratas con síndrome metabólico.
- Caracterizar el efecto que tiene el SM sobre la memoria visuoespacial.

VII. Hipótesis

H1: la hiperinsulinemia presente en un modelo de SM está relacionada con alteraciones en memoria visuoespacial.

H0: la hiperinsulinemia presente en un modelo de SM no está relacionada con alteraciones en memoria visuoespacial.

VIII. Metodología

a. Sujetos

Se utilizaron 24 ratas Wistar macho de ocho semanas de edad aproximadamente, las cuáles fueron proporcionadas por el bioterio de la Facultad de Medicina de la UNAM. Así mismo, se trasladaron a la torre de Investigación en el laboratorio de Biofísica de membranas y células troncales ubicado en el quinto piso de la Facultad antes mencionada. Los animales fueron tratados de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana para el Uso, Cuidado y Reproducción de animales de laboratorio (NOM-062-ZOO-1999).

Las ratas se mantuvieron en parejas por cada caja bajo condiciones de humedad y temperatura ambiente (variabilidad 21-23°C), con ciclos luz-oscuridad 12/12 h.

Se proporcionaron dos tipos de dieta, según fue el caso.

La dieta del grupo control fue compuesta por alimento estándar chow en pellet y agua *ad libitum*. Por otro lado, a los dos grupos experimentales se le suministró una dieta alta en sacarosa, compuesta por alimento estándar y sacarosa al 20% (p/v) en el agua *ad libitum*, sin embargo éste fue separado en dos grupos debido a que el 50% de los roedores presentaron hiperinsulinemia.

Grupos:

- **Grupo control:** 8 ratas Wistar macho con ciclo de luz-oscuridad 12:12 h y libre acceso a comida y agua.

- **Grupo con SM sin hiperinsulinemia:** 8 ratas Wistar macho con 11 semanas de dieta alta en carbohidratos (glucosa). Se comprobó que los roedores tuvieron instalado el síndrome metabólico, al mostrar que son positivos en tres parámetros: intolerancia a la glucosa, triglicéridos elevados e hipertensión arterial. Sin embargo, uno de los criterios de exclusión fue la hiperinsulinemia.
- **Grupo con SM con hiperinsulinemia:** 8 ratas Wistar macho de 19 semanas de edad, con 11 semanas de dieta alta en sacarosa. Se comprobó que los roedores desarrollaron el síndrome metabólico, al demostrar que son positivos en tres parámetros: intolerancia a la glucosa, triglicéridos elevados e hipertensión arterial. Fue indispensable que las ratas presentaran hiperinsulinemia para ser parte de este grupo.

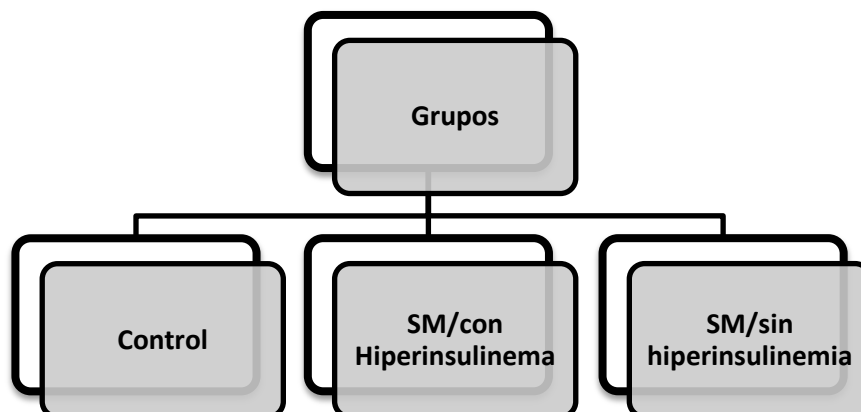


Fig 8. Resumen de los grupos utilizados.

b. Medición de ingesta

Se realizó la cuantificación diaria del consumo de comida sólida y agua en cada uno de los pares de ratas (grupo control y grupo experimental). Como ya se mencionó, el agua de los grupos experimentales contenía un 20% de sacarosa.

c. Peso

Desde el inicio del tratamiento hasta el final, cada semana se pesaron a los roedores, controles y experimentales, para posteriormente conocer el cambio de peso por semana.

d. Prueba de tolerancia a la glucosa intraperitoneal (PTGI)

Esta prueba se realizó en cada uno de los grupos de ratas, tanto control como experimentales, previo a éste se mantuvieron en ayuno durante 16 horas. Para ello, se retiró el alimento y la solución de sacarosa se cambió por agua natural en los grupos experimentales. A estos roedores, se les tomó una muestra de sangre para conocer sus niveles de glucosa basales, inmediatamente, se les suministró glucosa (2 g de glucosa /kg) por inyección intraperitoneal. Posteriormente se tomaron muestras de sangre de la cola, a los 10, 20, 30, 60 y 120 minutos después de la administración (Larqué et al., 2011). Los valores de glucosa en sangre se obtuvieron mediante un glucómetro que utiliza tiras reactivas de la marca Keynote (Fig 9).



Fig 9. Prueba de tolerancia a la glucosa intraperitoneal (PTGI).

e. Medición de presión arterial

Se utilizó el instrumento CODA, un sistema de alto rendimiento no invasivo, para medir la presión arterial en ratas, mediante la determinación del volumen de sangre en la cola. Se midieron diferentes parámetros: presión arterial (sistólica y diastólica), frecuencia cardíaca, el flujo y el volumen sanguíneo en la cola de la rata.

Esta medición se realizó en el grupo control y los grupos experimentales. Las mediciones se realizaron en un área con temperatura ambiente igual o superior a 23 °C, lejos de ruidos fuertes para que el roedor se estresara lo menos posible. Después, se colocó a la rata en el soporte y se colocó el tubo del mango en la cola de la rata (Fig 10). Inicialmente se hizo la habituación de cada rata durante 6 días consecutivos que constaron de 15 minutos cada uno y la medición se efectuó el séptimo día.

Al termino de los ciclos, se utilizó elSoftware CODA, los datos fueron recopilados para el análisis posterior(Daugherty, 2009).



Fig 10. Medición de la presión arterial con CODA (un sistema de alto rendimiento para medir la presión arterial en ratas).

f. Composición corporal

El roedor fue anestesiado con pentobarbital sódico (0.50 gr/kg de peso) para llevar a cabo el siguiente procedimiento:

El animal se colocó en posición prono-ventral en una superficie de plástico no conductor, se tomó en cuenta que los miembros superiores e inferiores se encontraran en un ángulo de 90° con respecto al cuerpo y su cola totalmente extendida a lo largo de la línea media (Ward y Battersby, 2009).

Se necesitaron cuatro electrodos (aguja de acero) que se insertaron por vía subcutánea 5 mm de profundidad, dos de estos electrodos distales para formar el circuito de excitación localizados sobre la línea media en el borde posterior

occipital y los pabellones auriculares, y los otros dos sobre la línea media a la altura del sacro y de la cola, que son los encargados de formar el circuito de medición (Ward y Battersby, 2009).

Después de que los electrodos estuvieron correctamente colocados (Fig 11), por medio del sistema de Medición de composición corporal por impedancia el cual es un instrumento que utiliza el principio de impedancia (descripción de las propiedades eléctricas pasivas de materiales biológicos de eventos fisiológicos), se inyecta una corriente no mayor de 800 μA a una frecuencia de 5 kHz y 50 KHz para la excitación del tejido de la rata.

Por medio de este método se pudo conocer los valores de: de agua total, la masa libre de grasa (masa magra), la masa de grasa y el agua extracelular.

El tiempo que transcurrió en la medición fue de aproximadamente 20 segundos.

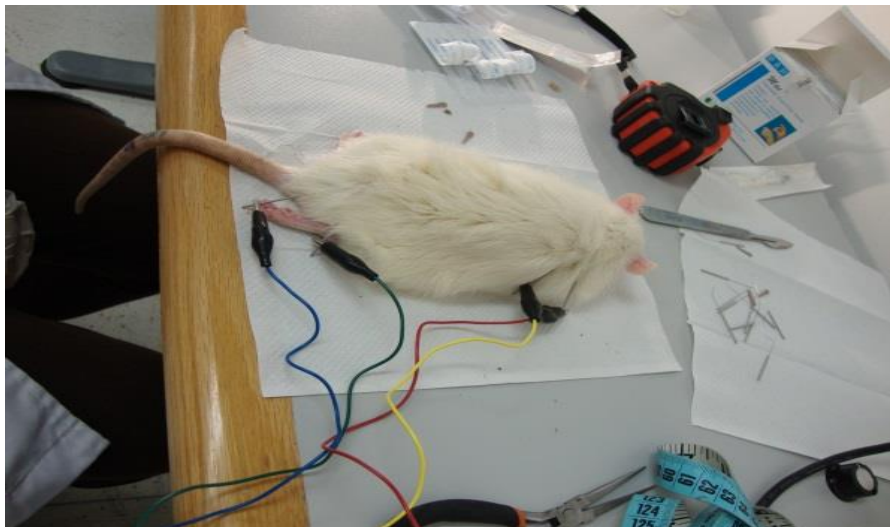


Fig 11. Colocación de los electrodos para la medición de composición corporal. El electrodo de excitación (rojo) fue colocado en la intercepción imaginaria de la línea que va de una oreja a otra con la línea que de la punta de la nariz hacia la base de la cola. El electrodo de medición (amarillo) fue colocado a una distancia de 1 cm con respecto al electrodo rojo distalmente de la cabeza. El electrodo de excitación (azul) se colocó en la intercepción imaginaria de la línea que viene de la nariz a la cola con la intercepción que hacen los músculos de las extremidades inferiores. Por último, el electrodo de medición (verde) se colocó a 1 cm de distancia del electrodo azul distalmente de la cola.

En seguida de la medición de composición corporal por impedancia se midieron los siguientes parámetros:

Peso: por medio de una báscula, se pesó a cada una de los roedores. **Circunferencia Abdominal:** se obtuvo al medir el diámetro de la región abdominal por encima de la cresta ilíaca.

Longitud corporal: se midió la longitud del animal de la punta de la nariz al ano.

g. Triglicéridos

Para la medición de este parámetro no fue necesario someter a los roedores a ningún tipo de ayuno y anestesia, la toma de sangre para esta prueba se realizó a las 12 del día aproximadamente.

Se realizó un corte en la cola de cada rata para la extracción de sangre, ésta fue colocada en el instrumento de la marca *Accutrend Plus* para la medición cuantitativa de triglicéridos con el cual se realizó un cálculo fotométrico de la reflectancia con tiras reactivas específicas (de la marca *Accutrend Plus*) para triglicéridos.

h. Pruebas de insulina

La extracción de la sangre fue de la vena cava superior y se realizó aproximadamente una semana después del protocolo de laberinto de Barnes ya que se tenía que sacrificar a la rata para la realización de este procedimiento:

- 1) Los roedores (controles y experimentales) previamente fueron sometidos a un ayuno de 12 horas en el cual se les retiró el alimento y se les mantuvo con agua *ad libitum*. Posteriormente, se les suministró pentobarbital sódico (0.50 mg/kg de peso) en dosis única para la extracción de la sangre de la vena cava superior.
- 2) Se colectó de 3-4 ml de sangre y se colocó en tubos Vacutainer heparinizados de 6 ml.
- 3) La sangre fue centrifugada a 2000 rpm durante 15 minutos para obtener el plasma. Éste fue guardado inmediatamente en tubos Eppendorf aproximadamente a -20 °C.

Se utilizó el Kit ELISA de la marca ALPCO, es una técnica de inmunoensayo para la medición cuantitativa de insulina en rata (en este caso fue en plasma), el cual se usa para la cuantificación no radiactiva de esta hormona. Cabe aclarar que este método solo se puede utilizar en investigación y no en el diagnóstico en pacientes. Puede medir 39 muestras en duplicado (Fig 12).

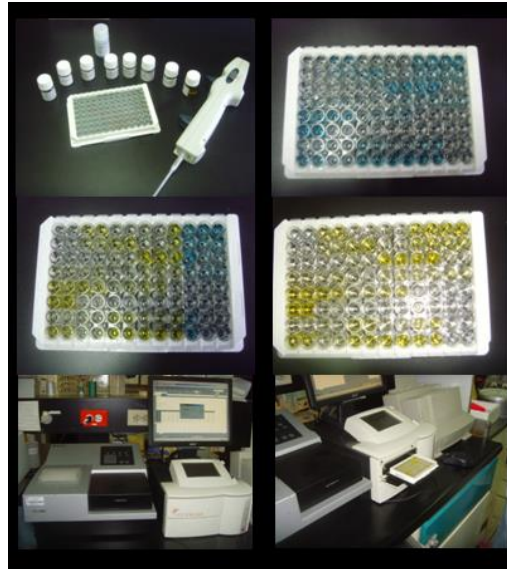


Fig 12. Utilización del Kit ELISA de la marca ALPCO para la medición cuantitativa de insulina en rata.

El procedimiento se llevó a cabo conforme se describe en el manual adjunto del kit (ALPCO, 2012). Véase la Fig13.

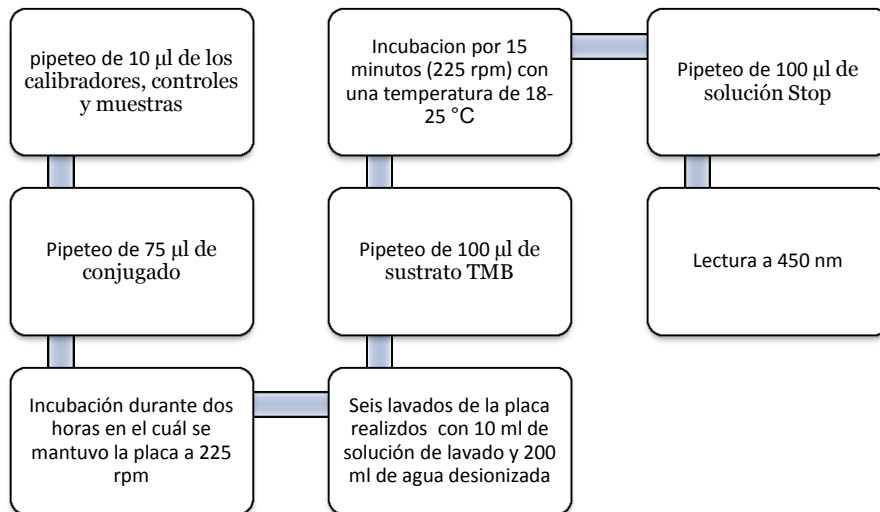


Fig 13. Protocolo breve que se utilizó el Kit ELISA de la marca ALPCO para la medición cuantitativa de insulina en rata (Modificado de ALPCO, 2012).

Para el cálculo de resultados, se realizó una curva a partir de los calibradores (la concentración de insulina que se conoce generalmente). El estándar cero fue usado como un blanco con su valor medio restado de cada pocillo y con ayuda de

un programa de software (Excel) se calculó la curva patrón y la determinación de la concentración de las muestras.

i. Laberinto de Barnes

El laberinto de Barnes es una prueba diseñada por Carol Barnes en 1979 para la evaluación de la memoria y el aprendizaje visuoespacial, originalmente planteada para su uso en ratas y más tarde fue adaptado para su uso en ratones (O'Leary y Brown, 2012).

Las ventajas que se tiene al utilizar este laberinto sobre otros son dos principalmente; la primera, es que no es necesaria la privación de agua o comida para motivar al roedor para la realización de la tarea, como lo hace el laberinto radial de ocho brazos (Barnes, 1998); y la segunda, el estrés es menor ya que exige un desgaste físico mínimo, además de que no interviene la reducción de temperatura como en el caso del laberinto de Morris.

1. Configuración de la sala

En una habitación de paredes totalmente blancas se colocaron dos señales visuales (dos figuras de color negro, un cuadrado y una cruz) y se hizo la configuración para la colocación del laberinto de Barnes (Fig 14).

El laberinto constó de una plataforma circular de 122 cm de diámetro, con 18 agujeros, con un diámetro de 9 cm cada uno, espaciados uniformemente en la periferia. Este laberinto tuvo 120 cm de altura y fue totalmente de color blanco mate.

Por otra parte, la caja de escape contó con 30x12x8 cm en sus dimensiones, la cual se colocó en el agujero que se haya seleccionado

previamente; y el cilindro con un diámetro de 25 cm, fue colocado justo en el centro del laberinto y se levantó en los ensayos con ayuda de una polea; estos dos instrumentos fueron pintados de color negro mate para el mejor rendimiento en la tarea (Modificado de Harrison et al., 2006).

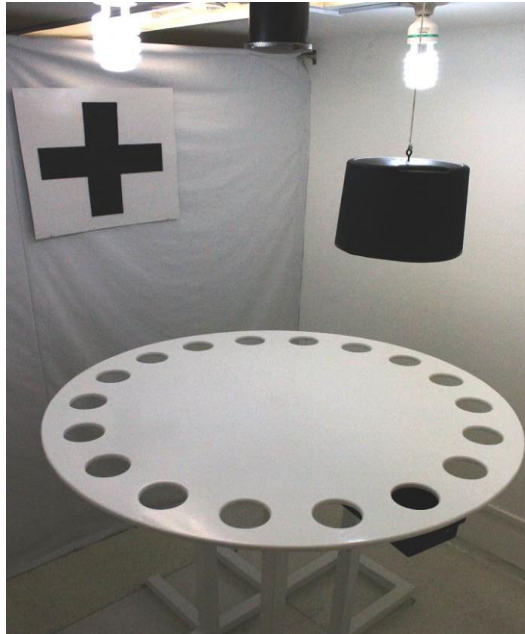


Fig 14. Laberinto de Barnes y configuración de la sala.

Se utilizaron lámparas de luz blanca (350 W) y un ruido blanco de 90 dB como estímulos reforzadores y no como aversivos para la realización de la tarea.

El procedimiento que se describe a continuación fue tomado de Sunyer (2011), el cual fue estandarizado para la evaluación de la memoria y el aprendizaje espacial en roedores (Tabla 4).

La ubicación de la caja de escape se colocó bajo un agujero específico para cada una de las ratas, el cual fue el mismo durante las fases de habituación,

aprendizaje y las evaluaciones de memoria. La caja de escape solo se cambió de lugar cuando se realizó la fase de reversión.

El protocolo consta de varias fases:

- Periodo de adaptación (habituaación)
- Adquisición de aprendizaje visuoespacial
- Primera evaluación de la memoria a largo plazo (al día siguiente de la etapa de aprendizaje)
- Segunda evaluación de la memoria a largo plazo (después de 5 días de reposo)
- Periodo de reversión

Se tomaron en cuenta en cada una de las fases (excepto en habituaación) cuatro medidas básicas del aprendizaje y la memoria visuoespacial (O'Leary, 2012):

- **Latencia primaria:** el tiempo que transcurrió desde que se retiró el cilindro hasta que la rata se asomó por primera vez al agujero donde se encontraba la caja de escape.
- **Latencia total:** el tiempo que pasó desde que se levantó el cilindro hasta que el roedor entro a la caja de escape y permaneció 10 segundos en ésta, sin asomarse.
- **Errores primarios:** el número de veces que la rata se asoma a un agujero en el que no se encuentre la caja de escape. Desde que se

levanta el cilindro hasta que se asoma por primera vez al agujero correcto.

- **Errores totales:** cada vez que la rata se asomó a un agujero incorrecto. Desde que se levantó el cilindro hasta que el roedor permaneció 10 segundos dentro de la caja de escape.

Protocolo

2. Periodo de adaptación (habitución)

En esta primera etapa del protocolo fue necesario colocar a cada rata 10 segundos dentro de un cilindro; el cuál fue ubicado en el centro del laberinto. Después de que los 10 segundos transcurrieron, se levantó el cilindro, la rata exploró por un tiempo breve el laberinto; se guió al roedor hacia la caja de escape. Si la instrucción no funcionó, se introdujo directamente a la rata en la caja de escape.

El ruido blanco se mantuvo encendido desde el inicio al término del ensayo. En el momento en el que la rata entre a la caja de escape (cualquier forma antes mencionada) el ruido se eliminó. La rata debe de permanecer dentro de la caja por dos minutos aproximadamente.

Antes y después de cada ensayo, el laberinto se limpió con una solución de alcohol al 10% de concentración para evitar señales olfativas. Además, la plataforma se rotó 180° sobre su propio eje después de cada ensayo con la finalidad de no dejar ningún residuo que pudiera guiar al animal a la caja de escape.

3. *Adquisición del aprendizaje visuoespacial*

Al día siguiente de la habituación comenzó la fase de aprendizaje espacial.

Al inicio de cada ensayo y al término de éste, el laberinto y la caja de escape fueron limpiados con alcohol al 10% con el fin de eliminar cualquier señal olfativa.

Como se hizo al inicio de la habituación, cada rata fue colocada dentro del cilindro y sucesivamente se ubicó en el centro del laberinto de Barnes.

Transcurridos diez segundos en éste, se levantó con la ayuda de una polea y al mismo tiempo fue activado el ruido blanco.

El ensayo se dio por terminado de dos formas distintas: en el momento en el que la rata encontró la caja de escape y perduró 10 segundos dentro de ella para evitar el ruido blanco y la luz; y la segunda posibilidad de que el ensayo se dio por terminado es cuando el roedor exploró sobre el laberinto cuatro minutos sin que obtuviera éxito en la tarea; si lo anterior sucedió, el experimentador entró a la sala, tomó a la rata y la introdujo en la caja de escape dejando transcurrir 10 segundos.

El método anterior se repitió cada 15 minutos hasta completar 4 ensayos diarios por cuatro días consecutivos. Se giró la plataforma después de cada ensayo de manera azarosa con objeto de que la caja no se colocará en el mismo agujero.

4. *Primera evaluación de la memoria a largo plazo (al día siguiente de la etapa de aprendizaje)*

Al día siguiente de la etapa de adquisición espacial, los roedores fueron sometidos al mismo procedimiento, sin embargo, en esta etapa la caja se

retiró y solo se contabilizó durante 90 segundos, el número de veces que la rata asomó su cabeza al agujero de escape que le corresponde, o bien, dos agujeros a la izquierda y derecha de éste; con objeto de evaluar la memoria a largo plazo.

5. Segunda evaluación de la memoria a largo plazo (después de 5 días de reposo)

Después de cinco días de reposo, se evaluó la memoria a largo plazo de la misma forma como se calificó anteriormente la memoria a corto plazo.

6. Periodo de reversión

Se realizó el mismo proceso de adquisición visuoespacial, sin embargo, el lugar en el que se colocó la caja de escape fue invertido 180° del sitio que se encontraba anteriormente.

Esta etapa se realizó con la finalidad de mostrar que los roedores ocuparon las señales visuoespaciales como una guía para encontrar su agujero de escape y, al mismo tiempo, para demostrar que el laberinto de Barnes es una prueba válida para el aprendizaje y la memoria visuoespacial (O'Leary, 2012).

Tabla 4. Protocolo de laberinto de Barnes para la evaluación de la memoria y aprendizaje visuoespacial.

Día	Procesos
1	Habitación
2-5	Aprendizaje (Fase de entrenamiento)
6	Ensayo de evaluación de la Memoria visuoespacial después de 24 horas (90 s)
7-11	Periodo de Reposo (Sin Intervención Experimental)
12	Evaluación de la Memoria después de 5 días de reposo (90 s)
13 – 17	Periodo de reversión (invirtiendo posición 180°)

IX. Análisis estadístico

Para el análisis experimental se utilizó ANOVA de un factor y ANOVA mixto que permitió hacer una comparación entre los diferentes grupos. Posteriormente, se realizó una prueba *post hoc*, la prueba de Tukey, la cual midió la diferencia de los valores de las medias en los tres grupos que se han descrito con anterioridad en términos de la varianza intragrupal. Se utilizó un nivel de significancia menor a 0.05.

X. Resultados

Con la finalidad de conocer si existen alteraciones en los niveles de insulina debido a la dieta hipercalórica se utilizó El KIT ELISA de la marca ALPCO.

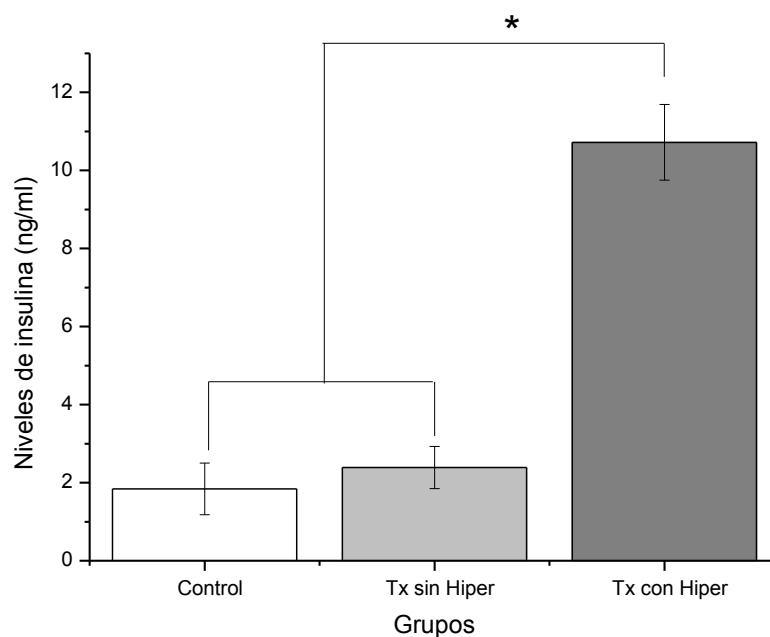


Fig 1. Niveles de insulina en plasma. Se graficó el promedio de cada uno de los grupos \pm ES, $n=8$ para cada grupo. Se analizó con ANOVA de un factor y prueba *pos hoc* HDS Tukey $p < 0.01$ (*).

El grupo que estuvo sometido a una dieta alta en sacarosa(Tx) fue dividido en dos subgrupos: uno que presentó niveles altos de insulina ($F_{(2, 21)} = 44.46$; $p < 0.01$) y el otro con niveles similares al grupo control. Sin embargo, los dos grupos mantuvieron la misma dieta alta en sacarosa (Fig 1) que diversos estudios han mostrado que lleva al desarrollo de hiperinsulinemia en ratas jóvenes normales (Wright, 1983).

Se buscó conocer si el grupo que no presentó altos niveles de insulina en plasma (Tx sin hiperinsulinemia) tuvo un menor consumo de sacarosa en el tiempo de tratamiento.

El consumo de sacarosa se registró por cada pareja de rata a lo largo de aproximadamente 11 semanas, éste ayudó a tener el registro del consumo de los grupos a lo largo del tratamiento. Al buscar si existía alguna diferencia en el consumo de sacarosa por la cual algunos animales desarrollaron hiperinsulinemia y otros no, se realizó la cuantificación de consumo de sacarosa en los tres grupos, fue necesario dividir en dos el consumo de agua en cada pareja para realizar un estimado de éste en los dos grupos experimentales que se formaron previamente. Los resultados fueron los siguientes.

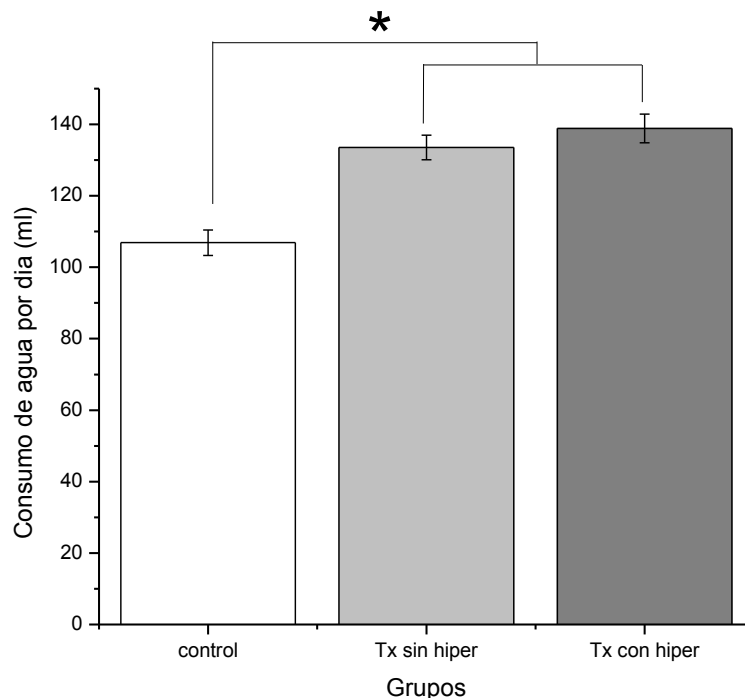


Fig 2. Consumo de agua por día. Se graficó el promedio de consumo de sacarosa a lo largo de 11 semanas de cada uno de los grupos \pm ES n=8. Se analizó con ANOVA de un factor y prueba *pos hoc* HDS Tukey $p < 0.01$ (*)

La Fig 2 muestra el promedio de consumo de agua al día a lo largo de 11 semanas, en donde los grupos tratados consumieron mayor cantidad con respecto al grupo control ($F_{(2,9)} = 33.40$; $p < 0.01$); en contraste, los dos grupos con de agua con sacarosa no mostraron diferencias significativas.

Este resultado descartó que diferencias en el consumo de agua con sacarosa influya en el desarrollo de hiperinsulinemia o no. Lo que llevó a preguntarnos si la diferencia entre los niveles de insulina en estos grupos se debió al consumo de alimento. Para ello se contabilizó los gramos de alimento sólido consumido al día a lo largo de 11 semanas, fue necesario dividir en dos el consumo de comida en cada pareja para realizar un estimado de éste en los dos grupos experimentales que se formaron por las diferencias que existieron en sus niveles de insulina.

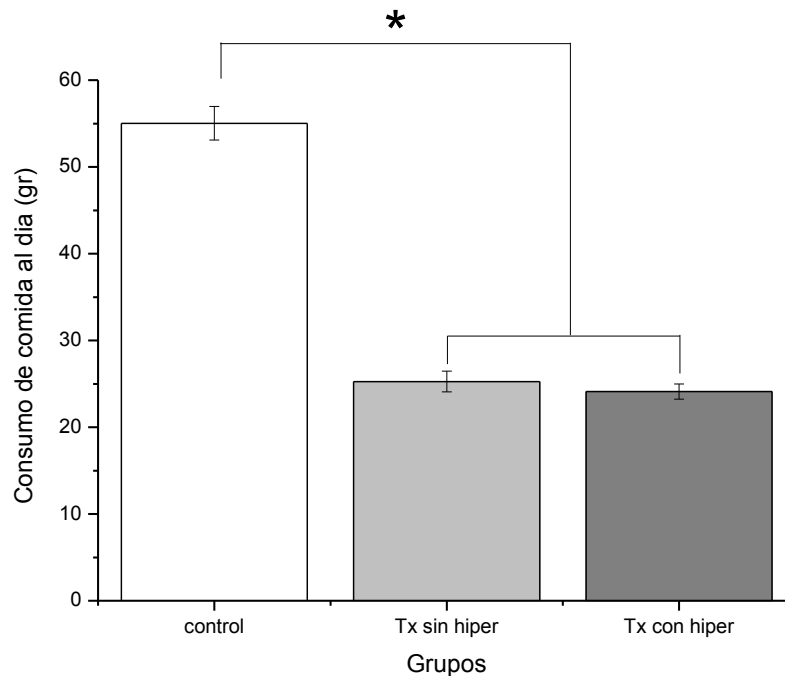


Fig 3. Consumo de alimento por día. Se graficó el promedio de consumo de alimento a lo largo de 11 semanas de cada uno de los grupos \pm ES n=8. Se analizó con ANOVA de un factor y prueba *pos hoc* HDS Tukey $p < 0.0001$ (*)

Los dos grupos tratados tuvieron un consumo significativamente menor con respecto al grupo control ($F_{(2,9)} = 459.08$; $p < 0.0001$) a lo largo de las 11 semanas de tratamiento, no obstante, los dos grupos con una dieta alta en sacarosa no mostraron una diferencia significativa, lo que descartó como variable el consumo de alimento para desarrollar o no la hiperinsulinemia (Fig 3).

Por otra parte, el consumo menor de alimento en los grupos tratados con una dieta alta en sacarosa puede deberse a que las ratas, en especial Wistar, pueden regular durante un largo periodo de tiempo su ingesta calórica al disminuir su consumo de comida debido a las calorías adicionales que se obtienen a partir del agua con azúcar (Avena, 2010).

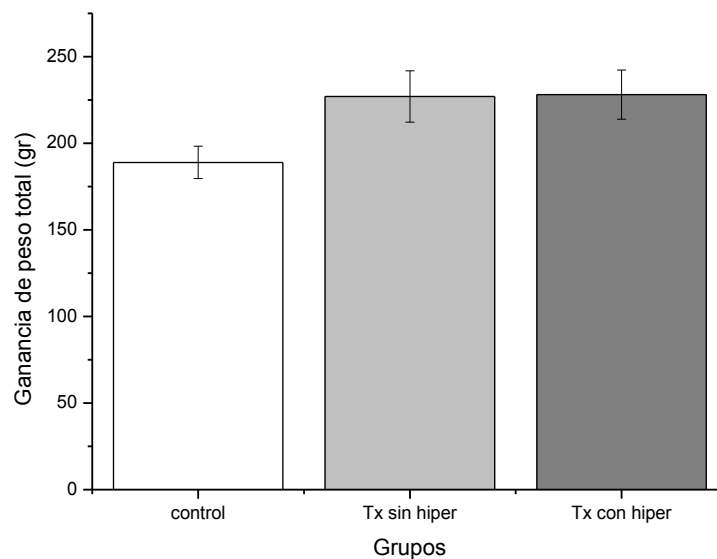


Fig 4. Ganancia de peso total. Se graficó el promedio del peso ganado (gr) en los tres grupos a lo largo de 11 semanas de tratamiento \pm ES n=8. Se analizó con ANOVA de un factor.

Existe una tendencia de los grupos tratados a ganar mayor peso con respecto del grupo control a lo largo de las 11 semanas de tratamiento, esta diferencia no es

significativa (Fig 4). Así, el peso se descartó como una variable para determinar los distintos niveles de insulina en los grupos tratados en este modelo. Este resultado puede deberse a lo observado en economías cerradas en donde los roedores se encuentran con una amplia variedad de condiciones que pueden afectar la tasa metabólica por lo cual la ingesta de éstos varía de tal forma que se regula con precisión (Collier y Johnson, 1990). Asimismo, las ratas pueden disminuir su consumo de comida cuando se encuentran bajo una dieta alta en sacarosa para mantener un peso corporal normal (Avena, 2010).

El peso sólo es un valor indicativo que hace referencia a una constitución corporal normal y no tiene en cuenta otros factores específicos e individuales, por ello es insuficiente este dato para cuantificar y cualificar la obesidad (Minelli y Pagano, 2006).

Una forma eficaz de conocer la constitución de los roedores fue por medio del sistema de medición de composición corporal por impedancia, el cual es un instrumento que utiliza el principio de impedancia para dar a conocer los valores de: el agua total, la masa libre de grasa, la masa magra y el agua extracelular. Se realizó esta medición con la finalidad de descartar si había diferencias en la composición corporal de los grupos tratados.

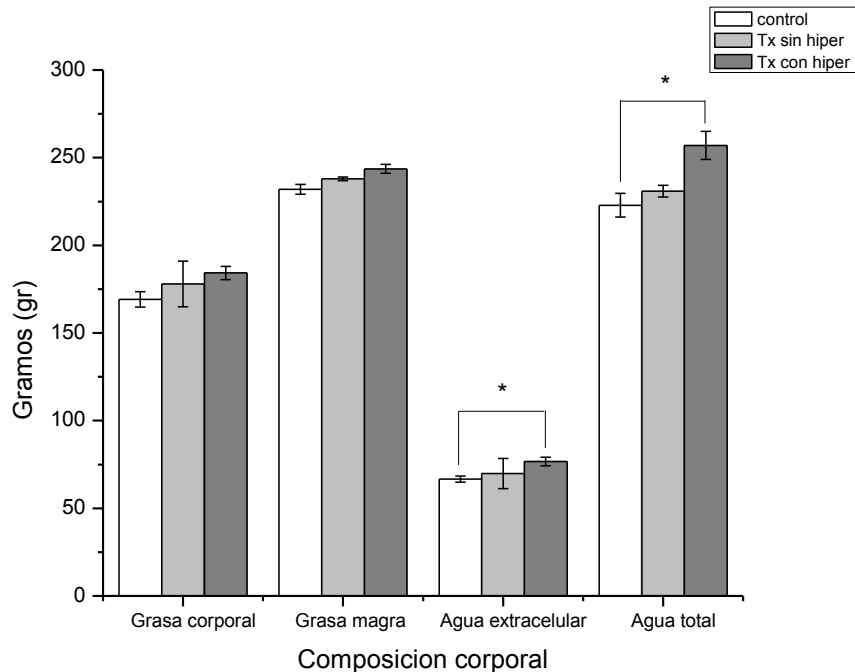


Fig 5. Composición corporal. Se graficó el promedio de grasa corporal (gr), grasa magra (gr), agua extracelular (gr) y agua total en los tres grupos \pm ES n=8. Se analizó con ANOVA de un factor y prueba *pos hoc* HDS Tukey $p < 0.05$ (*)

En la Fig 5 se presenta la composición corporal en donde se observa que la cantidad de agua extracelular ($F_{(2, 21)} = 4.21$; $p = 0.04$) y agua corporal total ($F_{(2, 21)} = 4.25$; $p = 0.028$) es significativamente mayor en el grupo tratado que presentó hiperinsulinemia con respecto del grupo control ($p < 0.05$). Este resultado se puede explicar debido a que lo que caracteriza a la obesidad además de un aumento de masa magra, también es un aumento de la masa libre de grasa (MLG), refiriéndose a tejido muscular, hueso y agua de toda la composición corporal. El aumento de la MLG es debido al incremento del agua extracelular y agua corporal total, más que a un aumento de masa muscular (Bellido, García, Martínez, 2004).

Además, Mendoza y colaboradores en el 2009 mostraron que existe una correlación positiva entre la resistencia a la insulina y el agua corporal que se

puede explicar por la retención de sodio, y concomitante agua, causada por la condición de hiperinsulinemia.

Si bien es cierto que la hiperinsulinemia es uno de los parámetros del síndrome metabólico, existen otras medidas para conocer si se cuenta con un cuadro de SM.

Los resultados anteriores mostraron la división en dos subgrupos del grupo tratado, debido a la presencia o ausencia de hiperinsulinemia, lo que llevó a investigar si sólo este subgrupo con hiperinsulinemia era el que presentó SM al sumar por lo menos otros dos parámetros positivos para su diagnóstico.

Cuando los sujetos contaban con 11 semanas de tratamiento (19 semanas de edad) se hizo la medición cuantitativa de triglicéridos, que se realizó por medio de un cálculo fotométrico de la reflectancia. Los resultados de los niveles de triglicéridos en los dos grupos tratados se presentan a continuación.

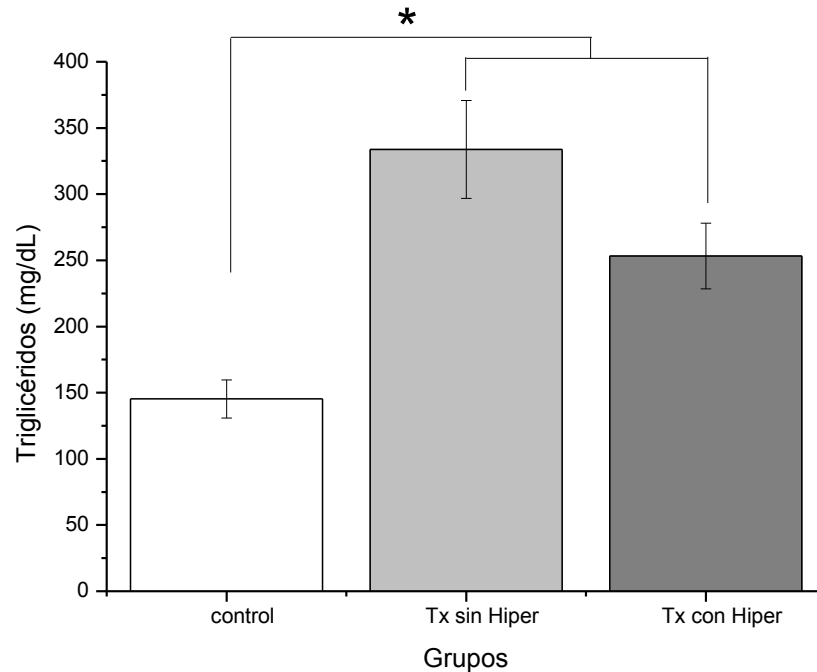


Fig 6. Nivel de triglicéridos en sangre. Se graficó el promedio de los niveles de triglicéridos en los tres grupos \pm ES n=8. Se analizó con ANOVA de un factor y prueba *pos hoc* HDS Tukey $p < 0.001$

La Fig 6 muestra un mayor nivel de triglicéridos en los grupos tratados con respecto del grupo control ($F_{(2, 21)}=9.722$; $p < 0.001$). Por otro lado, entre los dos grupos con dieta hipercalórica no se mostró una diferencia significativa, lo que sugiere que la dieta alta en sacarosa, a pesar de no afectar en la misma medida los niveles de insulina, produce un incremento en el nivel de triglicéridos.

Asimismo, Kanazawa y colaboradores en el 2003 mostraron que una dieta alta en sacarosa no induce la obesidad y a pesar de esto, el nivel de triglicéridos en plasma aumenta.

Otro de los parámetros que se tomó en cuenta para conocer si los grupos tratados habían adquirido SM fue la medición de tolerancia a la glucosa.

La curva de tolerancia a la glucosa se utiliza para conocer la eficacia del organismo para regular los niveles de glucosa sanguínea. A fin de conocer si los niveles de insulina coinciden con cambios en la curva de tolerancia a la glucosa se obtuvieron los siguientes resultados:

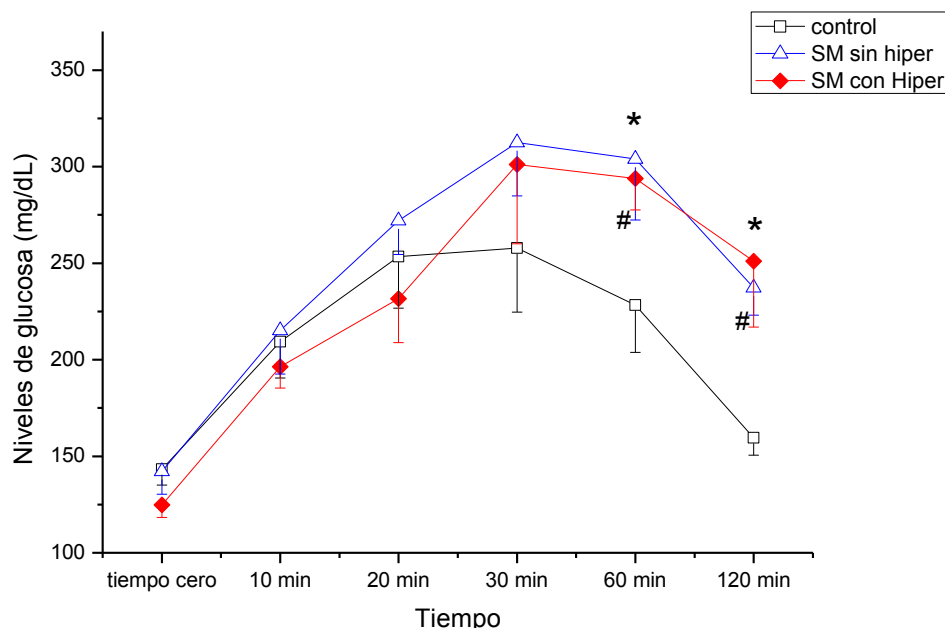


Fig 7. Curva de tolerancia a la glucosa intraperitoneal (CTGI). Se graficó el promedio de los grupos en cada punto de la curva \pm ES. Grupo control (cuadrados), grupo de Tx sin hiperinsulinemia (triángulos), grupo de Tx con hiperinsulinemia (rombos), n=8 para cada grupo. Se analizó con ANOVA mixto y prueba *pos hoc* HDS Tukey $p < 0.05$ (* SM sin hiperinsulinemia con respecto del grupo control, (#) SM con hiperinsulinemia con respecto del grupo control).

Las curvas de los dos grupos con dieta alta en sacarosa, que se realizaron a las 11 semanas de tratamiento, mostraron una alteración en los últimos dos puntos (60 y 120 min) con respecto del grupo control ($F_{(3.17, 6.36)} = 122.67$; $p < 0.05$), sin embargo, no presentaron diferencias significativas entre ellas (Fig 7), lo que indica una intolerancia a ésta (Martínez y García, 2006).

Por último, la presión arterial que al estar en niveles altos es otro de los factores o parámetros que se toma en cuenta para el diagnóstico de síndrome metabólico.

Con la finalidad de conocer si en los grupos tratados se presentó una alteración en la presión arterial, se realizó esta medición. Es un método de alto rendimiento no invasivo que se realiza mediante la determinación del volumen de la sangre en la cola. Esta medición fue tomada a las 11 semanas de tratamiento. Los resultados fueron los siguientes:

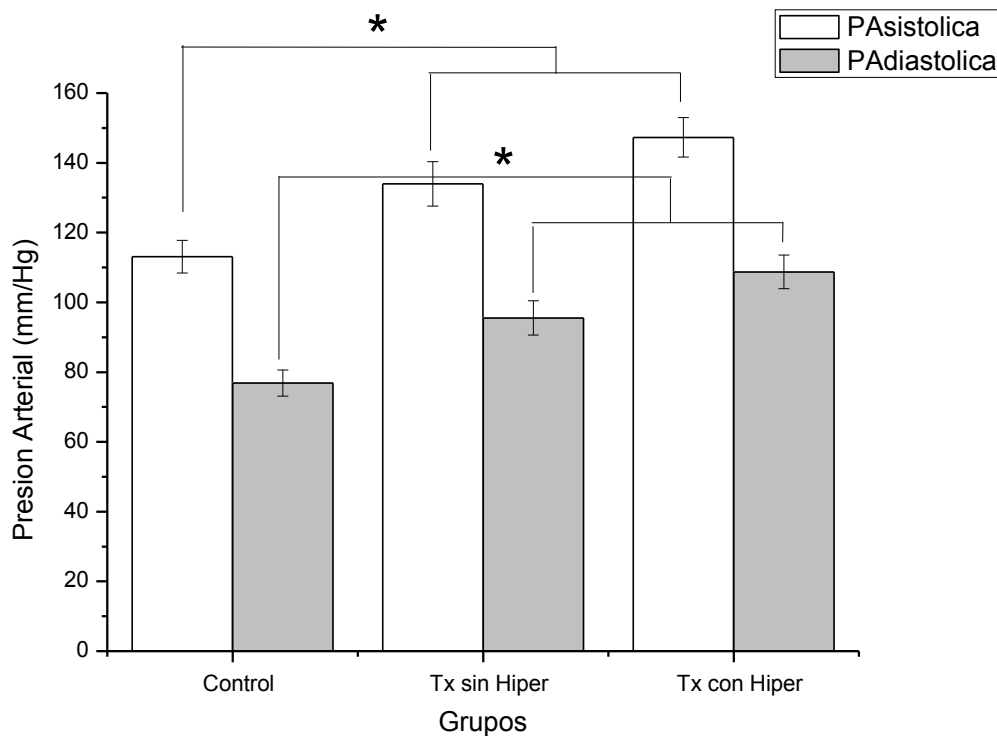


Fig 8. Niveles de presión arterial. Se graficó el promedio de los tres grupos de presión arterial, sistólica (blanco) y diastólica (gris). \pm ES n=8. Se analizó con ANOVA de un factor y prueba *post hoc* HDS Tukey $p < 0.05$

Se observa en la Fig 8 un mayor nivel en la presión arterial, tanto sistólica ($F_{(2,15)}=10.66$; $p=0.001$) como diastólica ($F_{(2,15)}=14.10$; $p=0.0001$) en los grupos tratados comparados con el grupo control. Por otra parte, no se presentaron

diferencias significativas entre los dos grupos con dieta alta en sacarosa, sin embargo, hubo una tendencia a un incremento mayor en el grupo tratado que presentó hiperinsulinemia. Se puede deber a que independientemente de otras características, se ha mostrado que ratas Wistar que solo tienen ocho semanas con dieta alta en sacarosa presentan una mayor presión arterial (Kanazawa, 2003).

Es importante destacar que se realizó la medición de la presión diastólica en este proyecto, la cual no se había tomado en cuenta en otros estudios.

La elevación sostenida de la presión diastólica tiene un significado de mayor importancia que el de la presión sistólica. La presión diastólica indica el grado de resistencia periférica, lo que significa, el esfuerzo que tiene que hacer el corazón en cada latido. Cuanto mayor sea la presión diastólica, mayor será el esfuerzo del corazón.

Resumiendo hasta este momento, se mostró que los dos grupos tratados, independientemente de que solo uno de ellos presente hiperinsulinemia, presentaron SM debido a que dieron positivo al menos tres parámetros: intolerancia a la glucosa, niveles de triglicéridos elevados e hipertensión arterial (Grundy, 2004).

Tabla 1. Resumen de las alteraciones en los parámetros metabólicos que presentaron el grupo control y los grupos experimentales después de 11 semanas de tratamiento (+/si presentó y -/no presentó)

Grupo	Intolerancia a la glucosa	Hipertrigliceridemia	Hipertensión arterial	Aumento de peso	Composición corporal alterada	Hiperinsulinemia
Control	-	-	-	-	-	-
Tx sin Hiperinsulinemia	+	+	+	-	-	-
Tx con Hiperinsulinemia	+	+	+	-	+	+

Conociendo que existe una diferencia en los dos grupos con SM, la presencia o ausencia de hiperinsulinemia, se buscó conocer si ésta fue una variable determinante para que se presente alguna alteración en el aprendizaje espacial. Para ello se utilizó el laberinto de Barnes para la evaluación del aprendizaje y la memoria visuoespacial.

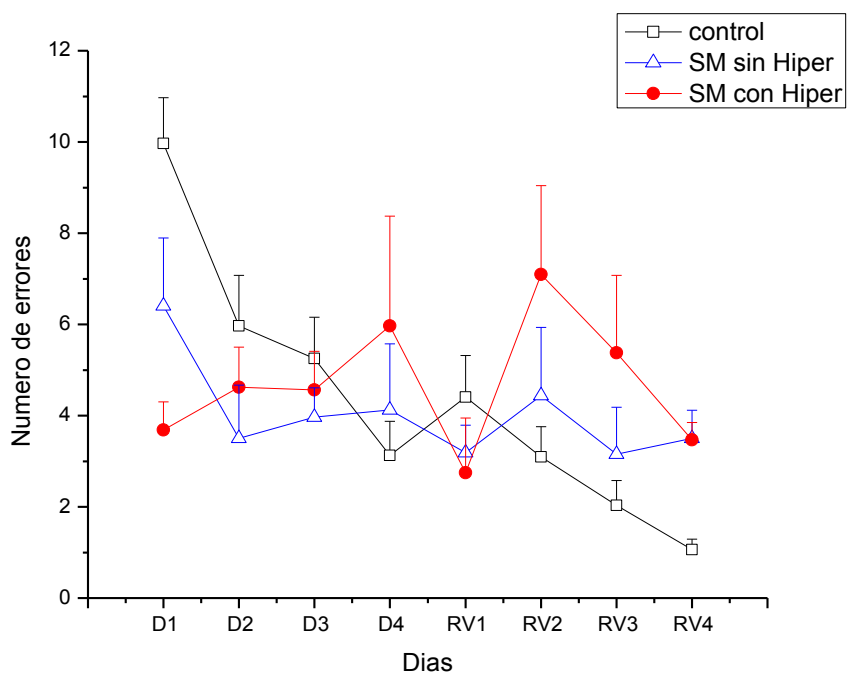


Fig 9. Curva de aprendizaje (errores). Se graficó el promedio de errores de los grupos en cada punto de la curva \pm ES. Grupo control (cuadrados blancos), grupo de SM sin hiperinsulinemia (triángulos blancos), grupo de SM con hiperinsulinemia (rombos negros), $n=8$ para cada grupo. Se analizó con ANOVA mixto.

En la Fig 9 se muestra la curva de aprendizaje de cada uno de los grupos. Se observó una disminución en el número de errores esperada en el grupo control lo que indicó un aprendizaje normal. Además, se mostró un pico en el primer día de reversión (RV1) lo que señaló que los roedores ocuparon las claves espaciales para encontrar el agujero de escape (O'Leary, 2012). El ANOVA mostro diferencias significativas para el factor aprendizaje ($F_{(3.909, 7.817)} = 26.75$; $p < 0.001$) y para factor grupo y la interacción no es significativo ($p > 0.05$). Este resultado llevó a conocer la latencia primaria en el proceso de aprendizaje, para ello se contabilizó los segundos que demoraron en encontrar la caja de escape.

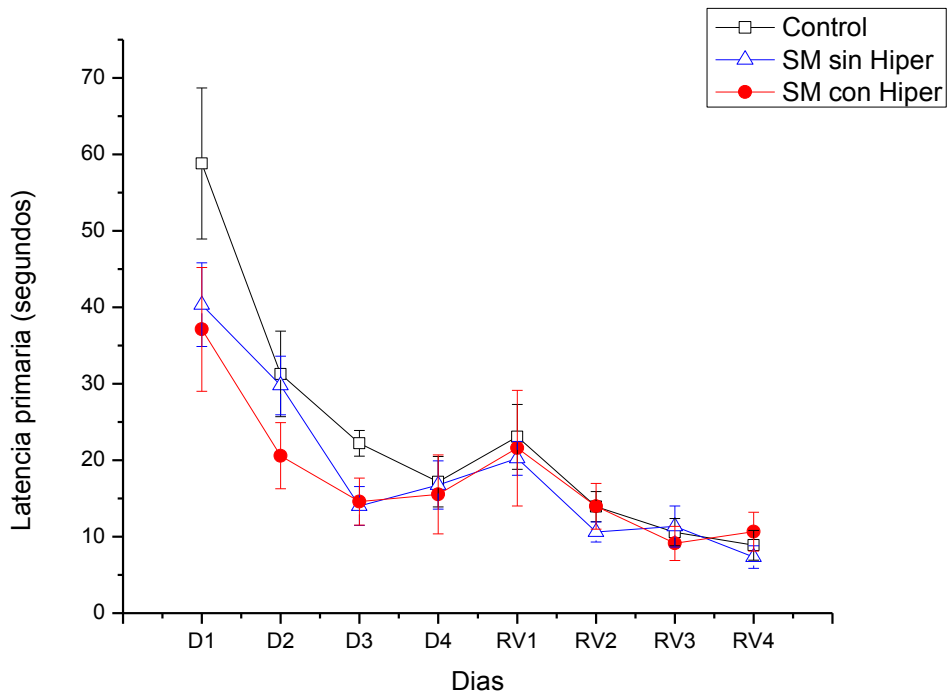


Fig 10. Curva de aprendizaje (Latencia primaria). Se graficó la media de tiempo (segundos) en los grupos en cada punto de la curva \pm ES. Grupo control (cuadrados blancos), grupo de SM sin hiperinsulinemia (triángulos blancos), grupo de SM con hiperinsulinemia (rombos negros), $n=8$ para cada grupo. Se analizó con ANOVA mixto.

La Fig 10 muestra una disminución en el tiempo conforme pasan los días de aprendizaje para los tres grupos. El ANOVA mostro diferencias significativas para el factor aprendizaje ($F_{(2.120, 4.240)} = 33.69$; $p < 0.001$) y para factor grupo y la interacción no es significativo ($p > 0.05$).

Además, se midió la latencia final de los tres grupos, la cual se muestra a continuación.

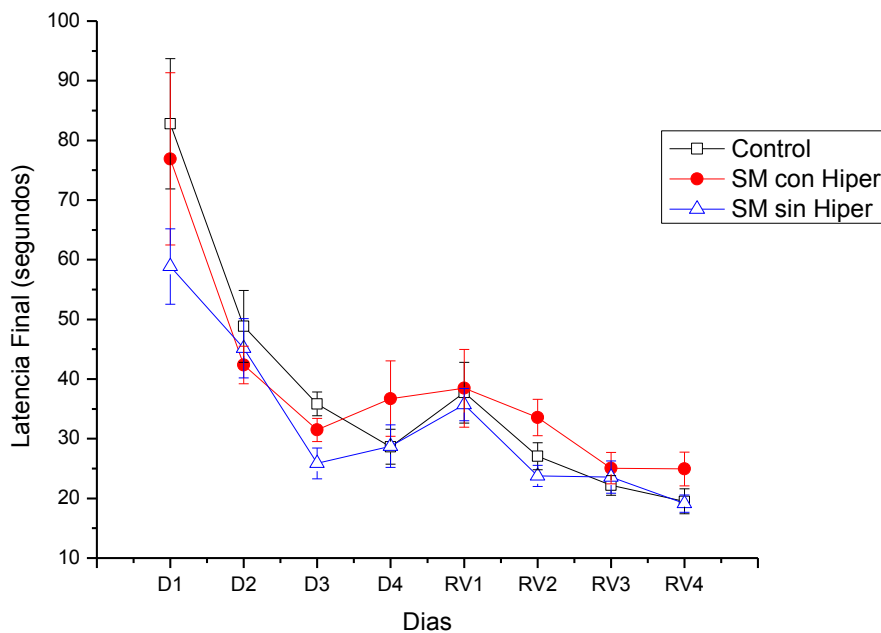


Fig 11. Curva de aprendizaje (latencia total). Se graficó el promedio de tiempo (segundos) de los grupos en cada punto de la curva \pm ES. Grupo control (cuadrados blancos), grupo de SM sin hiperinsulinemia (triángulos blancos), grupo de SM con hiperinsulinemia (rombos negros), $n=8$ para cada grupo. Se analizó con ANOVA mixto.

Las curvas de latencia final en los tres grupos mostraron una tendencia similar a la latencia primaria, lo que confirma nuevamente mayor disminución en el tiempo empleado en el grupo SM sin hiperinsulinemia con respecto del grupo control (Fig 11). El ANOVA mostro diferencias significativas para el factor aprendizaje ($F_{(2,120, 4,240)} = 33.69$; $p < 0.001$) y para factor grupo y la interacción no es significativo ($p > 0.05$).

Debido a las diferentes tendencias que presentaron los tres grupos en las curvas de aprendizaje, se buscó conocer la memoria visuoespacial para cada uno de ellos.

La memoria visuoespacial en el laberinto de Barnes fue evaluada por el porcentaje de aciertos para cada grupo con la finalidad de conocer cuál era el rendimiento en la tarea y conocer si debido a la variable que hay entre los dos grupos con SM (presencia o ausencia de hiperinsulinemia) existe alguna diferencia en su memoria visuoespacial después de 24 horas de haber terminado el proceso de aprendizaje.

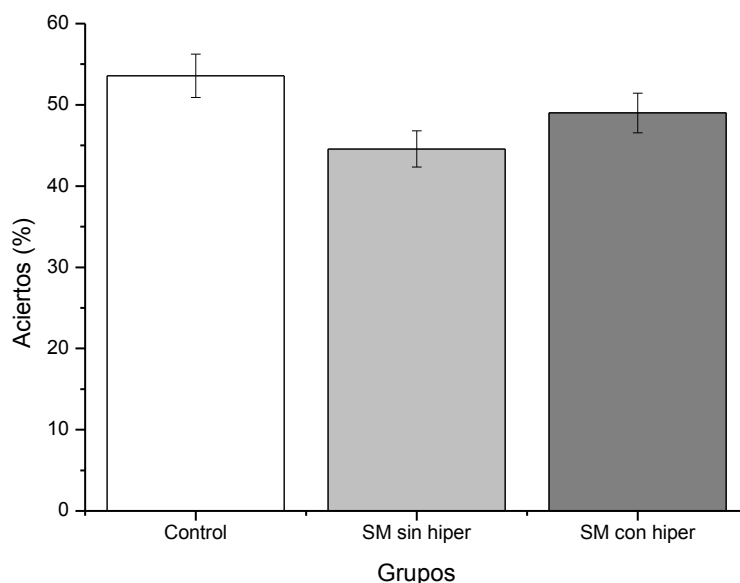


Fig 12. Memoria visuoespacial (24 horas después). Se graficó el promedio del porcentaje (%) de aciertos para cada uno de los grupos \pm ES n=8. Se analizó con ANOVA de un factor.

La Fig 12 muestra un menor porcentaje de aciertos en los dos grupos experimentales con respecto del grupo control. Estas diferencias no son significativas. Debido a que los dos grupos con SM mostraron tendencias distintas en la evaluación de memoria después de 24 horas del proceso de aprendizaje, se

buscó evaluar sí después de 5 días de reposo, las tendencias que se observaron se mantuvieron o cambiaron.

Para ello, se llevó a cabo el mismo proceso anterior, estos fueron los resultados.

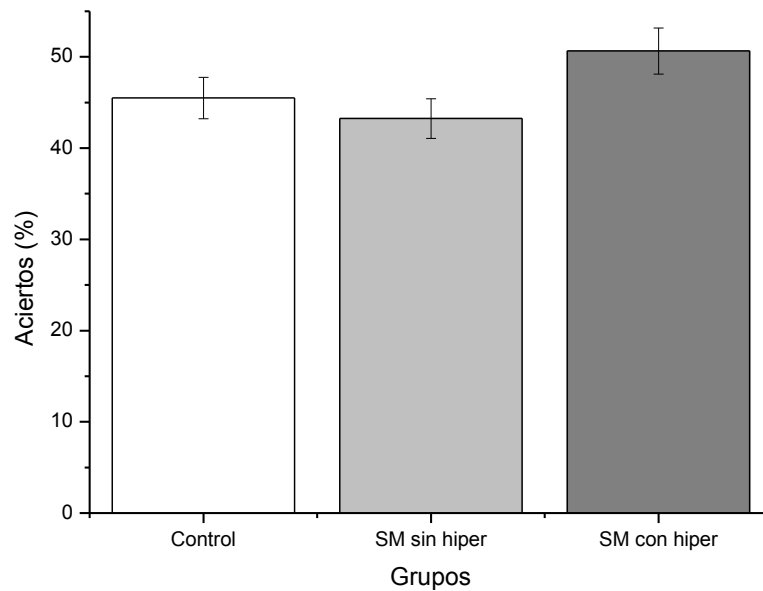


Fig 13. Memoria visuoespacial (5 días después). Se graficó el promedio del porcentaje (%) de aciertos para cada uno de los grupos \pm ES n=8. Se analizó con ANOVA de un factor.

En la Fig 13 se observa que no hay diferencias significativas en el porcentaje de aciertos entre los grupos experimentales y el grupo control. Sin embargo, permiten proponer que las alteraciones que se han reportado puedan deberse al tiempo de tratamiento y de la instalación del SM (Segura y Jurado, 2009).

XI. Discusión

Distintas investigaciones han observado un deterioro en la memoria y aprendizaje visuoespacial en modelos de síndrome metabólico; estas alteraciones están relacionadas con diversos cambios morfológicos y metabólicos.

Fue así como Segura y Jurado en el 2009 hicieron una revisión en el que describen un estudio longitudinal con un seguimiento de tres años en pacientes con SM, los cuales mostraron alteraciones de reconocimiento en tareas de memoria.

Además, Dinel y colaboradores en el 2011 observaron, en un modelo de diabetes realizado en ratones, un aumento de citoquinas, inflamación y una reducción de la expresión de BDNF en el hipocampo, lo que llevo a un deterioro significativo de la memoria visuoespacial que es dependiente de esta estructura. Estos ratones mostraron altos niveles de leptina e insulina en la mayoría de los casos.

Asimismo, se ha observado por medio de resonancia magnética, que adolescentes con síndrome metabólico, muestran una reducción hipocampal y un menor puntaje en tareas cognitivas, especialmente las relacionadas con la memoria (Lai et al., 2012).

Hasta el momento no existen datos en la literatura que muestren el papel que juega la hiperinsulinemia dentro de un cuadro de SM en la memoria y aprendizaje visuoespacial.

Algunos grupos de trabajo mostraron que una dieta alta en sacarosa provoca tempranamente hiperinsulinemia (Wright et al., 1983; Larqué et al., 2011; Velasco, et al., 2012); sin embargo, no había sido descrito en la literatura, que esta dieta puede desarrollar en ciertos grupos hiperinsulinemia sin importar la ingesta de sacarosa. Estos resultados pueden deberse a las diferencias individuales que pudieron existir entre los sujetos del grupo experimental; a pesar de pertenecer a la misma cepa de ratas, lo que sugiere que puede existir una diferencia en la síntesis y vías de señalización de la insulina.

Las diferencias observadas en los niveles de insulina que presentó el grupo con dieta hipercalórica, llevaron a la separación de éste en dos subgrupos para conocer si existía alguna diferencia metabólica o física entre éstos, que llevó al desarrollo de hiperinsulinemia en el 50 % de los casos.

La primera variable que se observó fue la de ganancia de peso, debido a que es uno de los parámetros que cambia tempranamente cuando existe alguna modificación en la dieta como lo fue en esta investigación. Además, la obesidad se caracteriza por una alta prevalencia de hiperinsulinemia y resistencia a la insulina (Ferrannini et al., 1997; Andronico et al., 2001; Packinathan et al., 2005).

La ganancia de peso fue similar tanto en el grupo control como en los dos grupos con dieta alta en sacarosa debido a lo ya observado en economías cerradas, donde ratas Wistar se encuentran con una amplia variedad de condiciones que pueden afectar su tasa metabólica, estos roedores varían la cantidad de consumo de tal forma que sea regulado con precisión el gasto calórico (Collier y Johnson,

1990). Asimismo, ya se ha mostrado que al proporcionar una dieta alta en sacarosa, al menos en roedores, disminuyen el consumo de comida para mantener un peso corporal normal por un largo periodo de tiempo (Avena, 2010).

Debido a que el peso es solo un valor de referencia que no toma en cuenta otros factores individuales (Minelli y Pagano, 2006) que pudiesen haber sido los causantes de las diferencias marcadas en los niveles de insulina; se buscó conocer valores objetivos y específicos de la composición corporal, por medio de impedancia eléctrica.

En la composición corporal de los dos grupos tratados con respecto al grupo control (a las 11 semanas de tratamiento con 19 semanas de edad), se observaron diferencias significativas. El grupo tratado con hiperinsulinemia presentó mayores niveles de agua extracelular y agua corporal total.

Este estudio describe por primera vez que altos niveles de agua extracelular y agua corporal total coinciden con la presencia de hiperinsulinemia en un modelo de SM. Dichos resultados concuerdan con los datos obtenidos por Mendoza y colaboradores en el 2009 que obtuvieron una correlación positiva entre estas dos variables. Esto se puede explicar por la retención de sodio y concomitantemente agua, causada por los altos niveles de insulina. Esta hormona incrementa la retención de sodio de forma directa mediante el incremento de la activación tubular renal y en forma indirecta mediante la activación del sistema nervioso simpático y del sistema renina-angiotensina-aldosterona (Hu y Stampfer, 2005).

En diversos estudios se ha planteado que una de las características más importantes para que sea presentado el SM es la hiperinsulinemia (Reaven, 1988; Harris, 2013). Esto llevó a indagar si la presencia o ausencia de altos niveles de insulina en los grupos tratados sería una variable determinante para completar un cuadro de SM.

Se cuantificó el nivel de triglicéridos en sangre debido a que esta variable es afectada tempranamente (Larqué et al., 2011) y de manera considerable (Kanazawa et al., 2003), lo que se vio reflejado en nuestros resultados. Los grupos tratados no mostraron diferencias entre sí, sin embargo respecto al grupo control esta diferencia si fue significativa.

Otro de los parámetros metabólicos que se evaluó fue la curva de tolerancia a la glucosa, ésta se vio alterada en los últimos dos puntos en los dos grupos tratados con respecto al grupo control, lo que indicó una intolerancia a la glucosa lo que puede sugerir alteraciones en los procesos de biosíntesis y degradación de la insulina (Martínez y García, 2006)

Por último, niveles altos en la presión arterial (sistólica y diastólica) se presentaron en las ratas que estuvieron bajo una dieta alta en sacarosa durante 11 semanas (19 semanas de edad), al compararlas con los roedores del grupo control. Estos resultados concuerdan con lo observado por Kanazawa y colaboradores en el 2003, una dieta alta en sacarosa aumenta los niveles de presión arterial en ratas Wistar con tan solo ocho semanas de tratamiento.

Con estas tres mediciones (nivel de triglicéridos, curva de tolerancia a la glucosa y la presión arterial), se logró comprobar que independientemente de la diferencia

en los niveles de insulina de los grupos tratados; éstos reunieron al menos tres criterios para determinar que presentaron SM (Grundy, 2004).

Conociendo que los dos grupos que fueron tratados con una dieta alta en sacarosa cursaron con síndrome metabólico, se buscó evaluar el aprendizaje y la memoria visuoespacial.

Como ya se mencionó, en la literatura se ha mostrado un deterioro en la memoria y el aprendizaje espacial en modelos de SM; sin embargo, no se encontró éste en los dos grupos que cursaron con SM. La curva de aprendizaje, evaluada por el laberinto de Barnes mostró una tendencia de alteraciones, mayoritariamente en errores, pero no fueron significativas, debido a que el grupo control también presentó un número de errores similares a los dos grupos experimentales.

El comportamiento de las curvas de aprendizaje en los dos grupos experimentales fue distinta, se observó una tendencia a un grado de alteración mayor en la curva del grupo que presentó hiperinsulinemia, sin embargo, no fue significativa.

Como ya se mencionó, la hiperinsulinemia puede alterar de manera distinta la memoria dependiente de hipocampo, como es descrito por Martínez en el 2007 donde una hiperinsulinemia aguda (por administración intravenosa) mejora la ejecución de tareas de la memoria; en contraste, la hiperinsulinemia crónica reduce el número de receptores de insulina en el cerebro.

Estos receptores parecen no tener un efecto directo sobre el metabolismo de la glucosa neuronal pero juega un papel modulador a través de la activación de

cascadas específicas de transducción de señales en la actividad sináptica involucrada en la memoria (Schubert et al., 2004).

Schubert y colaboradores en el 2004 mostraron el papel de los RI en la memoria y aprendizaje visuoespacial por medio de ratones knockout a los que se les inhibieron los receptores de insulina específicamente en el cerebro (95% de receptores), mostraron una completa pérdida de la activación de la vía PI3K mediada por insulina y la pérdida de inhibición de apoptosis neuronal.

Asimismo, se ha mostrado que la disminución de RI en el cerebro afecta de manera indirecta la memoria visuoespacial disminuyendo los niveles de acetilcolina y flujo sanguíneo promoviendo un deterioro del metabolismo oxidativo cerebral que promueve una menor degradación de la proteína β -amiloide (Watson y Craft, 2004).

Por ello es muy importante mencionar que la reducción de receptores de insulina por el aumento de esta hormona se ha visto relacionado con una mayor producción de proteína β -amiloide.

Ho y colaboradores en el 2004, indujeron un modelo de resistencia a la insulina en el cual mostraron que ésta alteración se asociaba con una disminución de la IDE lo que se correlacionaba con un aumento en la producción β -amiloide (β A). De esta manera, se ha comprobado que altas concentraciones de insulina en sangre (hiperinsulinemia) disminuye la eliminación de β A promoviendo la producción de placas amiloideas, una de las características principales de la enfermedad de Alzheimer (Heras-Sandoval y Arias, 2009).

Es por ello que en los últimos años la resistencia a la insulina se ha relacionado con la enfermedad de Alzheimer, una enfermedad neurodegenerativa caracterizada por una mayor producción de β A (Neumann et al., 2008; Medhi y Chakrabarty, 2013; Moreira, Campos, Soldera, 2013).

Estudios *in vitro* describen efectos neurotóxicos por la mayor agregación de β A debido a la elevación de calcio intracelular o la inducción de muerte neuronal por microglía reactiva. También se mostró que la aplicación de péptidos β A inhibe fuertemente la inducción de LTP en dos vías principales del hipocampo: vía Perforante y vía colateral de Schaffer (Freir, Holscher, Herron, 2001).

En contraste, registro *in vivo* en donde se aplicó por medio de iontoforesis β A en CA1 del hipocampo mostró una mayor cantidad de calcio intracelular lo que lleva a la activación de NMDA y que puede influir en el LTP de forma positiva (Molnar et al., 2004).

Los anteriores estudios pueden explicar las alteraciones en el aprendizaje visuoespacial en ratas que presentaban hiperinsulinemia. Sin embargo, en la evaluación de la memoria visuoespacial este grupo experimental tuvo una tendencia a presentar una mejor memoria después de haber concluido cinco días de reposo, esto podría deberse a que solo contaban con cinco semanas aproximadamente de haberse instalado el síndrome según lo ya reportado (Larqué et al., 2011). La falta de diferencia en las pruebas de aprendizaje y memoria se pueden explicar debido a que cuando se inició la prueba de laberinto de Barnes la hiperinsulinemia presentada en el grupo experimental llevaba poco tiempo de

haberse establecido, así que los receptores de insulina cerebrales no se vieron disminuidos y es por ello que no se observó un deterioro cognitivo.

Cabe mencionar que la insulina exógena (intranasal) administrada en humanos, mejora la memoria declarativa a largo plazo, es decir, que mejora la consolidación de ésta (Benedict, et al, 2004). Además el grupo de McNay en el 2010 observó una mejora en tareas de memoria después de administrar insulina en el hipocampo izquierdo. Lo que nos indica que la insulina juega un papel importante en el hipocampo, al modular los procesos de la memoria y el aprendizaje dependientes de esta estructura.

Esto hace pensar que aunque se vean leves diferencias en los sujetos que presentaron hiperinsulinemia; las alteraciones en la vía de señalización, síntesis, etc., son muy pequeñas para poder verlas reflejadas en la conducta.

Ya existen varios estudios que muestran el papel de la insulina en el hipocampo y su relación con la memoria dependiente de esta estructura. Por ello es de gran relevancia lo que muestra nuestro estudio para tener un mayor conocimiento acerca de la función que desarrolla esta hormona en uno de los problemas de salud más importantes como lo es el SM.

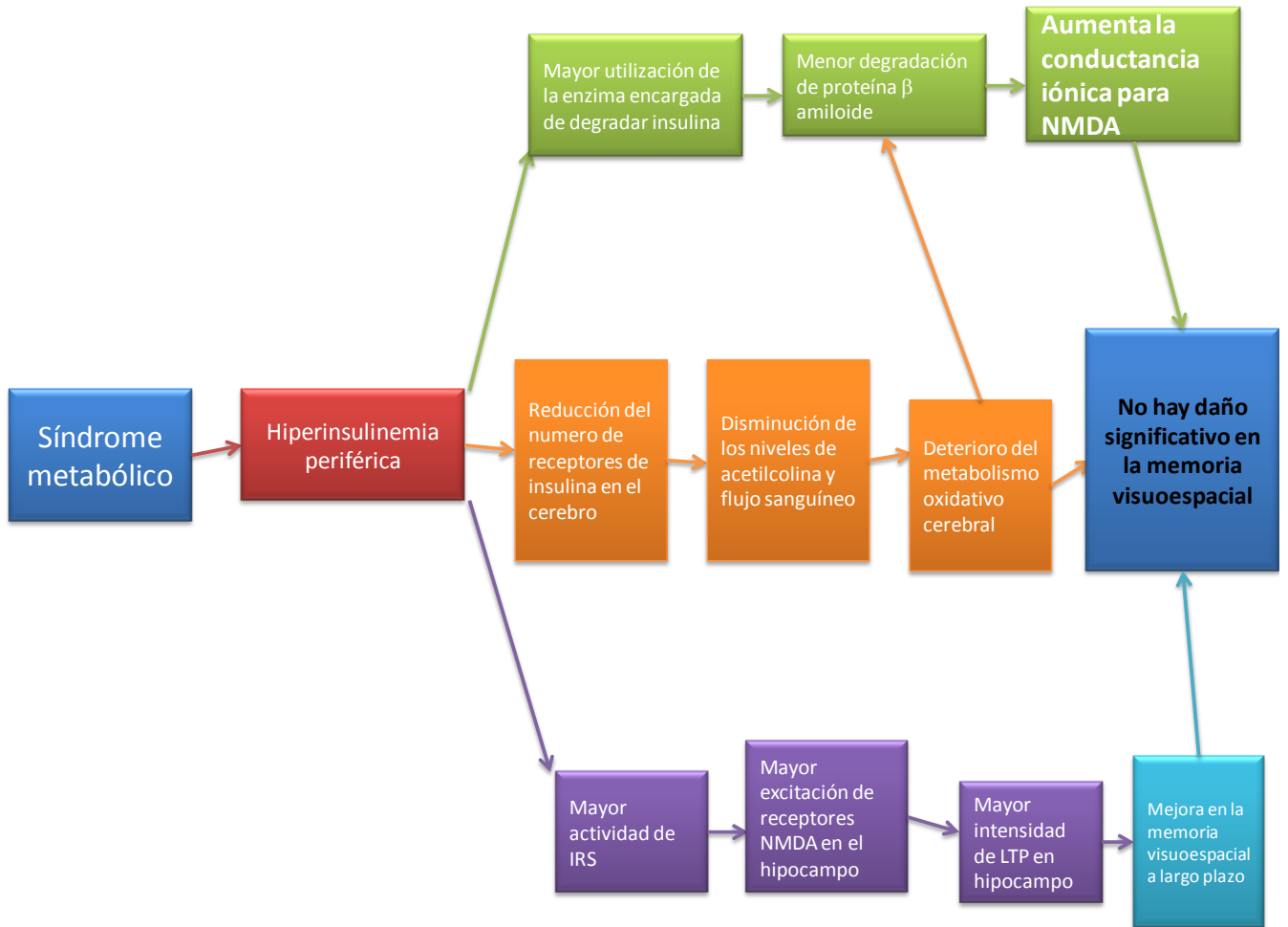


Fig 14. Modelo explicativo. Uno de los parámetros que pueden caracterizar el SM es la hiperinsulinemia periférica que ocasiona una mayor utilización de la IDE lo que provoca una menor degradación de proteína β amiloide lo que aumenta la conductancia iónica en NMDA. Además los niveles altos de hiperinsulinemia ocasionan una reducción en el número de receptores de insulina en el cerebro lo que lleva a una disminución de los niveles de acetilcolina y flujo sanguíneo lo que deteriora el metabolismo cerebral. En contraste, esta hiperinsulinemia periférica aumenta la actividad de IRS que lleva a una mayor excitación de los receptores NMDA en el hipocampo y resulta en una mayor intensidad de LTP en el hipocampo.

XII. Conclusiones

- Una dieta alta en sacarosa provocó hiperinsulinemia en el 50% de los roedores.
- Las ratas con SM que presentan hiperinsulinemia muestran niveles altos de agua extracelular y agua corporal total.
- El SM se puede desarrollar por una dieta alta en sacarosa, aun cuando no se presente hiperinsulinemia.
- Los grupos con SM muestran alteraciones menores en el aprendizaje y la memoria visuoespacial con respecto del grupo control, que no son estadísticamente significativas.
- Las ratas con SM con y sin hiperinsulinemia, después de 11 semanas con dieta alta en sacarosa, no presentaron alteraciones significativas en la memoria visuoespacial.

XIII. Referencias

- Aguilar, M. et al. (2004). Procesos psicológicos básicos: una guía académica para los estudios en psicopedagogía, psicología y pedagogía. Mc Graw-Hill Interamericana de España. Madrid, España. 103-120 pp.
- ALPCO, Immunoassays. (2012). Insulin (Rat) ELISA. Recuperado de <http://www.alpco.com/pdfs/80/80-INSRT-E01.pdf>.
- Andronico, G. et al. (2001). Insulin, renin-aldosterone system and blood pressure in obese people. *International Journal of Obesity*. 25: 239-242 pp.
- Avena, N. (2010). The study of food addiction using animal models of binge eating. *Appetite*. 55:734-737 pp.
- Avena, N. et al. (2008). Evidence for sugar addiction: Behavioral and neurochemical effects of intermittent, excessive sugar intake. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 32(1): 20-39 pp.
- Ayala, I. et al. (2008). Modelos animales experimentales de enfermedad de hígado graso y síndrome metabólico. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia. 24: 5-16 pp.
- Barnes, C. (1979). Memory deficits associated with senescence: a neurophysiological and behavioral study in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*. 93: 74–104 pp.
- Barnes, C. (1998). Spatial learning and memory processes: the search for their neurobiological mechanisms in the rat. *Trens in Nerosciences* 11:4:163-169 pp.

- Bellido, D. et al. (2004) composición corporal en el obeso. La obesidad en el tercer milenio. 3ª edición. Editorial Médica Panamericana, Madrid. 73-76 pp.
- Benedict, C. et al. (2004). Intranasal insulin improves memory in humans. *Psychoneuroendocrinology*. 29:1326-1334 pp.
- Banerjee, N. (2006). Tensión arterial, etiología y tratamiento. B. Jain Publishers Ltd. India. 33-35 pp.
- Berg, J. et al. (2008). Bioquímica. Vías de transducción de señales. Editorial Reverté, S. A. Barcelona, España. 392-395 pp.
- Biesalski, H. Grimm, P. (2007). Nutrición: texto y atlas. Primera Edición. Médica Panamericana. Buenos Aires. 346 pp.
- Blázquez, E. (2005). Fundamentos Moleculares de la Medicina. Fundamentos Moleculares de la acción de la insulina. Real Academia Nacional de Medicina. 137-147 pp.
- Bosaeus, M. et al. (2007). Accuracy of quantitative magnetic resonance and eight-electrode bioelectrical impedance analysis in normal weight and obese women. *Clinical Nutrition*. Recuperado de <http://dx.doi.org/10.1016/j.clnu.2013.06.017>.
- Canino, E. (1997). Hipertensión arterial. Equinoccio, ediciones de la Universidad Simón Bolívar, Melvin. Venezuela. 45 pp.
- Carlson, N. (2005). Fisiología de la conducta. Aprendizaje y memoria: Mecanismos básicos. 8ª edición. Addison-Wesley. Madrid, España. 459-473 pp.

- Carrillo, R. et al.(2006). Síndrome metabólico. Academia nacional de Medicina. Subdivisión de estudios de posgrado. Universidad Nacional Autónoma de México. Recuperado de <http://www.ejournal.unam.mx/rfm/no49-3/RFM49305.pdf>
- Casals P. et al. (2005). Cuadernos para el análisis 19. Taller de memoria: ejercicios prácticos. 1ª edición. Horsori Editorial, S. L. 9-12 pp.
- Casanueva, E. et al. (2008). Nutriología Medica. 3ª Edición. Editorial Médica Panamericana. México. 392 pp.
- Collier, G. et al. (1990). The time window of feeding. *Physiology & behavior*. 48: 771-777 pp.
- Contreras, E. Santiago, J. Obesidad, síndrome metabólico y su impacto en las enfermedades cardiovasculares. *Revista Biomédica*. 22:103-115 pp.
- Costello, D. et al. (2012). Brain Deletion of Insulin Receptor Substrate 2 Disrupts Hippocampal Synaptic Plasticity and Metaplasticity. *Plos one*. 7: e31124.
- Cuenca, E. (2006). Fundamentos de Fisiología. Función endocrina del páncreas. Control endocrino del combustible metabólico. Paraninfo, S. A. Madrid, España. 433-435 pp.
- Dinel, A. et al. (2011). Cognitive and Emotional Alterations Are Related to Hippocampal Inflammation in a Mouse Model of Metabolic Syndrome. *Plos ONE*. 6 (9): e24325.1-e24325.10 pp.

- Daugherty, A. et al. (2009). Measuring Blood Pressure in Mice using Volume Pressure Recording, a Tail-cuff Method. *Journal of Visualized Experiments*. 27: e1291 10.3791/1291. DOI: 10.3791/1291.
- Devlin, T. (2006). *Bioquímica: Libro de texto con aplicaciones clínicas*. Cuarta edición. Editorial Reverté, S. A. Barcelona, España. 886 pp.
- Duperly, J. et al. (2000). *Obesidad: un enfoque integral. Enfermedades asociadas*. 1ª edición. Colección textos de medicina. Colombia. 29 p.
- Fernández, A. (2006). *Fisiopatología del ejercicio. Sistemas energéticos en el ejercicio*. 3ª edición. Editorial Médica Panamericana. 190 pp.
- Ferrannini, E. et al. (1997). Insulin Resistance and hypersecretion in obesity. *The American Society for Clinical Investigation, Inc.* 100:5: 1166-1173 pp.
- Freir, D. et al. (2001). Blockade of long-Term Potentiation by β -Amyloid Peptides in the CA1 Region of the Rat Hippocampus in Vivo. *Journal of Neurophysiology*. 85:708-713 pp.
- Ganong, W. (2006). *Fisiología médica*. 18ª edición. Manual Moderno. México, D. F. 364-367 pp.
- Garrido, A. et al. (2006). *Fundamentos de bioquímica metabólica. Lipoproteínas*. 2ª Edición. Editorial Tébar. 147 pp.
- González, A. et al. (2008). Prevalencia del síndrome metabólico entre adultos mexicanos no diabéticos, usando las definiciones de la OMS, NCEP-ATPIIIa e IDF. *Revista Médica del Hospital general de México, S. S.* 71:1: 11-19 pp.

- Grundy, S. et al. (2004). Definition of Metabolic Syndrome Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association Conference on Scientific Issues Related to Definition. American Heart Association. Circulation Journal of the American Heart Association. DOI: 10.1161/01.CIR.0000111245.75752.C6: 433-438 pp.
- Gutiérrez, J. et al. (2011). Sustrato neuronal de la memoria de trabajo. Neurobiología, revista electrónica. Artículo de revisión. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Medicina. Departamento de Fisiología. 2:3: 03051.
- Harris, M. (2013). The metabolic syndrome. Australian Family Physician. 42 (8). 524-527 pp.
- Harrison, F. et al. (2006) Spatial and nonspatial escape strategies in the Barnes maze. Learning and memory 13(6): 809-819 pp.
- Heras-Sandoval, D. et al. (2009). Señalización por insulina en el cerebro y su participación en la enfermedad de Alzheimer. El residente. 4:3: 117-125 pp.
- Ho, L. et al. (2004). Diet-induced insulin resistance promotes amyloidosis in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. The Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology. DOI: 10.1096/fj.03-0978fje.
- Hu, F. et al. (2005). Insulin Resistance and Hypertension: The Chicken-Egg Question Revisited. Circulation. 112:12:1678-1680 pp.

- Instituto Mexicano del Seguro Social. (2012). Diagnóstico y tratamiento de las Dislipidemias. México: Secretaria de Salud. Recuperado de http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/233_GP_C_Dislipidemias/GER_Dislipidemia.pdf.
- Jagua, A. et al. (2008). Insulina Cerebral. Colombia Médica. Vol. 39. (1): 107-116 pp.
- Kanazawa, M. et al. (2003). Effects of a High-sucrose Diet on Body Weight, Plasma Triglycerides, and Stress Tolerance. Nutrition Reviews. 61:5: 27-33 pp.
- Lai, P. et al. (2012). Obesity and Metabolic Syndrome and Functional and Structural Brain Impairments in Adolescence. American Academy of Pediatrics. 130 (4): 856-864 pp.
- Larqué, C. et al. (2011). Early Endocrine and Molecular Changes in Metabolic Syndrome Models. International Union of Biochemistry and Molecular Biology. 63: 10: 831-839 pp.
- Levine, G. (2010). Cardiología Secretos. Preguntas esenciales, los 100 secretos principales. 3ª edición. Elsevier España, S. L. Madrid, España. 318-319 pp.
- Lorenzo, P. et al. (2008). Farmacología básica y clínica. Fármacos antidiabéticos, insulinas y antidiabéticos orales. 18ª edición. Editorial Médica Panamericana, S. A. Madrid, España. 624-625 pp.

- Luria, A. (1987). Desarrollo histórico de los procesos cognitivos. 1ª edición. Ediciones Akal. Madrid, España. 68-75 pp.
- Madonna, R. et al. (2012). Aterogénesis y diabetes: resistencia a la insulina e hiperinsulinemia. Revista Española de Cardiología. 65:4: 309-313 pp.
- Malenka, R. (1999). Long-Term Potentiation: A Decade of Progress?. Science. 285: 1870 pp.
- Martínez, A. (2011). Síndrome metabólico, su reversibilidad y características en un modelo animal. Programa de Maestría y Doctorado. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F.
- Martínez, J. García, P. (2006). Nutrición humana. Editorial Universidad Politécnica de Valencia. Nutrición y metabolismo de los hidratos de carbono. 109-110 pp.
- Martínez, S. et al. (2007). Hormonas, estado de ánimo y función cognitiva. Neuroendocrinología del envejecimiento cognitivo. 1ª edición. Delta, Publicaciones universitarias. Madrid, España. 173-174 pp.
- Mazariegos, M. et al. (1992). Body Composition and Surgical Treatment of Obesity Effects of Weight Loss on Fluid Distribution. Annals of Surgery. 216:1: 69-73 pp.
- McNay, E. et al. (2010). Hippocampal memory processes are moduled by insulin and high-fat-induced insulin resistance. Neurobiology of learning and memory. 93:546-553 pp.

- Medhi, B. et al. (2013). Insulin resistance: an emerging link Alzheimer's disease. *Journal of the Neurological Sciences*. DOI 10.1007/s10072-013-1454-1
- Mendoza, M. et al. (2009). Correlación del agua corporal con la resistencia a la insulina en ancianos. *Medicina Interna de México*. 25:1:17-22 pp.
- Minelli, E. et al. (2006). El peso ideal: Las claves para lograrlo y mantenerlo ¿Qué es obesidad? Barcelona, España. 15-18 pp.
- Miralles, J. et al. (2001). Enfermedades del sistema endocrino y de la nutrición. 1ª edición. Editores Universidad de Salamanca. Salamanca, España. 400 pp.
- Molnár, Z. et al. (2004). Enhancement of NMDA responses by b-amyloid peptides in the hippocampus in vivo. *Neurochemistry*. 5:19: DOI: 10.1097/01.wnr.0000134471.06244.d2.
- Moreira, R. et al. (2013). Type 2 Diabetes Mellitus and Alzheimer's Disease: from physiopathology to treatment implications. *Diabetes Metabolism Research and Reviews*. DOI: 10.1002/dmrr.2442.
- Neumann, K. et al. (2008). Insulin Resistance and Alzheimer's Disease: Molecular Links & Clinical Implications. *Current Alzheimer*. 5 (5): 1-10 pp.
- NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.
- O'Leary, T. et al. (2012). The effects of apparatus design and test procedure on learning and memory performance of C57BL/6J mice on the Barnes maze. *Journal of Neuroscience Methods*. 203: 315-323 pp.

- Ortega, C. et al. (2010). Neurofisiología del aprendizaje y la memoria, Plasticidad Neuronal. Archivos de Medicina Recuperado de <http://imedpub.com/ojs/index.php/archmed/article/view/102>.
- Packianathan, I. et al. (2005). Use of a reference four-component model to define the effects of insulin treatment on body composition in type 2 diabetes: the 'Darwin study'. Diabetología. 48:222-229 pp.
- Palomo, I. et al. (2009). Estado protrombótico en el síndrome metabólico. Acta Médica Colombiana. 34:2:80-84 pp.
- Panchal, S. et al. (2011). Rodent Models for Metabolic Syndrome Research. Journal of Biomedicine and Biotechnology. doi:10.1155/2011/351982: 14 pp.
- Perman, M. (2007). Terapia intensiva. Hiperglucemia de estrés. 4ª edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. 1053 pp.
- Plum, L. Belgardt, B. Brüning, J. Central insulin action in energy and glucose homeostasis. The Journal of Clinical Investigation. 116:7: 1861-1766 pp.
- Purves, D. et al. (2008). Neurociencia. 3ª edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. 652-655 pp.
- Reaven, G. (1988). Role of Insulin Resistance in Human Disease. Diabetes. Vol. 37:1595-1607 pp.
- Sartorio. et al. (2005). Body water distribution in severe obesity and its assessment from eight-polar bioelectrical impedance analysis. European Journal of Clinical Nutrition. 59:155-160 pp.

- Schubert, M. et al. (2004). Role for neuronal insulin resistance in neurodegenerative diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 101:9: 3100-3105 pp.
- Segura, B. Jurado, M. (2009). Síndrome Metabólico y envejecimiento: déficit cognitivo y alteraciones estructurales del sistema nervioso central. *Revista de neurobiología*. 49 (8): 417-424 pp.
- Silver, H. et al. (2013). Comparison of Gross Body Fat-Water Magnetic Resonance Imaging at 3 Tesla to Dual-Energy X-Ray Absorptiometry in Obese Women. *Obesity biology and integrated physiology*. 21:4: 765-774 pp.
- Soriano C. et al. (2007). *Fundamentos en neurociencia. Aprendizaje y memoria*. Primera edición. Editorial UOC. 335-365 pp.
- Soriguer, F. (1994). *La Obesidad: Monografía de la Sociedad Española de Endocrinología. Obesidad y Riesgo Cardiovascular*. Edigrafos, S. A. Madrid, España. 35-37 pp.
- Sunyer, B. Et al. (2011). Barnes maze, a useful task to assess spatial reference memory in the mice. *Nature Protocols*. 349 pp.
- Sweatt, J. (2010). *Mechanisms of Memory. The Basic of Psychological Learning and Memory Theory*. 2ª Edition. Elsevier Inc. 5-47 pp.
- Tébar, F. et al. (2009). *La diabetes mellitus en la práctica clínica*. Médica Panamericana. Madrid, España. 126-127 pp.
- Tulving, E. (1972). Episodic and semantic memory. *Academic Press*. 30:48: 381-403 pp.

- Varela, M. et al. (2005). La memoria, función y juego para la enseñanza de la medicina. Aprendizaje y memoria: vías y mecanismos responsables. 1ª edición. Editorial Médica Panamericana S. A. de C. V. 67-73 pp.
- Velasco, M. et al. (2012). Metabolic syndrome induces changes in KATP-channels and calcium currents in pancreatic β -cells. *Islets*. 4(4): 302-311pp.
- Ward, L. et al. (2009). Assessment of body composition of rats by bioimpedance spectroscopy validation against dual-energy X-ray absorptiometry. *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation*. 36:3:253-261 pp.
- Watson, G. et al. (2004). Modulation of memory by insulin and glucose: neuropsychological observations in Alzheimer's disease. *European Journal of Pharmacology*. 490:97– 113 pp.
- Wrigh, D. et al. (1983). Sucrose-induced insulin resistance in the rat: modulation by exercise and diet. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 38: 879-883 pp.
- Yau, L. et al. (2012). Obesity and Metabolic Syndrome and functional and Structural Brain Impairments in Adolescence. *Official Journal of American Academy of Pediatrics*. 130:E856.DOI: 10.1542/peds.2012-0324 pp.
- Young, S. Mainous, A. Carnemolla, M. (2006). Hyperinsulinemia and Cognitive Decline in a Middle-Aged Cohort. *Diabetes Care*. 29:12: 2688-2693 pp.

- Zhong, Y. et al. (2012). Hyperinsulinemia, Insulin Resistance and Cognitive Decline in Older Cohort. *Biomedical and Environmental Sciences*. 25:1: 8-14 pp.