



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS
DE HIDALGO**



**FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA
LABORATORIO DE NEUROBIOLOGÍA**

Tesis

**Actividad de la Na^+/K^+ -ATPasa en corteza cerebral y su relación con el
desarrollo del síndrome metabólico en ratas con dieta hipercalórica**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADO EN QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA**

Presenta:

p.Q.F.B. AARON NEFTALI GUZMAN ROJO

Director de tesis:

D.C. ROSALIO MERCADO CAMARGO

Morelia, Michoacán

Febrero 2023

DEDICATORIA

A mi madre[†], que espero se sienta orgullosa.

A mi padre, que me lo dio todo.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco principalmente al D.C. Rosalío Mercado por otorgarme la oportunidad de desarrollar mi trabajo de investigación en el laboratorio de Neurobiología y de esta forma abrir para mí las puertas de la investigación científica. Le agradezco la paciencia, la confianza, la enseñanza y las atenciones que recibí de su parte en los últimos años.

Al comité revisor de este trabajo de grado que avaló la calidad del mismo y aportó su experiencia y conocimiento para mejorarlo sustancialmente. Gracias M.C. Claudia Bautista, D.C Daniel Godínez, M. Judith Prieto, M.C Alma Rosa García y al D.C Rafael Ortiz.

A mi padre, que me dio los medios para realizar mi educación, que me apoyó en mis proyectos y en mi anhelo de realizar este trabajo y que nunca me ha faltado su cariño. A mi hermana Flor que también me ha dado su apoyo y cariño. A mi hermano Luis por hacerme compañía y ayudarme a descansar. A la familia de la que también he recibido apoyo de distintas formas.

Le quiero agradecer especialmente al QFB Maximino Flores, por ser mi instructor en el trabajo de laboratorio, por ser paciente y apoyarme en todo momento con cualquier inconveniente, por el tiempo y la energía que dedicó a que todo el trabajo experimental se hiciera bien y también por los buenos momentos que hemos compartido.

A mis compañeros del laboratorio, Karen, Miriam, Juan Pablo, Mariana y Ángel, por su apoyo fundamental en el desarrollo de este proyecto y por brindarme su compañía y amistad en el día a día. Sin su valiosa aportación este trabajo no sería posible.

A mis amigos de la licenciatura que durante estos años fueron grandes compañeros, me aguantaron en clases, me hicieron reír mucho y por los que esta etapa de mi vida será recordada con gran cariño: Tania, Jennifer, Nacho, Javier y Lupita. Pero principalmente quiero agradecerle a Paola, que ha sido mi soporte durante estos dos años, me escuchó y me acompañó cuando necesitaba fuerzas para continuar con mi camino, gracias.

ÍNDICE:

ÍNDICE DE FIGURAS	VIII
ÍNDICE DE TABLAS	IX
Lista de abreviaturas	X
Resumen.	XIII
Abstract.	XIV
1. Introducción.	15
1.1 Sistema Nervioso Central	15
1.1.1 Organización	15
1.1.1.1 Sistema nervioso central.....	15
1.1.1.2 Sistema nervioso periférico	17
1.1.2 Neurobiología celular.....	18
1.1.2.1 Neuronas.....	18
1.1.2.2 Glía	20
1.1.3 Neurotransmisión	21
1.1.3.1 Transmisión neurohumoral.....	22
1.1.3.2 Sinapsis neuronal	23
1.1.3.3 Neurotransmisores.	24
1.1.4 Metabolismo	27
1.1.4.1 Receptores de serotonina	29
1.2 Bomba de Na^+/K^+ -ATPasa	30
1.2.1 Estructura y función	30
1.2.2 Regulación	33
1.3 Síndrome metabólico	34
1.3.1 Definición	34

1.3.2 Etiología y Fisiopatología	35
1.3.3 Criterios Diagnósticos	36
1.3.4 Prevalencia	38
1.4 Diabetes Mellitus	39
1.4.1 Definición	39
1.4.2 Clasificación.....	39
1.4.2.1 Diabetes Mellitus de Tipo 1	40
1.4.2.2 Diabetes Mellitus Tipo 2	41
1.4.2.2.1 Fisiopatología de la Diabetes Mellitus de Tipo 2	42
1.4.2.2.2 Complicaciones Clínicas	43
1.4.2.3 Diabetes Mellitus Gestacional.....	44
1.4.2.4 Tipos Específicos de Diabetes Mellitus	45
1.4.3 Diagnóstico de la Diabetes Mellitus	45
1.4.4 Prevalencia.	46
2. Antecedentes.	48
3. Justificación.	51
4. Hipótesis.....	52
5. Objetivos	53
5.1 Objetivo General	53
5.2 Objetivos específicos.....	53
6. Materiales y métodos	54
6.1 Manejo de animales.....	54
6.1.1 Modelo experimental.....	54
6.2 Medición de parámetros in vivo.	55
6.2.1 Peso corporal.	55
6.2.2 Glucemia	55

6.2.3 Curva de tolerancia oral a la glucosa	56
6.2.4 Curva de resistencia a la insulina	56
6.3 Obtención de tejido.	56
6.4 Determinación de la actividad y la cinética enzimática de la bomba de Na^+/K^+ -ATPasa.....	57
6.4.1 Determinación de la concentración de proteína.	57
6.4.2 Determinación de la actividad enzimática por determinación de producto final.	60
6.4.3 Análisis estadístico	63
7. Resultados.....	64
7.1 Peso corporal	64
7.2 Glucosa en sangre.	64
7.3 Prueba de tolerancia a la glucosa.	65
7.4 Prueba de Resistencia a la Insulina.	66
7.5 Perfil de lípidos.....	67
7.6 Actividad enzimática de la Na^+/K^+ -ATPasa.	68
8. Discusión	69
9. Conclusión.....	73
10. Referencias.....	74

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Anatomía de la corteza cerebral	17
Figura 2. Detalle del axón neuronal.....	19
Figura 3. Estructura de la serotonina.....	27
Figura 4 Metabolismo de la serotonina.....	28
Figura 5. Estructura de la bomba de sodio/potasio-ATPasa	30
Figura 6. Los dominios transmembranales de la NKA	31
Figura. 7. Esquema de la reacción en el método de Lowry	58
Figura 8. Curva de calibración de proteína usando el método de Lowry (1952) usando BSA como estándar.	60
Figura 9. Peso corporal promedio por grupo por semana del modelo.	64
Figura 10. Niveles de glucosa promedio por semana de cada grupo	65
Figura 11. Prueba de tolerancia oral a la glucosa.....	66
Figura 12. Prueba de tolerancia oral a la glucosa.....	67
Figura 13. Comparación entre el perfil de lípidos de cada grupo	68
Figura 14. Actividad enzimática específica de la NKA en corteza cerebral por grupo.....	68

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Principales neurotransmisores del SNC...	25
Tabla 2. Criterios diagnósticos para el SM	37
Tabla 3. Valor nutrimental del alimento Nutricubos ® de la marca Purina ®.....	55
Tabla 4. Preparación de la curva de calibración para determinación de proteína.....	59
Tabla 5. Preparación de los tubos para la actividad enzimática	61
Tabla 6. Preparación de curva de calibración ATPasa y muestra.....	62

Lista de abreviaturas

5-HT	Serotonina
°C	Grados Celsius
ADA	Asociación Americana de Diabetes
ADP	Difosfato de adenosina
ALAD	Asociación Latinoamericana de la Diabetes
AMPc	Monofosfato cíclico de adenosina
ATP	Trifosfato de adenosina
BSA	Albúmina sérica bovina
CHO	Carbohidratos
CHO/AG	Carbohidratos/Ácidos grasos
Cl ⁻	Ion cloruro
cm	Centímetro
CTRL	Control
Cu ⁺²	Ion cúprico
dL	Decilitro
DM	Diabetes Mellitus
ECV	Enfermedad cardiovascular
FID	Federación Internacional de la Diabetes
g	Gramos
GABA	Ácido gamaaminobutírico
GPCR	Receptores ligados a proteínas G
h	Horas
HDL	Lipoproteínas de alta densidad

K ⁺	Ion potasio
K ₂ HPO ₄	Bifosfato de potasio
KCl	Cloruro de potasio
kg	Kilogramo
mEq/L	Miliequivalentes sobre litro
mg	Miligramo
MgCl ₂	Cloruro de magnesio
mL	Mililitro
mM	Milimolar
mV	Milivoltio
Na ⁺	Ion sodio
NaCl	Cloruro de sodio
NHLBI y la sangre	<i>National Heart Lungs and Blood Institute</i> (Instituto Nacional del corazón, pulmones y la sangre)
NKA	Bomba de sodio/potasio-ATPasa
nm	Nanómetro
OMS	Organización Mundial de la Salud
p/v	peso/volumen
PKA	Proteína cinasa A
PKC	Proteína cinasa C
pH	potencial de hidrógeno
Pi	Fosfatos inorgánicos
PPSE	Potencial post sináptico excitador
PPSI	Potencial post sináptico inhibidor

rpm	revoluciones por minutos
SERT	Transportador selectivo de alta afinidad
SM	Síndrome metabólico
SNA	Sistema nervioso autónomo
SNC	Sistema nervioso central
SNP	Sistema nervioso periférico
TCA	Ácido tricloroacético
Tris-HCl	Trisaminometano acidulado
λ	longitud de onda
μg	microgramos
μL	microlitros
μm	micrometros

Resumen.

El sistema nervioso central coordina todas las funciones del organismo y su función principal es la transmisión del impulso nervioso. La Na^+/K^+ -ATPasa (NKA) es una enzima transmembranal de transporte que regula el gradiente iónico en la membrana, además de ser parte del gran esquema de señalización celular. En México y el mundo las enfermedades metabólicas son un grave problema de salud pública, principalmente la diabetes mellitus (DM) que está ligada a una dieta excesiva en calorías y además parte del denominado síndrome metabólico. Se ha relacionado a la DM entre otras alteraciones características que también afecta al sistema nervioso, por ejemplo en la actividad de una enzima (NKA) y en la disminución de la síntesis de serotonina. Actualmente no se conoce si una dieta hipercalórica modifique la actividad de la enzima NKA y el metabolismo de lípidos y carbohidratos por lo que el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de una dieta hipercalórica sobre el perfil de lípidos y carbohidratos y sobre la actividad de la bomba de sodio y potasio en corteza cerebral de ratas. Por lo cual se estableció un modelo de dieta alta en carbohidratos y en lípidos en ratas Wistar macho adultas y se comparó su efecto contra un grupo control. Se registró el peso corporal, los niveles de glucosa y se realizaron pruebas de tolerancia a la glucosa y de resistencia a la insulina para establecer posibles signos de alteraciones en el metabolismo de los carbohidratos. Se determinó el perfil lipídico y la actividad de la NKA. Los resultados muestran aumento en el peso corporal de los animales con dieta, así como un incremento significativo en algunos parámetros el perfil de lípidos. El nivel de glucemia en ayunas no presentó una diferencia entre grupos, pero la prueba de tolerancia a la glucosa y la de resistencia a la insulina si mostraron diferencias con respecto al grupo control. La actividad de la NKA disminuyó con respecto al grupo control. Con estos resultados podemos concluir que sin que existan signos de hiperglicemia, existen alteraciones en la actividad de una enzima y en el perfil de lípidos y carbohidratos por la dieta hipercalórica.

Palabras clave: **sistema nervioso, diabetes mellitus, bomba de sodio y potasio.**

Abstract.

The central nervous system manages all functions in the organism, which main function is synapsis and transmission of the neuronal impulse, with the help of neurotransmitters. The Na^+/K^+ -ATPase pump is a membrane-bound enzyme responsible for maintaining the ionic gradients across the membrane, also it is part of the cellular signaling pathway. In Mexico and the world, metabolic related diseases are a public health concern, especially diabetes mellitus, a disease related to a high-calorie intake and which is part of the metabolic syndrome. To this day it is unknown if a high-calorie intake would alter the NKA activity and its effect in the metabolic of lipids and carbohydrates, therefore our main goal is to determinate the effect of a high-calorie intake in the lipid profile, the tolerance of glucose and the activity of the NKA. A diet model of high carbohydrates and high lipids intake was established in male Wistar rats and its effect was compared against a control group. Meanwhile this model was implemented, body weight and blood glucose levels were recorded, also oral glucose tolerance test and insulin resistance test were executed. Lipid profile and activity of the NKA were obtained. As a results, an increase in body weight was observed in animals with high-calorie diet, also an increase in blood lipids level was observed too. Though fasting blood glucose levels were not different between groups, oral glucose tolerance test in fact shows hints about an impaired glucose tolerance in rats with high-calories diet. These results suggest us that a high-calorie diet decreased NKA pump activity although without signals of hyperglycemia, altered lipid profile.

Key words: **nervous system, diabetes mellitus, sodium potassium pump.**

1. Introducción.

1.1 Sistema Nervioso Central

En los mamíferos, las funciones del organismo están coordinadas por el sistema nervioso, un sistema desarrollado a través de la evolución para especializarse en uno de los principios fundamentales de los organismos vivos, la capacidad de reaccionar a estímulos. Es la base de toda la experiencia consciente, la personalidad y el comportamiento humano (Saladin, 2013). El sistema nervioso es el que ve, oye, siente, se mueve, recuerda y sueña. El sistema nervioso de todos los mamíferos tiene dos divisiones, el sistema nervioso central (SNC) y el sistema nervioso periférico (SNP) (Bear, Connors & Paradiso, 2016).

1.1.1 Organización

1.1.1.1 Sistema nervioso central

El SNC está formado por encéfalo y médula espinal, las partes del sistema nervioso que se encuentran dentro de huesos, cráneo y columna vertebral (Bear, Connors & Paradiso, 2016). Se forma a partir del tubo neural desde los cuatro meses de gestación (Brailowsky, 2002).

La médula espinal se compone de sustancia gris (cuerpos neuronales) rodeada de fibras nerviosas (sustancia blanca), es la vía mayor de comunicación de los tejidos con el cerebro y del cerebro con los tejidos. El encéfalo se compone de cerebro, cerebelo y tallo cerebral (Bear, Connors & Paradiso, 2016).

El **tronco encefálico** es la estructura de la cual brotan el encéfalo y el cerebelo. Regula funciones del sistema nervioso autónomo y está formado por el tallo cerebral y el mesencéfalo (Bear, Connors & Paradiso, 2016). El tallo contiene los centros regulatorios de la respiración, temperatura y frecuencia cardíaca. El mesencéfalo es el puente entre el tallo cerebral y el cerebro

y contiene la formación reticular, responsable de los ciclos de sueño y vigilia y sus estímulos (Brailowsky, 2002).

El **cerebelo** (del latín “pequeño cerebro”) es el centro primario de control motor, se encuentra por detrás del tallo cerebral y está formado por dos hemisferios y una parte central, por la que se conecta con tallo y con corteza. El cerebelo procesa las señales para el equilibrio, la postura y los movimientos coordinados (Brailowsky, 2002).

El **cerebro** está formado por múltiples estructuras especializadas, como son el diencefalo formado por el tálamo y el hipotálamo, la hipófisis y glándula pineal que responden al hipotálamo para la producción de hormonas; el sistema límbico que está compuesto por diversos núcleos distribuidos en el cerebro encargados de la mayoría de los impulsos básicos, las emociones y los movimientos básicos para la supervivencia; el hipocampo que se relaciona con la memoria a corto plazo y otros procesos (Brailowsky, 2002). La parte principal del cerebro es la corteza cerebral.

La **corteza cerebral** está formada por una capa de células nerviosas que rodea completamente al resto del cerebro. La corteza es la responsable de interpretar la información proveniente del mundo exterior y del medio interno. Los centros del lenguaje y las áreas de percepción de las sensaciones de todo el cuerpo se encuentran en la corteza (Brailowsky, 2002). Las cisuras dividen a la corteza en hemisferios, derecho e izquierdo y además muestra una cisura central y otra lateral que divide a cada hemisferio en lóbulos: frontal, parietal, temporal y occipital (Fig. 1) La corteza también se divide según sus funciones, sean de recepción, de salida y de asociación (Brailowsky, 2002).

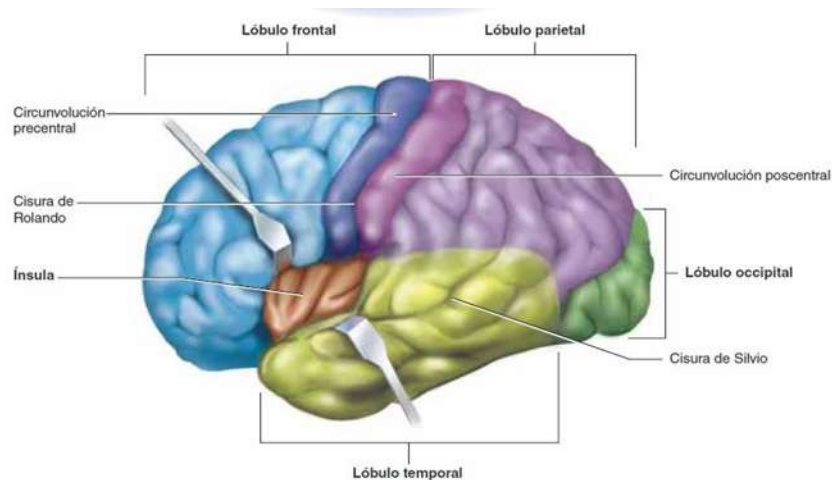


Figura 1. *Anatomía de la corteza cerebral* (Saladin 2013)

El SNC está recubierto para su protección por tres membranas denominadas meninges (del griego “envoltura”) que se conforman de la piamadre, la membrana aracnoides y la duramadre de adentro hacia afuera (Bear, Connors & Paradiso, 2016). Además, el SNC cuenta con el desarrollo de la barrera hematoencefálica (BHE) que es la filtración selectiva del transporte de compuestos que pasan de la sangre al cerebro (Brailowsky, 2002), mediada por células endoteliales más gruesas y sin fenestraciones. No todas las áreas del cerebro cuentan con esta barrera. Después de la capa endotelial se encuentra una matriz extracelular con queratina que se encuentra casi recubierta de pies de astrocitos (Lattera *et al.*, 1998). Esta estructura tiene una importancia especial en el paso de nutrientes y en rutas terapéuticas.

1.1.1.2 Sistema nervioso periférico

El SNP se forma de los nervios que salen por fuera de la médula espinal y los ganglios nerviosos (Brailowsky, 2002). Los ganglios nerviosos son protuberancias en forma de nudo donde se concentran los somas de las neuronas (Saladin, 2013). El SNP se divide a su vez en funciones, sensorial y motora, que a su vez se dividen en visceral y somática; la división motora visceral es la conocida como el sistema nervioso autónomo (SNA) (Saladin, 2013)

El SNA se encarga de la regulación del corazón, vasos sanguíneos, glándulas, vísceras y músculo liso vascular. Se encarga de regular las funciones inconscientes del organismo que a su vez se regulan por órganos como el hipotálamo. El SNA se divide en simpático (usa acetilcolina y noradrenalina como neurotransmisores) y parasimpático (usa acetilcolina) que regulan funciones similares, a veces antagonistas el uno del otro (Brailowsky, 2002).

1.1.2 Neurobiología celular

La unidad funcional básica de cada tejido es la célula. En el sistema nervioso las células que los conforman se pueden dividir en dos amplias categorías: neuronas y glía. La glía representa el 90 % de las células nerviosas, pero son las neuronas las que llevan a cabo la función fundamental del sistema nervioso (Bear, Connors & Paradiso, 2016).

1.1.2.1 Neuronas

Todas las neuronas tienen la cualidad de ser excitables, conducir señales de una a otra neurona y de secretar sustancias que transmitan las señales a otras neuronas (Saladin, 2013). Las neuronas pueden ser excitadoras, inhibitoras o moduladoras en su efecto, así como secretoras o sensoriales en su función (Raine, 1998).

La imagen clásica de la neurona con un soma con amplias dendritas emergiendo de un polo y un largo axón emergiendo del otro es el resultado de los trabajos de Purkinje en 1839 y de Deiters, Ramón y Cajal y Golgi al final del siglo XIX (Raine, 1998).

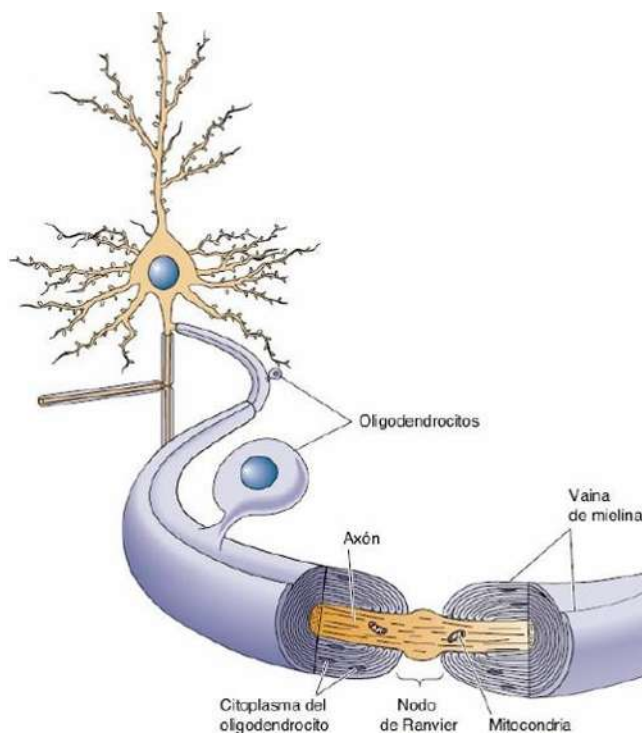


Figura 2 *Detalle del axón neuronal.* Se observa la estructura de los filamentos de mielina y los nódulos de Ranvier (Saladin, 2013).

Las neuronas contienen los mismos componentes intracelulares que la mayoría de las células. El soma de las neuronas es identificable por la sustancia de *Nissl*, consistente en masas basofílicas intracitoplasmáticas que ramifican a través del citoplasma, se compone principalmente de retículo endoplásmico rugoso (Raine, 1998).

El axón neuronal se puede dividir en ramificaciones conocidas como axones colaterales. El axón se divide en tres regiones que se diferencian en funcionalidad y morfología, la parte inicial del axón en la que aún se puede encontrar sustancia de Nissl (*axon hillock* en inglés). Al final del axón se encuentra una protuberancia que forma el botón sináptico, este sitio ya no tiene mielina y es el sitio de contacto con otra neurona que será la receptora de la señal nerviosa. Esta parte del axón contiene toda la maquinaria para la producción, empaquetamiento y liberación de neurotransmisores (Bear, Connors & Paradiso, 2016).

Las dendritas (derivado del griego para árbol) tienen la función principal de recibir las señales enviadas desde otras neuronas, por lo que se encuentran rodeadas de estas conexiones sinápticas (Bear, Connors & Paradiso, 2016). Las dendritas se pueden encontrar en forma estelar alrededor de la neurona o provenir de un solo tronco del cual ramifican (Raine, 1998).

Las neuronas se pueden clasificar de diversas formas, a continuación, se enumeran algunas de ellas.

- Según el número de ramificaciones:
 - Unipolares: Solo tienen la ramificación que sale del soma. Están representadas por las neuronas que llevan señales sensoriales a la médula espinal (Saladin, 2013).
 - Bipolares: Solo poseen un axón y una dendrita, como ejemplo están las células olfatorias y algunas de la retina (Bear, Connors & Paradiso, 2016).
 - Multipolares: La mayoría de las neuronas, que poseen un axón y varias dendritas (Saladin, 2013).
- Según la forma de sus dendritas:
 - Piramidal
 - Estrelladas
 - Espinales o no espinales (Bear, Connors & Paradiso, 2016).

1.1.2.2 Glía

En 1846, Virchow reconoció la existencia de un grupo de células diferentes a las neuronas a las que llamó neuroglia. Hoy se reconocen tres amplios grupos de células gliales: la macro glía, compuesta por **astrocitos** y **oligodendrocitos**, que se originan del ectodermo, la micro glía que se origina del mesodermo y las células del epéndimo. Las células gliales difieren de las neuronas

difieren de las neuronas en que no poseen sitios de sinapsis y mantienen la capacidad de división a través de la vida, especialmente en respuesta a lesiones (Raine, 1998).

Los astrocitos proveen y sostienen a las células del sistema nervioso, regulan el contenido químico en el espacio. Envuelven los sitios sinápticos para evitar la pérdida de neurotransmisores y recapturan algunas moléculas de estos, también regulan el contenido extracelular de potasio (Bear, Connors & Paradiso, 2016). Envían señales a la vascularización cercana para aumentar o reducir la vascularización, secretan factores de crecimiento neuronal y ante lesiones reparan el tejido dañado llenando los espacios de las células perdidas (Saladin, 2013).

Los oligodendrocitos son las células gliales productoras de mielina en el SNC, su contraparte en el SNP son las células de Schwann, aunque al contrario de éstas, los oligodendrocitos pueden producir más de un intervalo de mielina simultáneamente (Raine, 1998), la mielina ayuda con la transmisión del impulso nervioso, existen pequeños espacios descubiertos de mielina denominados nódulos de Ranvier (Felten *et al.*, 2016).

Las células encargadas de la respuesta inmune en el espacio neuronal son las de la microglía que en reposo se encuentran en un estado normal, pero se vuelven un macrófago activo muy móvil durante procesos de enfermedad (Raine, 1998). La microglía se encarga de la fagocitosis de células apoptóticas y restos celulares, remodelan y eliminan sinapsis del SNC, además de la respuesta alta a estímulos que indiquen patógenos, daño o muerte celular y otros, tienen la capacidad de producir las sustancias para su función de fagocitos y de señalización (Felten *et al.*, 2016).

Todas las células del SNC juegan un papel importante en el sistema de neurotransmisión, la falla de alguno de estos conjuntos afecta en cierta forma a todo el sistema.

1.1.3 Neurotransmisión

La comunicación neuronal como la estimulación muscular tiene como base la electrofisiología: los mecanismos celulares para producir potenciales (Saladin, 2013). En el SNC la comunicación por impulsos eléctricos se convierte en una señal química como la forma principal de comunicación: la sinapsis, a esta conjunción se le refiere como transmisión neurohumoral (Brailowsky, 2002).

1.1.3.1 Transmisión neurohumoral.

Las membranas de las neuronas están polarizadas, es decir, tienen una diferencia de potencial entre el interior y el exterior (Felten *et al.*, 2016).

El **potencial de reposo** de una membrana es de alrededor de -70 milivoltios (mV) (Brailowsky, 2002). Las concentraciones extra celulares de Na^+ y Cl^- de 145 y 105 mEq/L respectivamente, son altas comparadas con las concentraciones intracelulares de 15 y 8 mEq/L. La concentración extracelular de K^+ es baja 3.5 mEq/L comparada con la concentración intracelular de 130 mEq/L. (Felten *et. al*, 2016). La membrana plasmática es más permeable al K^+ que a cualquier otro ion. El mantenimiento del equilibrio en los iones es un trabajo realizado principalmente por la bomba de sodio/potasio dependiente de ATP (Saladin, 2013).

El estímulo de una neurona, en una de sus dendritas, sea químico o eléctrico, producirá un potencial local, esto es la entrada gradual de iones de sodio a la célula a través de canales iónicos específicos en la membrana (Felten *et al.*, 2016) lo que producirá una corriente que se moverá a lo largo de la membrana hasta la zona de inicio del axón neuronal. Los potenciales locales varían según su intensidad, decrecen conforme se extiende la corriente, son reversibles si la estimulación cesa y también pueden inhibir según sea el caso, es decir, hiperpolarizar la membrana en lugar de despolarizar (Saladin, 2013).

Cuando uno, aunque es infrecuente que ocurra, o varios potenciales locales alcanzan la zona de activación del axón, lograrán activar en ese sitio una respuesta de despolarización que

en esta zona densa en canales iónicos producirá en conjunto un **potencial de acción** (Saladin, 2013). Para que esto ocurra debe alcanzarse el umbral de despolarización. El umbral es el punto en el que la entrada de iones de sodio a través de sus canales no puede ser contrarrestada por la salida de K^+ (Felten *et al.*, 2016). Inevitablemente cuando se alcanza el umbral (-50 mV) se inicia el potencial de acción (Saladin, 2013). Los potenciales de acción no son reversibles, ocurren o no ocurren y no decrecen en su intensidad porque el impulso se propaga por todo el axón (Felten *et al.*, 2016).

Una vez que grandes cantidades de Na^+ han entrado a célula, ocurre la apertura retardada de los canales de K^+ que hacen que el ion salga y se incremente la despolarización, pero a su vez se reinicie la salida de iones de sodio lo que implica el retorno al potencial de reposo celular, incluso un poco mayor que éste, lo que es una hiperpolarización (Brailowsky, 2002).

El movimiento de corriente activa los canales iónicos en la zona siguiente al impulso, por lo que se produce la repetición del potencial de acción a lo largo de todo el axón, en forma de cascada. En células provistas de mielina, el potencial es suficiente para viajar entre nódulos de Ranvier reiniciándose en cada uno, lo que da la apariencia de ser una conducción saltatoria (Felten *et al.*, 2016). En células sin mielina la conducción es continua en la siguiente región de membrana. Puede parecer que el impulso es más rápido si es continuo, sin embargo, el impulso que ocurre en cada nódulo de Ranvier es más rápido y la suma de cada potencial resulta en mayor velocidad (Saladin, 2016).

1.1.3.2 Sinapsis neuronal

La llegada del impulso nervioso produce una serie de eventos en la zona de la sinapsis. En el compartimiento presináptico (el botón sináptico al final del axón) ocurre la transformación del impulso eléctrico en una señal química. Cuando el potencial llega a la sinapsis, se produce la entrada de iones de Ca^{2+} que hace que las vesículas de neurotransmisores se fusionen con la

membrana y liberen su contenido al exterior, también se liberan componentes tróficos que favorecen la transmisión (Brailowsky, 2002). Las vesículas sinápticas tienen un interior ácido, cercano a pH 5.5, mantenido por una ATPasa translocadora de protones del tipo vacuolar (Holz y Fisher 1998).

En el compartimiento postsináptico (en la neurona receptora) ocurre la interacción del neurotransmisor con su receptor específico, a partir de ahí puede ocurrir el estímulo para la despolarización potencial postsináptico excitador (PPSE) o por el contrario puede favorecerse el estado polarizado, dando lugar al potencial postsináptico inhibitorio (PPSI) (Felten *et al.*, 2016). El neurotransmisor pierde efecto a medida que se recaptura, se metaboliza o se absorbe por las células gliales (Brailowsky, 2002).

El siguiente paso en la sinapsis es un mecanismo de transducción de señales. La primera fase es la unión del ligando con su receptor ubicado en la superficie de la neurona, sea de la membrana pre o postsináptica. En la segunda fase el complejo receptor-ligando activo propicia la formación de segundos mensajeros (receptores ligados a proteínas G, por ejemplo), la apertura o cierre de canales iónicos o el reclutamiento de proteínas intracelulares. La tercera fase implica la activación de enzimas (quinasas por ejemplo, fosfatasa) que median la respuesta biológica. De esta forma, la unión inicial del ligando con su receptor resulta en una amplificación de la respuesta mediada por una cascada de respuesta (Holz y Fisher 2012). La respuesta generada depende de neurotransmisor implicado en la sinapsis.

1.1.3.3 Neurotransmisores.

Se define neurotransmisor a una sustancia producida por una célula nerviosa que es capaz de alterar el funcionamiento de otra célula por medio de la ocupación de receptores específicos y por la activación de iones y metabolitos. Para que una sustancia sea considerada neurotransmisor (Brailowsky, 2002), los eventos pre y postsinápticos están altamente regulados

y sujetos a cambios dependientes de la función que son la base para la plasticidad y el aprendizaje en el SNC. La transmisión química en la sinapsis requiere de las siguientes condiciones:

1. El neurotransmisor debe sintetizarse en la terminal presináptica.
2. El neurotransmisor se almacena en vesículas de secreción
3. La liberación del neurotransmisor en el espacio sináptico está regulada por transmisión nerviosa
4. Existen receptores en la membrana del sitio postsináptico, tal que la aplicación del receptor a la sinapsis replica los efectos de la estimulación nerviosa.
5. Los medios para terminar la acción del neurotransmisor liberado (re-captación, metabolismo o eliminación) (Brailowsky, 2002; Holz y Fisher 2012).

La liberación de neurotransmisor suele realizarse de forma no lineal, y algunos neurotransmisores disminuyen su liberación cuantitativa con frecuencias de potencial de acción más elevadas, mientras que otros neurotransmisores colocados (neuropéptidos) solo se liberan con frecuencias de potencial de acción más alta (Felten, 2016).

Actualmente se conocen alrededor de 100 neurotransmisores, en la siguiente tabla se muestran los diez más importantes.

Tabla 1. Principales neurotransmisores del SNC.

Neurotransmisor	Receptores	Función
Acetilcolina	Muscarínicos	Excitador: papel en la memoria
	Muscarínicos	Inhibidor: autorreceptor, disminuye la liberación.
	Nicotínicos	Excitador: Aumenta la liberación
Ácido gamma amino butírico (GABA)	GABA ₁ GABA ₂	Inhibidor: Modula la excitación y procesos sedantes.
Glicina	Sensible a estricnina	Inhibidor
	Insensible a estricnina	Inhibidor

Glutamato	NMDA, AMPA, KA	Excitador
	mGlu ₃ , mGlu ₅	Excitador
	mGlu ₂ , mGlu ₄ , mGlu ₆ , mGlu ₈	Inhibidor: Ligado a procesos talámicos
Dopamina	D ₁ , D ₅	Excitador: Estimulación
	D ₂ D ₃ D ₄	Inhibitorio: Reduce la liberación
Histamina	H ₁ , H ₂	Excitador: Papel en el despertar, ansiedad
	H ₃	Inhibidor: Autorreceptor
Noradrenalina	α ₁	Excitador:
	α ₂	Inhibidor
	B _{1, 2}	Excitador
Serotonina	5-HT ₁	Inhibidor: Papel en la depresión y ansiedad, disminuye la transmisión del dolor
	5-HT _{2, 3, 4}	Excitador: Papel en procesos cognitivos, modulación presináptica.
Péptidos opioides	μ, κ, δ	Inhibidor
Taquicininas	NK _{1, 2, 3}	Excitador

Nota: Adaptado de Brenner & Steven 2019 con fin de difusión.

1.1.5 Transmisión serotoninérgica.

La 5-hidroxitriptamina (5-HT), mejor conocida como serotonina, es una amina biógena compuesta de un anillo de indol y una cadena lateral etilamino. En 1948, Rapport, Green y Paige aislaron y caracterizaron esta sustancia en el suero sanguíneo, almacenada en las plaquetas y con acción de carácter tónico (Díaz *et al.*, 2011).

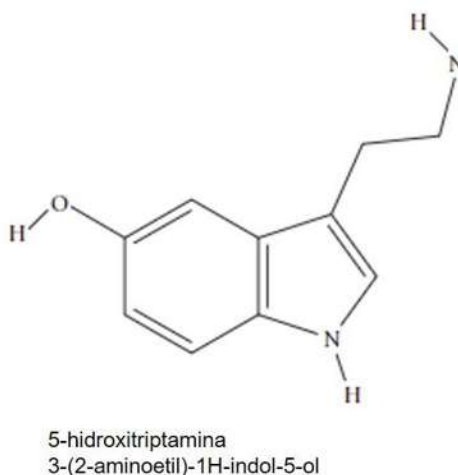


Figura 3. Estructura de la 5-hidroxitriptamina (NCBI).

La estructura de la 5-HT le otorga un carácter polar que no atraviesa la BHE, por lo que cuando se descubrió su presencia en el cerebro, en 1953, se consideró un importante hallazgo ya que implica la síntesis al interior del SNC y una función como neurotransmisor (Díaz *et al.*, 2011).

La 5-HT es una molécula con diversos efectos tanto en el SNC como en la periferia, juega un papel modulador en casi todas las funciones fisiológicas y está envuelta en muchos procesos biológicos (Berumen *et al.*, 2012; Mohammad-Zadeh, 2008). La 5-HT regula múltiples funciones cerebrales, en particular las que se encuentran relacionadas con la conducta, desde la alimentación hasta la actividad sexual y el sistema de recompensa. La serotonina influye en la temperatura corporal, la función cardiovascular, la motilidad intestinal, contracción y relajación muscular, sueño, percepción del dolor, emociones y cognición, así como un bien conocido rol en las células del sistema inmune (Berumen *et al.*, 2012)

1.1.4 Metabolismo

En el SNC las neuronas que producen 5-HT se localizan mayormente en los llamados núcleos de rafe, situadas en el tronco del encéfalo y emiten proyecciones a todo el resto del SNC

formando un amplio circuito. El sistema límbico y el hipocampo son el principal objetivo de las terminales serotoninérgicas (Díaz *et al.*, 2011; Berumen *et al.*, 2012).

La 5-HT se produce a partir del aminoácido triptófano procedente de la dieta en dos pasos mediados por enzimas, la triptófano hidroxilasa coloca un grupo hidroxilo en el carbono 5 para producir 5-hidroxitriptófano (5-HTP), en un segundo paso la descarboxilasa de L-aminoácidos aromáticos (LAAD) convierte el 5-HTP en 5-HT.

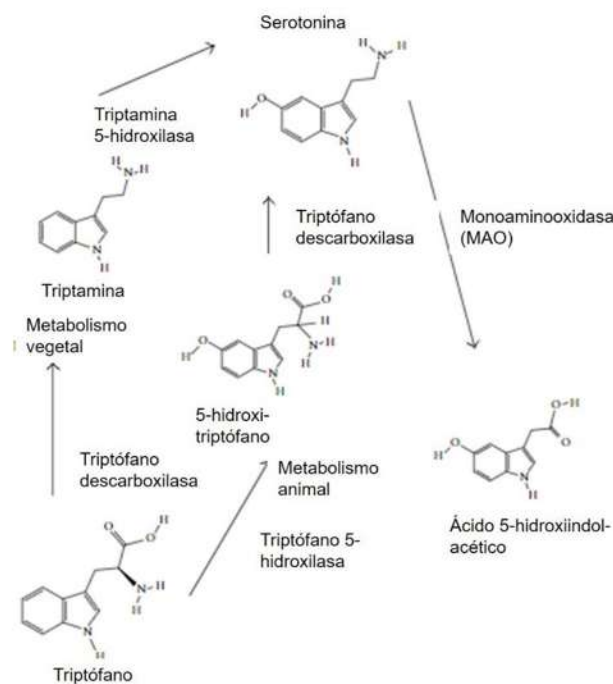


Figura 4. Metabolismo de la serotonina (MDBI).

El catabolismo es llevado a cabo principalmente por la monoamino oxidasa, como lo es para muchas otras aminas biológicas. La MAO-A es la principal encargada del metabolismo de 5-HT, la MAO-B representa una proporción menor, principalmente en plaquetas. El producto del metabolismo es el ácido 5-hidroxiindolacético que es excretado en la orina (Mohammad-Zadeh, 2008).

La 5-HT liberada al espacio sináptico actúa sobre los receptores en la membrana postsináptica o en el auto receptor presináptico que actúa como un control de regulación, un

circuito de retroalimentación negativa (*feedback* negativo), evitando la liberación de más neurotransmisor y activando el transportador selectivo de alta afinidad (SERT, por siglas en inglés) que recaptura la serotonina para su reciclaje en la terminal presináptica dentro de vacuolas o para ser degradada por la MAO en el citosol (Mohammad-Zadeh, 2008).

1.1.4.1 Receptores de serotonina

Los receptores de serotonina se han clasificado en siete grupos 5-HT₁₋₇, con hasta 15 subtipos, todos pertenecen a la familia de receptores asociados a proteínas G (GPCR), excepto el receptor 5-HT₃, que es un canal iónico ligando receptor parecido a los receptores de acetilcolina (Filip & Bader, 2009).

Los receptores 5-HT₁ y 5-HT₅ están ligados con la regulación negativa de la adenilato ciclasa, por lo que su activación implica disminución en la síntesis de AMPc. Los receptores del grupo 5-HT₂ favorecen las vías del inositol trifosfato y del diacilglicerol, lo que implica la salida de Ca²⁺ intracelular. Los receptores 5-HT₄, 5-HT₆ y 5-HT₇ incrementan la actividad del AMPc (Kandel, 2001).

Además de las funciones descritas anteriormente, los trabajos de Hernández y Mercado en 1992 y de Peña-Rangel *et al.* en 1999 demostraron el rol regulatorio de la 5-HT en la actividad de la bomba de Na⁺/K⁺-ATPasa, mediante lo que se sugiere es un mecanismo de activación en células gliales expresado principalmente en la estimulación de sitios catalíticos de la enzima.

1.2 Bomba de Na^+/K^+ -ATPasa

La bomba de sodio potasio ATPasa (NKA para abreviar) fue descrita originalmente por Skou en 1957 (Pierre y Blanco, 2021). Es una enzima integral de membrana, de la familia de las enzimas tipo P que extrae Na^+ y acumula K^+ , que se encuentra en todas las membranas plasmáticas en diferentes concentraciones. Juega un papel importante en la homeostasis de iones (Silva & Soares-da-Silva, 2012). La concentración de la enzima en la membrana depende de la demanda de movilización de sodio, siendo que puede haber de 4700 y 5600 unidades por micrómetro cuadrado, componiendo entre el 10 y el 15 % del total de proteínas de membrana (Fabregat, 1983).

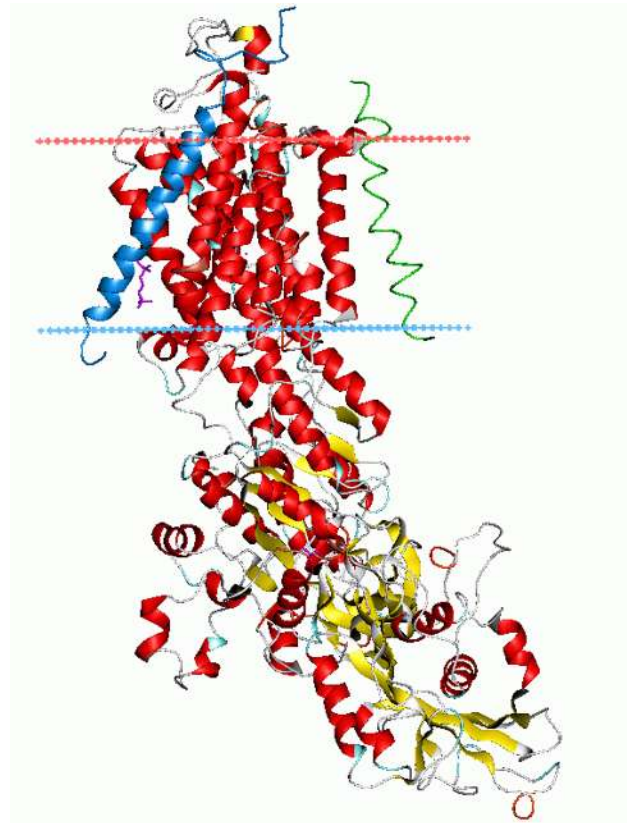


Figura 5. Estructura de la bomba de sodio/potasio-ATPasa (Andrei Lomize).

1.2.1 Estructura y función

El peso molecular aproximado de la enzima es de 280,000 daltons (Da) variando según el autor que lo menciona. Kyte fue el primero en demostrar que la enzima está compuesta por dos subunidades a las que denominó por su tamaño en alfa (α) y beta (β) (Fabregat, 1983).

La subunidad α cuenta con 10 dominios transmembranales y contiene los sitios catalíticos, de unión con el ATP y de transporte de iones, sitios de regulación de hormonas esteroideas y de fosforilación para la proteína cinasa A y la proteína cinasa C. La subunidad β es una proteína

altamente glicosilada con un largo dominio extracelular que ayuda a la maduración de la enzima, su localización en la membrana y la estabilización de los intermediarios (Silva & Soares-da-Silva, 2012). La subunidad α no es funcional y se queda en el retículo endoplásmico si no se expresa también la subunidad β (Wayne Albers & Siegel, 1998).

Una tercera subunidad ha sido descrita unida al complejo de alfa y beta en ciertos tejidos, como corazón, riñón y cerebro. Esta tercera subunidad pertenece al grupo de proteínas FXYD, un grupo de polipéptidos hidrofóbicos de tipo 1. Estas proteínas no forman parte integral de la enzima, pero modulan propiedades cinéticas mediante interacciones moleculares con dominios específicos de la NKA (Pierre y Blanco, 2021; Wang *et al.*, 2012).

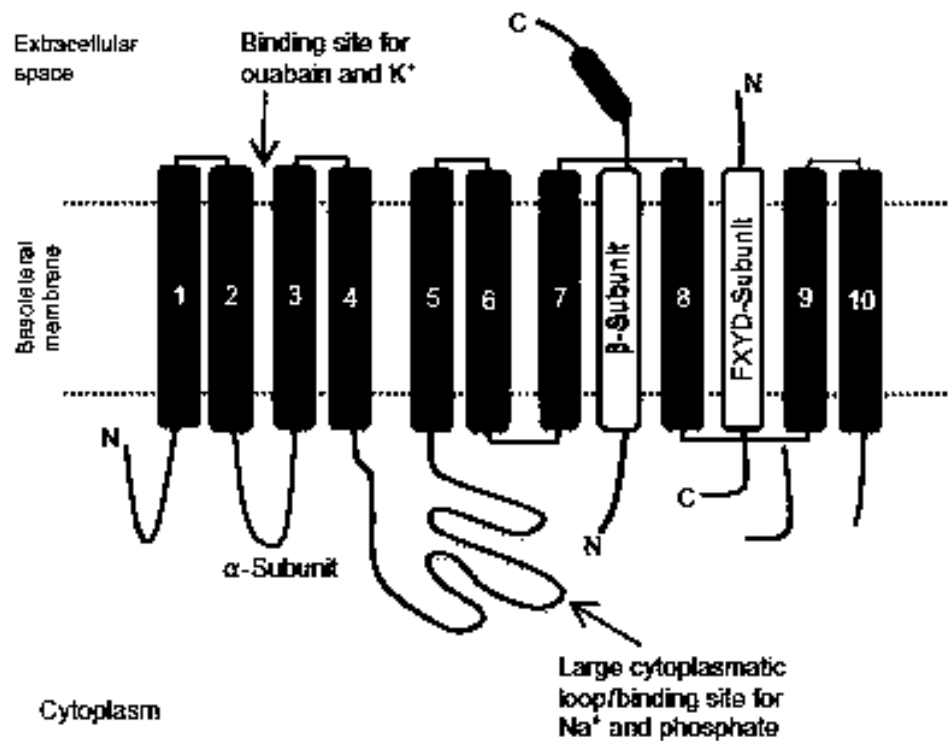


Figura 6. Los dominios transmembranales de las subunidades de la NKA (X).

Existen cuatro isoformas conocidas de la unidad alfa α_1 , α_2 , α_3 y α_4 . En el cerebro se expresan las tres subunidades alfa que comparten el 85 % de su secuencia y solo muestran cambios en la

región N-terminal. En SNC se expresan las 3 isoformas de la subunidad alfa, α_1 se expresa en glía, células de Schwann, plexo corioide del epitelio y algunas neuronas, α_2 se expresa en glía de todo el SNC, aunque no se descartan neuronas y α_3 solo se encuentra en neuronas. (Wayne Albers & Siegel, 1998). La subunidad α_4 está limitada a los testículos, donde se expresa principalmente en la espermatogonia (Silva & Soares-da-Silva, 2012).

También se han identificado tres genes para la subunidad β . β_1 es la más expresada mientras que β_2 se expresa en el cerebro embrional, conforme madura, β_2 se expresa en astrocitos y desaparece de neuronas. (Wayne Albers & Siegel, 1998).

La mayoría de la energía cerebral es usada para extraer el sodio que ingresa durante la excitación y el transporte secundario. Se ha estimado que del 25 al 40 % de la energía cerebral se destina a la actividad de la NKA (Wayne Albers & Siegel, 1998). Otros autores, como Pivovarov *et al.* (2018), mencionan que es cerca del 50 % de toda la energía.

Para que la NKA se active se requiere la presencia de ion magnesio Mg^{2+} y esencialmente de ATP, tanto *in vivo* como *in vitro* lo que indica que el complejo Mg^{2+} -ATP es el sustrato de la enzima y que el ATP libre no puede activarla. Se describen dos sitios de unión para el ATP, uno de alta afinidad y otro de baja afinidad (Fabregat, 1983).

La actividad de ATPasa de la bomba se puede describir como una fosforilación que depende de la unión de Na^+ en el sitio catalítico que es un residuo de aspartato, seguido de hidrolisis, dependiente de la unión de K^+ , de este complejo (Wayne Albers & Siegel, 1998). Este intermedio fosforilado es característico de la familia de ATPasas de tipo P (Pivovarov *et al.*, 2018).

La fosforilación ocurre únicamente cuando tres iones de Na^+ del citoplasma se unen a la proteína. En este punto, que se conoce como E1-P, la fosforilación puede ocurrir, pero puede ser reversible, por lo que ocurre un cambio conformacional con la fosforilación, lo que libera al sodio a la matriz extracelular. Es punto se conoce como E2-P, en el que se unirán dos iones de K^+ de

exterior, hidrolizando el acilfosfato, liberando fosfato inorgánico (Pi) y causando el regreso a la forma E1 de la enzima, lo que a su vez lleva los dos iones al interior y los libera. Esto cumple el ciclo y la enzima está lista para iniciar otro (Wayne Albers & Siegel, 1998).

De esta forma, por cada ATP que se hidroliza, se extraen tres iones Na^+ y se importan dos iones de K^+ , lo que genera en principio un potencial de membrana menos polarizado que el generado por el equilibrio electroquímico (Mohan *et al.*, 2019).

La NKA en astrocitos es usada para mantener bajos niveles de K^+ alrededor de las neuronas (Wang *et al.*, 2012). Media un incremento en la captura de K^+ lo que resulta en una disminución del potasio extracelular. La activación de la NKA es mediada por Ca^{2+} parcialmente por el ingreso de Na^+ a través del intercambiador de $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (Pivovarov, 2018).

1.2.2 Regulación

La vía de regulación directa de la enzima NKA es otorgada por sus sustratos, principalmente por el Na^+ , dado que el ATP está presente en concentraciones saturables en la mayoría de las células (Silva & Soares-da-Silva, 2012).

La actividad de la NKA está regulada de forma directa o sostenida con el tiempo por múltiples moléculas endógenas y mensajeros primarios. Mientras que los primeros actúan uniéndose a sitios directos en la enzima, la subunidad α , los agentes que regulan a largo plazo, digamos neurotransmisores, hormonas y factores de crecimiento, modulan la actividad a través de la unión con receptores ligados a proteínas G, que inician las cascadas de señalización que fosforilan ciertas proteínas que pueden regular la actividad de la NKA (Therien y Blostein, 2000).

La fosforilación de estas proteínas blanco por proteínas cinasas puede inhibir o facilitar la actividad de transporte de la NKA en ciertas especies y en ciertos tejidos. La desfosforilación que hacen las fosfatasas produciría la acción contraria (Mohan *et al.*, 2019). La vía de la adenilato

ciclasa, AMPc-PKA y la del diacilglicerol-PKC son dos vías conocidas por su responsabilidad en la regulación de la NKA (Therien y Blostein, 2000; Mohan *et al.*, 2019).

Los conocidos como esteroides cardiotónicos, son compuestos ampliamente conocidos como inhibidores de la NKA. La más representativa sustancia de este tipo es la ouabaina. La subunidad alfa de la NKA presenta en el dominio extracelular y en la región de transición sitios para el anclaje de la ouabaina, por lo que representa un excelente marcador ya que se une a la cara extracelular de la enzima (Pivovarov *et al.*, 2018; Fabregat, 1983).

A lo largo del trabajo realizado por Amir Askari, describe que la NKA tiene una función como receptor y como vía de señalización a través de la inactivación por los derivados digitálicos como la ouabaina: “El más firme hecho establecido acerca de la función de señalización de la bomba es que las drogas digitalicas que inhiben la actividad de la NKA, son activadoras de su función de señalización” (Askari, 2019.)

Ha quedado claro el rol importante que juega la bomba de Na^+/K^+ -ATPasa es la regulación del transporte y la señalización de las células. Múltiples estudios a través del tiempo y los datos que presentan han establecido además la implicación de la NKA en otras condiciones como la preclamsia, desorden depresivo, alcoholismo y en enfermedades relacionadas con alteraciones en el metabolismo como el **síndrome metabólico** y la **diabetes mellitus** (Silva & Soares-da-Silva, 2012).

1.3 Síndrome metabólico

1.3.1 Definición

Existe un consenso general en la definición de lo que es el síndrome metabólico (SM) aunque no sea enteramente así para establecer los criterios que lo conforman y su etiología. Sin embargo, se establece unánimemente que el SM es un conjunto de condiciones, serie de desórdenes o anormalidades metabólicas que implican, aumentan o predisponen un riesgo de

padecer enfermedades cardiovasculares y diabetes mellitus tipo 2 (DM2) (Castillo *et al.*, 2017; Lizarzaburu, 2013; Xu *et al.*, 2018, Swarup *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2020).

Los componentes principales incluyen hiperglicemia, alta presión arterial, niveles de triglicéridos altos, niveles de HDL-colesterol bajos (dislipidemias) y obesidad central, determinada por el índice de masa corporal o la circunferencia de la cintura y resistencia a la insulina (Ávila-Curiel *et al.*, 2018 ; Wang *et al.*, 2020; Castillo *et al.*, 2017; Swarup *et al.*, 2021). Estos factores además de elevar el riesgo a enfermedades cardiovasculares y diabetes mellitus, aumentan el riesgo para ciertos tipos de cáncer y otras enfermedades (Carson y Lawson, 2018).

Durante el transcurso de las décadas se ha discutido ampliamente si el factor determinante es la obesidad central o la resistencia a la insulina, si es que el primero es la causa del segundo o viceversa, lo que conlleva cambios en la definición y en los criterios diagnósticos (Xu *et al.*, 2018). Sin embargo, las causas principales y los factores que relacionan éste grupo de alteraciones metabólicas con su fisiopatología han sido ampliamente estudiados.

1.3.2 Etiología y Fisiopatología

La etiología exacta que desarrolla el síndrome no se esclarecido por completo a pesar de los múltiples estudios realizados en décadas recientes, sin embargo, han sido propuestos varios mecanismos y factores como la resistencia a la insulina, disfunción del tejido adiposo, inflamación crónica, estrés oxidativo, factores genéticos, etc. (Xu *et al.*, 2018; Lizarzaburu, 2013).

La resistencia a la insulina implica la activación de vías metabólicas alternas que aumentan las concentraciones de colesterol y triglicéridos, lo que predispone a hipertensión y arteroesclerosis (Castillo *et al.*, 2017). Xu y colaboradores (2018) describen los principales mecanismos moleculares de la resistencia a la insulina, relacionados principalmente al funcionamiento de las células beta del páncreas, a la disfunción de vías metabólicas de proteínas cinasas y la disfunción de los principales genes de los receptores de insulina IRS1 e IRS2.

Recientemente se ha estudiado además la epigenética detrás del desarrollo del SM, la cual se puede consultar en la revisión realizada por Carson y Lawson en 2018.

El cúmulo de tejido adiposo en la región central (grasa visceral) ha sido establecido ampliamente como un factor de riesgo y el que desencadenaría las demás anormalidades del SM. La obesidad implica el cúmulo de grasa abdominal, que se ha demostrado causa hipertensión al aumentar la necesidad de vascularización y volumen de sanguíneo para el tejido adiposo. La grasa visceral implica la formación de las llamadas adipoquinas, como la leptina, por ejemplo, que favorecen estados proinflamatorios y protrombóticos que a su vez contribuyen a la resistencia a la insulina (Swarup *et al.*, 2021; Lazarzaburu, 2013; Xu, 2018).

Incluso se ha relacionado el estado de obesidad sin alteraciones metabólicas con el desarrollo de obesidad que sí presenta estas alteraciones, considerando entre las dos entidades puentes como el estrés oxidativo, la inflamación crónica y la resistencia a la insulina, como lo describen Cătoi y colaboradores (2018).

El SM afecta drásticamente a los sistemas del organismo. La resistencia a la insulina causa daño microvascular que predispone para disfunción endotelial, resistencia vascular, inflamación vascular e hipertensión. Lo anterior es un factor para el desarrollo de enfermedad isquémica cardiaca. La resistencia a la insulina es una señal invariable de un posible desarrollo de la diabetes mellitus tipo 2 (Swarup *et al.*, 2021).

Múltiples estudios han determinado que el SM está asociado con una elevación del doble de riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares y hasta 5 veces más riesgo de desarrollar DM2 (Wang *et al.*, 2020).

1.3.3 Criterios Diagnósticos

Como se mencionó anteriormente, establecer un único criterio para la definición del SM ha sido una tarea difícil para los diversos organismos nacionales e internacionales. Se han relatado

diversos cambios en los criterios debido a las controversias que implica su uso, por ejemplo, Lazarzaburu (2013) relata la discordancia entre la FID y otros organismos por considerar la obesidad central como criterio invariable del SM, a lo que la OMS y la ATPIII no consideraban así. En la siguiente tabla se enumeran los criterios diagnósticos que se han empleado.

Tabla 2. Criterios diagnósticos para el SM

Componente	OMS 1998	FID 2005	FID/NHLBI ATPIII 2009	ALAD 2010
Criterio	Intolerancia oral a la glucosa o DM2 y dos de los siguientes	Incremento en la circunferencia de cintura y 2 de los siguientes	3 de los 5 mencionados	Obesidad abdominal y 2 de los otros 4 criterios
Obesidad	IMC >30 kg/m ²	Incremento de la circunferencia abdominal (variable por región o país)	Incremento de la circunferencia abdominal (variable por región o país)	Perímetro de cintura ≥ 94 cm en hombres y ≥ 88 en mujeres
Glucemia	Intolerancia a la glucosa o DM2	Glucemia en ayunas >100 mg/dL	Glucemia en ayunas >100 mg/dL o con tratamiento.	Glucemia anormal en ayunas, intolerancia a la glucosa o diabetes.
Triglicéridos	TG > 150 mg/dL	>150 mg/dL o en tratamiento hipolipemiante	>150 mg/dL o en tratamiento hipolipemiante	>150 mg/dL o en tratamiento hipolipemiante
HDL-colesterol	< 40 mg/dL en hombres y < 50 mg/dL en mujeres	< 40 mg/dL en hombres y < 50 mg/dL en mujeres o en tratamiento.	< 40 mg/dL en hombres y < 50 mg/dL en mujeres o en tratamiento.	< 40 mg/dL en hombres y < 50 mg/dL en mujeres o en tratamiento
Presión arterial	>140/90 mmHg	S ≥ 130 mmHg o D ≥ 85 mmHg o en tratamiento antihipertensivo	S ≥ 130 mmHg o D ≥ 85 mmHg o en tratamiento antihipertensivo	S ≥ 130 mmHg o D ≥ 85 mmHg o en tratamiento antihipertensivo

Adaptado de la información obtenida de Lizarzaburu 2013 y Xu et al, 2018. OMS = Organización Mundial de la Salud, FID = Federación Internacional de Diabetes, NHLB = *National Heart, Lung and Blood Institute* (USA), ALAD = Asociación Latinoamericana de Diabetes.

Como se observa los criterios establecidos difieren respecto al tiempo y al organismo que los propone, sin embargo, se cumple con cierta estandarización, lo que permite tener un panorama definido de la situación del SM a nivel mundial. Tal como menciona Wang (2020) “La importancia del SM no solo está relacionada con su alto nivel de prevalencia mundial, sino porque sería una herramienta predictiva del desarrollo de DM y de EC”

1.3.4 Prevalencia

La carga que representan las enfermedades no transmisibles como el SM, constituyen un factor limitante para el desarrollo de las naciones, según lo indica la OMS. En el mundo se estima que del 25 al 34 % de las personas cumplen criterios del síndrome metabólico, según la FID, y esa cifra incrementa hasta el 40 % en adultos mayores (Rojas *et al.*, 2021).

Las cifras varían según la región del mundo y el criterio utilizado para la determinación, pero se expresa una aproximación del 25 %, en Estados Unidos (Wang *et al.*, 2020) y en América Latina (ALAD, 2010) con la marcada tendencia al alza, tendencia que va de la mano con el alza en la obesidad y en la DM. (Saklayen, 2018)

En México, no existen reportes amplios sobre la prevalencia de SM, especialmente en niños y adolescentes, algunos destacan entre el 33 y el 45 % de prevalencia (Ávila-Curiel *et al.*, 2018; Romero-Velarde *et al.*, 2016) aunque si lo existen para obesidad, la ENSANUT ha reportando un 35 % en hombres y un 46 % en mujeres según menciona la UNAM en 2021.

Como se ha mencionado, hay una marcada relación entre el desarrollo del síndrome metabólico y el factor de riesgo para desarrollar diabetes mellitus.

1.4 Diabetes Mellitus

1.4.1 Definición

La diabetes mellitus es una enfermedad crónica, que se presentará cuando exista una deficiencia sea en la síntesis de insulina por el páncreas o por una deficiencia en el uso de la insulina en los tejidos, tal como dicta la Organización Mundial de la Salud OMS (2021).

La Asociación Latinoamericana de la Diabetes (ALAD, 2019) define el término diabetes mellitus como “un desorden metabólico de múltiples etiologías, caracterizado por hiperglucemia crónica con disturbios en el metabolismo de los carbohidratos, grasas y proteínas y que resulta de defectos en la secreción y/o en la acción de la insulina”.

Mientras que la Federación internacional de la Diabetes (FID, 2019) la describe como una afección grave y crónica que ocurre cuando la glucemia de una persona es alta porque no se produce insulina, es insuficiente o no se utiliza de manera eficaz. La Asociación americana para la diabetes (ADA, 2022) agrega que es una enfermedad crónica compleja que requiere un continuo cuidado médico con estrategias multifactoriales que reduzcan los riesgos, más allá del control de la glucemia.

1.4.2 Clasificación

La clasificación de la diabetes tiene como base fundamental la etiología y las características fisiopatológicas, aunque también se utilice la etapa de la vida en la que se encuentra el paciente para describirla a los diferentes tipos de diabetes (ALAD, 2019)

Se describen las siguientes categorías generales:

- Diabetes mellitus tipo 1 (DM1): asociada a la destrucción autoinmune de las células beta del páncreas, que son las responsables de la producción de insulina.

- Diabetes mellitus tipo 2 (DM2): debida a la progresiva deficiencia en la producción de insulina en la presencia de resistencia a la misma.
 - Diabetes mellitus gestacional (DMG): en el segundo o tercer trimestre del embarazo que no estaba definida o clara antes de la gestación
 - Tipos específicos de diabetes con su origen en otras causas diversas. (ADA, 2022).
- Los términos diabetes resistente a la insulina o dependiente de insulina, usados para describir a la DM2 y DM1 respectivamente, así como diabetes juvenil o de la edad adulta, han quedado en desuso porque ya no representan límites claros entre cada etiología (ALAD, 2019; OMS, 2021).

1.4.2.1 Diabetes Mellitus de Tipo 1

La diabetes mellitus de tipo 1 (DM1) se presenta como un proceso autoinmune en el que las células beta de los islotes del páncreas se destruyen, lo que conduce a la deficiencia absoluta de insulina. Se suele presentar en la adolescencia, cuando el porcentaje de la función perdida es alto y es necesaria la administración de insulina para que el paciente sobreviva (ALAD, 2019). Existe también un tipo de DM1 que se desarrolla en la adultez, con una progresión lenta y que se denomina LADA (*latent autoimmune diabetes in adults*) (ADA, 2022).

La etiología de la destrucción de las células beta es generalmente autoinmune, pero existen casos de DM1 de origen idiopático, donde no hay presencia de anticuerpos tales como anti-GAD6₅, anticélulas de islotes (ICA), antitirosina fosfatasa y antiinsulina. (ALAD, 2019). La presencia constante de estos anticuerpos es un predictor del desarrollo de diabetes clínica, que pueden detectarse antes del desarrollo del cuadro clínico, por lo que es útil en el diagnóstico y en la prevención de las complicaciones (ADA, 2022, Marshall *et al.*, 2012).

El efecto de los anticuerpos sobre las células beta ocasiona que el cuerpo no produzca insulina o que la cantidad producida no sea suficiente. La causa se explicaría como una reacción

autoinmune que se origina a partir de la combinación de una sensibilidad genética y un desencadenante ambiental, como una infección viral (FID, 2019). También se presentan otros factores asociados además de los inmunológicos, genéticos y epigenéticos, entre los ambientales encontramos la dieta y la microbiota intestinal (Paschou *et al.*, 2018).

La DM1 se desarrolla en tres etapas definidas, que van desde la presencia de anticuerpos, el desarrollo de disglucemia y al final la diabetes propiamente dicha. Entre los síntomas de DM1 se encuentran la poliuria, la polidipsia, el hambre constante, pérdida de peso, trastornos visuales y cansancio, los cuales pueden aparecer de forma repentina (OMS, 2021). En los casos en los que la aparición de los síntomas clásicos no se presente, el diagnóstico puede ser retrasado o pasar por alto (FID, 2019).

La principal complicación de la DM1 es la cetoacidosis diabética o CAD, la cual puede llevar a una grave incapacidad o a la muerte. Es la consecuencia de una diabetes mellitus no diagnosticada o mal controlada (Marshall, 2012; FID, 2019). Alrededor del 10 % de los casos de DM en el mundo son de DM1 y la incidencia aumenta en todo el mundo, aunque varía entre cada región. La variación se debería principalmente a condiciones ambientales (FID, 2019).

1.4.2.2 Diabetes Mellitus Tipo 2

Este tipo de diabetes es el de mayor presencia en el mundo. Más del 95 % de los casos de DM son de tipo 2, alrededor de 470 millones. Aunque este tipo de diabetes se presenta principalmente en el adulto, su frecuencia está aumentando en niños y adolescentes por los niveles crecientes de obesidad, sedentarismo y dieta inadecuada. Frecuentemente los casos de DM2 no se diagnostican a tiempo hasta que las complicaciones clínicas ya están presentes (OMS, 2019; ADA, 2022; ALAD, 2019).

La DM2 se asocia principalmente con la obesidad y la falta de actividad física, que son factores que se pueden controlar, aunque también influyen otros factores ambientales, la edad,

la etnia y la predisposición genética (Tsalamadris *et al.*, 2019). Se considera a la obesidad como la responsable de la característica principal de la DM2, la resistencia a la insulina (ADA, 2022) La DM2 también cursa con una ineficiencia en la producción de insulina ante el fallo del páncreas de controlar la hiperglicemia, conformando así la etiología principal de la DM2 (ALAD, 2019).

1.4.2.2.1 Fisiopatología de la Diabetes Mellitus de Tipo 2

La relación de la obesidad y el síndrome metabólico con la DM2 se establece a través del desarrollo de la resistencia a la insulina. La resistencia a la insulina se refiere a una disminución en la respuesta de las células de los tejidos a la acción de la insulina a un nivel celular o sistémico (Galicia-García *et al.*, 2020).

En condiciones normales, un incremento en las concentraciones sanguíneas de glucosa después de comer propicia la secreción de insulina por las células β del páncreas. La insulina estimula la señalización para el movimiento del transportador de glucosa, principalmente el GLUT 4 en hígado y músculo, y que ésta ingrese a las células para glucólisis o para almacenaje. La insulina también regula el metabolismo de lípidos, impulsando la lipogénesis e inhibiendo la lipólisis. (Xu *et al.*, 2019).

La resistencia a la insulina se presenta principalmente en músculo esquelético, tejido adiposo e hígado; en el primero se explica la RI mediante mecanismos de inflamación, estrés oxidativo y disfunción de las vías metabólicas, como la de los receptores INRS, lo que evitaría el ingreso de glucosa al músculo y la formación de glucógeno. En el tejido adiposo la RI causa que no se suprima la lipólisis y se liberen ácidos grasos libres al plasma lo que sería el factor de desarrollo de la dislipidemia. En el hígado ante la presencia de RI no se regula la síntesis de glucógeno y no se suprime la síntesis de glucosa y lípidos e incrementa la producción de factores proinflamatorios, lo que da lugar a la hiperglicemia e hiperlipidemia. Estos eventos, sumados al estrés oxidativo, la inflamación crónica y la exigencia metabólica tendrían una consecuencia

principal en el daño a la función de las células β del páncreas causando el siguiente factor predominante de la DM2 la disfunción en la secreción de insulina (Galicia-García *et al.*, 2020).

Las revisiones realizadas por Paneni y colaboradores (2003 y 2013), Guerrero-Berroa y col. (2014) y por Galicia-García y col. (2020) respectivamente, describen que los mecanismos de patogenia de la hiperglicemia y la RI se establecen a partir de: 1) La formación de especies reactivas de oxígeno (ERO) que se originan en mitocondria y propician la inhibición de la síntesis de óxido nítrico (NO), un regulador principal de la vasodilatación lo que implica alteraciones vasculares. 2) La producción incrementada de productos finales de glucación avanzada (AGE, por sus siglas en inglés) que incrementan el estrés oxidativo y el daño vascular incluso en SNC. 3) Los procesos que favorecen la inflamación, que relacionan la hiperglicemia y la obesidad con la señalización de las adipocinas. Factores que se relacionan con la liberación del factor de necrosis tisular TNF-alfa, interleucinas, leptina, quimiocinas, y el factor β -amiloide (Tsalamandris *et al.*, 2019) que además se ven propiciados por la falta de actividad física. 4) Otros factores que se asocian a la patogenia causada por el desbalance metabólico en la diabetes son: efecto sobre las plaquetas (Beckman *et al.*, 2013), daño en los mecanismos de ciertos microRNAs (Paneni *et al.*, 2013) y el papel que juega la microbiota intestinal en la inflamación y el metabolismo, aunque esto se considera un tema relativamente nuevo, por lo que la investigación respecto a esto se encuentra en desarrollo (Gurung *et al.*, 2020).

1.4.2.2.2 Complicaciones Clínicas

Todos los procesos descritos arriba conllevan a que, en un estado de hiperglicemia crónica, se presenten las complicaciones características de esta enfermedad. Las complicaciones de carácter macrovascular incrementan el riesgo de desarrollar ECV grave, como infarto al miocardio, isquemia, en hasta siete veces más, además de incrementar el riesgo de reincidir en un infarto si se sobrevive a uno. Las complicaciones microvasculares como la retinopatía y la neuropatía son causales de la ceguera y la insuficiencia renal (Beckman *et al.*, 2013).

La insuficiencia renal solo es superada por el infarto al miocardio como causa de muerte en diabéticos. La diabetes causa lesiones glomerulares, lesiones vasculares renales (ateroesclerosis) y pielonefritis. La primera manifestación de la nefropatía diabética es la aparición microalbuminuria. El deterioro visual, en ocasiones ceguera completa, es una de las complicaciones mayores en la diabetes de larga evolución. La lesión fundamental de la retinopatía es atribuible a la sobreexpresión causada por hipoxia del factor de crecimiento endotelial antivascolar en la retina (Maitra, 2014).

La neuropatía diabética puede provocar distintas afecciones al SNC. El trastorno más frecuente es la polineuropatía simétrica distal en las extremidades inferiores que afecta a la función motora y sensitiva (Maitra, 2014). Los cambios observados en el cerebro de pacientes con DM2, como las lesiones de materia blanca y atrofia cortical, se asocian con disfunción cognitiva y empeoran con los factores de riesgo vasculares. Estos efectos que incrementan el riesgo del desarrollo de enfermedad cerebrovascular se asocian con el incremento en la producción de AGE derivado de la hiperglicemia (Guerrero-Berroa *et al.*, 2014), incluso se asocian los factores de riesgo de la DM2, la RI y la obesidad con el desarrollo de defecto cognitivo leve (MCI en inglés) que es precursor de otros desórdenes neurológicos graves (Rojas *et al.*, 2021).

1.4.2.3 Diabetes Mellitus Gestacional

De acuerdo con la OMS, la hiperglucemia en el embarazo se clasifica como diabetes mellitus gestacional (DMG). La DMG se inicia o se identifica en el embarazo, pudiendo iniciar en cualquier periodo de éste, principalmente después de la semana 24, aunque se ha evidenciado que muchos casos de DMG tenían hiperglicemia preexistente al embarazo, pero que se detecta en el embarazo (ADA, 2022; ALAD, 2019; FID, 2019).

La DMG se presenta en mujeres cuya capacidad secretora de insulina no llega a superar la reducida acción de la insulina causada por la producción de hormonas de la placenta y la mayoría

de los casos normalizan su glucemia al término del embarazo La diabetes de la madre incrementa el riesgo de deformaciones congénitas del fetal e incluso su muerte. La hiperglucemia materna hace aumentar la secreción de insulina por el feto y puede causar macrosomía fetal, que predispone a un parto difícil y a hipoglicemia del neonato. La DMG es generalmente un indicativo de disfunción de las células beta por lo que se relaciona a un riesgo relativo de padecer diabetes tipo 2 en particular de 3 a 6 años después de la DMG. Los bebés que nacen de madres con DMG tienen mayor riesgo de padecer obesidad a lo largo de su vida y de desarrollar DM2 (ADA, 2022; FID, 2019; Marshall, 2012).

1.4.2.4 Tipos Específicos de Diabetes Mellitus.

La diabetes monogénica, como se indica, se origina a partir de la mutación en un solo gen que causa una disfunción de las células β Es mucho menos común y se estima que menos del 5 % de los casos de DM se deben a esta etiología. Las dos principales versiones de la diabetes monogénica son la diabetes neonatal y las denominadas MODY (*Madurity Onset Diabetes of the Young*). La diabetes neonatal ocurre dentro de los primeros seis meses de vida y puede ser permanente o transitoria; se debe principalmente a una mutación autosómica dominante de algunos genes de proteínas de los canales de K^+ ATP en la célula β o en el gen de la insulina INS. Por otro lado, la diabetes de tipo MODY se presenta en la juventud, caracterizada por deficiencia en la síntesis de insulina, son heredadas en un gen autosómico dominante con anormalidades y se conocen 13 tipos específicos de mutaciones hasta ahora, las más comunes son variaciones en la glucocinasa GCK (MODY2) el gen HNF1A (MODY3) y el gen HNF4A (MODY1) (ADA, 2022; FID, 2019; Marshall *et al.*, 2012).

1.4.3 Diagnóstico de la Diabetes Mellitus

La principal herramienta para diagnosticar la diabetes es determinar los niveles de glucosa sanguínea (principalmente en ayuno) para, mediante la relación con el perfil clínico, establecer el

diagnóstico de DM. También se consideran aquellas pruebas que ayudan a determinar si existe una afección a la tolerancia de la glucosa o una disminución en la sensibilidad a la insulina.

Las diferentes organizaciones consideran criterios diagnósticos diferentes, sin embargo, con una estrecha relación entre sí.

La ALAD (2019) y la ADA (2022) consideran con DM a los pacientes que:

- Tienen síntomas de diabetes con una prueba de glucemia aleatoria igual o mayor a 200 mg/dL.
- Glucosa en ayuno mayor o igual a 126 mg/dL
- Prueba de tolerancia oral a la glucosa (PTOG) con glucemia final (a las 2 horas) igual o mayor a 200 mg/dL
- Hemoglobina glicosilada (A_{1c}) mayor o igual a 6.5 %
- Para pacientes sin síntomas se considera necesario contar con al menos dos de los resultados anteriores.

La Federación Internacional de Diabetes (2019) establece como criterios diagnósticos de diabetes que se cumplan uno o más de los siguientes:

- Glucosa en plasma en ayunas mayor o igual a 126 m/dL
- PTOG a las 2 horas mayor o igual a 200 mg/dL
- Glucosa aleatoria mayor a 200 mg/dL
- HbA_{1c} mayor o igual a 6.5 %

La FID considera además como tolerancia anormal a la glucosa si se cumple con una glucosa en ayunas mayor a 126 mg/dL y una PTOG a las dos horas de entre 140 y 200 mg/dL.

1.4.4 Prevalencia.

En 2014 la OMS consideraba a 422 millones de personas con diabetes. Shaw y colaboradores (2009) estimaban que para 2030 habría 439 millones de diabéticos, número que según la FID fue superado mucho antes pues en 2019 reportaban 463 millones en todo el mundo, siendo la predicción de 578 millones para 2030 y 700 millones para 2045.

En México, la FID reporta una prevalencia del 14.8 %, aproximadamente 12 millones de personas diagnosticadas, número que no refleja la gran cantidad de casos sin diagnosticar (ALAD, 2019).

El Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) reporta que en 2018 se obtuvo el valor de 82 millones de personas en la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. La mortalidad por diabetes en el año 2020 ascendió al 14 % de las defunciones, siendo la tercera causa de defunciones solo detrás de las enfermedades cardiovasculares y del COVID-19. La tasa de mortalidad fue la más alta registrada desde 2011, llegando a 11.95 personas por cada 10 mil habitantes.

2. Antecedentes.

Desde que se conocen los efectos de los desórdenes metabólicos como procesos patológicos de gran alcance, se han estudiado las causas y los mecanismos de dichas patologías, de forma general o específica a ciertos sistemas y órganos. Es desde el desarrollo de las técnicas bioquímicas y moleculares que se tiene acceso al estudio de los mecanismos involucrados en distintos procesos fisiológicos y patológicos.

Uno de los temas de principal interés para la ciencia siempre ha sido el SNC, sus mecanismos y las patologías que lo afectan. Es con esta motivación que en 1992 Mercado y Hernández dedican su estudio a relacionar la actividad regulatoria de la 5-HT con el sistema enzimático de la bomba de Na^+/K^+ -ATPasa (NKA) en SNC, determinando que el neurotransmisor modifica la cinética de la NKA al aumentar su velocidad máxima, principalmente en astrocitos. Posteriormente, con la colaboración de Peña-Rangel (1999) concluyen que dicha regulación difiere en las distintas zonas del cerebro y que dicha interacción ocurre a través del receptor 5-HT_{1A} en corteza cerebral, no así en cerebelo donde sugirieron que se realiza mediante el receptor 5-HT₆ lo que ejemplifica la diferencia en el rol regulatorio de la serotonina, como un proceso a corto y a largo plazo.

Ante la alta tasa de crecimiento del síndrome metabólico y la diabetes mellitus en todo el mundo, también se ha desarrollado un enorme interés en el estudio de estos procesos patológicos. Chatzigeorgiou y colaboradores presentan en 2009 los principales modelos usados en el estudio de la DM, siendo que estos contribuyen ampliamente al estudio de la enfermedad. Modelos que dan la oportunidad de controlar los factores genéticos y ambientales involucrados en la DM. La mayoría de los modelos se desarrollan en roedores, aunque no se excluyen otras especies. Los principales modelos responden a roedores modificados genéticamente (en un solo gen o en varios) para desarrollar obesidad e hiperglicemia (DM2) o para presentar fallas tempranas en las células pancreáticas (DM1). También se han desarrollado modelos que

implementan técnicas quirúrgicas o químicas (como el uso de aloxano o estreptozotocina) para emular los efectos de la destrucción pancreática.

Es a partir de esta relación entre SNC y enfermedades metabólicas que se desarrollan estudios cuyo propósito es conectar ambos sistemas.

De esta forma, Manjarrez-Gutiérrez y col. (2000) determinaron que los animales con DM inducida por estreptozotocina muestran un déficit en la concentración plasmática de L-triptófano, así como disminución de la triptófano 5-hidroxilasa en la corteza cerebral, confirmando que la DM produce una disminución en la síntesis de serotonina y una desnutrición crónica. Y en 2011 Herrera-Márquez y col. relacionaron una disminución en la captura de triptófano con la presencia de síndrome metabólico en adolescentes

Por otra parte, Sweeney y otros (2001) describen cómo la insulina incrementa la recaptura de K^+ por parte de la NKA en riñón, músculo esquelético y corteza cerebral mediante mecanismos de fosforilación principalmente a través de las vías del PI3P y de la PKC. Lo que después recupera Khajah M. (2018) al mencionar que la actividad de la bomba NKA se ve alterada en procesos como la diabetes, la hipertensión, la enfermedad de Alzheimer y en varios procesos tumorales.

Es desde 2004 que Sima y colaboradores propusieron que los efectos de la DM en el SNC se pueden catalogar en dos tipos de encefalopatías diabéticas, la primaria debida a procesos apoptóticos causados por la hiperglicemia y la RI y la secundaria debida al daño microvascular propio de la DM.

En 2014 Guerreiro-Berboa *et al.* presentan que en modelos animales de DM se ve disminuida la masa cerebral y acortamiento de los capilares neocorticales, efecto que sugieren se debe al incremento en la síntesis de AGE. También menciona la hasta ese momento poco esclarecida relación entre la DM y la enfermedad de Alzheimer. Es en el mismo año que Buckman y otros demuestran que en ratones obesos con una dieta alta en grasa existe un aumento en la cantidad

de monocitos que migran hacia el SNC, dejando la interrogante de si este proceso es a consecuencia de la neuroinflamación sub-crónica inducida por la obesidad y/o contribuye con la neuropatología asociada a la misma obesidad. Más recientemente, T van Slaten *et al.* (2020) mencionan que estos efectos parecen establecerse desde las etapas de prediabetes, sugiriendo que los efectos microvasculares ocurren aún antes del establecimiento de la diabetes.

Desde otro punto de vista Renaud y su grupo de trabajo muestran en 2018 la relación que existe entre la DM y los desórdenes neurodegenerativos como como el Alzheimer y la enfermedad de Parkinson, con respecto a esta última relacionaron los mecanismos oxidativos con la muerte de neuronas dopaminérgicas, astrogliosis y pérdida de la microglía.

Los mecanismos patológicos que relacionan a la DM con procesos degenerativos del SNC, como la deficiencia cognitiva leve y la enfermedad de Alzheimer, son descritos con mayor precisión en el trabajo de Rojas M. y colaboradores (2021) que mencionan a la RI y su consecuente producción de ERO y de placas beta-amiloide, así como la reciente relación con las proteínas Tau.

Finalmente, Lázaro-Fernández (2021) ejemplifica el efecto de una dieta hipercalórica en la actividad de la NKA en corteza cerebral de ratas Wistar, así como su efecto en distintos parámetros metabólicos, evidenciando una alteración en ambos factores.

3. Justificación.

Las alteraciones metabólicas que se presentan o se han caracterizado en la entidad denominada síndrome metabólico son la diabetes mellitus, la hipertensión y la obesidad. Específicamente, para nuestro trabajo nos enfocaremos en la diabetes mellitus, la cual se ha considerado que tiene gran impacto a nivel mundial, dado que su incidencia muestra que el número de pacientes con esta patología se incrementará notablemente en los próximos años. En México, la diabetes mellitus es la segunda causa de muerte desde hace varios años, por lo que representa un problema de salud al que la ciencia debe dedicar su esfuerzo para contribuir al diagnóstico, entendimiento y tratamiento de la diabetes y los factores asociados a ésta.

Los estudios desarrollados hasta el momento que tratan de esclarecer la relación que existe entre dichas alteraciones metabólicas y su efecto observado sobre el sistema nervioso central abren la posibilidad a realizar estudios que demuestren los mecanismos por los que estos dos sistemas se relacionan y caracterizar los cambios moleculares que conlleven a producir alteraciones en éste sistema. Resulta importante establecer el punto en el desarrollo de las patologías en que se generan dichos cambios moleculares dado que nos permite conocer puntos específicos en el establecimiento de una patología metabólica.

4. Hipótesis

La actividad de la bomba de sodio y potasio en corteza cerebral se modifica con la dieta hipercalórica en ratas macho adultas.

5. Objetivos

5.1 Objetivo General

Determinar el efecto de una dieta hipercalórica sobre el perfil de lípidos y carbohidratos sobre la actividad de la bomba de sodio y potasio en corteza cerebral de ratas.

5.2 Objetivos específicos

- Establecer un modelo de DM2 en ratas macho de la cepa Wistar mediante una dieta hipercalórica, comparada con un grupo control
- Determinar el perfil de lípidos y carbohidratos en ratas con dieta hipercalórica.
- Determinar si existen alteraciones en la actividad enzimática de la Na^+/K^+ -ATPasa en la corteza cerebral de las ratas con dieta hipercalórica.

6. Materiales y métodos

6.1 Manejo de animales.

Se utilizaron 15 ratas machos de la cepa Wistar nacidas en mismas condiciones de camadas homogéneas de madres control. Mantuvieron la lactancia durante 21 días y un desarrollo normal durante 60 días; condiciones estándar 22 °C promedio, humedad relativa, agua y alimento *ad libitum*, ciclos de luz/obscuridad de 12 horas. El cuidado y mantenimiento se realiza bajo la observación de la NOM-062-ZOO-1999, SAGARPA, que indica las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

A los 21 días de lactancia se separan de la madre en grupos iguales de hembras y machos. A los 60 días desde el nacimiento, considerando iniciada la adultez, se separaron los machos en jaulas individuales metálicas de 40 por 16 por 18 cm y en mismas condiciones estándar se someten a un periodo de aclimatación de mínimo dos semanas. Posteriormente se registró el peso corporal de cada rata y por método de números aleatorios se identificaron en los tres grupos a emplear.

6.1.1 Modelo experimental.

Se establecieron tres grupos para el desarrollo del modelo experimental. n = 5 para cada grupo.

- Grupo Control (CTRL): Alimento y líquido regular.
- Grupo Carbohidratos (CHO): Alimento regular, líquido modificado con 30 % p/v de sacarosa.
- Grupo Carbohidratos/Ácidos grasos (CHO/AG): Alimento con 20 % de ácidos grasos vegetales añadidos, líquido modificado con 30 % p/v de sacarosa.

El alimento que se utiliza como regular para el modelo animal en Nutricubos ® de la marca Purina ® que muestra la siguiente información:

Tabla 3. *Valor nutrimental del alimento Nutricubos ® de la marca Purina ®*

	<i>Porcentaje</i>
<i>Humedad</i>	12.00 % Máximo
<i>Proteína</i>	23.00 % Mínimo
<i>Grasa</i>	3.00 % Mínimo
<i>Fibra</i>	6.00 % Máximo
<i>Cenizas</i>	7.00 % Máximo

El alimento modificado se obtiene pulverizando y añadiendo 20 % de peso de margarina comercial conteniendo principalmente aceites vegetales, ácido oleico y palmítico, para posteriormente reconstruir en la forma regular mediante el método establecido dentro del laboratorio de neurobiología. El líquido proporcionado fue agua purificada, se le añade por disolución 30 % p/v de sacarosa (azúcar de mesa) para obtener la solución modificada.

Previamente al inicio de la dieta correspondiente se determinó en el lapso de una semana los parámetros metabólicos que se tomaron como base en la observación, determinando ésta como la semana 0 del modelo experimental. Una vez realizado se dio inicio al modelo experimental proporcionando a cada grupo su dieta correspondiente.

6.2 Medición de parámetros in vivo.

6.2.1 Peso corporal.

Una vez cada semana se midió con una báscula granataria el peso corporal expresado en gramos de cada rata y se anotó tanto la medición individual como el promedio de cada grupo. El propósito fue determinar variaciones en el peso corporal que demuestren signos esperados de ganancia de peso por la naturaleza de la dieta

6.2.2 Glucemia

De forma semanal se determinó el nivel de glucosa sanguínea periférica en ayuno de 12 horas de una muestra de al menos tres ratas por grupo cada semana para obtener un promedio representativo. Se realiza en ayuno estricto (sin agua ni alimento) de 12 horas. La determinación se realizó empleando glucómetro y tiras reactivas para glucosa Accu-Check ACTIVE ® de Roche®, otorgando así el valor de glucosa sanguínea expresado en mg/dL. A partir de la semana 5ta la medición se realizó cada dos semanas por considerarse suficiente.

6.2.3 Curva de tolerancia oral a la glucosa

Ésta se realizó a las 18 semanas de iniciado el esquema. Contando con 12 horas de ayuno a cada animal se le determinó el nivel de glucemia basal (véase arriba) y posteriormente se le administro vía oral mediante sonda esofágica el equivalente a una dosis de 3 g/kg de peso de D-glucosa preparada al momento. Después se realizó una medición de glucemia a los 15, 30, 60, 90 y 120 minutos posteriores a la administración. Los datos se registran para la realización de su gráfica individual y por grupo.

6.2.4 Curva de resistencia a la insulina

Siguiendo el método descrito arriba se realizó una curva de resistencia a la insulina a las 20 semanas del modelo, siendo la diferencia entre ambos métodos que transcurridos los 15 minutos de la administración oral de glucosa y posterior a la medición correspondiente de glucemia, cada rata recibió vía sub-dérmica una dosis de 1 UI de insulina de acción media de la marca Novolín®. Las anotaciones del valor de glucosa sanguínea se realizan de forma similar (véase arriba) a los 15, 30, 60, 90 y 120 minutos.

6.3 Obtención de tejido.

A las 21 semanas de iniciado el modelo de dieta se procedió a sacrificar a los animales para la obtención de la corteza cerebral, el cerebelo y el tallo cerebral. Esto se realizó como sigue:

Tras un ayuno estricto de 12 horas se realizaron los sacrificios entre las 7:00 y las 11:00 horas para evitar variaciones en el ciclo circadiano. Mediante dislocación cervical se priva de la vida a cada rata siguiendo un orden que no incurra en malas prácticas de bioética, para la posterior proceder a realizar una incisión en la región torácica que exponga el corazón y permita la extracción intracardiaca desde el ventrículo derecho de una muestra de sangre; se conservan dos muestras, una de sangre total para determinación de hemoglobina glicosilada (HbA1C) y una de suero para determinación de química sanguínea, perfil metabólico de lípidos y carbohidratos; a continuación, se perfunde vía ventrículo izquierdo con un volumen de 40 mL de solución salina fisiológica 0.9 % de cloruro de sodio en agua bidestilada con el fin de limpiar los tejidos a extraer.

Se llega a SNC mediante decapitación para posteriormente obtener el tejido buscado y colocarlo en una placa de hielo a $< 0^{\circ}\text{C}$ para mantener el tejido conservado mientras se disecciona y limpia de materia no deseada siendo esta las meninges y la materia blanca (axones neuronales) en el caso de la corteza cerebral.

Una vez obtenido el tejido se pesa y homogeniza cada tipo para su posterior conservación. El tejido fue preparado en 10 volúmenes (p/v) del buffer Tris-HCL 50 mM pH 7.4 y homogenizado a 700 rpm 10 pasos en un homogenizador Thomas de vidrio con mortero de teflón. Consecuentemente el tejido se almacena en alícuotas de 1-1.5 mL en tubos eppendorf de X a una temperatura $<20^{\circ}\text{C}$. (Hernández, Mercado, 1992)

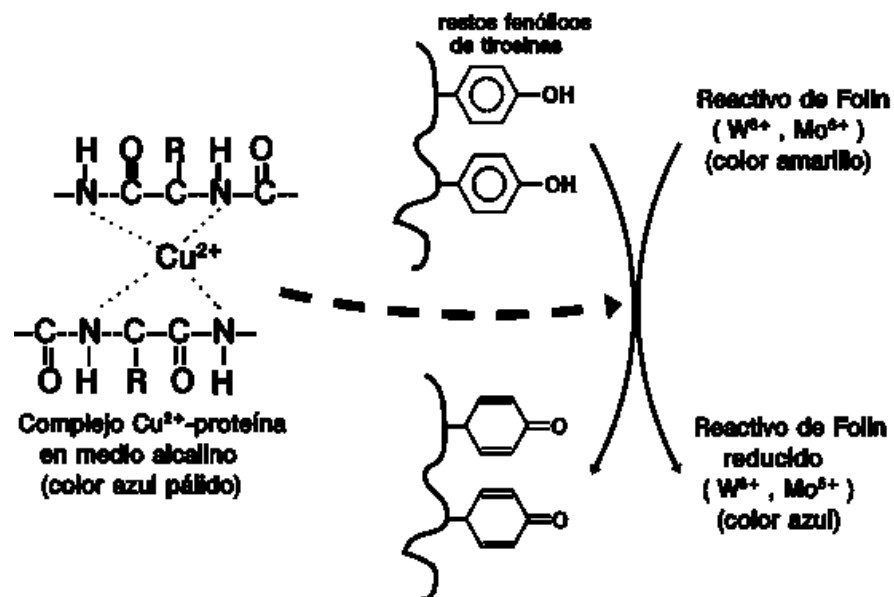
6.4 Determinación de la actividad y la cinética enzimática de la bomba de $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}$ -ATPasa.

6.4.1 Determinación de la concentración de proteína.

La determinación de proteína nos permite estandarizar las técnicas posteriores por lo que es el primer método a utilizar.

1. En un medio alcalino se logra el desdoblamiento de la proteína mediante la formación de complejos del nitrógeno con el ion Cu^{+2} lo que expone los residuos de aminoácidos aromáticos presentes (tirosina y triptófano) a la siguiente reacción. En el medio se cuenta además con tartrato de sodio (Na^+) y potasio (K^+) para evitar la precipitación de la proteína (Peterson, 1979).

2. El reactivo de Folin-Ciocalteu (ácido fosfomolibdotungstico) se reduce por exposición a los residuos fenólicos (principalmente los de tirosina) expuestos en el medio con ayuda del Cu^{+2} como catalizador, pasando de un color amarillo a un azul intenso, lo que permite su cuantificación colorimétrica (Peterson, 1979).



58

En el laboratorio de Neurobiología se emplea el método de Lowry modificado por Hernández y Mercado 1992. Que sea realiza como sigue:

- a) Se prepara en un vial apropiado una solución 2 % de carbonato de sodio anhidro Na_2CO_3 usando como disolvente una solución fría 0.1 N de hidróxido de sodio NaOH. La cantidad es la requerida según el número de ensayos a realizar, mínimo 7 mL. Esta disolución será identificada como reactivo A. Se deja reposar.
- b) Para el reactivo B en otro vial se colocan en partes iguales cantidades de solución de sulfato cúprico CuSO_4 1 % y de sal de Rochelle 2 % (tartrato de sodio y potasio) tal que sean en total el equivalente al 1 % del reactivo A. Es decir, 100 microlitros 1:1 de reactivo B por cada 10 mL de reactivo A. Se deja reposar.
- c) Para estandarizar la técnica se utiliza albúmina sérica bovina (BSA) comercial como estándar, por lo que se prepara previamente una solución de 1 mg/mL de BSA que servirá para realizar la curva de calibración. La muestra del tejido a analizar se diluye previamente 1:6 con agua tridestilada.
- d) Se prepara una batería de tubos por triplicado que contendrán el blanco, los estándares y la muestra según la siguiente tabla:

Tabla 4. Preparación de la curva de calibración para determinación de proteína

<i>Serie</i>	<i>Agua (μL)</i>	<i>BSA 1 mg/mL (μL)</i>
0	100	0
10	90	10
20	80	20
30	70	30
Muestra	90	10 μL Muestra 1:6

- e) Una vez preparada la batería, cada serie por triplicado, se añade el reactivo A al reactivo B y se agita. Éste será el reactivo C.

- f) A cada tubo de la batería se le añaden 500 μL del reactivo C y se agitan contando con precisión el tiempo exacto entre cada tubo para que cada uno cuente con 10 minutos exactos de reacción.
- g) Pasados los diez minutos se añade a cada tubo 100 μL de una solución diluida 1:2 del reactivo de Folin-Ciocalteu, se agita en vortex y se deja reposar por 30 minutos para después leer el resultado de la reacción en espectrofotómetro a una longitud de onda (λ) de 750 nanómetros (nm) y se anotan las lecturas de absorbancia. Se utilizó un espectrofotómetro de la marca JENWAY® Modelo 7305 Spectrophotometer calibrado con agua tri-distilada
- h) Con los promedios de cada serie de BSA se construye una curva de calibración que se ajusta por regresión lineal y por interpolación se determina la concentración de proteína en microgramos por microlitro ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$).

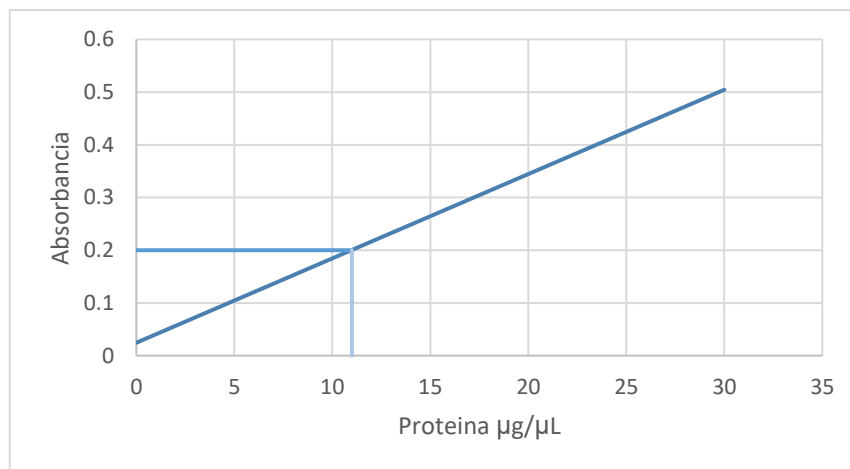


Figura 8 Curva de calibración de proteína para el método de Lowry modificado (1952) usando BSA como estándar.

6.4.2 Determinación de la actividad enzimática por determinación de producto final.

Una vez determinada la concentración de proteína en el tejido, la actividad enzimática se puede cuantificar sometiendo a la enzima a condiciones controladas de acción, para medir la

cantidad de producto que genera por unidad de tiempo. Es decir, la velocidad enzimática específica.

La bomba de sodio-potasio, como se mencionó anteriormente, es una enzima de transporte transmembrana que utiliza la energía de la ruptura del enlace del ATP para realizar su actividad, por lo que el producto final son moléculas de ADP y fosfato inorgánico Pi. Estos últimos son cuantificables por una variación (Hernández y Mercado 1992) de la técnica desarrollada por Fiske y Subarrow en 1925 que cuantifica fosfatos inorgánicos a partir de la propiedad del ortofosfato de formar un complejo con ácido molíbdico, formando el complejo fosfomolibdato que al ser reducido forma un compuesto de color azul profundo denominado *molidenum blue* (Katewa y Katyara, 2003).

La técnica sigue el método de Hernández y Mercado 1992:

1. Se realiza una dilución del conservado del tejido a ensayar en Tris-HCl pH 7.4 tal que a partir de la concentración de proteína determinada en el punto anterior se diluya a solo 2 µg/µL. La finalidad de ese paso es estandarizar la cantidad de proteína ensayada en cada tubo, esto es 50 µg de proteína por ensayo.
2. Se prepara a continuación una batería de dos series de tubos, cada serie por triplicado, siendo identificada la primera como **T Total** y la segunda como **O Ouabaina**. La serie con Ouabaina permite cuantificar el valor basal de los Pi que no provienen de la actividad de la bomba de sodio-potasio. Se añade a cada tubo lo siguiente:

Tabla 5. Preparación de los tubos para la actividad enzimática

	Dilución Tejido	Stock de sales	H ₂ O	Ouabaina 0.1 mM
Total	25 µL	100 µL	25 µL	0 µL
Ouabaina	25 µL	100 µL	0 µL	25 µL

3. El Stock de sales es una mezcla de cloruros 50 mM KCl, MgCl₂ y NaCl, además de Tris-HCl 50mM en proporción 1:1:1:1.

4. Una vez preparados los tubos se colocan en baño metabólico por 5 minutos a 37 °C 90 rpm para establecer condiciones estándar para la actividad.
5. Pasados los cinco minutos se coloca a cada tubo 50 µL de ATP 12 mM para dar iniciada la reacción enzimática.
6. A los 10 minutos de reacción se añade a cada tubo 20 µL de TCA 50 % p/v y se colocan en baño de hielo para detener la reacción.
7. Pasados 10 minutos en baño de hielo se someten a centrifugación a 3500 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante contiene los fosfatos producidos.
8. Para realizar la cuantificación se construye una curva de calibración utilizando fosfato monobásico de potasio K_2HPO_4 como estándar a concentración X se prepara 1 mL de dilución 1:10 Se prepara una batería de tubos de siete series, cada una por triplicado conteniendo lo siguiente:

Tabla 6 Preparación de curva de calibración ATPasa y muestra.

	Tubos	H ₂ O	K ₂ HPO ₄ (1:10)
Curva de calibración	0	500 µL	0 µL
	25	475 µL	25 µL
	50	450 µL	50 µL
	75	425 µL	75 µL
	100	400 µL	100 µL
ATPasa	Total	400 µL	100 µL Total
	Ouabaina	400 µL	100 µL Ouabaina

9. Al momento se prepara una solución 0.04 % p/v de sulfato ferroso heptahidratado $Fe_2SO_4 \cdot 7H_2O$ usando como disolvente una solución de molibdato de amonio acidulada. Se pesa el Fe_2SO_4 y se agita en vortex. Se prepara la cantidad suficiente.
10. A cada tubo de la batería se le añaden 500 µL del reactivo preparado en el paso anterior. Se agitan en vortex y se dejan reposar 10 minutos.
11. Una vez pasados los 10 minutos se mide el color resultante en espectrofotómetro a 850 nm de λ .

12. Con las mediciones del blanco y los estándares se construye la curva de calibración que se ajusta por regresión lineal. Con el promedio de la serie **Total** y de la serie **Ouabaina** se determina por diferencia la absorbancia del total de Pi producido, que es la medida que se interpola en la curva de calibración.
13. Se obtiene el valor de la actividad enzimática específica a las condiciones arriba expresada en milimoles de Pi por μg de proteína por hora. $\mu\text{ moles Pi/ mg Prot. /h}$

6.4.3 Análisis estadístico

Se recopilaron las mediciones de actividad enzimática de la corteza cerebral de las ratas de cada grupo, los datos se agruparon por grupo y se obtuvo el promedio de cada uno, después se sometió a análisis de diferencia de medias por la prueba t de student, usando el software estadístico GraphPad Prism 9.3.1.

7. Resultados

7.1 Peso corporal

A lo largo de la implementación del modelo animal se llevó el monitoreo del peso corporal de cada animal. En la Figura 9 se recopila el promedio de peso corporal por grupo desde la semana previa al inicio de la dieta hasta la semana 17. Como se observa, la tendencia al incremento de peso es mayor (12 % aproximadamente) en los animales con dieta alta en calorías de los grupos CHO y CHO/AG comparados con el grupo CONTROL:

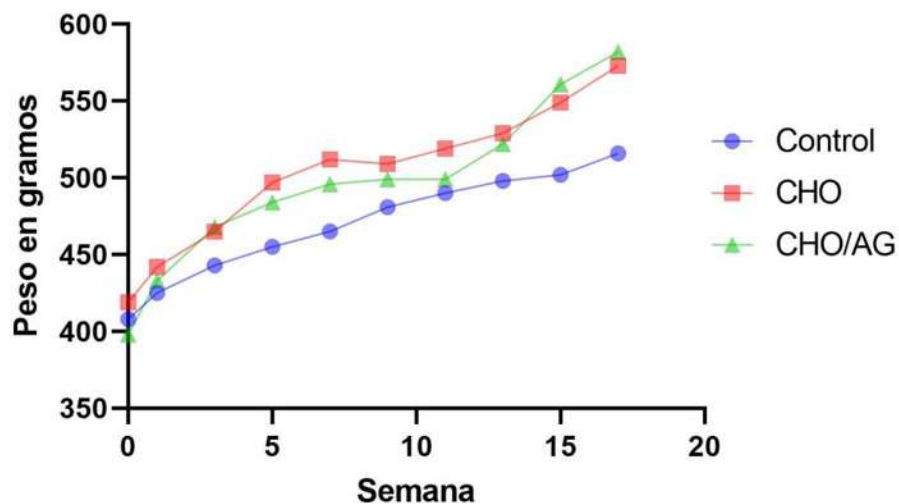


Figura 9 *Peso corporal promedio por grupo por semana del modelo.*

7.2 Glucosa en sangre.

Así mismo, la variación de los niveles de glucosa sanguínea de los animales se recopiló de forma periódica mostrando un comportamiento primero de disminución y después de incremento gradual. En la última medición se observa una tendencia clara al incremento de la glucemia de los grupos CHO y CHO/AG comparados con el grupo CONTROL, sin embargo, debido a la dispersión de los datos no se muestra una diferencia significativa estadísticamente, tal como se observa en la Figura 10.

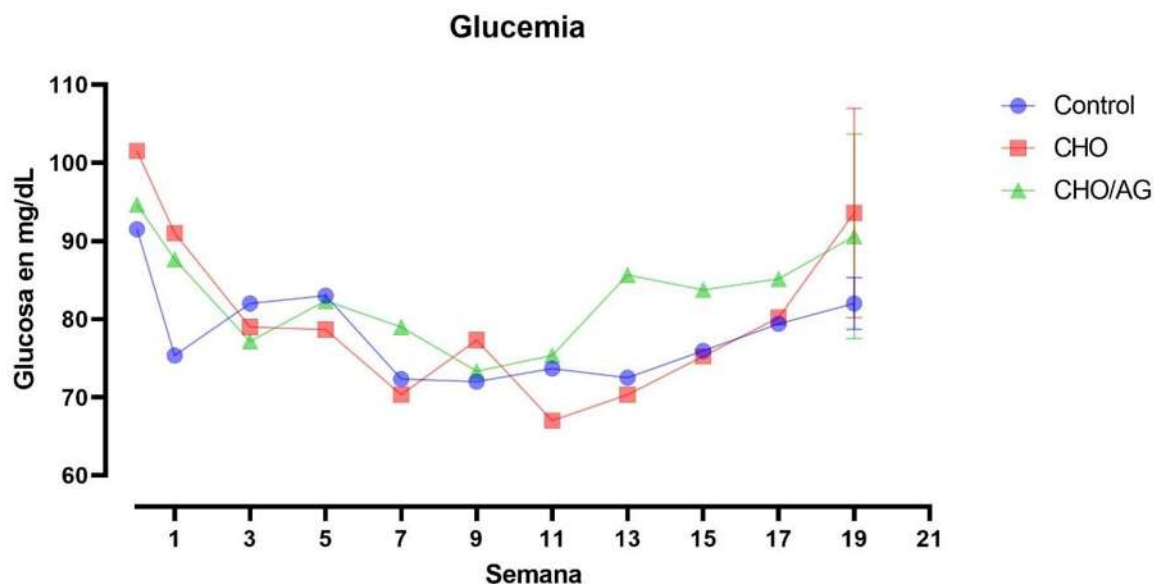


Figura 10 Niveles de glucosa en sangre promedio por semana de cada grupo. En la última semana se expresa la DE por grupo. Como se observa, no existe una clara diferencia entre grupos.

7.3 Prueba de tolerancia a la glucosa.

Para establecer si existe o no una alteración en el metabolismo de una dosis de glucosa, se realizó la prueba de tolerancia oral (véase Métodos) monitoreando además los niveles de glucemia en lapsos intermedios hasta las 2 horas posteriores a la ingesta de glucosa. La prueba se realizó a la semana 17 del modelo y en la figura X se puede observar cómo cambia el nivel de glucosa (en mg/dL) a través del tiempo y cómo este cambio es diferente entre los tres grupos, siendo el grupo CHO el que presenta el mayor nivel de glucemia a las 2 horas posteriores (156 mg/dL) mostrando una diferencia significativa comparada con los grupos CONTROL y CHO/AG; diferencia que se observa con mayor claridad en la Figura 11b.

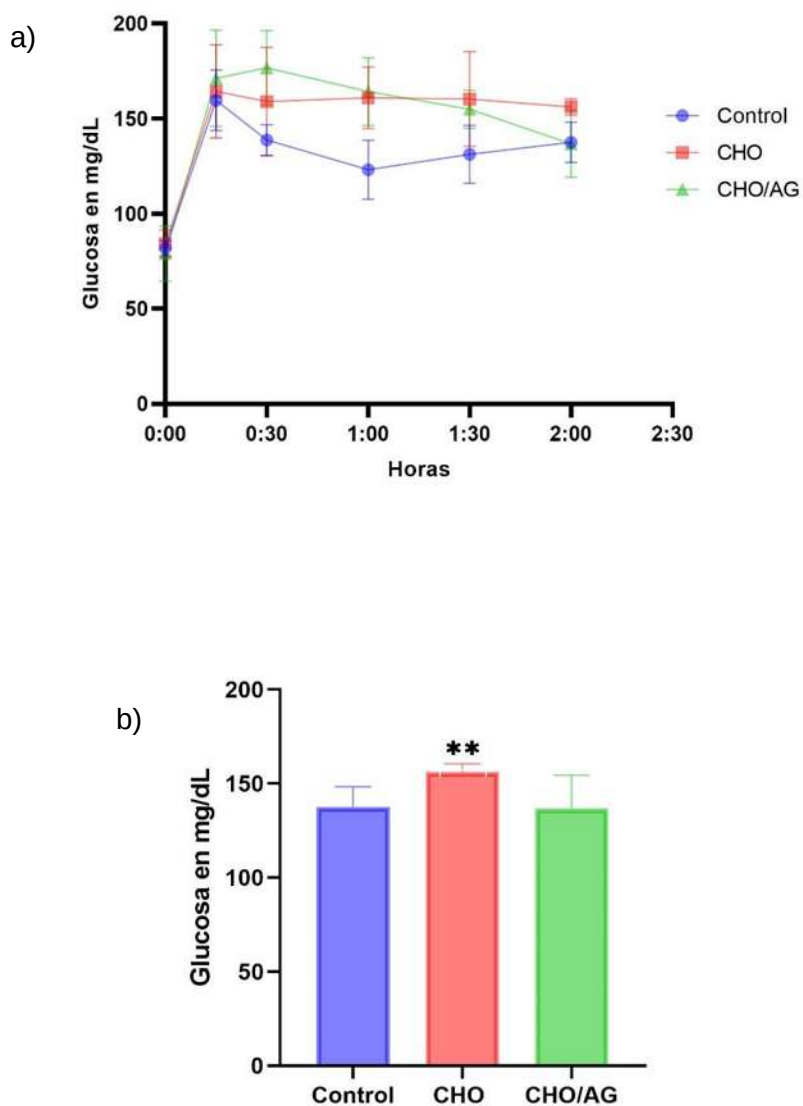


Figura 11. *Prueba de tolerancia oral a la glucosa.*

a) Curva del desarrollo del nivel de glucosa desde el minuto 0 (antes de la ingesta) hasta los 120 minutos posteriores. b) Nivel de glucosa a los 120 minutos por grupo. El grupo CHO presenta un incremento con respecto a los grupos CTRL y CHO/AG $**p<0.05$.

7.4 Prueba de Resistencia a la Insulina.

Consecuentemente, otro parámetro importante a determinar en el establecimiento de alteraciones metabólicas relacionadas al desarrollo del síndrome metabólico es la resistencia a

la insulina. De forma similar a la PTOG, se mide el efecto de una dosis de insulina inmediata a la ingesta, en condiciones de ayuno, de una carga controlada de glucosa. Los resultados obtenidos muestran que a la semana 21 del modelo se muestra una diferencia entre los tres grupos en la forma en la que se responde a la insulina, siendo que el grupo CHO muestra una tendencia a no disminuir los niveles de glucemia al mismo nivel que se observa en el grupo CONTROL, esto se observa en la Figura 12.

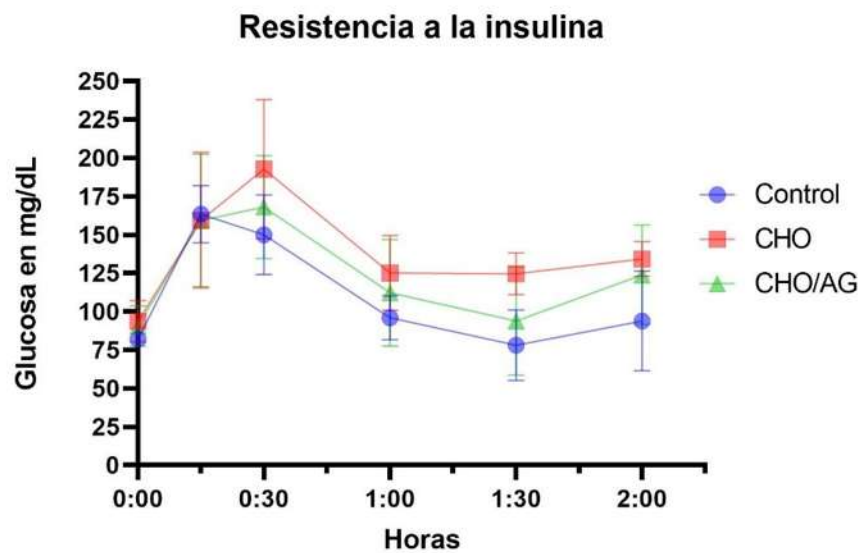


Figura 12. *Prueba de resistencia a la insulina.*

7.5 Perfil de lípidos.

Tras la finalización del modelo y la obtención de tejidos fue posible analizar el perfil total de lípidos en sangre de los animales (Figura 13). Se observan diferencias significativas principalmente en los triglicéridos (73 % más en CHO vs CONTROL y 134 % más en CHO/AG vs CTRL), VLDL (72.61 y 132 % más en CHO y CHO/AG, respectivamente, comparados con grupo CTRL) y lípidos totales (26 % más en grupo CHO y 65 % más en grupo CHO/AG contra grupo CTRL).

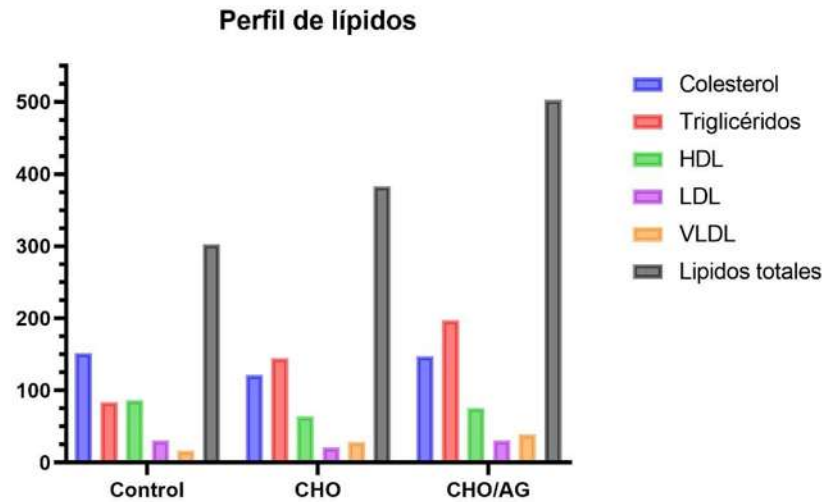


Figura 13. Comparación entre el perfil de lípidos de cada grupo al finalizar el modelo.

7.6 Actividad enzimática de la Na^+/K^+ -ATPasa.

Finalmente, al realizar el análisis en corteza cerebral de la actividad enzimática de la Na^+/K^+ -ATPasa, se encuentra que existe una disminución en la actividad de los grupos CHO y CHO/AG comparados con el grupo CTRL de 28 y 24.8 % respectivamente, dicha diferencia se considera significativa ($p < 0.05$) y se ilustra en la Figura 14.

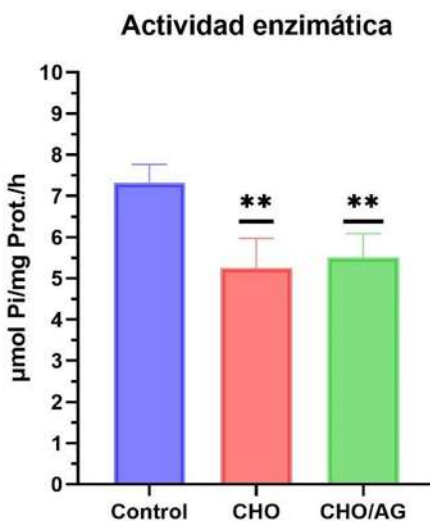


Figura 14. Actividad enzimática específica de la NKA en corteza cerebral por grupo.

** $p < 0.05$ respecto al grupo CTRL.

8. Discusión

El modelo establecido permite analizar el impacto de una dieta alta en carbohidratos o alta en lípidos sobre el desarrollo de complicaciones metabólicas que derivan en afectaciones como el síndrome metabólico o en enfermedades crónicas como la diabetes mellitus. La dieta alta en calorías, alta en grasas, que se traduce en un estado de sobre nutrición y que se además se conjuga con falta de actividad física conllevan al cúmulo de tejido adiposo y a la obesidad (Castillo-Hernández *et al.*, 2017; Xu *et al.*, 2018).

El aumento de peso debido a la dieta es algo que se observa en los animales del modelo al paso de las semanas, siendo que los grupos CHO y CHO/AG presentan un incremento de peso de alrededor del 12 % comparado con el grupo control, de forma similar a lo observado por González-Madariaga (2015) que presenta un aumento del 19 % de peso corporal en machos sometidos a una dieta similar y durante el mismo periodo de tiempo. En ratas Wistar, la administración de 30 % de sacarosa en el agua de consumo ha sido demostrada como una forma efectiva de inducir obesidad abdominal, hipertensión, hiperlipidemia e hiperinsulinemia (Barbosa-da-Silva *et al.*, 2014).

La obesidad, principalmente la obesidad central, que se traduce como grasa visceral, se considera un factor altamente asociado al desarrollo de hiperinsulinemia, resistencia a la insulina, disfunción endotelial y disfunción en la fibrinólisis (Lizarzaburu, 2013). Los ácidos grasos saturados presentes, como el palmitato, activan diversas vías de señalización metabólica que producen resistencia a la insulina y además la activación de factores proinflamatorios que incrementan el daño tisular (Xu *et al.*, 2018). La resistencia a la insulina que se genera a partir de estos mecanismos explica el desarrollo de estados de hiperglucemia que desembocan en diabetes mellitus.

La alteración en la regulación de la glucosa se observa en el control glucémico semanal y en las pruebas de tolerancia oral a la glucosa. En el primero se observa que la glucosa en ayunas tiende a disminuir en promedio por grupo, lo que se explicaría entendiendo que una dieta alta en carbohidratos estimula en primera instancia la secreción de insulina, para que posteriormente, y atribuible a una disminución tanto en la función pancreática como en la sensibilidad a insulina, se presente un incremento gradual de los niveles de glucosa en ayunas, siendo que al finalizar el modelo los grupos con dieta CHO y CHO/AG presentan un ligero incremento en la glucemia a comparación del grupo CTRL, sin que esto sea un indicativo de la presencia del SM o la DM2, sin embargo, si muestra la tendencia natural al aumento característica de estas enfermedades, tal como reporta Lázaro-Fernández (2021) en un estudio similar al nuestro.

La alteración de la glucosa en ayunas (IFG) se puede establecer mejor mediante la prueba de tolerancia oral a la glucosa (PTOG) que para ser considerada al menos dentro del rango de prediabetes debe presentar un valor de glucemia a las dos horas mayor o igual a 140 mg/dL (ADA, 2022); lo cual se cumple para el grupo de CHO, aunque no así para el grupo CHO/AG. La dieta alta en sacarosa produce alteraciones en la PTO que se asumen como alteraciones de la glucosa en ayunas y deterioro de la tolerancia a la glucosa. (González-Madariaga *et al.*, 2015; ONU, 2021). De forma similar, cierta tendencia a la resistencia a la insulina se observa presente en los grupos CHO y CHO/AG (fig. 12).

En roedores, la dieta alta en sacarosa induce RI, independientemente de cambios corporales (Barbosa-da-Silva *et al.*, 2014). La insulina regula, además del metabolismo de la glucosa, distintas vías del metabolismo de lípidos, por lo que una alteración en la función de la insulina generaría un desbalance en el metabolismo de lípidos, que a su vez generan una mayor RI (Xu *et al.*, 2018) alteración que se observa en ambos grupos con dieta, y que no se presenta en el grupo control. La forma en la que los lípidos contribuyen a la resistencia a la insulina se sugiere es por activación de la vía de señalización de MAPK, lo que incrementa la secreción de

citocinas inflamatorias como el FNT α y la IL6 que se asocian con daño a las células beta e interfieren en la señalización de la insulina, lo que conlleva a la deficiencia en la captura de glucosa (Zhou *et al.*, 2017)

Finalmente, el efecto que las alteraciones en el metabolismo de los carbohidratos inducen a nivel del sistema nervioso es un tema ampliamente estudiado, tanto en modelos animales como en pacientes humanos, desde diferentes perspectivas y por múltiples autores (Sweeney, 1998; Rojas *et al.*, 2021; Renaud *et al.*, 2018).

Como se sabe, la bomba de Na⁺/K⁺-ATPasa es participe directa de la regulación osmótica en la membrana plasmática de los tejidos, especialmente en las funciones relacionadas al SNC y de igual forma se ha estudiado la relación que guarda con ciertas alteraciones metabólicas y el efecto de estas sobre la actividad de la NKA.

Una disminución de la actividad de la NKA se ha observado en la diabetes, en modelos de animales con diabetes inducida, en los que la administración de insulina regula los niveles de glucosa, pero no recupera la actividad de la NKA (Sweeney *et al.*, 1998). La disminución de la actividad enzimática de la NKA en el SNC de ratas Wistar con DM experimental es algo que se ha demostrado en varios estudios (Vázquez-Ruíz, 2018).

Según sugieren Isaar y col. (2021), la causa principal de la disfunción nerviosa en pacientes con DM2 sería la reducción en la permeabilidad del sodio, mientras que en pacientes con SM y DM2 se presenta además una disminución en la actividad de la NKA, lo que conlleva a un mayor daño en la estructura y función nerviosa periférica, lo que se traduce en neuropatía diabética. La disminución en la actividad enzimática de la NKA se evidencia en este trabajo (Fig. 14)

Desde otra perspectiva, T van Sloten *et al.* (2020) indican que la disfunción cerebral microvascular es aparente también en pacientes con prediabetes, sugiriendo que las alteraciones nerviosas a nivel microvascular ocurren incluso antes de la instauración de la diabetes.

En el presente trabajo se observa una disminución en la actividad de la NKA en la corteza cerebral de las ratas Wistar macho que se sometieron a dieta hipercalórica (Figura 14). Estos resultados son similares a los obtenidos por Lázaro-Fernández (2021) en un estudio anterior con variantes concordantes con las presentadas aquí. Ya anteriormente se había establecido una relación entre la DM experimental y una disminución en la actividad específica de la NKA en corteza cerebral de ratas Wistar, disminución que se recupera parcialmente con el tratamiento de L-triptófano o la administración de 5-hidroxitriptamina (Vázquez-Ruíz, 2018) lo que encuentra sentido si se considera el papel que juega la serotonina en la regulación positiva de la NKA principalmente en las células gliales (Mercado & Hernández, 1992) y que en la DM la síntesis de serotonina se ve afectada (Manjarrez *et al.* 2001).

Sin embargo, en nuestro modelo no es posible establecer signos suficientes que sugieran la presencia de la DM2 o del síndrome metabólico, dadas las limitaciones propias de la naturaleza del modelo, por lo que no se puede establecer que la causa de la disminución de la actividad de la NKA se deba exclusivamente a un efecto ejercido por los estados de hiperglicemia. Otros factores moleculares propiciados por la dieta de alto contenido calórico tendrían que estar implicados en la disminución de la actividad para explicar su presencia antes del establecimiento de la diabetes. A futuro, es necesaria una investigación que logre establecer la relación directa entre la disminución en la actividad de la NKA y el desarrollo de hiperglicemia, así como una medida cuantitativa comparativa de dicha disminución.

9. Conclusión

La dieta hipercalórica modifica la actividad de la NKA e inicia alteraciones en el metabolismo de lípidos y carbohidratos que pueden originar el desarrollo de patologías como la diabetes mellitus y posteriormente el síndrome metabólico.

10. Referencias.

- American Diabetes Association. (2022). 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care *Diabetes Care*, 45, S17–S38. <https://doi.org/10.2337/dc22-S002>
- American Diabetes Association. (2022). Introduction: Standards of Medical Care. En *Diabetes Care*, 45, S1–S2. <https://doi.org/10.2337/dc22-Sint>
- Askari, A. (2019). The other functions of the sodium pump. *Cell Calcium*, 84. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2019.102105>
- Asociación Latinoamericana de Diabetes. (2019). *Guía para la diabetes*. www.revistaalad.com
- Ávila-Curiel, A., Galindo-Gómez, C., Juárez-Martínez, L., & Osorio-Victoria, M. L. (2018). Metabolic syndrome in children aged 6 to 12 years with obesity in public schools of seven municipalities in the State of Mexico. *Salud Publica de Mexico*, 60(4), 395–403. <https://doi.org/10.21149/8470>
- Bear, M. F., Connors, B. W., & Paradiso, M. A. (2001). *Neuroscience: exploring the brain* (S. Kats, Ed.; 2nd ed.). Lippincot Williams & Wilkins.
- Beckman, J. A., Paneni, F., Cosentino, F., & Creager, M. A. (2013). Diabetes and vascular disease: Pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: Part II. En *European Heart Journal* (Vol. 34, Issue 31, pp. 2444–2456). <https://doi.org/10.1093/eurheartj/eh142>
- Berumen, L. C., Rodríguez, A., Miledi, R., & García-Alcocer, G. (2012). Serotonin receptors in hippocampus. En *The Scientific World Journal* (Vol. 2012). <https://doi.org/10.1100/2012/823493>
- Brailoswky, S. (2002). *Las sustancias de los sueños* 3rd ed.. FCE SEP. México.

- Brenner, G. M., & Steven, C. (2019, April 11). *Los 10 neurotransmisores principales y su función en el sistema nervioso central*. Elsevier Connect.
- Buckman, L. B., Hasty, A. H., Flaherty, D. K., Buckman, C. T., Thompson, M. M., Matlock, B. K., Weller, K., & Ellacott, K. L. J. (2014). Obesity induced by a high-fat diet is associated with increased immune cell entry into the central nervous system. *Brain, Behavior, and Immunity*, 35, 33–42. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2013.06.007>
- Carson, C., & Lawson, H. A. (2018). Epigenetics of metabolic syndrome. *Physiological Genomics*, 50(11), 947–955. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00072.2018>
- Castillo Hernández, J. L., Cuevas González, M. J., Galiana, M. A., & Romero Hernández, E. Y. (2017). SÍNDROME METABÓLICO, UN PROBLEMA DE SALUD PÚBLICA CON DIFERENTES DEFINICIONES Y CRITERIOS. *Revista Médica de La Universidad Veracruzana*, 7(2), 7–24.
- Cătoi, A. F., Pârvu, A. E., Andreicuț, A. D., Mironiuc, A., Crăciun, A., Cătoi, C., & Pop, I. D. (2018). Metabolically healthy versus unhealthy morbidly obese: Chronic inflammation, nitro-oxidative stress, and insulin resistance. *Nutrients*, 10(9). <https://doi.org/10.3390/nu10091199>
- Chatzigeorgiou, A., & Halapas, A. (2009). The use of animal models in the study of Diabetes Mellitus. *In Vivo*, 23, 245–258.
- Creager, M. A., Lüscher, T. F., Cosentino, F., & Beckman, J. A. (2003). Diabetes and vascular disease. Pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: Part I. In *Circulation* (Vol. 108, Issue 12, pp. 1527–1532). <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000091257.27563.32>

- Díaz, Á., Valdizán, E., Pazos, Á., & Castro, E. (2011). Neurotransmisión serotoninérgica. En *Neurofarmacología contemporánea*.
- Fabregat, R. & Diaz Zagoya, J. C. (1983). *La bomba de sodio* Breve revisión sobre conceptos generales y cinética enzimática*. 406–411.
- Federación Internacional de Diabetes. (2019). *ATLAS DE LA DIABETES DE LA FID*.
- Felten, D. L., O'Banion, M. K., & Maida, M. (2016). *Netter Atlas de Neurociencia* (3rd ed.). Elsevier España.
- Filip, M., & Bader, M. (2009). Overview on 5-HT receptors and their role in physiology and pathology of the central nervous system. En *Pharmacological Reports* (Vol. 61, Issue 5, pp. 761–777). Polish Academy of Sciences. [https://doi.org/10.1016/S1734-1140\(09\)70132-X](https://doi.org/10.1016/S1734-1140(09)70132-X)
- Fiske, C. H., & Subbarow, Y. (1925). THE COLORIMETRIC DETERMINATION OF PHOSPHORUS. *Journal of Biological Chemistry*, 66(2), 375–400. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)84756-1](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)84756-1)
- Galicia-Garcia, U., Benito-Vicente, A., Jebari, S., Larrea-Sebal, A., Siddiqi, H., Uribe, K. B., Ostolaza, H., & Martín, C. (2020). Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus. En *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 21, Issue 17, pp. 1–34). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms21176275>
- Gary Peterson, R. L. (1979). Review of the Folin Phenol Protein Quantitation Method of. En *ANALYTICAL BIOCHEMISTRY* (Vol. 100).
- Guerrero-Berroa, E., Schmeidler, J., & Beerli, M. S. (2014). Neuropathology of type 2 diabetes: A short review on insulin-related mechanisms. *European Neuropsychopharmacology*, 24(12), 1961–1966. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2014.01.019>

- Gurung, M., Li, Z., You, H., Rodrigues, R., Jump, D. B., Morgun, A., & Shulzhenko, N. (2020). Role of gut microbiota in type 2 diabetes pathophysiology. En *EBioMedicine* (Vol. 51). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.11.051>
- Herrera-Marquez, R., Hernandez-Rodriguez, J., Medina-Serrano, J., Boyzo-Montes De Oca, A., & Manjarrez-Gutierrez, G. (2011). Association of metabolic syndrome with reduced central serotonergic activity. *Metabolic Brain Disease*, 26(1), 29–35. <https://doi.org/10.1007/s11011-010-9229-3>
- Holz, R. W., & Fisher, S. K. (1998). Synaptic Transmission and cellular signaling: an overview. In G. Siegel, B. Agranoff, & R. W. Albers (Eds.), *Basic Neurochemistry: molecular, cellular and medical aspects* (6ta, pp. 191–212). Lippincott Williams & Wilkins.
- INEGI. (2021). *ESTADÍSTICAS A PROPÓSITO DEL DÍA MUNDIAL DE LA DIABETES (14 DE NOVIEMBRE) DATOS NACIONALES*. <https://www.paho.org/es/campanas/dia-mundial-diabetes-2020>
- Issar, T., Tummanapalli, S. S., Borire, A. A., Kwai, N. C. G., Poynten, A. M., Arnold, R., Markoulli, M., & Krishnan, A. V. (2021). Impact of the metabolic syndrome on peripheral nerve structure and function in type 2 diabetes. *European Journal of Neurology*, 28(6), 2074–2082. <https://doi.org/10.1111/ene.14805>
- Kandel E. (2001). Depression, mania and anxiety disorders. En *Principles of neural science* (4th ed., pp. 1209–1225). McGraw Hill.
- Katewa, S. D., & Katyare, S. S. (2003). A simplified method for inorganic phosphate determination and its application for phosphate analysis in enzyme assays. *Analytical Biochemistry*, 323(2), 180–187. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2003.08.024>

- Khajah, M. A., Mathew, P. M., & Luqmani, Y. A. (2018). Na⁺/K⁺ ATPase activity promotes invasion of endocrine resistant breast cancer cells. *PLoS ONE*, 13(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193779>
- Laterra, J., & Keep, R. (1998). Blood-brain-cerebrospinal fluid barrier. In G. Siegel, B. Agranoff, & R. W. Albers (Eds.), *Basic Neurochemistry: molecular, cellular and medical aspects* (Sixth Edition, pp. 671–691). Lippincott Williams & Wilkins.
- Lázaro-Fernández, E. (2021). *Efecto de la dieta hiperglicémica e hiperlipídica sobre los niveles de de lípidos y glucosa, así como su impacto en la actividad de la bomba de sodio potasio en corteza cerebral*. UMSNH.
- Lizarzaburu, J. C. (2013). artículo de revisión Síndrome metabólico: concepto y aplicación práctica Metabolic syndrome: concept and practical application. *An. Fac. Med*, 74(4), 315–320.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry*, 193(1), 265–275. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)52451-6)
- Maitra, A. (2014). Sistema endócrino. En V. Kumar, A. K. Abbas, & J. C. Aster (Eds.), *Robbins y Cotran Patología Estructural y Funcional* (9a ed., pp. 1115–1120). Elsevier.
- Manjarrez-Gutierrez, G., Herrera-Márquez, J., Bueno-Santoyo, S., González-Ramírez, M., & Hernández-R, J. (2000). Cambios en la biosíntesis de serotonina cerebral en ratas con diabetes mellitus inducida por estreptozotocina: efecto del tratamiento con insulina. *Rev Invest Clin*, 52(5), 509–516. www.imbiomed.com.mx
- Marhl, M., Grubelnik, V., Magdič, M., & Markovič, R. (2020). Diabetes and metabolic syndrome as risk factors for COVID-19. *Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews*, 14(4), 671–677. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2020.05.013>

Marshall, W., Bangert, S., & Lapsley, M. (2012). *Bioquímica Clínica* (7a ed.). Elsevier Mosby.

Maugeri, D., & Iribarren, P. (2012). *QUÍMICA BIOLÓGICA TRABAJO DE LABORATORIO N° 1:*

DETERMINACIÓN

DE

PROTEÍNAS.

<http://www.iib.unsam.edu.ar/archivos/docencia/licenciatura/biotecnologia/2017/QuimicaBiol/1489768358.pdf>

Mercado, R., & Hernandez-R, J. (1992). REGULATORY ROLE OF A NEUROTRANSMITTER (5-HT) ON GLIAL Na⁺/K⁺-ATPase IN THE RAT BRAIN. In *Neurochem. Int* (Vol. 21, Issue 1).

Mohammad-Zadeh, L., Moses, L., & Gwaltney-Brant, S. (2008). Serotonin a review. *J. Vet Pharmacol Therap*, 31, 187–199.

Mohan, S., Tiwari, M. N., Biala, Y., & Yaari, Y. (2019). Regulation of neuronal Na⁺/K⁺-atpase by specific protein kinases and protein phosphatases. *Journal of Neuroscience*, 39(28), 5440–5451. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0265-19.2019>

Paneni, F., Beckman, J. A., Creager, M. A., & Cosentino, F. (2013). Diabetes and vascular disease: Pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: Part i. En *European Heart Journal* (Vol. 34, Issue 31, pp. 2436–2446). <https://doi.org/10.1093/eurheartj/eh149>

Paschou, S. A., Papadopoulou-Marketou, N., Chrousos, G. P., & Kanaka-Gantenbein, C. (2018). On type 1 diabetes mellitus pathogenesis. En *Endocrine Connections* (Vol. 7, Issue 1, pp. R38–R46). BioScientifica Ltd. <https://doi.org/10.1530/EC-17-0347>

Peña-Rangel, M. T., Mercado-C, R., & Hernández-Rodríguez, J. (1999). Regulation of glial Na⁺/K⁺-ATPase by serotonin: Identification of participating receptors. *Neurochemical Research*, 24(5), 643–649. <https://doi.org/10.1023/A:1021048308232>

- Pierre, S. v., & Blanco, G. (2021). Na/K-ATPase Ion Transport and Receptor-Mediated Signaling Pathways. En *Journal of Membrane Biology* (Vol. 254, Issues 5–6, pp. 443–446). Springer. <https://doi.org/10.1007/s00232-021-00207-9>
- Pivovarov, A. S., Calahorro, F., & Walker, R. J. (2019). Na⁺/K⁺-pump and neurotransmitter membrane receptors. En *Invertebrate Neuroscience* (Vol. 19, Issue 1). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s10158-018-0221-7>
- Raine, C. S. (1998). Neurocellular anatomy. In G. Siegel, B. Agranoff, & R. W. Albers (Eds.), *Basic Neurochemistry: molecular, cellular and medical aspects* (6ta, pp. 3–30). Lippincott Williams & Wilkins.
- Renaud, J., Bassareo, V., Beaulieu, J., Pinna, A., Schlich, M., Lavoie, C., Murtas, D., Simola, N., & Martinoli, M. G. (2018). Dopaminergic neurodegeneration in a rat model of long-term hyperglycemia: preferential degeneration of the nigrostriatal motor pathway. *Neurobiology of Aging*, 69, 117–128. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2018.05.010>
- Rojas, M., Chávez-Castillo, M., Pirela, D., Parra, H., Nava, M., Chacín, M., Angarita, L., Añez, R., Salazar, J., Ortiz, R., Agüero, S. D., Gravini-Donado, M., Bermúdez, V., & Díaz-Camargo, E. (2021). Metabolic syndrome: Is it time to add the central nervous system? En *Nutrients* (Vol. 13, Issue 7). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/nu13072254>
- Romero-Velarde E, F.-R. S., Aguirre-Salas, L., Álvarez-Román, Y., Vásquez-Garibay, E., & Casillas-Toral, E. (2016). Prevalencia de síndrome metabólico y factores asociados en niños y adolescentes con obesidad. *Rev Med Ins Mex Seg Soc* , 54(5), 568–575.
- Saklayen, M. G. (2018). The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. En *Current Hypertension Reports* (Vol. 20, Issue 2). Current Medicine Group LLC 1. <https://doi.org/10.1007/s11906-018-0812-z>

- Saladin, K. S. (2013). *Anatomía y fisiología la unidad entre forma y función*. McGraw-Hill Education.
- Shaw, J. E., Sicree, R. A., & Zimmet, P. Z. (2010). Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. In *Diabetes Research and Clinical Practice* (Vol. 87, Issue 1, pp. 4–14). <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2009.10.007>
- Silva, E., & Soares-da-Silva, P. (2012). New Insights into the Regulation of Na⁺ ,K⁺ -ATPase by Ouabain. En *International Review of Cell and Molecular Biology* (Vol. 294, pp. 99–132). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394305-7.00002-1>
- Sima, A. A. F., Kamiya, H., & Li, Z. G. (2004). Insulin, C-peptide, hyperglycemia, and central nervous system complications in diabetes. *European Journal of Pharmacology*, 490(1–3), 187–197. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2004.02.056>
- Swarup, S., Goyal, A., Grigorova, Y., & Zeltser, R. (2021, October 30). *Metabolic Syndrome*. NCBI.
- Sweeney, G., Niu, W., Canfield, V. A., Levenson, R., & Klip, A. (2001). Insulin increases plasma membrane content and reduces phosphorylation of Na⁺-K⁺ pump α 1-subunit in HEK-293 cells. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol*, 281.
- Sweeney, G., & Klip, A. (1998). Regulation of the Na⁺ /K⁺ -ATPase by insulin: Why and how? In *Molecular and Cellular Biochemistry* (Vol. 182).
- Therien, A. G., & Blostein, R. (2000). *invited review Mechanisms of sodium pump regulation*. <http://www.ajpcell.org>
- Tsalamandris, S., Antonopoulos, A. S., Oikonomou, E., Papamikroulis, G. A., Vogiatzi, G., Papaioannou, S., Deftereos, S., & Tousoulis, D. (2019). The role of inflammation in diabetes: Current concepts and future perspectives. In *European Cardiology Review* (Vol. 14, Issue 1, pp. 50–59). Radcliffe Cardiology. <https://doi.org/10.15420/ecr.2018.33.1>
- T Van Sloten. T., Sedaghat, S., Carnethon, M. R., Launer, L. J., & Stehouwer, C. D. A. (2020). Cerebral microvascular complications of type 2 diabetes: stroke, cognitive dysfunction, and

- depression. En *The Lancet Diabetes and Endocrinology* (Vol. 8, Issue 4, pp. 325–336). Lancet Publishing Group. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(19\)30405-X](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(19)30405-X)
- UNAM. (2021, October 9). *México, entre los primeros lugares en obesidad y sobrepeso*. GACETA UNAM.
- Vázquez-Ruíz, O. (2018). *Efecto del L-Triptofano sobre la actividad de la bomba de sodio y potasio en corteza cerebral de ratas con diabetes mellitus experimental*.
- Wang, F., Smith, N. A., Xu, Q., Fujita, T., Baba, A., Matsuda, T., Takano, T., Bekar, L., & Nedergaard, M. (2012). Astrocytes modulate neural network activity by Ca²⁺-dependent uptake of extracellular K⁺. *Science Signaling*, 5(218). <https://doi.org/10.1126/scisignal.2002334>
- Wang, H. H., Lee, D. K., Liu, M., Portincasa, P., & Wang, D. Q. H. (2020). Novel insights into the pathogenesis and management of the metabolic syndrome. *Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition*, 23(3). <https://doi.org/10.5223/PGHN.2020.23.3.189>
- Wayne Albers, R., & Siegel, G. (1998). Membrane transport. In G. Siegel, B. Agranoff, & R. W. Albers (Eds.), *Basic Neurochemistry: molecular, cellular and medical aspects* (Sixth Edition, pp. 91-101). Lippincott Williams & Wilkins.
- Xu, H., Li, X., Adams, H., Kubena, K., & Guo, S. (2019). Etiology of metabolic syndrome and dietary intervention. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(1). <https://doi.org/10.3390/ijms2001012>.
- Zhuo, J., Zeng, Q., Cai, D., Zeng, X., Chen, Y., Gan, H., Huang, X., Yao, N., Huang, D., & Zhang, C. (2018). Evaluation of type 2 diabetic mellitus animal models via interactions between insulin and mitogen-activated protein kinase signaling pathways induced by a high fat and sugar diet and streptozotocin. *Molecular Medicine Reports*, 17(4), 5132–5142. <https://doi.org/10.3892/mmr.2018.8504>.