



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA CELULAR

BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

**PROTEÍNA ACÍDICA FIBRILAR GLIAL SÉRICA COMO BIOMARCADOR DE DAÑO
CEREBRAL INDUCIDO POR DIETA Y SU RELACIÓN CON LA FUNCIÓN COGNITIVA**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

LORELEI XIADANI AYALA GUERRERO

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. KIOKO RUBÍ GUZMÁN RAMOS
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA, UNIDAD LERMA

COTUTOR DE TESIS: DR. FEDERICO BERMÚDEZ RATTONI
INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA CELULAR, UNAM

COMITÉ TUTOR: DRA. MARTHA LILIA ESCOBAR RODRÍGUEZ
FACULTAD DE PSICOLOGÍA, UNAM

Ciudad Universitaria, CD.MX.

Diciembre 2020



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.

COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
ENTIDAD INSTITUTO DE FISILOGIA CELULAR
OFICIO CPCB/681/2020
ASUNTO: Oficio de Jurado

DR. VÍCTOR HUGO ANAYA MUÑOZ
Director de Certificación y Control Documental
Dirección General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que el Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, en su sesión extraordinaria (virtual), celebrada del día 7 de octubre de 2020, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en el campo de conocimiento de Biología Experimental de la estudiante **AYALA GUERRERO LORELEI XIADANI** con número de cuenta 308001220 con la tesis titulada "Proteína ácida fibrilar glial sérica como biomarcador de daño cerebral inducido por dieta y su relación con la función cognitiva", realizada bajo la dirección de la Dra. Kioko Rubí Guzmán Ramos, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente: DRA. CAROLINA ESCOBAR BRIONES
Vocal: DRA. ISABEL ARRIETA CRUZ
Secretario: DRA. MARHA LILIA ESCOBAR RODRÍGUEZ
Suplente: DR. LUIS BERNARDO TOVAR Y ROMO
Suplente: DRA. PAOLA GARCÍA DE LA TORRE

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 19 de octubre de 2020

COORDINADOR DEL PROGRAMA



DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA



AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Al **Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM** por su apoyo académico y administrativo para la realización de mis estudios de maestría

A los **apoyos económicos** recibidos para este trabajo: FOSSIS-CONACYT 273308 y Fondos del Departamento de Ciencias de la Salud UAM Lerma a la **Dra. Kioko Rubí Guzmán Ramos**; FONCICYT-DADC 273553 OBETEEN, CB250880 de CONACYT y DGAPA PAPIIT IN210817 al **Dr. Federico Bermúdez Rattoni**. Así como al **CONACYT por otorgar la beca nacional** con el número de registro de becario CVU 927599 del periodo comprendido entre agosto 2018 a agosto 2020.

A la **Dra. Kioko Rubí Guzmán Ramos**, mi tutora principal, todas su enseñanzas y asesorías para poder realizar este proyecto, así como la confianza y paciencia brindada durante estos dos años, así como al **Dr. Federico Bermúdez Rattoni**, mi cotutor, por permitirme trabajar en su laboratorio, por todas las ideas y comentarios para mejorar el proyecto.

A los miembros de mi comité tutorial, así como a los miembros del jurado, **Dra. Martha Lilia Escobar Rodríguez, Dra. Carolina Escobar Briones, Dra. Isabel Arrieta Cruz, Dr. Luis Bernardo Tovar y Romo y a la Dra. Paola García de la Torre** por revisar la tesis y aportar valiosos comentarios que enriquecieron el trabajo.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A mis padres, **Moises Ayala Gutierrez** y **Ma. Angélica Guerrero Hernández**, por su incondicional e infinito amor y a mis hermanas, **Claudia Ayala Guerrero** y **Karen Ayala Guerrero** por seguir acompañándome en cada instante con risas y mucho amor.

A mis tíos, **Laura Trejo Hernández**, **Enrique Guerrero Hernández** y **Guillermo Trejo Hernández** por ser un ejemplo para seguir de trabajo y dedicación constante.

A mi compañero de vida, **Daniel Atilano Barbosa** por motivar mis sueños, por compartir logros académicos y personales juntos con amor y cuidado. Te admiro y amo mucho.

A mis amigos de ayer y hoy: **Vianny Flores**, **Damara Zamora**, **Carlos Cruz**, **Karen Nopal**, **Jacqueline Jiménez**, **Paty Nava**, **Susana González**, **Paola Castro**, **Tania Taylor**, **Diana Juárez**, **Jazmín Tecillo** y **Mildred Salgado** por su bella amistad y por aquellas pláticas por Zoom que hicieron más amena la cuarentena, me alegra seguir teniéndolos junto a mí.

En especial a **Kioko Guzmán**, por enseñarme con paciencia y cariño, más que una tutora eres una amiga para mí, te admiro y respeto mucho. Gracias por brindarme tu confianza, amistad y conocimientos. Espero seguir colaborando juntas en un futuro. ¡Te quiero mucho!

A mis amigos de la ciencia **Daniel Osorio**, **Pamela Salcedo**, **Susana Hernández** y **Saúl Gutierrez** (ahora sí escribí bien tu nombre jaja) por todos los bellos y divertidos momentos compartidos en el laboratorio, por las pláticas y risas interminables en la terraza y por todas las salidas a comer de los viernes. Definitivamente, todo es más divertido a su lado, los quiero mucho.

A mis amigos y compañeros del laboratorio BL-201: **Lucia Landa**, **Cintia Velázquez**, **Andres Agoitia**, **Eduardo Hernández**, **Arturo Hernández**, **Lesly Cruz**, **Karla Medina**, **Brenda Linares**, **Donovan Márquez**, **Elvi Gil**, **Gerardo Ramírez** y **Óscar Urrego** por todos los buenos momentos compartidos dentro y fuera del laboratorio y por sus valiosos comentarios durante los seminarios.

Al técnico académico del laboratorio el **Dr. Luis Fernando Rodríguez Durán**, así como a **Marisela Hernández Aguilar** por su invaluable ayuda en el laboratorio.

A los miembros de la Unidad de Imagenología del IFC, **la Dra. Ruth Rincón Heredia** y en especial, al **Dr. Abraham Rosas Arellano** por la enseñanza y la ayuda con la microscopía confocal.

Este trabajo se realizó en el laboratorio de Fisiología Integrativa y de Sistemas a cargo de la Dra. Kioko Rubí Guzmán Ramos, en el departamento de Ciencias de la Salud de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la UAM unidad Lerma, en conjunto con el laboratorio de Neurobiología del aprendizaje y la memoria a cargo del Dr. Federico Bermúdez Rattóni, en el departamento de Neurociencia Cognitiva de la división de Neurociencias del Instituto de Fisiología Celular, UNAM.

CONTENIDO

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
1. ANTECEDENTES	3
1.1 Trastornos metabólicos por dieta hipercalórica.....	3
1.2 Obesidad e Inflamación.....	4
1.3 Neuroinflamación por dieta hipercalórica y su repercusión en la memoria.....	5
1.3.1 Dieta hipercalórica y memoria.....	5
1.3.2 Inflamación y memoria.....	7
1.4 Astrocitos.....	8
1.4.1 Astrocitos y comunicación sináptica.....	8
1.4.2 Respuesta astrocítica ante daño inflamatorio: Astrogliosis.....	9
1.5 Proteína Ácida Fibrilar Glial (GFAP).....	11
1.5.1 GFAP en suero	12
1.6 Envejecimiento e Inflamación	14
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	16
3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	17
3.1 Hipótesis.....	17
3.2 Objetivo General.....	17
3.3 Objetivos Particulares.....	17
4. METODOLOGÍA	18
4.1 Animales y dieta.....	18
4.2 Curva de Tolerancia a la Glucosa (CTG).....	18
4.2.1 Protocolo.....	19
4.3 Memoria Espacial: Laberinto Acuático de Morris.....	19
4.3.1 Material WM.....	19
4.3.2 Protocolo conductual WM.....	20
4.3.3 Evaluación WM.....	20
4.4 Eutanasia, extracción de estructuras cerebrales y suero.....	20
4.5 Inmunofluorescencia.....	20
4.5.1 Protocolo Inmunofluorescencia.....	21
4.6 Microscopía confocal.....	21
4.6.1 Análisis de Sholl.....	22
4.7 ELISA.....	22
4.7.1 Protocolo ELISA.....	22
4.8 Análisis estadístico.....	23

5. RESULTADOS	24
5.1 Cambios metabólicos por consumo de dieta hipercalórica.....	24
5.1.1 Cambios en peso, grasa gonadal y glucosa basal.....	24
5.2 Cambios metabólicos asociados a la edad.....	24
5.2.1 Cambios en peso, grasa gonadal y glucosa basal.....	24
5.3 Curva de tolerancia a la glucosa por dieta hipercalórica.....	25
5.4 Curva de tolerancia a la glucosa en el envejecimiento.....	26
5.5 Déficit cognitivo por el consumo de dieta hipercalórica.....	27
5.6 Déficit cognitivo asociado a envejecimiento.....	29
5.7 Expresión de GFAP hipocampal tras la ingesta de una dieta hipercalórica.....	31
5.8 Expresión de GFAP hipocampal en el envejecimiento.....	32
5.9 Cuantificación de GFAP sérico.....	34
5.10 Correlación GFAP sérico con parámetros metabólicos.....	35
5.11 Correlación GFAP sérico con parámetros conductuales.....	36
5.12 Correlación de GFAP sérico con GFAP central.....	37
6. DISCUSIÓN	39
7. CONCLUSIÓN	46
8. REFERENCIAS	47
9. ANEXOS	55
ANEXO 1. Correlaciones simples entre todos los parámetros.....	55

RESUMEN

Uno de los principales problemas de salud pública en el mundo es la alta prevalencia de sobrepeso y obesidad. La causa fundamental de estos trastornos metabólicos es un desequilibrio energético entre las calorías gastadas y consumidas, junto con el aumento de conductas sedentarias desde edades tempranas. En consecuencia, aumenta la prevalencia de problemas cardiovasculares, dislipidemias, enfermedad hepática, inflamación, síndrome metabólico y diabetes mellitus tipo 2, enfermedades crónicas no transmisibles y costosas para el sector salud. Junto a las consecuencias periféricas de tales estados, existe un mayor riesgo de sufrir deterioro cognitivo, que se presenta de forma natural hasta edades avanzadas. Tanto el envejecimiento como los trastornos metabólicos están asociados con la producción de estrés oxidante en el cerebro y con neuroinflamación, estos estados son considerados como los principales culpables del desarrollo de dicho deterioro cognitivo. Los astrocitos son las células más abundantes del cerebro y responden a cualquier tipo de insulto cerebral a través de la astrogliosis. Una característica de la astrogliosis es el aumento de la proteína ácida fibrilar glial (GFAP); esencial para el crecimiento y la proliferación de astrocitos cuya expresión es predominantemente en el sistema nervioso central. Se ha reportado que la astrogliosis aumenta durante el envejecimiento y después de la exposición a una dieta alta en grasas en ratones jóvenes, por lo que es posible que GFAP sérico sea un buen biomarcador periférico de lesión central y nos ayude a predecir el comienzo del deterioro cognitivo. Para probar esta hipótesis, primero analizamos el desempeño cognitivo y la morfología de los astrocitos en el hipocampo dorsal (HD) de ratones C57BL/6 machos y hembras de 5 (n=17), 10 (n=15), 15 (n=17), y 19 (n=18) meses. Luego, analizamos los mismos parámetros de ratones destetados machos y hembras C57BL/6 (n=13) expuestos durante 5 meses a una dieta compuesta por 10% de fructosa y 60% de grasas del aporte calórico total. Encontramos una disminución progresiva de la función cognitiva en tareas de memoria dependientes de HD, como el laberinto acuático de Morris en el envejecimiento normal. Por otro lado, en ratones adultos la dieta alta en grasas/fructosa induce aumento de peso, adiposidad central, intolerancia a la glucosa y causa deterioro cognitivo comparable al de ratones viejos. El análisis de Sholl mostró ligeros cambios morfológicos en los astrocitos del HD del grupo con dieta alta en grasas/fructosa. Sin embargo, no encontramos cambios en los niveles séricos de GFAP entre los grupos, lo que indica que, en estas condiciones, el GFAP sérico no es un buen biomarcador periférico, por lo que sugerimos examinar los niveles séricos de GFAP en etapas avanzadas de daño central.

ABSTRACT

One of the main public health problems in the world is the high prevalence of overweight and obesity. The fundamental cause of these metabolic disorders is an energy imbalance between the expended and the consumed calories, together with the increase of sedentary behaviors from early ages. In consequence, it is evident an increase of the prevalence of cardiovascular problems, dyslipidemias, liver disease, inflammation, metabolic syndrome and type II diabetes mellitus, chronic non-communicable diseases that are expensive for the health sector. Along with the peripheric consequences of such states, there is an increased risk to suffer cognitive impairment, which occurs naturally until advanced ages. Both, aging and metabolic disorders are associated with production of oxidative stress in the brain and neuroinflammation which is considered a main culprit of the development of such cognitive impairment. Astrocytes are the most abundant cells in the brain and respond to any type of brain insult through astrogliosis. One hallmark of astrogliosis is the increase of glial fibrillar acidic protein (GFAP); essential for the growing and proliferation of astrocytes which expression is predominantly in the central nervous system. It has been reported that astrogliosis increase during aging and after exposure to a high-fat diet in young mice, so it is possible that serum GFAP would be a good peripheral biomarker of central injury and aid us to predict the beginning of cognitive impairment. To test this hypothesis, first we analyzed the cognitive performance and astrocyte morphology on dorsal hippocampus (DH) from male and female C57BL/6 mice of 5 (n=17), 10 (n=15), 15 (n=17), and 19 (n=18) months. Then, we analyzed the same parameters from male and female C57BL/6 weaning mice (n=13) exposed during 5 months to a diet composed of 10% fructose and 60% caloric intake from fat. We found a progressive decline of cognitive function in DH dependent memory tasks such as Morris's water maze in normal aging. On the other hand, high fat/fructose diet in adult mice induces increased weight, central adiposity, glucose intolerance and causes cognitive impairment like older mouse. Sholl analysis showed slight morphological changes in DH astrocytes from high fat/fructose group. However, we did not find changes in serum GFAP levels among groups, indicating that, under these conditions, serum GFAP is not a good peripheral biomarker, so we suggest examining serum GFAP levels in advanced stages of central damage.

1. ANTECEDENTES

1.1 Trastornos metabólicos por dieta hipercalórica

La causa fundamental de los trastornos metabólicos es un desequilibrio energético entre calorías consumidas y gastadas sumado a un aumento en conductas sedentarias. En el contexto de México, en el último siglo la dieta ha aumentado su contenido energético en un 26% más de hidratos de carbono y 36% más grasas, y se ha reducido el tiempo que se destina a realizar algún tipo de actividad física (Wacher-Rodarte, 2009). A su vez, en todo el mundo existe un aumento en el consumo de bebidas azucaradas del 16%, en tan solo 20 años se aumentó de 56 g a 65 g de azúcar por día (Esquivel-Solís & Gómez-Salas, 2007). Dichos patrones de consumo llevan a diferentes patologías relacionadas a daños metabólicos como el sobrepeso, obesidad, síndrome metabólico y diabetes.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el sobrepeso y la obesidad se definen como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud (OMS, 2016). Un parámetro útil para medir el sobrepeso y la obesidad es el índice de masa corporal (IMC) el cual relaciona el peso y la talla de un individuo, un IMC igual o superior a 25 corresponde a sobrepeso y un IMC igual o superior a 30 se considera obesidad. A pesar de que el IMC es ampliamente utilizado en el sector clínico, sólo nos proporciona un panorama general del individuo, lo que realmente determina la predisposición a enfermedades metabólicas es la localización de este exceso de grasa corporal. Si la grasa corporal extra está limitada de manera subcutánea se dice que es un sujeto obeso, pero metabólicamente sano. Por otro lado, si esta grasa extra se deposita de manera visceral, en órganos como el músculo, tejido cardíaco, hígado o páncreas, se correlaciona con un perfil de riesgo metabólico alterado (Alegría-Ezquerria et al., 2008).

Otra de las consecuencias asociadas al desequilibrio energético entre calorías consumidas y gastadas es el síndrome metabólico (SM), el cual es un conjunto de signos como la resistencia a la insulina (glucosa en ayuno mayor que 100 mg/dL), intolerancia a la glucosa (glucosa por encima de 140 mg/dL después de 2 h de la ingesta) y dos o más de los siguientes criterios: obesidad, triglicéridos en plasma por arriba de los 150 mg/dL, colesterol de alta densidad (HDL) menor de 35-39 mg/dL y presión arterial de 140/90 mm/Hg (Alegría-Ezquerria et al., 2008; Chávez et al., 2002). La prevalencia del SM para México según la Federación Internacional de Diabetes (FID) es del 54.4%, siendo el 20% niños y

adolescentes, esta condición en etapas tempranas de la vida asociada con la salud en la edad adulta (Wacher-Rodarte, 2009).

La obesidad y el SM a su vez son factores de riesgo para desarrollar diabetes mellitus tipo 2 (DMT2). El 90% de los casos de DMT2 son atribuibles al sobrepeso y la obesidad causadas por una dieta alta en grasas y la falta de ejercicio (Salud, 2010). En México existen 6,4 millones de mexicanos con diabetes, de los cuales el 99% es de tipo 2 y se estima que este número de personas aumente a 300 millones para el 2025 (FID, 2013).

Si bien el sobrepeso y la obesidad se presenta en todos los grupos de edad, en los últimos seis años estas prevalencias tuvieron mayor incremento en niños y adolescentes mexicanos (Campos et al., 2018), lo cual ha llevado a nuestro país a ocupar el segundo lugar en el mundo con obesidad en adultos y el primer lugar en obesidad infantil. Esto, además de representar un problema de salud pública, implica el incremento de enfermedades desde etapas tempranas, ya que el mantener un trastorno metabólico como los antes mencionados por un largo plazo ha sido asociado con inflamación crónica (Hotamisligil, 2006), con cambios tempranos en procesos cognitivos como aprendizaje, memoria, flexibilidad mental, rapidez mental y desarrollo de enfermedades neurodegenerativas (Sims-Robinson, 2010).

1.2 Obesidad e Inflamación

La obesidad es una condición crónica compleja que principalmente se debe a un desbalance entre la energía ingerida y la gastada resultando en una acumulación excesiva o anormal de grasa en el tejido adiposo (Blancas-Flores, 2010). El crecimiento patológico del tejido adiposo existente en respuesta a la sobre nutrición se ha asociado a una insuficiente vascularización de este y por lo tanto una pobre oxigenación del tejido. La hipoxia del tejido adiposo ha sido considerada como un factor importante para la expresión de factores proinflamatorios como el factor de necrosis tumoral α (TNF α), interleucina 6 (IL-6), interleucina 1 beta (IL-1 β), interleucina 8 (IL-8), interleucina 10 (IL-10), interleucina 15 (IL-15) y proteínas quimio atrayentes de monocitos (MCP-1) (Wellen & Hotamisligil, 2003; Xu, 2014).

En particular, el tejido adiposo contiene fibroblastos, preadipocitos, adipocitos y macrófagos, todas estas células son las responsables de la producción de estos mediadores proinflamatorios que contribuyen a una inflamación sistémica (Blancas-Flores, 2010). De manera complementaria, en la obesidad existe una respuesta anti inflamatoria inadecuada con la reducción de antioxidantes y de citocinas anti inflamatorias, lo que

favorece el incremento de estrés oxidante y el establecimiento de una inflamación crónica de bajo grado (Joseph et al., 2009).

Bajo ciertas condiciones inflamatorias, los preadipocitos tienen la capacidad de diferenciarse en macrófagos, sugiriendo que los adipocitos también juegan un rol inmunológico importante (Gregor & Hotamisligil, 2011). A su vez, la infiltración de macrófagos proinflamatorios al tejido adiposo se ha considerado un evento crucial para el desarrollo y mantenimiento de la inflamación crónica inducida por obesidad (Wellen & Hotamisligil, 2003). Dentro de las vías de señalización activadas por estos mediadores inflamatorios se encuentra la vía asociada a receptores tipo Toll (TLR, por sus siglas en inglés) (Blancas-Flores, 2010). La activación de estos receptores conlleva a la fosforilación de tres cinasas importantes como la cinasa c-Jun N-terminal (JNK), cinasas activadoras (IKK) y la proteína cinasa R (PKR), las cuales están relacionadas en señales de estrés celular (Gregor & Hotamisligil, 2011). Estas tres cinasas pueden inducir una respuesta inflamatoria mediante la activación de factores transcripcionales como el factor de transcripción nuclear kappa B (NF-κB) el cual es esencial en el inicio de la cascada inflamatoria (Hotamisligil, 2006; Xu, 2014).

De tal manera, la inflamación inducida por obesidad está caracterizada por: 1) tener un origen metabólico, demostrado por una respuesta inflamatoria marcada inducida por la sobre ingesta de nutrientes y orquestada por células del sistema inmune, 2) un incremento en la expresión local de mediadores inflamatorios inducidos por sensores como IKK y JNK, 3) se mantiene gracias a la modificación del medio adyacente afectando y estimulando a células vecinas y d) se mantiene de manera crónica sin aparente resolución (Gregor & Hotamisligil, 2011).

Finalmente, la activación de estas vías proinflamatorias no sólo se ha estudiado en tejido adiposo, se ha observado inflamación en otros tejidos como el hígado, músculo, páncreas, intestino y más recientemente regiones centrales como el hipotálamo. La microglía, los macrófagos residentes del sistema nervioso central (SNC), pueden ser activadas por señales proinflamatorias periféricas y secretar más citocinas proinflamatorias en el cerebro, lo que promueve neuroinflamación (Xu, 2014).

1.3 Neuroinflamación por dieta hipercalórica y su repercusión en la memoria

1.3.1 Dieta hipercalórica y memoria

El aprendizaje es el proceso mediante el cual se adquiere información relevante del entorno a través de procesos perceptivos mientras que la memoria es un proceso dinámico de almacenamiento, organización y decaimiento de la información adquirida con el paso

del tiempo (Aguado-Aguilar, 2001). Ambos procesos resultan ser adaptaciones de los circuitos cerebrales al entorno que le permitirán al organismo realizar asociaciones entre estímulos.

Existen factores genéticos, patológicos y ambientales que pueden incidir sobre los procesos de aprendizaje y memoria (Gomez-Pinilla, 2008; Selkoe, 2002; Tang et al., 1999). Uno de los factores ambientales que mantiene una relación directa con el tamaño cerebral y el desarrollo de habilidades cognitivas es el tipo de alimentación (Cardoso et al., 2016) en específico, los componentes que se ingieren de la dieta tienen un efecto directo en procesos cognitivos como en el aprendizaje y la memoria (Gomez-Pinilla, 2008).

Sin embargo, no todos los componentes de la dieta son benéficos para la función cognitiva. Se ha reportado que la ingesta de dietas hipercalóricas, enriquecidas en ácidos grasos saturados y carbohidratos simples (como la glucosa o fructosa), provocan resistencia a la insulina (Greenwood & Winocur, 2005), intolerancia a la glucosa relacionada a deficiencias cognitivas en tareas operantes (Messier et al., 2007; Mielke et al., 2006), aumento de triglicéridos en plasma relacionado a fallas en memoria espacial (Ross et al., 2009) evaluadas tanto a corto como a largo plazo (Soares et al., 2013) y aumento de leptina en plasma relacionado a fallas en la plasticidad sináptica (Calvo-Ochoa et al., 2014; Valladolid-Acebes et al., 2012).

Los reportes antes mencionados confirman el efecto deletéreo del consumo de dietas hipercalóricas sobre tareas o modelos de memoria. De manera interesante, se ha identificado que la adolescencia es una etapa vulnerable ante estos daños inducidos por dieta, ya que los organismos continúan en desarrollo, y de manera específica, esta etapa es crucial para la maduración hipocampal (Del Olmo & Ruiz-Gayo, 2018). Se ha reportado que sólo los animales jóvenes expuestos a dieta hipercalórica presentan alteraciones en la memoria espacial comparado con los adultos con dieta hipercalórica, esto evaluado mediante el laberinto acuático de Morris (Boitard et al., 2014), una tarea de reconocimiento de objeto en lugar (OLM) y al evaluar la eficiencia sináptica con un modelo de potenciación a largo plazo (LTP) hipocampal (Khazen et al., 2019). De tal manera, el consumo de dietas hipercalóricas desde la juventud es más detrimental que si se inicia en la adultez, por lo que, probablemente el impacto cognitivo a largo plazo sea mayor.

Sin embargo, aún no queda claro el mecanismo por el cual se esté desregulando la función cognitiva por la ingesta de estas dietas. Se ha propuesto que las dietas hipercalóricas afectan tareas de aprendizaje y memoria tanto en roedores como en humanos (Kanoski & Davidson, 2011; Soares et al., 2013) particularmente alterando la

plasticidad sináptica mediante la disminución de espinas dendríticas hipocampales (Stranahan et al., 2008) o la disminución de neurotrofinas (Molteni et al., 2002). Adicionalmente, un evento en común que se ha identificado en diversos grupos de investigación es la inflamación central asociada al consumo de dietas hipercalóricas (Calvo-Ochoa et al., 2014; Pistell et al., 2010; White et al., 2009; Zhao et al., 2015), la cual se cree que podría ser la responsable de las desregulaciones previamente mencionadas.

1.3.2 Inflamación y memoria

En condiciones normales, la síntesis de mediadores inmunes se da de manera puntual y regulada. Se ha descrito la participación fisiológica de citocinas proinflamatorias tales como la IL-1 β , IL-6 y TNF α (Donzis & Tronson, 2015) en procesos de memoria como la adquisición de una tarea de miedo (Goshen et al., 2007), una tarea espacial (Braidá et al., 2004) y en el establecimiento del LTP (Balschun et al., 2003). Sin embargo, cualquier desbalance en el rango fisiológico de estos mediadores inmunes puede resultar en una inflamación persistente, la cual se ha relacionado con daños en la memoria que se mantienen aunque haya una resolución de la inflamación (Donzis & Tronson, 2015). Por ejemplo, infundir IL-1 β en el hipocampo dorsal de ratas daña la formación de un condicionamiento de miedo (Gonzalez et al., 2013) y una memoria espacial (Moore et al., 2009). Estos daños se han relacionado a una sobre excitabilidad neuronal, inhabilidad de inducir LTP, bloqueo de neurogénesis, apoptosis y neurodegeneración (Yirmiya & Goshen, 2010).

Dentro de los eventos que pueden causar un desbalance en la producción de mediadores inflamatorios en el SNC está la ingesta de dietas hipercalóricas y la presencia de trastornos metabólicos (Pistell et al., 2010). Este aumento de citocinas proinflamatorias (IL-1 β , TNF- α e IL-6) ha sido reportada en animales jóvenes con exposición a dietas hipercalóricas los cuales también presentaban problemas en la evocación de una memoria espacial (Boitard et al., 2014). Dicho estado inflamatorio inducido por dieta se puede encontrar tanto de manera sistémica como de manera central (Beilharz et al., 2016; Pistell et al., 2010) y dentro de las consecuencias más graves se encuentra un aumento en la permeabilidad de la barrera hematoencefálica (Kanoski et al., 2010).

Uno de los puntos de convergencia entre la neuroinflamación y la formación de la memoria son los astrocitos. Estos representan las células más abundantes del SNC y, junto con la microglía, son los encargados de responder ante un daño inflamatorio, causado por diferentes estímulos dañinos como un infarto, trauma, tumor, hipoxia, infección,

excitotoxicidad, exposición a dietas hipercalóricas o incluso a enfermedades neurodegenerativas (Berkseth et al., 2014), y de manera paralela tienen una participación activa durante la transmisión sináptica (Araque et al., 1999).

1.4 Astrocitos

En 1858, el médico alemán Rudolf Virchow acuñó con el término de neuroglia a aquél “pegamento” en el cerebro que mantenía unidas a las neuronas. Con el paso del tiempo y el avance de la tecnología se ha reconocido que aquella neuroglia o glía constituye más de la mitad del cerebro humano (Allen & Barres, 2009; Clarke et al., 2018) y que no sólo cumple la función de soporte neuronal, sino que interviene en la regulación de la fisiología neuronal.

La glía es un grupo heterogéneo de células nerviosas y dependiendo de su morfología, fisiología y localización en el cerebro se pueden identificar los siguientes tipos de glía: microglía, oligodendroglía y astrocitos (Reyes et al., 2014). En general, la microglía se encarga de la vigilancia inmune del SNC y participa en la remodelación sináptica durante el desarrollo del SNC (Kettenmann et al., 2013; Paolicelli et al., 2011). Por su parte, la oligodendroglía facilita la comunicación eléctrica entre las neuronas del SNC mediante la producción de mielina (Bergles & Richardson, 2016). Finalmente, los astrocitos son los encargados de regular la homeostasis cerebral, proveer energía y sustratos para la neurotransmisión (Sofroniew & Vinters, 2010), median la recaptura y reciclamiento de neurotransmisores y de iones (Perea & Araque, 2010), mantienen la integridad de la barrera hematoencefálica (Abbott et al., 2010), son capaces de recibir y responder ante la estimulación de factores tróficos o ante la estimulación de citocinas anti y pro inflamatorias (Buffo et al., 2010) y, de manera importante, participan activamente en la fisiología de la sinapsis tripartita (Araque et al., 1999).

1.4.1 Astrocitos y comunicación sináptica

Los astrocitos son subclasificados según su localización y morfología en fibrosos, que se encuentran asociados a los axones en la sustancia blanca, y en protoplasmáticos asociados a los somas neuronales y sinapsis en la sustancia gris (Sofroniew & Vinters, 2010). Logran comunicarse entre sí mediante incrementos intracelulares de calcio, las cuales pueden propagarse a través de uniones comunicantes conformadas por proteínas llamadas conexinas (Araque et al., 1999). Además de comunicarse entre sí, los astrocitos mantienen una estrecha comunicación con neuronas y dicha localización le permite responder, controlar y participar en la actividad sináptica (Perea & Araque, 2010). Incluso

se ha reportado que neuronas co-cultivadas con astrocitos desarrollan aproximadamente siete veces más sinapsis y su eficacia sináptica mejora siete veces más en comparación a aquellas neuronas que crecen en ausencia de astrocitos (Nedergaard et al., 2003).

Como ya se mencionó, la manera en que los astrocitos detectan la actividad neuronal es mediante una elevación de calcio intracelular (Santello et al., 2019). Esta señalización por calcio representa el sustrato de la excitabilidad celular en los astrocitos y puede ser dependiente de la señalización por glutamato durante la comunicación sináptica. La liberación de glutamato por la presinápsis causa una elevación de calcio en los astrocitos cercanos, este calcio sirve como comunicación con otros astrocitos vecinos que a su vez liberarán gliotransmisores que servirán de feedback para la neurona (Araque et al., 1999; Navarrete et al., 2013).

De esta forma, los astrocitos participan de manera activa monitoreando y respondiendo a la actividad sináptica mediante la liberación de gliotransmisores como la D-serina, glutamato, ácido gamma-aminobutírico (GABA), trifosfato de adenosina (ATP) o adenosina (Reyes et al., 2014; Santello et al., 2019). La importancia de estos gliotransmisores se ha demostrado mediante el bloqueo de su liberación. Pascual y colaboradores, inhibieron la liberación de gliotransmisores mediante la supresión del complejo de proteínas SNARE (involucradas en el anclaje vesicular a la membrana sináptica) y observaron alteraciones en la plasticidad sináptica, demostrando que la liberación de gliotransmisores por parte de los astrocitos sincroniza y modula la actividad sináptica (Pascual et al., 2005).

El hecho de que los astrocitos no sólo detecten la actividad sináptica, sino que sean capaces de liberar gliotransmisores que regulan la excitabilidad neuronal, demuestra la existencia de una comunicación bidireccional entre neuronas y astrocitos. Dicha comunicación es posible por la existencia de procesos astrocíticos peri sinápticos (PAPS), que como su nombre lo dice, son procesos astrocíticos que envuelven terminaciones sinápticas con una alta motilidad, por lo que pueden ir cambiando a lo largo del tiempo o dependiendo del tipo de comunicación sináptica que se esté llevando a cabo (Santello et al., 2019). A este tipo de comunicación neurona-astrocito se le ha denominado sinapsis tripartita.

[1.4.2 Respuesta astrocítica ante el daño inflamatorio: Astroglisis](#)

El cerebro es un órgano vulnerable al estrés oxidante debido a que su metabolismo requiere de una alta utilización de oxígeno (Angelova & Abramov, 2018); en el contexto de la neuroinflamación, dicho estrés oxidante podría ser la explicación del daño cognitivo al

favorecer la producción de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno que promueven el daño celular comprometiendo así las funciones neuronales (Serrano & Klann, 2004). Ante la presencia de este tipo de daño, los astrocitos son los principales componentes del sistema nervioso central encargados de proveer las defensas antioxidantes a las neuronas mediante la astrogliosis (Pekny & Nilsson, 2005).

La astrogliosis ha sido estudiada y definida por diversos autores como aquellos cambios moleculares, celulares y funcionales que presentan los astrocitos ante un daño al SNC (Buffo et al., 2010; Sofroniew, 2015). Estos cambios varían de manera progresiva según la severidad del insulto encontrándose principalmente dos fases de la astrogliosis: la primera es una fase aguda, en donde se reconoce una hipertrofia celular (astrocitos reactivos) con el fin de la restauración de la homeostasis celular, regulación del flujo sanguíneo, reparación de la barrera hematoencefálica (BHE), protección de la sinapsis, entre otras. La segunda, es una fase crónica de la astrogliosis, la cual implica una alteración en la función de los astrocitos, mediante la ganancia o pérdida de funciones que resultan benéficas o perjudiciales para las células adyacentes ya que pueden inhibir la formación de nuevas sinapsis, inhibición del crecimiento axónico, inhibición de la regeneración y recuperación neuronal, entre otros (Pekny & Pekna, 2014; Sofroniew & Vinters, 2010).

De esta manera, la respuesta inflamatoria en el SNC se caracteriza por una gliosis reactiva asociada a cambios morfológicos y proliferación de células gliales (principalmente astrocitos y microglía) (Giaume et al., 2007). Dentro de los cambios morfológicos asociados a los astrocitos reactivos se encuentra un aumento en el grosor celular y un aumento en sus prolongaciones mediante la expresión de proteínas de filamentos intermedios; por lo tanto, un aumento en las interdigitaciones entre procesos de diferentes astrocitos (Pekny & Nilsson, 2005; Sofroniew & Vinters, 2010). Además de los cambios morfológicos, un astrocito reactivo se puede identificar por su perfil secretor. Comúnmente, durante la astrogliosis se encuentra un aumento en la liberación de citocinas proinflamatorias como IL-6, TNF α , IL-10, un aumento de receptores tipo Toll que responden a mediadores inflamatorios como lipopolisacáridos (LPS), disminución en transportadores de glutamato (lo que causa excitotoxicidad) y aumento en la liberación de especies reactivas de oxígeno (Sofroniew & Vinters, 2010).

Una de las principales vías de señalización involucradas en el establecimiento de la astrogliosis es la vía IKK β -NF- κ B, esta vía se activa tras un insulto celular y promueve la transcripción de genes relacionados a citocinas proinflamatorias, lo que favorece la señalización inflamatoria. De la misma forma, el gen de la proteína ácida fibrilar glial

(GFAP) se activa en respuesta a la activación de dicha vía, el aumento de esta proteína de filamentos intermedios está estrechamente relacionado con la hipertrofia astrocítica (Douglass et al., 2017). Esta vía está involucrada en la plasticidad de los procesos astrocíticos y se ha demostrado que la sobre activación de esta vía de señalización en el hipotálamo desencadena problemas metabólicos relacionados a la obesidad, como la intolerancia a la glucosa (Sharif & Prevot, 2017). Por otra parte, ratones deficientes en IKK β alimentados con dieta hipercalórica, son resistentes a desregulaciones metabólicas (Zhang et al., 2017), así como la inhibición de dicha vía de señalización en el hipotálamo revierte los daños metabólicos causados por la exposición a dietas hipercalóricas (Douglass et al., 2017).

De tal manera, la exposición a dietas hipercalóricas correlaciona, en la mayoría de los casos, con astrogliosis en el SNC. En particular, esta astrogliosis se ha reportado junto con una disminución de espinas dendríticas en el hipocampo de ratas jóvenes expuestas a dieta hipercalórica (Boitard et al., 2014), disminución de proteínas vesiculares como la sinaptofisina (Calvo-Ochoa et al., 2014), aumento de la permeabilidad de la BHE asociado a inflamación (Pistell et al., 2010), neurodegeneración (Kanoski et al., 2010), cambios en la neurotransmisión glutamatérgica que impiden el establecimiento del LTP (Valladolid-Acebes et al., 2012), disminución de la glutamina sintasa (Del Olmo & Ruiz-Gayo, 2018), fallas en memoria de reconocimiento a largo plazo (Bondan et al., 2019) y problemas en la ejecución de memorias espaciales (Nagayach et al., 2014b).

1.5 Proteína Acídica Fibrilar Glial (GFAP)

Como ya se mencionó, para que suceda un cambio morfológico en los astrocitos reactivos se necesita la expresión al alza de genes como GFAP (Pekny et al., 2014). La proteína GFAP junto con vimentina y nestina, forman parte de las proteínas de filamentos intermedios de tipo III que constituyen el citoesqueleto de los astrocitos reactivos (Sofroniew & Vinters, 2010). Sin embargo, de estas tres proteínas, GFAP es la que ha sido ampliamente utilizada como marcador de astrocitos reactivos como no reactivos (Pekny & Nilsson, 2005).

El gen que codifica para GFAP se encuentra situado en el cromosoma 17q21 y su procesamiento resulta en 10 variantes o isoformas diferentes. La isoforma más abundante en el cerebro es la GFAP α la cual tiene 432 residuos de aminoácidos con un peso molecular de 48 a 50 kDa (Yang & Wang, 2015). GFAP también se expresa en células de Schwann en el sistema nervioso periférico y en la glía entérica del sistema nervioso entérico; sin

embargo, dicha expresión es mínima a comparación de la expresión encontrada en el SNC (Uhlén et al., 2015; Yang & Wang, 2015).

La proteína GFAP se expresa en forma de monómero y para comenzar el ensamblaje de los filamentos tiene que formar dímeros entre sí, luego tetrámeros, octámeros, etc. Una vez formada, puede sufrir modificaciones post traduccionales por proteínas cinasas como PKC o calcio calmodulina, las cuales pueden fosforilar los sitios Tir7, Ser8, Ser13, Ser17, Ser38 y Ser289, modificando en ensamble y desensamble de dichos filamentos. También puede sufrir modificaciones por parte de sirtrinas o acetilaciones en residuos de arginina. Finalmente, la proteólisis de GFAP está mediada por calpaínas que dan lugar a productos de degradación de la GFAP de pesos moleculares entre 38 a 44 kDa y, en condiciones pro apoptóticas, quien realiza la proteólisis son caspasas produciendo productos de degradación de la GFAP con un peso molecular de 20kDa (Petzold, 2015; Yang & Wang, 2015).

1.5.1 GFAP en suero

Se han encontrado productos de degradación de la GFAP o incluso la proteína completa de 50 kDa en suero de pacientes con daños severos en el SNC. La mayoría de los reportes han sido en pacientes con traumatismo craneoencefálico, en estos pacientes se puede detectar GFAP sérico tan solo a las 3 h del traumatismo y dichos niveles se pueden seguir detectando incluso 48 h después. Ya que la liberación de la GFAP hacia el torrente sanguíneo es relativamente rápida, se sugiere que la detección periférica de esta proteína puede ser un buen indicador de daño temprano y podría brindar información relevante en el diagnóstico y tratamiento del traumatismo (Missler et al., 1999). Confirmando estos hallazgos, otros grupos de investigadores han encontrado GFAP sérico en pacientes con alteraciones en el nervio óptico, pacientes con esclerosis múltiple, con glioblastoma (Tichy et al., 2015), en la enfermedad de Alexander (acumulación excesiva de la proteína GFAP), en la enfermedad de Alzheimer (Petzold, 2015) o en infartos isquémicos y hemorrágicos (McMahon et al., 2015).

Estos fragmentos de la GFAP en la periferia también pueden favorecer al aumento de auto anticuerpos contra GFAP en el torrente sanguíneo (Yang & Wang, 2015). Por ejemplo, en pacientes con traumatismo cerebral se han detectado en suero auto anticuerpos para GFAP después del 7 d del insulto (Zhang et al., 2014). De la misma manera, se han encontrado auto anticuerpos en pacientes viejos con la enfermedad de Alzheimer (Petzold et al., 2004). Un hallazgo de particular interés fue el encontrado por Oeckl y colaboradores, ellos reportan un aumento significativo de GFAP sérico en pacientes

con Alzheimer en comparación con sujetos con otro tipo de demencia. Adicionalmente, dichos niveles de GFAP sérico tuvieron una correlación negativa con el puntaje de la prueba mini mental que evalúa funciones cognitivas en general (Oeckl et al., 2019). Es decir, a mayores niveles de GFAP sérico, menor puntaje en la prueba cognitiva mini mental, lo que significa mayor deterioro cognitivo.

Todas estas evidencias sugieren que la detección de GFAP sérico podría reflejar la integridad central. Debido a que la GFAP se expresa mayormente en células del SNC, es altamente probable que la GFAP que se encuentre en la periferia tenga un origen central. Esto se puede explicar por el sistema glinfático, el cual es la principal vía de desechos del SNC, sirve como un drenaje de desechos o metabolitos del SNC a través de su conexión con la red linfática asociada a meninges (Benveniste et al., 2019). El sistema glinfático utiliza los túneles perivasculares formados por los canales de acuaporinas (AQP4) presentes en los astrocitos, por aquí se logra el intercambio de solutos entre el líquido cerebroespinal (LCR) y el líquido intersticial. Una vez mezclado el contenido de estos dos fluidos, este se traslada mediante los ventrículos y las meninges hasta ser desechados por los compartimentos venosos, las prolongaciones de los nervios craneales o la placa cribiforme y los ganglios linfáticos profundos, llegando finalmente al torrente sanguíneo para ser desechados vía renal (Jessen et al., 2015) (Figura 1).

Todos los estudios que se han mencionado hasta el momento, que detectan GFAP sérico después de un traumatismo o en presencia de una enfermedad neurodegenerativa, tienen en común que han sido en población adulta o envejecida. Se sabe, que durante el envejecimiento aumenta la astrogliosis del SNC y esto, a su vez, puede alterar el funcionamiento del sistema glinfático, dejando que se acumulen desechos celulares que pueden afectar la correcta comunicación sináptica (Jessen et al., 2015). Por lo que, estudiar GFAP sérico en etapas previas a la adultez o envejecimiento podría brindarnos una nueva herramienta diagnóstica temprana de gran ventaja, ya que la GFAP es altamente específica de astrocitos y estos están estrechamente relacionados con el funcionamiento cognitivo y con el sistema de drenaje glinfático.

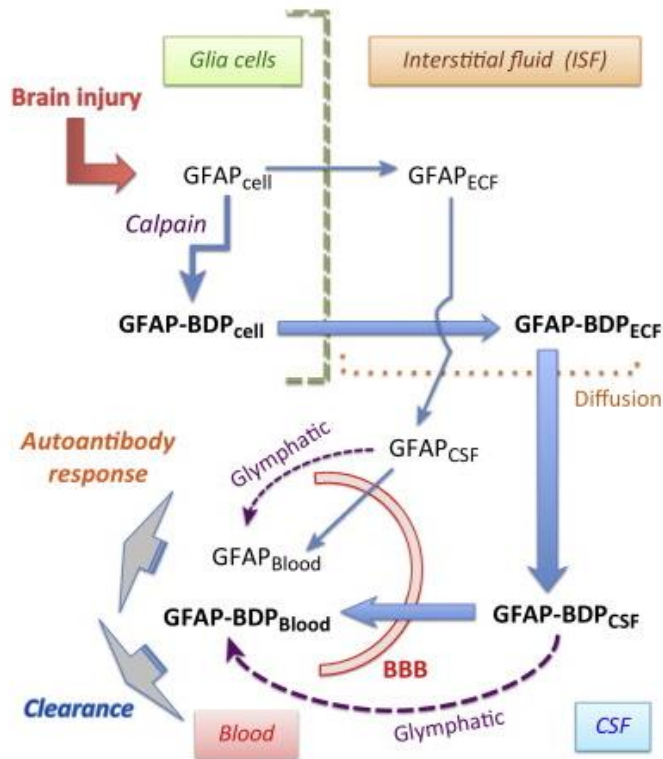


Figura 2. Liberación de la proteína GFAP o sus productos de degradación al torrente sanguíneo. Diagrama esquemático donde se puede ver la posible ruta de desecho de GFAP después de un daño cerebral. La proteína GFAP intacta puede ser trasladada al líquido intersticial (ISF) o al líquido extracelular (ECF), de ahí por difusión viaja junto con el líquido cerebroespinal (CSF) al espacio subaracnoideo en donde puede entrar directamente al seno venoso y ser trasladado hacia el torrente sanguíneo por el sistema glinfático. Los productos de degradación de la proteólisis de GFAP (GFAP-BDP) siguen casi el mismo camino, estos pueden viajar por difusión con el CSF hacia los ventrículos y de ahí atravesar la barrera hematoencefálica (BBB) o bien, ser desechados por el sistema glinfático hacia el torrente sanguíneo. Imagen modificada de (Yang & Wang, 2015).

1.6 Envejecimiento e inflamación

El envejecimiento es una etapa de la vida del ser humano acompañada comúnmente por un declive de diferentes funciones fisiológicas y psicológicas asociado a cambios en la estructura cerebral, atrofia de los hemisferios cerebrales, aumento en el tamaño de los surcos cerebrales, disminución en el grosor de la corteza cerebral y dilatación de los ventrículos (Sánchez Navarro & Román Lapuente, 1998).

Dichos cambios morfológicos impactan funcionalmente en la cognición del individuo, entre las funciones cognitivas que tienen un declive progresivo y natural durante el envejecimiento se encuentran aquellas llamadas “habilidades fluidas” que incluyen el razonamiento, la memoria y la velocidad de procesamiento (Salthouse, 2010). A pesar de que es un declive, la puntuación que llegan a obtener sujetos envejecidos saludables no sobrepasa el punto de corte para considerarlo déficit cognitivo (Jacqmin-Gadda et al., 1997). Sin embargo, estudios epidemiológicos más recientes han posicionado al envejecimiento como un factor de riesgo para la aparición de deterioro cognitivo (Mejia-Arango & Gutierrez, 2011). Este deterioro cognitivo se ha asociado a un declive en la homeostasis del sistema y una de las consecuencias de esta desregulación, es la activación

del sistema inmune innato, el cual favorece un estado proinflamatorio crónico y progresivo, dicho estado ha recibido el nombre de “*inflammaging*” (Xia et al., 2016).

Se ha reportado que la inflamación crónica de bajo grado que caracteriza al envejecimiento contribuye a la patogénesis de enfermedades relacionadas con la edad como la enfermedad de Alzheimer, la DMT2 o enfermedades cardiovasculares, mediante cambios en el metabolismo celular, en la proteostasis, aumento de estrés celular, daño a macromoléculas y una falla en la regeneración celular (Franceschi et al., 2018). Dichas alteraciones en la homeostasis celular podrían ser compensadas por los astrocitos; sin embargo, se ha reportado una hipertrofia astrocítica progresiva en animales sanos conforme envejecen, las consecuencias de esta astrogliosis crónica son fallas en la recaptura de glutamato, excitotoxicidad por glutamato y muerte neuronal, la cual podría ser la base de la neurodegeneración (Rodríguez-Arellano et al., 2016; Rodríguez et al., 2014). El envejecimiento a su vez promueve que la activación astrocítica se polarice hacia un tipo celular conocido como A1, el cual es un astrocito con fenotipo secretor pro inflamatorio (Clarke et al., 2018; Palmer & Ousman, 2018).

Si bien, el envejecimiento fisiológico conlleva un estado proinflamatorio por sí solo, se sabe que la mayoría de la población envejecida tiene trastornos metabólicos como SM, DMT2, sobrepeso y obesidad que, como ya se mencionó, promueven inflamación periférica y central. Finalmente, además de causar deterioro cognitivo o demencia, se ha demostrado que la exposición a dietas hipercalóricas en el envejecimiento aumenta la permeabilidad de la BHE (Duncombe et al., 2017; Elahy et al., 2015; Valcarcel-Ares et al., 2019), aumenta los niveles de GFAP indicando astrogliosis (Cohen & Torres, 2019; Rodríguez-Arellano et al., 2016) y altera el sistema glinfático, esencial para la limpieza del SNC y el principal involucrado en la salida de GFAP a la periferia (Benveniste et al., 2019; Jessen et al., 2015).

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Con los antecedentes mencionados, se sugiere que el estado inflamatorio asociado al consumo de dietas hipercalóricas podría favorecer el desarrollo de declive cognitivo (Navarrete-Reyes & Montaña-Álvarez, 2009). Si retomamos que la mayor incidencia de sobrepeso y obesidad se presenta desde etapas tempranas, en niños y adolescentes (Campos et al., 2018) y que el consumo de dietas hipercalóricas desde edades tempranas es un factor de riesgo para el desarrollo de trastornos neurocognitivos por incidir en un periodo de vulnerabilidad en el neurodesarrollo (Del Olmo & Ruiz-Gayo, 2018), entonces es probable que estos individuos se encuentren en un estado proinflamatorio constante que favorezca la aparición temprana de alteraciones metabólicas y cognitivas que tienen naturalmente una mayor incidencia en personas de edad avanzada (Munshi, 2017). Esto toma mayor relevancia en el contexto mexicano, ya que según cifras oficiales (CONEVAL, 2018) en México existen más de 9.6 millones de adultos mayores de 60 años y se espera que para el 2029 se duplique esta población; por lo tanto, la prevalencia de trastornos metabólicos y deterioro cognitivo asociados a la edad avanzada aumentará aún más si el individuo se expuso a dietas hipercalóricas desde edades tempranas.

Ante este escenario, resulta de gran relevancia la identificación de un biomarcador de fácil y accesible detección, con capacidad diagnóstica del estado central que pueda brindar información sobre posible daño central, adicional a las pruebas neuropsicológicas o análisis por imagenología cerebral. Ya que los astrocitos tienen un papel importante en procesos de memoria, son capaces de responder ante un daño inflamatorio como el provocado por dietas hipercalóricas, forman parte de la BHE (comunicación directa con la periferia) y además es posible detectar una de sus proteínas de citoesqueleto (GFAP) en el suero, en la presente tesis se pretendió evaluar si la GFAP sérica podría ser un buen candidato como biomarcador periférico de daño central inducido por la exposición temprana a una dieta hipercalórica. De ser así, se podría proponer como un biomarcador periférico no invasivo que permita determinar el nivel de riesgo de deterioro cognitivo en pacientes con trastornos metabólicos y así poder elaborar intervenciones oportunas para mejorar la calidad de vida del sujeto y procurar el envejecimiento saludable.

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1 Hipótesis

- Si GFAP es un buen marcador de daño central, entonces se encontrará elevada en suero, como reflejo de su incremento en áreas relacionadas con la memoria como el hipocampo, en animales jóvenes con alteraciones cognitivas y metabólicas inducidas por el consumo de una dieta hipercalórica; además dichos niveles de GFAP se relacionarán con la función cognitiva.

3.2 Objetivo General

- Evaluar la utilidad de GFAP sérico como marcador de daño central temprano inducido por el consumo de dieta hipercalórica y su relación con la memoria.

3.3 Objetivos Particulares

- Evaluar las desregulaciones metabólicas que produce el consumo de una dieta hipercalórica en animales jóvenes y compararlo con animales envejecidos.
- Evaluar el efecto del consumo de una dieta hipercalórica sobre la memoria espacial de animales jóvenes y compararlo con animales envejecidos.
- Determinar tanto los niveles como la relación de GFAP sérico y central en animales expuestos a dieta hipercalórica y compararlo con los animales envejecidos.
- Determinar la relación entre los niveles séricos y centrales de GFAP con indicadores de función de la memoria o del metabolismo de animales con dieta hipercalórica y compararlo con los animales envejecidos.

4. METODOLOGÍA

4.1 Animales y Dieta

Se utilizaron 40 ratones macho y 40 ratones hembra de la cepa C57BL/6J obtenidos del bioterio del Instituto de Fisiología Celular (IFC). Los animales fueron alojados en grupos de 3 a 4 ratones por caja a una temperatura de $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$ con ciclo luz/oscuridad de 12 h. Todos los procedimientos experimentales mencionados a continuación se realizaron entre las 7:00 y las 16:00 h. El manejo y sacrificio de los animales se realizaron de acuerdo con la norma oficial mexicana NOM-062-ZOO-1999 y con la aprobación del Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio del IFC (CICUAL) con número DOG158-20.

Los ratones fueron alimentados con dos dietas diferentes. La dieta control o normo calórica consistió en alimento estándar con 13% del aporte calórico proveniente de grasas (LabDiet® 5001, USA) mientras que la dieta experimental o hipercalórica consistió en alimento con 60% del aporte calórico de grasas más 10% de fructosa (m/m) (LabDiet® 58Y1, USA). El consumo de las dietas se realizó *ad libitum*.

Los ratones fueron asignados de manera aleatoria a los grupos señalados en la Tabla 1. La dieta normo calórica se administró en todo momento hasta la edad requerida mientras que la dieta alta en grasa y fructosa (Hipercalórica) fue administrada durante 5 meses comenzando desde el destete hasta los 5 meses de edad. En caso de que alguna medición no fuera tomada, la n final se reporta en la sección de resultados.

Tabla 1. Distribución de sujetos experimentales por grupo

Administración de dieta hasta los:	5mNC	5mHC	10mNC	15mNC	19mNC
Machos	9	7	7	8	9
Hembras	8	6	8	9	9

Dieta NC: Normo calórica, Dieta HC: Hipercalórica, m: meses.

4.2 Curva de Tolerancia a la Glucosa (CTG)

Esta prueba refleja la capacidad que tiene el organismo para metabolizar la glucosa circulante en sangre. Es una prueba de tipo estímulo-respuesta donde se reta al organismo con un bolo de glucosa y se monitorea la concentración de glucosa circulante en sangre a través del tiempo con un glucómetro.

En condiciones normales, la hormona insulina transporta la glucosa disponible en sangre hacia el interior de diferentes tejidos (Olivares-Reyes, 2008) y, como resultado, se

observa una disminución continua de glucosa en sangre. En cambio, sí se presenta alguna alteración metabólica en este proceso, los niveles de glucosa en sangre permanecen elevados en plasma por más tiempo indicando un estado de hiperglucemia o intolerancia a la glucosa.

4.2.1 Protocolo

Se privó a los animales de alimento y bebida por 6 horas (Andrikopoulos et al., 2008). Concluido el ayuno, se administró vía intraperitoneal una dosis de 2 g/Kg de glucosa (D-(+)-Glucosa, SIGMA). Inmediatamente después de la inyección se obtuvo una gota de sangre de la cola para determinar la concentración de glucosa. Dicha determinación se realizó con un glucómetro (Accu-Check® Performa) y se monitoreó durante los siguientes tiempos 15, 30, 60, 90 y 120 min después de la inyección. Finalizada la prueba se regresó al animal a su dieta correspondiente.

4.3 Memoria Espacial: Laberinto Acuático de Morris

La memoria espacial es la capacidad del organismo para recordar la localización, rutas o configuración espacial del entorno en el que se encuentra. Esto le permite organizar su repertorio conductual y realizar actividades esenciales como búsqueda de comida, conducta parental y reproductiva, regreso al nido o huida a un lugar seguro (Vicens et al., 2003). La principal región cerebral involucrada en la ejecución de tareas espaciales es el hipocampo (Riedel et al., 1999).

El laberinto acuático (WM, por sus siglas en inglés), fue propuesto por Richard Morris (Morris, 1984) como una herramienta para evaluar la memoria espacial en roedores. La tarea consiste en un laberinto acuático circular con una plataforma oculta bajo el agua y claves espaciales extra-laberinto. Durante la adquisición de la tarea, los animales tienen que localizar la plataforma oculta mediante el uso de las claves espaciales. Para evaluar la memoria a largo plazo, se retira la plataforma y se deja que el animal nade durante 60 s, se evalúa el número de cruces y la latencia de llegada al sitio donde debería encontrarse la plataforma.

4.3.1 Material WM

Se utilizó un tanque con un diámetro de 110 cm, altura de 65 cm y una plataforma de 12x12 cm, esta última se sumergió 0.5 cm debajo de la superficie del agua. El agua se enturbió con pintura blanca no tóxica y se mantuvo a una temperatura de 20-21°C durante los ensayos. La posición de las claves espaciales, la plataforma y del experimentador se mantuvieron constantes durante todo el experimento.

4.3.2 Protocolo conductual WM

Se entrenó a cada ratón con 4 ensayos al día durante 4 d consecutivos, el tiempo máximo para localizar la plataforma fue de 60 s; una vez en la plataforma, se dejó al ratón durante 10 s y posteriormente se colocó en una caja de descanso inter-ensayo por 25 s. Si el ratón a los 60 s no resolvía la tarea se le guiaba hasta llegar a la plataforma. La prueba de memoria a largo plazo se realizó 72 h después, para esto se retiró la plataforma y se colocó al ratón desde un punto aleatorio permitiéndole nadar durante 60 s en total. Esta fase fue video grabada para su posterior análisis.

4.3.3 Evaluación WM

En la fase de entrenamiento o adquisición se cronometró manualmente el tiempo de llegada a la plataforma de cada ratón durante cada ensayo. Para el análisis de la memoria a largo plazo se utilizaron los videos tomados durante la prueba, sobre el video se hizo una división para delimitar los cuatro cuadrantes, también se delimitó el área y posición original de la plataforma para cuantificar de manera más específica los siguientes parámetros: 1) latencia de llegada a la plataforma: es el tiempo requerido por el ratón desde el momento que se coloca en el agua hasta que llega al punto exacto donde se encontraba la plataforma y 2) número de cruces: es el número de veces que el ratón cruza con todo el cuerpo por el punto exacto donde se encontraba la plataforma. Adicionalmente, con el software ToxTrac versión 2.91 (Universidad de Coruña, España) se obtuvieron las trayectorias y la velocidad de nado de cada ratón.

4.4 Eutanasia, extracción de estructuras cerebrales y suero

La eutanasia se realizó con pentobarbital sódico en dosis letal. Se extrajo el cerebro completo y se sumergió en paraformaldehído 4% (para su posterior análisis por inmunofluorescencia). Se recolectó sangre de la vena porta en tubos previamente heparinizados y se dejó a temperatura ambiente por 30 min, para la obtención de suero se centrifugaron a 2000 rpm por 15 min.

4.5 Inmunofluorescencia

La inmunofluorescencia (IF) combina el uso de anticuerpos acoplados a fluoróforos con técnicas de imagenología para visualizar proteínas u otras moléculas de interés en células o tejidos previamente fijados. Dicha técnica permite visualizar localización, expresión relativa o estados de activación de las proteínas de interés con datos que pueden ser cuantificables.

4.5.1 Protocolo Inmunofluorescencia

Para la detección de GFAP cerebral se realizó IF en rebanadas de hipocampo dorsal con un grosor de 35 μm . Se eligieron dos cortes por animal con el fin de cubrir diferentes regiones de CA1 dorsal (regiones AP -1.855 y -2.35 mm) (Franklin & Paxinos, 2008). Primero se permeabilizó el tejido con Buffer PBS-Tritón 0.3% (3 lavados de 5 min), después se expusieron los epítomos con borohidruro de sodio (NaBH_4 1% en PBS, 3 min) y se lavó el tejido con PBS-Tritón 0.1% (3 lavados de 5 min). El bloqueo se realizó con 10% de suero de cabra (NGS, Vector) en PBS-Tritón 0.1% durante 1 h a temperatura ambiente. Finalmente, se incubó en flotación el anticuerpo primario anti-GFAP policlonal hecho en conejo (1:500; Dako, #catálogo Z0334) durante una noche en cuarto frío bajo agitación leve.

Al día siguiente se lavó el tejido con PBS-Tritón 0.1% (3 lavados de 5 min) para posteriormente incubar en flotación el anticuerpo secundario anti-conejo IgG Cy3 policlonal hecho en cabra (1:500; Millipore, Darmstadt Alemania, #catálogo AP132C) durante 90 min en oscuridad y a temperatura ambiente. Para retirar el exceso de anticuerpo, se lavó el tejido con PBS 0.1M (3 lavados de 5 min) y se realizó una tinción nuclear con DAPI 300 nM (Waltham Massachusetts, USA) durante 5 min. Finalmente, se lavó el tejido con PBS 0.1M (3 lavados de 5 min) y se montaron en portaobjetos silanizados (VWR, Leuven, Bélgica) con medio de montaje Dako (Dako, USA).

4.6 Microscopía Confocal

Todas las imágenes fueron obtenidas con un microscopio invertido Zeiss Axio Observer.Z1 con una unidad confocal LSM 800 y un objetivo de inmersión en aceite Plan-Apochromat 63x/1.4. Los parámetros de adquisición para el canal de GFAP fueron los siguientes: velocidad de adquisición, 4.12 $\mu\text{s}/\text{px}$; unidad de pinhole, 1 Airy (1AU); apertura de pinhole, 53 μm ; longitud de onda de excitación, 548nm y longitud de onda de emisión, 561 nm. Los parámetros de adquisición para el canal de DAPI fueron los siguientes: velocidad de adquisición 4.12 $\mu\text{s}/\text{px}$; unidad de pinhole, 1 Airy (1AU); apertura de pinhole, 42 μm ; longitud de onda de excitación, 353 nm y longitud de onda de emisión, 465 nm.

En todas las imágenes se obtuvo una resolución de 1024 x 1024 pixeles con un tamaño de 101.41 μm x 101.41 μm . Se analizaron 2 cortes de 35 μm por animal (8 a 10 animales por grupo) y a su vez por cada corte se eligieron al azar astrocitos del área CA1 del hipocampo dorsal, al final se obtuvieron de 8 a 10 astrocitos por animal. Para las reconstrucciones se tomaron los siguientes criterios: 1) El astrocito a analizar no podría tener más de un núcleo y 2) El astrocito a analizar debe tener la mayoría de sus procesos

íntegros. Para cada astrocito se obtuvo el número de Z-stacks necesarios para abarcar todas sus proyecciones con un intervalo inter corte de 1 μm (Tavares et al., 2017). La máxima proyección de intensidad de cada Z-stack fue obtenida usando el software ZEN 2.6 Blue Edition (Carl Zeiss, Jena, Germany).

4.6.1 Análisis de Sholl

Para el procesamiento de imágenes se utilizó el software FIJI de ImageJ 1.52V (Wayne Rasband, NIH, USA). Primero se aisló y se obtuvo el esqueleto del astrocito a analizar siguiendo el protocolo descrito por el grupo de Morrison (Young & Morrison, 2018), manteniendo un valor constante de 70 para el brillo-contraste en todas las imágenes. Posteriormente, se analizó la arborización de los procesos astrocíticos mediante la técnica de Sholl siguiendo el protocolo utilizado por el grupo de Fenton (Stanko & Fenton, 2017), para evitar cuantificar procesos que no correspondieran al astrocito de interés, únicamente se analizó la arborización de los procesos primarios y secundarios.

4.7 ELISA

El ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA, por sus siglas en inglés) utiliza una enzima como marcador para mediar la formación de complejos antígeno-anticuerpo.

4.7.1 Protocolo ELISA

Para la determinación de la GFAP sérica se utilizó un kit de ELISA con inmunoreactividad específica a proteínas de ratón (Mybiosource, California, USA #catálogo MBS266295) de acuerdo con las instrucciones del proveedor. En resumen, se colocaron 70 μL de suero sin diluir en los pozos del kit y fueron incubados a 37°C durante 90min. Luego se incubó con 100 μL de anticuerpo biotinilado anti-GFAP hecho en ratón (1:100) a 37°C durante 60 min, después de los lavados, se agregó 100 μL de conjugado enzimático acoplado a HRP (1:100) y se incubó a 37°C durante 30 min. Posteriormente, se agregó 100 μL del reactivo colorante (1:10) y se incubó en oscuridad a 37°C hasta que el gradiente de color apareciera (aproximadamente 30 min). Finalmente, la reacción se detuvo con 100 μL de reactivo C durante 10 min y la absorbancia de la reacción fue leída a 450 nm.

La concentración de GFAP se calculó con base en una curva de calibración estándar. La sensibilidad establecida del ensayo es de 12 pg/mL, con una precisión intra e inter-ensayo de $\leq 8\%$ y $\leq 12\%$, respectivamente.

4.8 Análisis Estadístico

Todos los análisis estadísticos se realizaron con el software GraphPad Prism versión 8.0 (GraphPad Prism Inc., San Diego, CA, USA) y con el software SPSS versión 24 (IBM, USA). Para los datos con una n mayor a 10 se comprobó el supuesto de normalidad con la prueba de *D'Agostino & Pearson* y para los datos con una n menor a 10 se comprobó con la prueba de *Shapiro-Wilk*, adicionalmente se identificaron outliers con la prueba de *Grubbs*. Para las comparaciones entre dos grupos con varianzas iguales se utilizó la prueba *t de Student para muestras independientes* y para la comparación entre dos grupos con varianzas diferentes se utilizó la prueba *t de Welch para muestras independientes*.

Para las comparaciones entre más de dos grupos con varianzas iguales se utilizó la prueba de *ANOVA de un factor* con una post-hoc de *Bonferroni*, mientras que los datos con varianzas diferentes se compararon con la prueba de *ANOVA Brown-Forsythe* con una post-hoc de *Dunnett T3*. El supuesto de homocedasticidad se comprobó con la prueba de *Barlett*. Para la prueba de *ANOVA factorial de medidas repetidas* se comprobó el supuesto de esfericidad con la prueba *W de Mauchly* y se utilizó una post-hoc de *Bonferroni*.

La relación entre el desempeño cognitivo o los parámetros metabólicos con los niveles de GFAP sérico o central se evaluaron con una correlación simple de *Pearson* o *Spearman* (Ver anexo 1). Para las variables sin distribución normal se utilizó la prueba de *U de Mann-Whitney* para la comparación de dos grupos y para la comparación de más de dos grupos se utilizó la prueba *Kruskal Wallis* con una prueba post-hoc de *Dunn* para el ajuste de múltiples comparaciones.

En el análisis de número de intersecciones vs distancia radial se utilizó una *Multiple t test*, ajustando las comparaciones múltiples con una post-hoc de *Bonferroni-Dunn*. En todas las pruebas estadísticas se consideraron significativos los datos con una $p \leq 0.05$.

5. RESULTADOS

5.1 Cambios metabólicos por el consumo de dieta hipercalórica

5.1.1. Cambios en el peso, grasa gonadal y glucosa basal

Tras cinco meses de consumo de dieta hipercalórica se encontró un aumento significativo del peso ($t_{(28)}=7.309$, $p<0.0001$) (Figura 2A), grasa gonadal ($t_{(12.16)}=8.896$, $p<0.0001$) (Figura 2B) y glucosa basal ($t_{(28)}=3.300$, $p=0.0026$) (Figura 2C) en comparación a los animales controles de la misma edad.

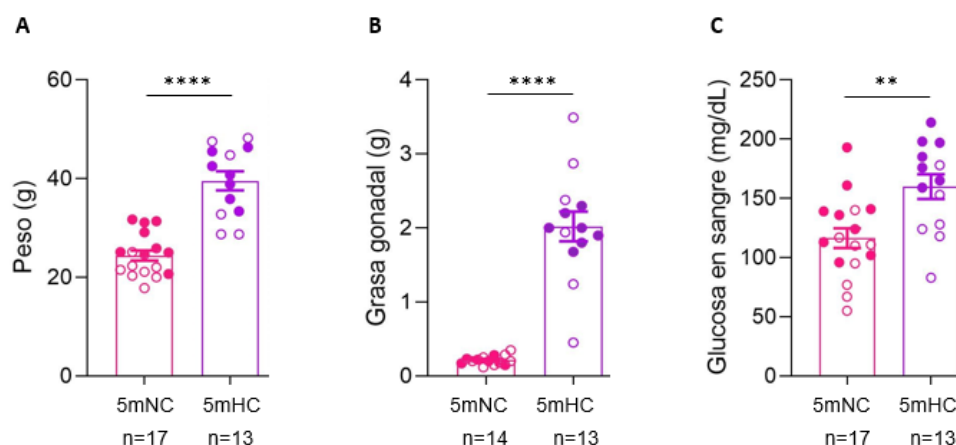


Figura 2. El consumo de la dieta hipercalórica provocó alteraciones metabólicas. Se muestra el peso final (A), la grasa gonadal (B) y la glucosa basal (C) de animales control y animales con dieta hipercalórica. Los datos representan el promedio \pm error estándar. Para grasa gonadal se analizó con *Welch t-test*, el peso y la glucosa basal se analizó con *Student t-test*. **** $p<0.0001$ y ** $p<0.01$. g=gramos, m=meses, 5mNC=normo calórica de 5 meses, 5mHC=hipercalórica de 5 meses, mg=miligramos, dL=decilitros. Los círculos vacíos representan hembras (o) y los círculos llenos representan machos (●).

5.2 Cambios metabólicos asociados a la edad

5.2.1 Cambios en el peso, grasa gonadal y glucosa basal

Respecto a la comparación metabólica entre los animales jóvenes con dieta hipercalórica y los animales controles de diferentes edades, se encontró un efecto estadísticamente significativo sobre el peso ($F_{(4,36.94)}=23.99$, $p<0.0001$). El análisis post hoc reveló diferencias entre los grupos 5mNC vs 15mNC ($p=0.0144$), 5mNC vs 19mNC ($p=0.003$), 5mNC vs 5mHC ($p<0.0001$), 5mHC vs 10mNC ($p=0.0002$), 5mHC vs 15mNC ($p=0.0029$) y 5mHC vs 19mNC ($p=0.002$) (Figura 3A).

Adicionalmente, se encontraron diferencias significativas en el nivel de grasa gonadal ($F_{(4,15.18)}=59.91$, $p<0.0001$) siendo las comparaciones múltiples significativas entre los grupos 5mNC vs 10mNC ($p=0.0089$), 5mNC vs 15mNC ($p=0.0097$), 5mNC vs 19mNC ($p<0.0001$), 5mNC vs 5mHC ($p<0.0001$), 5mHC vs 10mNC ($p<0.0001$), 5mHC vs 15mNC ($p<0.0001$) y 5mHC vs 19mNC ($p<0.0001$) (Figura 3B).

Finalmente, hubo un efecto significativo en los niveles de glucosa basal ($F_{(4,46.58)}=8.910$, $p<0.0001$). Las diferencias a post hoc fueron entre los grupos 5mNC vs 5mHC ($p=0.0304$), 10mNC vs 15mNC ($p=0.007$), 5mHC vs 10mNC ($p=0.0009$) y 5mHC vs 19mNC ($p=0.010$) (Figura 3C).

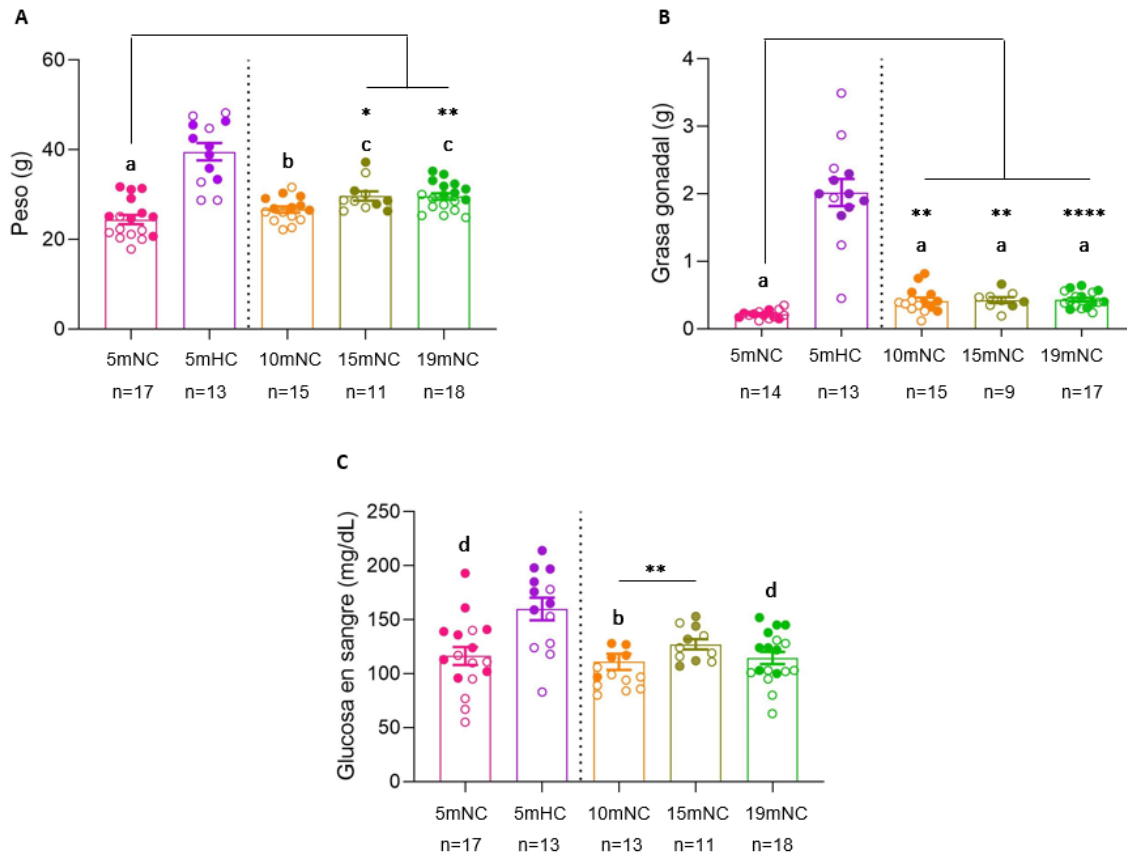


Figura 3. Las alteraciones provocadas por la dieta hipercalórica son mayores que las provocadas por el envejecimiento. Se muestra el peso final (A), la grasa gonadal (B) y la glucosa basal (C) de animales control de diferentes edades y animales con dieta hipercalórica. Los datos representan el promedio \pm error estándar. Los datos se analizaron con *Brown-Forsythe ANOVA test*, post-hoc *Dunnnett T3*. Las letras representan las comparaciones múltiples significativas respecto al grupo 5mHC y los asteriscos las comparaciones múltiples significativas entre los demás grupos donde ****a= $p\leq 0.0001$, ***b= $p\leq 0.001$, **c= $p\leq 0.01$ y *d= $p\leq 0.05$. g=gramos, m=meses, 5mNC=normo calórica de 5 meses, 5mHC=hipercalórica de 5 meses, mg=miligramos, dL=decilitros. Los círculos vacíos representan hembras (\circ) y los círculos llenos representan machos (\bullet).

5.3 Curva de tolerancia a la glucosa por dieta hipercalórica

Durante la prueba de tolerancia a la glucosa se pudo observar que los animales expuestos a dieta hipercalórica mantienen sus niveles de glucosa por encima de los controles de manera significativa en la interacción tiempo por grupo ($F_{(5,140)}=13.84$, $p<0.0001$). El post hoc reveló que dicha diferencia fue en todos los tiempos: 0 min ($p=0.0195$), 15 min ($p=0.0002$), 30 min ($p<0.0001$), 60 min ($p<0.0001$), 90 min ($p=0.0011$)

y 120 min ($p=0.012$) (Figura 4A). El análisis del área bajo la curva confirmó que los animales con dieta hipercalórica son intolerantes a la glucosa ($t_{(15,42)}=6.410$, $p<0.0001$) (Figura 4B).

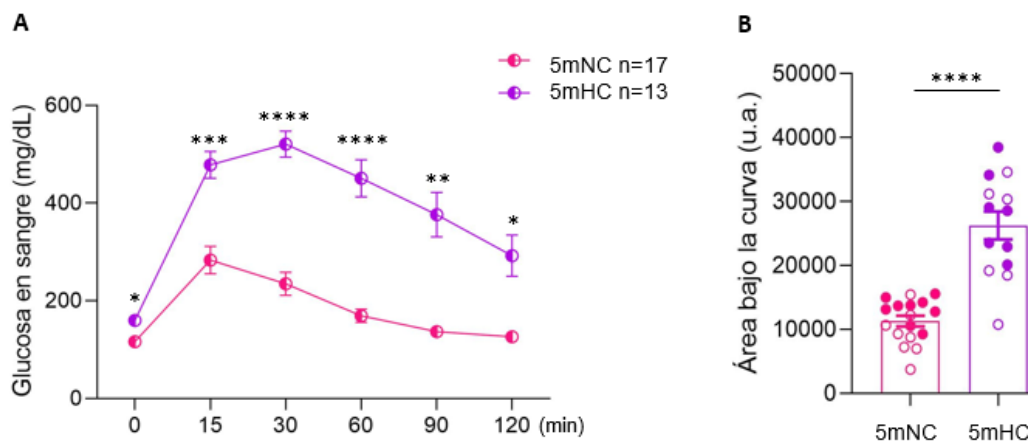


Figura 4. El consumo juvenil de la dieta hipercalórica causó intolerancia a la glucosa. Niveles de glucosa en sangre tras 6 h de ayuno expresada en mg/dL (A), los datos se analizaron con ANOVA de 2 vías, post-hoc Bonferroni y el análisis del área bajo la curva (B) analizado con Welch *t*-test. Los datos representan el promedio \pm error estándar donde **** $p\leq 0.0001$, *** $p\leq 0.001$, ** $p\leq 0.01$ y * $p\leq 0.05$. min=minutos, u. a.= unidades arbitrarias, m=meses, 5mNC=normo calórica de 5 meses, 5mHC=hipercalórica de 5 meses, mg=miligramos, dL=decilitros. Los círculos vacíos representan hembras (\circ) y los círculos llenos representan machos (\bullet).

5.4 Curva de tolerancia a la glucosa en el envejecimiento

Durante la ejecución de la prueba de tolerancia a la glucosa entre los animales jóvenes con dieta hipercalórica y los animales controles de diferentes edades, se pudo observar cómo los animales expuestos a dieta hipercalórica mantienen sus niveles de glucosa en sangre muy por encima de los animales envejecidos con la interacción significativa de tiempo por grupo ($F_{(20,345)}=6.414$, $p<0.0001$) (Figura 5A). El análisis post hoc mostró diferencias específicamente en el min 15 entre los grupos 5mNC vs 5mHC ($p<0.002$), 5mHC vs 10mNC ($p=0.010$), 5mHC vs 15mNC ($p=0.022$) y 5mHC vs 19mNC ($p=0.011$). En el min 30 hubo diferencias entre los grupos 5mNC vs 5mHC ($p<0.0001$), 5mHC vs 10mNC ($p<0.0001$), 5mHC vs 15mNC ($p<0.0001$) y 5mHC vs 19mNC ($p<0.0001$).

Durante el min 60 de la prueba se encontraron diferencias entre los grupos 5mNC vs 5mHC ($p=0.0003$), 5mHC vs 10mNC ($p=0.001$), 5mHC vs 15mNC ($p=0.0024$) y 5mHC vs 19mNC ($p=0.0004$). En el min 90 de la prueba las diferencias que se encontraron fueron entre los grupos 5mNC vs 5mHC ($p=0.011$), 5mHC vs 10mNC ($p=0.016$), 5mHC vs 15mNC ($p=0.027$) y 5mHC vs 19mNC ($p=0.022$). No se encontraron diferencias significativas entre los grupos durante el min 120. El análisis del área bajo la curva confirmó que los únicos que tienen intolerancia a la glucosa son los animales del grupo joven con dieta hipercalórica ($F_{(4,26.64)}=26.68$, $p<0.0001$), las comparaciones múltiples significativas fueron entre los

siguientes grupos: 5mNC vs 5mHC ($p=0.0001$), 5mHC vs 10mNC ($p=0.0003$), 5mHC vs 15mNC ($p=0.0006$) y 5mHC vs 19mNC ($p=0.0003$) (Figura 5B).

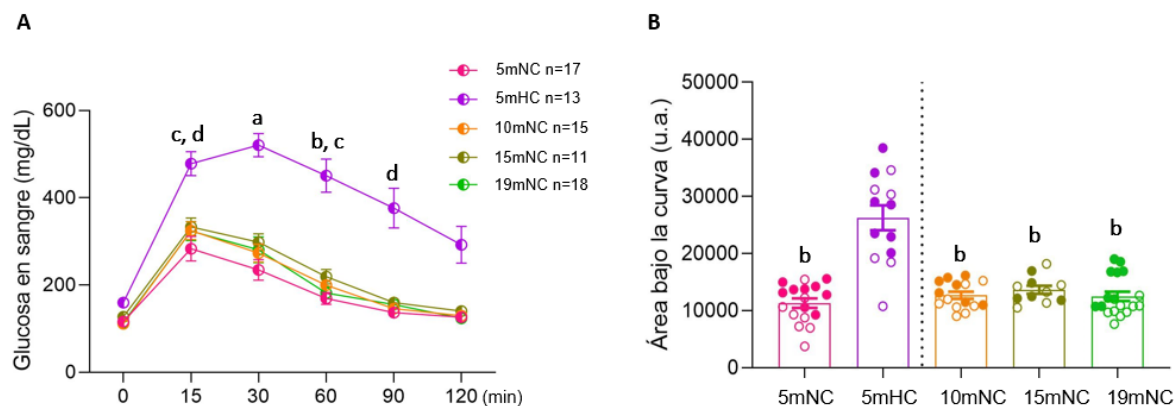


Figura 5. La intolerancia a la glucosa se asocia al consumo de dietas hipercalóricas más no al envejecimiento fisiológico. Niveles de glucosa en sangre tras 6 h de ayuno expresada en mg/dL (A), los datos se analizaron con ANOVA de 2 vías con medidas repetidas, post-hoc Bonferroni y el análisis del área bajo la curva (B), analizado con Brown-Forsythe ANOVA test, post-hoc Dunnett T3. Los datos representan el promedio \pm error estándar. Se presentan las comparaciones múltiples significativas respecto al grupo 5mHC donde a= $p\leq 0.0001$, b= $p\leq 0.001$, c= $p\leq 0.01$ y d= $p\leq 0.05$ u. a.= unidades arbitrarias, m=meses, 5mNC=normo calórica de 5 meses, 5mHC=hipercalórica de 5 meses, mg=miligramos, dL=decilitros. Los círculos vacíos representan hembras (\circ) y los círculos llenos representan machos (\bullet).

Estos resultados sugieren que el consumo temprano de dietas hipercalóricas induce alteraciones metabólicas e intolerancia a la glucosa mayores que las alteraciones que se encontraron por el envejecimiento. Esto podría deberse a que el consumo temprano de la dieta hipercalórica y su mantenimiento de forma crónica promueve la activación de vías adipogénicas que a su vez se han relacionado con estados proinflamatorios (Boitard et al., 2014; Hotamisligil, 2006), probablemente más exacerbados que los que se dan naturalmente en el envejecimiento.

5.5 Déficit cognitivo por el consumo de dieta hipercalórica

Para determinar si existían diferencias en la curva de aprendizaje se utilizó una ANOVA de dos factores de medidas repetidas la cual mostró diferencias significativas en el tiempo de llegada a la plataforma a través de los días de entrenamiento ($F_{(3,84)}=62.91$, $p<0.0001$) y por el tipo de dieta administrada ($F_{(1,28)}=16.35$, $p=0.0004$). Es decir, ambos grupos adquirieron la tarea, ya que logran disminuir su latencia de llegada a la plataforma a través de los días; sin embargo, los animales expuestos a la dieta hipercalórica les toma más tiempo encontrar dicha plataforma durante las adquisiciones comparados con los animales control en el d1 ($p=0.033$), d2 ($p=0.032$) y d4 ($p=0.014$) (Figura 6A).

La memoria a largo plazo se realizó 72 h después y se encontró un aumento significativo en la latencia de llegada al sitio exacto de la plataforma ($t_{(12,16)}=3.496$,

$p=0.0043$) (Figura 6B) y una disminución en el número de cruces ($t_{(28)}=2.362$, $p=0.0254$) (Figura 6C).

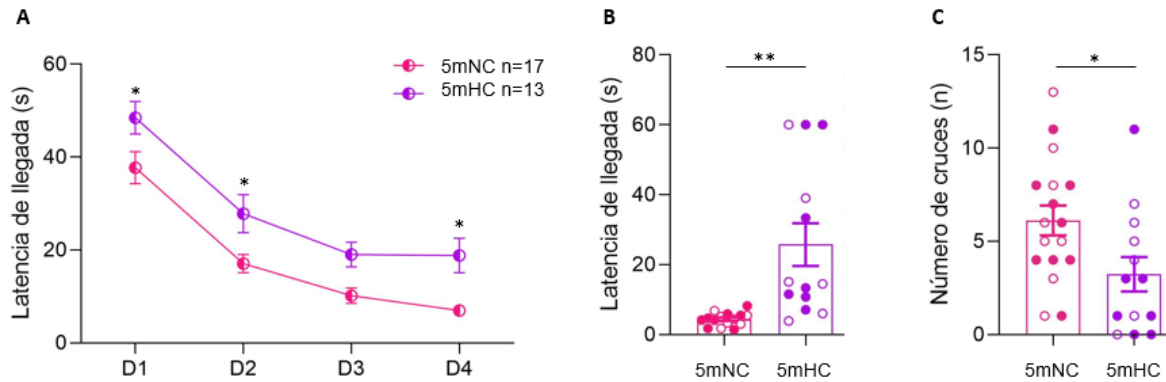


Figura 6. El consumo juvenil de la dieta hipercalórica causó deterioro cognitivo. Curva de aprendizaje a través de los días expresada en segundos, cada día es el promedio de latencia de llegada a la plataforma de 4 ensayos consecutivos (A), los datos se analizaron con ANOVA de 2 vías con medidas repetidas, post-hoc de Bonferroni. La memoria a largo plazo se evaluó con la latencia de llegada (B) con Welch *t*-test y el número de cruces (C) con Student *t*-test. ** $p < 0.01$ y * $p < 0.05$. Los datos representan el promedio \pm error estándar. m=meses, 5mNC=normo calórica de 5 meses, 5mHC=hipercalórica de 5 meses, D=día, s=segundos, n=número, mm=milímetros. Los círculos vacíos representan hembras (\circ) y los círculos llenos representan machos (\bullet).

Se obtuvieron las trayectorias de nado (Figura 7B) y la velocidad de nado de todos los animales y no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la mediana del grupo 5mNC (Md=43.29) y la mediana del grupo 5mHC (Md=101.1) (Mann-Whitney, $p=0.0786$) (Figura 7A).

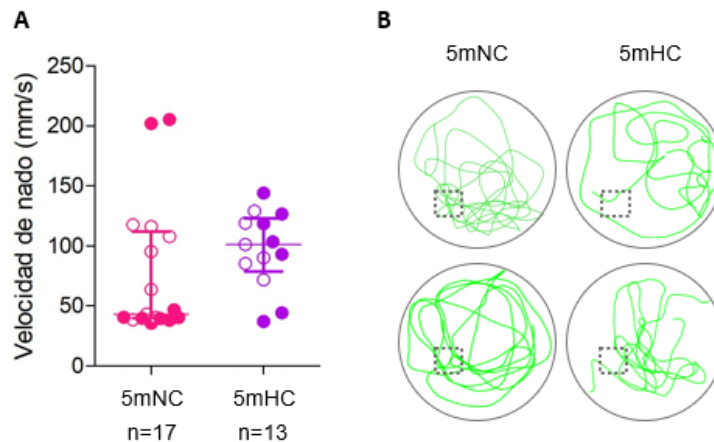


Figura 7. El deterioro cognitivo por dieta hipercalórica no se debe a diferencias en la velocidad de nado. La comparación en la velocidad de nado (A) se realizó con U Mann Whitney test. Trayectorias de nado representativas (B). Los datos representan la mediana con distancia intercuartil. m=meses, 5mNC=normo calórica de 5 meses, 5mHC=hipercalórica de 5 meses, s=segundos, n=número, mm=milímetros. Los círculos vacíos representan hembras (\circ) y los círculos llenos representan machos (\bullet).

5.6 Déficit cognitivo asociado a envejecimiento

Se evaluó la adquisición de esta memoria espacial en los demás grupos de animales donde la ANOVA de dos factores de medidas repetidas mostró diferencias significativas en el tiempo de llegada a la plataforma a través de los días de entrenamiento ($F_{(3,225)}=117.2$, $p<0.0001$) y por el tipo de dieta administrada ($F_{(4,75)}=3.862$, $p=0.006$). Adicionalmente, se analizó el efecto de la edad entre los grupos controles y no se encontró diferencias estadísticamente significativas ($F_{(3,63)}=2.593$, $p=0.0604$). En las comparaciones múltiples, sólo se encontró diferencias en el d1 entre los grupos 5mHC vs 15mNC ($p=0.021$). Es decir, todos los grupos adquirieron la tarea ya que logran disminuir su latencia de llegada a la plataforma a través de los días; sin embargo, los animales expuestos a la dieta hipercalórica les toma más tiempo encontrar dicha plataforma durante las adquisiciones comparados con los animales jóvenes con dieta control (Figura 8A).

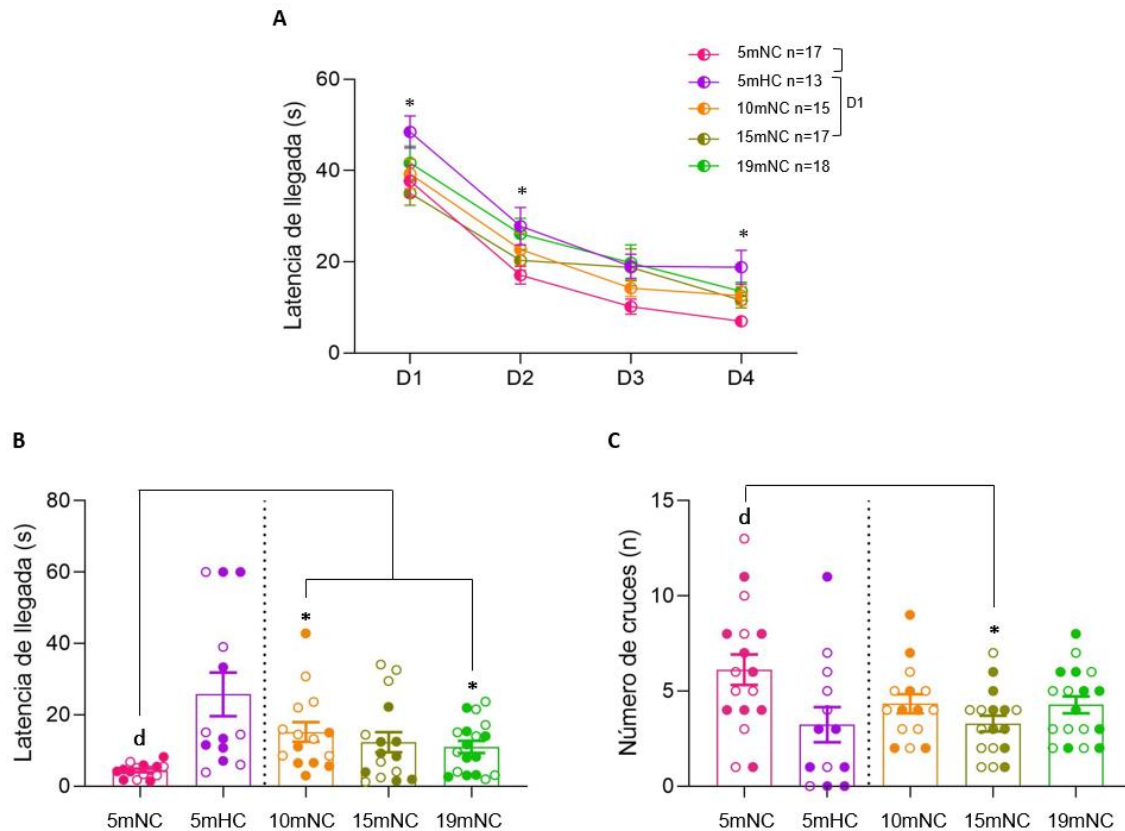


Figura 8. Las deficiencias cognitivas por dieta hipercalórica son parecidas a las encontradas durante el envejecimiento. Curva de aprendizaje a través de los días expresada en segundos, cada día se obtuvo mediante el promedio de latencia de llegada a la plataforma durante 4 ensayos consecutivos (A), los datos se analizaron con ANOVA de 2 vías con medidas repetidas, post-hoc de Bonferroni. La memoria a largo plazo se evaluó la latencia de llegada (B) con Brown-Forsythe ANOVA-test, post-hoc Dunnett T3, y el número de cruces (C) con ANOVA factorial, post-hoc de Bonferroni. Las letras representan las comparaciones múltiples significativas respecto al grupo 5mHC y los asteriscos las comparaciones múltiples significativas entre los demás grupos *d= $p\leq 0.05$. Los datos representan el promedio \pm error estándar. m=meses, 5mNC=normo calórica de 5 meses, 5mHC=hipercalórica de 5 meses, D=día, s=segundos, n=número, mm=milímetros. Los círculos vacíos representan hembras (\circ) y los círculos llenos representan machos (\bullet).

La memoria a largo plazo se realizó 72 h después y se encontró un aumento significativo en la latencia de llegada al sitio exacto de la plataforma ($F_{(4,27.75)}=5.124$, $p=0.0032$) entre los grupos 5mNC vs 10mNC ($p=0.010$), 5mNC vs 19mNC ($p=0.012$) y 5mNC vs 5mHC ($p=0.0384$). Es decir, que la memoria a largo plazo espacial de los animales jóvenes con dieta hipercalórica es igual a cualquier grupo de los animales envejecidos y solo es diferente del grupo control de la misma edad (Figura 8B). Adicionalmente, se analizó el número de cruces por el sitio exacto de la plataforma y también se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($F_{(4,75)}=3.532$, $p=0.0107$) entre los grupos 5mNC vs 15mNC ($p=0.015$) y 5mNC vs 5mHC ($p=0.024$) confirmando una alteración en la evocación en los animales jóvenes con dieta en comparación a los jóvenes controles (Figura 8C).

Se obtuvieron las trayectorias de nado (Figura 9B) y la velocidad de nado de todos los animales. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la mediana del grupo 15mNC vs 5mNC ($p<0.0001$), 15mNC vs 10mNC ($p=0.001$), 15mNC vs 19mNC ($p=0.011$) y 15mNC vs 5mHC ($p=0.004$) (Kruskal-Wallis, $p<0.0001$) (Figura 9A).

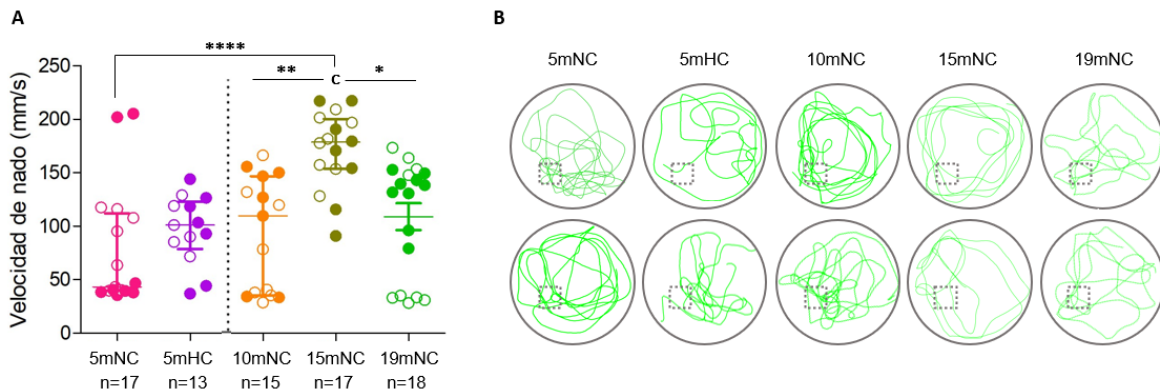


Figura 9. Ni la dieta hipercalórica ni el envejecimiento afectan la velocidad de nado, a excepción de los animales de 15 meses. La comparación en la velocidad de nado (A) se analizaron con *Kruskal-Wallis test*, post-hoc de *Dunn*. Trayectorias de nado representativas (B). Los datos representan la mediana con distancia intercuartil. m=meses, 5mNC=normo calórica de 5 meses, 5mHC=hipercalórica de 5 meses, s=segundos, n=número, mm=milímetros. Los círculos vacíos representan hembras (○) y los círculos llenos representan machos (●).

Estos resultados sugieren que el consumo de dietas hipercalóricas en etapas tempranas induce un deterioro cognitivo que, en ciertos parámetros, es igual o mayor al deterioro encontrado durante el envejecimiento, y estas diferencias no se deben a cambios en la ejecución motora. Con esto, se confirma que la exposición a dietas hipercalóricas en la juventud induce un daño cognitivo temprano. Faltaría explorar si dicho deterioro se agrava si la dieta hipercalórica se sostiene hasta el envejecimiento de los animales.

5.7 Expresión de GFAP hipocampal tras la ingesta de una dieta hipercalórica

Para evaluar astrogliosis hipocampal se obtuvieron microfotografías de astrocitos por microscopía confocal, para después reconstruir el esqueleto celular y poder analizar la morfología astrocítica (Figura 10A). El análisis de Sholl reveló que tras cinco meses de dieta hipercalórica no hay diferencias en el área que abarcan los astrocitos ($t_{(16)}=1.233$, $p=0.235$) (Figura 10C) ni el número acumulado de intersecciones ($t_{(16)}=1.016$, $p=0.324$) (Figura 10E). Sin embargo, el post hoc de Bonferroni-Dunn reveló diferencias en el número de intersecciones a distancias particulares como a las 60 μm ($t_{(30)}=2.6$, $p=0.014$), 70 μm ($t_{(30)}=3.029$, $p=0.005$) y 100 μm ($t_{(30)}=2.187$, $p=0.036$) (Figura 10B). Adicionalmente, se encontró un aumento significativo en la distancia radial entre los astrocitos de animales con dieta hipercalórica y los animales controles jóvenes ($t_{(16)}=2.222$, $p=0.0410$) (Figura 10D).

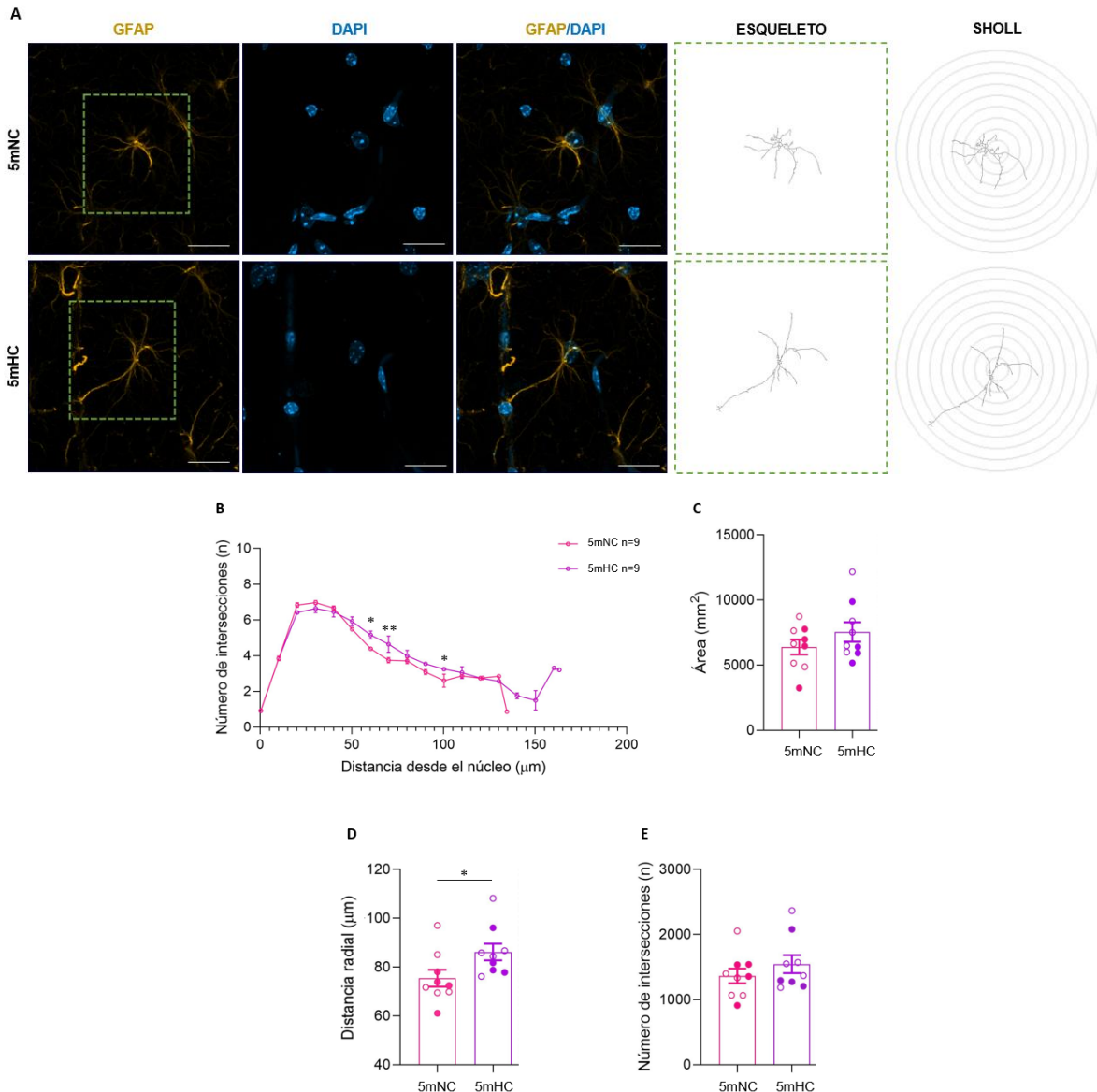
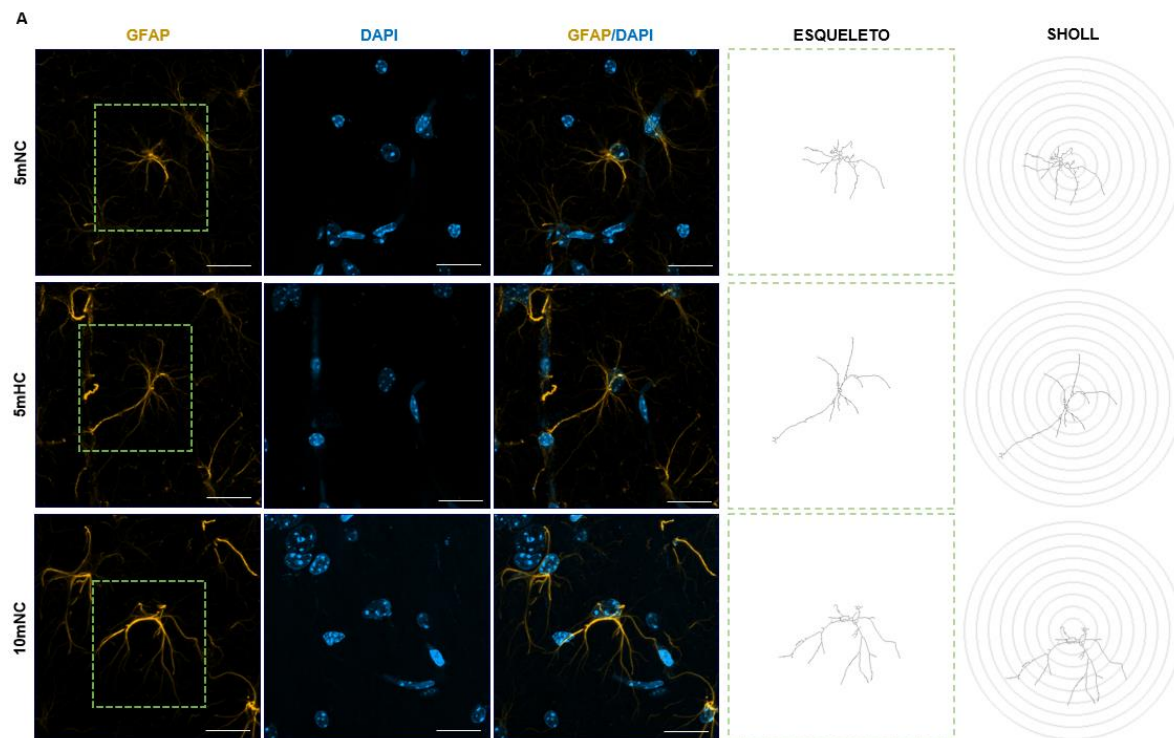


Figura 10. El consumo juvenil de la dieta hipercalórica provoca mayor elongación astrocítica y mayor complejización en ciertas distancias radiales. Microfotografías representativas de la señal inmunorreactiva para identificar astrocitos (GFAP) y núcleos (DAPI) junto con reconstrucciones del esqueleto de un astrocito para el análisis de morfología por Sholl (A). Resultados del análisis de Sholl (B) analizados con *Multiple t-test*, post-hoc de *Bonferroni-Dunn*, área ocupada por el astrocito (C), distancia radial desde el núcleo que refleja la elongación astrocítica (D) y número de intersecciones que refleja la complejización de los procesos astrocíticos (E), se utilizó *Student t-test*. * $p=0.05$. Los datos representan el promedio \pm error estándar. m=meses, 5mNC=normo calórica de 5 meses, 5mHC=hipercalórica de 5 meses, n=número, mm=milímetros, μm =micras, GFAP=proteína ácida fibrilar glial, DAPI=4',6-diamidino-2-fenilindol. La barra de escala indica 20 μm . Los círculos vacíos representan hembras (\circ) y los círculos llenos representan machos (\bullet).

5.8 Expresión de GFAP hipocampal en el envejecimiento

Respecto a la comparación con los demás grupos envejecidos, también se obtuvieron microfotografías de astrocitos por microscopía confocal, para después reconstruir el esqueleto celular y poder analizar la morfología astrocítica (Figura 11A). Los resultados no mostraron diferencias en la distancia radial ($F_{(4,40)}=1.944$, $p=0.1219$) (Figura 11D), en el área ($F_{(4,39)}=0.6366$, $p=0.6395$) (Figura 11C) o en el número de intersecciones ($F_{(4,39)}=0.5545$, $p=0.6969$) (Figura 11E).

Sin embargo, mediante el post hoc de Bonferroni-Dunn se encontraron diferencias en el número de intersecciones a distancias particulares como a las 140 μm entre 5mNC vs 10mNC ($t_{(28)}=4.284$, $p=0.0001$), 5mNC vs 19mNC ($t_{(29)}=3.391$, $p=0.002$), 5mHC vs 10mNC ($t_{(30)}=2.87$, $p=0.007$) y a las 150 μm entre 5mHC vs 10mNC ($t_{(30)}=3.308$, $p=0.002$), 5mHC vs 19mNC ($t_{(31)}=2.088$, $p=0.045$) (Figura 11B). Las diferencias entre 5mNC vs 5mHC se describieron en la figura 10B y 10D.



Continúa...

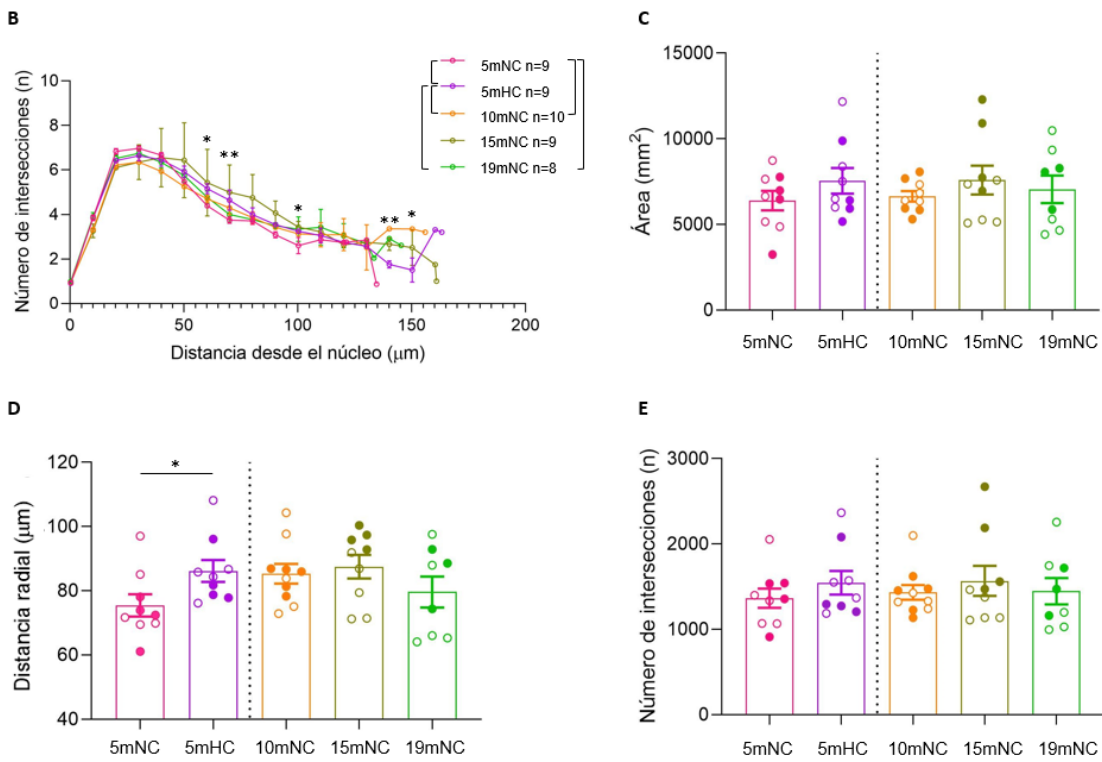
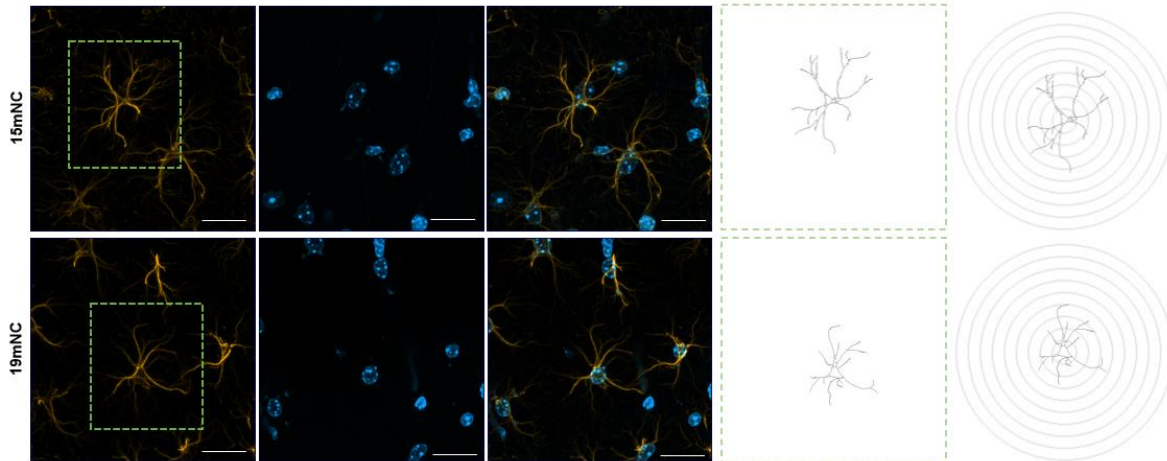


Figura 11. Tanto el envejecimiento como la dieta hipercalórica causan complejización astrocítica, mientras que solo el consumo juvenil de la dieta provoca mayor elongación del astrocito. Microfotografías representativas de la señal inmunorreactiva para identificar astrocitos (GFAP) y núcleos (DAPI) junto con reconstrucciones del esqueleto de un astrocito para el análisis de morfología por Sholl (A). Resultados del análisis de Sholl (B) analizados con *Multiple t-test*, post-hoc de *Bonferroni-Dunn*, área ocupada por el astrocito (C), distancia radial desde el núcleo que refleja la elongación astrocítica (D) y número de intersecciones que refleja la complejización de los procesos astrocíticos (E), se utilizó con *ANOVA factorial*, post-hoc *Bonferroni*. * $p=0.05$, ** $p=0.01$. Los datos representan el promedio \pm error estándar. m=meses, 5mNC=normo calórica de 5 meses, 5mHC=hipercalórica de 5 meses, n=número, mm=milímetros, μm =micras, GFAP=proteína ácida fibrilar glial, DAPI=4',6-diamidino-2-fenilindol. La barra de escala indica 20 μm . Los círculos vacíos representan hembras (\circ) y los círculos llenos representan machos (\bullet).

Estos datos sugieren que la dieta hipercalórica administrada desde etapas tempranas provoca activación astrocítica reflejada en una mayor elongación de los procesos astrocíticos, así como una mayor complejización, aunque esta fue parcial ya que solo fue a ciertas distancias radiales, entre los animales jóvenes con dieta y jóvenes controles. En los grupos con envejecimiento no encontramos diferencias en la suma de distancia radial, número de intersecciones o el área, contrario a lo que ya ha sido reportado previamente (Rodríguez et al., 2014); estas diferencias podrían deberse al tipo de cepa utilizada, en este trabajo se utilizó la cepa C57BL6/J mientras que en el trabajo de Rodríguez y colaboradores fue en la cepa B6129SF2/J, la cual es la cepa control para los ratones triples transgénicos para la enfermedad de Alzheimer. Sin embargo, no encontramos que ningún grupo envejecido fuera diferente al grupo joven con dieta hipercalórica, sugiriendo que la activación astrocítica asociada a la dieta hipercalórica puede ser similar a la activación inducida por el envejecimiento.

5.9 Cuantificación de GFAP sérico

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la cuantificación de GFAP sérico de animales con dieta hipercalórica con animales controles de la misma edad ($t_{(18)}=1.672$, $p=0.1177$) y tampoco se encontraron diferencias comparándolo con los demás grupos controles de diferentes edades ($F_{(4,43)}=1.182$, $p=0.3324$) (Figura 12).

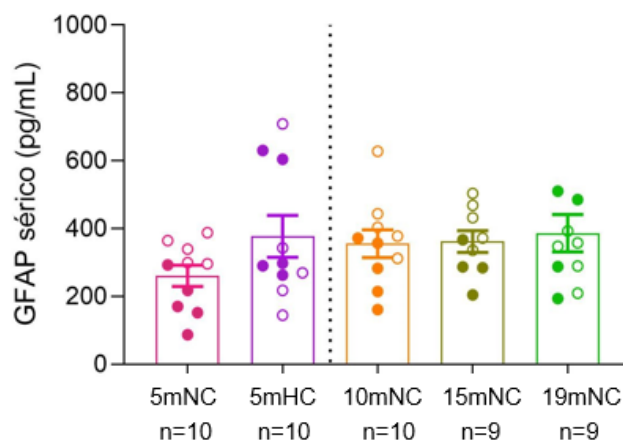


Figura 12. GFAP sérico no tuvo modificaciones ni por la exposición temprana a dieta hipercalórica ni por el envejecimiento. Niveles de GFAP sérico expresados en picogramos por mililitro. Para la comparación entre 5mNC vs 5mHC se utilizó *Student t-test* y la comparación entre todos los grupos se hizo con *ANOVA factorial*, post-hoc *Bonferroni*. Los datos representan el promedio \pm error estándar. m=meses, 5mNC=normo calórica de 5 meses, 5mHC=hipercalórica de 5 meses, n=número, pg.=picogramos, mL=mililitros. Los círculos vacíos representan hembras (\circ) y los círculos llenos representan machos (\bullet).

Es decir, ni la exposición temprana a dietas hipercalóricas ni el envejecimiento provocaron aumentos en la cantidad de GFAP sérico. Esto podría deberse a que nuestra cuantificación la realizamos en ratones con envejecimiento saludable y sin algún trastorno que probablemente pudiera comprometer la integridad de la BHE. Respecto a la dieta hipercalórica, a pesar de que se administró en una ventana temporal vulnerable, pareciera que los organismos jóvenes aún son capaces de resistir al posible daño a la BHE que ha sido asociado al consumo de dietas hipercalóricas; sin embargo, la integridad de la BHE son datos que faltaría explorar.

5.10 Correlación GFAP sérico con parámetros metabólicos

Para determinar si existía alguna correlación entre la cuantificación de GFAP sérico con los parámetros metabólicos se realizó una correlación simple. Se encontró una correlación fuerte y negativa ($r=-0.75$, $p=0.012$) entre el peso y los niveles de GFAP sérico del grupo control (Figura 13A). Adicionalmente, se encontró una correlación fuerte y negativa ($r=-0.72$, $p=0.018$) entre la glucosa basal y los niveles de GFAP sérico del grupo control (Figura 13C). Por el contrario, no se encontró correlación entre el peso y los niveles de GFAP sérico ($r=0.53$, $p=0.110$) (Figura 13B) o entre la glucosa basal y los niveles de GFAP sérico ($r=0.40$, $p=0.245$) (Figura 13D) de los animales jóvenes con dieta hipercalórica en comparación a los animales jóvenes controles. No se encontraron correlaciones significativas entre estos dos parámetros en los grupos de 10mNC, 15mNC y 19mNC (Ver Anexo 1).

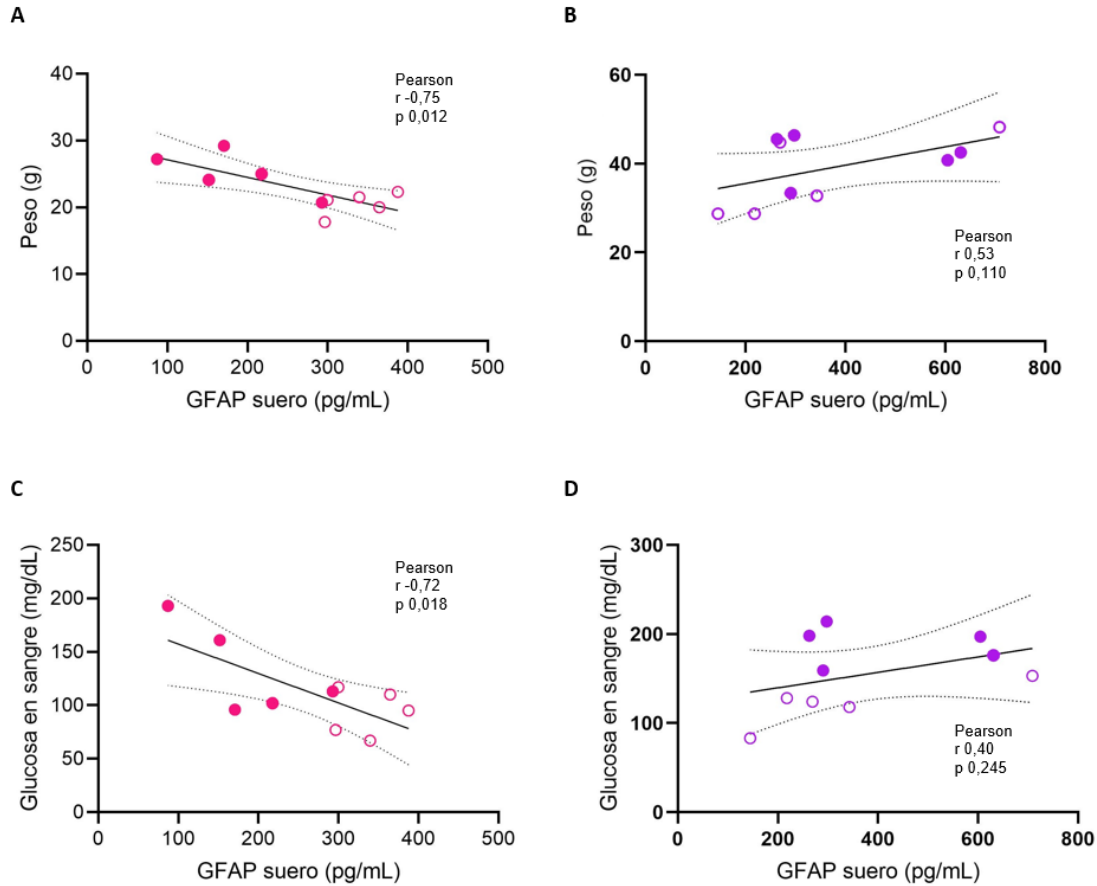


Figura 13. GFAP sérico tiene relación con el peso y glucosa basal únicamente de los animales jóvenes con dieta control. Se muestra la correlación entre el peso y los niveles de GFAP sérico de animales controles de 5m (A) y animales con dieta hipercalórica de 5m (B). Adicionalmente, se muestra la correlación entre la glucosa basal y los niveles de GFAP sérico de animales controles de 5m (C) y animales con dieta hipercalórica de 5m (D). Los datos se analizaron con una *correlación lineal simple de Pearson*. pg.=picogramos, mL=mililitros, g=gramos, mg=miligramos, dL=decilitros. Los círculos vacíos representan hembras (○) y los círculos llenos representan machos (●).

5.11 Correlación GFAP sérico con parámetros conductuales

Para determinar si existían alguna correlación entre la cuantificación de GFAP sérico con los parámetros conductuales se realizó una correlación simple. No se encontró ninguna correlación significativa entre la latencia de llegada y los niveles de GFAP sérico en el grupo joven control ($r=0.12$, $p=0.723$) (Figura 14A) ni en el grupo de jóvenes con dieta hipercalórica ($r=0.32$, $p=0.366$) (Figura 14B). Adicionalmente se averiguó si existía alguna correlación entre la cuantificación de GFAP sérico con el número de cruces. No se encontró ninguna correlación significativa entre los números de cruces y los niveles de GFAP sérico en el grupo joven control ($r=0.17$, $p=0.60$) (Figura 14C) ni en el grupo joven con dieta hipercalórica ($r=-0.44$, $p=0.195$) (Figura 14D). No se encontraron correlaciones significativas entre estos dos parámetros en los grupos de 10mNC, 15mNC y 19mNC (Ver Anexo 1).

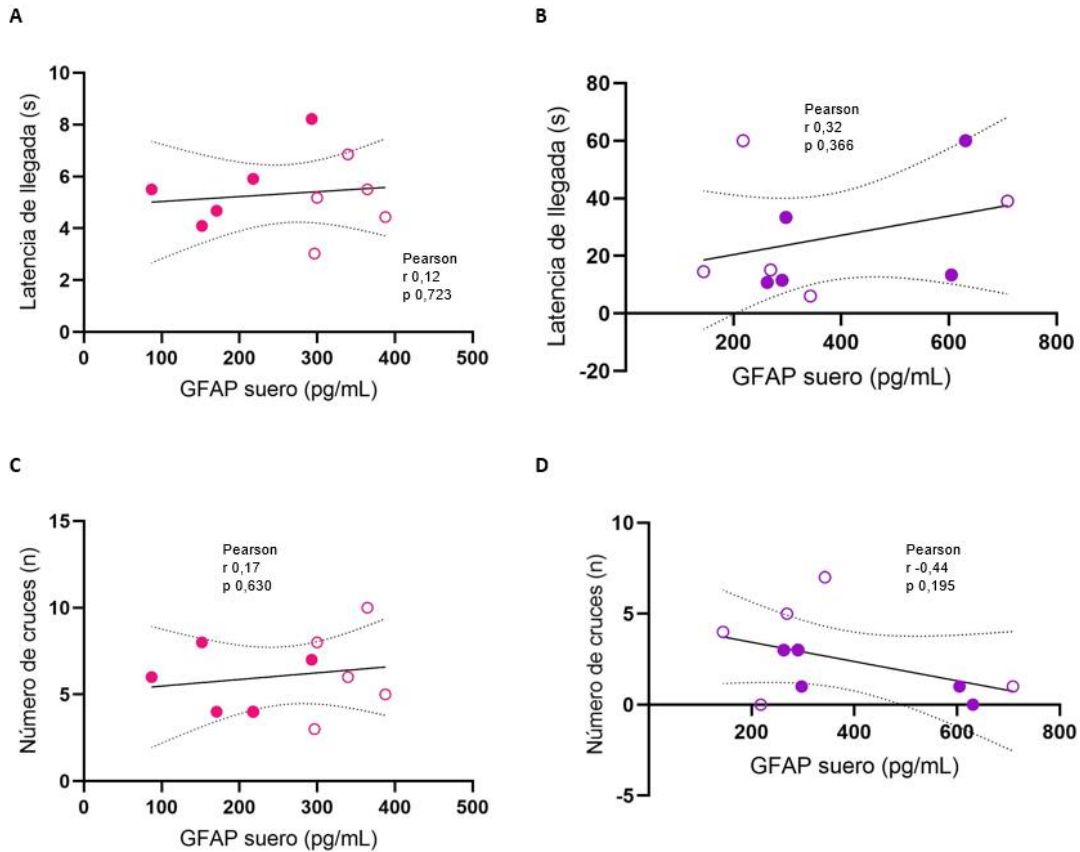


Figura 14. GFAP sérico no tiene relación con parámetros conductuales en ningún grupo. Se muestra la correlación entre la latencia de llegada y los niveles de GFAP sérico de animales controles de 5m (A) y animales con dieta hipercalórica de 5m (B). Adicionalmente se muestra la correlación entre el número de cruces y los niveles de GFAP sérico de animales controles de 5m (C) y animales con dieta hipercalórica de 5m (D). Los datos se analizaron con una *correlación lineal simple de Pearson*. pg.=picogramos, mL=mililitros, s=segundos, n=número. Los círculos vacíos representan hembras (○) y los círculos llenos representan machos (●).

5.12 Correlación GFAP sérico con GFAP central

Finalmente, para determinar si existía alguna correlación significativa entre la cuantificación de GFAP sérico (ELISA) con la cuantificación de GFAP central (parámetros de Sholl) se realizó una correlación simple. No se encontró ninguna correlación significativa entre la distancia radial y los niveles de GFAP sérico de los animales controles de diferentes edades ($r=-0.20$, $p=0,256$) (Figura 15A), de igual manera no se encontró correlación significativa entre estos parámetros en los animales de 5 meses con dieta control o dieta hipercalórica ($r=0.210$, $p=0.415$) (Figura 15B).

Para poder ver más clara esta correlación debido al tipo de tratamiento se realizó una correlación simple para el grupo 5mNC y otra correlación para el grupo 5mHC. No se encontraron correlaciones significativas en el grupo joven control ($r=0.285$, $p=0.500$) (Figura 15C) ni en el grupo joven con dieta hipercalórica ($r=-0.186$, $p=0.631$) (Figura 15D). Al analizar de manera individual cada uno de los grupos controles, se encontró una correlación

fuerte y negativa ($r=-0.87$, $p=0.002$) en los animales de 15mNC, en los grupos de 10mNC y 19mNC no se encontraron correlaciones significativas entre estos dos parámetros (Ver Anexo 1).

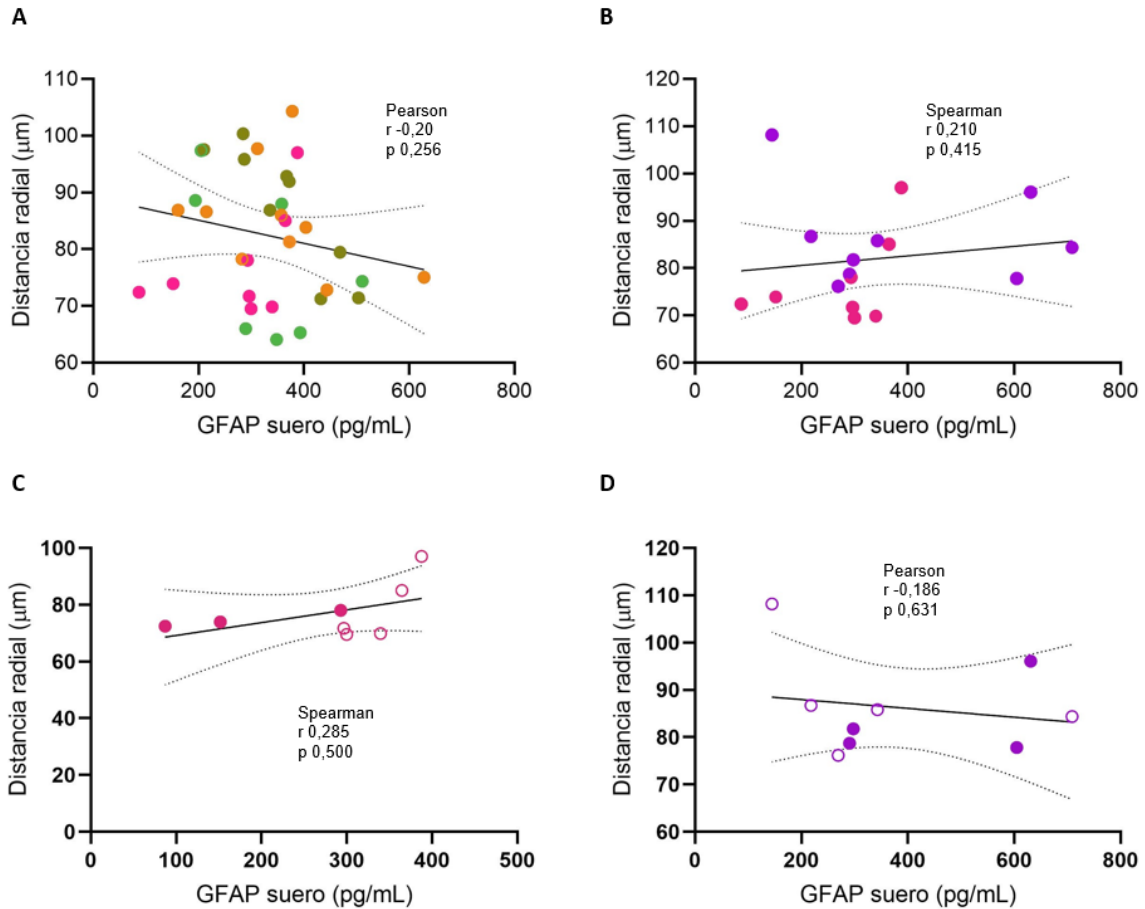


Figura 15. GFAP sérico no tiene relación con la distancia radial (GFAP central) en ningún grupo. Se muestra la correlación entre la distancia radial de los astrocitos y los niveles de GFAP sérico de todos los grupos NC (A), animales con dieta hipercalórica y dieta control de 5m (B), animales con dieta control de 5m (C) y animales con dieta hipercalórica de 5m (D). Los datos se analizaron con una *correlación lineal simple de Spearman o Pearson*. pg.=picogramos, mL=mililitros, μm =micras, círculo rosa=5mNC, morado=5mHC, naranja=10mNC, verde oscuro=15mNC y verde claro=19mNC. Los círculos vacíos representan hembras (\circ) y los círculos llenos representan machos (\bullet).

6. DISCUSIÓN

En el presente trabajo se pudo confirmar el efecto deletéreo del consumo de dietas hipercalóricas en parámetros metabólicos y conductuales. El impacto de las dietas hipercalóricas depende del tiempo de administración y de los componentes de esta. Por nuestra parte, observamos que la administración durante 5 meses de la dieta LabDiet® 58Y1 (60% del aporte calórico de grasas más 10% de fructosa (m/m)) produjo un aumento de peso y grasa gonadal. Estos hallazgos concuerdan con lo reportado en la literatura, donde un aumento en la ingesta calórica por el consumo de dietas ricas en grasa induce aumento de peso (Liu et al., 2015) al igual que el consumo de dietas enriquecidas en fructosa favorece aumento de peso y grasa (Messier et al., 2007).

Otro de los efectos del consumo de dietas hipercalóricas son las fallas en la glucorregulación asociadas a un decremento en la secreción de insulina, hormona principal en el metabolismo de la glucosa (Greenwood & Winocur, 2005). A pesar de que no se evaluaron los niveles de insulina basal, se encontró un aumento significativo de la glucosa en ayuno en los animales jóvenes con dieta hipercalórica, lo que sugiere que esta vía de regulación está alterada. Para verificar la desregulación en el metabolismo de la glucosa, se realizó una curva de tolerancia a la glucosa encontrando que los animales tratados aumentan y mantienen sus niveles de glucosa en sangre muy por arriba de los controles. Dichos resultados concuerdan con investigaciones previas donde se encontró intolerancia a la glucosa en animales expuestos a una dieta alta en grasa durante 3 meses (Mielke et al., 2006) o en ratones expuestos a una dieta combinada en grasa y fructosa durante 4 meses (Messier et al., 2007).

Respecto a los cambios metabólicos asociados al envejecimiento saludable, únicamente se encontraron cambios significativos en el peso y en los niveles de grasa gonadal de los grupos envejecidos respecto al control de 5mNC y un discreto aumento de glucosa basal entre los animales de 10mNC vs 15mNC. Estos cambios metabólicos son signo de un declive fisiológico propio del envejecimiento probablemente asociado a una desregulación en la vía de insulina-IGF1 o a la vía mTOR, las cuales integran señalización de la insulina y sensan el estado metabólico de los organismos. Particularmente, un estudio que caracterizó las alteraciones moleculares, bioquímicas y metabólicas durante el envejecimiento reportó cambios en la composición corporal de los animales viejos, reflejado en un aumento de peso y grasa; adicionalmente, se encontró que el metabolismo de la

glucosa se ve alterada en el envejecimiento tanto en músculo como en hígado, todo esto acompañado de una falla en la señalización de las vías antes mencionadas (Houtkooper et al., 2011). Estas variaciones metabólicas podrían predisponer al organismo a presentar intolerancia a la glucosa; sin embargo, el envejecimiento solo es un factor de riesgo para la aparición de esta, más no es un factor determinante (Kamal et al., 2000). En nuestro caso, no encontramos diferencias asociadas al envejecimiento en la curva de tolerancia a la glucosa. Con estos resultados, se muestra que el consumo de dietas hipercalóricas en etapas tempranas induce cambios metabólicos más graves que los que se pudieran presentar en el envejecimiento fisiológico.

Por otro lado, conseguimos establecer un modelo de daño cognitivo tras el consumo de esta dieta. Dicho efecto negativo sobre la memoria ya ha sido ampliamente reportado en organismos adultos encontrando alteraciones en diferentes tareas cognitivas (Kanoski & Davidson, 2011; Morin et al., 2017). Por ejemplo, tras la ingesta de una dieta hipercalórica hay deficiencias en el desempeño en tareas de memoria de reconocimiento de objetos tanto a corto plazo (Soares et al., 2013) como a largo plazo (Jurdak & Kanarek, 2009), lo mismo se ha observado en tareas de memoria espacial evaluadas en el laberinto acuático de Morris, encontrando que la exposición a dietas hipercalóricas afecta la evocación de esta tarea (Mielke et al., 2006; Ross et al., 2009; Soares et al., 2013).

En nuestro caso, encontramos que la exposición a la dieta hipercalórica desde el destete hasta los 5 meses de edad provoca daños importantes tanto en la adquisición como en la memoria a largo plazo de una memoria espacial, esto podría deberse a que la exposición a la dieta se comenzó en la “adolescencia” de los animales, etapa que se considera una ventana temporal vulnerable ya que los organismos se encuentran aún en desarrollo y ésta etapa es crucial para la maduración hipocampal (Jurdak & Kanarek, 2009). Como ya se mencionó previamente, únicamente los animales jóvenes expuestos a dieta hipercalórica presentan alteraciones en la memoria espacial y en la eficiencia sináptica comparado con los adultos con dieta hipercalórica (Boitard et al., 2014; Khazen et al., 2019).

Adicionalmente, la adolescencia es un periodo decisivo para la maduración del eje hipotalámico-hipofisario-adrenal (HHA) encargado de controlar las reacciones de estrés y regular las emociones en los organismos. La exposición a dietas hipercalóricas durante la adolescencia de ratas altera la actividad del eje HHA, lo que aumenta la actividad de la amígdala basolateral y mejora las memorias aversivas (Boitard et al., 2015). Ya que la activación del eje HHA induce un aumento en glucocorticoides, algunos grupos de investigación han reportado que este aumento interfiere con el establecimiento del LTP y

en la evocación del OLM, y el bloqueo de los receptores a glucocorticoides recupera estas afecciones (Khazen et al., 2019), al igual que mejora la plasticidad de la amígdala basolateral y atenúa el aprendizaje de memorias aversivas (Boitard et al., 2015). Finalmente, otra de las consecuencias del consumo temprano de este tipo de dietas es una reducción en la neurogénesis hipocampal (Boitard et al., 2012). Por lo tanto, es probable que en nuestro modelo joven con dieta hipercalórica se presenten las mismas desregulaciones y que esto ayude a explicar su deterioro cognitivo ya que también se inició en la adolescencia e incluso el tipo de dieta y el tiempo de exposición fue mayor a los previamente reportados; sin embargo, son datos que faltaría explorar.

Por otra parte, la ejecución de la memoria espacial en animales envejecidos se vio levemente alterada. En las adquisiciones se puede observar cómo los animales tardan más en encontrar la plataforma; sin embargo, esta diferencia no es estadísticamente diferente contra los animales adultos controles de 5 meses. En la memoria a largo plazo, la latencia de llegada de los animales envejecidos es mayor respecto al control de 5 meses. El grupo de Gispen y colaboradores también encontraron un declive progresivo pero no significativo en la adquisición del laberinto acuático de Morris de animales envejecidos en comparación a los jóvenes, así como una ligera atenuación en la inducción y mantenimiento del LTP y LTD en el hipocampo (Kamal et al., 2000). Por el contrario, De Fiebre y colaboradores mostraron que ratones de 24 meses tienen problemas en la adquisición de una memoria espacial en la versión normal del laberinto acuático de Morris y en su versión reversa (De Fiebre et al., 2006). Finalmente, la evaluación cognitiva de pacientes envejecidos en el ámbito clínico demuestra que el envejecimiento saludable conlleva un declive natural de memoria pero que no llega a ser clasificado como demencia (Jacqmin-Gadda et al., 1997; Salthouse, 2010). Tomando todos estos datos en cuenta, comprobamos que el consumo temprano de dietas hipercalóricas provoca deficiencias en la adquisición y en la memoria a largo plazo de memorias espaciales, dichas fallas son comparables a las fallas de memoria que se podrían encontrar en organismos envejecidos, sugiriendo que la exposición temprana a dietas hipercalóricas acelera la aparición de deficiencias cognitivas en estos animales.

Adicionalmente, las alteraciones metabólicas encontradas predisponen al sistema a mantener un estado pro inflamatorio generalizado (Blancas-Flores, 2010; Gregor & Hotamisligil, 2011) por lo que probablemente nuestros animales se encuentren en dicho estado. Como ya se mencionó en los antecedentes, una inflamación periférica asociada a obesidad y dietas hipercalóricas puede desencadenar una inflamación central (astrogliosis)

(Sharif & Prevot, 2017); por nuestra parte encontramos una mayor elongación astrocítica en los animales jóvenes con dieta hipercalórica en comparación a sus controles, resultados que van en concordancia con literatura previa (Calvo-Ochoa et al., 2014; Nagayach et al., 2014b; Thirumangalakudi et al., 2008; Tsai et al., 2018). Este indicador de astrogliosis podría deberse al estado inflamatorio central que se induce por el consumo de dietas hipercalóricas durante la adolescencia (Boitard et al., 2014).

La activación astrocítica que se encontró fue gracias al análisis de los cambios morfológicos de varios astrocitos de CA1 hipocampal, con las reconstrucciones se analizaron parámetros como la hipertrofia y la remodelación de sus procesos. Se encontró que la dieta hipercalórica en animales jóvenes tiene efectos negativos en la longitud o elongación de los procesos astrocíticos (distancia radial), así como diferencias en su complejización o ramificación en distancias radiales específicas (número de intersecciones), sugiriendo cambios finos en la morfología astrocítica que podrían asociarse a hipertrofia astrocítica. Estos resultados concuerdan con los reportados con Calvo-Ochoa y colaboradores, donde encuentran más ramificaciones en astrocitos de ratas alimentadas con dieta hipercalórica (Calvo-Ochoa et al., 2014). El aumento en la reactividad astrocítica también se ha reportado mediante western blot en el hipotálamo de ratones alimentados con dieta hipercalórica (Berkseth et al., 2014) o en el hipocampo de ratas con un modelo de diabetes (Nagayach et al., 2014a).

Sin embargo, es importante mencionar que no todos los estudios reportan una elevación de GFAP (indicador de activación astrocítica), Tsai y colaboradores reportan una disminución en la ramificación astrocítica en ratones alimentados con dieta hipercalórica durante 3 meses (Tsai et al., 2018) y en modelos animales de diabetes se ha reportado mediante western blot una menor expresión de GFAP en hipotálamo (Lechuga-Sancho et al., 2006), en hipocampo y en corteza (Coleman et al., 2004). Estas variaciones se pueden deber a la función que tenga el astrocito reactivo, ya que se ha reportado que a pesar de tener una alza en la expresión de GFAP para modificar su morfología, este astrocito puede tener un papel dual sirviendo como proveedor de moléculas que ayuden a la restauración del daño o bien moléculas pro inflamatorias que perjudican más al sistema (Anderson et al., 2014; Liddelow & Barres, 2017; Pekny et al., 2014).

Una de las limitaciones del presente trabajo es que solo se evaluó la activación astrocítica con un marcador de citoesqueleto como GFAP; sin embargo, una perspectiva interesante incluiría realizar una caracterización más completa para conocer el perfil secretor del astrocito reactivo. Estudios previos han caracterizado que tras la ingesta de

dietas hipercalóricas, puede haber una disminución de GFAP así como una disminución de transportadores de glutamato como GLAST y GLT-1, lo que sugeriría que los astrocitos están dejando de recapturar el glutamato de la hendidura sináptica y esto a su vez podría favorecer muerte neuronal por excitotoxicidad (Tsai et al., 2018), también tras la ingesta de dietas hay una menor cantidad de lactato en el hipocampo, y ya que los astrocitos tienen un papel activo en la producción, utilización y almacenamiento de la energía del cerebro, estos resultados sugerirían que la reducción de astrocitos tiene un efecto negativo en el metabolismo energético central (Tsai, Chen, et al., 2018).

En los grupos envejecidos no se encontraron diferencias en la suma total de intersecciones o en la distancia radial, únicamente se encontraron ligeras diferencias en las ramificaciones de los astrocitos a distancias radiales específicas entre los animales 5mNC vs 10mNC y 19mNC. Se sabe que los astrocitos envejecidos pueden tener un impacto negativo en la salud del SNC ya que tienen una disminución en la producción de ciertos factores metabólicos y tróficos necesarios para la comunicación celular como el ATP y neurotrofinas (Palmer & Ousman, 2018), también hay un aumento paulatino de astrogliosis durante el envejecimiento en todo el hipocampo acompañado de una disminución de la enzima glutamina sintasa (Rodríguez et al., 2014).

A pesar de que los antecedentes mencionan que el envejecimiento promueve un estado pro inflamatorio per se (Navarrete-Reyes & Montaña-Álvarez, 2009) y que esto se vería reflejado en más astrogliosis, nosotros no vimos dicho aumento de GFAP o una astrogliosis durante el envejecimiento de los ratones. Como ya se mencionó anteriormente, el perfil secretor del astrocito tiene un papel fundamental en su funcionamiento y se sabe que los astrocitos envejecidos tienen un fenotipo reactivo inflamatorio, al que se le conoce como astrocitos tipo A1 (Clarke et al., 2018). Con esto, se puede notar que no necesariamente tiene que haber un aumento significativo de astrocitos reactivos, sino que estos puedan tener un fenotipo secretor inflamatorio, por lo que el hecho de no encontrar diferencias en nuestros grupos envejecidos no descarta la posibilidad de que las células positivas para GFAP que encontramos sean de tipo A1 y que eso este explicando las fallas cognitivas; sin embargo, se tendría que evaluar esto para poder llegar a una conclusión certera.

Uno de los objetivos del presente trabajo era evaluar si los niveles de GFAP sérico podrían servir de indicador de daño central. Esto fundamentado en el hecho de que tanto las dietas hipercalóricas como el envejecimiento aumentan la permeabilidad de la BHE (Elahy et al., 2015; Kanoski et al., 2010; Ouyang et al., 2014) y que causan alteraciones en

el sistema glinfático (Benveniste et al., 2019), ambas posibilidades hacen factible la detección de esta proteína en fluidos periféricos (Petzold, 2015). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en la cantidad de GFAP sérico evaluado por ELISA en los animales expuestos a dieta hipercalórica ni en los animales envejecidos. Esto podría deberse a que el daño ocasionado por la dieta no resultó tan intenso como esperábamos, o bien, que el sistema fue capaz de contender ante el daño, por lo que se propone que en un futuro se incluya la evaluación de la integridad de la BHE para tener un mayor entendimiento del fenómeno.

Los antecedentes que analizan GFAP sérico utilizan casos de daños severos como isquemias o traumatismos craneoencefálicos (McMahon et al., 2015; Missler et al., 1999) o bien en enfermedades neurodegenerativas e irreversibles como la enfermedad de Alzheimer (Oeckl et al., 2019; Petzold et al., 2004). En el transcurso de la elaboración de esta tesis, también se evaluaron los niveles de GFAP sérico en casos de adultos mayores de 65 años con trastorno neurocognitivo que presentaban o no DMT2; de manera interesante, encontramos un aumento significativo de GFAP sérico únicamente en los pacientes envejecidos con diabetes y con trastorno neurocognitivo, además dichos niveles de GFAP sérico tienen una correlación negativa con el desempeño cognitivo evaluado con la prueba mini mental (Ayala-Guerrero et al, en preparación). Es decir, parece ser que GFAP sérico únicamente tiene un valor informativo importante sobre el estado central cuando el daño es muy severo e irreversible. Por lo que, se propone que en un futuro se evalúe el impacto de la dieta hipercalórica desde el destete (adolescencia) hasta la adultez (10m) o inicios del envejecimiento (15m) para indagar si bajo estas condiciones, que son más similares a las reportadas en humanos, GFAP sérico tienen un valor informativo del daño central y un valor predictivo del deterioro cognitivo en etapas previas a que el daño sea irreversible.

Finalmente, no se encontraron correlaciones significativas entre los niveles de GFAP sérico con GFAP central en ninguno de los grupos, esto nuevamente podría deberse a que el daño inducido parece ser insuficiente, por lo que es de esperarse que no haya relación alguna. Respecto a los parámetros cognitivos, no se encontraron correlaciones significativas entre el GFAP sérico ni central con la latencia de llegada a la plataforma ni con el número de cruces. Sí se analiza con cuidado la dispersión de los datos en la evocación de la memoria espacial del grupo 5mHC, se puede notar que hay animales que tienen un desempeño muy deficiente, desempeño normal y desempeño excelente, estas variaciones en la ejecución de la prueba nos confirman que el daño no fue tan severo por

lo que habría que analizar más detalladamente a los animales con memoria deficiente y sus niveles de GFAP sérico. En el presente trabajo, se tomaron al azar 10 animales por grupo para cuantificar GFAP sérico, por lo que se propone aumentar la n en estos experimentos.

Respecto a los parámetros metabólicos, se encontró una correlación negativa entre los niveles de GFAP sérico con el peso y la glucosa en sangre únicamente de los animales controles, es decir entre mayores niveles de GFAP sérico los animales pesan menos y sus niveles de glucosa basal en ayuno son menores, y viceversa. Esto podría explicarse ya que el sistema metabólico y el sistema inmune están muy relacionados, la respuesta inflamatoria modifica el metabolismo del organismo favoreciendo o suprimiendo diferentes vías de señalización, entre ellas la vía de la insulina (Wanrooy et al., 2018). De esta manera, entre mayor inflamación (más GFAP) se podría estar activando más la vía de la insulina y por ende tener menores niveles de glucosa en sangre, para confirmar esto es necesario un análisis metabólico más amplio que incluya la medición de insulina en plasma.

Adicionalmente, Zhang y colaboradores, demostraron que los astrocitos hipotalámicos son vitales para el control del balance metabólico y que estos pueden cambiar su morfología dependiendo si el organismo se encuentra en un estado de sobre nutrición o en ayuno. Dichos cambios morfológicos influyen en cambios fisiológicos y periféricos incluyendo la ingesta de alimento (relacionada con el peso), la regulación de la glucosa y la presión sanguínea (Zhang et al., 2017). Probablemente el análisis de la astrogliosis en el hipotálamo nos pueda ayudar a explicar mejor las correlaciones significativas encontradas en el presente trabajo.

7. CONCLUSIÓN

Con los datos obtenidos en el presente trabajo se confirma el efecto deletéreo de las dietas hipercalóricas sobre la formación de memorias espaciales. Adicionalmente, se confirma que la adolescencia es un periodo vulnerable en donde se pueden inducir daños tempranos, por lo que exponer a dietas hipercalóricas desde periodos juveniles podría tener repercusiones graves a largo plazo; por ejemplo, estos animales podrían llegar al envejecimiento con deterioros cognitivos mucho mayores a los ya reportados por la simple edad. También, el presente trabajo muestra evidencia de que el consumo de dietas hipercalóricas favorece una activación astrocítica hipocampal comparable a la que se podría desarrollar en el envejecimiento natural. Sin embargo, sería útil seguir explorando este comportamiento con un análisis de diferentes áreas del hipocampo, así como hacer una caracterización completa del perfil secretor de los astrocitos reactivos encontrados.

Finalmente, por los antecedentes previamente citados, parece ser que GFAP sérico es un buen marcador de daño central siempre y cuando este sea severo. El objetivo de este trabajo era indagar sobre el papel de GFAP sérico en etapas previas, cuando el daño aún se puede tratar y prevenir; sin embargo, no se encontraron cambios en los niveles séricos de GFAP entre los grupos, lo que indica que, bajo estas condiciones, el GFAP sérico no es un buen marcador periférico de daño central en etapas iniciales, por lo que sería conveniente examinar los niveles séricos de GFAP en etapas avanzadas de dicho daño. A pesar de esto, hasta el momento no se había evaluado los niveles de GFAP sérico tras la ingesta de dietas hipercalóricas en etapas vulnerables ni durante el envejecimiento normal, por lo que estos resultados aportan nueva evidencia sobre el comportamiento de GFAP sérico bajo estas condiciones.

8. REFERENCIAS

- Abbott, N. J., Patabendige, A. A. K., Dolman, D. E. M., Yusof, S. R., & Begley, D. J. (2010). Structure and function of the blood-brain barrier. *Neurobiology of Disease*, 37(1), 13–25. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2009.07.030>
- Aguado-Aguilar, L. (2001). Aprendizaje y memoria. *Revista de Neurología*, 32(4), 373–381. <https://doi.org/10.33588/rn.3204.2000154>
- Alegría-Ezquerria, E., Castellano Vázquez, J. M., & Barrero, A. A. (2008). Obesity, metabolic syndrome and diabetes: Cardiovascular implications and therapy. *Revista Espanola de Cardiología*, 61(7), 752–764. <https://doi.org/10.1157/13123996>
- Allen, N. J., & Barres, B. A. (2009). Neuroscience: Glia - more than just brain glue. *Nature*, 457(7230), 675–677. <https://doi.org/10.1038/457675a>
- Anderson, M. A., Ao, Y., & Sofroniew, M. V. (2014). Heterogeneity of reactive astrocytes. *Neuroscience Letters*, 565, 23–29. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2013.12.030>
- Andrikopoulos, S., Blair, A. R., Deluca, N., Fam, B. C., & Proietto, J. (2008). Evaluating the glucose tolerance test in mice. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 295(6). <https://doi.org/10.1152/ajpendo.90617.2008>
- Angelova, P. R., & Abramov, A. Y. (2018). Role of mitochondrial ROS in the brain: from physiology to neurodegeneration. *FEBS Letters*, 592(5), 692–702. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.12964>
- Araque, A., Parpura, V., Sanzgiri, R. P., & Haydon, P. G. (1999). Tripartite synapses: Glia, the unacknowledged partner. *Trends in Neurosciences*, 22(5), 208–215. [https://doi.org/10.1016/S0166-2236\(98\)01349-6](https://doi.org/10.1016/S0166-2236(98)01349-6)
- Balschun, D., RANDOLF, A., PITOSI, F., SCHNEIDER, H., REY, A., & BESEDOVSKY, H. O. (2003). Hippocampal Interleukin-1 β Gene Expression during Long-Term Potentiation Decays with Age. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 992(1), 1–8. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2003.tb03132.x>
- Beilharz, J. E., Maniam, J., & Morris, M. J. (2016). Short-term exposure to a diet high in fat and sugar, or liquid sugar, selectively impairs hippocampal-dependent memory, with differential impacts on inflammation. *Behavioural Brain Research*, 306, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.03.018>
- Benveniste, H., Liu, X., Koundal, S., Sanggaard, S., Lee, H., & Wardlaw, J. (2019). The Glymphatic System and Waste Clearance with Brain Aging: A Review. *Gerontology*, 65(2), 106–119. <https://doi.org/10.1159/000490349>
- Bergles, D. E., & Richardson, W. D. (2016). Oligodendrocyte Development and Plasticity. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 8, 1–27. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a020453>
- Berkseth, K. E., Guyenet, S. J., Melhorn, S. J., Lee, D., Thaler, J. P., Schur, E. A., & Schwartz, M. W. (2014). Hypothalamic gliosis associated with high-fat diet feeding is reversible in mice: A combined immunohistochemical and magnetic resonance imaging study. *Endocrinology*, 155(8), 2858–2867. <https://doi.org/10.1210/en.2014-1121>
- Blancas-Flores, G. et al. (2010). Obesity as an inflammatory process. *Biol Med Hosp Infant Mex*, 67(2). <https://doi.org/10.4102/hsag.v11i2.220>
- Boitard, C., Etchamendy, N., Sauvant, J., Aubert, A., Tronel, S., Marighetto, A., Layé, S., & Ferreira, G. (2012). Juvenile, but not adult exposure to high-fat diet impairs relational memory and hippocampal neurogenesis in mice. *Hippocampus*, 22(11), 2095–2100. <https://doi.org/10.1002/hipo.22032>
- Boitard, Cavaroc, A., Sauvant, J., Aubert, A., Castanon, N., Layé, S., & Ferreira, G. (2014). Impairment of hippocampal-dependent memory induced by juvenile high-fat diet intake is associated with enhanced hippocampal inflammation in rats. *Brain, Behavior, and Immunity*, 40, 9–17. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2014.03.005>

- Boitard, Maroun, M., Tantot, F., Cavaroc, A., Sauvart, J., Marchand, A., Layé, S., Capuron, L., Darnaudery, M., Castanon, N., Coutureau, E., Youimba, R.-M., & Ferreira, G. (2015). *Behavioral/Cognitive Juvenile Obesity Enhances Emotional Memory and Amygdala Plasticity through Glucocorticoids*. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3122-14.2015>
- Bondan, E. F., Cardoso, C. V., Martins, M. D. F. M., & Otton, R. (2019). Memory impairments and increased GFAP expression in hippocampal astrocytes following hypercaloric diet in rats. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, *77*(9), 601–608. <https://doi.org/10.1590/0004-282X20190091>
- Braida, D., Sacerdote, P., Panerai, A. E., Bianchi, M., Aloisi, A. M., Iosué, S., & Sala, M. (2004). Cognitive function in young and adult IL (interleukin)-6 deficient mice. *Behavioural Brain Research*, *153*(2), 423–429. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2003.12.018>
- Buffo, A., Rolando, C., & Ceruti, S. (2010). Astrocytes in the damaged brain: Molecular and cellular insights into their reactive response and healing potential. *Biochemical Pharmacology*, *79*(2), 77–89. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2009.09.014>
- Calvo-Ochoa, E., Hernández-Ortega, K., Ferrera, P., Morimoto, S., & Arias, C. (2014). Short-term high-fat-and-fructose feeding produces insulin signaling alterations accompanied by neurite and synaptic reduction and astroglial activation in the rat hippocampus. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, *34*(6), 1001–1008. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2014.48>
- Campos, I. N., Cuevas, L. N., Castell, L. D. G., Barrera, L. H. T. S. L., Dommarco, Martínez, T. G. de C., & Rivera, J. Á. (2018). Epidemiología de la obesidad y sus principales comorbilidades en México. In *La obesidad en México: Estado de la política pública y recomendaciones para su prevención y control*.
- Cardoso, C., Afonso, C., & Bandarra, N. M. (2016). Dietary DHA and health: Cognitive function ageing. *Nutrition Research Reviews*, *29*(2), 281–294. <https://doi.org/10.1017/S0954422416000184>
- Chávez, A. G., Rosas, E. G. A., Ruiz, R. A., Pérez, A. R. B., Aguilera, J. C., Muñoz, E. G. C., Solís, F. K. C., Goiz, M. I. A. C., Pulido, J. M. E., Reynoso, J. J. E., Barros, C. F., Alcalá, H. G., Bárcena, D. G., González González, J. G., Ortiz, M. G., Boo, J. G., Hernández Y Hernández, H., Cornejo, M. A. H., Esqueda, A. L., ... Guajardo, S. Z. (2002). Consenso Mexicano sobre el tratamiento integral del síndrome metabólico. *Medicina Interna de México*, *18*(1), 12–41.
- Clarke, L. E., Liddelow, S. A., Chakraborty, C., Münch, A. E., Heiman, M., & Barres, B. A. (2018). Normal aging induces A1-like astrocyte reactivity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *115*(8), E1896–E1905. <https://doi.org/10.1073/pnas.1800165115>
- Cohen, J., & Torres, C. (2019). Astrocyte senescence: Evidence and significance. *Aging Cell*, *18*(3), 1–14. <https://doi.org/10.1111/accel.12937>
- Coleman, E., Judd, R., Hoe, L., Dennis, J., & Posner, P. (2004). Effects of diabetes mellitus on astrocyte GFAP and glutamate transporters in the CNS. *Glia*, *48*(2), 166–178. <https://doi.org/10.1002/glia.20068>
- CONEVAL. (2018). Informe de Evaluación de la Política de Desarrollo Social 2018. *CONEVAL*, *53*(9), 1689–1699. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- De Castro, F., Fern, R., & Alghamdi, B. (2015). Phenotype overlap in glial cell populations: astroglia, oligodendroglia and NG-2(+) cells. *Frontiers in Neuroanatomy | Www.Frontiersin.Org*, *1*, 49. <https://doi.org/10.3389/fnana.2015.00049>
- De Fiebre, N. E. C., Sumien, N., Forster, M. J., & De Fiebre, C. M. (2006). Spatial learning and psychomotor performance of C57BL/6 mice: Age sensitivity and reliability of individual differences. *Age*, *28*(3), 235–253. <https://doi.org/10.1007/s11357-006-9027-3>
- Del Olmo, N., & Ruiz-Gayo, M. (2018). Influence of high-fat diets consumed during the juvenile period on hippocampal morphology and function. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *12*(November), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00439>
- Donzis & Tronson, N. (2015). Modulation of learning and memory by cytokines: signaling mechanisms and long term consequences. *Neurobiology of Learning and Memory*, *23*(1), 68–77. <https://doi.org/10.1038/jid.2014.371>

- Douglass, J. D., Dorfman, M. D., Fasnacht, R., Shaffer, L. D., & Thaler, J. P. (2017). Astrocyte IKK β /NF- κ B signaling is required for diet-induced obesity and hypothalamic inflammation. *Molecular Metabolism*, 6(4), 366–373. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2017.01.010>
- Duncombe, J., Lennen, R. J., Jansen, M. A., Marshall, I., Wardlaw, J. M., & Horsburgh, K. (2017). Ageing causes prominent neurovascular dysfunction associated with loss of astrocytic contacts and gliosis. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 43(6), 477–491. <https://doi.org/10.1111/nan.12375>
- Elahy, M., Jackaman, C., Mamo, J. C. L., Lam, V., Dhaliwal, S. S., Giles, C., Nelson, D., & Takechi, R. (2015). Blood-brain barrier dysfunction developed during normal aging is associated with inflammation and loss of tight junctions but not with leukocyte recruitment. *Immunity and Ageing*, 12(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12979-015-0029-9>
- Esquivel-Solís, V., & Gómez-Salas, G. (2007). Implicaciones metabólicas del consumo excesivo de fructosa. *Acta Médica Costarricense*, 49(4), 198–202.
- FID. (2013). *ATLAS de la DIABETES de la FID*.
- Franceschi, C., Garagnani, P., Parini, P., Giuliani, C., & Santoro, A. (2018). Inflammaging: a new immune–metabolic viewpoint for age-related diseases. *Nature Reviews Endocrinology*, 14(10), 576–590. <https://doi.org/10.1038/s41574-018-0059-4>
- Franklin, K., & Paxinos, G. (2008). *The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates. The Coronal Plates and Diagrams* (K. Franklin & G. Paxinos (eds.)). Academic Press.
- Giaume, C., Kirchhoff, F., Matute, C., Reichenbach, A., & Verkhratsky, A. (2007). Glia: the fulcrum of brain diseases. *Cell Death and Differentiation*, 14, 1324–1335. <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4402144>
- Gomez-Pinilla, F. (2008). Brain foods: The effects of nutrients on brain function. *Nature Reviews Neuroscience*, 9(7), 568–578. <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed8&NEWS=N&AN=2008302608>
- Gonzalez, P., Machado, I., Vilcaes, A., Caruso, C., Roth, G. A., Schiöth, H., Lasaga, M., & Scimonelli, T. (2013). *Molecular mechanisms involved in interleukin 1-beta (IL-1 β)-induced memory impairment. Modulation by alpha-melanocyte-stimulating hormone (a-MSH)*. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2013.08.007>
- Goshen, I., Kreisel, T., Ounallah-Saad, H., Renbaum, P., Zalzstein, Y., Ben-Hur, T., Levy-Lahad, E., & Yirmiya, R. (2007). A dual role for interleukin-1 in hippocampal-dependent memory processes. *Psychoneuroendocrinology*, 32, 1106–1115. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2007.09.004>
- Greenwood, C. E., & Winocur, G. (2005). High-fat diets, insulin resistance and declining cognitive function. *Neurobiology of Aging*, 26(SUPPL.), 42–45. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2005.08.017>
- Gregor, M. F., & Hotamisligil, G. S. (2011). Inflammatory Mechanisms in Obesity. *Annual Review of Immunology*, 29(1), 415–445. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-031210-101322>
- Hotamisligil, G. S. (2006). Inflammation and metabolic disorders. *Nature*, 444(7121), 860–867. <https://doi.org/10.1038/nature05485>
- Houtkooper, R. H., Argmann, C., Houten, S. M., Cantó, C., Jenning, E. H., Andreux, P. A., Thomas, C., Doenlen, R., Schoonjans, K., & Auwerx, J. (2011). *The metabolic footprint of aging in mice*. <https://doi.org/10.1038/srep00134>
- Jacqmin-Gadda, H., Fabrigoule, C., Commenges, D., & Dartigues, J. F. (1997). A 5-year longitudinal study of the mini-mental state examination in normal aging. *American Journal of Epidemiology*, 145(6), 498–506. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a009137>
- Janson, J., Laedtke, T., Parisi, J. E., O'Brien, P., Petersen, R. C., & Butler, P. C. (2004). Increased Risk of Type 2 Diabetes in Alzheimer Disease. *Diabetes*, 53(2), 474–481. <https://doi.org/10.2337/diabetes.53.2.474>
- Jessen, N. A., Munk, A. S. F., Lundgaard, I., & Nedergaard, M. (2015). The Glymphatic System: A Beginner's Guide. *Neurochemical Research*, 40(12), 2583–2599. <https://doi.org/10.1007/s11064-015-1581-6>

- Joseph, J., Cole, G., Head, E., & Ingram, D. (2009). Nutrition, brain aging, and neurodegeneration. *Journal of Neuroscience*, 29(41), 12795–12801. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3520-09.2009>
- Julien, C., Tremblay, C., Phivilay, A., Berthiaume, L., Émond, V., Julien, P., & Calon, F. (2010). High-fat diet aggravates amyloid-beta and tau pathologies in the 3xTg-AD mouse model. *Neurobiology of Aging*, 31(9), 1516–1531. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2008.08.022>
- Jurdak, N., & Kanarek, R. B. (2009). Sucrose-induced obesity impairs novel object recognition learning in young rats. *Physiology and Behavior*, 96(1), 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2008.07.023>
- Kamal, A., Biessels, G. J., Duis, S. E. J., & Gispen, W. H. (2000). Learning and hippocampal synaptic plasticity in streptozotocin-diabetic rats: Interaction of diabetes and ageing. *Diabetologia*, 43(4), 500–506. <https://doi.org/10.1007/s001250051335>
- Kanoski, S. E., & Davidson, T. L. (2011). Western diet consumption and cognitive impairment: Links to hippocampal dysfunction and obesity. *Physiology and Behavior*, 103(1), 59–68. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2010.12.003>
- Kanoski, Zhang, Y., Zheng, W., & Davidson, T. (2010). The effects of a high-energy diet on hippocampal-dependent negative occasion setting and blood-brain barrier integrity in the rat. *J Alzheimer Dis*, 21(1), 207–219. <https://doi.org/10.3233/JAD-2010-091414>.The
- Kettenmann, H., Kirchhoff, F., & Verkhratsky, A. (2013). Microglia: New Roles for the Synaptic Stripper. In *Neuron* (Vol. 77, Issue 1, pp. 10–18). Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.12.023>
- Khazen, T., Hatoum, O. A., Ferreira, G., & Maroun, M. (2019). Acute exposure to a high-fat diet in juvenile male rats disrupts hippocampal-dependent memory and plasticity through glucocorticoids. *Scientific Reports*, 9(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-48800-2>
- Lechuga-Sancho, A. M., Arroba, A. I., Frago, L. M., García-Cáceres, C., Delgado-Rubín De Célix, A., Argente, J., & Chowen, J. A. (2006). Reduction in the number of astrocytes and their projections is associated with increased synaptic protein density in the hypothalamus of poorly controlled diabetic rats. *Endocrinology*, 147(11), 5314–5324. <https://doi.org/10.1210/en.2006-0766>
- Liddel, S. A., & Barres, B. A. (2017). Reactive Astrocytes: Production, Function, and Therapeutic Potential. *Immunity*, 46(6), 957–967. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.06.006>
- Liu, Z., Patil, I. Y., Jiang, T., Sancheti, H., Walsh, J. P., Stiles, B. L., Yin, F., & Cadenas, E. (2015). *High-Fat Diet Induces Hepatic Insulin Resistance and Impairment of Synaptic Plasticity*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128274>
- McMahon, P. J., Panczykowski, D. M., Yue, J. K., Puccio, A. M., Inoue, T., Sorani, M. D., Lingsma, H. F., Maas, A. I. R., Valadka, A. B., Yuh, E. L., Mukherjee, P., Manley, G. T., Okonkwo, D. O., Casey, S. S., Cheong, M., Cooper, S. R., Dams-O'Connor, K., Gordon, W. A., Hricik, A. J., ... Vassar, M. J. (2015). Measurement of the glial fibrillary acidic protein and its breakdown products GFAP-BDP biomarker for the detection of traumatic brain injury compared to computed tomography and magnetic resonance imaging. *Journal of Neurotrauma*, 32(8), 527–533. <https://doi.org/10.1089/neu.2014.3635>
- Mejia-Arango & Gutierrez. (2011). Prevalence and Incidence Rates of Dementia and Cognitive Impairment No Dementia in the Mexican Population: Data from the Mexican Health and Aging Study. *Journal of Aging Health*, 23(7), 1050–1074. <https://doi.org/10.1177/0898264311421199>.Prevalence
- Messier, C., Whately, K., Liang, J., Du, L., & Puissant, D. (2007). The effects of a high-fat, high-fructose, and combination diet on learning, weight, and glucose regulation in C57BL/6 mice. *Behavioural Brain Research*, 178(1), 139–145. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2006.12.011>
- Mielke, J. G., Nicolitch, K., Avellaneda, V., Earlam, K., Ahuja, T., Mealing, G., & Messier, C. (2006). Longitudinal study of the effects of a high-fat diet on glucose regulation, hippocampal function, and cerebral insulin sensitivity in C57BL/6 mice. *Behavioural Brain Research*, 175(2), 374–382. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2006.09.010>
- Missler, U., Wiesmann, M., Wittmann, G., Magerkurth, O., & Hagenström, H. (1999). Measurement of glial fibrillary acidic protein in human blood: Analytical method and preliminary clinical results. *Clinical*

Chemistry, 45(1), 138–141.

- Molteni, R., Barnard, R. J., Ying, Z., Roberts, C. K., & Gómez-Pinilla, F. (2002). A high-fat, refined sugar diet reduces hippocampal brain-derived neurotrophic factor, neuronal plasticity, and learning. *Neuroscience*, 112(4), 803–814. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(02\)00123-9](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(02)00123-9)
- Moore, A. H., Wu, M., Shafiq, S. S., Graham, K. A., & O'Banion, M. K. (2009). Sustained expression of interleukin-1 β in mouse hippocampus impairs spatial memory. *Neuroscience*, 164(4), 1484–1495. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2009.08.073>
- Morin, J. P., Rodríguez-Durán, L. F., Guzmán-Ramos, K., Perez-Cruz, C., Ferreira, G., Diaz-Cintra, S., & Pacheco-López, G. (2017). Palatable hyper-caloric foods impact on neuronal plasticity. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 11(February). <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2017.00019>
- Morris, R. (1984). Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *Journal of Neuroscience Methods*, 11(1), 47–60. [https://doi.org/10.1016/0165-0270\(84\)90007-4](https://doi.org/10.1016/0165-0270(84)90007-4)
- Munshi, M. N. (2017). Cognitive dysfunction in older adults with diabetes: What a clinician needs to know. *Diabetes Care*, 40(4), 461–467. <https://doi.org/10.2337/dc16-1229>
- Nagayach, A., Patro, N., & Patro, I. (2014a). Astrocytic and microglial response in experimentally induced diabetic rat brain. *Metabolic Brain Disease*, 29(3), 747–761. <https://doi.org/10.1007/s11011-014-9562-z>
- Nagayach, A., Patro, N., & Patro, I. (2014b). Experimentally induced diabetes causes glial activation, glutamate toxicity and cellular damage leading to changes in motor function. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 8(October), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00355>
- Navarrete-Reyes, A. P., & Montaña-Álvarez, M. (2009). Inflammaging. Envejecimiento de origen inflamatorio. *Revista de Investigacion Clinica*, 61(4), 327–336.
- Navarrete, M., Perea, G., Maglio, L., Pastor, J., García De Sola, R., & Araque, A. (2013). Astrocyte calcium signal and gliotransmission in human brain tissue. *Cerebral Cortex*, 23(5), 1240–1246. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhs122>
- Nedergaard, M., Ransom, B., & Goldman, S. A. (2003). New roles for astrocytes: Redefining the functional architecture of the brain. *Trends in Neurosciences*, 26(10), 523–530. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2003.08.008>
- Oeckl, P., Halbgebauer, S., Anderl-Straub, S., Steinacker, P., Hussa, A. M., Neugebauer, H., Von Arnim, C. A. F., Diehl-Schmid, J., Grimmer, T., Kornhuber, J., Lewczuk, P., Danek, A., Degeneration, L., Ludolph, A. C., & Otto, M. (2019). Glial fibrillary acidic protein in serum is increased in Alzheimer's disease and correlates with cognitive impairment. *Journal of Alzheimer's Disease*, 67(2), 481–488. <https://doi.org/10.3233/JAD-180325>
- Olivares-Reyes, et al. (2008). *Bases moleculares de las acciones de la insulina*. 27(1), 9–18.
- OMS. (2016). Informe de la comisión para acabar con la obesidad infantil 2016. 69ª Asamblea Mundial de La Salud, 1–42. [https://doi.org/ISBN 978 92 4 351006 4](https://doi.org/ISBN%20978%2092%204%20351006%204)
- Ouyang, S., Hsueh, H., Kastin, A. J., Wang, Y., Yu, C., & Pan, W. (2014). Diet-induced obesity suppresses expression of many proteins at the blood-brain barrier. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 34(1), 43–51. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2013.166>
- Palmer, A. L., & Ousman, S. S. (2018). Astrocytes and aging. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 10(October), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2018.00337>
- Paolicelli, R. C., Bolasco, G., Pagani, F., Maggi, L., Scianni, M., Panzanelli, P., Giustetto, M., Ferreira, T. A., Guiducci, E., Dumas, L., Ragozzino, D., & Gross, C. T. (2011). Synaptic pruning by microglia is necessary for normal brain development. *Science*, 333(6048), 1456–1458. <https://doi.org/10.1126/science.1202529>
- Pascual, O., Casper, K. B., Kubera, C., Zhang, J., Revilla-Sanchez, R., Sul, J. Y., Takano, H., Moss, S. J., McCarthy, K., & Haydon, P. G. (2005). Neurobiology: Astrocytic purinergic signaling coordinates synaptic networks. *Science*, 310(5745), 113–116. <https://doi.org/10.1126/science.1116916>

- Pekny, M., & Nilsson, M. (2005). Astrocyte activation and reactive gliosis. *Glia*, 50(4), 427–434. <https://doi.org/10.1002/glia.20207>
- Pekny, M., & Pekna, M. (2014). Astrocyte reactivity and reactive astrogliosis: Costs and benefits. *Physiological Reviews*, 94(4), 1077–1098. <https://doi.org/10.1152/physrev.00041.2013>
- Pekny, M., Wilhelmsson, U., & Pekna, M. (2014). The dual role of astrocyte activation and reactive gliosis. *Neuroscience Letters*, 565, 30–38. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2013.12.071>
- Perea, G., & Araque, A. (2010). GLIA modulates synaptic transmission. *Brain Research Reviews*, 63(1–2), 93–102. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2009.10.005>
- Petzold. (2015). Glial fibrillary acidic protein is a body fluid biomarker for glial pathology in human disease. *Brain Research*, 1600, 17–31. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2014.12.027>
- Petzold, A., Keir, G., Green, A. J. E., Giovannoni, G., & Thompson, E. J. (2004). An ELISA for glial fibrillary acidic protein. *Journal of Immunological Methods*, 287(1–2), 169–177. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2004.01.015>
- Pistell, P. J., Morrison, C. D., Gupta, S., Knight, A. G., Keller, J. N., Ingram, D. K., & Bruce-Keller, A. J. (2010). Cognitive impairment following high fat diet consumption is associated with brain inflammation. *Journal of Neuroimmunology*, 219(1–2), 25–32. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2009.11.010>
- Reyes, D., Bulavina, L., & Pivneva, T. (2014). La glia el pegamento de las ideas. *Ciencia*, 12–18.
- Riedel, G., Micheau, J., Lam, A. G. M., Roloff, E. V. L., Martin, S. J., Bridge, H., De Hoz, L., Poeschel, B., McCulloch, J., & Morris, R. G. M. (1999). Reversible neural inactivation reveals hippocampal participation in several memory processes. *Nature Neuroscience*, 2(10), 898–905. <https://doi.org/10.1038/13202>
- Rodríguez-Arellano, J. J., Parpura, V., Zorec, R., & Verkhratsky, A. (2016). Astrocytes in physiological aging and Alzheimer's disease. *Neuroscience*, 323, 170–182. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.01.007>
- Rodríguez, J. J., Yeh, C. Y., Terzieva, S., Olabarria, M., Kulijewicz-Nawrot, M., & Verkhratsky, A. (2014). Complex and region-specific changes in astroglial markers in the aging brain. *Neurobiology of Aging*, 35(1), 15–23. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2013.07.002>
- Ross, A. P., Bartness, T. J., Mielke, J. G., & Parent, M. B. (2009). A high fructose diet impairs spatial memory in male rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, 92(3), 410–416. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2009.05.007>
- Salthouse, T. A. (2010). Selective review of cognitive aging. *Journal of the International Neuropsychological Society*, 16(5), 754–760. <https://doi.org/10.1017/S1355617710000706>
- Salud, G. F. (2010). *Acuerdo Nacional para la Salud Alimentaria Estrategia contra el sobrepeso y la obesidad*.
- Sánchez Navarro, J., & Román Lapuente, F. (1998). Cambios neuropsicológicos asociados al envejecimiento normal. *Anales de Psicología*, 14(1), 27–44.
- Santello, M., Toni, N., & Volterra, A. (2019). Astrocyte function from information processing to cognition and cognitive impairment. *Nature Neuroscience*, 22(2), 154–166. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0325-8>
- Selkoe, D. J. (2002). Alzheimer's disease is a synaptic failure. *Science*, 298(5594), 789–791. <https://doi.org/10.1126/science.1074069>
- Serrano, F., & Klann, E. (2004). Reactive oxygen species and synaptic plasticity in the aging hippocampus. *Ageing Research Reviews*, 3(4), 431–443. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2004.05.002>
- Sharif, A., & Prevot, V. (2017). When Size Matters: How Astrocytic Processes Shape Metabolism. *Cell Metabolism*, 25(5), 995–996. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.04.016>
- Sims-Robinson, et al. (2010). How does diabetes accelerate Alzheimer disease pathology? *Catrina. Nature Reviews Neurology*, 6(10), 551–559. <https://doi.org/10.1038/jid.2014.371>
- Soares, E., Prediger, R. D., Nunes, S., Castro, A. A., Viana, S. D., Lemos, C., De Souza, C. M., Agostinho, P.,

- Cunha, R. A., Carvalho, E., Fontes Ribeiro, C. A., Reis, F., & Pereira, F. C. (2013). Spatial memory impairments in a prediabetic rat model. *Neuroscience*, 250, 565–577. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.07.055>
- Sofroniew, M. V., & Vinters, H. V. (2010). Astrocytes: Biology and pathology. *Acta Neuropathologica*, 119(1), 7–35. <https://doi.org/10.1007/s00401-009-0619-8>
- Sofroniew, M. V. (2015). Astroglial perspectives. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 7(2), 1–16. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a020420>
- Stanko, J. P., & Fenton, S. E. (2017). Quantifying branching density in rat mammary gland whole-mounts using the sholl analysis method. *Journal of Visualized Experiments*, 2017(125), 1–12. <https://doi.org/10.3791/55789>
- Stranahan, A. M., Norman, E. D., Lee, K., Cutler, R. G., Telljohann, R. S., Egan, J. M., & Mattson, M. P. (2008). Diet-induced insulin resistance impairs hippocampal synaptic plasticity and cognition in middle-aged rats. *Hippocampus*, 18(11), 1085–1088. <https://doi.org/10.1002/hipo.20470>
- Tang, Y. P., Shimizu, E., Dube, G. R., Rampon, C., Kerchner, G. A., Zhuo, M., Liu, G., & Tsien, J. Z. (1999). Genetic enhancement of learning and memory in mice. *Nature*, 401(6748), 63–69. <https://doi.org/10.1038/43432>
- Tavares, G., Martins, M., Correia, J. S., Sardinha, V. M., Guerra-Gomes, S., das Neves, S. P., Marques, F., Sousa, N., & Oliveira, J. F. (2017). Employing an open-source tool to assess astrocyte tridimensional structure. *Brain Structure and Function*, 222(4), 1989–1999. <https://doi.org/10.1007/s00429-016-1316-8>
- Thirumangalakudi, L., Prakasam, A., Zhang, R., Bimonte-Nelson, H., Sambamurti, K., Kindy, M. S., & Bhat, N. R. (2008). High cholesterol-induced neuroinflammation and amyloid precursor protein processing correlate with loss of working memory in mice. *Journal of Neurochemistry*, 106(1), 475–485. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2008.05415.x>
- Tichy, J., Spechtmeier, S., Mittelbronn, M., Hattingen, E., Rieger, J., Senft, C., & Foerch, C. (2015). Prospective evaluation of serum glial fibrillary acidic protein (GFAP) as a diagnostic marker for glioblastoma. *Journal of Neuro-Oncology*, 126(2), 361–369. <https://doi.org/10.1007/s11060-015-1978-8>
- Tsai, S. F., Chen, Y. W., & Kuo, Y. M. (2018). High-fat diet reduces the hippocampal content level of lactate which is correlated with the expression of glial glutamate transporters. *Neuroscience Letters*, 662(September 2017), 142–146. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2017.10.024>
- Tsai, Wu, H. T., Chen, P. C., Chen, Y. W., Yu, M., Wang, T. F., Wu, S. Y., Tzeng, S. F., & Kuo, Y. M. (2018). High-fat diet suppresses the astrocytic process arborization and downregulates the glial glutamate transporters in the hippocampus of mice. *Brain Research*, 1700, 66–77. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2018.07.017>
- Uhlén, M., Fagerberg, L., Hallström, B. M., Lindskog, C., Oksvold, P., Mardinoglu, A., Sivertsson, Å., Kampf, C., Sjöstedt, E., Asplund, A., Olsson, I. M., Edlund, K., Lundberg, E., Navani, S., Szigartyo, C. A. K., Odeberg, J., Djureinovic, D., Takanen, J. O., Hober, S., ... Pontén, F. (2015). Tissue-based map of the human proteome. *Science*, 347(6220). <https://doi.org/10.1126/science.1260419>
- Valcarcel-Ares, M. N., Tucsek, Z., Kiss, T., Giles, C. B., Tarantini, S., Yabluchanskiy, A., Balasubramanian, P., Gautam, T., Galvan, V., Ballabh, P., Richardson, A., Freeman, W. M., Wren, J. D., Deak, F., Ungvari, Z., & Csiszar, A. (2019). Obesity in aging exacerbates neuroinflammation, dysregulating synaptic function-related genes and altering eicosanoid synthesis in the mouse hippocampus: Potential role in impaired synaptic plasticity and cognitive decline. *Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences*, 74(3), 290–298. <https://doi.org/10.1093/gerona/gly127>
- Valladolid-Acebes, I., Merino, B., Principato, A., Fole, A., Barbas, C., Lorenzo, M. P., García, A., del Olmo, N., Ruiz-Gayo, M., & Cano, V. (2012). High-fat diets induce changes in hippocampal glutamate metabolism and neurotransmission. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 302(4), 396–402. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00343.2011>
- Vicens, P., Redolat, R., & Del Carmen Carrasco, M. (2003). Aprendizaje espacial y laberinto de agua: Metodología y aplicaciones. *Psicothema*, 15(4), 539–544.

- Wacher-Rodarte, N. (2009). *II. Epidemiología del síndrome metabólico*. 145(5), 5–7.
- Wanrooy, B. J., Kumar, K. P., Wen, S. W., Qin, C. X., Ritchie, R. H., & Wong, C. H. Y. (2018). Distinct contributions of hyperglycemia and high-fat feeding in metabolic syndrome-induced neuroinflammation. *Journal of Neuroinflammation*, 15(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s12974-018-1329-8>
- Wellen & Hotamisligil, G. (2003). Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue. *Journal of Clinical Investigation*, 112(12), 1785–1788. <https://doi.org/10.1172/JCI200320514>.Obesity
- White, C. L., Pistell, P. J., Purpera, M. N., Gupta, S., Fernandez-Kim, S. O., Hise, T. L., Keller, J. N., Ingram, D. K., Morrison, C. D., & Bruce-Keller, A. J. (2009). Effects of high fat diet on Morris maze performance, oxidative stress, and inflammation in rats: Contributions of maternal diet. *Neurobiology of Disease*, 35(1), 3–13. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2009.04.002>
- Xia, S., Zhang, X., Zheng, S., Khanabdali, R., Kalionis, B., Wu, J., Wan, W., & Tai, X. (2016). An Update on Inflamm-Aging: Mechanisms, Prevention, and Treatment. *Journal of Immunology Research*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/8426874>
- Xu, H. (2014). Obesity and metabolic inflammation. *Drug Discovery Today*, 10(1), 1–7. <https://doi.org/10.1038/jid.2014.371>
- Yang, Z., & Wang, K. K. W. (2015). Glial fibrillary acidic protein: From intermediate filament assembly and gliosis to neurobiomarker. *Trends in Neurosciences*, 38(6), 364–374. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2015.04.003>
- Yirmiya, R., & Goshen, I. (2010). *Immune modulation of learning, memory, neural plasticity and neurogenesis*. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2010.10.015>
- Young, K., & Morrison, H. (2018). Quantifying microglia morphology from photomicrographs of immunohistochemistry prepared tissue using imagej. *Journal of Visualized Experiments*, 2018(136), 1–9. <https://doi.org/10.3791/57648>
- Zhang, Reichel, J. M., Han, C., Zuniga-Hertz, J. P., & Cai, D. (2017). Astrocytic Process Plasticity and IKK β /NF- κ B in Central Control of Blood Glucose, Blood Pressure, and Body Weight. *Cell Metabolism*, 25(5), 1091-1102.e4. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.04.002>
- Zhang, Z., Zoltewicz, J. S., Mondello, S., Newsom, K. J., Yang, Z., Yang, B., Kobeissy, F., Guingab, J., Glushakova, O., Robicsek, S., Heaton, S., Buki, A., Hannay, J., Gold, M. S., Rubenstein, R., Lu, X. C. M., Dave, J. R., Schmid, K., Tortella, F., ... Wang, K. K. W. (2014). Human traumatic brain injury induces autoantibody response against glial fibrillary acidic protein and its breakdown products. *PLoS ONE*, 9(3), 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092698>
- Zhao, L., Fu, Z., Wu, J., Aylor, K. W., Barrett, E. J., Cao, W., & Liu, Z. (2015). Inflammation-induced microvascular insulin resistance is an early event in diet-induced obesity. *Clinical Science*, 129(12), 1025–1036. <https://doi.org/10.1042/CS20150143>

9. ANEXOS

ANEXO 1. Correlaciones simples entre todos los parámetros

Si los datos cumplían el supuesto de normalidad se analizaron con correlación simple de Pearson, sino lo cumplían se analizaron con correlación simple de Spearman. Las casillas amarillas indican aquellas correlaciones significativas ($p \leq 0.05$) y las casillas rosas indican correlaciones con una fuerte tendencia a ser significativas ($p = 0.059$ o 0.06).

Valores r (Pearson o Spearman)		Distancia Radial	No intersecciones	Latencia	Cruces	Peso	Grasa	Glucosa	ABC_Glucosa	GFAP suero
5mNC	Distancia Radial		0.40	0.04	0.07	0.05	0.26	0.02	0.43	0.29
	No intersecciones	0.40		-0.17	0.05	0.48	0.22	0.36	0.28	-0.02
	Latencia	0.04	-0.17		0.30	0.00	0.12	-0.03	0.16	0.13
	Cruces	0.07	0.05	0.30		-0.23	0.54	0.37	0.05	0.17
	Peso	0.05	0.48	0.00	-0.23		0.50	0.45	0.59	-0.75
	Grasa	0.26	0.22	0.12	0.54	0.50		0.68	0.60	-0.20
	Glucosa	0.02	0.36	-0.03	0.37	0.45	0.68		0.38	-0.72
	ABC_Glucosa	0.43	0.28	0.16	0.05	0.59	0.60	0.38		-0.57
	GFAP suero	0.29	-0.02	0.13	0.17	-0.75	-0.20	-0.72	-0.57	
5mHF	Distancia Radial		0.92	0.22	-0.01	-0.44	-0.55	-0.50	-0.47	-0.19
	No intersecciones	0.92		0.37	-0.20	-0.24	-0.38	-0.42	-0.27	-0.05
	Latencia	0.22	0.37		-0.77	0.06	0.51	0.11	0.57	0.32
	Cruces	-0.01	-0.20	-0.77		-0.25	-0.51	-0.53	-0.63	-0.45
	Peso	-0.44	-0.24	0.06	-0.25		0.28	0.67	0.76	0.54
	Grasa	-0.55	-0.38	0.51	-0.51	0.28		0.26	0.67	0.22
	Glucosa	-0.50	-0.42	0.11	-0.53	0.67	0.26		0.68	0.41
	ABC_Glucosa	-0.47	-0.27	0.57	-0.63	0.76	0.67	0.68		0.48
	GFAP suero	-0.19	-0.05	0.32	-0.45	0.54	0.22	0.41	0.48	
10m	Distancia Radial		0.39	0.09	-0.09	-0.02	0.04	-0.29	0.02	-0.37
	No intersecciones	0.39		-0.33	0.48	0.07	0.54	-0.27	0.14	-0.24
	Latencia	0.09	-0.33		-0.65	-0.62	-0.64	-0.30	-0.41	0.62
	Cruces	-0.09	0.48	-0.65		0.09	0.34	-0.33	0.02	0.22
	Peso	-0.02	0.07	-0.62	0.09		0.69	0.83	0.16	-0.48
	Grasa	0.04	0.54	-0.64	0.34	0.69		0.32	0.50	-0.46
	Glucosa	-0.29	-0.27	-0.30	-0.33	0.83	0.32		0.08	-0.33

	ABC_Glucosa	0.02	0.14	-0.41	0.02	0.16	0.50	0.08		-0.38
	GFAP suero	-0.37	-0.24	0.62	0.22	-0.48	-0.46	-0.33	-0.38	
15m	Distancia Radial		0.83	-0.45	-0.43	1.00	0.98	-0.37	-0.21	-0.87
	No intersecciones	0.83		-0.48	-0.49	-0.50	-0.50	-0.50	-0.50	-0.77
	Latencia	-0.42	-0.48		-0.27	0.60	0.60	-1.00	-1.00	0.13
	Cruces	-0.43	-0.49	-0.27		0.18	0.40	0.35	0.65	0.41
	Peso	1.00	-0.50	0.60	0.18		0.88	-0.59	-0.31	-0.01
	Grasa	0.98	-0.50	0.60	0.40	0.88		-0.67	-0.35	-0.18
	Glucosa	-0.37	-0.50	-1.00	0.35	-0.59	-0.67		0.93	0.92
	ABC_Glucosa	-0.21	-0.50	-1.00	0.65	-0.31	-0.35	0.93		0.97
	GFAP suero	-0.87	-0.77	0.13	0.41	-0.01	-0.18	0.92	0.97	
19m	Distancia Radial		0.81	-0.15	0.02	-0.05	0.12	0.63	0.04	-0.53
	No intersecciones	0.81		-0.23	0.17	-0.36	0.09	0.24	-0.59	-0.31
	Latencia	-0.15	-0.23		-0.24	-0.11	-0.12	-0.06	0.22	0.37
	Cruces	0.02	0.17	-0.24		0.07	0.10	0.01	0.09	0.42
	Peso	-0.05	-0.36	-0.11	0.07		0.74	0.62	0.73	0.22
	Grasa	0.12	0.09	-0.12	0.10	0.74		0.37	0.29	0.19
	Glucosa	0.63	0.24	-0.06	0.01	0.62	0.37		0.79	-0.28
	ABC_Glucosa	0.04	-0.59	0.22	0.09	0.73	0.29	0.79		0.10
	GFAP suero	-0.53	-0.31	0.37	0.42	0.22	0.19	-0.28	0.10	