



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA CELULAR
BIOMEDICINA**

**EFFECTO DE UNA DIETA ALTA EN SACAROSA SOBRE EL DESEMPEÑO
COGNITIVO DE RATAS WISTAR CON SÍNDROME METABÓLICO**

TESIS

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

SUSANA HERNÁNDEZ RAMÍREZ

**TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. MARCIA HIRIART URDANIVIA
INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA CELULAR, UNAM.**

**COMITÉ TUTOR: DR. FEDERICO BERMUDEZ RATTONI
INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA CELULAR, UNAM.
DR. RENÉ DE JESUS CÁRDENAS VÁZQUEZ
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM.**

CD.MX., MAYO, 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA CELULAR
BIOMEDICINA**

**EFEECTO DE UNA DIETA ALTA EN SACAROSA SOBRE EL DESEMPEÑO
COGNITIVO DE RATAS WISTAR CON SÍNDROME METABÓLICO**

TESIS

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

SUSANA HERNÁNDEZ RAMÍREZ

**TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. MARCIA HIRIART URDANIVIA
INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA CELULAR, UNAM.**

**COMITÉ TUTOR: DR. FEDERICO BERMUDEZ RATTONI
INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA CELULAR, UNAM.
DR. RENÉ DE JESUS CÁRDENAS VÁZQUEZ
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM.**

MÉXICO, CD.MX., MAYO, 2017

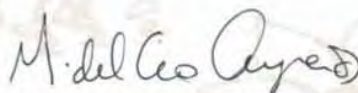
LIC. IVONNE RAMÍREZ WENCE
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que el Subcomité de Biología Experimental y Biomedicina en su sesión ordinaria del día 13 de febrero de 2017, aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** de la alumna, **HERNANDEZ RAMÍREZ SUSANA** con número de cuenta **306160552** con la tesis "**Efecto de una dieta alta en sacarosa sobre el desempeño cognitivo de ratas Wistar con síndrome metabólico**", realizada bajo la dirección de la **DRA. MARCIA HIRIART URDANIVIA**:

Presidente: DRA. MARÍA DE LOURDES MASSIEU TRIGO
Vocal: DR. FRANCISCO SOTRES BAYON
Secretario: DR. RENE DE JESÚS CÁRDENAS VÁZQUEZ
Suplente: DRA. MYRIAN VELASCO TORRES
Suplente: DRA. KIOKO RUBI GUZMÁN RAMOS

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 04 de abril de 2017



DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA



c.c.p. Expediente del (la) interesado (a)

AGRADECIMIENTOS

Al Posgrado de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México por la oportunidad de seguir creciendo profesionalmente.

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico y al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (DGAPA-PAPIIT) por los apoyos otorgados IN213114 y IN209413. Así como también al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo ANR.OBTEEN y la beca otorgada para la realización de este proyecto.

El presente proyecto de maestría se realizó bajo la dirección de la Dra. Marcia Hiriart Urdanivia en el laboratorio BL 102 del Departamento de Neurodesarrollo y Fisiología de la División de Neurociencias del Instituto de Fisiología Celular de la Universidad Nacional Autónoma de México.

A los miembros de mi Comité Tutor que estuvieron retroalimentándome y apoyándome durante la realización de este proyecto:

Dra. Marcia Hiriart Urdanivia
Dra. Federico Bermúdez Rattoni
Dr. René de Jesús Cárdenas Vázquez

AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

A la Dra. Myrian Velasco Torres y la Dra. Kioko Rubí Guzmán Ramos por su valiosa ayuda e instrucción académica y técnica durante la realización de este proyecto. Por todos sus comentarios e ideas, las cuales hicieron de este un mejor trabajo.

Al Dr. Daniel Osorio Gómez por su asesoría académica y técnica.

Al Dr. Federico Bermúdez Rattoni por todo el apoyo y el interés por la realización de este proyecto, y por permitirme realizar la mayor parte de este proyecto en su laboratorio.

A la Dra. Marcia Hiriart Urdanivia por su infinita paciencia, su asesoría académica, pero sobre todo por creer y darme la oportunidad de estar bajo su tutoría.

Dedicatoria

A mis padres Teresa y Martín, que han sido mi fuerza impulsora toda mi vida. Gracias mamá y papá porque a lo largo de estos años siempre me han dado su apoyo y amor incondicional. Soy muy afortunada de poder tenerlos a mi lado.

A Jovana y Mariana, que son como mis hermanas, hemos caminando juntas en este largo trayecto y nos hemos visto crecer. Por su apoyo en los momentos cruciales y por todas las experiencias vividas juntas. Sepan que siempre las llevo en mi ser.

A todos mis compañeros de trabajo: Jean Imanol, Everardo, Rosa Isela, Jazmín Selene, Juan Pablo, Carlos, Alberto, Neivys, Alicia, Myrian, Daniel y Lorelei porque no solo me ayudaron académicamente si no también se convirtieron en unos excelentes amigos. A mi amigo Eduardo Daniel, quien me dio ánimos y nos apoyamos mutuamente durante este trayecto.

A Myrian por toda su paciencia, su amabilidad y porque no solo me ayudó a mi si no que nos ha sabido apoyar a cada miembro del laboratorio para que nunca nos falte nada. Gracias por ser una magnífica persona.

A Kioko, gracias a toda su ayuda y a sus ideas este proyecto tomo forma. Eres una persona muy especial, brillante y linda. Gracias por permitirme trabajar a tu lado y darme no solo apoyo académico sino también personal.

A Jazmín García, que nos acompañamos de la mano durante estos dos años de maestría, por ser una persona auténtica, tierna y una de las mejores amigas, fue un placer y un honor poder conocerla. Gracias por todos los momentos juntas.

Índice

Resumen

Abstract

I.	Introducción.....	1
o	Diabetes mellitus.....	2
•	Diabetes tipo 1.....	3
•	Diabetes tipo 2.....	3
o	Síndrome metabólico.....	5
o	Antecedentes.....	7
o	Deterioro cognitivo y diabetes.....	8
•	Vía enzimática de la señalización de la insulina.....	9
•	Desregulación del metabolismo de la glucosa y estrés oxidativo.....	14
•	Desregulación del metabolismo de los lípidos.....	18
o	Memoria y aprendizaje.....	20
•	Modelos animales de diabetes.....	24
•	El estudio de la obesidad, síndrome metabólico, diabetes y daño cognitivo.....	26
II.	Planteamiento del problema.....	29
III.	Hipótesis.....	31
IV.	Objetivo principal.....	31
V.	Objetivos particulares.....	31
VI.	Materiales y Métodos.....	32
VII.	Resultados.....	42
VIII.	Discusión.....	54
IX.	Conclusiones.....	63
X.	Referencias.....	64
XI.	Apendice.....	84

RESUMEN

Actualmente, nuestro estilo de vida y la dieta que consumimos se ha convertido en la primera causa de obesidad, síndrome metabólico y diabetes tipo II. A pesar de toda la información que se genera hoy en día, aún no son claros los mecanismos moleculares que intervienen en el desencadenamiento del síndrome metabólico y menos aún su relación con los déficits cognitivos ligados a la demencia.

Se evaluó el desempeño cognitivo en un modelo de rata con síndrome metabólico mediante tres pruebas conductuales: laberinto de agua, reconocimiento de objeto en lugar y reconocimiento de objeto. Se hizo un análisis neurofisiológico mediante LTP para estimar la eficacia sináptica en estas ratas y compararla con las testigo. Después de las pruebas conductuales se midió mediante Western Blot la expresión de dos marcadores: GFAP y sinaptofisina.

Cuando los animales son sometidos a una dieta alta en sacarosa desarrollan SM. El SM se define como un conjunto de signos que aumentan el riesgo de desarrollar problemas cardiovasculares y DM2. Los parámetros que definen el SM son, obesidad central, resistencia a la insulina, hipertensión, dislipidemia e hiperinsulinemia. Aún no se sabe con exactitud la causa del SM, pero tanto la obesidad como la resistencia a la insulina son factores significativos. Estos cambios sistémicos, que aún no es claro cómo van ocurriendo, tienen un impacto directo a nivel del SNC. Observamos que el hipocampo es la estructura que se ve más afectada, comparada con la corteza insular, deteriorando la memoria de navegación en estos animales. Por otra parte, el ensayo de LTP reveló que las ratas con SM no logran mantener la potenciación cuando son estimuladas, por lo que la eficacia sináptica está disminuida. Finalmente, los análisis bioquímicos no revelaron cambios en la expresión de GFAP. Con base en los experimentos realizados concluimos que las ratas con SM presentan un deterioro cognitivo leve donde la principal estructura que se ve afectada es el hipocampo.

ABSTRACT

In the last two decades, several studies have reported different mechanisms that could link Type 2 diabetes mellitus (T2DM) and dementia. Most of the Alzheimer's disease patients show alterations in the glucose metabolism and insulin signal transduction. It is thought that people develop clinical manifestations of dementia many years after the onset of brain deterioration, hindering the establishment of the disease temporality.

Due to this fact, we decided to evaluate the cognitive performance in an earlier stage of metabolic dysfunction, i.e. metabolic syndrome (MS). Since MS is a multifactorial complex of signs that increases the probability to develop several types of health problems, cardiovascular processes, diabetes, certain types of cancer and even cognitive deficit among them. We treated young adult Wistar rats during a period of six months with sucrose 20% in drinking water. After the treatment, we performed three different memory tasks (Morris-Water Maze, Object Recognition Memory and Object Location Memory) and several metabolic parameters were monitored (blood glucose levels, insulin levels, body mass index and oral glucose tolerance test). We observed that MS rats showed a selective hippocampus-dependent cognitive impairment, since cortical function seems to be spared at this stage. In addition, we do not observe decreased levels in the synaptophysin vesicle protein and the Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP). But we observed a decrease in the long-term potentiation (LTP) test that highlight a damage in the synapsis efficiency within the hippocampus.

We concluded that the MS rats present a mild hippocampal dysfunction that we confirmed with LTP the cognitive function performance in the memory tasks. We used two brain markers, synaptophysin and GFAP, to evaluate changes within the brain but we could not find significant difference when we compared the two groups. More test may lead to more clues and this is an exceptional model of MS that we know can provide more information about the changes that lead MS, obesity and even diabetes to cognitive dysfunction.

INTRODUCCIÓN

DIABETES MELLITUS

La diabetes mellitus (DM) se caracteriza por un aumento de glucosa en la sangre (hiperglucemia); clínicamente se manifiesta por la eliminación excesiva de orina (poliuria), la cual produce sed (polidipsia) y aumento en la ingesta (polifagia). En el antiguo Egipto los médicos acuñaron el término *diabetes* debido a la incapacidad de los pacientes por retener el agua. El término “diabetes” significa sifón. Algunos siglos después se le agregó en la India el término “mellitus” que significa de miel ya que la orina de estos pacientes es dulce.

Los estudios retrospectivos y prospectivos más recientes indican que aproximadamente 415 millones de personas en el mundo tienen diabetes. Asimismo, se proyecta que para el 2040 la cifra de personas que sufren esta enfermedad aumente a aproximadamente 642 millones de personas. Estos estudios también han revelado que el norte y centro del Continente Americano son las regiones que invierten más dinero en servicios de salud para atender a ésta enfermedad a nivel mundial. Por ejemplo, en Estados Unidos 24.4 millones de personas tienen diabetes mientras que en México hay 8.7 millones de personas afectadas con esta misma enfermedad. Entonces nos enfrentamos ante una enfermedad que tiene y seguirá teniendo costos muy elevados a nivel de salud pública y sociedad que los rodea (International Diabetes Federation, 2015).

Existen dos tipos principales de DM: tipo 1 (DM1) y tipo 2 (DM2). Conforme se va desarrollando el conocimiento acerca de esta patología se han ido sumando y/o sugiriendo nuevas clasificaciones de diabetes las cuales confirman que la diabetes es una enfermedad multifactorial con diferentes rangos de manifestaciones clínicas (American Diabetes Association, 2014).

DIABETES TIPO 1

La DM1, a la cual también se le han dado los nombres de diabetes insulino dependiente o diabetes juvenil, es una enfermedad autoinmune la cual lleva a la destrucción progresiva de las células β de los islotes pancreáticos que eventualmente resulta en la deficiencia de producción de insulina (Bluestone et al., 2010; Todd, 2010). Por lo tanto, los pacientes con DM1 requieren la administración de insulina exógena ya sea por inyecciones o implantes. La DM1 representa ~5-10% de los casos diagnosticados de diabetes (Atkinson et al, 2014). A pesar de que la DM1 puede presentarse a cualquier edad, usualmente comienza en niños mayores de cuatro años de edad con un pico de incidencia en la adolescencia temprana y pubertad (Harjutsalo et al., 2011). Las causas de la DM1 no están definidas, sin embargo, la autoinmunidad, genética y los factores ambientales se piensa que juegan un papel importante en el desarrollo de esta enfermedad (Atkinson et al, 2014).

DIABETES TIPO 2

La DM2 es el tipo más común, le corresponden entre ~90-95% de los casos. Esta enfermedad es un síndrome, ya que, comprende un grupo heterogéneo de padecimientos donde el factor común es una concentración alta de glucosa en la sangre o hiperglucemia, la cual puede tener distintos orígenes. La DM2 se caracteriza por la disminución en la habilidad de la insulina para estimular la captación de glucosa en sus órganos blanco (músculo, hígado y tejido adiposo) y una deficiente secreción de insulina por las células β , lo cual conduce a la hiperglucemia (Prentki & Nolan, 2006). Los problemas metabólicos se pueden desarrollar varios años antes de que surjan

las manifestaciones clínicas de la DM2. El incremento que ha habido a través de los años en la tasa de personas que sufren DM2 (Zimmet et al., 2001), o cualquier disfunción en el metabolismo de la glucosa, ha llevado a investigar la etiología de esta enfermedad.

Se ha sugerido que el principal factor que desencadena la diabetes es la disfunción de la célula β (Perry & Frayling, 2008; Prentki & Nolan, 2006). La resistencia periférica a las acciones biológicas de la insulina en el metabolismo de la glucosa y de los lípidos es uno de los principales signos en el síndrome metabólico junto con ciertos factores genéticos y ambientales que conducen al desarrollo de la diabetes (Rask-Madsen et al., 2012).

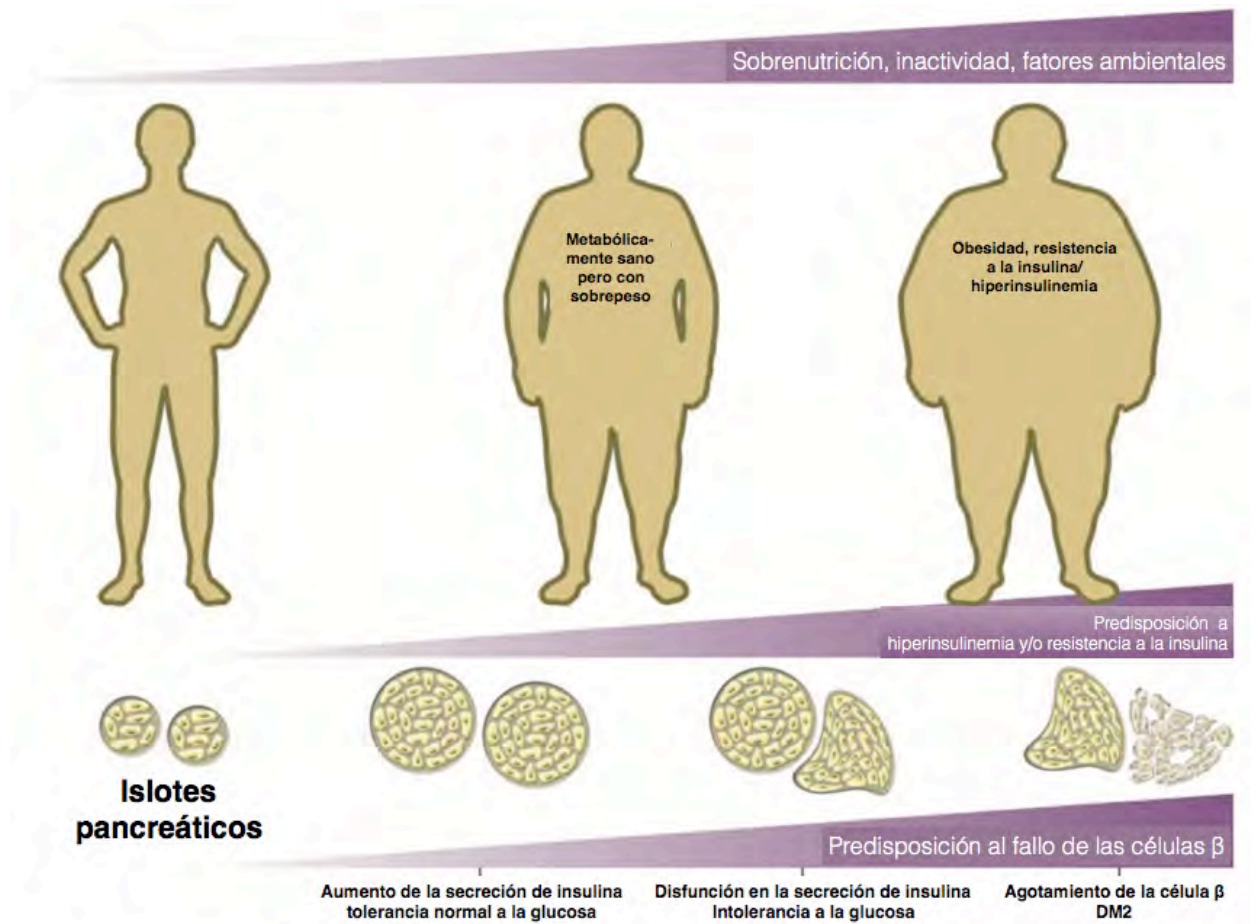


Figura 1 Descripción del fallo en la secreción de insulina por las células β y su progresión a DM2. Se ha sugerido que el factor que desencadena la diabetes es la disfunción de la célula β . En el síndrome metabólico las células β están siendo estimuladas y secretando insulina continuamente. Eventualmente, las células β se agotan y son incapaces de secretar

SÍNDROME METABÓLICO

Fue descrito por primera vez en 1920 por Kylin, un médico suizo, como la asociación de la elevación de la presión sanguínea (hipertensión), glucosa alta (hiperglucemia) y gota. En 1947, Vague publicó un reporte donde remarcó la adiposidad en la circunferencia abdominal como un tipo de obesidad que esta comúnmente asociada con las anormalidades metabólicas encontradas en la DM2 y a enfermedades cardiovasculares. La primera definición oficial del síndrome metabólico fue descrita por un grupo de trabajo de la World Health Organization (WHO) en 1999, desde ese entonces se han propuesto múltiples definiciones. Las más aceptadas a nivel mundial de todas las que se han formulado es el de WHO, la de European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR), y la de US National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (NCEP ATP III).

Siempre se genera confusión debido a que las diferentes definiciones no solo difieren en los componentes sino también en los puntos de corte usados para cada componente. Las definiciones actuales toman en cuenta que la adiposidad abdominal es común en todos los componentes del síndrome metabólico, por consiguiente, los puntos de corte de la circunferencia abdominal específicos del origen étnico han sido incorporados en las definiciones actuales de síndrome metabólico (Ver **Tabla 1**).

El síndrome metabólico (SM) se define como un conjunto de signos que aumentan el riesgo de desarrollar problemas cardiovasculares, DM2 y algunos tipos de cáncer. Los parámetros que definen el SM son, obesidad central, resistencia a la insulina, hipertensión, dislipidemia e hiperinsulinemia. Aún no se sabe con exactitud la causa del SM, pero tanto la obesidad como la

resistencia a la insulina son factores significativos. La genética, inactividad física, envejecimiento, un estado pro inflamatorio y cambios hormonales podrían tener un efecto en el desarrollo de la misma, pero el papel de estos podría variar dependiendo del grupo étnico.

Tabla 1. Definiciones de síndrome metabólico. (WHO, 1999; Grundy, 2005) IMC* (Índice de masa corporal)

	WHO (1999)	NCEP ATP III (2001)
	Intolerancia a la glucosa, tolerancia a la glucosa alterada o diabetes y/o resistencia a la insulina junto con dos o más de los siguientes:	Tres o más de los siguientes factores de riesgo:
Presión arterial	≥ 140 / 90 mmHg	≥130 / ≥85 mmHg
Triglicéridos	Triglicéridos en plasma elevados: ≥ 1.7 mmol/l (150mg/dl) y/o	≥1.7 mmol/l (150 mg/dl)
HDL-colesterol	Hombres: < 0.9 mmol/l (35 mg/dl) Mujeres: < 1 mmol/l (39 mg/dl)	Hombres: < 1.03 mmol/l (40 mg/dl) Mujeres: < 1.29 mmol/l (50 mg/dl)
Obesidad	Hombres: circunferencia abdominal > 90 cm Mujeres: circunferencia abdominal > 85 cm y o IMC* >30 kg/m ²	Hombres: circunferencia abdominal > 102 cm Mujeres: circunferencia abdominal > 88 cm
Microalbuminuria	Tasa de excreción de albumina en orina ≥ 20 µg/min o albúmina: tasa de creatinina ≥ 30 mg/g	

En el SM, las células β están en constante estimulación por lo tanto se encuentran secretando altas cantidades de insulina. Eventualmente, las células se agotan incapaces de secretar la insulina necesaria para mantener los niveles normales de glucosa desarrollándose la hiperglucemia. Los mecanismos que participan en el desarrollo de la hipersecreción de insulina en etapas tempranas del SM pueden ser parte de la cadena de eventos en el acoplamiento de la secreción de insulina mediada por glucosa, como el incremento en los transportadores de glucosa, enzimas o canales iónicos (Hiriart et al., 2014a; Hiriart et al., 2014b; Larqué et al., 2011; Velasco et al., 2012).

Antecedentes

DETERIORO COGNITIVO Y DIABETES

A pesar de que algunos estudios han fallado en encontrar la relación entre la diabetes y la Enfermedad de Alzheimer (EA) (Hassing et al., 2002; Profenno et al., 2010; Xu et al., 2004) Ott y colaboradores (1996) reportaron la relación entre la DM2 y la demencia. Se demostró que los pacientes que presentan DM2 incrementan hasta dos veces más el riesgo de padecer algún tipo de demencia. En otro estudio, se observó que la disfunción en el metabolismo de la insulina, incrementa hasta cuatro veces más el riesgo de desarrollar la EA (Schrijvers et al., 2009). Asimismo la Clínica Mayo para el Registro de Pacientes con EA reveló que 80% de los pacientes con EA presentan alteraciones en la tolerancia a la glucosa o diabetes (Janson et al., 2004). El reporte anual de Alzheimer's Disease International confirmó una asociación consistente entre la diabetes en etapas avanzadas y el desarrollo de demencia (ADI, 2014). Un estudio reciente en el que ha participado nuestro laboratorio donde se llevó a cabo un seguimiento de tres años realizado en México, develó que las personas diagnosticadas con DM2 duplican el riesgo de desarrollar demencia (Salinas et al., 2016).

La incidencia de enfermedades metabólicas y neurodegenerativas relacionadas con la edad se ha ido incrementando considerablemente. A nivel mundial la DM y las demencias afectan a ≈ 414 y ≈ 48.6 millones de personas respectivamente. El Centro de Control y Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos, de acuerdo con sus investigaciones reportaron que tanto la diabetes como la Enfermedad de Alzheimer, se encuentran en el séptimo y el sexto puesto, respectivamente, de las principales causas de muerte en los Estados Unidos. La impresión general indica que los déficits cognitivos observados en las personas que presentan una intolerancia a la glucosa y posiblemente también las personas que se encuentran en las primeras

etapas de DMT2 sean causadas por los cambios en la función cerebral y que dichos cambios parecen ser irreversibles.

A lo largo de este tiempo se ha formulado diversas hipótesis de los principales mecanismos moleculares que subyacen a estas dos enfermedades tales como la disfunción en la vía enzimática de señalización de la insulina, la desregulación en el metabolismo de la glucosa, disfunción mitocondrial, y la disfunción en el metabolismo del colesterol, los cuales se abordarán a continuación.

VÍA ENZIMÁTICA DE SEÑALIZACIÓN DE LA INSULINA

La insulina es una proteína de ~6 kDa, producida por las células β pancreáticas. La función que ejerce la insulina a nivel periférico es regular la captación y almacenamiento de la glucosa, así como también regular el metabolismo de las lípidos y proteínas. El cerebro se consideraba como no sensible a insulina, hasta que se descubrió la presencia de receptores de insulina y con una mayor densidad en estructuras tales como la amígdala, corteza, hipocampo, hipotálamo, corteza entorrinal y bulbo olfatorio (Havrankova et al., 1978 (a); Havrankova, Schmechel et al., 1978 (b); Potau et al., 1991; Sara et al., 1982), combinado con eso, tiempo después, se descubre que la insulina atraviesa la barrera hematoencefálica (BHE) vía transitosis mediada por receptores (Banks et al., 1997; Schwartz et al., 1990; Steffens etl al.,1988), todos estos descubrimientos pusieron en duda si el cerebro era realmente insensible a la insulina. Actualmente es reconocido que la insulina ejerce acciones sobre el cerebro y que no solo ayuda al balance y control de la saciedad en el hipotálamo (Figlewicz, 2003). La insulina ejerce un efecto neuroprotector y neurotrófico, así como también ayuda a la consolidación de la memoria y la plasticidad sináptica en el hipocampo (Duarte et al., 2008; Skeberdis et al., 2001; Van Der

Heide et al., 2005).

La vía enzimática de señalización de la insulina es a través de tres vías principales (**Ver Figura II**): a) la vía de fosfatidilinositol 3 cinasa (PI3K)/Akt, la cual es responsable de la principal acción de la acción metabólica de la insulina (Frame & Zheleva, 2006); b) la vía Ras-proteína cinasa activada por mitógeno (MAPK), la cual regula el crecimiento celular y la proliferación a través de la activación de proteínas tales como ERK/MEK, Raf, CDC42 y JNK 1-3 (Saltiel & Kahn, 2001); c) vía del virus de linfoma de células B de casitas (Cb1)/ proteína asociada a Cb1 (CAP), la cual media el transporte de glucosa, independiente de la activación de la vía de PI3K, facilitando la translocación del GLUT4 a la membrana celular (Baumann et al., 2000).

La señalización de la vía enzimática de la insulina es similar en el sistema nervioso central (SNC), la cual se activa por la unión de la insulina a su receptor, es decir, el receptor de insulina (RI), el cual pertenece a la familia de receptores de cinasas de tirosina, esta incluye el receptor del factor de crecimiento parecido a la insulina (IGF) y el receptor relacionado con el receptor de insulina (Hubbard, 1999; Li et al., 2005; Saltiel & Kahn, 2001; White & Yenush, 1998).

El RI es una proteína tetramérica compuesta por dos subunidades α y dos subunidades β (Bondareva & Chistyakova, 2007). La unión de la insulina a las subunidades α resulta en la activación y en la autofosforilación de la porción rica en cinasa de tirosina de las subunidades β (Bondareva & Chistyakova, 2007; Plum et al., 2005) seguido por la activación del sustrato del RI (IRS) lo cual desencadena dos de las vías canónicas en la vía de señalización de la insulina (**Ver figura II**).

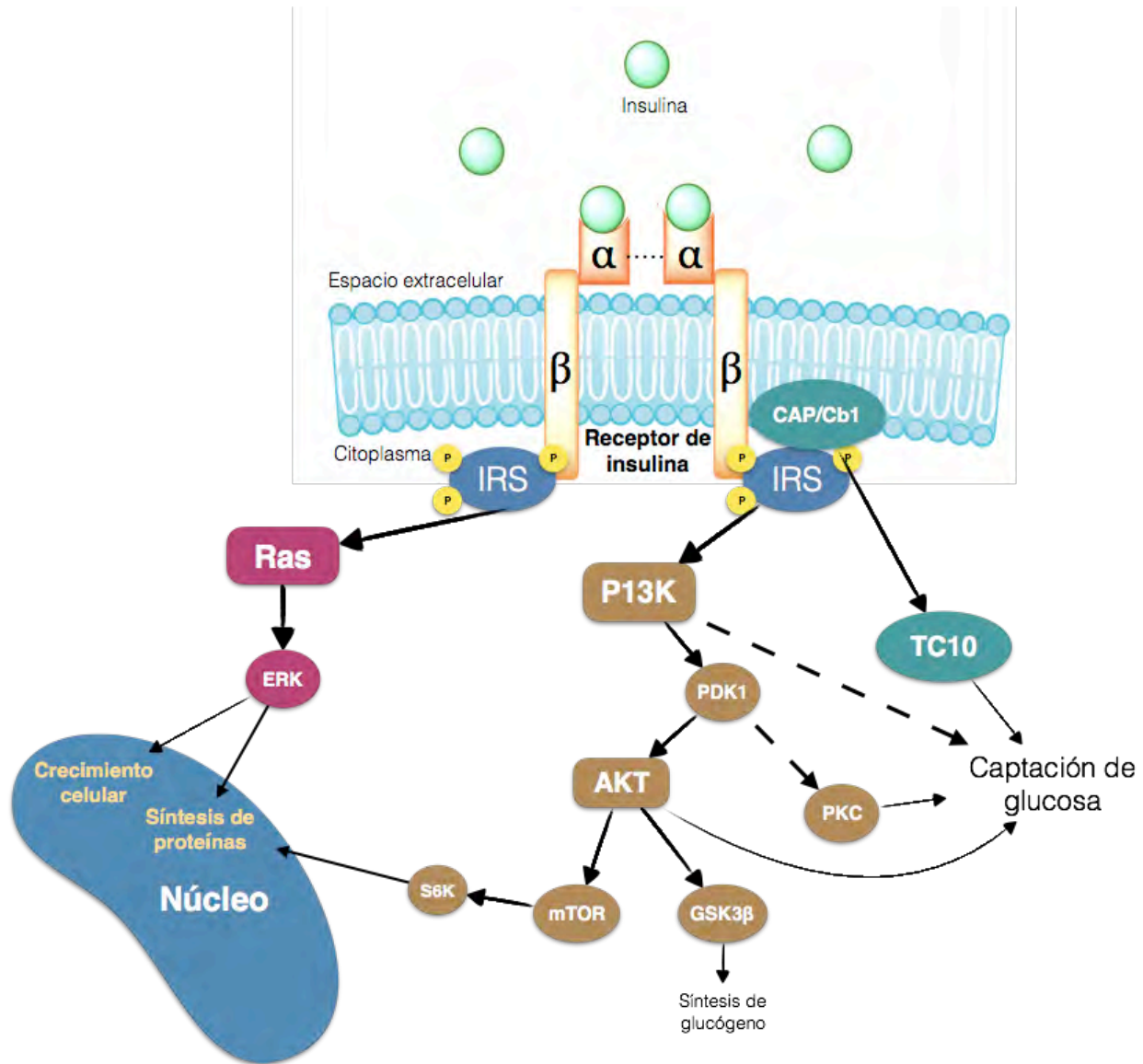


Figura II Vía de señalización enzimática de la Insulina. La vía de señalización de la insulina regula un rango de diferentes respuestas biológicas las cuales incluyen: transporte de glucosa, síntesis de proteínas, mitogénesis, y supervivencia celular. Todos estos procesos mediante tres principales vías. Las líneas negras indican un proceso de activación de la vía. Las líneas discontinuas representan activación de mediadores intermedios.

La vía de señalización de la insulina en el SNC, a través de la activación de la vía canónica de PI3K/Akt está involucrada en procesos tales como la plasticidad sináptica (Zhao et al., 2004). También se describió que la insulina promueve la potenciación de largo plazo (LTP) en el hipocampo, este proceso es la base teórica por la cual se rigen los fundamentos del

aprendizaje y memoria (Skeberdis et al., 2001; Zhao et al., 2004b).

Se han descubierto varios mecanismos por los cuales la insulina promueve el proceso de memoria y aprendizaje, en uno de ellos se observó mediante la activación de la vía de señalización de la insulina la cual modula la expresión de los receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) y α -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico (AMPA) la cual lleva a un mayor flujo de Na^+ y Ca^{2+} por ende haciendo más eficaz la transmisión sináptica (Van Der Heide et al., 2005). Se observó que la insulina al activar la vía PI3K/Akt promueve la síntesis y translocación de los receptores GABA_A así como también la síntesis de la proteína postsináptica PSD95 (Wan et al., 1997). Asimismo se sabe que la insulina modula la concentración de ciertos neurotransmisores como la acetilcolina e incrementa la liberación de norepinefrina y epinefrina, así como también inhibe su recaptura (Boyd et al., 1986; Sauter et al., 1983).

La desregulación en la vía de señalización de la insulina está asociada con un decremento en las habilidades cognitivas y el desarrollo de demencia, asociado con la EA (de la Monte, 2009). En un trabajo publicado con pacientes con DM2, EA y pacientes diagnosticados con las dos enfermedades evaluaron en tejido post mortem la región de la corteza frontal la fosforilación de los componentes de la vía de PI3K/Akt. Se encontró que tanto los componentes totales como los componentes fosforilados de la vía se encontraban a la baja tanto en pacientes con DM2 y EA y la disminución de estos componentes es más severa en pacientes que desarrollan las dos enfermedades (Liu et al., 2011). También se observó que la fosforilación de Akt estimulada por insulina se encuentra disminuida en cultivos de neuronas corticales en condiciones de hiperinsulinemia (Kim et al., 2011). Asimismo en el modelo de ratón *db/db* cultivos de cortes corticales del cerebro mostraron un incremento en la fosforilación basal de Akt donde la insulina no puede seguir estimulando la fosforilación de Akt comparado con los ratones controles no

diabéticos (db^+) (Kim et al., 2011).

Otros de los componentes de la vía canónica de la insulina de PI3K/Akt que participa en el desarrollo de la EA es la cinasa de la glucógeno sintasa 3 β (GSK3 β), cuando esta vía de señalización se ve afectada en condiciones de hiperinsulinemia la fosforilación de GSK3 β disminuye activando esta molécula constitutivamente la cual se sabe que fosforila a la proteína tau, que es encargada de la estabilización de los microtúbulos (Muyllaert et al., 2008; Takashima, 2006). En condiciones patológicas, como la EA, la proteína tau se encuentra hiperfosforilada. Sumado a esto, se ha observado en tejidos de pacientes con EA que intracelularmente el péptido β amiloide (β A) impide la interacción de PDK1 con Akt inhibiendo la activación de esta (Frisardi et al., 2010).

Una evidencia más que apunta a que la insulina juega un papel relevante en la patogénesis de la EA fue observada cuando se les administró insulina vía intranasal a pacientes con deterioro cognitivo leve se observó una mejora en la memoria en dosis bajas, mientras que en dosis altas no hubo ningún efecto (Craft et al., 2012).

A partir de todas estas observaciones se han ido formulando hipótesis de los mecanismos que pudieran ligar a estas dos enfermedades. Una de las hipótesis explica que de manera natural la insulina y el β A tienen afinidad y compiten por el sitio de unión tanto del RI como de la enzima degradadora de insulina (IDE), la enzima encargada de la degradación y eliminación de la insulina extracelular y el β A (Qiu et al., 1998; Xie et al., 2002). De esta forma, en condiciones de patogénesis un paciente que desarrolla EA y se encuentre en las primeras etapas de DM2 secreta altas concentraciones de insulina, la cual se va a unir preferentemente a la IDE para ser eliminada, sin embargo, al degradarse mayormente insulina en relación con el péptido β A, el β A se acumula, al acumularse intracelularmente induce cambios como la disrupción de la vía se

señalización de la insulina y su liberación extracelular forma la oligomerización del β A formando así las placas extracelulares las cuales repercuten, entre otras cosas, en la transmisión sináptica (Heras-Sandoval et al., 2012).

DESREGULACIÓN DEL METABOLISMO DE LA GLUCOSA Y ESTRÉS OXIDATIVO

A pesar de que el cerebro tiene la habilidad de usar otras fuentes de energía, la glucosa es el substrato principal obligatorio para el metabolismo energético (McKenna et al., 2012). En el cerebro, las neuronas son incapaces de producir y almacenar glucosa ya que carecen de las enzimas necesarias, por lo tanto, requieren un continuo aporte de glucosa la cual atraviesa la BHE mediante los transportadores de glucosa (GLUTs). Existen varias isoformas de estos transportadores, las isoformas 1,3,4 y 8 son las presentes en el cerebro. En la BHE y las membranas corticales se expresa el GLUT1, el GLUT 3 se expresa en neuronas mientras que el GLUT4 y el GLUT8 se expresa en compartimientos intracelulares de las neuronas (Scheepers et al.; Schulingkamp et al., 2000).

Las anormalidades debido al fallo del consumo de la glucosa y el metabolismo energético en la EA se asemejan al de la DM2 (Baker et al., 2011; Zhao & Townsend, 2009). Como se mencionó ya anteriormente los problemas en el metabolismo de la glucosa junto con la resistencia a la insulina conducen a una disfunción en la memoria y sinapsis en pacientes diagnosticados con diabetes DM2 (Baker et al., 2011; Zhao & Townsend, 2009). Todos estos hallazgos indican que el funcionamiento correcto del metabolismo de la glucosa está asociado con una respuesta cognitiva estándar y cualquier defecto en el metabolismo de la glucosa se verá reflejado en un declive cognitivo (Sims-Robinson et al., 2010).

Varios estudios han reportado un decremento en el metabolismo del cerebro antes de que las funciones cognitivas se vean afectadas. En el EA, se ha reportado un decremento en la tasa de consumo de la glucosa en regiones como el hipocampo, lóbulo parietal y regiones prefrontales del cerebro comparados con individuos sanos (Garrido et al., 2002; Small et al., 2000). Cuando la tasa de consumo de glucosa en el cerebro disminuye conlleva a cambios como, disfunción mitocondrial, hiperglucemia e inflamación del cerebro.

En pacientes con EA así como en modelos transgénicos de esta enfermedad se han detectado un decremento de aproximadamente 55-65% en utilización de la glucosa en el cerebro (Bubber et al., 2005; Hoyer et al., 1989; Valla et al., 2008). En cerebros de pacientes con EA se ha observado una reducción en la actividad de las proteínas mitocondriales asociadas principalmente con el ciclo de los ácidos tricarboxílicos (TCA) tales como, la deshidrogenasa del α cetoglutarato, piruvato deshidrogenasa, y deshidrogenasa de isocitrato. La reducción en la actividad de estas enzimas resulta en la liberación del citocromo *c* de la mitocondria, y la activación de la caspasa 3 las cuales conducen a la muerte celular (Bubber et al., 2005; Huang et al., 2003). También se ha reportado una disminución hasta del 50% en la producción de ATP proveniente de la glucosa en pacientes con EA temprana (Moreira et al., 2007).

Por otra parte, el metabolismo anormal de la glucosa incrementa la producción de radicales libres como las especies reactivas de oxígeno (ROS) y especies reactivas de nitrógeno (RNS). Cuando hay una sobreproducción de radicales libres la capacidad antioxidante de la célula se ve depletada resultando en un estrés oxidante, el cual es un marcador patológico tanto de la DM1 como la DM2. Está bien documentado que el estrés oxidante esta incrementado no solo en pacientes con diabetes sino también en pacientes con EA comparado con sujetos pacientes sanos (Sims-Robinson et al., 2015).

La desregulación del metabolismo de la glucosa junto con el estrés oxidante contribuye a la formación de los productos finales de glucosilación avanzada (AGEs). A pesar de que la glucosa es el azúcar reductor menos reactivo, puede convertirse en productos de Amadori no enzimáticos a través de la formación de bases de Schiff al reaccionar con grupos de aminoácidos libres de las proteínas, lípidos y ácidos nucleicos (Brownlee, 2001; Yamagishi, 2011).

La auto oxidación de la glucosa lleva a la formación de radicales hidroxilo, que son intermediarios en la vía de formación de los AGEs y la principal fuente de AGEs endógenos. La formación y acumulación de AGEs ocurre de manera natural como consecuencia del envejecimiento. Sin embargo, este proceso se encuentra exacerbado en pacientes con diabetes teniendo como consecuencia complicaciones en los pacientes que la padecen. Es bien aceptado que los AGEs contribuyen a la progresión de patogénesis de la EA e inducen la glicación del β A y la proteína tau las cuales llevan a la agregación del β A y la formación de ovillos neurofibrilares en el cerebro (Sasaki et al., 1998, 2001). Cuando los AGEs se unen a su receptor, es decir, los receptores para los productos finales de glicosilación avanzada (RAGE) inducen varias respuestas biológicas. Los RAGEs no solo reconocen a los AGEs sino también reconocen al β A. La activación de los RAGEs a través de la unión de estos ligandos puede iniciar la producción de radicales libres de oxígeno (ROS) y procesos inflamatorios (Takuma et al., 2009; Yan et al., 2009).

Los ROS producidos pueden ser convertidos a muchas formas y tienen la habilidad de difundir a través de la membrana externa para entrar al citoplasma. Sin embargo, la mayoría de los ROS que se producen en la mitocondria son convertidas en agua u oxígeno en presencia de dismutasas las cuales pueden encontrarse ya sea en la mitocondria o en el citoplasma (Jomova & Valko, 2011; Malinouski et al., 2011).

Al igual que en la vía de señalización de la insulina y la desregulación del metabolismo de la glucosa se han formulado diversas hipótesis para explicar el papel de estrés oxidante en la patofisiología de la EA y la diabetes. En el caso del cerebro se sabe que la combinación de la alta demanda de energía, niveles relativamente bajos de antioxidantes y la alta concentración de hierro lo hace particularmente vulnerable al estrés oxidante (Bonda et al., 2010; Jiang et al., 2009). Lo que se ha observado en la EA aparte del incremento en la cantidad de ROS son niveles reducidos de enzimas antioxidantes tales como SOD, glutatión (GSH) y catalasa las cuales se encuentran en la corteza frontal y temporal (Bonda et al., 2010; Praticò & Delanty, 2000; Readnower et al., 2011; Sultana & Butterfield, 2011). Por otra parte, los pacientes con diabetes exhiben ciertos marcadores para el estrés oxidante tales como isoprostano F₂ y nitro tirosina en la orina, el plasma y el tejido, llevando a la hipótesis que el estrés oxidante también es un marcador patológico para la diabetes (Lovestone & Reynolds, 1997; Rolo & Palmeira, 2006).

Un tratamiento antioxidante efectivo puede minimizar el daño celular, así como también reducir la carga del estímulo oxidante. Varios antioxidantes como las vitaminas, glutatión, catalasa, SOD, ácido α lipóico, coenzima Q10, carotenoides, flavonoides, minerales (zinc, magnesio, cobre y selenio) y cofactores (ácido fólico) han sido probados para reducir los efectos del estrés oxidante tanto en la EA como en la diabetes. A pesar de eso, aún no se ha logrado demostrar satisfactoriamente que los antioxidantes puedan inhibir el estrés oxidante y reducir tanto la EA como la diabetes (Bonda et al., 2010; Golbidi et al., 2011; Johansen et al., 2005; Viña et al., 2011) .

DESREGULACIÓN DEL METABOLISMO DE LOS LÍPIDOS

La diabetes y la EA no sólo se caracterizan por la disfunción en la vía de señalización de la insulina sino también por la dislipidemia. La dislipidemia se define como un conjunto de enfermedades en su mayoría asintomáticas que se detectan por la presencia de concentraciones anormales de colesterol, triglicéridos o lipoproteínas de alta densidad (HDL) en sangre (Méndez-Sánchez & Uribe-Esquivel, 2013). La señalización mediada por lípidos regula muchos procesos fisiológicos como el tráfico y la actividad proteolítica de las proteínas de unión a membrana (Taskinen, 2002). Los ácidos grasos (FA) son sintetizados en su mayoría por todas las células del cuerpo, se almacenan y circulan en sangre como triglicéridos. Los estudios muestran que el incremento en los niveles de ácidos grasos libres (FFA), triglicéridos, colesterol y lipoproteínas de muy baja densidad (LDL), junto con un decremento en los niveles de lipoproteínas HDL están asociados con un mayor riesgo no solo a desarrollar enfermedades cardiovasculares y diabetes sino también demencia (Di Paolo & Kim, 2011; Hayashi, 2011; Jenkins et al., 2006; Lütjohann, 2006; Yaffe, 2007).

Aproximadamente 70% de los pacientes diagnosticados con diabetes tienen hipercolesterolemia (Harris, 1991). En modelos animales se ha visto que la hipercolesterolemia incrementa tanto la expresión de la enzima β secretasa, la cual corta a la proteína precursora amiloide, como a los RAGEs, los cuales transportan el β A de la circulación periférica al cerebro, así como también un decremento en la IDE y los receptores LDL relacionados con la proteína 1(LRP1), todos ellos juegan un papel fundamental para la eliminación del péptido β A del cerebro (Sharma et al., 2008).

La apolipoproteína E (ApoE) es uno de los acarreadores de lípidos más importantes (Ladu

et al., 2000) y es un factor de riesgo bien establecido en el desarrollo de la EA (Kuriyama et al.; Muckle & Roy, 1985). De las múltiples isoformas de la ApoE se observó que la isoforma ApoE4 la cual se presenta en el 15% de la población aumenta de 3-4 veces el riesgo de desarrollar EA (Wieringa et al., 1997). Además, los pacientes que portan el alelo de la ApoE4 duplican las posibilidades de desarrollar EA comparados con los individuos no diabéticos (Peila et al., 2002). Por lo tanto, niveles altos de ApoE4 están asociados una mayor producción de β A (Belinson et al., 2008). Por otra parte, modelos transgénicos que sobre expresan ApoE4 en neuronas incrementan la fosforilación de la proteína tau, sugiriendo que está involucrada en la formación de marañas neurofibrilares (Brecht et al., 2004). El desarrollo de diabetes y la presencia del alelo ApoE4 aumenta sinérgicamente el riesgo de padecer EA. Varios estudios han ligado la DM2 con una patología cerebral particularmente con el alelo ApoE4 (Luchsinger, 2012).

Aún hay datos contradictorios, sin embargo, la disfunción en el metabolismo de los lípidos puede ser uno de los responsables en la promoción del desarrollo tanto de diabetes como de la EA.

MEMORIA Y APRENDIZAJE

En 1970 la psicología cognitiva, la cual se describía como la ciencia de la mente, se unió con la neurociencia, la cual se definía como la ciencia del cerebro. El resultado de la unión de estas dos disciplinas fue la neurociencia cognitiva, una nueva disciplina que introdujo los métodos biológicos para explorar los procesos mentales en la psicología cognitiva moderna. Para la década siguiente, en 1980, la neurociencia cognitiva dio un salto con el desarrollo de la imagenología, esta tecnología permitió a los neurocientíficos mirar por primera vez dentro del cerebro humano y ver la actividad en varias regiones cuando a las personas se les involucraba con funciones mentales complejas. Asimismo, a inicios de 1980 la neurociencia cognitiva incorporó la biología molecular, resultando en una nueva disciplina, la biología molecular cognitiva, la cual permitió explorar a un nivel molecular los procesos mentales preguntándose como pensamos, sentimos y recordamos.

El concepto de memoria puede ser muchas veces controversial sin embargo el autor Endel Tulving (2000) describe este término de manera muy clara. “El término memoria además de denotar un campo de estudio, se le puede designar a diferentes conceptos. Entre los significados más frecuentes de memoria están (1) la memoria como la capacidad neurocognitiva para codificar, almacenar y recuperar información; (2) memoria como un almacén hipotético en el cual la información es retenida; (3) memoria donde la información es almacenada; (4) memoria como una propiedad de la información; (5) memoria como un proceso componencial de recuperación de esa información; y (6) memoria como un fenómeno individual consiente de recordar algo”.

Hasta el momento se han definido varios conceptos de memoria, otra pregunta importante que se planteó fue ¿En donde se almacenan estas memorias? Esta pregunta surge a principios del

siglo XIX por el anatomista Franz Joseph Gall. De acuerdo con todas sus observaciones él define al cerebro como el órgano de la mente y propone que el cerebro está organizado por zonas corticales. Así fue como Joseph Gall desarrolló su teoría conocida como frenología, la cual aceptaba que las cualidades humanas de cada persona estaban localizadas en regiones específicas del cerebro tales como la generosidad o intelecto (Simpson, 2005). Tuvieron que transcurrir muchos años, hasta que en 1929 el neuropsicólogo Karl Lashley mediante sus estudios con ratas llegara a la conclusión de que los daños en la memoria están relacionados con la extensión del tamaño cortical que se remueve y no en una localización específica. Finalmente fue el psicólogo Donald Hebb quien explicó que la información está almacenada a lo largo de grandes áreas de la corteza mediante la conexión de redes de neuronas, y que no existe un solo centro para la memoria, si no que varias partes del sistema nervioso pueden estar participando para representar un evento individual.

El estudio reportado del paciente Henry Molaison (H.M. por sus iniciales) por Scoville and Milner (1957) ha sido tal vez el hallazgo más importante para el campo de la neurociencia. Este reporte describía como el paciente H.M. al haber sido sometido a una resección del lóbulo temporal medial (MTL); conformado por el hipocampo, amígdala y tejidos adyacentes; en un esfuerzo por disminuir las crisis convulsivas provocadas por su epilepsia, resultó en un daño permanente en su memoria. Sus problemas de memoria eran caracterizados por una amnesia anterógrada (incapacidad de formar nuevos recuerdos) y una amnesia retrógrada (incapacidad de recordar eventos sucedidos después de haber sido sometido a operación). La observación de que el daño selectivo en el MTL tenía como consecuencia un déficit aislado en la memoria de largo plazo (LTM) pero no tenía efectos en otro tipo de memoria como la motora dejó en claro la realidad de que había múltiples sistemas de memorias en el cerebro (Milner et al., 1998).

Anteriormente el aprendizaje y la memoria se estudiaban de forma separada, pero al paso de los años estas dos se unificaron. De acuerdo con Kandel (2014), el aprendizaje se refiere al cambio en el comportamiento que resulta de la adquisición de conocimientos acerca del mundo, y la memoria es el proceso mediante el cual el conocimiento es codificado, almacenado y posteriormente recuperado. Asimismo, existen dos tipos de almacenar esta información o memorias, la memoria de corto y largo plazo. La memoria de corto plazo se refiere a un sistema que involucra un almacenamiento de información temporal, esta retención de información puede durar desde segundos hasta horas, para el caso de esta memoria se producen cambios en la circuitería neuronal, las cuales pueden afectar a neuronas individuales como cambios a nivel de segundos mensajero o de las propiedades de los canales membranales. Por otra parte, la memoria de largo plazo se refiere a un sistema de almacenamiento de información perdurable a lo largo del tiempo (desde recuerdos de la infancia hasta recuerdos vividos desde semanas atrás) sin ninguna limitación en su capacidad, este tipo de memoria sufre cambios permanentes que requieren la síntesis de proteínas (Dudai, 2004; Kandel, 2012; Micheau & Riedel, 1999).

Actualmente se sabe que, el aprendizaje puede ser clasificado en no asociativo, como los fenómenos de habituación y sensibilización; y aprendizaje asociativo, en el cual los sujetos aprenden las relaciones entre estímulos, conductas y consecuencias (Dudai, 1989). Por otro lado, la memoria se ha clasificado en dos: la memoria declarativa o explícita y no declarativa o implícita. La memoria declarativa es aquella que puede ser evocada de forma consciente y se divide en: memoria de trabajo, la cual permite mantener la información por un periodo breve de tiempo mientras se realizan operaciones cognitivas; la memoria semántica, la cual almacena información y conocimiento del mundo; la memoria episódica, que mantiene la experiencia personal del pasado; la memoria espacial cuya función es mantener la información sobre la

relación espacial de objetos o lugares; y la memoria de reconocimiento, la cual permite al individuo distinguir un estímulo o evento particular. Asimismo, la memoria no declarativa, contrariamente, es evocada de forma inconsciente y se divide en: memoria perceptual, la cual permite el reconocimiento rápido de los objetos; la memoria asociativa, que permite la asociación espacial y temporal entre estímulos; y por último la no asociativa donde se extrae la información de un solo estímulo (Ver **Figura III**) (Rovee-Collier et al.2001; Tulving, 2000)

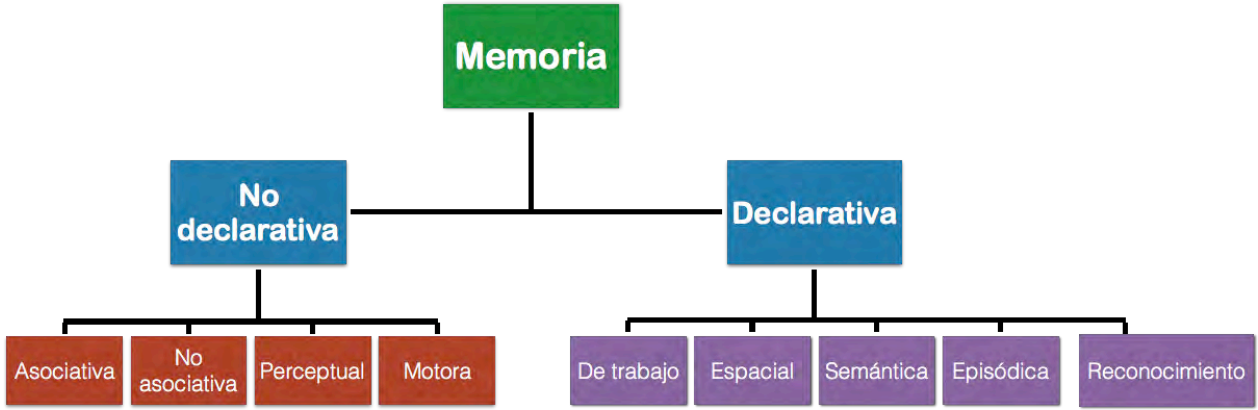


Figura III Clasificación de la memoria. Tomado y modificado de Osorio, D. (2016).

MODELOS ANIMALES DE DIABETES

En un esfuerzo por comprender estas patologías se han desarrollado varios modelos animales tanto de diabetes como de la Enfermedad de Alzheimer. Es importante recordar que la validez de un modelo de ratón de una enfermedad está estrechamente vinculada a la capacidad del animal para reproducir algunas manifestaciones de ella (Buccafusco, 2009), aunque ningún modelo murino recapitula el espectro patológico entero.

Los modelos de DM2 más usados son el ratón *db/db* el cual tiene una mutación autosómica recesiva en el receptor de leptina; la leptina entre otras cosas regula la sensación de saciedad a nivel del hipotálamo. El ratón *db/db* desarrolla hiperfagia, obesidad mórbida, hiperinsulinemia, e hiperglucemia a partir los primeros 4 meses de edad. Otro modelo muy parecido es el ratón *ob/ob* el cual carece de leptina, este ratón desarrolla hiperfagia, hiperglucemia, hiperinsulinemia e intolerancia a la glucosa (Sajan et al., 2016) Asimismo también se utilizan primates no humanos como modelos para el estudio de la DM2 ya que estos desarrollan la enfermedad de manera espontánea, sin embargo, económicamente es muy caro y no está autorizado el uso de primates no humanos en diferentes partes del mundo.

Es posible desarrollar modelos no transgénicos de esta enfermedad con tan solo aumentar el porcentaje de grasa o de carbohidratos en la ingesta diaria de los animales. Se ha comprobado que los ratones tienen mayor posibilidad de desarrollar prediabetes más rápido con dietas altas en grasa, mientras que en las ratas se puede inducir con dietas altas en carbohidratos (Hiriart et al., 2014).

Se han desarrollado modelos a base de dietas altas en grasa. Las cuales van del 40-60% de calorías derivadas de las grasas e intentan emular la DM2. De esta manera los animales desarrollan un fenotipo obeso, con signos que van desde hiperglucemia, insensibilidad a la insulina, dislipidemia y niveles altos de leptina en plasma entre otros (Arnold et al., 2014). El modelo murino no transgénico más usado es el ratón C57/Bl6 J, tras un estudio se comprobó que esta cepa de ratón no secreta insulina de manera normal y es un defecto ligado directamente a su genotipo (Toye et al., 2005) por lo que es más sencillo y más económico inducir la DM2 en esta cepa en particular.

Por otra parte, existe evidencia que, cuando se administra una dieta alta en azúcares (sacarosa, fructuosa o jarabe de maíz) en modelos animales disminuye la sensibilidad a la insulina tanto en el hígado como en el músculo predisponiéndolos al desarrollo de obesidad, dislipidemias, SM, DM2 y disfunción en la memoria (Moreira, 2013).

En nuestro grupo de trabajo se desarrolló el modelo de SM en rata Wistar, esta cepa de ratas no ha mostrado una susceptibilidad al desarrollo de obesidad o diabetes, en comparación de la cepa Long Evans. En este modelo se administra una solución de sacarosa al 20% en la bebida de consumo durante un periodo de 2 a 6 meses, desarrollando: acumulación de grasa abdominal, hiperinsulinemia, resistencia a la insulina, aumento en niveles de triglicéridos y aumento moderado de la presión sistólica y una alta sensibilidad de los canales K_{ATP} por el ATP en las células β (Velasco et al., 2012).

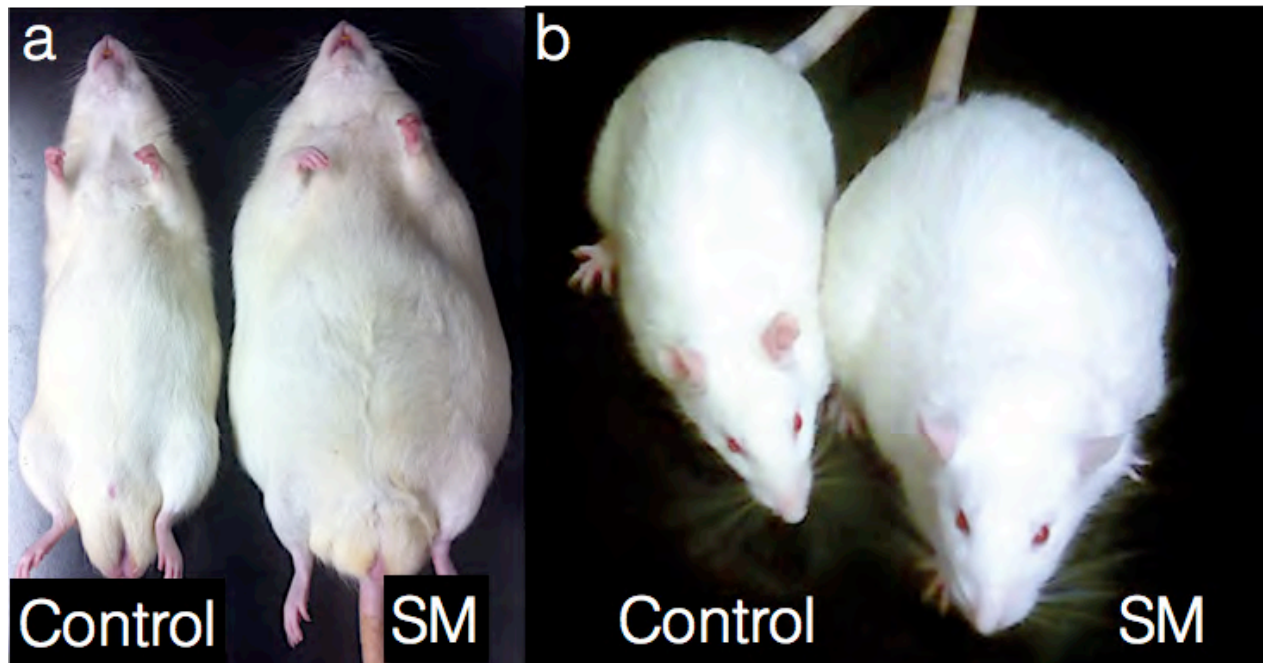


Figura IV. Modelo inducido de síndrome metabólico. Modelo de SM descrito por nuestro grupo de trabajo inducido con una dieta alta en carbohidratos (sacarosa al 20% en el agua de bebida). Panel a) vista ventral de los animales sin tratamiento “Control” y con tratamiento “SM” después de 6 meses de dieta. Panel b) Vista de los animales control (izq.) y con SM (der).

EL ESTUDIO DE LA OBESIDAD, SÍNDROME METABÓLICO, DIABETES Y DAÑO COGNITIVO.

Previamente se habló de los principales mecanismos (como la vía de señalización de la insulina, el metabolismo de la glucosa y lípidos, y estrés oxidante) que se encuentran bajo investigación para tratar de comprender cómo la diabetes y etapas previas a la diabetes, como la obesidad y el síndrome metabólico, repercuten en el SNC. Todas estas investigaciones se han llevado a cabo en su mayoría con modelos animales de diabetes, síndrome metabólico, obesidad, ya que comparten signos entre ellas.

En modelos experimentales con roedores después de haber sido sometidos a una dieta alta en grasa se ha observado un bajo desempeño en pruebas de memoria y aprendizaje las cuales indican un déficit en la memoria de trabajo, memoria espacial y de reconocimiento (Arnold et al., 2014; Chloe Boitard et al., 2012; Farr et al., 2008; Jurdak & Kanarek, 2009; Treviño et al., 2015). Los cambios fisiológicos observados han sido principalmente sobre la vía canónica de señalización de la insulina PI3K/Akt, donde la información obtenida es contradictoria, ya que, hay información que dicta que los puntos clave en la activación de esta vía se encuentran regulados a la baja como Akt, mTOR, S6, GSK3 β (Arnold et al., 2014; Duarte et al., 2008; Kim et al., 2011) mientras que la literatura reciente indica que están regulados a la alta (Sajan et al., 2016). También se han observado cambios neurofisiológicos como la alteración del mantenimiento del LTP y LTD (depresión a largo plazo); que son mecanismos neurobiológicos fundamentales para la memoria y el aprendizaje. Acompañado de otra serie de cambios que van desde reducción de espinas dendríticas en la región CA1 del hipocampo (Stranahan et al., 2008), reducción de la neurogénesis en el hipocampo (Can et al., 2012; Lee et al., 2011; McNay et al., 2010) alteración en el metabolismo del glutamato (Valladolid-Acebes et al., 2012), niveles bajos del factor neurotrófico derivado el cerebro (BDNF) (Molteni et al., 2002; Yamada-Goto et al., 2012), junto con la reducción en niveles de proteínas pre- y postsinápticas como la sinaptofisina, sinapsina y stargazina (Molteni et al., 2002; Stranahan et al., 2008), así como también una reducción en la expresión de la proteína postsináptica de andamiaje PSD-95 (Arnold et al., 2014).

En cualquier caso, está claro que cuando se administran dietas altas en grasas y/o carbohidratos se desarrolla resistencia a la insulina la cual produce cambios que aún no están claros, ya que los datos publicados por varios grupos de investigación muestran resultados que difieren. Esta diferencia se puede deber debido a la cepa de ratón o rata con la que se trabajó, el

tipo de dieta, la duración de ésta misma e incluso el ambiente a la que se sometió a estos animales.

Planteamiento del problema

Tanto la demencia como la diabetes son enfermedades metabólicas y hay evidencias que apuntan a que estas dos patologías se encuentran interrelacionadas. De hecho, algunos científicos han acuñado el término de diabetes tipo 3 a la Enfermedad de Alzheimer, la cual es el tipo de demencia más común, sugiriendo que la EA es un tipo de diabetes ya que comparten varios signos y mecanismo patológicos. Sin embargo, hasta la fecha no es claro como convergen estas dos patologías.

En México 8.52 millones de personas que padecen intolerancia a la glucosa (TAG) (Guariguata, Nolan, Beagley, Linnenkamp, & Jacqmain, 2013). El incremento que ha habido a través de los años en la tasa de personas que sufren DM2, o cualquier disfunción en el metabolismo de la glucosa, ha llevado a investigar la etiología de esta enfermedad. Lo que se sabe hasta el momento es que existen ciertos factores genéticos y ambientales que conducen al desarrollo de la diabetes como es el caso del síndrome metabólico (SM) y la obesidad.

A pesar de toda la información que se genera hoy en día, aún no es claro los mecanismos moleculares que intervienen en el desencadenamiento del síndrome metabólico y menos aún su relación con los déficits cognitivos ligados a la demencia. Por otro parte, la mayoría de los expertos coinciden en que la EA, al igual que otras enfermedades crónicas comunes como es el caso de la diabetes, se desarrolla como resultado de múltiples factores. Estos factores incluyen una variedad de cambios en el cerebro que comienzan hasta 20 años antes de que aparezcan los síntomas, es decir, que el individuo es capaz de mantener sus funciones cerebrales con normalidad, a pesar de estos cambios en el cerebro, pero conforme avanza la enfermedad, el cerebro ya no puede compensar el aumento de daño neuronal causado por los cambios en el

mismo, y finalmente el individuo experimenta una ligera disminución en su capacidad cognitiva (Thies y Bleiler, 2012). En este trabajo se pretenden contestar si el síndrome metabólico logra evidenciar cambios en el desempeño cognitivo en ratas Wistar tratadas con una dieta alta en sacarosa y bajo qué condiciones esto es cierto.

HIPÓTESIS

El síndrome metabólico producto de una dieta alta en sacarosa por 6 meses en ratas Wistar macho, inducirá deficiencias en la memoria.

OBJETIVO PRINCIPAL

Analizar si el síndrome metabólico puede producir déficits cognitivos en el modelo de síndrome metabólico en ratas Wistar macho.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Evaluar el desempeño cognitivo en pruebas de aprendizaje
- Analizar y correlacionar los cambios metabólicos con el desempeño cognitivo
- Analizar y correlacionar marcadores de la función sináptica con el desempeño cognitivo.
- Evaluar la liberación de neurotransmisores durante la tarea conductual.

Material y métodos

Modelo animal

Se trabajó con ratas macho de la cepa Wistar de aproximadamente 2 meses de edad (250 a 280 gramos de peso) cuando se inició el tratamiento experimental. Se mantuvieron en un periodo luz oscuridad de 12 hrs. Se dividieron en cuatro grupos experimentales: a) un grupo control que recibió agua y b) un grupo experimental con una solución de sacarosa al 20%(w/v) c) grupo control joven d) grupo experimental con solución de sacarosa al 20% (por un periodo de 2 semanas). Durante un periodo de dos semanas (para el grupo joven) y seis meses (para el grupo de tratamiento crónico) se alimentaron con una dieta estándar (LabDiet5001®) ad libitum. Todos los animales se mantuvieron y usaron de acuerdo a las reglas del COMITÉ INSTITUCIONAL PARA EL CUIDADO Y USO DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO (CICUAL) del Instituto de Fisiología Celular, UNAM (número de protocolo: MHU86-16)

Prueba de laberinto de agua de Morris (WM)

Una de las pruebas de comportamiento elegidas para poder medir si hay un deterioro cognitivo es el Laberinto de Agua de Morris (WM *por sus siglas en inglés Water Maze*). Esta prueba mide la memoria de navegación espacial en roedores (Morris, Garrud, Rawlins, & O'Keefe, 1982).

Todas las ratas fueron entrenadas en el WM durante 5 días, sin interrupción, en sesiones idénticas de nueve ensayos por cada rata (mismas condiciones de luz y temperatura del agua $21\pm 1^{\circ}\text{C}$). En cada ensayo el animal tenía que encontrar la localización de una plataforma (15 X

15 cm) que se encontraba sumergida en el agua a una profundidad de 1.5 cm en una piscina circular de 1.40 m de diámetro.

Se siguió el protocolo de (Nerad et al., 1996) con algunas modificaciones donde para el entrenamiento, se colocaba a cada rata en nueve diferentes puntos, seleccionados al azar para cada ensayo, donde se le daba un tiempo máximo de 40 segundos a la rata para llegar a la plataforma y situarse en ella. Una vez llegado a la plataforma la rata debía permanecer 20 segundos en la plataforma y ser retirada inmediatamente a una caja donde se le permitían 10 segundos de descanso antes de que iniciara el siguiente ensayo, se repitió el mismo procedimiento hasta completar los nueve ensayos. Si el animal no llegaba a la plataforma en el tiempo indicado era guiado manualmente hacía ella.

El día de la prueba se hizo 24 horas después de los cinco días de entrenamiento donde se retiró la plataforma y se midió el tiempo en el que la rata tarda en llegar al punto donde se encontraba la plataforma, se registra el tiempo de latencia, la velocidad de nado del animal, tiempo en el cuadrante blanco y número de cruces a la plataforma en un lapso de 40 segundos. Se utilizó el programa EthoVision® XT (Noldus, USA) para grabar todos los experimentos y medir la latencia de llegada, cuadrante en el que la rata pasa más tiempo y número de cruces. Todos los datos obtenidos fueron tabulados y analizados con el programa StatView y graficados con el programa GraphPad Prism 5.1®

Prueba de reconocimiento de objetos

La prueba de Reconocimiento de Objetos (ORM *por sus siglas en inglés Object Recognition Memory*) nos permite evidenciar si hay un daño nivel cerebral, ya que esta prueba pone a prueba regiones parahipocampales (corteza perirrinal, entorrinal y corteza temporal

inferior) relacionadas con la memoria de reconocimiento. Se seleccionaron ratas Wistar macho del grupo experimental, control (n=14) y tratado (n=12) así como también del grupos experimental joven control (n=6) y tratado (n=6).

Esta prueba se dividió en tres fases: habituación, adquisición y prueba. En la habituación las ratas fueron colocadas en una arena con aserrín donde se les permitió explorar libremente durante un tiempo de 10 minutos durante 5 días. La fase de adquisición se llevó a cabo 24 horas después de que terminara el periodo de habituación por un tiempo de 5 minutos por cada rata. Se colocaron dos objetos exactamente iguales frente al animal (dos frascos vacíos de Gerber sin etiqueta y perfectamente sanitizados), se grabó para su posterior análisis donde se registró el tiempo de exploración para cada objeto.

La última fase de prueba, se hizo 24hrs después de la adquisición donde se le puso el objeto familiar (frasco de Gerber) y el objeto nuevo (foco de vidrio). Se grabó y se analizó el tiempo de exploración. La prueba se hizo en un tiempo de 5 minutos por rata. Todo fue grabado para después ser analizado en la computadora manualmente. El tiempo de exploración para cada rata se tabuló y analizó con el programa estadístico StatView®, y fue graficado con el programa GraphPad Prism 5.1®.

Prueba de reconocimiento de objeto en lugar

La prueba de reconocimiento de objeto en lugar es al igual que la prueba del laberinto de agua de Morris sensible al daño hipocampal. Por lo tanto esta prueba nos muestra si la memoria espacial se encuentra afectada. Esta prueba al igual que la prueba de reconocimiento de objetos se dividió en tres fases: habituación, adquisición y prueba. En la habituación las ratas fueron colocadas en una arena con aserrín donde se les permitió explorar libremente durante un tiempo

de 10 minutos durante 3 días. La fase de adquisición se llevó a cabo 24 horas después de la habituación. Se le presentaron dos objetos diferentes a los animales: a) Un frasco de Gerber y b) un foco de vidrio se grabó. Ambos perfectamente libres de olor. Se les permitió explorar libremente los dos objetos durante un tiempo de 5 minutos. La fase de adquisición de los animales fue grabada para su posterior análisis donde se registró el tiempo de exploración para cada objeto y se determinó si había alguna preferencia por uno u otro objeto, si la preferencia hacia un objeto era evidente el animal se sacaba del análisis.

La última fase de prueba, se hizo 24hrs después de la adquisición donde se le puso el objeto familiar, y el objeto nuevo (que es el objeto que fue desplazado de lugar). Se grabó y se analizó el tiempo de exploración. La prueba se hizo en un tiempo de 5 minutos por rata. Todo fue grabado para su posterior análisis. El tiempo de exploración para cada rata se tabuló y analizó con el programa estadístico StatView®, y fue graficado con el programa GraphPad Prism 5.1®.

Prueba de tolerancia a la glucosa intraperitoneal (PTGI)

Se realizó esta prueba la cual muestra la acción de la insulina secretada por los animales al estimularse con una carga de glucosa. 12 horas antes de realizar el experimento se les retiró el alimento a los dos grupos (control y tratado) dejándoles a su acceso únicamente agua. Se tomaron muestras de sangre de la cola de los animales para registrar la concentración de glucosa basal con un glucómetro comercial (Accu-Chek Active, Roche). Posteriormente se les inyectó vía ip una dosis alta de glucosa (2g/Kg). Las muestras se fueron tomadas y registradas al tiempo 0 (basal) y a los 15, 30, 60, 90 y 120 min después de la administración vía ip.

Caracterización del síndrome metabólico en ratas Wistar macho después del tratamiento con una dieta alta en carbohidratos.

Cumplidos los 6 meses de tratamiento y después de ser sometidas a las pruebas conductuales se midieron algunos parámetros físicos y metabólicos. Se dejaron a los animales en ayunas y cumpliendo un periodo de 12 horas se eutanizaron con una sobredosis de pentobarbital sódico vía intraperitoneal (ip). Se registró con un glucómetro comercial (Accu-Chek Active, Roche) la concentración de glucosa en ayuno para cada animal. Todos los animales fueron pesados, y se obtuvieron medidas de su longitud corporal (**L**) y perímetro abdominal (**PA**) con una cinta métrica. Para obtener el **PA** se midió el diámetro de la región abdominal por encima de la cresta iliaca, mientras que para la **L** se midió la longitud del animal de la punta de la nariz al ano. Adicionalmente se extrajo la grasa peripancreática y epididimal las cuales fueron pesadas para su registro.

Se extrajeron los cerebros y se separaron los dos hemisferios con ayuda de un bisturí. Un hemisferio se destinó para las pruebas bioquímicas (se congelaron las mitades a -70°C) y el otro para inmunohistoquímica (se fijaron en paraformaldehído al 4%).

La sangre se obtuvo de la vena cava con una jeringa estéril de 10ml y se colocó en tubos previamente heparinizados. Luego fue centrifugada a 8870 g a una temperatura de 4°C durante 15 minutos en una centrífuga. Los sobrenadantes se recuperaron y se almacenaron a -20°C antes de usarlos. Los niveles de insulina en plasma se midieron mediante un ensayo de ELISA con un kit comercial Ultrasensitive Rat Insulin ELISA (Mercodia, Uppsala, Sweden; Cat.10-1173) de acuerdo a las indicaciones del fabricante.

Análisis mediante Western Blot de homogenados de cerebro de ratas con síndrome metabólico

Se usaron 30µg de extracto protéico de hipocampo y corteza insular y fueron hervidas durante 5 minutos en amortiguador Laemmli (adicionando β-mercaptoetanol al 5%) en relación 1:1 con la proteína. Posteriormente se separaron en un gel de SDS-Bis-acrilamida al 12%; la electroforesis se llevó a cabo a 100V durante dos horas en un amortiguador compuesto por Tris Base 25 mM, glicina 192 mM y SDS 0.11%. Las proteínas se transfirieron a una membrana de PVDF (BioRad) a 25 V por 45 min en un amortiguador de transferencia con los mismos componentes que el de corrida pero adicionándole 20% de metanol. Esta membrana se incubó una hora en amortiguador TBS-T (Tris Base 10 mM, NaCl 0.9%, Tween 20 0.1%, pH 7.5) con 5% de albúmina sérica bovina. Para detectar la proteína vesicular sinaptofisina (Abcam, ab53166; dilución 1:1000) , la cual esta presente durante la sinápsis, y la proteína acídica fibrilar glial (GFAP por sus siglas en inglés) (Dako, Z033401; dil 1:1000) las membranas fueron incubadas 12 horas a 4°C con un anticuerpo en TBS-T. Se le hizo un ciclo de lavados a la membrana durante 7 minutos cuatro veces en TBS-T y se incubaron por dos horas con un anticuerpo conjugado a peroxidasa de rábano (anti-conejo 1:10 000). La membrana volvió a lavarse con TBS-T. Después se incubó con un sustrato quimioluminiscente HRP (Immobilion Western, Mollipore) y la señal se expuso a una placa radiográfica (Fujifilm®). La actividad se cuantificó densitrométricamente con el software ImageJ 1.31.

Análisis de la potenciación de largo plazo en ratas con SM

El análisis de la potenciación de largo plazo (LTP) se realizó en la Facultad de Psicología, UNAM. En el laboratorio de la Dra. Martha Escobar por el Dr. Luis Rodríguez Durán. Se utilizó

un protocolo de estimulación de alta frecuencia: 5 trenes de 10 burst, cada burst 50 ms a 400 Hz.

La estimulación se hizo de la vía del patrón perforante al giro dentado. (Controles=7, SM=6).

Microdiálisis en la corteza insular e hipocampo en ratas con SM

Los animales fueron anestesiados vía la inhalación de isoflorano. Bajo anestesia, se les implantaron dos cánulas guía (CMA, Suecia) en la corteza insular (CI) e hipocampo dorsal (HD) (AP = 1.2, L= 5.5, y DV= -4.5; AP = -3.3, L= -5.5 y DV= -4.5) respectivamente) (Paxinos y Watson, 1998), utilizando procedimientos estereotáxicos convencionales. Las cánulas se fijaron mediante un soporte de dos tornillos y cemento dental acrílico. Para evitar posibles infecciones, se aplicó una mezcla de antibiótico, antimicótico y yodo. El tiempo de recuperación post-quirúrgico fue de seis días.

Microdiálisis

El proceso de microdiálisis se llevó a cabo durante la prueba conductual de localización de objeto en lugar, donde se siguió el mismo protocolo descrito anteriormente para esta prueba. El día de la adquisición y la prueba (veinticuatro horas después), las sondas de microdiálisis, con una membrana de 1 mm de largo para hipocampo y de 3 mm para la corteza insular (CMA, Suecia), fueron conectadas al sistema de microinfusión (CMA, Suecia) el cual, perfundió solución Ringer (NaCl 118 mM, KCl 4.7 mM, KH₂PO₄ 1.2 mM, MgSO₄ 1.2 mM, CaCl₂ 2.5 mM, NaHCO₃ 19 mM, glucosa 3.3 mM) a una velocidad de 1.0 µL/min para la CI. Las sondas se insertaron en las cánulas guía y los primeros 60 minutos de dializado fueron descartados. Las muestras fueron recolectadas cada 5 minutos para CI y el HD obteniendo un volumen final de 5.0 µL por muestra. Los dializados se recolectaron en tubos eppendorf de 200 µL que contenían 1.0

μL de mezcla antioxidante (ácido ascórbico 0.25 mM, Na_2EDTA 0.27 mM, ácido acético 0.1 M).

En la adquisición las primeras tres muestras fueron utilizadas como línea basal de concentración y a partir de la cuarta fracción, se colocaron los dos objetos novedosos para que el animal fuera libre de explorarlos durante 5 minutos, al terminar los 5 minutos de exposición al estímulo condicionado se recolectó una muestra más. Las muestras se congelaron inmediatamente a -20°C . Se repitió el mismo proceso para el día de la prueba.

Análisis de los dializados

El análisis químico de las muestras se realizó mediante electroforesis capilar micelar por detección de fluorescencia inducida por láser. De manera breve, las muestras se derivatizaron con 6 μL FQ¹ ((3-(2-furoil)quinolina-2-carboxaldehído, Molecular Probes Invitrogen, E.U.A.) 10mM; en presencia de 2 μL de KCN 25 mM en buffer de boratos 10 mM y 1 μL de estándar interno (O-metil-L-treonina 7.5 mM) un aminoácido que no se encuentra naturalmente en la muestra y que sirve como referencia para corregir variabilidad en la inyección de la muestra y en la reacción de derivatización. La reacción de derivatización se realizó en la oscuridad por 15 min a 65°C en un baño termostático. Para la separación de las muestras se utilizó el sistema de electroforesis capilar micelar (MECK por sus siglas en inglés)

MEKC

El amortiguador de corrida empleado para la separación de los neurotransmisores de interés contenía boratos 35 mM, duodecil sulfato de sodio (SDS) 25 mM, β - ciclodextrinas 5 mM, 13% de metanol grado HPLC, con un pH final 9.6. La inyección fue hecha hidrodinámicamente aplicando 0.5 psi de presión durante 5 segundos en el contenedor de la muestra para llenar una porción del capilar (sílica fundida, 75 μm de diámetro interno y 50 cm de

largo) y la separación se hizo aplicando 25 kV. Para la detección de los compuestos se empleó detección de fluorescencia inducida por láser con un láser de ionización de argón con luz a 488 nm (Beckman Coulter P/ACE MDQ Glycoprotein system).

Se identificaron los siguientes neurotransmisores en el electroferograma: glutamato (Glu), ácido γ aminobutírico (GABA), norepinefrina (NA) y dopamina (DA). Se comparó el patrón de migración con otro electroferograma donde cada neurotransmisor se encontraba resaltado; los picos obtenidos se corrigieron relacionando el área bajo la curva de la muestra con el área bajo la curva del estándar interno. Los datos obtenidos se analizaron mediante el programa Karat System Gold. Todos los resultados se muestran en porcentaje con respecto a la concentración observado durante la línea basal ($\% \text{Concentración basal} = \text{concentración muestra} \times 100 / \text{promedio de concentración de las tres primeras fracciones}$) o la concentración de las tres líneas basales expresadas en las unidades correspondientes. Para el análisis de la concentración basal de cada neurotransmisor se empleó el promedio de las tres primeras fracciones.

Análisis Estadístico

Todos los datos obtenidos se tabularon y analizaron con el programa StatView®. Para la construcción de los gráficos se utilizó el programa GraphPad Prism 5.1®. Los datos fueron sometidos a la prueba de Kolmogorov-Smirnov. En el caso de que los datos no se ajustaran a una distribución normal se utilizó la prueba no paramétrica de Mann-Whitney. Todos los datos se reportaron como la media \pm SEM; la *n* indica el número de animales analizado. Para la curva de memoria y aprendizaje entre ratas controles y tratadaas se aplico un ANOVA de repetidas medidas y posteriormente la prueba post hoc de Fisher LSD. Se aplico una T-student no pareada para los experimentos del laberinto de agua de Morris y concentración de insulina en plasma.

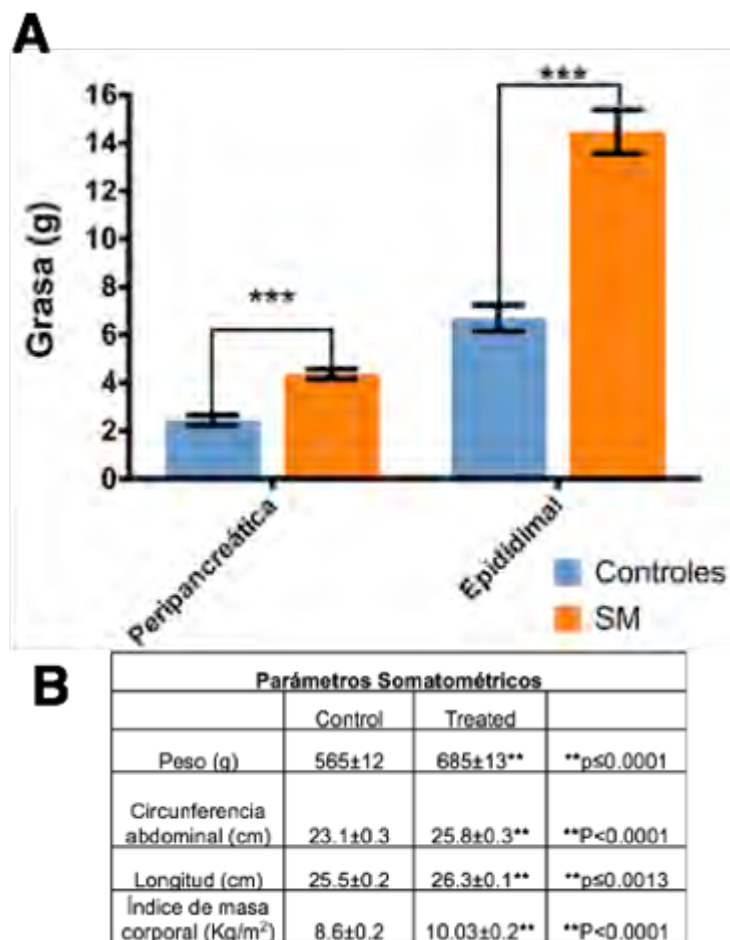
Para las pruebas de reconocimiento de objetos y reconocimiento de objeto en lugar los resultados se compararon con la media hipotética de 0.5.

Resultados

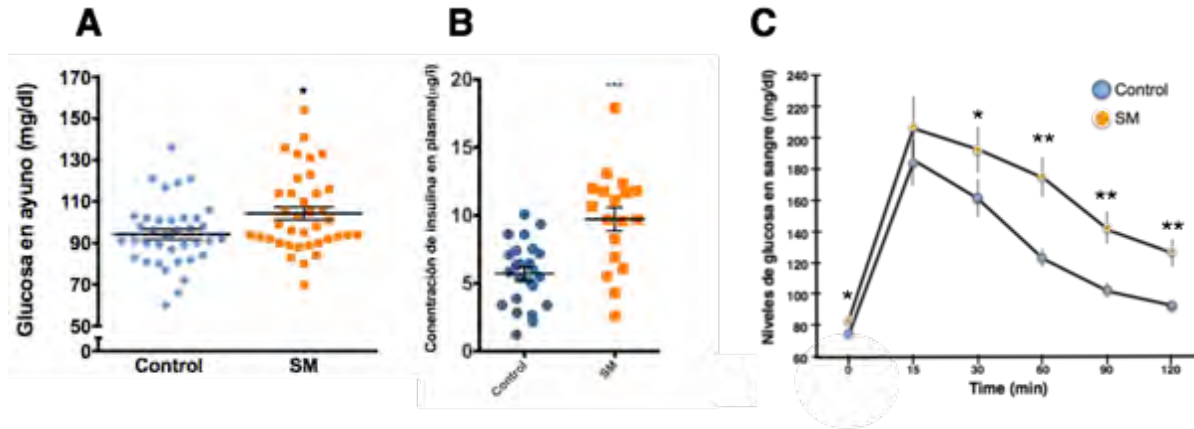
Caracterización del modelo de síndrome metabólico en ratas wistar macho

Los cambios metabólicos después de 6 meses de tratamiento con sacarosa al 20% en ratas Wistar se reflejan en hiperinsulinemia, hiperglucemia y niveles altos de triglicéridos en plasma comparados con los controles (Velasco et al., 2012). Debido que este modelo ya está bien caracterizado por nuestro grupo de trabajo solo se pretendía corroborar antes de someter a los animales a pruebas conductuales y pruebas bioquímicas que efectivamente las ratas presentan todos los signos que caracterizan al síndrome metabólico.

Después de 6 meses de tratamiento con sacarosa al 20% fue evidente como las ratas tratadas acumulan más grasa peripancreática y epididimal (Gráfica 1A) con respecto a los controles ($p < 0.005$) y esto se ve reflejada también en el peso final que alcanzaron los animales después de un periodo de 6 meses de tratamiento (Gráfica 1B) el cual es significativamente diferente cuando se compara con los controles ($p \leq 0.001$).



Gráfica 1. Parámetros físicos de ratas con síndrome metabólico inducido con una dieta alta en sacarosa. A) Las ratas con un tratamiento de 6 meses con una dieta alta en sacarosa muestran un aumento en la acumulación de grasa peripancreática y epididimal. B) Los parámetros somatométricos que se tomaron en cuenta fueron peso, circunferencia abdominal, longitud e índice de masa corporal. Como se muestra en la tabla todos estos parámetros son diferentes cuando se compara el grupo control con las ratas con síndrome metabólico. Ratas tratadas n=31, ratas controles n=28. Los valores de las barras representan el promedio \pm SEM. **p< 0.005 y *** \leq 0.001 con respecto al control.



Gráfica 2. Parámetros metabólicos en ratas con síndrome metabólico. A) Se muestra el cambio en la concentración de glucosa en ayuno en ratas tratadas con una dieta alta en sacarosa durante 6 meses (SM n=27, ratas controles n=25). B) La concentración de insulina en plasma en ratas tratadas indica que son hiperinsulinémicas (ratas SM n=18, ratas controles n=24). C) La curva de tolerancia a la glucosa de ratas SM muestra que son intolerantes a la glucosa cuando se compara con los controles. Los datos representan la media ± el SEM. *p< 0.05 y ***p≤0.001 con respecto al control.

Asimismo, cuando se compararon los niveles de glucosa en ayuno entre tratadas y controles estos resultaron ser significativamente diferentes ($p < 0.05$) uno respecto del otro como se muestra en la Gráfica 2A. Por otra parte se realizó la prueba de tolerancia a la glucosa intraperitoneal (n=20 para controles y tratadas) la cual alcanzó el máximo punto glucémico a los 15 minutos posterior a la administración de la glucosa, seguido por una disminución gradual en la glucosa plasmática a lo largo del tiempo hasta regresar a los niveles basales después de dos horas en los controles, sin embargo, es muy evidente que en el grupo de los tratados los niveles de glucosa tardaron más en llegar a sus niveles basales tal como se muestra en la Gráfica 2C.

Por último se midió la concentración de insulina en plasma en los dos diferentes grupos mediante la técnica de ELISA. Lo que se observó fue que tal y como se había reportado antes en el laboratorio las ratas que fueron tratadas con la dieta alta en sacarosa, más de la mitad, presentan niveles más altos de insulina comparados con los controles los cuales tienen una distribución homogénea (Gráfica 2B). Lo que concluimos de todas estas mediciones fue que las

ratas sí presentan varios signos que las definen como ratas con síndrome metabólico, ya que tienen hiperinsulinemia, hiperglucemia y obesidad central, que son los parámetros que se midieron en este proyecto y que ya se encuentran previamente reportados por Velasco (2012).

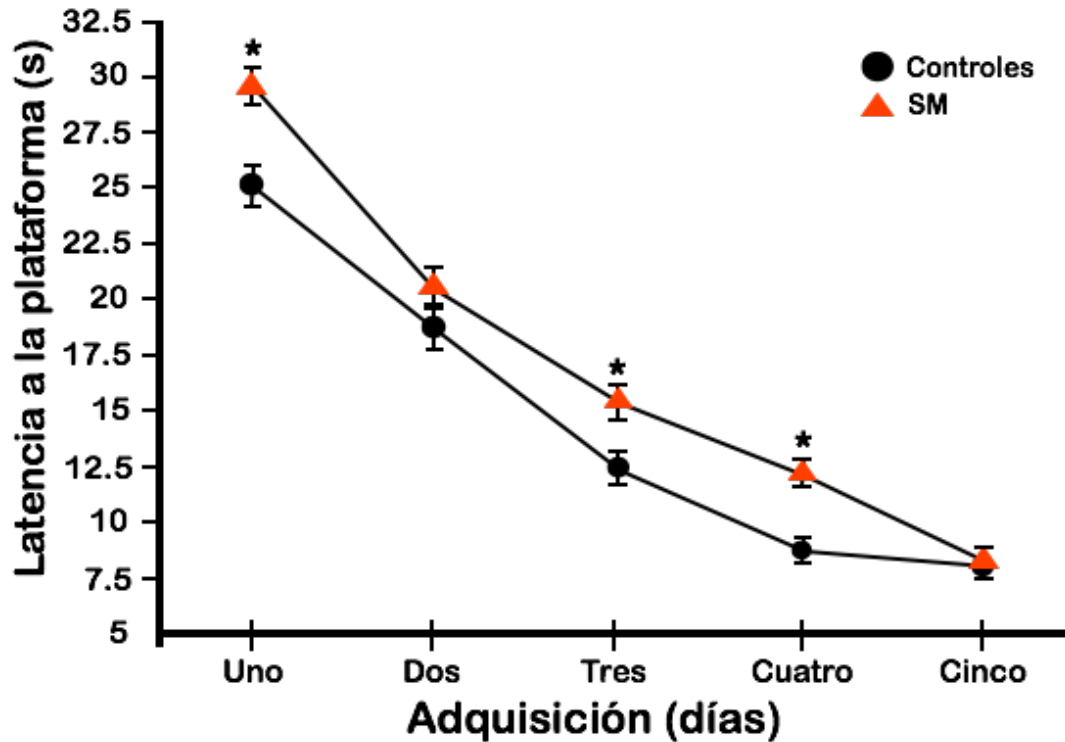
Desempeño cognitivo de las ratas con sm en el laberinto de agua

Como se mencionó anteriormente la prueba de laberito de agua se dividió en dos fases: entrenamiento y prueba. En la fase del entrenamiento conforme transcurren los días el animal va aprendiendo la localización de la plataforma oculta, es decir, que tarda menos tiempo en llegar a la plataforma como se observó en la Gráfica 1.

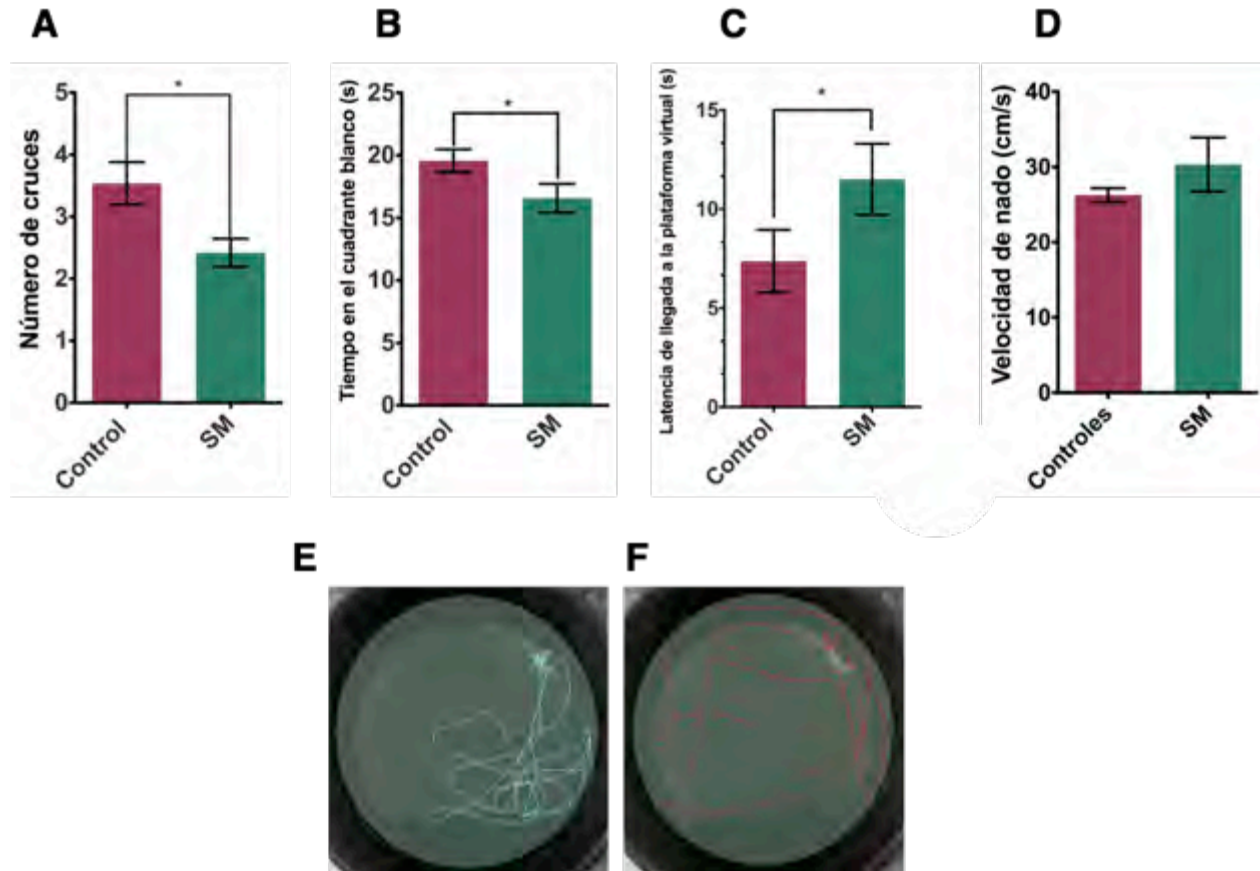
En la Gráfica 1 se observó que en las ratas con SM el tiempo que les lleva recordar la ubicación de la plataforma es significativamente mayor cuando se comprara con las controles. Esto último se traduce en problemas de consolidación de la memoria por parte de este grupo de animales.

Los resultados de la prueba del laberinto de agua indican que las ratas tratadas con una dieta alta en sacarosa muestran un menor desempeño en esta prueba. Asimismo se puede hacer notar que hay una diferencia significativa entre controles y tratadas en el número de cruces (**Gráfica 4 A**), el tiempo invertido en el cuadrante blanco (**Gráfica 4 B**) y la latencia de llegada a la plataforma virtual (**Gráfica 4 C**). Por otro lado, se evaluó la velocidad de nado de los dos grupos (controles y SM) para tener la certeza que el efecto observado tanto en el entrenamiento como en la prueba no sea debido a la obesidad que presentan los animales con SM. En **Gráfica 4 D** se representa la comparación de la velocidad de nado entre grupos donde no se observan diferencias significativas.

El número de cruces es el parámetro más sensible en la prueba de laberinto de agua que nos indica si la rata realmente ubica el punto preciso donde se encontraba la plataforma. Mientras que la latencia de llegada al punto donde se encontraba la plataforma muestra si el animal recuerda la ubicación y la rapidez con la que llega al punto, el hecho de que el animal tenga un mayor o menor número de cruces nos deja ver si realmente recuerda la ubicación de la plataforma. Con estos resultados se podría decir que las ratas con SM tienen un déficit de atención que se refleja en un pobre desempeño en la prueba también refleja un daño en la memoria espacial la cual es dependiente del hipocampo. Asimismo, en la **Gráfica 4 E-F** se muestran imágenes representativas de los patrones de nado de las ratas controles y con SM, donde se observa que las ratas con SM tienen un patrón de nado que abarca mayores cuadrantes de la piscina mientras que las controles su patrón de nado está sesgado hacia la ubicación de la plataforma.



Gráfica 3. Las ratas tratadas muestran un leve déficit cognitivo al memorizar la ubicación de la plataforma. En esta gráfica se muestra el periodo de entrenamiento correspondiente a 5 días. En el primer día de entrenamiento, se observa que las ratas con SM tardan más tiempo en memorizar la ubicación de la plataforma cuando se compara con las controles. Conforme avanzan el periodo de entrenamiento las ratas tratadas van recordando la ubicación de la plataforma escondida. Los valores para cada punto de las curvas representan el promedio \pm SEM. Ratas tratadas n=31, ratas control n=28. *p<0.05

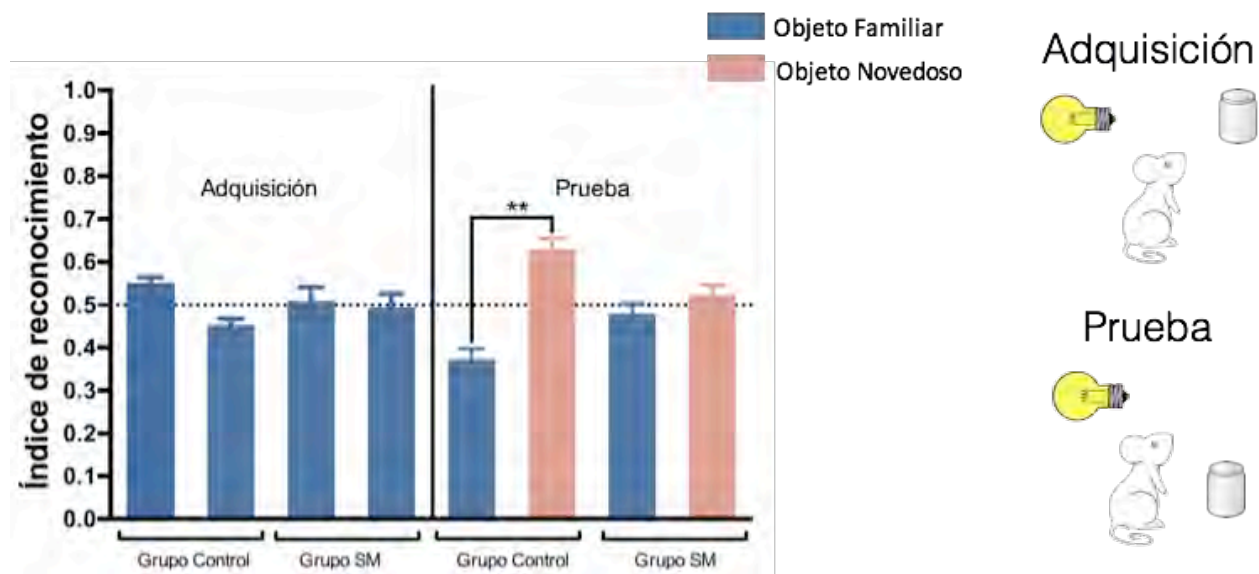


Gráfica 4. Las ratas con SM no recuerdan la ubicación precisa de la plataforma. A) Las ratas con SM realizan un menor número de cruces si se comparan con los controles indicando que no recuerdan la ubicación donde estaba la plataforma. B) Asimismo las ratas con SM pasan menos tiempo en el cuadrante donde se ubicaba la plataforma. C) Para la latencia de llegada a la plataforma virtual las ratas con SM tardaron más tiempo en pasar con el lugar preciso donde se colocaba la plataforma. D) La velocidad de nado no es diferente entre grupos. E) y F) Imágenes representativas de la trayectoria de nado el día de la prueba en ratas controles y tratadas, respectivamente, donde se observa que el patrón que en las ratas controles está reducido al cuadrante donde solía estar ubicada la plataforma. Ratas con SM n=31, ratas control n=28. Los valores de las barras representan el promedio \pm SEM.

Prueba de reconocimiento de objeto en lugar en ratas con SM con una dieta alta en sacarosa

Esta prueba al igual que la del laberinto de agua también puede medir el daño en la región del hipocampo. En la **Gráfica 5** se muestra el índice de reconocimiento obtenido en la adquisición y la prueba de memoria. Para evaluar el desempeño obtenido en la prueba las comparaciones se hacen asumiendo una media hipotética de 0.5, la cual corresponde a la mitad

del tiempo que debieron explorar el objeto 1 y el objeto dos en la adquisición. Lo que se observa es que las ratas controles tienen un comportamiento esperado al explorar más el objeto 1 en la prueba que correspondería al objeto novedoso como se esquematiza en la caricatura de al lado. Sin embargo, las ratas con SM no discriminan entre el objeto desplazado (objeto novedoso) y el no desplazado (objeto familiar) por lo que de nuevo esta tarea dependiente de hipocampo muestra un posible daño en esta región del cerebro.

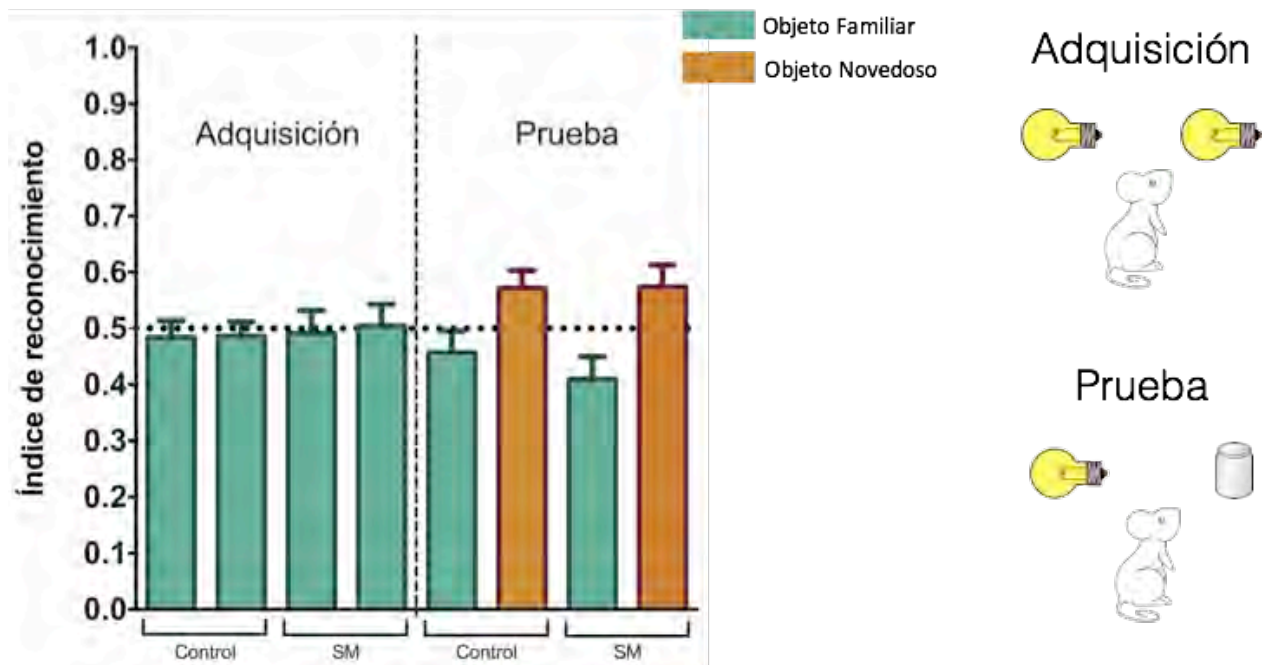


Gráfica 5. Las ratas con SM tienen problemas en la memoria espacial. Ratas tratadas n=8, ratas control n=12. Los valores de las barras representan el promedio \pm SEM. En la fase de Adquisición el cual se muestra en el panel A se observan el índice de reconocimiento, es decir, el tiempo de exploración de cada objeto (01=objeto uno, 02=objeto dos) y se observa pasan el mismo tiempo explorando uno u otro objeto. En la fase de prueba se movió uno de los objetos de lugar y se observó que el grupo control explora más el objeto que se desplazó de lugar ($*p<0.05$) reconociéndolo como un objeto nuevo. Al contrario, el grupo tratado exploró el mismo tiempo uno u otro objeto. Por esto se concluye que el grupo tratado tiene problemas con la memoria espacial cuando se compara con los controles.

Comparación entre la prueba de ORM de las ratas con SM y las ratas control

Los resultados de la prueba de ORM indican que no hay una diferencia significativa entre grupos. Tanto las tratadas como las ratas controles exploran en promedio el mismo tiempo tanto el día de la adquisición como el día de la prueba (Gráfica 6). Como se había mencionado

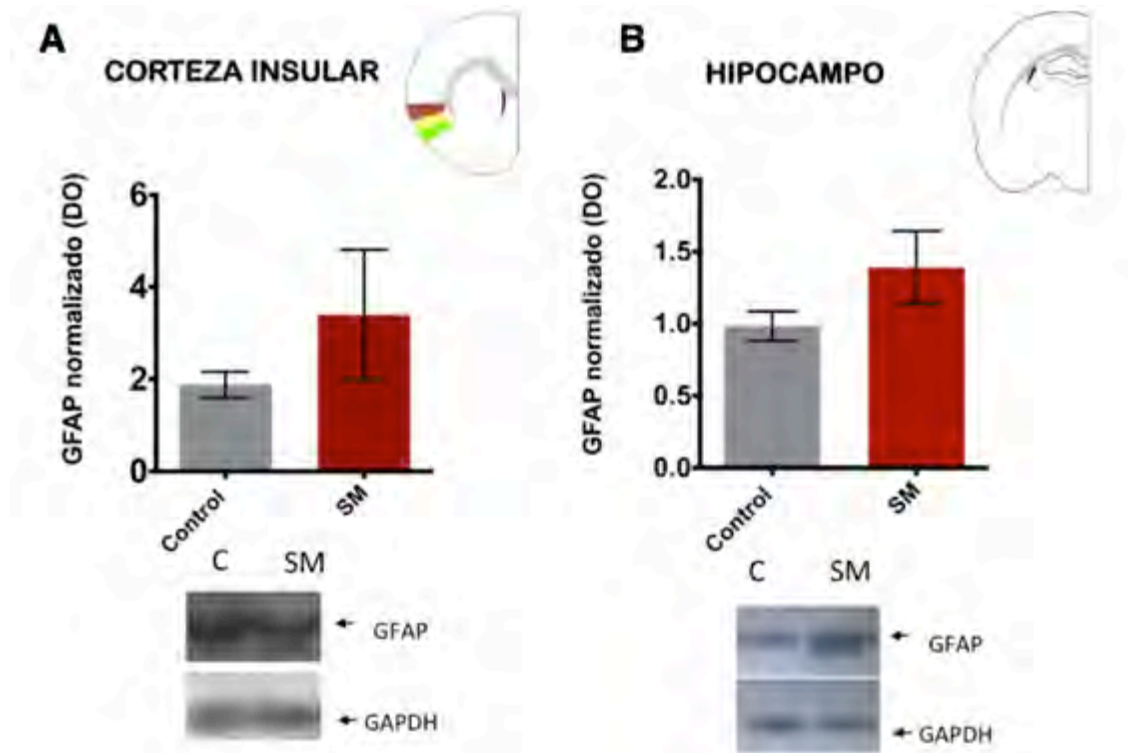
anteriormente esta prueba es dependiente de las zonas corticales del cerebro que participan en la memoria de reconocimiento. No es de sorprenderse que no haya diferencia entre los dos grupos ya que los cambios a nivel cognitivo se presentan la mayoría de las veces en la zona del hipocampo la cual está íntimamente asociada con la consolidación de la memoria a largo plazo y es de las primeras regiones en dañarse con la aparición de la Enfermedad de Alzheimer o la demencia vascular las cuales son los tipos de demencia más comunes. Es importante resaltar que el hecho de que las ratas tratadas con una dieta alta en sacarosa no presentan aún ningún déficit en la memoria de reconocimiento nos acerca más a entender cómo se da la secuencia de daños que provoca el síndrome metabólico y los déficits cognitivos.



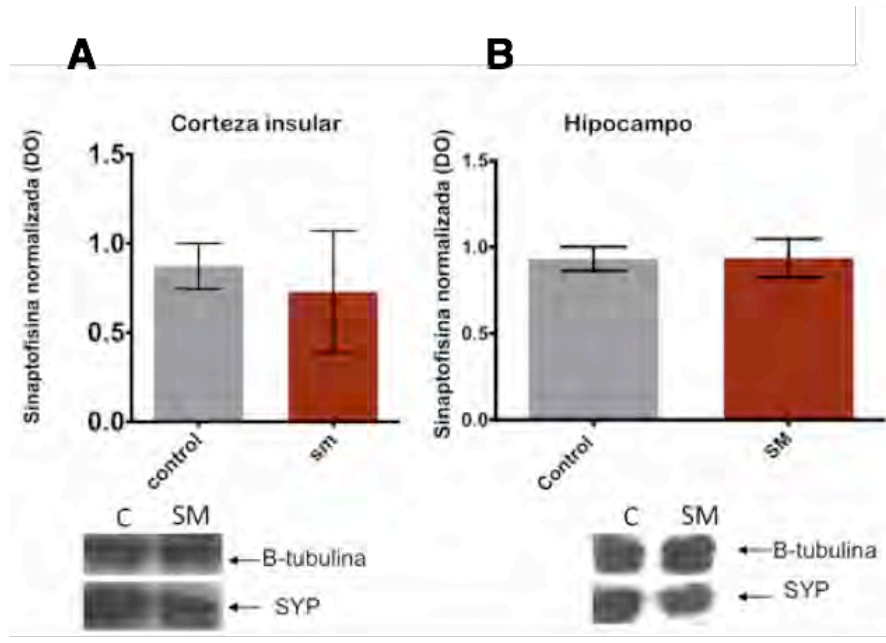
Gráfica 6. Las ratas con SM siguen conservando su memoria de reconocimiento. En la fase de adquisición las ratas controles y SM exploraron en promedio el mismo número de veces los dos objetos con lo que se están familiarizando; En la fase de prueba, se evidencia algún posible daño en la memoria de reconocimiento. Si el animal explora el mismo tiempo un objeto querría decir que no se acuerda que el objeto es diferente en tamaño y forma. Sin embargo, no se observaron diferencias entre el índice de exploración cuando se trata del objeto nuevo y el objeto familiar. Ratas controles (n=14), ratas tratadas (n=12). Los valores de las barras representan el promedio \pm SEM.

Análisis mediante Western-blot de hipocampo y corteza insular en ratas con SM

Se analizó el contenido de la proteína acídica fibrilar glial (GFAP) y no se encontró ningún cambio en las dos diferentes estructuras analizadas (corteza insular e hipocampo) (ver **Gráfica 7**). En el presente estudio se usó como marcador la proteína vesicular sinaptofisina ya que es una proteína que está presente en la sinapsis química y que puede ser un indicador de que como la eficiencia de la sinapsis. En este experimento no se observó una disminución en la expresión de la proteína sinaptofisina en ninguna de las regiones del cerebro analizadas (Gráfica 8).



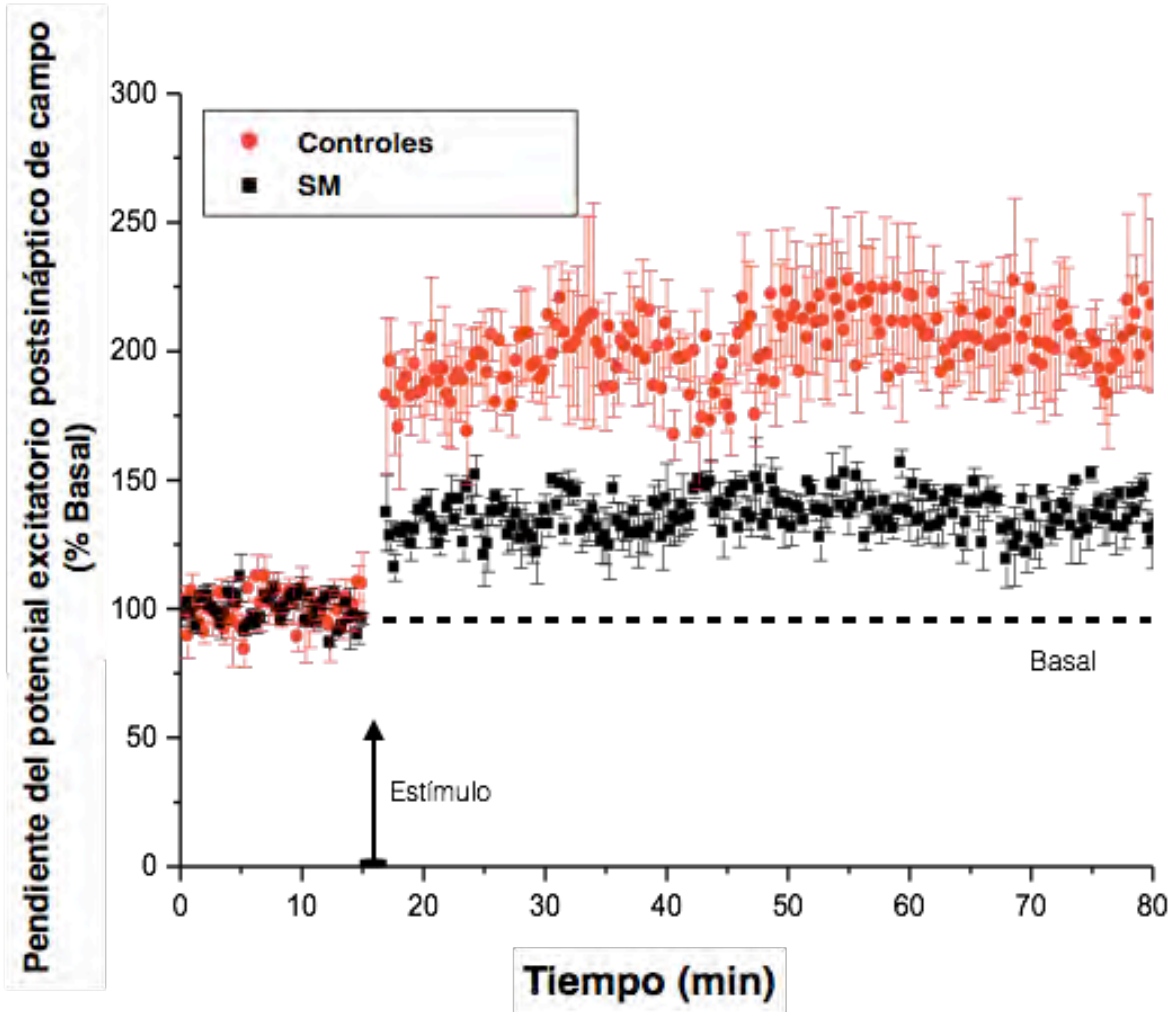
Gráfica 7. El grupo de ratas con SM no muestra un aumento en la proteína GFAP. A la izquierda se muestra la gráfica de barras que representa el análisis densitométrico del Western-Blot para la región de la corteza insular (C=8 y SM=3) (A) y a la derecha el análisis para la región de hipocampo (C=17 y SM=14) (B). Todos los datos están normalizados con GAPDH (el cual se usó como control de carga). En la parte inferior se muestra una imagen representativa de las bandas correspondiente a la proteína acídica fibrilar glial (GFAP) y el control de carga (GAPDH). Ratas controles (n=6), ratas tratadas (n=5). Los valores de las barras representan el promedio \pm SEM.



Gráfica 8. El grupo de ratas con SM no muestra un cambio en la expresión de sinaptofisina en tres regiones diferentes del cerebro. A) Análisis densitométrico de la expresión de sinaptofisina en la corteza insular B) Hipocampo e C) Hipotálamo. Todos los datos están normalizados contra beta-tubulina (el cual se usó como control de carga). En la parte inferior se muestra una imagen representativa de las bandas correspondientes a sinaptofisina (SYP) y el control de carga (b-tub). Los valores de las barras representan el promedio \pm SEM.

Potenciación de largo plazo en ratas con SM

En la **Gráfica 9** se muestra la potenciación de largo plazo que se hace estimulando a las neuronas mediante pulsos de alta frecuencia y en el caso de las ratas control (n=7) se puede observar una respuesta normal donde la potenciación de eleva y se mantiene mientras que en las ratas con SM (n= 6) esta estimulación no logra potenciar las neuronas y mantener este estado. Estos resultados demuestran que la eficiencia de la sinapsis en las ratas que tienen síndrome metabólico se encuentra dañada y este problema se ve reflejado en déficits cognitivos los cuales ya se corroboraron aplicando las pruebas de conducta anteriormente descritas.



Gráfica 9. Las ratas con síndrome metabólico no logran la potenciación de largo plazo cuando se les estimula con pulsos de alta frecuencia. Ratas control n= 7, ratas SM n= 6. Los valores están representados como el promedio \pm SEM.

Discusión

Actualmente, nuestro estilo de vida y la dieta que consumimos se ha convertido en la primera causa de obesidad y diabetes tipo II. Varios estudios han mostrado evidencia que un desequilibrio en la nutrición puede afectar las capacidades cognitivas (Arnoldussen et al., 2014; Chloé Boitard et al., 2014; Farr et al., 2008; Jurdak et al., 2009; Kanoski et al., 2010; Mushtaq et al., 2015). Los estudios recientes se han dedicado a investigar los mecanismos involucrados con la ingesta de dietas altas en grasas y carbohidratos y su relación con el detrimento en las capacidades cognitivas. De manera específica se ha encontrado evidencia que las dietas altas en grasa tienen un impacto fisiológico y estructural en el hipocampo.

Experimentalmente se ha observado en modelos transgénicos que cuando se administra agua endulzada con sacarosa (10%, durante un periodo de 25 semanas) se induce la resistencia a la insulina junto con un exacerbado déficit de memoria y amiloidosis en un modelo de ratón de la EA (Ho et al., 2004). De manera similar, otro estudio realizado con ratones 3xTg-AD diabéticos (a los cuales se les administró sacarosa 20% durante 7 meses) mostró un perfil similar de alteraciones conductuales y cognitivas, alteraciones vasculares, desequilibrio oxidativo y alteraciones mitocondriales (Carvalho et al., 2012, 2013).

En modelos experimentales con roedores después de haber sido sometidos a una dieta alta en grasa se ha observado un bajo desempeño en pruebas de memoria y aprendizaje las cuales indican un déficit en la memoria de trabajo, memoria espacial y de reconocimiento (Arnold et al., 2014; Chloe Boitard et al., 2012; Farr et al., 2008; Jurdak & Kanarek, 2009; Treviño et al., 2015). Los cambios fisiológicos observados han sido principalmente aquellos involucrados con la vía canónica de señalización de la insulina PI3K/Akt, donde la información obtenida es contradictoria, ya que, hay información que dicta que los puntos clave en la activación de esta vía

se encuentran regulados a la baja como Akt, mTOR, S6, GSK3 β (Arnold et al., 2014; Duarte et al., 2008; Kim et al., 2011) mientras que la literatura reciente indica que están regulados a la alta (Sajan et al., 2016). También se han observado cambios neurofisiológicos como la alteración del mantenimiento del LTP y LTD (depresión a largo plazo); que son mecanismos neurobiológicos fundamentales para la memoria y el aprendizaje. Acompañado de otra serie de cambios que van desde reducción de espinas dendríticas en la región CA1 del hipocampo (Stranahan et al., 2008), reducción de la neurogénesis en el hipocampo (Can et al., 2012; Lee et al., 2011; McNay et al., 2010) alteración en el metabolismo del glutamato (Valladolid-Acebes et al., 2012), niveles bajos del factor neurotrófico derivado el cerebro (BDNF) (Molteni et al., 2002; Yamada-Goto et al., 2012), junto con la reducción en niveles de proteínas pre- y postsinápticas como la sinaptofisina, sinapsina y stargazina (Molteni et al., 2002; Stranahan et al., 2008), así como también una reducción en la expresión de la proteína postsináptica de andamiaje PSD-95 (Arnold et al., 2014).

Nuestro modelo de SM es un modelo crónico, con una duración de 6 meses de duración, en comparación de otros modelos donde el tratamiento donde lo hacen durante un periodo de 3 meses (Treviño et al., 2015). También es importante resaltar que nuestro modelo está basado únicamente en un una dieta alta en carbohidratos, mientras que la mayoría de los modelos existentes se han probado mayormente en ratones y están basados ya sea en modificaciones genéticas y/o dietas altas en grasa (Arnold et al., 2014; Bizeau et al., 2005; Calvo-Ochoa et al., 2014; de Andrade et al., 2015; Gzielo et al., 2016; Kanoski et al., 2010; Karimi et al., 2013; Moreira, 2013; Petrov et al., 2015; Pistell et al., 2010; Sajan et al., 2016; Treviño et al., 2015; Underwood & Thompson, 2016).

La primera parte de este trabajo consistió en hacer todas la mediciones somatométricas y metabólicas para tener certeza que nuestros animales tratados con una dieta alta en sacarosa si

desarrollan síndrome metabólicos. Como se puede observar en la **Gráfica 1** los animales con SM acumulan grandes depósitos de grasa alrededor de los órganos. Los dos depósitos de grasa que se vieron fueron la peripancreática (la que esta alrededor del páncreas) y la epididimal (la que rodea los testículos y el epidídimo). Después de 6 meses de tratamiento con esta dieta alta en sacarosa, los animales con síndrome metabólico alcanzan una mayor longitud, perímetro abdominal y peso comparados con los animales control (ver Gráfica 1). Analizamos varios componentes metabólicos como la cantidad de insulina en plasma y la glucosa en ayuno así como también se hizo la prueba de tolerancia a la glucosa. Nuestros animales después de este tratamiento desarrollan hiperinsulinemia, alteración de la glucosa en ayuno, así como también una intolerancia a la glucosa (ver **Gráfica 2**). Todo este conjunto de signos que logra recapitular este nuestro modelo lo hace apto para poder investigar mecanismos que aún no están claros tanto para el desarrollo de la diabetes como el daño cognitivo que se desencadena.

La segunda parte de este estudio fueron los resultados que se obtuvieron en las pruebas conductuales. Ocupamos tres tipos diferentes de pruebas conductuales, el laberinto de Agua de Morris, reconocimiento de objeto en lugar y reconocimiento de objetos. Las dos primeras pruebas conductuales nos ayudan a evaluar la memoria espacial y mientras que la última nos ayuda a evaluar la memoria de reconocimiento. De manera general en los grupos control, los registros obtenidos nos mostraron que existe una alta variedad en resultados en las tres pruebas conductuales como en las pruebas metabólicas y físicas que se realizaron. Es importante resaltar que hay una heterogeneidad en los resultados obtenidos en las tareas conductuales, es decir, no siempre los animales controles fueron los que desempeñaron mejor en las pruebas conductuales y de manera contraria también hay cierto número de animales tratados que lograron desempeñarse muy bien obteniendo buenos resultados a pesar de su evidente sobrepeso.

El número de n varía entre cada experimento debido a que los animales no siempre fueron utilizados para los mismo fines. Hay grupos de animales controles y tratados que fueron sometidos a dos pruebas conductuales y grupos en donde sólo se aplico una prueba. Sería interesante investigar si los grupos de ratas a los que se les aplico más de una prueba conductual se desempeñaron mejor en la segunda. Así como también hacer un tamizaje para solo utilizar los datos de los animales que presenten datos de acuerdo con el tipo de tratamiento al cual se les cometi6. Es decir, solo ocupar los datos obtenidos de las ratas tratadas con sacarosa las cuales si cumplan estrictamente con los tres signos que la caracterizan como ratas con s6ndrome metab6lico, ya que como se observan en la **Gr6fica 1 y 2** los valores son muy heterog6neos.

Los resultados del laberinto de agua con los dos grupos experimentales revelan que la dieta si influye directamente en el desempe6o cognitivo. Las ratas con SM si aprenden pero tardan m6s tiempo en consolidar la informaci6n aprendida **Gr6fica3**. Para descartar que los resultados obtenidos hubieran estado influenciados por el sobrepeso de los mismos animales se midi6 la velocidad de nado, la cual no muestra significancia entre grupos. Tanto el n6mero de cruces, el tiempo en el cuadrante blanco y el tiempo de llegada a la plataforma virtual resultaron diferentes entre el grupo control y SM y es una muestra de que la memoria espacial en estos animales esta siendo afectada. En cuando a la prueba de reconocimiento de objeto en lugar, las ratas con una dieta alta en sacarosa tienen dificultad para recordar cual fue el objeto desplazado puesto que exploran por igual los dos objetos en la fase de prueba (**ver Gr6fica 5**). Con estas dos tareas que son dependientes de hipocampo podemos estar seguros que las ratas con SM presentan un d6ficit en la memoria espacial.

En la prueba de reconocimiento de objetos, la cual es dependiente de zonas corticales, no se observó ninguna diferencia entre controles y SM. Hay literatura que indica que cuando se administran dietas altas en grasa la memoria de reconocimiento se ve afectada (Jurdak et al., 2009; Treviño et al., 2015), sin embargo, no pudimos observar diferencia alguna (**Gráfica 6**), puede ser debido a nuestro tipo de modelo y dieta o también estar muy influenciado por el protocolo que se utilice para esta prueba conductual.

Probamos dos marcadores de daño neuronal, GFAP y sinaptofisina. GFAP es un marcador que usualmente se utiliza para ver astrogliosis proceso que se activa ante un daño celular en el cerebro. Asimismo la sinaptofisina es una proteína que se encuentra en las vesículas presinápticas y que ayuda a la liberación de los neurotransmisores. Medimos la expresión de estas dos proteínas en la región del hipocampo y de la corteza insular, pero no encontramos diferencias entre los controles y los SM. En algunos estudios con diferentes modelos han observado una disminución en proteínas presinápticas (Molteni et al., 2002; Stranahan et al., 2008) así como también un aumento en la astrogliosis (Calvo-Ochoa et al., 2014; Gziel et al., 2016; Zaheer et al., 2013).

La evaluación del LTP logró evidenciar que las ratas con SM no logran mantener potenciada esta respuesta cuando se estimulan las neuronas con un estímulo de alta frecuencia, esto nos habla de que la eficacia sináptica no se está llevando a cabo de manera regular cuando se compara con los controles. Una vez más todos estos datos obtenidos nos indican que hay un daño en la región del hipocampo. Estos resultados obtenidos coinciden con los reportes, los cuales han observado un daño tanto en el LTP como el LTD en animales que han sido sometido a dietas altas en grasas (Karimi et al., 2013; Karimi et al., 2015; Van Der Heide et al., 2005).

Exploramos la neuroquímica de cuatro neurotransmisores: glutamato, GABA, norepinefrina y dopamina durante una tarea de conducta para evaluar si hay un cambio en la liberación de estos neurotransmisores en animales con síndrome metabólico comparados con los animales control (Apéndice-**Gráfica 10-13**). Al analizar las muestras de los dializados no se encontró diferencia entre los dos grupos de animales, tampoco una diferencia a lo largo del tiempo ni tampoco una diferencia entre la interacción de los grupos con el tiempo. Adicionalmente se analizaron las concentraciones basales extracelulares de los neurotransmisores y se compararon entre los grupos, sin embargo no se encontraron cambios significativos en estas concentraciones, lo último puede deberse a que los números de muestra están restringidos de 3 a 4 ratas por grupo. A pesar de que no se observan cambios en las concentraciones extracelulares de neurotransmisores, en la **Gráfica 15-A** (ver Apéndice) se muestra la concentración de glutamato (μM) y aunque no hay diferencias significativas entre el grupo control y de SM hay una tendencia que indica que podría haber más glutamato basal en los animales que presentan síndrome metabólico.

Referente a la microdialísis, los datos conductuales (Apéndice-**Gráfica 14**) indican que no existe diferencia entre las dos fases de la tarea (adquisición y prueba). Por lo que se requiere, en primer lugar aumentar el número de muestra de animales y en segundo lugar cambiar el protocolo de la tarea conductual. Debido a que los animales permanecen una hora en la caja de habituación para la estabilización previo a la microdialísis cuando se le pone el estímulo (los dos objetos) éstos no exploran ya que se encuentran dormidos o no muestran interés. Si se repite el experimento de microdialísis aumentando el número de animales y se corrobora que las concentraciones extracelulares de glutamato están aumentadas en las ratas con síndrome metabólico tendríamos una posible explicación de cómo es que las dietas altas en carbohidratos

tienen un impacto directo sobre el desempeño cognitivo. Lo que nos sugieren los hayazgos hasta ahora es que el metabolismo de la glucosa esta jugando un papel muy importante en esa etapa crítica donde los animales presentan síndrome metabólico y donde comienzan a distinguirse una disminución en sus capacidades cognitivas.

Es indispensable hablar del glutamato ya que el metabolismo de la glucosa en el cerebro está estrechamente relacionado con el metabolismo del glutamato. Entonces, el glutamato es un amino ácido y es el principal neurotransmisor excitador en el sistema nervios central (SNC). El glutamato, es el principal mediador de la información sensorial, coordinación motora, emociones cognición incluyendo la formación y evocación de memorias. Del 80-90% de las neuronas usan glutamato como neurotransmisor y aproximadamente 80-90% de las sinapsis son glutamartérgicas en el cerebro. Todas las células del cerebro contienen glutamato (neuronas y glia), y se encuentra en el citosol en los procesos y en las mitocondrias. El esqueleto de carbón de la estructura del glutamato deriva de la glucosa, la cual, a través de la glucólisis y el ciclo de los ácidos tricarboxílicos (TCA por sus siglas en inglés) es convertido en α cetoglutarato. Después el α cetoglutarato recibe un grupo amino de otro amino ácido a través de la transaminación y es convertido en glutamato. El glutamato esta en equilibrio y se está reciclando continuamente en α cetoglutarato y es metabolizado a través del ciclo de TCA. La tasa metabólica cerebral para la glucosa en el cerebro humano es aproximadamente $0.4 \mu\text{M} / \text{min} / \text{g}$ de tejido, y el recambio de glutamato es aproximadamente $0.8 \mu\text{M} / \text{min} / \text{g}$ de tejido. Esto querría decir que toda la glucosa que entra en el cerebro es metabolizada hacia glutamato, tomando en cuenta que una molécula de glucosa da lugar a dos moléculas de acetil CoA, el cual entra en el ciclo de TCA para convertirse en α cetoglutarato y por consiguiente en glutamato (Hassel & Dingle, 2012).

Esta reportado que el metabolismo del glutamato en la región hipocampo se encuentra alterado en ratones después de ser sometidas bajo una dieta alta en grasa. En este trabajo encontraron que la cinética de captura de glutamato es más elevada, asimismo los transportadores de glutamato neuronal (EAAT-3) y glial (GLT-1 y GLAST) se encuentran regulados al alta. También, se observó una disminución de la expresión de las enzimas GAD65 y GAD67; encargadas de la conversión de glutamato a GABA; junto con una reducción en la eficacia sináptica y cambios en la plasticidad inducida por los receptores NMDA (Valladolid-Acebes et al., 2012). Por otra parte, se ha observado que el daño al hipocampo y el metabolismo del glutamato son revertidos cuando se administra una dieta con restricción calórica (Ribeiro et al., 2009) o con antioxidantes (Seyed Asaad Karimi et al., 2013). Estos datos son interesantes ya que lo que nosotros observamos que las concentraciones extracelulares de Glu se encuentran aumentadas en la región de la corteza insular, sería importante seguir explorando la neuroquímica de este neurotransmisor que liga directamente el metabolismo de la glucosa y el del glutamato, tal vez se pueda tener una mejor comprensión de lo que puede estar causando los cambios involucrados con los déficits cognitivos.

Sería muy interesante seguir investigando si el aumento en el glutamato esta jugando un papel importante en el desempeño cognitivo de nuestro modelo animal. Poniéndolo en perspectiva podemos hipotetizar que debido a que los animales se encuentran consumiendo una dieta alta en sacarosa, la cual se conforma de frutosa y glucosa, y adicionalmente se encuentra reportado por nuestro grupo investigación que estos animales presentan una alteración en los niveles de glucosa en plasma, podría ser que los niveles anormales de glucosa en sangre, la cual atraviesa la barrera hematoencefálica, esta causando que el metabolismo de la glucosa en cerebro incrementa aumentando la síntesis de glutamato y que este glutamato este desencadenado una

serie de eventos que se ven reflejados en déficit cognitivo. Todo lo anterior concuerda con los datos conductuales que se obtuvieron en este trabajo donde las tareas dependientes de hipocampo se encuentran alteradas junto con la evaluación de la potenciación de largo plazo.

Conclusiones

- ◆ Las ratas con SM desarrollan problemas para adquirir información y requieren mas tiempo para consolidar lo aprendido.
- ◆ También se demostró que las ratas con SM, las cuales se les administró la dieta alta en sacarosa, disminuyen su desempeño cognitivo en tareas de conductuales dependientes de hipocampo.
- ◆ Las pruebas conductuales junto con la evaluación del LTP de las ratas con SM demostraron que el hipocampo es una de las estructuras que se ve afectada como resultado de la administración de una dieta alta en carbohidratos.
- ◆ Los análisis mediante Western-Blot no revelaron alguna relación entre el déficit cognitivo y el síndrome metabólico, por lo que se necesitan otro marcadores moleculares para dilucidar esta relación.
- ◆ No hay cambio en la liberación de los cuatro neurotransmisores evaluados, sin embargo, hay un dato interesante que podría indicar que el glutamato se encuentra aumentado en niveles basales.

REFERENCIAS

- World Health Organization. (1999). *Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: report of a WHO consultation. Part 1, Diagnosis and classification of diabetes mellitus*. Geneva: World Health Organization. Retrieved from <http://www.who.int/iris/handle/10665/66040>
- American Diabetes Association. (2014). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, *37 Suppl 1*(Supplement_1), S81-90. <http://doi.org/10.2337/dc14-S081>
- Arnold, S. E., Lucki, I., Brookshire, B. R., Carlson, G. C., Browne, C. A., Kazi, H., ... Kim, S. F. (2014). High fat diet produces brain insulin resistance, synaptodendritic abnormalities and altered behavior in mice. *Neurobiology of Disease*, *67*, 79–87. <http://doi.org/10.1016/j.nbd.2014.03.011>
- Arnoldussen, I. A. C., Kiliaan, A. J., & Gustafson, D. R. (2014). Obesity and dementia: Adipokines interact with the brain. *European Neuropsychopharmacology*, *24*(12), 1982–1999. <http://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2014.03.002>
- Atkinson, M. A., Eisenbarth, G. S., & Michels, A. W. (2014). Type 1 diabetes. *Lancet (London, England)*, *383*(9911), 69–82. [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60591-7](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60591-7)
- Baker, L. D., Cross, D. J., Minoshima, S., Belongia, D., Watson, G. S., & Craft, S. (2011). Insulin resistance and Alzheimer-like reductions in regional cerebral glucose metabolism for cognitively normal adults with prediabetes or early type 2 diabetes. *Archives of Neurology*, *68*(1), 51–7. <http://doi.org/10.1001/archneurol.2010.225>
- Banks, W. A., Jaspan, J. B., Huang, W., & Kastin, A. J. (1997). Transport of Insulin Across the Blood-Brain Barrier: Saturability at Euglycemic Doses of Insulin. *Peptides*, *18*(9), 1423–1429. [http://doi.org/10.1016/S0196-9781\(97\)00231-3](http://doi.org/10.1016/S0196-9781(97)00231-3)
- Baumann, C. A., Ribon, V., Kanzaki, M., Thurmond, D. C., Mora, S., Shigematsu, S., ... Saltiel, A. R. (2000). CAP defines a second signalling pathway required for insulin-stimulated glucose transport. *Nature*,

- 407(6801), 202–7.
<http://doi.org/10.1038/35025089>
- Begg, D. P. (2015). *Insulin Transport into the Brain and Cerebrospinal Fluid. Hormones and Transport Systems* (1st ed., Vol. 98). Elsevier Inc.
<http://doi.org/10.1016/bs.vh.2014.12.007>
- Belinson, H., Lev, D., Masliah, E., & Michaelson, D. M. (2008). Activation of the amyloid cascade in apolipoprotein E4 transgenic mice induces lysosomal activation and neurodegeneration resulting in marked cognitive deficits. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *28*(18), 4690–701.
<http://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5633-07.2008>
- Bizeau, M. E., & Pagliassotti, M. J. (2005). Hepatic adaptations to sucrose and fructose. *Metabolism: Clinical and Experimental*, *54*(9), 1189–201.
<http://doi.org/10.1016/j.metabol.2005.04.004>
- Bluestone, J. A., Herold, K., & Eisenbarth, G. (2010). Genetics, pathogenesis and clinical interventions in type 1 diabetes. *Nature*, *464*(7293), 1293–300. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4959889&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Boitard, C., 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.
<http://doi.org/10.1016/j.bbi.2014.03.005>
- Boitard, C., Etchamendy, N., Sauvant, J., Aubert, A., Tronel, S., Marighetto, A., ... Ferreira, G. (2012). Juvenile, but not adult exposure to high-fat diet impairs relational memory and hippocampal neurogenesis in mice. *Hippocampus*, *22*(11), 2095–100.
<http://doi.org/10.1002/hipo.22032>
- Bonda, D. J., Wang, X., Perry, G., Nunomura, A., Tabaton, M., Zhu, X., & Smith, M. A. (2010). Oxidative stress in Alzheimer disease: a possibility for prevention. *Neuropharmacology*, *59*(4–5), 290–4.
<http://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2010.04.005>
- Bondareva, V. M., & Chistyakova, O. V. (2007). Insulin and insulin-receptor signaling in the brain. *Neurochemical*

- Journal*, 1(3), 176–187.
<http://doi.org/10.1134/S1819712407030026>
- Boyd, F. T., Clarke, D. W., & Raizada, M. K. (1986). Insulin inhibits specific norepinephrine uptake in neuronal cultures from rat brain. *Brain Research*, 398(1), 1–5.
[http://doi.org/10.1016/0006-8993\(86\)91242-4](http://doi.org/10.1016/0006-8993(86)91242-4)
- Brecht, W. J., Harris, F. M., Chang, S., Tesseur, I., Yu, G.-Q., Xu, Q., ... Huang, Y. (2004). Neuron-specific apolipoprotein e4 proteolysis is associated with increased tau phosphorylation in brains of transgenic mice. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 24(10), 2527–34.
<http://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4315-03.2004>
- Brownlee, M. (2001). Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, 414(6865), 813–20.
<http://doi.org/10.1038/414813a>
- Bubber, P., Haroutunian, V., Fisch, G., Blass, J. P., & Gibson, G. E. (2005). Mitochondrial abnormalities in Alzheimer brain: mechanistic implications. *Annals of Neurology*, 57(5), 695–703.
<http://doi.org/10.1002/ana.20474>
- Buccafusco, J. J. (2009). *Methods of Behavior Analysis in Neuroscience*. CRC Press. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK5228/>
- 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 : Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 34(6), 1001–8.
<http://doi.org/10.1038/jcbfm.2014.48>
- Can, Ö. D., Ulupinar, E., Özkay, Ü. D., Yegin, B., & Öztürk, Y. (2012). The effect of simvastatin treatment on behavioral parameters, cognitive performance, and hippocampal morphology in rats fed a standard or a high-fat diet. *Behavioural Pharmacology*, 23(5–6), 582–92.
<http://doi.org/10.1097/FBP.0b013e328356c3f2>
- Carvalho, C., Cardoso, S., Correia, S. C., Santos, R. X., Santos, M. S., Baldeiras, I., ... Moreira, P. I. (2012). Metabolic

- alterations induced by sucrose intake and Alzheimer's disease promote similar brain mitochondrial abnormalities. *Diabetes*, 61(5), 1234–42. <http://doi.org/10.2337/db11-1186>
- Carvalho, C., Machado, N., Mota, P. C., Correia, S. C., Cardoso, S., Santos, R. X., ... Moreira, P. I. (2013). Type 2 diabetic and Alzheimer's disease mice present similar behavioral, cognitive, and vascular anomalies. *Journal of Alzheimer's Disease : JAD*, 35(3), 623–35. <http://doi.org/10.3233/JAD-130005>
- Craft, S., Baker, L. D., Montine, T. J., Minoshima, S., Watson, G. S., Claxton, A., ... Gerton, B. (2012). Intranasal insulin therapy for Alzheimer disease and amnesic mild cognitive impairment: a pilot clinical trial. *Archives of Neurology*, 69(1), 29–38. <http://doi.org/10.1001/archneurol.2011.233>
- de Andrade, I. S., Zemdegs, J. C. S., de Souza, A. P., Watanabe, R. L. H., Telles, M. M., Nascimento, C. M. O., ... Ribeiro, E. B. (2015). Diet-induced obesity impairs hypothalamic glucose sensing but not glucose hypothalamic extracellular levels, as measured by microdialysis. *Nutrition & Diabetes*, 5(6), e162. <http://doi.org/10.1038/nutd.2015.12>
- de la Monte, S. M. (2009). Insulin resistance and Alzheimer's disease. *BMB Reports*, 42(8), 475–81. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4600067&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Di Paolo, G., & Kim, T.-W. (2011). Linking lipids to Alzheimer's disease: cholesterol and beyond. *Nature Reviews. Neuroscience*, 12(5), 284–96. <http://doi.org/10.1038/nrn3012>
- Duarte, A. I., Santos, P., Oliveira, C. R., Santos, M. S., & Rego, A. C. (2008). Insulin neuroprotection against oxidative stress is mediated by Akt and GSK-3beta signaling pathways and changes in protein expression. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1783(6), 994–1002. <http://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2008.02.016>
- Dudai, Y. (1989). *The Neurobiology of Memory*. Oxford, UK: Oxford University Press.
- Dudai, Y. (2004). THE NEUROBIOLOGY OF CONSOLIDATIONS, OR, HOW STABLE IS THE ENGRAM? *Annual Review of Psychology*, 55(1), 51–86. <http://doi.org/10.1146/annurev.psych.55.090902.142050>
- Farr, S. A., Yamada, K. A., Butterfield, D. A., Abdul, H. M., Xu, L., Miller, N. E., ...

- Morley, J. E. (2008). Obesity and hypertriglyceridemia produce cognitive impairment. *Endocrinology*, 149(5), 2628–36.
<http://doi.org/10.1210/en.2007-1722>
- Figlewicz, D. P. (2003). Adiposity signals and food reward: expanding the CNS roles of insulin and leptin. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 284(4), R882-92.
<http://doi.org/10.1152/ajpregu.00602.2002>
- Frame, S., & Zheleva, D. (2006). Targeting glycogen synthase kinase-3 in insulin signalling. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 10(3), 429–44.
<http://doi.org/10.1517/14728222.10.3.429>
- Frisardi, V., Solfrizzi, V., Capurso, C., Imbimbo, B. P., Vendemiale, G., Seripa, D., ... Panza, F. (2010). Is insulin resistant brain state a central feature of the metabolic-cognitive syndrome? *Journal of Alzheimer's Disease : JAD*, 21(1), 57–63.
<http://doi.org/10.3233/JAD-2010-100015>
- Garrido, G. E. J., Furuie, S. S., Buchpiguel, C. A., Bottino, C. M. C., Almeida, O. P., Cid, C. G., ... Busatto, G. F. (2002). Relation between medial temporal atrophy and functional brain activity during memory processing in Alzheimer's disease: a combined MRI and SPECT study. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 73(5), 508–16. Retrieved from
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1738103&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Golbidi, S., Ebadi, S. A., & Laher, I. (2011). Antioxidants in the treatment of diabetes. *Current Diabetes Reviews*, 7(2), 106–25. Retrieved from
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21294707>
- Grundy, S. M. (2005). Metabolic syndrome: therapeutic considerations. *Handbook of Experimental Pharmacology*, (170), 107–33. Retrieved from
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16596797>
- Guariguata, L., Nolan, T., Beagley, J., Linnenkamp, U., & Jacqmain, O. (Eds.). (2013). *ATLAS de la DIABETES de la FID* (6th ed.). Retrieved from www.idf.org/diabetesatlas
- Gzielo, K., Kielbinski, M., Ploszaj, J., Janeczko, K., Gazdzinski, S. P., & Setkowicz, Z. (2016). Long-Term Consumption of High-Fat Diet in Rats: Effects on Microglial and Astrocytic

- Morphology and Neuronal Nitric Oxide Synthase Expression. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 1–7. <http://doi.org/10.1007/s10571-016-0417-5>
- Harjutsalo, V., Forsblom, C., & Groop, P.-H. (2011). Time trends in mortality in patients with type 1 diabetes: nationwide population based cohort study. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 343, d5364. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3169676&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Harris, M. I. (1991). Hypercholesterolemia in diabetes and glucose intolerance in the U.S. population. *Diabetes Care*, 14(5), 366–74. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2060448>
- Hassel, B., & Dingledine, R. (2012). *Basic Neurochemistry. Basic Neurochemistry*. Elsevier. <http://doi.org/10.1016/B978-0-12-374947-5.00017-1>
- Hassing, L. B., Johansson, B., Nilsson, S. E., Berg, S., Pedersen, N. L., Gatz, M., & McClearn, G. (2002). Diabetes mellitus is a risk factor for vascular dementia, but not for Alzheimer's disease: a population-based study of the oldest old. *International Psychogeriatrics*, 14(3), 239–48. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12475085>
- Havrankova, J., Roth, J., & Brownstein, M. (1978). Insulin receptors are widely distributed in the central nervous system of the rat. *Nature*, 272(5656), 827–9. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/205798>
- Havrankova, J., Schmechel, D., Roth, J., & Brownstein, M. (1978). Identification of insulin in rat brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 75(11), 5737–41. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=393044&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Hayashi, H. (2011). Lipid metabolism and glial lipoproteins in the central nervous system. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 34(4), 453–61. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21467629>
- Heras-Sandoval, D., Ferrera, P., & Arias, C. (2012). Amyloid- β protein modulates insulin signaling in presynaptic terminals. *Neurochemical Research*, 37(9), 1879–85. <http://doi.org/10.1007/s11064-012-0800-7>

- Hiriart, M., Sanchez-Soto, C., Diaz-Garcia, C. M., Castanares, D. T., Avitia, M., Velasco, M., ... Fuentes-Silva, D. (2014). Hyperinsulinemia is Associated with Increased Soluble Insulin Receptors Release from Hepatocytes. *Frontiers in Endocrinology*, 5(June), 95. <http://doi.org/10.3389/fendo.2014.00095>
- Hiriart, M., Velasco, M., Larqué, C., & Diaz-Garcia, C. M. (2014). Metabolic syndrome and ionic channels in pancreatic beta cells. *Vitamins and Hormones*, 95, 87–114. <http://doi.org/10.1016/B978-0-12-800174-5.00004-1>
- Ho, L., Qin, W., Pompl, P. N., Xiang, Z., Wang, J., Zhao, Z., ... Pasinetti, G. M. (2004). Diet-induced insulin resistance promotes amyloidosis in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *FASEB Journal : Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 18(7), 902–4. <http://doi.org/10.1096/fj.03-0978fje>
- Hoyer, S., & Nitsch, R. (1989). Cerebral excess release of neurotransmitter amino acids subsequent to reduced cerebral glucose metabolism in early-onset dementia of Alzheimer type. *Journal of Neural Transmission*, 75(3), 227–232. <http://doi.org/10.1007/BF01258634>
- Huang, H.-M., Ou, H.-C., Xu, H., Chen, H.-L., Fowler, C., & Gibson, G. E. (2003). Inhibition of alpha-ketoglutarate dehydrogenase complex promotes cytochrome c release from mitochondria, caspase-3 activation, and necrotic cell death. *Journal of Neuroscience Research*, 74(2), 309–17. <http://doi.org/10.1002/jnr.10756>
- Hubbard, S. R. (1999). Structural analysis of receptor tyrosine kinases. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 71(3–4), 343–58. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10354703>
- 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), 474–81. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14747300>
- Jenkins, A. J., Best, J. D., Klein, R. L., & Lyons, T. J. "Lipoproteins, glycoxidation and diabetic angiopathy". *Diabetes/metabolism Research and Reviews*, 20(5), 349–68. <http://doi.org/10.1002/dmrr.491>
- Jiang, D., Li, X., Williams, R., Patel, S., Men, L., Wang, Y., & Zhou, F. (2009).

- Ternary complexes of iron, amyloid-beta, and nitrotriacetic acid: binding affinities, redox properties, and relevance to iron-induced oxidative stress in Alzheimer's disease. *Biochemistry*, 48(33), 7939–47. <http://doi.org/10.1021/bi900907a>
- Johansen, J. S., Harris, A. K., Rychly, D. J., & Ergul, A. (2005). Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. *Cardiovascular Diabetology*, 4, 5. <http://doi.org/10.1186/1475-2840-4-5>
- Jomova, K., & Valko, M. (2011). Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology*, 283(2–3), 65–87. <http://doi.org/10.1016/j.tox.2011.03.001>
- Jurdak, N., & Kanarek, R. B. (2009). Sucrose-induced obesity impairs novel object recognition learning in young rats. *Physiology & Behavior*, 96(1), 1–5. <http://doi.org/10.1016/j.physbeh.2008.07.023>
- Kandel, E. R. (2012). The molecular biology of memory: cAMP, PKA, CRE, CREB-1, CREB-2, and CPEB. *Molecular Brain*, 5(1), 14. <http://doi.org/10.1186/1756-6606-5-14>
- Kandel, E. R., Schwartz, J. H., Jessell, T. M., Siegelbaum, S. A., & Hudspeth, A. J. (2014). *Principles of Neural Science, Fifth Edition. Neurology* (Vol. 3). <http://doi.org/10.1036/0838577016>
- Kanoski, S. E., & Davidson, T. L. (2010). Different patterns of memory impairments accompany short- and longer-term maintenance on a high-energy diet. *Journal of Experimental Psychology. Animal Behavior Processes*, 36(2), 313–9. <http://doi.org/10.1037/a0017228>
- Kanoski, S. E., Zhang, Y., Zheng, W., & Davidson, T. L. (2010). The effects of a high-energy diet on hippocampal function and blood-brain barrier integrity in the rat. *Journal of Alzheimer's Disease*, 21(1), 207–219. <http://doi.org/10.3233/JAD-2010-091414>
- Karimi, S. A., Komaki, A., Salehi, I., Sarihi, A., & Shahidi, S. (2015). Role of Group II Metabotropic Glutamate Receptors (mGluR2/3) Blockade on Long-Term Potentiation in the Dentate Gyrus Region of Hippocampus in Rats Fed with High-Fat Diet. *Neurochemical Research*, 40(4), 811–817. <http://doi.org/10.1007/s11064-015-1531-3>
- Karimi, S. A., Salehi, I., Komaki, A., Sarihi, A., Zarei, M., & Shahidi, S. (2013).

- Effect of high-fat diet and antioxidants on hippocampal long-term potentiation in rats: an in vivo study. *Brain Research*, 1539, 1–6.
<http://doi.org/10.1016/j.brainres.2013.09.029>
- Kim, B., Sullivan, K. A., Backus, C., & Feldman, E. L. (2011). Cortical neurons develop insulin resistance and blunted Akt signaling: a potential mechanism contributing to enhanced ischemic injury in diabetes. *Antioxidants & Redox Signaling*, 14(10), 1829–39.
<http://doi.org/10.1089/ars.2010.3816>
- Kuriyama, M., Hokezu, Y., Togo, S., Nagata, K., Takahashi, K., Igakura, T., & Osame, M. Serum lipids, lipoproteins and apolipoproteins in patients with senile dementia. *Nihon Ronen Igakkai Zasshi. Japanese Journal of Geriatrics*, 29(7–8), 559–64.
 Retrieved from
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1434052>
- Ladu, M. J., Reardon, C., Van Eldik, L., Fagan, A. M., Bu, G., Holtzman, D., & Getz, G. S. (2000). Lipoproteins in the central nervous system. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 903, 167–75. Retrieved from
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10818504>
- Larqu e, C., Velasco, M., Navarro-Tableros, V., Duhne, M., Aguirre, J., Guti errez-Reyes, G., ... Hiriart, M. (2011). Early endocrine and molecular changes in metabolic syndrome models. *IUBMB Life*, 63(10), 831–9.
<http://doi.org/10.1002/iub.544>
- Lee, C.-C., Huang, C.-C., & Hsu, K.-S. (2011). Insulin promotes dendritic spine and synapse formation by the PI3K/Akt/mTOR and Rac1 signaling pathways. *Neuropharmacology*, 61(4), 867–79.
<http://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2011.06.003>
- Li, Z.-G., Zhang, W., & Sima, A. A. F. (2005). The role of impaired insulin/IGF action in primary diabetic encephalopathy. *Brain Research*, 1037(1–2), 12–24.
<http://doi.org/10.1016/j.brainres.2004.11.063>
- Liu, Y., Liu, F., Grundke-Iqbal, I., Iqbal, K., & Gong, C.-X. (2011). Deficient brain insulin signalling pathway in Alzheimer’s disease and diabetes. *The Journal of Pathology*, 225(1), 54–62.
<http://doi.org/10.1002/path.2912>
- Lovestone, S. ., & Reynolds, C. H. (1997). The phosphorylation of tau: a critical stage in neurodevelopment and neurodegenerative processes.

- Neuroscience*, 78(2), 309–324.
[http://doi.org/10.1016/S0306-4522\(96\)00577-5](http://doi.org/10.1016/S0306-4522(96)00577-5)
- Luchsinger, J. A. (2012). Type 2 diabetes and cognitive impairment: linking mechanisms. *Journal of Alzheimer's Disease : JAD*, 30 Suppl 2(s2), S185–98. <http://doi.org/10.3233/JAD-2012-111433>
- Lütjohann, D. (2006). Cholesterol metabolism in the brain: importance of 24S-hydroxylation. *Acta Neurologica Scandinavica. Supplementum*, 185, 33–42. <http://doi.org/10.1111/j.1600-0404.2006.00683.x>
- Malinouski, M., Zhou, Y., Belousov, V. V., Hatfield, D. L., & Gladyshev, V. N. (2011). Hydrogen peroxide probes directed to different cellular compartments. *PloS One*, 6(1), e14564.
<http://doi.org/10.1371/journal.pone.0014564>
- McKenna, M. C., Dienel, G. A., Sonnewald, U., Waagepetersen, H. S., & Schousboe, A. (2012). *Basic Neurochemistry. Basic Neurochemistry*. Elsevier.
<http://doi.org/10.1016/B978-0-12-374947-5.00011-0>
- McNay, E. C., Ong, C. T., McCrimmon, R. J., Cresswell, J., Bogan, J. S., & Sherwin, R. S. (2010). Hippocampal memory processes are modulated by insulin and high-fat-induced insulin resistance. *Neurobiology of Learning and Memory*, 93(4), 546–53.
<http://doi.org/10.1016/j.nlm.2010.02.002>
- Méndez-Sánchez, N., & Uribe-Esquivel, M. (2013). *Obesidad: conceptos clínicos y terapéuticos*. México: McGraw-Hill.
- Micheau, J., & Riedel, G. (1999). Protein kinases: which one is the memory molecule? *Cellular and Molecular Life Sciences : CMLS*, 55(4), 534–48.
<http://doi.org/10.1007/s000180050312>
- Milner, B., Squire, L. R., & Kandel, E. R. (1998). Cognitive Neuroscience and the Study of Memory. *Neuron*, 20(3), 445–468.
[http://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80987-3](http://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80987-3)
- Molteni, R., Barnard, R. ., Ying, Z., Roberts, C. ., & 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.
[http://doi.org/10.1016/S0306-4522\(02\)00123-9](http://doi.org/10.1016/S0306-4522(02)00123-9)
- Moreira, P. I. (2013). High-sugar diets, type 2 diabetes and Alzheimer's disease.

- Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 16(4), 440–5.
<http://doi.org/10.1097/MCO.0b013e328361c7d1>
- Moreira, P. I., Santos, M. S., & Oliveira, C. R. (2007). Alzheimer's disease: a lesson from mitochondrial dysfunction. *Antioxidants & Redox Signaling*, 9(10), 1621–30.
<http://doi.org/10.1089/ars.2007.1703>
- Morris, R. G., Garrud, P., Rawlins, J. N., & O'Keefe, J. (1982). Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature*, 297(5868), 681–3. Retrieved from
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7088155>
- Muckle, T. J., & Roy, J. R. (1985). High-density lipoprotein cholesterol in differential diagnosis of senile dementia. *Lancet (London, England)*, 1(8439), 1191–3. Retrieved from
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2860390>
- Mushtaq, G., Khan, J. A., Kumosani, T. A., & Kamal, M. A. (2015). Alzheimer's disease and type 2 diabetes via chronic inflammatory mechanisms. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22(1), 4–13.
<http://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.05.003>
- Muyllaert, D., Kremer, A., Jaworski, T., Borghgraef, P., Devijver, H., Croes, S., ... Van Leuven, F. (2008). Glycogen synthase kinase-3beta, or a link between amyloid and tau pathology? *Genes, Brain, and Behavior*, 7 Suppl 1, 57–66. <http://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2007.00376.x>
- Nerad, L., Ramírez-Amaya, V., Ormsby, C. E., & Bermúdez-Rattoni, F. (1996). Differential effects of anterior and posterior insular cortex lesions on the acquisition of conditioned taste aversion and spatial learning. *Neurobiology of Learning and Memory*, 66(1), 44–50. Retrieved from
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8661250>
- Peila, R., Rodriguez, B. L., & Launer, L. J. (2002). Type 2 diabetes, APOE gene, and the risk for dementia and related pathologies: The Honolulu-Asia Aging Study. *Diabetes*, 51(4), 1256–62. Retrieved from
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11916953>
- Perry, J. R. B., & Frayling, T. M. (2008). New gene variants alter type 2 diabetes risk predominantly through reduced beta-cell function. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 11(4), 371–7.

- <http://doi.org/10.1097/MCO.0b013e32830349a1>
- Petrov, D., Pedrós, I., Artiach, G., Sureda, F. X., Barroso, E., Pallàs, M., ... Camins, A. (2015). High-Fat Diet-Induced Deregulation Of Hippocampal Insulin Signaling And Mitochondrial Homeostasis Deficiencies Contribute To Alzheimer Disease Pathology In Rodents. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1852(9), 1687–1699. <http://doi.org/10.1016/j.bbadis.2015.05.004>
- 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. <http://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2009.11.010>
- Plum, L., Schubert, M., & Brüning, J. C. (2005). The role of insulin receptor signaling in the brain. *Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM*, 16(2), 59–65. <http://doi.org/10.1016/j.tem.2005.01.008>
- Potau, N., Escofet, M. A., & Martinez, M. C. (1991). Ontogenesis of insulin receptors in human cerebral cortex. *Journal of Endocrinological Investigation*, 14(1), 53–8. <http://doi.org/10.1007/BF03350263>
- Praticò, D., & Delanty, N. (2000). Oxidative injury in diseases of the central nervous system: focus on Alzheimer's disease. *The American Journal of Medicine*, 109(7), 577–85. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11063960>
- Prentki, M., & Nolan, C. J. (2006). Islet b cell failure in type 2 diabetes. *The Journal of Clinical Investigation*, 116(7), 1802–1812. <http://doi.org/10.1172/JCI29103.1802>
- Profenno, L. A., Porsteinsson, A. P., & Faraone, S. V. (2010). Meta-analysis of Alzheimer's disease risk with obesity, diabetes, and related disorders. *Biological Psychiatry*, 67(6), 505–12. <http://doi.org/10.1016/j.biopsych.2009.02.013>
- Qiu, W. Q., Walsh, D. M., Ye, Z., Vekrellis, K., Zhang, J., Podlisny, M. B., ... Selkoe, D. J. (1998). Insulin-degrading enzyme regulates extracellular levels of amyloid beta-protein by degradation. *The Journal of Biological Chemistry*, 273(49), 32730–8. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>

9830016

- Rask-Madsen, C., & Kahn, C. R. (2012). Tissue-specific insulin signaling, metabolic syndrome, and cardiovascular disease. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 32(9), 2052–9. <http://doi.org/10.1161/ATVBAHA.111.241919>
- Readnower, R. D., Sauerbeck, A. D., & Sullivan, P. G. (2011). Mitochondria, Amyloid β , and Alzheimer's Disease. *International Journal of Alzheimer's Disease*, 2011, 104545. <http://doi.org/10.4061/2011/104545>
- Ribeiro, L. C., Quincozes-Santos, A., Leite, M. C., Abib, R. T., Kleinkauf-Rocha, J., Biasibetti, R., ... Gottfried, C. (2009). Caloric restriction increases hippocampal glutamate uptake and glutamine synthetase activity in Wistar rats. *Neuroscience Research*, 64(3), 330–4. <http://doi.org/10.1016/j.neures.2009.04.004>
- Rolo, A. P., & Palmeira, C. M. (2006). Diabetes and mitochondrial function: role of hyperglycemia and oxidative stress. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 212(2), 167–78. <http://doi.org/10.1016/j.taap.2006.01.003>
- Rovee-Collier, C. K., Hayne, H., & Colombo, M. (2001). *The Development of Implicit and Explicit Memory*. John Benjamins Publishing. Retrieved from <https://books.google.com/books?id=PNYFjpGMy14C&pgis=1>
- Sajan, M., Hansen, B., Ivey, R., Sajan, J., Ari, C., Song, S., ... Farese, R. V. (2016). Brain Insulin Signaling Is Increased in Insulin-Resistant States and Decreases in FOXOs and PGC-1 α and Increases in A β 1–40/42 and Phospho-Tau May Abet Alzheimer Development. *Diabetes*, 65(7), 1892–1903. <http://doi.org/10.2337/db15-1428>
- Salinas, R. M., Hiriart, M., Acosta, I., Sosa, A. L., & Prince, M. J. (2016). Type 2 diabetes mellitus as a risk factor for dementia in a Mexican population. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 30(7), 1234–1239. <http://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2016.06.005>
- Saltiel, A. R., & Kahn, C. R. (2001). Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*, 414(6865), 799–806. <http://doi.org/10.1038/414799a>
- Sara, V. R., Hall, K., Von Holtz, H., Humbel, R., Sjögren, B., & Wetterberg,

- L. (1982). Evidence for the presence of specific receptors for insulin-like growth factors 1 (IGF-1) and 2 (IGF-2) and insulin throughout the adult human brain. *Neuroscience Letters*, 34(1), 39–44. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6298669>
- Sasaki, N., Fukatsu, R., Tsuzuki, K., Hayashi, Y., Yoshida, T., Fujii, N., ... Makita, Z. (1998). Advanced glycation end products in Alzheimer's disease and other neurodegenerative diseases. *The American Journal of Pathology*, 153(4), 1149–55. [http://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)65659-3](http://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)65659-3)
- Sasaki, N., Toki, S., Chowei, H., Saito, T., Nakano, N., Hayashi, Y., ... Makita, Z. (2001). Immunohistochemical distribution of the receptor for advanced glycation end products in neurons and astrocytes in Alzheimer's disease. *Brain Research*, 888(2), 256–262. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11150482>
- Sauter, A., Goldstein, M., Engel, J., & Ueta, K. (1983). Effect of insulin on central catecholamines. *Brain Research*, 260(2), 330–333. [http://doi.org/10.1016/0006-8993\(83\)90691-1](http://doi.org/10.1016/0006-8993(83)90691-1)
- Scheepers, A., Joost, H.-G., & Schürmann, A. The glucose transporter families SGLT and GLUT: molecular basis of normal and aberrant function. *JPEN. Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 28(5), 364–71. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15449578>
- Schrijvers, E., Witteman, J. C. M., Sijbrands, E. J. G., Hofman, A., Koudstaal, P. J., & Breteler, M. M. B. (2009). Insulin metabolism and the risk of Alzheimer's disease: The Rotterdam Study. *Alzheimer's & Dementia*, 5(4), P383–P384. <http://doi.org/10.1016/j.jalz.2009.04.1109>
- Schulingkamp, R. J., Pagano, T. C., Hung, D., & Raffa, R. B. (2000). Insulin receptors and insulin action in the brain: review and clinical implications. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 24(8), 855–72. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11118610>
- Schwartz, M. W., Figlewicz, D. P., Baskin, D. G., Woods, S. C., & Porte, D. (1992). Insulin in the brain: a hormonal regulator of energy balance.

- Endocrine Reviews*, 13(3), 387–414.
<http://doi.org/10.1210/edrv-13-3-387>
- Schwartz, M. W., Sipols, A., Kahn, S. E., Lattemann, D. F., Taborsky, G. J. . J., Bergman, R. N., ... Porte, D. . J. (1990). Kinetics and specificity of insulin uptake from plasma into cerebrospinal fluid. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 259(3), E378-383. Retrieved from http://ajpendo.physiology.org/content/259/3/E378?ijkey=1284d2834c9085d5289e8b099952916a857d0e3e&keytype=tf_ipsecsha
- Scoville, W. B., & Milner, B. (1957). Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 20(1), 11–21. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=497229&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Sharma, S., Prasanthi R P, J., Schommer, E., Feist, G., & Ghribi, O. (2008). Hypercholesterolemia-induced Abeta accumulation in rabbit brain is associated with alteration in IGF-1 signaling. *Neurobiology of Disease*, 32(3), 426–32.
<http://doi.org/10.1016/j.nbd.2008.08.002>
- Simpson, D. (2005). Phrenology and the neurosciences: contributions of F. J. Gall and J. G. Spurzheim. *ANZ Journal of Surgery*, 75(6), 475–82.
<http://doi.org/10.1111/j.1445-2197.2005.03426.x>
- Sims-Robinson, C., Kim, B., & Feldman, E. L. (2015). *Neurobiology of Brain Disorders. Neurobiology of Brain Disorders*. Elsevier.
<http://doi.org/10.1016/B978-0-12-398270-4.00013-6>
- Sims-Robinson, C., Kim, B., Rosko, A., & Feldman, E. L. (2010). How does diabetes accelerate Alzheimer disease pathology? *Nature Reviews. Neurology*, 6(10), 551–9.
<http://doi.org/10.1038/nrneurol.2010.130>
- Skeberdis, V. A., Lan, J., Zheng, X., Zukin, R. S., & Bennett, M. V. (2001). Insulin promotes rapid delivery of N-methyl-D- aspartate receptors to the cell surface by exocytosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(6), 3561–6.
<http://doi.org/10.1073/pnas.051634698>
- Small, G. W., Ercoli, L. M., Silverman, D. H., Huang, S. C., Komo, S., Bookheimer, S. Y., ... Phelps, M. E.

- (2000). Cerebral metabolic and cognitive decline in persons at genetic risk for Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(11), 6037–42. <http://doi.org/10.1073/pnas.090106797>
- Steffens, A. B., Scheurink, A. J., Porte, D., & Woods, S. C. (1988). Penetration of peripheral glucose and insulin into cerebrospinal fluid in rats. *The American Journal of Physiology*, 255(2 Pt 2), R200-4. Retrieved from <http://ajpregu.physiology.org/content/255/2/R200.abstract>
- 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), 1085–8. <http://doi.org/10.1002/hipo.20470>
- Sultana, R., & Butterfield, D. A. (2011). Identification of the oxidative stress proteome in the brain. *Free Radical Biology & Medicine*, 50(4), 487–94. <http://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.11.021>
- Takahashi, H., Takata, F., Matsumoto, J., Machida, T., Yamauchi, A., Dohgu, S., & Kataoka, Y. (2015). Brain pericyte-derived soluble factors enhance insulin sensitivity in GT1-7 hypothalamic neurons. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 457(4), 532–537. <http://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.01.016>
- Takashima, A. (2006). GSK-3 is essential in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease : JAD*, 9(3 Suppl), 309–17. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16914869>
- Takuma, K., Fang, F., Zhang, W., Yan, S., Fukuzaki, E., Du, H., ... Yan, S. S. (2009). RAGE-mediated signaling contributes to intraneuronal transport of amyloid-beta and neuronal dysfunction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(47), 20021–6. <http://doi.org/10.1073/pnas.0905686106>
- Taskinen, M.-R. (2002). Diabetic dyslipidemia. *Atherosclerosis Supplements*, 3(1), 47–51. [http://doi.org/10.1016/S1567-5688\(01\)00006-X](http://doi.org/10.1016/S1567-5688(01)00006-X)
- Thies, W., & Bleiler, L. (2012). 2012

- Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & Dementia : The Journal of the Alzheimer's Association*, 8(2), 131–68.
<http://doi.org/10.1016/j.jalz.2012.02.001>
- Todd, J. A. (2010). Etiology of type 1 diabetes. *Immunity*, 32(4), 457–67.
<http://doi.org/10.1016/j.immuni.2010.04.001>
- Toye, A. A., Lippiat, J. D., Proks, P., Shimomura, K., Bentley, L., Hugill, A., ... Cox, R. D. (2005). A genetic and physiological study of impaired glucose homeostasis control in C57BL/6J mice. *Diabetologia*, 48(4), 675–86.
<http://doi.org/10.1007/s00125-005-1680-z>
- Treviño, S., Aguilar-Alonso, P., Flores Hernandez, J. A., Brambila, E., Guevara, J., Flores, G., ... Diaz, A. (2015). A high calorie diet causes memory loss, metabolic syndrome and oxidative stress into hippocampus and temporal cortex of rats. *Synapse*, 69(9), 421–433.
<http://doi.org/10.1002/syn.21832>
- Tulving, E. (2000). Concepts of memory. *The Oxford Handbook of Memory*.
<http://doi.org/DOI10.1136/jnnp.2010.217554.1>
- Underwood, E. L., & Thompson, L. T. (2016). A High-Fat Diet Causes Impairment in Hippocampal Memory and Sex-Dependent Alterations in Peripheral Metabolism. *Neural Plasticity*, 2016, 7385314.
<http://doi.org/10.1155/2016/7385314>
- Valla, J., Gonzalez-Lima, F., & Reiman, E. M. (2008). FDG autoradiography reveals developmental and pathological effects of mutant amyloid in PDAPP transgenic mice. *International Journal of Developmental Neuroscience : The Official Journal of the International Society for Developmental Neuroscience*, 26(3–4), 253–8.
<http://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2008.02.003>
- Valladolid-Acebes, I., Merino, B., Principato, A., Fole, A., Barbas, C., Lorenzo, M. P., ... Cano, V. (2012). High-fat diets induce changes in hippocampal glutamate metabolism and neurotransmission. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 302(4), E396-402.
<http://doi.org/10.1152/ajpendo.00343.2011>
- Van Der Heide, L. P., Kamal, A., Artola, A., Gispen, W. H., & Ramakers, G. M. J. (2005). Insulin modulates hippocampal

- activity-dependent synaptic plasticity in a N-methyl-d-aspartate receptor and phosphatidylinositol-3-kinase-dependent manner. *Journal of Neurochemistry*, 94(4), 1158–66. <http://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2005.03269.x>
- Velasco, M., Larqué, C., Gutiérrez-Reyes, G., Arredondo, R., Sanchez-Soto, C., & Hiriart, M. (2012). Metabolic syndrome induces changes in KATP-channels and calcium currents in pancreatic β -cells. *Islets*, 4(4), 302–11. <http://doi.org/10.4161/isl.21374>
- Viña, J., Lloret, A., Giraldo, E., Badia, M. C., & Alonso, M. D. (2011). Antioxidant pathways in Alzheimer's disease: possibilities of intervention. *Current Pharmaceutical Design*, 17(35), 3861–4. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21933145>
- Wan, Q., Xiong, Z. G., Man, H. Y., Ackerley, C. A., Braunton, J., Lu, W. Y., ... Wang, Y. T. (1997). Recruitment of functional GABAA receptors to postsynaptic domains by insulin, *388*(6643), 686–690.
- Werner, H., & LeRoith, D. (2014). Insulin and insulin-like growth factor receptors in the brain: Physiological and pathological aspects. *European Neuropsychopharmacology*, 24(12), 1947–1953. <http://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2014.01.020>
- White, M. F., & Yenush, L. (1998). The IRS-signaling system: a network of docking proteins that mediate insulin and cytokine action. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 228, 179–208. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9401207>
- Wieringa, G. E., Burlinson, S., Rafferty, J. A., Gowland, E., & Burns, A. (1997). Apolipoprotein E genotypes and serum lipid levels in Alzheimer's disease and multi-infarct dementia. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 12(3), 359–62. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9152721>
- Xie, L., Helmerhorst, E., Taddei, K., Plewright, B., Van Bronswijk, W., & Martins, R. (2002). Alzheimer's beta-amyloid peptides compete for insulin binding to the insulin receptor. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 22(10), RC221. <http://doi.org/20026383>
- Xu, W. L., Qiu, C. X., Wahlin, A., Winblad, B., & Fratiglioni, L. (2004). Diabetes

- mellitus and risk of dementia in the Kungsholmen project: A 6-year follow-up study. *Neurology*, 63(7), 1181–1186.
<http://doi.org/10.1212/01.WNL.0000140291.86406.D1>
- Yaffe, K. (2007). Metabolic syndrome and cognitive decline. *Current Alzheimer Research*, 4(2), 123–6. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17430234>
- Yamada-Goto, N., Katsuura, G., Ochi, Y., Ebihara, K., Kusakabe, T., Hosoda, K., & Nakao, K. (2012). Impairment of fear-conditioning responses and changes of brain neurotrophic factors in diet-induced obese mice. *Journal of Neuroendocrinology*, 24(8), 1120–5. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2012.02327.x>
- Yamagishi, S. (2011). Role of advanced glycation end products (AGEs) in osteoporosis in diabetes. *Current Drug Targets*, 12(14), 2096–102. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22023404>
- Yan, S. Du, Bierhaus, A., Nawroth, P. P., & Stern, D. M. (2009). RAGE and Alzheimer's disease: a progression factor for amyloid-beta-induced cellular perturbation? *Journal of Alzheimer's Disease : JAD*, 16(4), 833–43. <http://doi.org/10.3233/JAD-2009-1030>
- Zaheer, S., Thangavel, R., Wu, Y., Khan, M. M., Kempuraj, D., & Zaheer, A. (2013). Enhanced expression of glia maturation factor correlates with glial activation in the brain of triple transgenic Alzheimer's disease mice. *Neurochemical Research*, 38(1), 218–25. <http://doi.org/10.1007/s11064-012-0913-z>
- Zhao, W.-Q., Chen, H., Quon, M. J., & Alkon, D. L. (2004a). Insulin and the insulin receptor in experimental models of learning and memory. *European Journal of Pharmacology*, 490(1–3), 71–81. <http://doi.org/10.1016/j.ejphar.2004.02.045>
- Zhao, W.-Q., Chen, H., Quon, M. J., & Alkon, D. L. (2004b). Insulin and the insulin receptor in experimental models of learning and memory. *European Journal of Pharmacology*, 490(1–3), 71–81. <http://doi.org/10.1016/j.ejphar.2004.02.045>
- Zhao, W.-Q., & Townsend, M. (2009). Insulin resistance and amyloidogenesis as common molecular foundation for type 2 diabetes and Alzheimer's

disease. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1792(5), 482–96.

<http://doi.org/10.1016/j.bbadis.2008.10.014>

Zimmet, P., Alberti, K. G., & Shaw, J.

(2001). Global and societal implications of the diabetes epidemic.

Nature, 414(6865), 782–7.

<http://doi.org/10.1038/414782a>

Apéndice

Microdiálisis en la corteza insular e hipocampo en ratas con SM

No se observaron cambios significativos en los niveles extracelulares de glutamato (Glu) en la corteza insular ($F_{(1,12)}=2.254$) $p= NS$) e hipocampo ($F_{(1,8)}=5.525$) $p= NS$) entre grupos. No hubo diferencia significativa entre el tiempo para ninguna de las dos estructuras analizadas; corteza insular ($F_{(4,12)}=2.638$) $p= NS$) e hipocampo ($F_{(4,8)}=2.5$) y tampoco se observó una interacción entre el grupo y el tiempo ni en la corteza insular ($F_{(4,12)}=6.113$) $p=NS$) ni en el hipocampo ($F_{(4,8)} =1.693$) $p=NS$) durante la adquisición (**Gráfica 10-A, 11-A, 12-A y 13-A**) en la tarea de reconocimiento de objeto en lugar. En la prueba, veinticuatro horas post adquisición, los cambios en los niveles extracelulares de Glu entre grupos no fueron significativos, tanto en corteza insular ($F_{(1,20)} = 0.515$) $p= NS$) como en el hipocampo ($F_{(1,8)} = 0.369$) $p= NS$). No hubo diferencia significativa entre el tiempo para ninguna de las dos estructuras analizadas; corteza insular ($F_{(4,20)}=0.441$) $p= NS$) e hipocampo ($F_{(4,8)}=0.855$) no hubo tampoco una interacción entre los grupos a lo largo del tiempo en la corteza insular ($F_{(4,20)} = 0.483$) $p= NS$) e hipocampo ($F_{(4,8)} = 0.56$) $p= NS$).

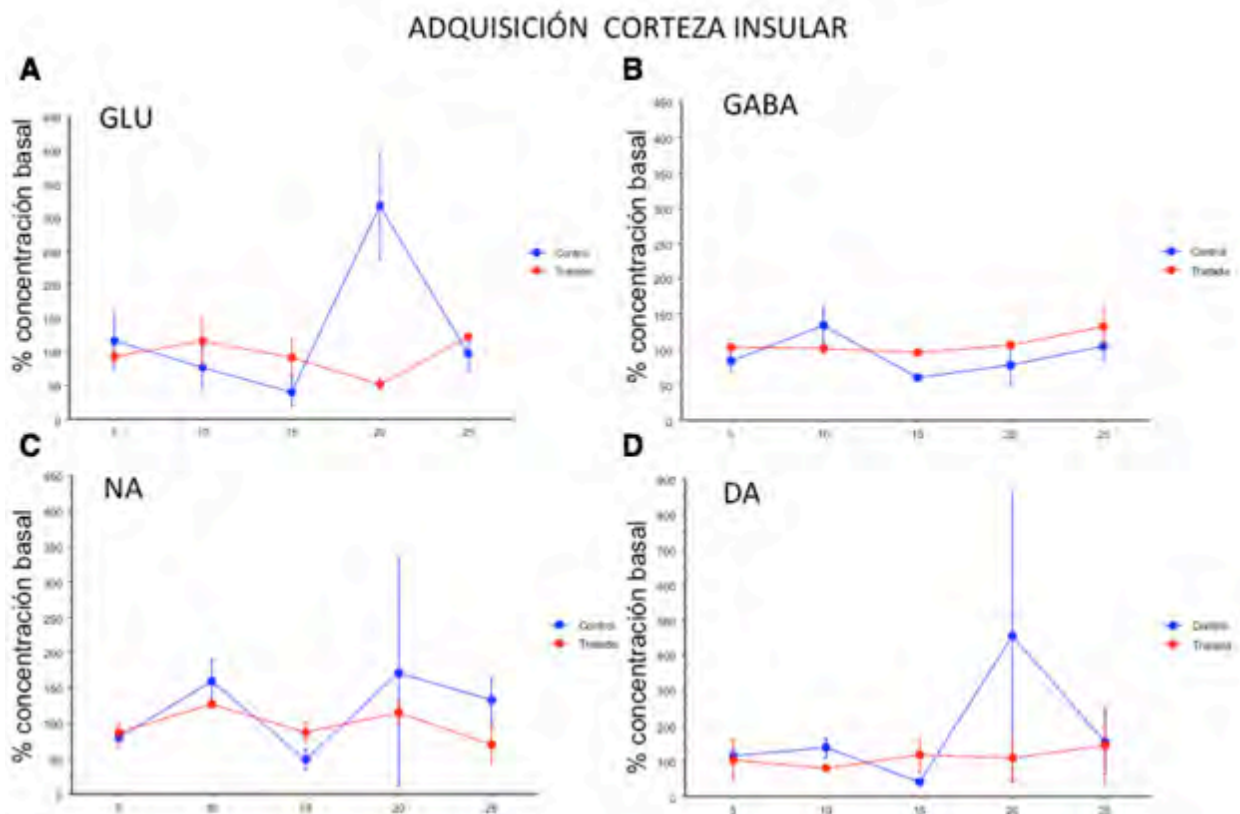
Para el neurotransmisor GABA los cambios extracelulares observados no fueron significativos en corteza insular ($F_{(1,12)}= 1.713$) $p= NS$) e hipocampo ($F_{(1,4)}= 0.126$) $p= NS$) entre grupos. No hubo diferencia significativa entre el tiempo para ninguna de las dos estructuras analizadas; corteza insular ($F_{(4,12)}=1.726$) $p= NS$) e hipocampo ($F_{(4,8)}=0.564$) y tampoco se observó una interacción entre el grupo y el tiempo ni en corteza insular ($F_{(4,12)} = 1.167$) $p=NS$) ni en hipocampo ($F_{(4,8)}= 0.074$) $p=NS$) durante la adquisición (**Gráfica 10-B, 11-B, 12-B y 13-B**). Los resultados en la prueba para GABA no mostraron significancia entre

grupos, tanto en corteza insular ($F_{(1,20)} = 0.087$) $p = \text{NS}$) como en el hipocampo ($F_{(1,8)} = 0.525$) $p = \text{NS}$). No hubo diferencia significativa entre el tiempo para ninguna de las dos estructuras analizadas; corteza insular ($F_{(4,8)} = 0.733$) $p = \text{NS}$) e hipocampo ($F_{(4,8)} = 1.006$), no hubo tampoco una interacción entre los grupos a lo largo del tiempo en la corteza insular ($F_{(4,20)} = 0.571$) $p = \text{NS}$) e hipocampo ($F_{(4,8)} = 0.683$) $p = \text{NS}$).

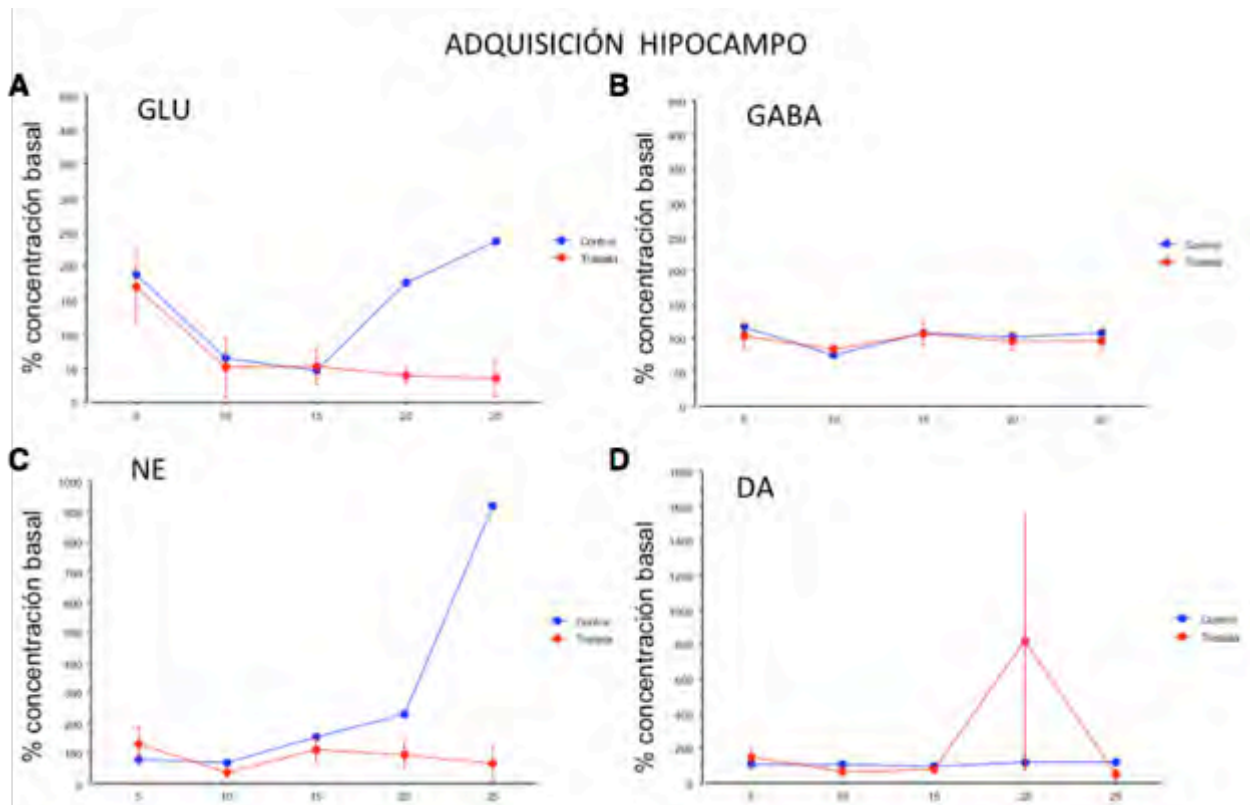
Los datos para el neurotransmisor NA indicaron que no hay diferencia significativa en corteza insular ($F_{(1,12)} = 0.461$) $p = \text{NS}$) e hipocampo ($F_{(1,8)} = 25.026$) $p = \text{NS}$) entre grupos. No hubo diferencia significativa entre el tiempo para ninguna de las dos estructuras analizadas; corteza insular ($F_{(4,12)} = 0.971$) $p = \text{NS}$) e hipocampo ($F_{(4,8)} = 13.998$), y tampoco se observó una interacción entre el grupo y el tiempo ni en corteza insular ($F_{(4,12)} = 0.357$) $p = \text{NS}$) ni en hipocampo ($F_{(4,8)} = 16.088$) $p = \text{NS}$) durante la adquisición (**Gráfica 10-C, 11-C, 12-C y 13-C**). Los resultados en la prueba para NA no muestran diferencia significativa entre grupos, tanto en corteza insular ($F_{(4,20)} = 0.15$) $p = \text{NS}$) como en el hipocampo ($F_{(1,8)} = 2.119$) $p = \text{NS}$). No hubo diferencia significativa entre el tiempo para ninguna de las dos estructuras analizadas; corteza insular ($F_{(4,12)} = 0.447$) $p = \text{NS}$) e hipocampo ($F_{(4,8)} = 13.998$), no hubo tampoco una interacción entre los grupos a lo largo del tiempo en la corteza insular ($F_{(4,20)} = 0.369$) $p = \text{NS}$) e hipocampo ($F_{(4,8)} = 1.005$) $p = \text{NS}$).

Por último, al analizar los resultados para el neurotransmisor DA no se observó diferencia significativa en corteza insular ($F_{(1,12)} = 0.765$) $p = \text{NS}$) e hipocampo ($F_{(1,8)} = 0.131$) $p = \text{NS}$) entre grupos. No hubo diferencia significativa entre el tiempo para ninguna de las dos estructuras analizadas; corteza insular ($F_{(4,20)} = 0.786$) $p = \text{NS}$) e hipocampo ($F_{(4,8)} = 0.201$) y tampoco se observó una interacción entre el grupo y el tiempo ni en corteza insular ($F_{(4,12)} = 0.776$) $p = \text{NS}$) ni en hipocampo ($F_{(4,8)} = 0.186$) $p = \text{NS}$) durante la adquisición

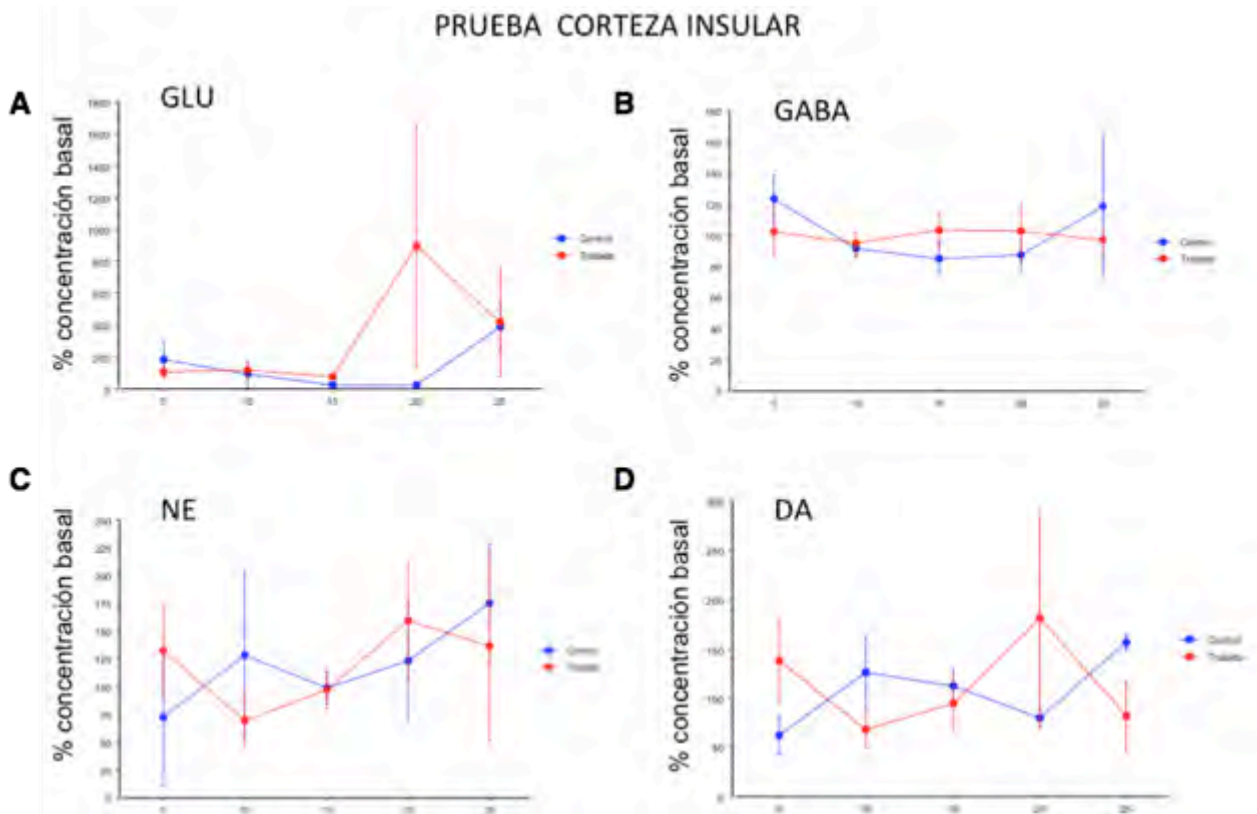
(Gráfica 10-D, 11-D, 12-D y 13-D). Los resultados en la prueba para NA no muestran diferencia significativa entre grupos, tanto en corteza insular ($F_{(1,20)} = 0.019$) $p = NS$) como en el hipocampo ($F_{(1,8)} = 0.622$) $p = NS$). No hubo diferencia significativa entre el tiempo para ninguna de las dos estructuras analizadas; corteza insular ($F_{(4,20)} = 0.019$) $p = NS$) e hipocampo ($F_{(4,8)} = 0.676$), no hubo tampoco una interacción entre los grupos a lo largo del tiempo en la corteza insular ($F_{(4,20)} = 0.844$) $p = NS$) e hipocampo ($F_{(4,8)} = 0.818$) $p = NS$).



Gráfica 10. Neuroquímica de la corteza insular durante la adquisición en la tarea conductual de localización de objeto en lugar. Cambios en los niveles de glutamato (A), GABA (B), norepinefrina (C) y dopamina (D) entre ratas control y con SM durante tarea de localización de objeto en lugar. Los valores en la gráficas (A-D) están expresadas como el promedio del % de concentración basal \pm SEM. Abreviaciones: glutamato (GLU), ácido γ aminobutírico (GABA), norepinefrina (NA) y dopamina (DA).

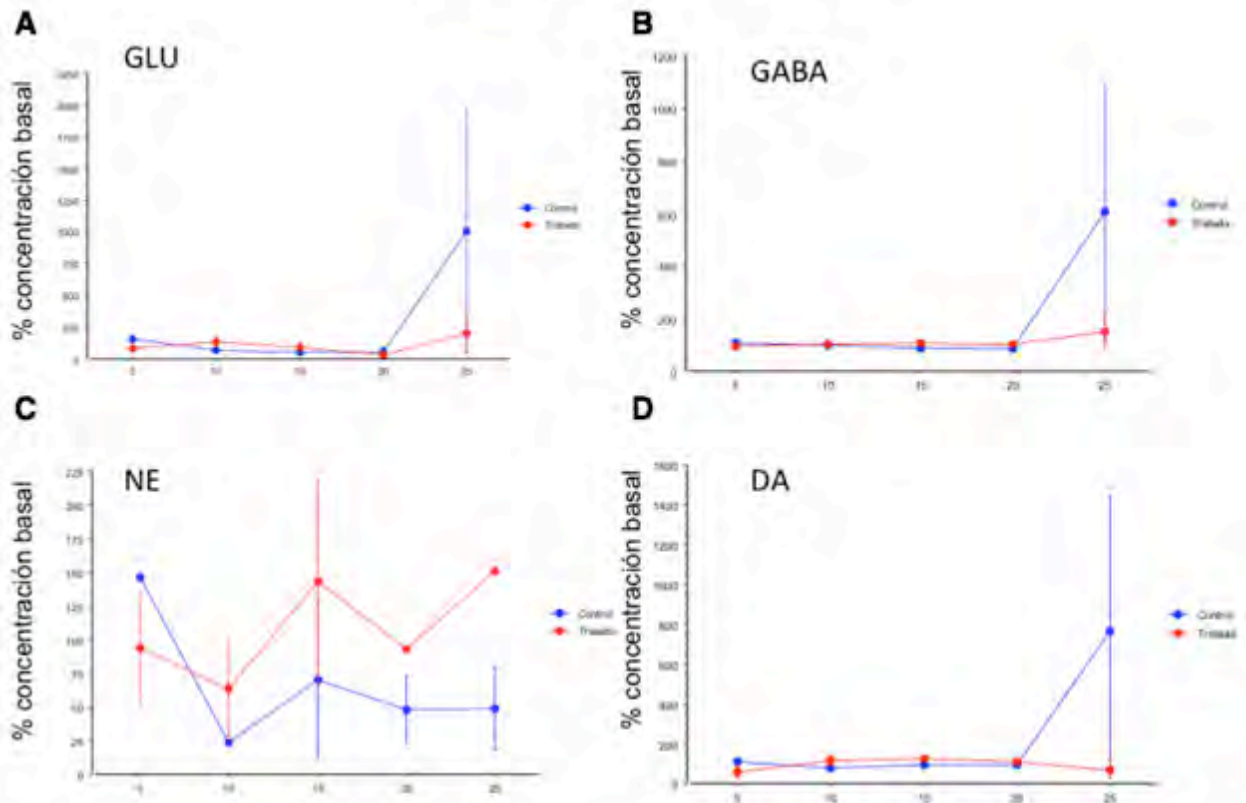


Gráfica 11. Neuroquímica del hipocampo durante la adquisición en la tarea conductual de localización de objeto en lugar. Cambios en los niveles de glutamato (A), GABA (B), norepinefrina (C) y dopamina (D) entre ratas control y con SM durante tarea de localización de objeto en lugar. Los valores en la gráficas (A-D) están expresadas como el promedio del % de concentración basal \pm SEM. Abreviaciones: glutamato (GLU), ácido γ aminobutírico (GABA), norepinefrina (NA) y dopamina (DA). Los valores de los puntos representan el promedio \pm SEM.



Gráfica 12. Neuroquímica de la corteza insular durante la prueba en la tarea conductual de localización de objeto en lugar. Cambios en los niveles de glutamato (A), GABA (B), norepinefrina (C) y dopamina (D) entre ratas control y con SM durante tarea de localización de objeto en lugar. Los valores en la gráficas (A-D) están expresadas como el promedio del % de concentración basal \pm SEM. Abreviaciones: glutamato (GLU), ácido γ aminobutírico (GABA), norepinefrina (NA) y dopamina (DA). Los valores de los puntos representan el promedio \pm SEM.

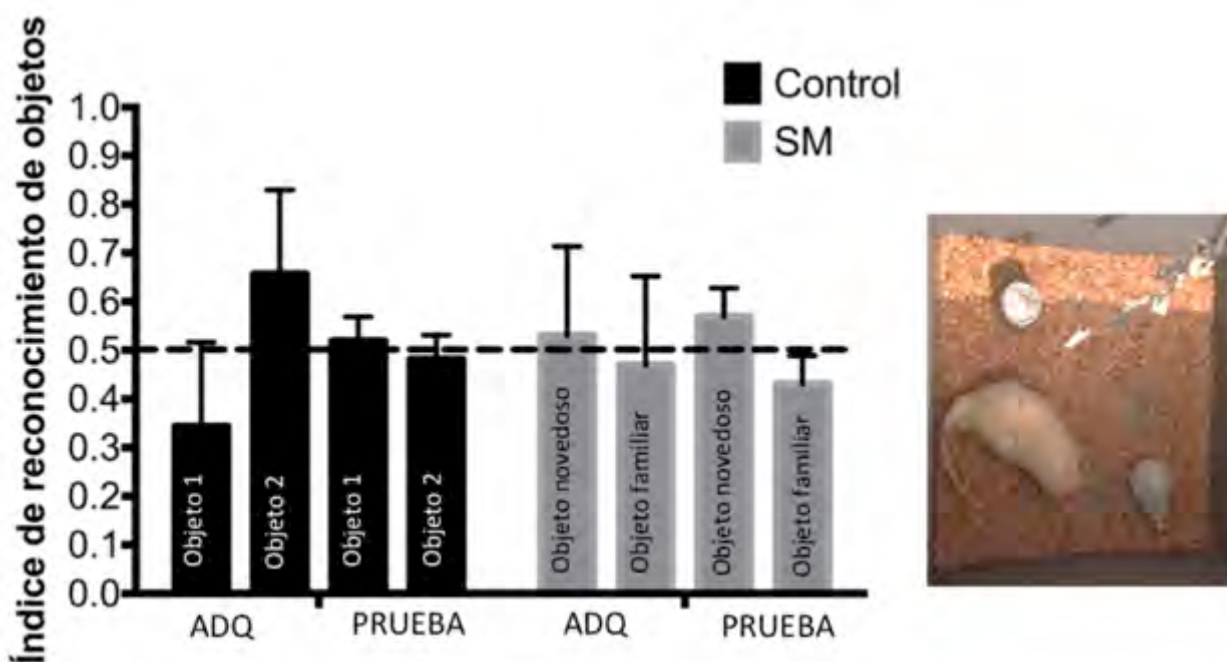
PRUEBA HIPOCAMPO



Gráfica 13. Neuroquímica del hipocampo durante la prueba en la tarea conductual de localización de objeto en lugar. Cambios en los niveles de glutamato (A), GABA (B), norepinefrina (C) y dopamina (D) entre ratas control y con SM durante tarea de localización de objeto en lugar. Los valores en la gráficas (A-D) están expresadas como el promedio del % de concentración basal \pm SEM. Abreviaciones: glutamato (GLU), ácido γ aminobutírico (GABA), norepinefrina (NA) y dopamina (DA) . Los valores de los puntos representan el promedio \pm SEM.

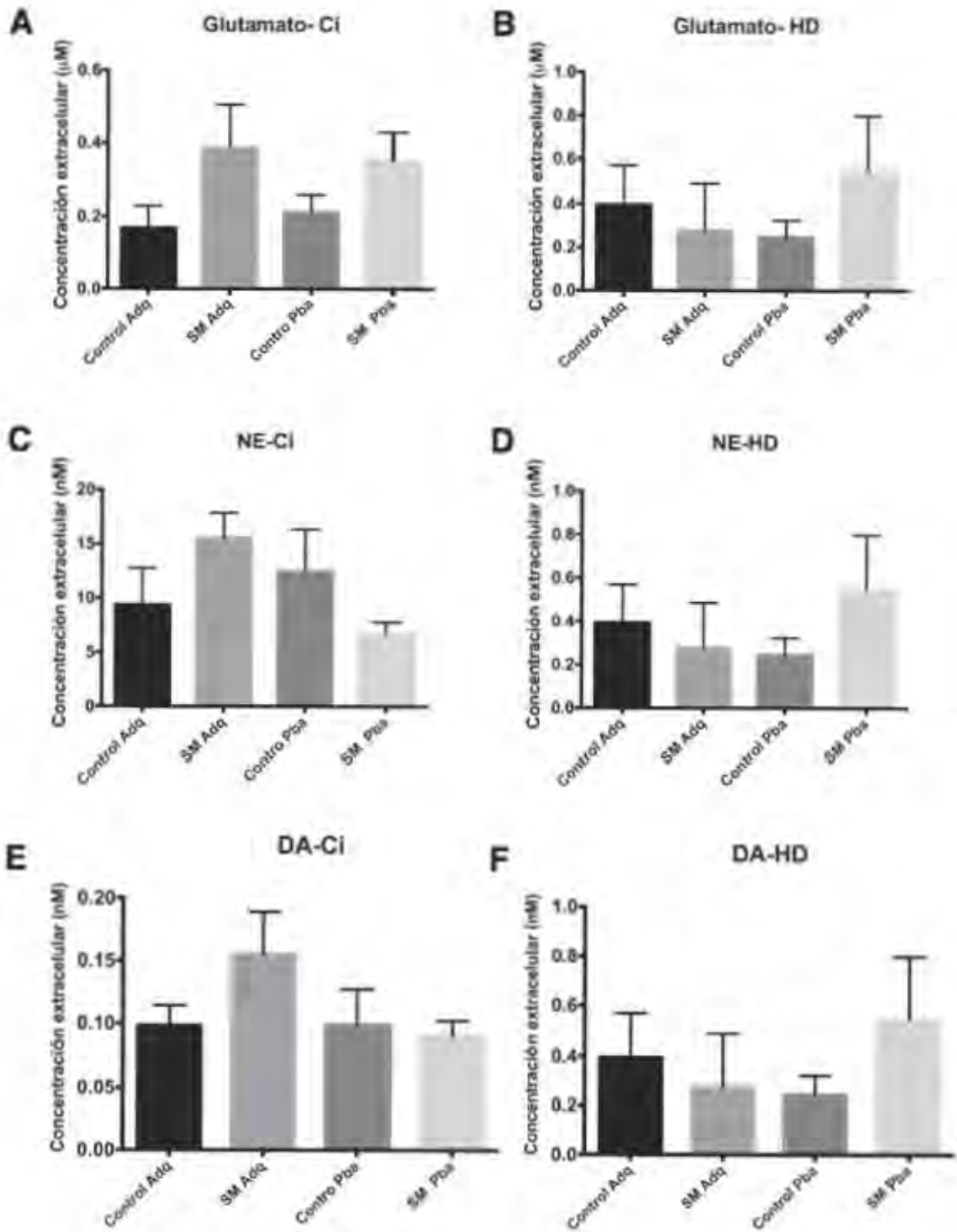
Se realizó el análisis de los datos conductuales para tarea de reconocimiento de objeto lugar, en la **Gráfica 14** se muestra el índice de reconocimientos de los objetos para la adquisición y la prueba donde se compararon los animales control contra los de SM. En la fase de la adquisición para los animales controles (n= 3) se observó una tendencia en la preferencia hacia un objeto la cual se reflejó en el índice de exploración. En la fase de prueba, los animales control exploraron los objetos aproximadamente la misma cantidad de tiempo, sin embargo, para que la tarea tenga validez esto animales debieron tener un índice de reconocimiento el día de la adquisición $\cong 0.5$.

Por otra parte, los animales con SM (n= 4) en la fase de adquisición exploraron, aproximadamente, la misma cantidad de tiempo los dos objetos. Por otra en la fase de la prueba los animales con SM exploran más tiempo el objeto novedoso, es decir, el que fue objeto desplazado, comparado con el familiar, pero sin diferencias significativas.



Gráfica 14. Índice de reconocimiento de objeto en lugar en la adquisición y la prueba de memoria durante la microdialísis. Controles n=3, SM n=4. Los valores de las barras representan el promedio \pm SEM.

Se analizaron los datos de los dializados de las tres primeras fracciones obtenidas en la microdialísis, las cuales corresponderían a las concentraciones basales de los neurotransmisores, para evaluar si existe una diferencia entre las concentraciones basales de los animales controles y con SM. La **Gráfica 15** muestra el neurotransmisor (Glu, GABA, NE, DA), la estructura (Ci o HD) que se analizó, los niveles extracelulares en la adquisición y prueba entre controles y tratadas. El análisis estadístico no mostró ninguna diferencia significativa entre las concentraciones basales de neurotransmisores entre los grupos controles y con SM.



Gráfica 15. Concentraciones basales de neurotransmisores. En las gráficas de la izquierda se muestran las concentraciones de glutamato, norepinefrina (NA) y dopamina (DA) dentro de la corteza insular (CI) y en las gráficas de la derecha las concentraciones de glutamato, NA y DA en la región del hipocampo dorsal

(HD). Ratas control CI adquisición: Glu n= 9, NE n= 6 y DA n= 6; Ratas control CI prueba: Glu= 9, NE n= 6 y DA n= 6; Ratas control HD adquisición: Glu n=9, NA n= 3 y DA n= 3. Ratas control HD prueba: Glu n=5, NA n= 5 y DA n= 5. Ratas con SM CI adquisición: Glu n= 6, NA n= 6 y DA n=6. Ratas con SM CI prueba: Glu n= 5, NA n= 12 y DA n=11. Ratas con SM HD adquisición: Glu n= 5, NA n= 6 y DA n=3. Ratas con SM HD prueba: Glu n= 6, NA n= 6 y DA n=6. Los valores de las barras representan el promedio \pm SEM.