



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO



FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

LABORATORIO DE NEUROBIOLOGÍA

TESIS

“EFECTO DEL L-TRIPTÓFANO SOBRE LA ACTIVIDAD DE LA
BOMBA DE SODIO Y POTASIO EN CORTEZA CEREBRAL DE
RATAS CON DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL”

PRESENTA:

P.Q.F.B. OSCAR VÁZQUEZ RUÍZ

PARA OBTENER EL GRADO DE:

LICENCIADO EN QUIMICO FARMACOBIOLOGIA

DIRECTOR DE TESIS:

D.C. ROSALÍO MERCADO CAMARGO

Tesis parcialmente apoyada por CIC-UMSNH 2017,
CONACYT-ANUIES-ECOS NORD M12-S01, PRODEP-2017

MORELIA, MICHOACAN, Octubre de 2017

Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Neurobiología de la Facultad de Químico Farmacobiología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo fue parcialmente apoyado por CIC-UMSNH 2017, CONACYT-ANUIES-ECOS NORD M12-S01, PRODEP-2017

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de tesis a mis padres, que me han dado su amor incondicional desde el inicio de mi vida, su apoyo durante todo este tiempo y la oportunidad de concluir mis estudios hasta la licenciatura, que siempre han estado allí para darme consejo aun en la necesidad de no querer escucharlos.

A mis hermanos, que entre pleitos y risas me han ayudado a crecer como persona, especialmente a Juan, que tiene una paciencia de la que poca gente puede presumir y dispuesto a ayudar siempre que sea necesario.

AGRADECIMIENTOS

Le agradezco a mis padres por darme la oportunidad y los medios para poder realizar mis estudios universitarios, por su perseverancia para que yo pudiera salir adelante, por ser pacientes y no rendirse conmigo durante estos años.

A mis hermanos que siempre han estado allí para apoyarme.

El Dr. Rosalío que me dio la oportunidad de realizar este trabajo de tesis, que siempre ha estado dispuesto a ayudarme aun con mi falta de constancia, por la orientación que me ha dado, de verdad se lo agradezco.

Susana y Roberto que desde el inicio me apoyaron, me enseñaron como trabajar en el laboratorio y aclarar cualquier duda que se presentase.

A mis revisores de tesis por su disposición y aprobar mi trabajo de tesis.

Alejandra, Josue y Humberto por ayudarme a realizar mis trabajos experimentales y otorgarme su amistad, haciendo mucho mas amena la estancia en el laboratorio.

A los docentes, compañeros y amigos con los que tuve el placer de asistir a la licenciatura, con los que compartí noches de desvelo haciendo tareas o estudiando, experiencias en el laboratorio, que me aceptaron en esta institución.

Muchas gracias a todos.

CONTENIDO

	Página
INDICE DE FIGURAS.....	IV
INDICE DE TABLAS.....	V
LISTA DE ABREVIATURAS.....	VI
RESUMEN.....	VIII
ABSTRACT.....	IX
1. ANTECEDENTES.....	1
1.1. Diabetes mellitus.....	1
1.1.1. Tipos de diabetes.....	2
1.1.1.1. Diabetes mellitus tipo 1.....	2
1.1.1.2. Diabetes mellitus tipo 2.....	3
1.1.1.3. Diabetes mellitus gestacional.....	5
1.1.1.4. Diabetes mellitus experimental.....	5
1.2. Páncreas.....	6
1.2.1. Insulina.....	6
1.3. Adenosín Trifosfato (ATP).....	8
1.3.1. Bomba de sodio potasio.....	8
1.4. Sistema nervioso.....	9
1.4.1. Sistema nervioso periférico.....	9
1.4.2. Sistema nervioso central.....	10
1.4.2.1. Encéfalo.....	11
1.4.2.1.1. Cerebro.....	11
1.4.2.2. Médula espinal.....	12
1.4.3. Composición celular del Sistema Nervioso.....	12
1.4.3.1. Células Gliales.....	12
1.4.3.2. Neuronas.....	12
1.4.4. Complicaciones del sistema nervioso en diabetes mellitus.....	13
1.4.5. Potenciales y corrientes eléctricos.....	14

1.4.3.6. Sinapsis.....	15
1.4.3.6.1. Neurotransmisores.....	15
1.4.3.6.1.1. Serotonina.....	16
1.4.3.6.1.1.1. L-Trp.....	17
2. JUSTIFICACIÓN.....	21
3. HIPÓTESIS.....	22
4. OBJETIVOS.....	23
4.1. Objetivo general.....	23
4.2. Objetivos específicos.....	23
5. MATERIALES Y METODOS.....	24
5.1. Animales.....	24
5.2. Inducción de diabetes mellitus experimental (DME).....	24
5.3. Estimulación del sistema serotorinérgico.....	24
5.4. Evaluación de la percepción gustativa de modalidad dulce.....	24
5.5. Monitoreo de la ingesta alimenticia.....	25
5.6. Peso corporal.....	25
5.7. Nivel de glucemia.....	25
5.8. Perfil de lípidos.....	25
5.9. Obtención de tejidos.....	25
5.10. Valoración de proteínas por el método de Lowry.....	26
5.11. Actividad de ATPasa mediante la determinación del Pi liberado.....	27
6. RESULTADOS.....	29
6.1 Implementación del modelo de DME.....	29
6.1.1. Glucosa en sangre.....	29
6.1.2. Perfil de lípidos.....	30
6.1.3. Percepción gustativa.....	30
6.1.4. Consumo de alimento.....	32
6.1.5. Peso corporal.....	33
6.2. Actividad de la bomba de sodio y potasio.....	34
7. DISCUSIÓN.....	36

8. CONCLUSIONES.....	38
9. BIBLIOGRAFIA.....	39

INDICE DE FIGURAS

Página

Figura 1. Niveles de glucemia en ratas.....	29
Figura 2. Consumo de solución de sacarosa.....	31
Figura 3. Consumo de agua.....	32
Figura 4. Consumo de alimento.....	33
Figura 5. Peso corporal.....	34
Figura 6. Actividad de la bomba de sodio y potasio en corteza cerebral de ratas del grupo CTL.....	35
Figura 7. Actividad de la bomba de sodio y potasio en corteza cerebral de ratas del grupo DME.....	35

INDICE DE TABLAS

Página

Tabla 1. Volúmenes de albúmina y agua tri destilada en la batería para el método de Lowry.....	26
Tabla 2. Volúmenes de fosfatos y agua tri destilada para determinación de Pi liberado.....	28
Tabla 3. Pruebas bioquímicas.....	30

LISTA DE ABREVIATURAS

Alx	Alloxana
ATP	Adenosín trifosfato
cm	Centímetro
CAA	Aminoácidos de competencia
CTL	Control
dL	Decilitro
DM	Diabetes mellitus
DME	Diabetes mellitus experimental
DMT1	Diabetes mellitus tipo 1
DMT2	Diabetes mellitus tipo 2
DNA	Ácido desoxirribonucleico
g	Gramo
GLP-1	Péptido similar al glucagón tipo 1
GLUT 2	Transportador de glucosa 2
h	Horas
HOMA IR	Evaluación del modelo homeostático
IRM	Imagen por resonancia
kg	Kilogramo
L	Litro
LCR	Líquido cefalorraquídeo
LMB	Lesiones de la materia blanca
M	Molaridad
mg	Miligramo
ml	Mililitro

mM	Milimolar
mm	Milímetro
mmol	Milimol
mV	Milivoltio
N	Normalidad
nm	Nanómetro
rpm	Revoluciones por minuto
SNA	Sistema nervioso autónomo
SNC	Sistema nervioso central
SNP	Sistema nervioso periférico
STZ	Estreptozotocina
RND	Red neuronal por defecto
RS	Red de saliencia
TCA	Ácido tricloroacético
TDO	Triptófano 2,3-dioxigenasa
TPH	Triptófano hidroxilasa
TPH1	Triptófano hidroxilasa tipo 1
TPH2	Triptófano hidroxilasa tipo 2
Trp	Triptófano
5-HT	Serotonina
μl	Microlitro
°C	Grados centígrados
'	Minuto

RESUMEN

La diabetes mellitus es una enfermedad metabólica grave que se ha extendido mucho durante los últimos años. Entre las complicaciones a las que se le ha asociado se encuentra daño al sistema nervioso, percibiendo un déficit en varios dominios cognitivos, especialmente en aquellos sujetos con un control glucémico deficiente. En el laboratorio se ha observado una disminución en la actividad de la bomba de sodio y potasio en la corteza cerebral de animales con diabetes mellitus experimental, necesaria para mantener la excitabilidad neuronal. Éste descenso de actividad es probable que se deba a una función deficiente en los sistemas de neurotransmisión, por lo tanto se pretende modificar la disponibilidad del aminoácido L-triptófano, precursor del neurotransmisor serotonina, para así observar si hay un cambio en la actividad de la bomba de sodio y potasio. Con la administración de L-triptófano en los modelos experimentales control y diabético no se encuentra un cambio apreciable en el nivel de glucosa en sangre, percepción gustativa, consumo de alimento y peso corporal. En la actividad específica de la $\text{Na}^+ \text{K}^+$ ATPasa no se percibe un aumento significativo en los modelos control pero si uno importante en los modelos con diabetes mellitus experimental. Esto sugiere que la administración de L-Trp si tiene un efecto sobre la actividad de la bomba de sodio y potasio en corteza cerebral de ratas con DME.

Palabras clave: Corteza cerebral, diabetes mellitus, bomba de sodio y potasio, L-triptófano, serotonina.

ABSTRACT

Diabetes mellitus is a serious metabolic disease that has become widespread in recent years. Among the complications to which it has been associated is damage to the nervous system, perceiving a deficit in several cognitive domains, especially in those subjects with poor glycemic control. A decrease in the activity of the sodium and potassium pump in the cerebral cortex of animals with experimental diabetes mellitus, necessary to maintain neuronal excitability, has been observed in the laboratory. This decrease in activity is likely due to a deficient function in neurotransmission systems, therefore it is intended to modify the availability of the amino acid L-tryptophan, precursor of the neurotransmitter serotonin, in order to observe if there is a change in the activity of the sodium and potassium pump. With the administration of L-tryptophan in the experimental control and diabetic models there is no appreciable change in blood glucose level, taste perception, food consumption and body weight. In the specific activity of the $\text{Na}^+ \text{K}^+$ ATPase no significant increase is seen in the control models but one important in the models with experimental diabetes mellitus. This suggests that the administration of L-Trp does have an effect on the activity of the sodium and potassium pump in brain cortex of rats with DME.

Keywords: Brain cortex, diabetes mellitus, sodium and potassium pump, L-tryptophan, serotonin.

1. ANTECEDENTES

1.1 Diabetes mellitus

La diabetes mellitus se define como una enfermedad endocrino-metabólica caracterizada por hiperglucemia (aumento de azúcar en la sangre) crónica y alteraciones en el metabolismo de los carbohidratos, grasas y proteínas; puede deberse a una deficiencia en la secreción de insulina, resistencia a la acción de ésta, o una combinación de ambas (Balderas, 2015).

Cualquier tipo de diabetes puede llevar a complicaciones en muchas partes de el cuerpo y puede incrementar el riesgo general de muerte prematura. Entre las posibles complicaciones se encuentran ataque al corazón, accidente cerebrovascular, insuficiencia renal, amputación de pierna, perdida de visión y daño a los nervios. En el embarazo, la diabetes mal controlada incrementa el riesgo de muerte fetal y otras complicaciones (WHO, 2016).

De acuerdo con la Asociación Americana de Diabetes (ADA, por sus siglas en inglés) y la OMS, los criterios para el diagnóstico de la diabetes mellitus son:

- La presencia de síntomas clásicos (polidipsia, polifagia, poliuria y pérdida de peso), con el hallazgo casual, sin considerar el tiempo pasado desde la última comida, de un nivel de glucosa en sangre (glucemia) por encima de 200 mg/dl (11.1 mmol/L); (Figuerola et al., 2013).
- Concentración de glucosa en ayunas superior a 126 mg/dl (7 mmol/L) (Figuerola et al., 2013).
- Concentraciones de glucosa por encima de 200 mg/dl (11.1 mmol/L) en un análisis de dos horas posterior a una sobrecarga oral de glucosa de 75 g (test realizado según los criterios de la OMS) (Figuerola et al., 2013).

El hallazgo aislado de cualquiera de estos criterios no es suficiente para establecer el diagnóstico.

De igual manera se pueden evaluar algunos otros indicadores de alteraciones en el metabolismo de carbohidratos y lípidos que concuerdan con el desarrollo de la enfermedad como son: concentraciones sanguíneas alteradas de colesterol, triglicéridos, péptido C, el índice de resistencia a la insulina (HOMA-IR; homeostatic model assessment) y hemoglobina glicada (Figueroa et al., 2013).

Se estima que globalmente 422 millones de adultos vivían con diabetes en el año 2014, comparado con los 108 millones padecían en 1980 (WHO, 2016). En el año 2012 la diabetes causó 1.5 millones de muertes. La hiperglucemia además causó 2.2 millones de muertes, al incrementar el riesgo de enfermedades cardiovasculares así como otras afecciones. De esas 3.7 millones de muertes, 43% ocurrieron antes de los 70 años de edad. El porcentaje de muertes que se atribuye a glucosa alta en sangre o diabetes antes de los 70 años es mayor en los países de ingresos bajos y medios que en los países de altos ingresos (WHO, 2016).

La diabetes y sus complicaciones son una de las mayores causas de muerte en la mayoría de los países. La diabetes tipo 2 es la forma mas frecuente de diabetes y se ha incrementado junto con los cambios culturales y sociales. En países de altos ingresos hasta el 91% de adultos con diabetes es de tipo 2. Se estima que hay 193 millones de personas con diabetes sin diagnosticar y por tanto están en mas riesgo de desarrollar complicaciones (IFD, 2015).

Mientras que la diabetes tipo 1 es menos común, aún así se incrementa alrededor de un 3% cada año, particularmente en niños. Cada año alrededor de 86,000 niños desarrollan diabetes mellitus tipo 1 y cuando no hay insulina disponible, la esperanza de vida de un niño con diabetes tipo 1 es muy corta (IDF, 2015).

1.1.1. Tipos de diabetes

1.1.1.1 Diabetes mellitus tipo 1

La diabetes de tipo 1 (también llamada insulín dependiente, juvenil o de inicio en la infancia) se caracteriza por una producción deficiente de insulina y requiere la administración diaria de esta hormona. Sus síntomas consisten, entre otros, en excreción

excesiva de orina, sed, hambre constante, pérdida de peso, trastornos visuales y cansancio. Estos síntomas pueden aparecer de forma súbita (WHO, 2016).

La diabetes insulino dependiente se define por la tendencia a desarrollar cetoacidosis en ausencia de terapia insulínica (Micheli et al, 2010).

Estudios de prevalencia han demostrado que en relación con controles no diabéticos, sujetos con diabetes tipo 1 tienen déficit de rendimiento en múltiples dominios cognitivos, incluyendo velocidad de procesamiento, eficiencia psicomotora, memoria, atención, habilidades visuoespaciales y función ejecutiva. Factores como un control glucémico deficiente y la presencia de complicaciones microvasculares como neuropatía y retinopatía se han asociado con disfunción cognitiva en sujetos con DMT1 (Moheet et al., 2016).

Estudios estructurales con imagen por resonancia magnética (IRM) han mostrado menores volúmenes de materia gris y blanca en sujetos con DMT1 en comparación con controles no diabéticos. Los pacientes con DMT1 también han demostrado tener un aumento de las lesiones de la materia blanca (LMB) que pueden representar anomalías vasculares en las arteriolas cerebrales intraparenquimatosas. En sujetos con DMT1 se ha reportado un aumento en la severidad de LMB comparado con los controles en algunos pero no en todos los estudios (Moheet et al., 2016).

Estudios en general muestran que DMT1 es asociada con reducción en el volumen cerebral en comparación con controles no diabéticos; la distribución de las áreas cerebrales involucradas parecen ser variables y los cambios en la estructura cerebral se han asociado con disminución en el rendimiento cognitivo (Moheet et al., 2016).

1.1.1.2 Diabetes mellitus tipo 2

La diabetes de tipo 2 (también llamada no insulino dependiente o de inicio en la edad adulta) se debe a una utilización ineficaz de la insulina. Este tipo representa el 90% de los casos mundiales y se debe en gran medida a un peso corporal excesivo y a la inactividad física. Los síntomas pueden ser similares a los de la diabetes de tipo 1, pero a menudo menos intensos. En consecuencia, la enfermedad puede diagnosticarse solo cuando ya tiene

varios años de evolución y han aparecido complicaciones. Hasta hace poco, este tipo de diabetes solo se observaba en adultos, pero en la actualidad también se está manifestando en niños (WHO, 2016).

La fisiopatología de la DMT2 es compleja e implica factores ambientales (el sedentarismo, la edad, bajo peso al nacer y dietas hipercalóricas que conducen a la obesidad) y genéticos. Existen tres alteraciones constantes en este padecimiento: resistencia a la acción de la insulina en los tejidos periféricos (músculo, tejido adiposo y especialmente hígado); secreción alterada de la insulina en respuesta al estímulo de glucosa y aumento en la producción de glucosa hepática. La resistencia periférica a la insulina se presenta con una fase preclínica (en estadio de tolerancia alterada a la glucosa), además una elevación moderada de la concentración de glucosa en sangre y elevadas concentraciones de colesterol y triglicéridos. Con frecuencia este tipo de diabetes es diagnosticada varios años después de iniciada ya que en sus primeras etapas es casi asintomática (Figuerola et al., 2013).

Uno de los parámetros afectados en pacientes diabéticos es el peso corporal. La literatura señala que los pacientes, previo al desarrollo de la diabetes tipo 2, cursan con síndrome metabólico caracterizado por sobrepeso, intolerancia a la glucosa y alteración del metabolismo de los lípidos; sin embargo, ya establecida la enfermedad los pacientes presentan pérdida progresiva de peso corporal (Figuerola et al., 2013).

Estudios transversales han demostrado que los sujetos con DMT2 tienen un mayor riesgo de disminución en la función varios dominios cognitivos, incluyendo atención, función ejecutiva, procesamiento de información, memoria, eficiencia psicomotora, fluidez verbal y aprendizaje (Moheet et al., 2016; Williamson et al., 2014).

Estas reducciones se han asociado con un control glucémico deficiente, una mayor duración de la diabetes, y la presencia de complicaciones microvasculares como la retinopatía diabética y la neuropatía periférica. Estudios epidemiológicos también han demostrado que las comorbilidades como la hipertensión, la dislipidemia y la depresión están asociados con una función cognitiva deficiente en pacientes con DMT2 (Moheet et al., 2016).

La demencia debida tanto a la enfermedad de Alzheimer como a enfermedad vascular se ha relacionado con la diabetes tipo 2 en estudios longitudinales (Moheet et al., 2016).

Las personas con DMT2 han demostrado tener atrofia cerebral incluyendo bajos volúmenes totales y regionales de materias blanca y gris comparado con los controles no diabéticos (Moheet et al., 2016). En los pacientes con DMT2 también se ha observado tener un mayor número de LMB. La atrofia cerebral y las LMB se han asociado con disfunción cognitiva en algunos, pero no en todos los estudios (Moheet et al., 2016).

La patofisiología subyacente a la disminución cognitiva y los cambios estructurales cerebrales en sujetos con diabetes no está bien comprendida. Se ha propuesto como posibles contribuyentes un pobre control glucémico, enfermedad vascular, estrés oxidativo, predisposición genética, resistencia a la insulina y disposición amiloide (Moheet et al., 2016).

La prevalencia de la diabetes mellitus tipo 2 en adultos mayores ha aumentado en las últimas décadas. Las personas mayores con DMT2 e hipertensión o, en menor medida, dislipidemia tienen una mayor probabilidad de deterioro cognitivo y demencia en comparación con personas sin DMT2 o solamente con DMT2 (Williamson et al., 2014).

1.1.1.3 Diabetes mellitus gestacional

La diabetes gestacional se caracteriza por hiperglucemia que aparece durante el embarazo y alcanza valores que, pese a ser superiores a los normales, son inferiores a los establecidos para diagnosticar una diabetes. Las mujeres con diabetes gestacional corren mayor riesgo de sufrir complicaciones durante el embarazo y el parto, y de padecer diabetes de tipo 2 en el futuro (WHO, 2016).

1.1.1.4 Diabetes mellitus experimental

El uso de los animales como modelos de experimentación en el estudio de la fisiopatología de la diabetes ha permitido entender algunas de sus causas y consecuencias, además de obtener avances en el tratamiento y control de este síndrome, aun cuando los signos y alteraciones no se reproducen con exactitud. En la literatura se han reportado modelos

experimentales de diabetes en diferentes especies que van desde el perro, gato, conejo, cerdo, borrego, ratón hasta la rata. En animales de laboratorio, específicamente en la rata, la diabetes se puede presentar de forma espontánea o inducida experimentalmente por distintos métodos. En la inducción experimental de diabetes se utilizan sustancias químicas que destruyen en forma selectiva las células β del páncreas como son la alloxana (Alx) y la estreptozotocina (STZ) (Figueroa et al., 2013).

Se conoce que la STZ actúa específicamente sobre las células β del páncreas utilizando al transportador de glucosa (GLUT 2) para entrar a la célula, causando daño y muerte de esta por la polirribosilación del DNA y la generación de radicales a través de la vía xantina-oxidasa. (Figueroa et al., 2013).

Algo importante, es señalar que los modelos de animales íntegros siguen vigentes porque permiten evaluar al individuo completo, mientras que las preparaciones de órganos aislados in vitro y las líneas celulares tienen información valiosa pero limitada, por lo que es necesaria la integración de la información de varios modelos. Los resultados in vitro o a nivel celular arrojan resultados alentadores pero al probarlos en animales íntegros no siempre hay correlación directa (Fernández et al., 2006).

1.2. Páncreas

EL páncreas del humano adulto está compuesto de numerosas colecciones de células llamadas islotes de Langerhans. Hay alrededor de 1 a 2 millones de islotes, que representan solamente cerca del 2% del volumen del páncreas, mientras el resto de éste está constituido por conductos, vasos sanguíneos y la mas grande porción exocrina del páncreas compuesta de acinos que secretan jugos digestivos. La mayoría de las células en los islotes de Langerhans son células β , es decir, aproximadamente el 60-70%. Éstas producen insulina, que es de naturaleza anabólica (Thomas et al., 2016)

1.2.1 Insulina

La insulina tiene efectos en el metabolismo de los carbohidratos, lípidos y proteínas:

Metabolismo de los carbohidratos.

- La insulina aumenta la captación de glucosa en todas las células sensibles a insulina, particularmente en tejido adiposo y músculo. Ésta no afecta la absorción de glucosa en células cerebrales.
- La insulina reduce la tasa de producción de glucosa hepática al inhibir la glucogenólisis y la gluconeogénesis, al mismo tiempo que estimula la síntesis de glucógeno, la captación de glucosa y la glucólisis.
- La insulina provoca un aumento de la glucogénesis en el músculo;

Metabolismo de los lípidos.

- Aumenta la síntesis de lípidos.
- Estimula la síntesis de ácidos grasos en el hígado y el tejido adiposo, proporcionando sustrato para el aumento de la síntesis de lípidos.
- Estimula la formación de triglicéridos en el tejido adiposo.
- Actúa sobre el tejido adiposo y reduce la tasa de liberación de ácidos grasos libres.
- Inhibe la lipasa sensible a hormonas en el tejido adiposo.
- Activa la lipoproteína lipasa;

Metabolismo de las proteínas.

- La insulina estimula la síntesis de las proteínas e inhibe la descomposición.
- También aumenta el transporte de aminoácidos a través de la membrana plasmática en las células hepáticas y musculares (Thomas et al., 2016).

Una de las alteraciones metabólicas observada en pacientes con diabetes Tipo 2 es el metabolismo de los lípidos, lo cual se ve reflejado en aumento de la concentración de triglicéridos y colesterol en sangre (Figueroa et al., 2013).

La exposición crónica de células β a altas concentraciones extracelulares de ácidos grasos produce la pérdida de la sensibilidad a la glucosa mostrando un patrón de hipersecreción de insulina a bajas concentraciones del azúcar y una incapacidad de adaptar la respuesta secretora a incrementos en la glucemia. La síntesis de insulina se ve severamente disminuida y se observa además una deposición exagerada de lípidos, cuya degradación se ve reducida incluso tras varios días en condiciones normoglucémicas, aumentando la posibilidad de daños por lipotoxicidad (Figuerola et al., 2013).

1.3. Adenosín Trifosfato (ATP)

Los nucleótidos son compuestos orgánicos con tres componentes principales: un anillo único o doble de carbono-nitrógeno, al que se le denomina base nitrogenada, un monosacárido y uno o más grupos fosfato. Uno de los nucleótidos mejor conocidos es el ATP, en que la base nitrogenada es un anillo doble llamado adenina, el azúcar es la ribosa y hay tres grupos fosfato (Saladin et al., 2013).

El trifosfato de adenosina o adenosintrifosfato (ATP) es la molécula de transferencia de energía más importante del cuerpo. Almacena por breve tiempo la energía que recibe de reacciones exergónicas, como la oxidación de la glucosa, y la libera en segundos para trabajo fisiológico como reacciones de polimerización, contracción muscular y bombeo de iones a través de la membrana celular (Saladin et al., 2013).

1.3.1 Bomba de sodio potasio

Casi todas las células tienen una proteína portadora de transporte bidireccional llamada bomba de sodio y potasio que de manera continua extrae Na^+ de la célula e introduce K^+ (Saladin et al., 2013).

La bomba de Na^+ y K^+ es un ejemplo de transporte activo primario. Se le conoce también como Na^+-K^+ ATPasa por que es una enzima que hidroliza ATP. La bomba de Na^+ y K^+ fija tres iones Na^+ en el lado citoplásmico de la membrana, los libera hacia el fluido extracelular y, al mismo tiempo, fija dos iones K^+ del fluido extracelular y los libera en el interior de la célula. En cada ciclo de la bomba se consume una molécula de ATP y se

intercambian tres iones Na^+ por dos K^+ . Con esto, en el interior de la célula se mantiene una concentración de K^+ mayor que la de Na^+ , en comparación con sus concentraciones en el fluido extracelular. Estos iones se fugan de manera continua a través de la membrana, pero la bomba de Na^+ y K^+ hace la compensación necesaria. Por la vía de la bomba de Na^+ y K^+ se consume casi la mitad de las calorías utilizadas cada día (Saladin et al., 2013).

La Na^+/K^+ -ATPasa localizada en células nerviosas puede llegar a acaparar dos tercios del total de la energía celular en forma de ATP para realizar su función, con lo que restablece el potencial eléctrico de membrana, mantiene los gradientes de Na^+ y K^+ a través de la bicapa lipídica, controla el pH y el volumen celular, además proporciona la fuerza impulsora para el transporte de otros solutos con ayuda de Na^+ , como iones, glucosa y agua (Esquivel Garcia et al., 2012).

La actividad de la Na^+/K^+ -ATPasa esta disminuida en la membrana celular de muchos tejidos obtenidos de animales con diabetes mellitus experimental (DME) a nivel periférico, entre los que se incluyen riñón, corazón, intestino y nervios periféricos; este defecto tiene un papel importante en el desarrollo de las complicaciones de la DM (Esquivel Garcia et al., 2012).

1.4. Sistema Nervioso

El sistema nervioso permite al organismo reaccionar frente a los continuos cambios que se producen en el medio ambiente y en el ambiente interno. Además, controla e integra las diversas actividades del organismo, como la circulación y la respiración (Moore et al., 2010).

El sistema nervioso comprende dos partes: Sistema nervioso periférico y sistema nervioso central.

1.4.1 Sistema nervioso periférico

El sistema nervioso periférico comprende dos partes:

- Una de relación que consta de nervios craneanos y raíces espinales y sus ganglios

correspondientes. Las raíces raquídeas forman los plexos cervical, braquial, lumbar, sacro, los nervios intercostales y los nervios periféricos, que relacionan el sistema nervioso central con la periferia (Duque Parra et al., 2011).

- El sistema nervioso autónomo comprende dos cadenas de ganglios situados a ambos lados de la columna vertebral, con sus respectivos nervios y plexos viscerales, y se divide en Simpático, Parasimpático y Entérico. El simpático prepara el organismo para una emergencia; El Parasimpático restablece y conserva la energía. El Entérico se localiza en la pared de la porción tubular del sistema digestivo y regula parte de su funcionalidad (distensión–contracción) (Duque Parra et al., 2011).

1.4.2 Sistema nervioso central

El sistema nervioso central contiene el encéfalo (cerebro, cerebelo, tronco encefálico) y medula espinal. Este sistema está protegido por las meninges, cráneo y la columna vertebral (Saladin et al., 2013; Duque Parra et al., 2011).

Las funciones principales del SNC consisten en integrar y coordinar las señales nerviosas de entrada y salida, y llevar a cabo las funciones mentales superiores, como el pensamiento y el aprendizaje (Moore et al., 2010).

El encéfalo y la médula espinal se componen de sustancia gris y sustancia blanca. Los cuerpos de las neuronas constituyen la sustancia gris; los sistemas de tractos de fibras de interconexión forman la sustancia blanca (Moore et al., 2010).

Tres capas membranosas (piamadre, aracnoides y duramadre) constituyen conjuntamente las meninges. Las meninges y el líquido cefalorraquídeo (LCR) rodean al SNC y lo protegen. El encéfalo y la medula espinal se hallan íntimamente recubiertos en su superficie externa por la capa meníngea mas interna, una fina cubierta transparente, la piamadre. El LCR se halla entre la piamadre y la aracnoides. Por fuera de la piamadre y la aracnoides se encuentra la duramadre, firme y gruesa. La duramadre del encéfalo está íntimamente relacionada con la cara interna de los huesos del neurocráneo circundante; la duramadre de la médula espinal está separada de los huesos de la columna vertebral por el espacio

epidural, lleno de tejido adiposo (Moore et al., 2010).

1.4.2.1 Encéfalo

El encéfalo está compuesto por el cerebro, el cerebelo y el tronco encefálico. Al retirar la calvaria y la duramadre, a través de la delicada capa de aracnoides-piamadre de la corteza cerebral son visibles los giros (circunvoluciones), los surcos y las fisuras. Mientras que las circunvoluciones y los surcos presentan muchas variaciones, las otras características del encéfalo, incluido su tamaño global, son muy constantes de un individuo a otro (Moore et al., 2010).

1.4.2.1.1 Cerebro

El cerebro constituye casi el 83% del volumen del encéfalo y consta de un par de globos divididos a la mitad a los que se denomina hemisferios cerebrales. Cada hemisferio está marcado por unos pliegues gruesos a los que se llama circunvoluciones, separadas por ranuras superficiales denominadas surcos. Una ranura mediana muy profunda, la cisura interhemisférica, separa entre sí a los hemisferios derecho e izquierdo. En la parte inferior de la cisura, los hemisferios están conectados por un haz grueso de fibras nerviosas a las que se denomina cuerpo calloso, una marca prominente para la descripción anatómica (Saladin et al., 2013).

La corteza cerebral es una capa que cubre la superficie de los dos hemisferios. Aunque solo tiene 2 a 3 mm de espesor, la corteza constituye casi el 40% de la masa del encéfalo y contiene 14 a 16 mil millones de neuronas (Saladin et al., 2013).

A pesar de que los ácidos grasos libres son el principal combustible para la mayoría de los órganos, la glucosa es el combustible metabólico obligado para el cerebro en condiciones fisiológicas. Esto ocurre por que las concentraciones circulantes de otros posibles substratos alternativos (p. ej., cuerpos cetónicos) son bajas o por las limitaciones del transporte a través de la barrera hematoencefálica (ej., ácidos grasos libres). Después de un prologado ayuno, debido a un incremento en su concentración circulante, los cuerpos cetónicos pueden ser usados por el cerebro de manera significativa (Poretsky 2010).

El cerebro no puede sintetizar glucosa o almacenar un suministro de poco mas de unos 9 minutos de glucógeno. Por lo tanto el cerebro depende de un continuo suministro de glucosa del plasma (Poretsky 2010).

1.4.2.2 Médula espinal

La médula espinal es un cilindro de tejido nervioso que surge del tallo encefálico por el agujero magno (occipital) del cráneo; pasa por el canal vertebral hasta el margen inferior de la primera vértebra lumbar o un poco mas allá; en los adultos mide, en promedio 45 cm de largo y 1.8 cm de grueso (Saladin et al., 2013).

La médula espinal se divide en las regiones cervical, torácica, lumbar y sacra; nombradas por el nivel de la columna vertebral de la que surgen los nervios raquídeos (Saladin et al., 2013).

1.4.3 Composición Celular del Sistema Nervioso:

En el tejido nervioso se encuentran dos grandes grupos de células: Las células gliales y las neuronas.

1.4.3.1 Células Gliales

Las células gliales tienen una participación primordial en la actividad neuronal, porque ayudan a captar y retirar neurotransmisores liberados en la sinapsis, recuperan los potenciales de acción con la restauración de los gradientes iónicos, aíslan los axones con mielina para permitir que las señales viajen a la velocidad adecuada, y colaboran para mantener el balance energético cerebral, ya que en el cerebro la mitad de la glucosa presente en el espacio extracelular es captada por células gliales, como los astrocitos, por medio de la actividad de transportadores específicos dependientes de glutamato acoplados a la actividad de la $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{-ATPasa}$ (Esquivel Garcia et al., 2012)

1.4.3.2 Neuronas

La neurona es una célula excitable, altamente especializada para la recepción y la conducción del impulso nervioso. Su tamaño y su forma varían considerablemente, pero

cada célula posee un cuerpo llamado también soma y unas prolongaciones que se desprenden del cuerpo neuronal: las dendritas y el axón. El cuerpo contiene la membrana celular y el cono axónico (la parte inicial del axón). El soma o cuerpo neuronal también incluye el núcleo y los organelos citoplasmáticos. A diferencia de las otras células del organismo, las neuronas maduras no se dividen (Duque Parra et al., 2011).

La mielina, capas de sustancias lipídicas y proteicas, forman una vaina de mielina en torno a algunos axones, lo que aumenta considerablemente la velocidad de conducción de los impulsos (Moore et al., 2010).

Dos tipos de neuronas constituyen la mayoría de las existentes en el SNC y en el SNP:

- Las neuronas motoras multipolares poseen dos o mas dendritas y un solo axón, que puede tener uno o mas ramos colaterales, Son el tipo mas común de neurona en el sistema nervioso. Todas las neuronas motoras que controlan los músculos esqueléticos y las que componen el sistema nervioso autónomo (SNA) son neuronas multipolares (Moore et al., 2010).
- Las neuronas sensitivas pseudomonopolares poseen una corta prolongación, aparentemente única (pero en realidad doble), que se extiende desde el cuerpo celular. Esta prolongación común se separa en una prolongación periférica, que conduce los impulsos desde el órgano receptor (p. ej., sensores del tacto, el dolor o la temperatura en la piel) hacia el cuerpo celular, y una prolongación central, que continúa desde el cuerpo celular hasta el SNC. Los cuerpos celulares de las neuronas pseudomonopolares están localizados fuera del SNC, en los ganglios sensitivos; por lo tanto, forman parte del SNP (Moore et al., 2010).

1.4.4 Complicaciones del sistema nervioso en diabetes mellitus.

Las complicaciones neurológicas primarias de la diabetes incluyen:

- Afectación del sistema nervioso periférico (SNP) con mononeuropatías periférica y craneana con afectación del III par craneal, lo que genera una parálisis indolora de

dicho nervio, que respeta la pupila. Además, la diabetes produce una polineuropatía de tipo axonal y una neuropatía autonómica con síntomas cardiovasculares (hipotensión ortostática y arritmias), gastrointestinales (náuseas, vómitos, diarrea) y urológicos (disfunción vesical y trastornos eyaculatorios). La afectación neuroperiférica sigue una cronología, con afectación primariamente sensitiva, con déficit sensitivo y parestias “en media y en guante”, y la posterior afectación de fibras más gruesas, propioceptivas, lo que genera una deformidad articular en los pies (“articulaciones de Charcot”). Posteriormente se evidenciarán las alteraciones autonómicas de la piel y, luego, las motoras (debilidad y atrofia, con predominio en miembros inferiores) (Micheli et al, 2010).

- Afectación del sistema nervioso central (SNC) con enfermedad vascular, epilepsia parcial continua y edema cerebral, como complicación de la cetoacidosis (Micheli et al, 2010).

1.4.5 Potenciales y corrientes eléctricos

La comunicación neural tiene como base la electrofisiología, los mecanismos celulares para producir potenciales y corrientes eléctricos. Un potencial eléctrico es una diferencia en la concentración de partículas cargadas entre un punto y otro. Se trata de una forma de energía potencial que, bajo las circunstancias correctas, puede producir una corriente. Una corriente eléctrica es un flujo de partículas cargadas de un punto a otro (Saladin et al., 2013).

Las células vivas están polarizadas. A la diferencia de carga a través de la membrana plasmática se le llama potencial de membrana en reposo. El potencial por lo general es casi -70 mV en una neurona en reposo, el valor negativo significa que hay más partículas con cargas negativas en el interior que en el exterior de la membrana (Saladin et al., 2013).

Las corrientes eléctricas en el cuerpo son creadas por el flujo de iones como Na^+ y K^+ a través de canales con compuertas en la membrana plasmática, estos canales pueden abrirse y cerrarse mediante diversos estímulos. Esto permite que las células enciendan o apaguen sus corrientes eléctricas (Saladin et al., 2013).

La bomba de Na⁺ y K⁺ utiliza casi 70% de los requisitos de energía (ATP) del sistema nervioso. Cada señal generada por una neurona afecta un poco la distribución de Na⁺ y K⁺ de modo que la bomba debe funcionar de manera continua para restaurar el equilibrio (Saladin et al., 2013).

La estimulación de una neurona causa perturbaciones locales en el potencial de membrana. Por lo general, la respuesta empieza en una dendrita, se dispersa por el soma, viaja hacia el axón y termina en el botón sináptico (Saladin et al., 2013).

1.4.6 Sinapsis

Las neuronas se comunican unas con otras en las sinapsis, o puntos de contacto interneurales. La comunicación se produce por medio de neurotransmisores, sustancias químicas liberadas o segregadas por una neurona que pueden excitar o inhibir a otra, lo que continua o interrumpe la conexión de los impulsos o la respuesta a ellos (Moore et al., 2010).

1.4.3.6.1 Neurotransmisores

Los neurotransmisores pueden definirse como pequeñas moléculas orgánicas que se liberan cuando una señal nerviosa alcanza un botón sináptico o una varicosidad de la fibra nerviosa, luego se fija a un receptor en otra célula, cuya fisiología modifica (Saladin et al., 2013).

Una de las categorías principales por su composición química son las monoaminas (aminas biogénicas) que se sintetizan a partir de los aminoácidos mediante la remoción del grupo -COOH (grupo carboxilo). Retienen el -NH₂ (grupo amino), de donde proviene su nombre. Las principales monoaminas son la epinefrina, la norepinefrina, la dopamina, la histamina y la serotonina (5-hidroxitriptamina, o 5-HT) (Saladin et al., 2013).

Se ha observado que la DM afecta a sistemas de neurotransmisión y grupos neuronales específicos; como es el caso del sistema serotonérgico cerebral donde la DM induce cambios importantes en la biosíntesis de su neurotransmisor y receptores (Esquivel Garcia et al., 2012).

1.4.3.6.1.1 Serotonina

La serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) es un neurotransmisor crucial en el SNC, con neuronas 5-HT innervando casi todas las regiones del cerebro, es el neurotransmisor específico del sistema serotonérgico (Whitney et al., 2016).

Las neuronas serotonérgicas innervan grandes áreas del cerebro humano, con la mayoría de las proyecciones surgiendo de los cuerpos celulares neuronales en el rafe dorsal y medio y en los núcleos vecinos del tronco cerebral inferior. Hay proyecciones hacia el hipocampo, amígdala, hipotálamo, tálamo, neocórtex y ganglios basales, aunque la mayoría de las estructuras reciben un poco de innervación serotonérgica (Jenkins et al., 2016).

5-HT participa en una gran variedad de funciones cerebrales, entre ellas regulación de los ciclos de sueño-vigilia, temperatura, apetito, estado de ánimo, función cognitiva, percepción sensitiva, actividad motora, comportamiento sexual, secreción de hormonas, y en células gliales regula la función de la $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{ -ATPasa}$ (Esquivel Garcia et al., 2012).

La serotonina está implicada en la fisiología de un amplio espectro de trastornos neuropsiquiátricos, incluyendo depresión severa, trastornos de ansiedad, trastorno por déficit de atención con hiperactividad (ADHD) y trastorno de estrés postraumático, así como en el mecanismo de las farmacoterapias antidepresivas / ansiolíticas. Su implicación en procesos fundamentales de desarrollo del cerebro, conectividad y plasticidad identifica la 5-HT como un factor crítico en la modulación de la cognición y la emoción, así como en las respuestas fisiológicas y conductuales al estrés (Gutknecht et al., 2015; Whitney et al., 2016).

El sistema serotonérgico juega un papel en comportamientos que implican una alta demanda cognitiva. Los receptores de serotonina se encuentran en las regiones del cerebro involucradas en el aprendizaje y la memoria, incluyendo la corteza, la amígdala y el hipocampo (Jenkins et al., 2016).

Evidencia vincula la 5-HT con el comportamiento impulsivo y agresivo como el principal determinante del control de la agresión. Varias regiones del córtex frontal y cíngulo, la

amígdala, el septo, el hipotálamo y la sustancia gris periaqueductal están entre las mejor documentadas en estar involucradas en el circuito neuronal de la agresión. Las fibras serotonérgicas se expresan extensamente a cada una de estas regiones, y está bien establecido que tanto la agresividad como el aumento de impulsividad se asocian con la deficiencia de 5-HT del cerebro (Gutknecht et al., 2015).

Las líneas convergentes de evidencia sugieren que el equilibrio del sistema de 5-HT juega un papel crítico en la plasticidad sináptica de una multitud de redes neuronales, estableciendo así el escenario para la expresión de rasgos complejos y sus comportamientos asociados durante el desarrollo y la vida adulta dependiendo sobre el metabolismo de 5-HT del individuo (Gutknecht et al., 2015).

1.4.3.6.1.1.1 L-Trp

El triptófano (Trp) es un aminoácido esencial que se encuentra en muchos alimentos a base de proteínas y proteínas de la dieta, incluyendo carnes, productos lácteos, frutas, y semillas (Jenkins et al., 2016). Por su estructura química se engloba como un aminoácido neutro grande (Triptófano, Tirosina, Arginina, Leucina, Isoleucina, Valina, Metionina, Treonina) (Cubero et al., 2006).

Tras la entrada en el organismo del triptófano con la alimentación, sus niveles circulantes están influenciados por la dieta, en particular través de macronutrientes como los carbohidratos y las proteínas (Cubero et al., 2006).

El alto índice glicémico y las comidas de alta carga glicémica aumentan la disponibilidad de triptófano. Los niveles de triptófano en plasma se determinan mediante un equilibrio entre la ingesta dietética, y su eliminación del plasma como parte de su papel esencial en la biosíntesis de proteínas. Aparte de su papel en la formación de proteínas, el triptófano es un precursor de una serie de metabolitos, especialmente la kynurenina y el neurotransmisor, la serotonina (Jenkins et al., 2016).

El triptófano es el único precursor de la serotonina periférica y de la producida centralmente. Sin embargo, la segunda vía metabólica más prevalente del triptófano

después de la síntesis de proteína es la síntesis de kynurenina, que representa aproximadamente el 90% del metabolismo del triptófano (Jenkins et al. 2016).

Los aminoácidos, incluyendo L-leucina, L-glutamina y L-Fenilalanina modulan el apetito y / o la glucemia en sujetos delgados, obesos o diabéticos tipo 2 (Zanchi et al., 2016).

Se ha demostrado que la mayoría de los aminoácidos inducen un aumento de la insulina (posiblemente debido a un aumento de GLP-1), los aminoácidos podrían ser una de las señales del intestino que interactúan con el cerebro a través de los péptidos de saciedad (Zanchi et al., 2016).

Aparte de las modificaciones cerebrales relacionadas con el sistema de comida-recompensa, se infiere que el L-triptófano tiene una influencia en las funciones cognitivas y la regulación del estado de ánimo. De echo, como lo demuestran diferentes estudios que manipulan los niveles de serotonina, los cambios en la actividad en las regiones prefrontales pueden afectar el control cognitivo y el procesamiento emocional (Zanchi et al., 2016).

La modulación del L-triptófano conduce a cambios en la red neuronal por defecto (RND) que pueden reducir el estado de animo depresivo. Siguiendo ésta interpretación los cambios en la RND y la red de saliencia (RS) después de la ingesta de L-triptófano puede estar vinculado a cambios en las funciones cognitivas y el procesamiento de emociones (Zanchi et al., 2016).

Solo menos del 1% del Trp de la dieta se utiliza para la síntesis de proteínas, ya que la cantidad sintetizada compensa por la degradada. Por lo tanto, la mayor parte del Trp en la dieta se metaboliza, la vía cuantitativamente mas importante es la KP hepática (oxidativa), que representa mas del 95% de la degradación de Trp (Badawy 2015).

La Trp 2,3-dioxigenasa (TDO, antes Trp pirrolasa) es la primera y la enzima limitante de esta vía. La TDO existe en hígados humanos, ratas, ratones y algunas otras especies animales en dos formas: la holoenzima activa que contiene hemo y la apoenzima inactiva sin hemo en una proporción de $\sim 1:1$ (Badawy, 2015).

Algunas otras especies, por ejemplo gato, rana, gerbil, hámster dorado, conejillo de indias, buey, conejo y oveja, carecen de la apoenzima TDO libre y del mecanismo de inducción de glucocorticoides y son sensibles a la toxicidad del exceso de Trp (Badawy, 2015).

Estas especies deficientes en TDO son por lo tanto inadecuadas como modelos animales de enfermedades humanas relacionadas con Trp (Badawy, 2015).

La síntesis de serotonina se produce en la periferia dentro de las neuronas intestinales y las células enterocromafines, y centralmente dentro de las neuronas del rafe (núcleo de rafe) en el tronco cerebral.

Para que ocurra la producción central de serotonina, el triptófano necesita primero acceder al sistema nervioso central (SNC) a través de la barrera hematoencefálica. El triptófano es un sustrato para el gran sistema de transporte de aminoácidos neutros y compite por el transporte con varios otros aminoácidos esenciales para la función cerebral.

Es generalmente aceptado que la mayor parte de nuestro triptófano está ligado a la albúmina del plasma y por lo tanto no está disponible para el transporte hacia el cerebro (Jenkins et al., 2016).

La pequeña fracción (5% - 10%) de Trp circulante que no está enlazada a la albúmina está libremente disponible para absorción por órganos y tejidos (Badawy, 2015).

La mayor parte del 5-HT en el cuerpo se sintetiza en la periferia por la isoforma TPH1, mientras que TPH2 participa en la síntesis de 5-HT neuronal (Badawy 2015).

Una vez en el SNC, el L-triptófano es hidroxilado a 5-hidroxitriptófano (5-HTP) por la enzima triptófano hidroxilasa tipo 2, el paso limitante de la velocidad en la síntesis de serotonina cerebral. Esto es seguido por la descarboxilación posterior implicando la enzima L-aminoácido aromático descarboxilasa a serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) (Badawy, 2015; Jenkins et al., 2016).

La serotonina es entonces recogida en vesículas por el transportador monoamina vesicular isoforma 2 de las neuronas de rafe (Jenkins et al., 2016).

Debido a que la TPH está insaturada con su sustrato Trp, La síntesis cerebral de 5-HT está limitada por la disponibilidad de Trp circulante hacia el cerebro, que está controlada principalmente por la actividad de TDO hepática y secundariamente por el grado de la competencia para entrar hacia el cerebro, principalmente de cinco aminoácidos de competencia (CAA), a saber valina, leucina, isoleucina, fenilalanina y tirosina, y unión de Trp a la albúmina. Por lo tanto, la disponibilidad de Trp al cerebro se expresa como la relación libre o total $[Trp]/[CAA]$ (Badawy, 2015).

La degradación de la serotonina es a través de la monoamina oxidasa tipo A y la aldehído deshidrogenasa al principal metabolito de la serotonina, el ácido 5-hidroxiindolacético (5HIAA). Los niveles de serotonina también están influenciados por la enzima degradante del triptófano, la indoleamina 2,3-dioxigenasa (IDO) y la tetrahidrobiopterina, el cofactor de la triptófano hidroxilasa (Jenkins et al., 2016).

La producción de serotonina en el sistema nervioso central, representa solamente el 5% de la síntesis total de serotonina, con la gran mayoría de serotonina producida en la periferia (Jenkins et al., 2016).

2. JUSTIFICACION

Además de degradar la calidad de vida de la persona que lo padece, la diabetes mellitus y sus complicaciones son una de las principales causas de muerte en el mundo. Se han documentado varias complicaciones de la diabetes mellitus, una de ellas es un riesgo mayor de deterioro cognitivo, asociado con un control glucémico deficiente, complicaciones microvasculares y comorbilidades como hipertensión, dislipidemia y depresión. La actividad de la $\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{-ATPase}$ se encuentra reducida en las neuronas en individuos con diabetes mellitus y además, se ha propuesto que en la diabetes mellitus existe reducción en la síntesis de serotonina, la cuál como ya se ha mencionado incrementa la actividad de la bomba de sodio y potasio. No se conoce si mediante la administración de l-triptófano precursor de la síntesis de serotonina se pueda revertir la disminución de la actividad de la bomba de sodio y potasio en la corteza cerebral de ratas con diabetes mellitus experimental por lo cual proponemos la siguiente:

3. HIPÓTESIS

La administración de L-Triptófano modifica la actividad de la bomba de sodio y potasio en corteza cerebral de ratas con diabetes mellitus experimental.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Determinar si la administración de L-Trp. a ratas con diabetes mellitus experimental modifica la interacción en la bomba de sodio y potasio en corteza cerebral.

4.2. Objetivos específicos

- Implementar el modelo de diabetes mellitus experimental (DME) en ratas.
- Evaluar el efecto de la administración de L-Trp sobre la actividad de la bomba de sodio y potasio en corteza cerebral de ratas con DME.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Animales

Para este estudio se utilizaron ratas macho adultas de la Cepa Wistar de un peso de 300 ± 20 g. Los animales se mantuvieron en condiciones ambientales estándar de bioterio: ciclos de luz-oscuridad de 12h cada uno (luz de 07:00-19:00h), humedad relativa de 60% y temperatura de 20-24°C, con alimento Purina Chow® y agua *ad libitum*.

5.2. Inducción de diabetes mellitus experimental (DME)

Para la inducción de la DME se administró estreptozotocina (STZ) Sigma® en dosis única de 55mg/kg de peso vía intraperitoneal (i.p.). A los animales control se les administró el vehículo únicamente. La concentración de glucosa en sangre se determinó al inicio y, a las 48h posteriores al tratamiento con STZ, con un glucómetro (One Touch Ultra), para determinar si los animales presentaban hiperglucemia y corroborar que la inducción de la DME fue correcta.

5.3. Estimulación del sistema serotorinérgico.

Con el fin de estimular el sistema serotorinérgico y observar cambios en la actividad de la bomba de sodio y potasio, se les administró L-Triptófano (Sigma), en dosis de 100mg/kg de peso vía intraperitoneal durante 5 días y sacrificados al sexto día. Los grupos se formaron de la siguiente manera: el control (CTL) al que solo se administró el vehículo; el control con dosis en etapa aguda (CTL + L-Trp), se le administró L-Trp al inicio de la tercera semana del esquema de DME; el grupo con DME, se le administró el vehículo; el grupo con DME con dosis en etapa aguda (DME + L-Trp) se le administró L-Trp al inicio de la tercera semana del esquema de DME.

5.4. Evaluación de la percepción gustativa de modalidad dulce

A cada grupo se les proporcionó una solución de sacarosa al 10% y agua potable para medir su consumo en un lapso de 24h previo a la inducción de la DME y posteriormente cada semana durante las diferentes etapas del desarrollo de la DME a los grupos control,

diabéticos y tratados con L-Trp.

5.5. Monitoreo de la ingesta alimenticia

El consumo de alimento es importante en los animales con DME, ya que pueden presentar polifagia, una de las características de la DME. Por lo que se monitoreó el consumo de alimento a todos los grupos (control, control con L-Trp, DME y DME con L-Trp) en un periodo de 24h cada 7 días durante el tiempo del experimento, así como antes y después de la administración del L-Trp.

5.6. Peso corporal

Un signo característico que se puede hacer presente en la DM es la pérdida de peso, por lo que se les realizó un seguimiento del peso corporal previo y durante las etapas del esquema hasta el término del mismo a todos los animales.

5.7. Nivel de glucemia

Se realizó la medición de los niveles de glucosa periférica con un glucómetro (One Touch Ultra) antes de la administración del L-Trp, esta medición se realizó a todos los grupos. La medición final de glucosa se realizó con la extracción de muestra sanguínea directa del corazón al momento del sacrificio.

5.8 Perfil de lípidos

Se llevó a cabo la medición de los niveles de colesterol, triglicéridos, lípidos totales, colesterol de baja densidad (LDL), colesterol de muy baja densidad (VLDL) en la sangre obtenida del corazón al momento de sacrificio de los animales de los respectivos grupos control, control tratados con L-Trp, DME y DME tratados con L-Trp.

5.9. Obtención de tejidos

Al comienzo de la cuarta y octava temporada de inducción de la DME, 24h después de la última administración de L-Trp, se sacrificaron a los animales de los grupos control, control con L-Trp, DME y DME tratados con L-Trp, mediante fractura cervical. Posteriormente se

realizó una incisión media torácica exponiendo el corazón para la perfusión en el ventrículo izquierdo con solución salina isotónica fría al 0.9%, para remover la sangre de los tejidos. Las ratas se decapitaron y de inmediato se les extrajo la lengua, para obtener por micro-disección la papila caliciforme, así como la corteza cerebral, el cerebelo y el tallo cerebral, para ser homogeneizados a 10 volúmenes de Tris-HCl 50mM pH 7.4, y luego ser congelados.

5.10. Valoración de proteínas por el método de Lowry

Para la determinación de proteína se utiliza el método modificado de Lowry (Lowry et al, 1951) .Se colocaron 0,16g de Na_2CO_3 en un vial y se agregan 8ml de NaOH 0.1N. En otro vial colocaron 80 μl de $\text{NaK}(\text{C}_4\text{O}_6\text{H}_4)$ y 80 μl de CuSO_4 . Se agregó la solución de 0,16g de Na_2CO_3 y 8ml de NaOH 0.1N en la solución de $\text{NaK}(\text{C}_4\text{O}_6\text{H}_4)$ y 80 μl de CuSO_4 este es el “reactivo A”. Se preparó una batería de tubos por triplicado de variando concentraciones de albúmina bovina granulada al 0.1% de la siguiente manera:

Tabla 1. Volúmenes de albúmina y agua tri destilada en la batería para el método de Lowry (μl)

Albúmina (μl)	H_2O tri destilada (μl)
0	100
10	90
20	80
30	70

Se colocó en cada tubo 500ml de “reactivo A”, dejando reaccionar durante 10'. Se preparó una dilución de 800 μl de folin y 800 μl de H_2O tri destilada. Transcurridos los 10' se agregó a cada tubo 100 μl de la dilución de folin y se dejó reaccionar durante 30'. Se realizó la lectura en el espectrofotómetro a 750nm usando como blanco H_2O tridestilada. Con los

valores obtenidos se creó una gráfica para obtener la concentración de proteína del tejido a utilizar.

Con cada muestra se preparó 10µl del tejido homogeneizado en 50µl de agua tri destilada y se utilizaron 10µl de éstas en lugar de la albumina agregando 90µl de agua, realizando el mismo procedimiento anterior. El resultado obtenido se extrapola en la gráfica de albúmina para obtener la concentración de proteína del tejido a utilizar.

5.11. Actividad de ATPasa mediante la determinación del Pi liberado

La actividad de la Na^+/K^+ ATPasa se mide con el método utilizado por Mercado y Hernandez (Peña et al, 1999). Por muestra de tejido se preparó 2 tubos por triplicado (Total “T” y Ouabaina “O”). En “T” se colocó 100µl de stock (En partes iguales: Tris-HCl 400mM pH 7.4, MgCl_2 6mM, KCl 15mM, NaCl 120mM), 25µl de H_2O tri destilada. En “O” se colocó 100µl de stock y 25µl de ouabaina 0,6mM. Se agrega en ambos “T” y “O” 25µl de tejido preparado (tejido y trizma 50mM) y se colocan en una incubadora a 37°C y 150 rpm durante 5'. Se agregó en cada tubo 50µl de ATP 12mM y se regresa nuevamente a la incubadora durante 10'. Pasado el tiempo se agregó 20µl de ácido tricloroacético (TCA) a cada tubo y se los coloca en un baño de hielo durante 10'. Se centrifugaron los tubos durante 10' a 3500 rpm y se tomaron 100µl de sobrenadante (donde se lleva a cabo la determinación de P_i , producto de la hidrólisis del ATP) que se recibe en tubos con 400µl de H_2O tri destilada. Se preparó una batería de tubos por triplicado variando las concentraciones de fosfatos (KH_2PO_4 diluidos 1:10) de la siguiente manera:

Tabla 2. Volúmenes de fosfatos y agua tri destilada para determinación de Pi liberado (µl)

Fosfatos (µl)	H ₂ O tri destilada (µl)
0	500
25	475
50	450
75	425
100	400

Se pesó 0,8761g de FeSO₄ y se disolvió en 11,5ml de solución de MoNH₄, se agrega 500µl a cada tubo de la batería de fosfatos y los de sobrenadante, una vez pasados 10' se realizó la lectura en espectrofotómetro a 800nm usando agua tri destilada como blanco. Los valores de actividad se obtienen interpolando “T” y “O” con la gráfica de fosfatos, a partir de la diferencia entre la actividad total y la obtenida en presencia de ouabaina.

Al realizar una curva dosis-respuesta con fármaco (serotonina) se realiza el mismo procedimiento descrito anteriormente con unos ligeros cambios: Se colocaron 105µl de stock, 10µl de pargilina y 25µl de tejido y se incubó a 37°C y 150 rpm durante 5 minutos, después se agregó 10µl de serotonina y se incubó de nuevo a 37°C y 150 rpm, se agregó el ATP y se continuó de igual forma que el procedimiento anterior. Éste valor (T₁) sustituye a T en la gráfica de fosfatos.

Se utiliza serotonina para examinar si se obtienen resultados similares in vitro que con la adición de su precursor (L-trp) en el modelo vivo y comparar su efectividad.

6. RESULTADOS

6.1 Implementación del modelo de DME

6.1.1. Glucosa en Sangre:

Para implementar el modelo DME se administró a un grupo de ratas una dosis de estreptozotocina (55mg/Kg de peso). Los animales a los que se indujo la DME presentan hiperglucemia después de la administración de estreptozotocina (48h), mientras que los niveles de glucosa de las ratas control se mantuvieron estables. En los modelos en que se administró L-Trp no se aprecian cambios significativos en los niveles de glucosa en sangre tanto en control como en DME (Figura 1).

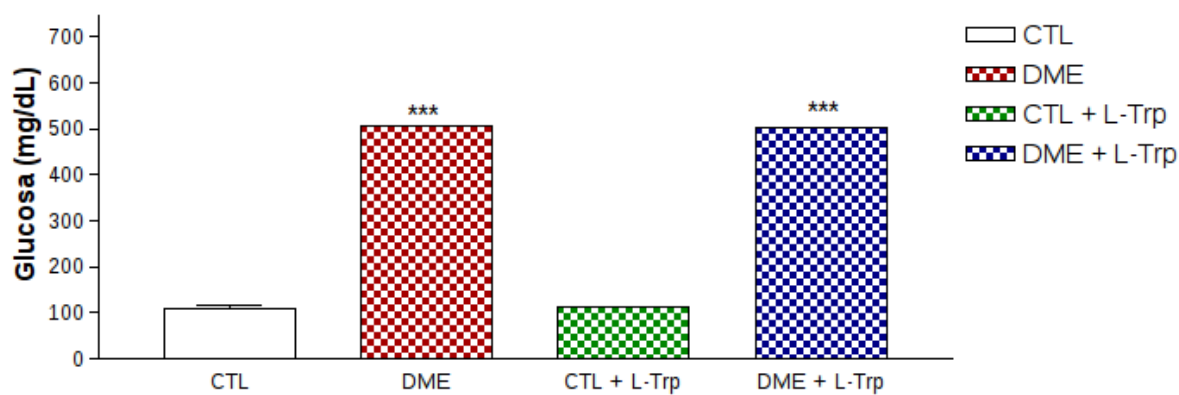


Figura 1. Niveles de glucemia en ratas. $\bar{X} \pm D. E.$

6.1.2. Perfil de lípidos

Los niveles de colesterol se muestra un incremento ligero en los grupos con DME. Los datos mostraron que las fracciones HDL y LDL se manifiestan con un valor mayor en los grupos DME respecto a los grupos control. En la fracción VLDL los animales de los grupos DME mostraron valores superiores a los promedio mostrados por el grupo control. Los niveles de triglicéridos de los grupos con DME mostraron valores superiores con respecto a los grupos control. El índice aterogénico se presentó superior en los animales con DME comparado con los valores obtenidos por los grupos control. Un valor en pruebas bioquímicas utilizado como referencia para saber si un individuo con DM está llevando adecuados niveles de glucosa en sangre es la hemoglobina glicosilada, en donde los valores de los animales con DME se observa un incremento de este valor respecto a los mostrados por animales control.

Tabla 3. Pruebas bioquímicas.

Parámetro	Unidad	CTL	CTL + L-Trp	DME	DME + L-Trp
Glucosa	mg/dL	109 ± 10.58	112 ± 2.65	505.5 ± 4.9	504 ± 17.78
Colesterol	mg/dL	42.33 ± 9.71	66.33 ± 11.6	96.5 ± 0.71	111 ± 19.7
Colesterol HDL	mg/dL	33.73 ± 1.23	58.33 ± 13.4	84.5 ± 4.03	65.57 ± 10.3
Colesterol LDL	mg/dL	32.4 ± 7.89	43.67 ± 22.3	67.15 ± 9.7	116.77 ± 28.6
Colesterol VLDL	mg/dL	23.8 ± 2.99	22.33 ± 1.86	55.1 ± 4.95	71.33 ± 18.22
Trigliceridos	mg/dL	119 ± 15	111.67 ± 9.3	275.5 ± 24.7	356.67 ± 91.1
Lípidos totales	g/L	2.904 ± 0.11	3.44 ± 0.76	6.7 ± 0.45	7.78 ± 1.28
Índice aterogénico		0.96 ± 0.27	0.72 ± 0.21	0.8 ± 0.15	1.77 ± 0.24
Hb glicosilada	%	3.9 ± 0.1	4.23 ± 0.65	8.25 ± 0.07	6.67 ± 0.25

6.1.3. Percepción gustativa

Se llevó a cabo la evaluación de la percepción gustativa poniendo a disposición dos tipos de

bebidas, una de agua potable y otra de solución de sacarosa al 10% y observando la preferencia de los animales.

Tanto en las ratas control como las DME previas a la inducción, se observó preferencia por la solución de sacarosa, incluyendo a los grupos a los que se administró L-Trp (Figura 2).

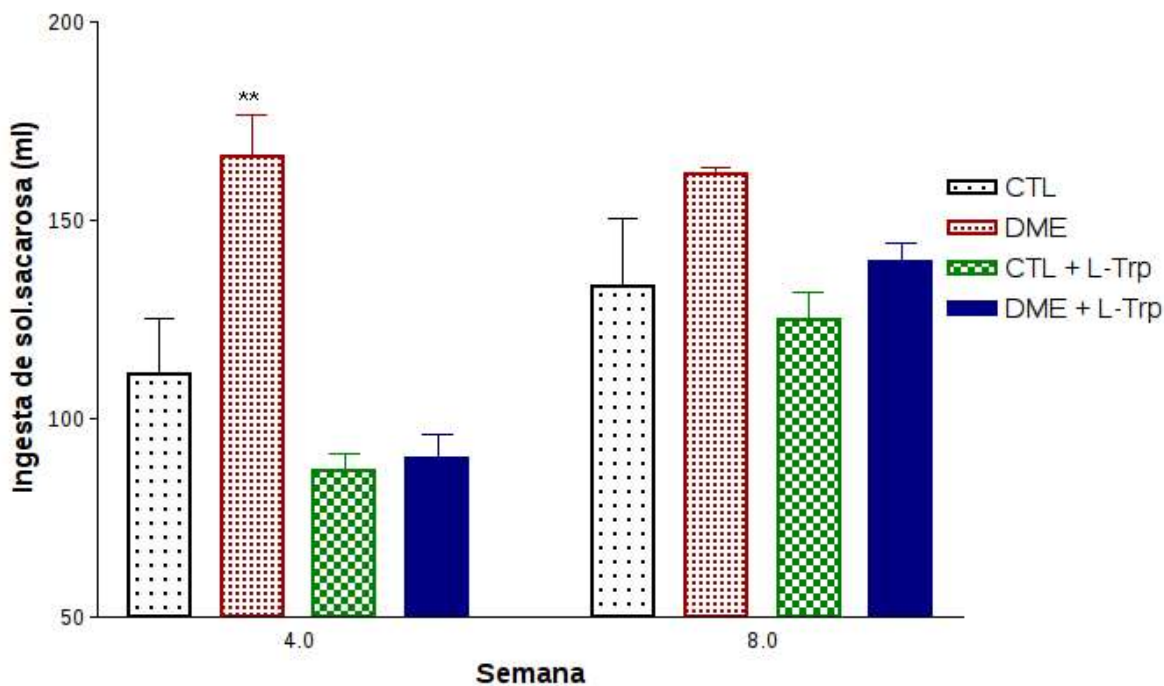


Figura 2. Consumo de solución de sacarosa. $\bar{X} \pm D. E.$, de 5 ratas por grupo.

Después de la inducción todos los grupos siguieron teniendo preferencia por la solución de sacarosa, pero en el caso de ambos grupos DME aumentó el consumo de líquidos en general tanto en agua como en solución de sacarosa comparado con los grupos control.

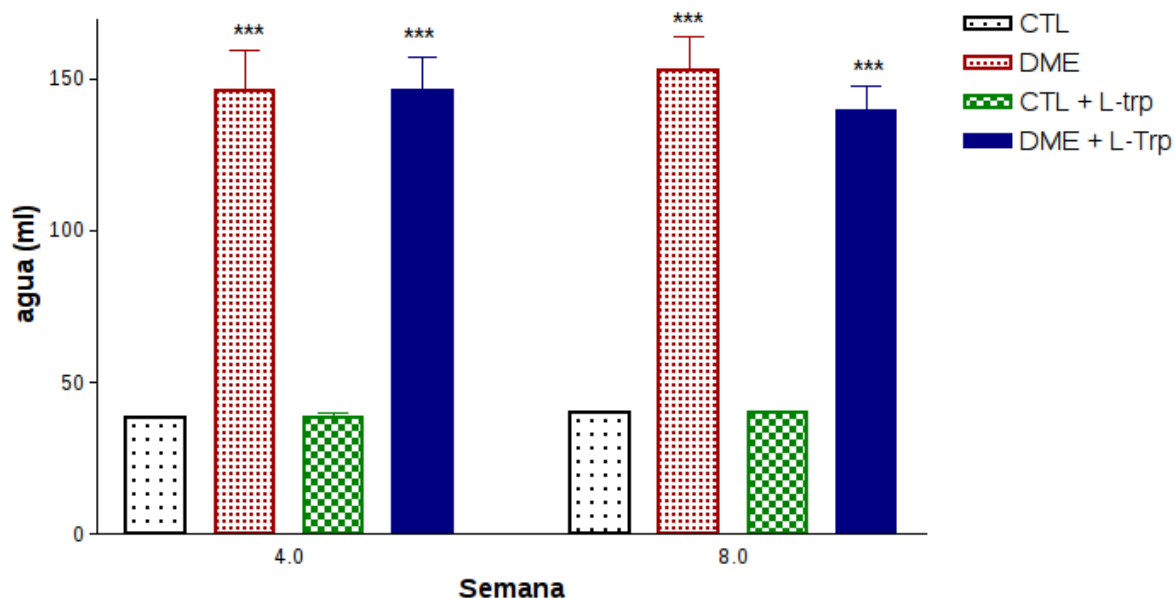


Figura 3. Consumo de agua. $\bar{X} \pm D. E.$, de 5 ratas por grupo.

6.1.4. Consumo de alimento

La ingesta de alimento fue monitorizada ofreciendo una cantidad conocida de alimento (Purina Chow?) midiendo el sobrante en un periodo de 24 horas. Previo a la inducción de DME el promedio de consumo es de 26.33g en todos los grupos, después de la inducción y a lo largo del esquema se observó un aumento en el consumo de alimento en los grupos DME mientras que en los grupos control disminuyó el consumo de alimento cuando se agregó la solución de sacarosa.

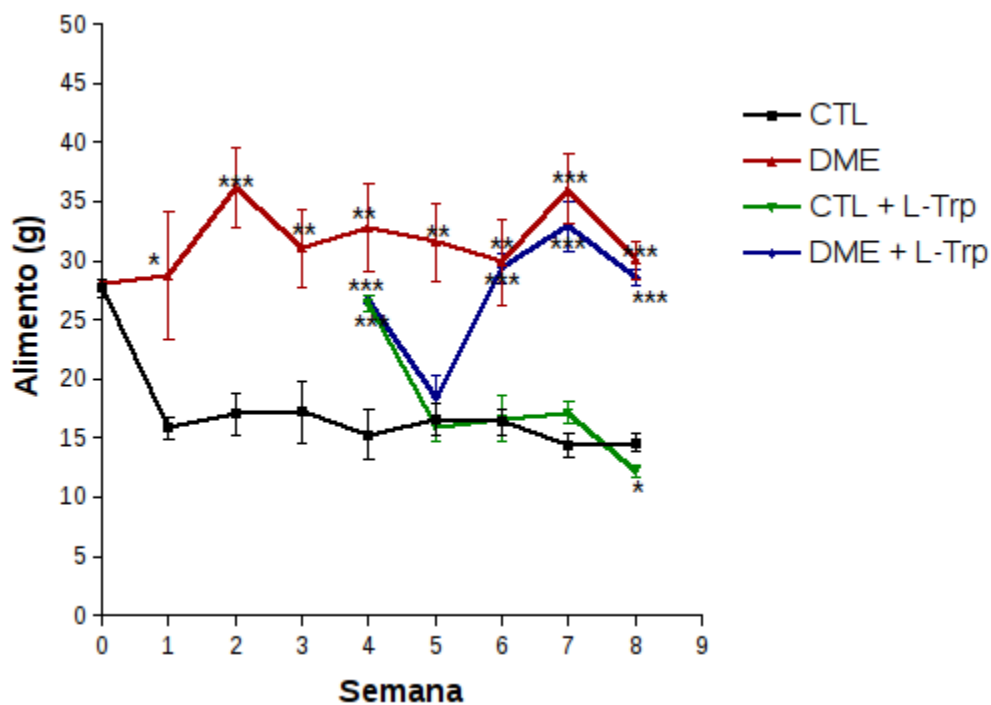


Figura 4. Consumo de alimento. $\bar{X} \pm D. E.$, de 5 ratas por grupo.

6.1.5. Peso corporal

Se monitorizó el peso de los animales antes y después de la administración de estreptozotocina, previa la administración no hay mucha diferencia en el peso de los grupos, durante las siguientes semanas se observa un aumento progresivo en el peso de los grupos control mientras que en los grupos DME hay unos pocos cambios en el peso corporal, pero se mantiene estable.

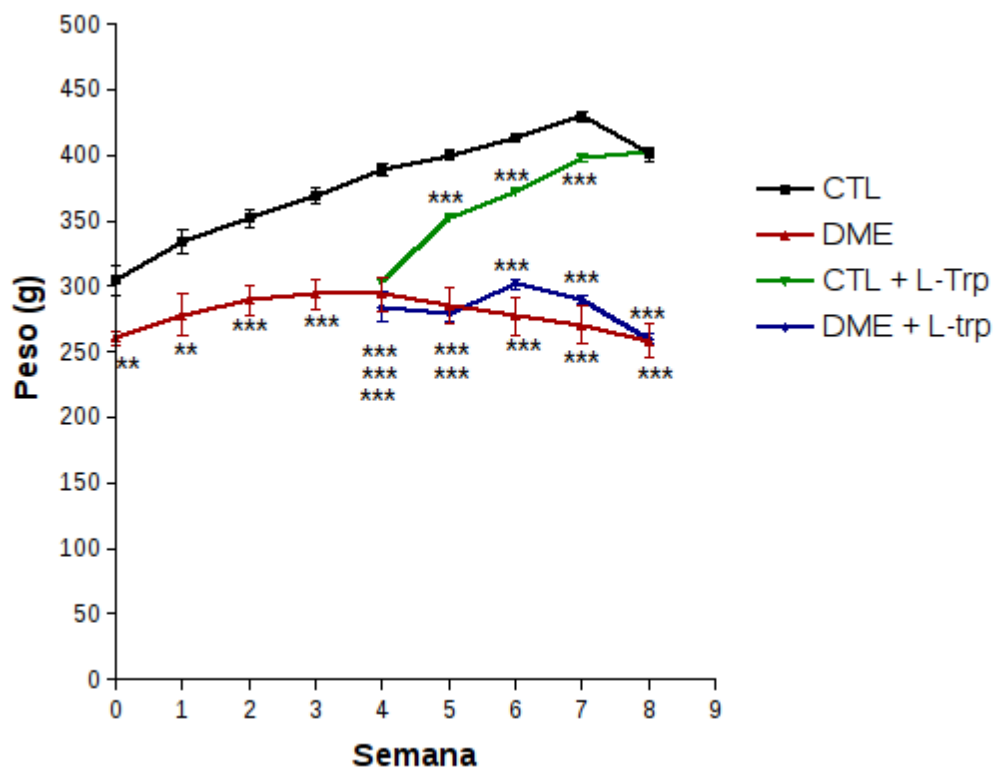


Figura 5. Peso corporal. $\bar{X} \pm D. E.$, de 5 ratas por grupo.

6.2. Actividad de la bomba de sodio y potasio

Para la determinación de la actividad específica de la bomba de sodio y potasio se prepararon 8 muestras de tejido (corteza cerebral) distintas: los tejidos originales obtenidos (CTL, DME, CTL+L-Trp y DME+L-Trp) y los mismos con adición de 5-HT. Se mide el fosfato liberado en la desfosforilación del ATP que ocurre durante la acción de la bomba de sodio y potasio.

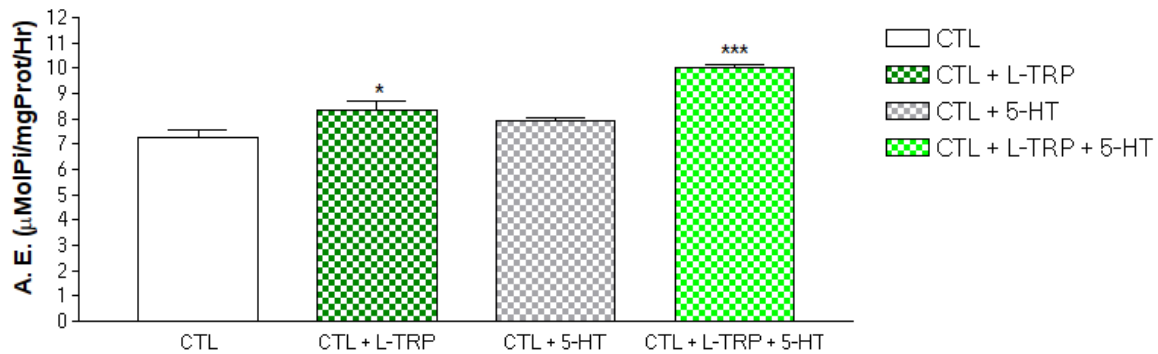


Figura 6. Actividad de la bomba de sodio y potasio en corteza cerebral de ratas del grupo CTL. $\bar{X} \pm D. E.$, de 5 ratas.

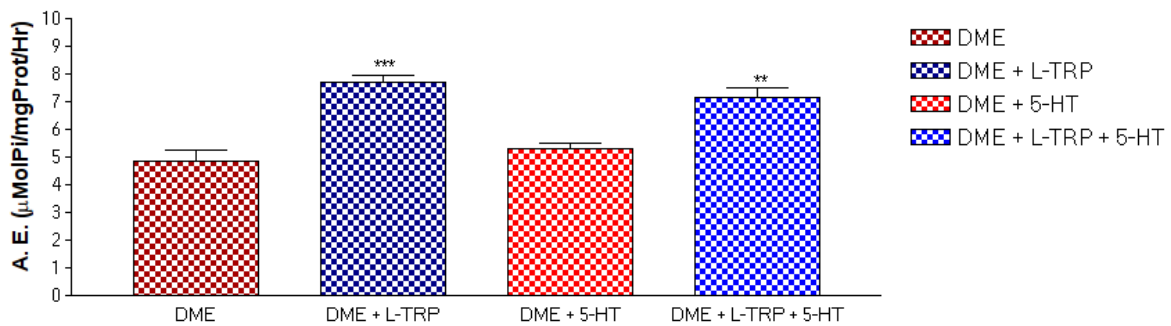


Figura 7. Actividad de la bomba de sodio y potasio en corteza cerebral de ratas del grupo DME. $\bar{X} \pm D. E.$, de 5 ratas.

La actividad específica (A. E.) control es 7.29 ± 0.97 , en DME la actividad se ve reducida a 4.88 ± 0.72 . En el caso de CTL + L-Trp, se puede observar un pequeño aumento de actividad específica (8.36 ± 0.84) con respecto a CTL, mientras que en CTL + 5-HT no hay un cambio significativo (7.92 ± 0.32), en CTL + L-Trp + 5-HT se encuentra un aumento significativo de la actividad llegando a 10.002 ± 0.367 . En DME + 5-HT no se observa un mayor cambio (5.31 ± 0.42), mientras que en DME + L-Trp + 5-HT (7.17 ± 0.68) y DME + L-Trp hay un aumento significativo de actividad, llegando el último a 7.706 ± 0.751 siendo bastante similar a CTL.

7. DISCUSIÓN

Las ratas expuestas a estreptozotocina (STZ), disminuyeron de peso corporal, mostraron también un mayor consumo de alimento, incremento de consumo de líquidos totales, incremento de glucosa en sangre, polidipsia y polifagia, todo esto concordante con la diabetes mellitus, lo cual nos indica que nuestro grupo de ratas administradas con STZ efectivamente adquirieron las características propias de la patología, esto debido a que la estreptozotocina tiene la capacidad de destruir selectivamente las células β del páncreas (Chatzigeorgiou, 2009; Rees y Alcolado, 2005). La muerte de las células β pancreáticas anula la liberación de insulina al torrente sanguíneo y con esto se elevan los niveles de glucosa en sangre (Szkudski, 2001; Lenzen, 2008). Estos datos coinciden con los reportados en experimentos donde la STZ fue utilizada en ratas como modelo de DME (Yang y Wright, 2002; Usuki, y Col., 2007). En experimentos previos observamos que el grupo experimental inducido con STZ presento cambios en los parámetros bioquímicos como el perfil de lípidos donde hay un aumento significativo en los triglicéridos, colesterol y VLDL; es importante realizar el perfil de lípidos, ya que en un paciente con diabetes tipo 2, el perfil anormal de las lipoproteínas que acompaña a la resistencia insulínica, conocido como dislipidemia diabética, explica en parte el riesgo cardiovascular elevado (Longo y col, 2012).

En el sistema nervioso central, la Na^+/K^+ -ATPasa es responsable del transporte activo de cationes monovalentes hacia ambos lados de la membrana celular para mantener el gradiente iónico necesario para la excitabilidad neuronal (Calderón y Col., 2008). En el caso de las ratas con DME en el que la actividad de la Na^+/K^+ -ATPasa de corteza cerebral se ha reducido considerablemente por una disminución de la biosíntesis de 5-HT, debido a una inhibición de la triptófano-5-hidroxilasa (TPH) secundaria a cambios en su cinética y déficit en su capacidad de fosforilación (Manjarrez-Gutiérrez y col, 2014), con los agonistas 5-HT y bupiriona se recupera la actividad casi completamente en el caso de la bupiriona, favoreciendo la teoría de un fármaco para las alteraciones serotonérgicas en este caso desencadenado por la DME y no solo en corteza sino que también en papilas, ya que se ha demostrado que una de las manifestaciones de la neuropatía periférica causado

por esta enfermedad es la pérdida en la sensibilidad a los estímulos gustativos debido al aumento en la degeneración de las fibras gustativas y por consecuencia la disminución en la expresión de los receptores para el sabor dulce (Rosales-García y Col., 2014) .

Se prepararon tejidos con serotonina a modo de control para analizar si hay una diferencia sobre la actividad de la $\text{Na}^+ \text{K}^+$ ATPasa comparado con la adición de su precursor L-Trp. En las muestras CTL y DME con la adición de serotonina, no se percibe un mayor cambio de actividad de la bomba.

Con la muestra de tejido CTL + L-Trp + 5-HT se nota un aumento mayor en la actividad que solamente con L-Trp o 5-HT, parece que tienen un mejor efecto de manera conjunta que individual. No es así en el caso del tejido DME + L-Trp + 5-HT que presenta una actividad menor que DME + L-Trp. Aparentemente se presenta una mejor actividad en la bomba de sodio y potasio administrando el L-Trp en el animal vivo, que utilizando la 5-HT en el tejido obtenido.

La actividad de la $\text{Na}^+ \text{K}^+$ ATPasa en DME + L-Trp es muy similar a la que se encuentra en CTL, un resultado muy alentador en la lucha contra la diabetes mellitus y sus complicaciones.

Incrementar la relación libre o total $[\text{L-Trp}]/[\text{CAA}]$ puede aumentar la disponibilidad de L-triptófano en el cerebro para la síntesis de serotonina, ayudando a restaurar los cambios producidos en el sistema serotoninérgico por la diabetes mellitus, y apoyar a la bomba de sodio y potasio a mantener el potencial de membrana en las neuronas de individuos diabéticos. Esto a su vez podría ayudar a conservar en buen estado varias funciones cerebrales como la regulación del sueño, el comportamiento sexual, el estado de ánimo, la función cognitiva, entre otras.

8. CONCLUSIONES

La estimulación del sistema serotorinérgico incrementó la actividad de la bomba de sodio y potasio en corteza cerebral de ratas con DME.

9. BIBLIOGRAFIA

- Badawy A. 2015. Tryptophan metabolism, disposition and utilization in pregnancy. *Bioscience Reports*, 35 (5): e00261-e00261.
- Balderas I. 2015. Diabetes, obesidad y síndrome metabólico. Un abordaje multidisciplinario. 1st ed. México, D.F. El Manual Moderno. Pág 4 p.34.
- Calderón Guzmán D., Hernández García E. y Barragán Mejía G. 2008. La actividad de Na⁺,K⁺ ATPasa en cerebro puede ser un marcador de estrés oxidativo. *Arch Neurocién (Mex)*. Vol. 13, No. 1: 31-34.
- Chatzigeorgiou A. 2009. The use of animal models in the study of diabetes mellitus. *In vivo*, 23:245-258.
- Cubero J., Rodríguez A. B., Narciso D., Valero V., Paredes S., Sánchez J., Barriga C. 2006. ANOTACIONES BÁSICAS SOBRE EL AMINOÁCIDO TRIPTÓFANO. *Enfermería Global*, 8: pp. 1-6.
- Duque Parra J. E., Muñoz Cuervo A., Morales Parra G., Moscoso Ariza O. H. 2011. Anatomía Neurológica con orientación clínica. Manizales, Colombia. Salamandra Servicios Editoriales. pp. 20-39.
- Esquivel Garcia R., Lara Ramirez L., Bautista Garcia C. S., Mercado Camargo R. 2012. Actividad de la bomba de sodio y potasio en cerebelo de ratas con diabetes mellitus experimental. *Biológicas*, 14(2): 90-96.
- Fernández G., Jardón A., Figueroa J. L. 2006. MODELOS EXPERIMENTALES UTILIZADOS PARA EL ESTUDIO E INVESTIGACIÓN DE LA DIABETES MELLITUS. Queretaro, Queretaro, México. 2º Congreso Nacional de Química Médica. p.1.
- Figueroa C., Pérez I. H., Mejía Z. 2013. Caracterización de un modelo de diabetes tipo 2 en ratas Wistar hembra. *Rev. MVZ Córdoba*, 18 (Supl): 3699-3707.

- Gutknecht L., Popp S., Waider J., Sommerlandt F., Göppner C., Post A., Reif A., van den Hove D., Strekalova T., Schmitt A., Colaco M., Sommer C., Palme R., Lesch K. 2015. Interaction of brain 5-HT synthesis deficiency, chronic stress and sex differentially impact emotional behavior in Tph2 knockout mice. *Psychopharmacology*, 232(14), pp. 2429-2441.
- International Diabetes Federation. 2015. *IDF DIABETES ATLAS*. 7th ed. Bélgica, Bruselas. pp. 14-15.
- Jenkins T., Nguyen J., Polglaze K. Bertrand P. 2016. Influence of Tryptophan and Serotonin on Mood and Cognition with a Possible Role of the Gut-Brain Axis. *Nutrients*, 8(1), p. 56.
- Lenzen S. 2008. The mechanisms of alloxan and streptozotocin induced diabetes. *Diabetologia*, 51: 216-216.
- Longo D., Fauci A., Kasper D., Hauser S. y Jameson J. 2012. *Harrison. Principios de medicina interna* . Mc Graw Hill. Volumen 1. Pág. 1989.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Lewis A, and Randall RJ. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
- Manjarrez Gutiérrez G., Mondragón Herrera J.A., Neri Aguirre T., Boyzo Montes A. y Hernández Rodríguez J.A. 2014. Alteraciones serotoninérgicas cerebrales causadas por la diabetes. LVII Congreso Nacional Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas. Oaxaca, Oaxaca.
- Micheli F., Fernández M. 2010. *Neurología*. 2nd ed. Buenos Aires. Editorial Médica Panamericana. p.423.
- Moheet A., Mangia S., Seaquist E. 2015. Impact of diabetes on cognitive function and brain structure. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1353 (1): 60-71.
- Moore K., Dalley A., Agur A. 2010. *Anatomía con orientación clínica*. 6th ed. Barcelona, España. Wolters Kluwer – Lippincott Williams & Wilkins. pp. 46-878.

- Peña MT, Mercado R, and Hernández J.1999. Regulation of Glial Na⁺ /K⁺ -ATPase by Serotonin: Identification of Participating Receptors. *Neurochemical Research*. 24(5): 643-649
- Poretsky L. 2010. *Principles of Diabetes Mellitus*. 2nd ed. New York, USA. Springer, p. 19.
- Rees, D. y Alcolado, J. 2005. Animal models of diabetes mellitus. *Diabetic Medicine*, 22: 359-370.
- Rosales-García Pedro, Prieto-Sierra Judith, Esquivel-García Roberto, Bautista-García Claudia Susana, López-Vázquez Miguel Angel y Mercado-Camargo Rosalio. 2014. Efecto del L-Triptófano sobre la Percepción Gustativa Dulce y Expresión de Receptores T1R2/T1R3 en papila caliciforme de ratas con DME. LVII Congreso Nacional Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas. Oaxaca, Oaxaca
- Saladin K., Pineda Rojas E. 2013. *Anatomía y fisiología*. 6th ed. México, D.F. McGraw-Hill Interamericana. pp. 71-514.
- Szkudski T. 2001. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells. of the rat pancreas. *Physiol*, 50: 536-546.
- Thomas N., Kapoor N., Velavan J., K S. 2016. *A practical guide to diabetes mellitus*. 7th ed. Vellore, India. Jaypee Brothers. pp. 1-4.
- Usuki S., Ito Y., Morikawa K., Kise M., Ariga T., Rivner M., y col. 2007. Effect of pre-germinated brown rice intake on diabetic neuropathy in streptozotocin-induced diabetic rats. *Nutrición y Metabolismo*, 4: 1-11
- Williamson J., Launer L. Bryan R., Coker L., Lazar R., Gerstein H., Murray A., Sullivan M., Horowitz K., Ding J., Marcovina S., Lovato L., Lovato J., Margolis K., Davatzikos C., Barzilay J., Ginsberg H., Linz P., Miller M. 2014. Cognitive Function and Brain Structure in Persons With Type 2 Diabetes Mellitus After Intensive Lowering of Blood Pressure and Lipid Levels: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Internal Medicine*, 174 (3): pp.324-333.

- Whitney M., Shemery A., Yaw A., Donovan L., Glass J., Deneris E. 2016. Adult Brain Serotonin Deficiency Causes Hyperactivity, Circadian Disruption, and Elimination of Siestas. *Journal of Neuroscience*, 36(38), pp. 9828-9842.
- World Health Organization. 2016. Diabetes, nota descriptiva [en línea]. Centro de prensa. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/>
- World Health Organization. 2016. GLOBAL REPORT ON DIABETES. Ginebra, Suiza. p.6.
- Yang H., Wright J. 2002. Human (beta) cells are exceedingly resistant to streptozocin in vivo. *Endocrinology*, 143: 2491-2495.
- Zanchi D., Meyer-Gerspach A., Suenderhauf C., Janach K., le Roux C., Haller S., Drewe J., Beglinger C., Wölnerhanssen B., Borgwardt S. 2016. Differential effects of L-tryptophan and L-leucine administration on brain resting state functional networks and plasma hormone levels. *Scientific Reports*, 6: 35727.