

**UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO**  
**DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS DE LA SALUD**

---

---



**“Evaluación de los efectos del síndrome metabólico  
sobre la integridad de la barrera hematoencefálica:  
Mecanismos moleculares que contribuyen al desarrollo  
de Alzheimer.”**

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE:

**Maestro en Ciencias Biomédicas**

PRESENTA:

**Carlos Francisco Aguilar Gamas**

DIRECTORES:

**Dr. en C. Nancy Patricia Gómez Crisóstomo**

**Dr. en C. Eduardo Martínez Abundis**

ASESOR:

**Dr. en C. Erick Natividad De La Cruz Hernández**

**Villahermosa, Tabasco**

**Noviembre 2020**



**UNIVERSIDAD JUÁREZ  
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



División  
Académica  
de Ciencias de  
la Salud

Jefatura del  
Área de Estudios  
de Posgrado



Of. No. 0293/DACS/JAEP  
09 de marzo de 2020

ASUNTO: Autorización impresión de tesis

**C. Carlos Francisco Aguilar Gamas**  
Maestría en Ciencias Biomédicas  
Presente

Comunico a Usted, que ha sido autorizada por el Comité Sinodal, integrado por los profesores investigadores Dr. Jorge Luis Blé Castillo, Dra. Isela Esther Juárez Rojop, Dr. Eduardo Martínez Abundis, Dra. Nancy Patricia Gómez Crisóstomo y la Dra. Crystell Guadalupe Guzmán Priego, impresión de la tesis titulada: "**Evaluación de los efectos del síndrome metabólico sobre la integridad de la barrera hematoencefálica: Mecanismos moleculares que contribuyen al desarrollo de Alzheimer**", para sustento de su trabajo recepcional de la Maestría en Ciencias Biomédicas, donde fungen como Directores de Tesis la Dra. Nancy Patricia Gómez Crisóstomo y el Dr. Eduardo Martínez Abundis.

Atentamente



**DACS**  
DIRECCIÓN

**Dra. Mirian Carolina Martínez López**  
Directora

- C.c.p.- Dra. Nancy Patricia Gómez Crisóstomo.- Director de Tesis
- C.c.p.- Dr. Eduardo Martínez Abundis.- Director de Tesis
- C.c.p.- Dr. Jorge Luis Blé Castillo.- Sinodal
- C.c.p.- Dra. Isela Esther Juárez Rojop Sinodal
- C.c.p.- Dr. Eduardo Martínez Abundis.- Sinodal
- C.c.p.- Dra. Nancy Patricia Gómez Crisóstomo.- Sinodal
- C.c.p.- Dra. Crystell Guadalupe Guzmán Priego.- Sinodal

C.c.p.- Archivo  
DC/MCML/MO/MACA/lkrd\*



**UNIVERSIDAD JUÁREZ  
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



División  
Académica  
de Ciencias de  
la Salud

Jefatura del  
Área de Estudios  
de Posgrado



### ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la ciudad de Villahermosa Tabasco, siendo las 11:00 horas del día 09 del mes de marzo de 2020 se reunieron los miembros del Comité Sinodal (Art. 71 Núm. III Reglamento General de Estudios de Posgrado vigente) de la División Académica de Ciencias de la Salud para examinar la tesis de grado titulada:

**"Evaluación de los efectos del síndrome metabólico sobre la integridad de la barrera hematoencefálica:  
Mecanismos moleculares que contribuyen al desarrollo de Alzheimer"**

Presentada por el alumno (a):

Aguilar	Gamas	Carlos Francisco
Apellido Paterno	Materno	Nombre (s)
		Con Matricula

1	8	1	E	5	7	0	0	4
---	---	---	---	---	---	---	---	---

Aspirante al Grado de:

#### Maestro en Ciencias Biomédicas

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **SU APROBACIÓN DE LA TESIS** en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

#### COMITÉ SINODAL

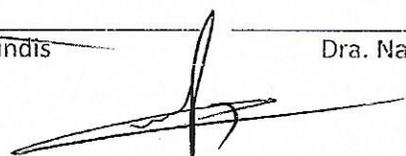

Dr. Nancy Patricia Gómez Crisóstomo  
Dr. Eduardo Martínez Abundis  
Directores de Tesis

  
Dr. Jorge Luis Ble Castillo

  
Dr. Isela Esther Juárez Rojop

  
Dr. Eduardo Martínez Abundis

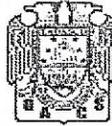
  
Dr. Nancy Patricia Gómez Crisóstomo

  
Dr. Crystell Guadalupe Guzmán Priego



UNIVERSIDAD JUÁREZ  
AUTÓNOMA DE TABASCO

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



División  
Académica  
de Ciencias de  
la Salud

Dirección



## Carta de Cesión de Derechos

En la ciudad de Villahermosa Tabasco el día 6 del mes de Marzo del año 2020, el que suscribe, Carlos Francisco Aguilar Gamas, alumno del programa de la Maestría en Ciencias Biomédicas, con número de matrícula 181E57004 adscrito a la División Académica de Ciencias de la Salud, manifiesta que es autor intelectual del trabajo de tesis titulada: **"Evaluación de los efectos del síndrome metabólico sobre la integridad de la barrera hematoencefálica: Mecanismos moleculares que contribuyen al desarrollo de Alzheimer"**, bajo la Dirección de la Dra. Nancy Patricia Gómez Crisóstomo y el Dr. Eduardo Martínez Abundis, Conforme al Reglamento del Sistema Bibliotecario Capítulo VI Artículo 31. El alumno cede los derechos del trabajo a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficos o datos del trabajo sin permiso expreso del autor y/o director del trabajo, el que puede ser obtenido a la dirección: [gomezcrisostomo@yahoo.com.mx](mailto:gomezcrisostomo@yahoo.com.mx). Si el permiso se otorga el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

Carlos Francisco Aguilar Gamas

Nombre y Firma

DIVISIÓN ACADÉMICA DE  
CIENCIAS DE LA SALUD



JEFATURA DEL ÁREA DE  
ESTUDIOS DE POSGRADO

Sello

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco por el apoyo UJAT-2015-257849 y al Consejo Nacional de Ciencia y tecnología por el apoyo CB2015-1/257849 y la beca de posgrado nacional con CVU888624

### **A Dios**

Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograrlo.

### **A mis tutores**

A la Dra. Nancy Patricia Gómez Crisóstomo y el Dr. Eduardo Martínez Abundis por haberme permitido trabajar junto a ellos, por ser unos grandes ejemplos para mí, dando siempre su apoyo, paciencia y motivación al igual que ser mis guías en este proceso.

### **A mis familiares**

A mis padres por apoyarme siempre de forma incondicional, a mis abuelos por estar siempre a mi lado, a mi hermana y cuñado por apoyarme ante todo, a mis tíos por siempre alentarme en mi trayecto académico.

### **A mis amigos**

A mis amigos en el laboratorio, Fernanda, Erika y Wendy por hacer mis días más llevaderos y alegrarlos, por sus grandes consejos gracias.

A mi amiga Daniela, por sus consejos, por los buenos momentos que hemos pasado. A mi amigo Diether por hacerme ver las cosas de forma distinta, y haberme reintroducido a una vieja pasión, la observación astronómica y por convertir siempre esos malos días en buenos, a Andrés por siempre tener puntos de vista objetivos.

A mi pequeña compañera chabelita, que ya no está conmigo, esta es una forma de garantizar que no será olvidada.

  
**En memoria de mi abuelo Miguel**

## ÍNDICE DE CONTENIDO

<b>FIGURAS Y TABLAS</b> .....	<b>iv</b>
<b>GLOSARIO</b> .....	<b>vii</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>xii</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>ix</b>
<b>I. Introducción</b> .....	<b>1</b>
-Síndrome metabólico .....	1
-Barrera hematoencefálica y daño vascular .....	2
-Proteínas de unión estrecha .....	4
-Obesidad .....	8
-Hiperglucemia .....	9
-Dislipidemia .....	10
-Hipertensión .....	11
-Enfermedad de Alzheimer .....	12
<b>II. Antecedentes</b> .....	<b>14</b>
<b>III. Hipótesis</b> .....	<b>17</b>
<b>IV. Justificación</b> .....	<b>17</b>
<b>V. Objetivo general</b> .....	<b>19</b>
<b>VI. Objetivos particulares</b> .....	<b>19</b>
<b>VII. Metodología</b> .....	<b>20</b>
-Modelo murino .....	20
-Elaboración de las dietas experimentales .....	20
-Determinación del SM .....	21
-Obesidad .....	21
-Porcentaje de grasa .....	22
-Presión arterial .....	22
-Glucosa, colesterol y triglicéridos .....	23
-Evaluación de la memoria .....	23
-Evaluación de la permeabilidad in vivo de la BHE .....	24
-Determinación de las proteínas de unión por Western blot .....	26
-Determinación de la expresión de las uniones estrechas por qPCR .....	27

-Primers.....	29
<b>VIII. Análisis estadístico .....</b>	<b>30</b>
<b>IX. Resultados.....</b>	<b>31</b>
<b>X. Discusión.....</b>	<b>43</b>
<b>XI. Conclusión .....</b>	<b>49</b>
<b>XII. Bibliografía .....</b>	<b>50</b>
<b>XIII. Anexos.....</b>	<b>61</b>

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

## FIGURAS Y TABLAS

Figura 1. Prevalencia de la obesidad en México.

Figura 2. Esquema comparativo de la estructura normal y comprometida de la Barrera Hematoencefálica.

Figura 3. Interacción de las proteínas de unión estrecha en células endoteliales de la Barrera Hematoencefálica.

Figura 4. Gráfica del análisis de la memoria espacial mediante laberinto acuático de Morris.

Figura 5. Gráfica de la permeabilidad de la Barrera Hematoencefálica mediante ensayo de azul de Evans.

Figura 6. Gráfica de la expresión de Claudina 1 mediante qPCR.

Figura 7. Gráfica de los niveles de Ocludina medido por Western Blot.

Figura 8. Gráfica de los niveles de expresión de Ocludina medido por qPCR.

Figura 9. Gráfica de los niveles de ZO-1 medido por Western Blot.

Figura 10. Gráfica de los niveles de expresión de ZO-1 medido por qPCR.

Figura 11. Gráfica de los niveles de GFAP medido por Western Blot.

Figura 12. Gráfica de los niveles de  $\beta$ -amiloide medido por western blot.

Tabla 1. Niveles bioquímicos y antropométricos de los animales luego de 8, 10 y 12 meses de consumo de dieta.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

## **GLOSARIO**

**AGE:** Productos de glicación avanzada

**ANG II:** Angiotensina II

**AP-1:** Factor de transcripción AP-1

**ARN:** Ácido ribonucleico

**BHE:** Barrera hematoencefálica

**C3A:** Proteína del sistema del complemento 3A

**CAM:** Moléculas de adhesión celular

**CCL2:** Proteína quimioatrayente de monocitos 1 y citosina A2

**cDNA:** ADN complementario

**CK:** Caseína quinasa

**CRP:** Proteína C reactiva

**CTR:** Control

**DEPC:** Pirocarbonato de dietilo

**EA:** Enfermedad de Alzheimer

**EPC:** Dominio de interacción proteína-proteína

**GAPDH:** Glicer aldehído 3 fosfato deshidrogenasa

**GFAP:** Proteína ácida fibrilar glial

**GRA:** Grasa

**GTPasa:** Guanosina trifosfatasa

**HDL:** Lipoproteínas de alta densidad

**IL:** Interleucina

**KDa:** Kilodaltons

**LDL:** Lipoproteínas de baja densidad

**mHa:** Miliamperios

**NADPH:** Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducido

**NF- $\kappa$ B:** Factor nuclear kappa beta

**ng:** Nanogramo

**NOM:** Norma Oficial Mexicana

**OMS:** Organización Mundial de la Salud

**PAM:** Presión arterial Media  
**PDZ:** Dominio de interacción proteína-proteína  
**PKC:** Proteína quinasa C  
**PKCB:** Proteína quinasa tipo C beta  
**PVDF:** Fluoruro de polivinilideno  
**qPCR:** Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa  
**Rab:** Proteína de reciclaje de endosomas  
**AT1:** Receptor de angiotensina II tipo 1  
**Rho quinasa:** Proteína quinasa asociada a Rho  
**ROS:** Especies reactivas de oxígeno  
**SAC:** Sacarosa  
**seg:** Segundo  
**Ser:** Serina  
**SM:** Síndrome metabólico  
**SNC:** Sistema nervioso central  
**Src:** Proto-oncogen tirosina quinasa  
**STAT:** Transductor de señal y activador de la transcripción  
**TGF- $\beta$ :** Factor de crecimiento transformante beta  
**TNF $\alpha$ :** Factor de necrosis tumoral  
**Tyr:** Tirosina  
**UPCEA:** Unidad de Producción, Cuidado y Experimentación Animal  
**V:** Voltios  
**VPS:** Proteína de clasificación vacuolar  
 **$\beta$ A:**  $\beta$ -amiloide  
**IDF:** Federación Internacional de la Diabetes  
**ATP III:** III Panel de tratamiento para adultos del Programa Nacional de Educación Sobre el Colesterol  
**AACE:** Asociación Americana de Clínica Endocrinológica

## RESUMEN

El síndrome metabólico (SM) es un problema de salud pública, en los últimos años su prevalencia ha incrementado considerablemente, principalmente por estilos de vida sedentarios y el consumo de dietas hipercalóricas altas en azúcares y grasas. SM se define como la presencia de al menos tres de cinco alteraciones metabólicas, entre las que destacan la obesidad, la hiperglucemia, colesterol HDL bajo, colesterol LDL alto e hipertensión arterial. La presencia de estas alteraciones metabólicas puede dañar la macro y microvasculatura, incluyendo la del sistema nervioso central, esto puede conducir a una disfunción endotelial y dañar la barrera hematoencefálica, propiciando un estado neuroinflamatorio y deterioro cognitivo que podría asociarse al desarrollo de Alzheimer. El objetivo de este estudio fue analizar el efecto que tiene el síndrome metabólico sobre la memoria, la permeabilidad de la barrera hematoencefálica (BHE), la expresión de las uniones estrechas y la activación astrocítica, en ratas Wistar macho de 21 días de edad sometidas al consumo de dos dietas hipercalóricas (alta en sacarosa o alta en grasa) durante 8, 10 y 12 meses. Nuestros resultados muestran una disminución de la memoria espacial desde los 8 meses, la permeabilidad de la BHE aumentó en ambas dietas luego de 10 y 12 meses de ingesta de las dietas. Las proteínas de unión estrecha Claudina 1 y ZO-1 no mostraron cambios en su expresión, mientras que ocludina mostró una disminución de su expresión hasta los 12 meses con la dieta alta en grasa. Se observa activación astrocítica hasta los 12 meses con la dieta alta en sacarosa. Estos resultados apoyan la hipótesis que el síndrome metabólico puede tener efectos sobre la permeabilidad de la BHE y causar deterioro cognitivo.

## **SUMMARY**

The metabolic syndrome (MS) is a public health problem, in the last years the prevalence has increased considerably, mainly due to sedentary lifestyles and the consumption of hypercaloric diets high in sugars and fats. MS is defined as the presence of three to the five metabolic disorders, among which obesity, hyperglycemia, low HDL-cholesterol, high LDL-cholesterol and hypertension. The presence of these metabolic disorders can be damaged the microvasculature, including the central nervous system, this could lead to endothelial dysfunction and damage the blood-brain barrier (BBB), promoting a neuroinflammatory response and cognitive impairment that could be linked to the development of Alzheimer's. This study aims to analyze the effect that the metabolic syndrome under memory, the permeability of the BBB, tight junctions expression and astrocytic activation in new born male Wistar rats, after intake a to two hypercaloric diets, high in fat and high in fat for 8, 10 and 12 months. Our results shown a decrease in spatial memory at 8 months, the permeability was reduced in both diets after 10 and 12 months of consumption of the diets. The tight-binding proteins Claudin 1 and ZO-1 expression was not changes and Occludin decreases during 12 months with the high fat diet. Astrocytes are activated at 12 months with the high sucrose diet. These results support the hypothesis that metabolic syndrome can have effects on BBB and could contribute a cognitive impairment.

## I. INTRODUCCIÓN

### SÍNDROME METABÓLICO

El síndrome metabólico (SM) se define como la presencia de tres o más alteraciones del metabolismo, dentro de las que destacan la obesidad central, la hipercolesterolemia, la hiperglicemia, la hipertrigliceridemia, la resistencia a la insulina y la hipertensión arterial, según lo establecido por la Organización Mundial de la Salud (OMS), la federación internacional de la diabetes (IDF), el III Panel de Tratamiento para Adultos del Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol (NCEP-ATP III) y la Asociación Americana de Clínica Endocrinológica (AAACE). Los últimos datos reportados estiman que entre un 20% y un 25 % de la población mundial padecerá síndrome metabólico para el año 2025 y que su prevalencia seguirá en aumento (Lizarzaburu Robles JC 2009). En este mismo contexto, México ocupa los primeros lugares en sobrepeso y obesidad tanto en niños como en adultos a nivel mundial, ambas condiciones son de gran relevancia pues preceden al SM (Figura 1) ([www.unicef.org/mexico/](http://www.unicef.org/mexico/); Ketevan R. *et al.* 2013).

Tanto la obesidad como el SM son factores de riesgo importantes para desarrollar enfermedades crónico-degenerativas tales como diabetes tipo 2 (DM2), enfermedades cardiovasculares (ECV) e incluso eventos cerebrovasculares (EVC) todas ellas vinculadas a un daño vascular. Investigaciones recientes señalan que las alteraciones metabólicas presentes en estas patologías generan una disfunción en los vasos sanguíneos, lo que representa un factor de riesgo preponderante para el deterioro cognitivo, razón por la cual se asocia con el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer (EA) (Solfrizzi V 2010; Po LY *et al.* 2012,

Bhatta A *et al.* 2017). También se ha demostrado que tanto la hipertensión como la hiperglucemia, son capaces de inducir estrés oxidativo y disfunción del endotelio vascular, la hiperglucemia sostenida, por ejemplo, genera cambios en la macro y microvasculatura (Pasquier *et al.* 2006, Alexandru *et al.* 2016); estas alteraciones aumentan el riesgo de sufrir accidentes cerebrovasculares y otros tipos de complicaciones neurológicas y cognitivas incluidas las demencias (Prasad *et al.* 2014).

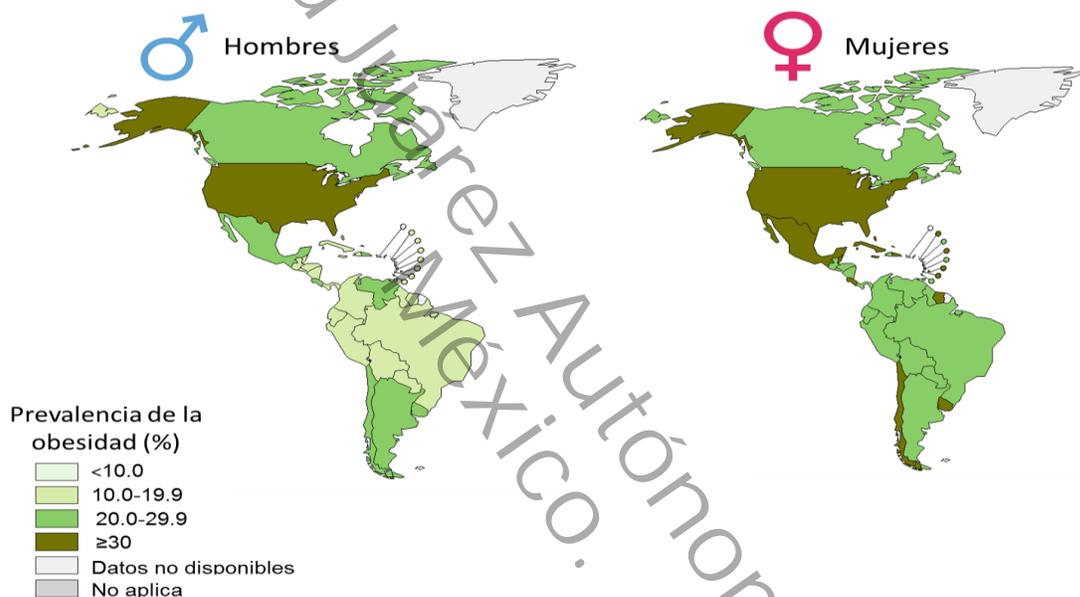


Figura 1. Prevalencia de la obesidad en México según los últimos datos de la Organización Mundial de la Salud tomados en 2016 (<https://www.who.int/>).

## BARRERA HEMATOENCEFÁLICA Y DAÑO VASCULAR

La barrera hematoencefálica (BHE) es una estructura constituida por diversos tipos celulares tales como los pericitos, los astrocitos y las células endoteliales, su función primordial radica en el control del flujo de moléculas, iones y nutrientes desde y hacia el sistema nervioso central (SNC), donde la presencia de las proteínas de unión estrecha (TJ, por sus siglas en inglés) juega un papel fundamental en su

función. (Ballabh *et al.* 2015). Las uniones estrechas están constituidas por diferentes proteínas como: las Claudinas, la Ocludina y las proteínas de la Zona Ocludens, estas últimas son proteínas de anclaje que sirven de puente para la interacción con otras proteínas de unión, mientras que las Claudinas y la Ocludina forman uniones célula-célula que mantienen estable la permeabilidad de la BHE (Haseloff RF *et al.* 2014). Las funciones de la BHE son vitales para SNC, pues es la interfaz entre el tejido cerebral y la periferia, la permeabilidad selectiva de esta barrera se debe a la interacción entre sus componentes celulares (astrocitos, pericitos y células endoteliales) lo que promueve un perfil de expresión sobre las proteínas que constituyen a las uniones estrechas (Erickson MA 2013).

Investigaciones recientes señalan que la obesidad, la hiperglicemia, la hipertrigliceridemia y la hipertensión arterial pueden alterar la permeabilidad selectiva de la BHE por lo que diversas moléculas dañinas y células inflamatorias podrían atravesar esta estructura e ingresar indiscriminadamente al SNC (Kook SY *et al.* 2013, Romanitan MO *et al.* 2010). Lo anterior sugiere que el SM es un factor que puede modificar la permeabilidad de la BHE, alterando quizá el perfil de expresión de la TJ (Figura 2).

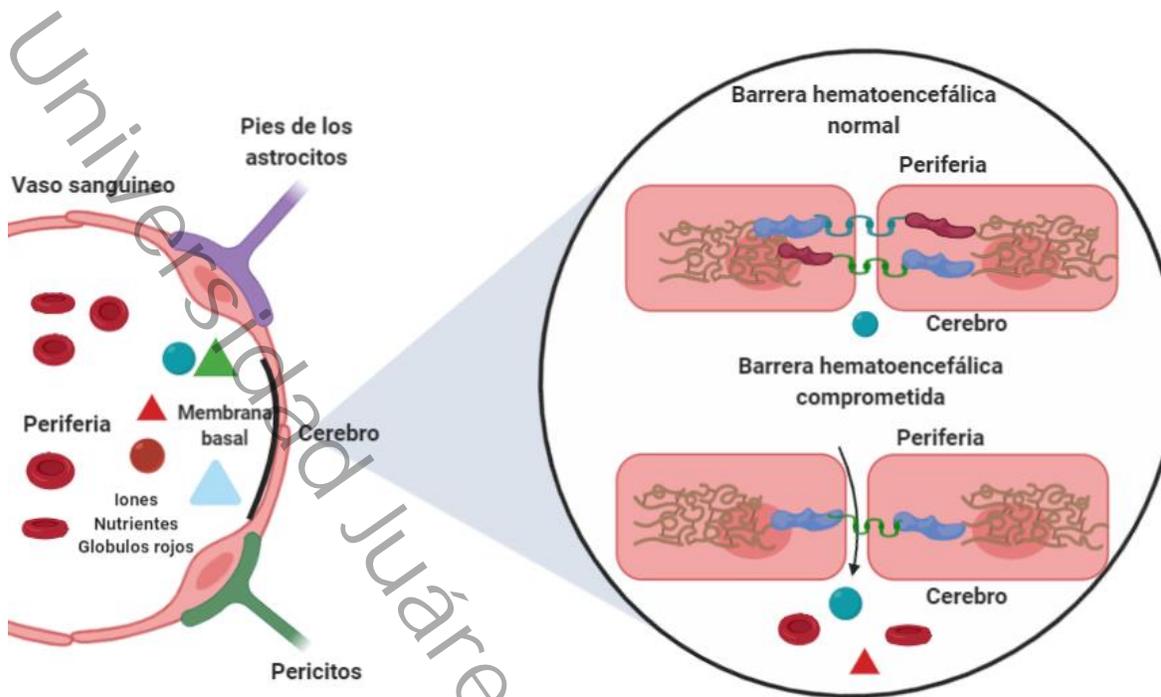


Figura 2. Esquema comparativo de la estructura normal y comprometida de la Barrera Hematoencefálica.

## PROTEÍNAS DE UNIÓN ESTRECHA

Las uniones estrechas cumplen un papel fundamental en la regulación del transporte paracelular de iones, fluidos y proteínas plasmáticas de pequeño tamaño, así como el paso de células inmunológicas hacia el SNC (Cong X 2019).

Entre las principales funciones de las uniones estrechas son el formar complejos multiméricos que se localizan en la membrana lateral de las células endoteliales de tal forma que sellan completamente el espacio intercelular. Entre los principales componentes de las uniones estrechas se encuentran las Claudinas y la Ocludina, las cuales son proteínas transmembranales de adhesión célula-célula, otro componente importante son las proteínas de la Zona Ocludens, también denominadas ZO, (ZO-1, ZO-2 Y ZO-3), estas proteínas funcionan como nexo entre

las proteínas de unión transmembranales y el citoesqueleto, proporcionando el soporte necesario para el correcto funcionamiento de la barrera hematoencefálica (Figura 3) (Stamatovic SM *et al.* 2017).

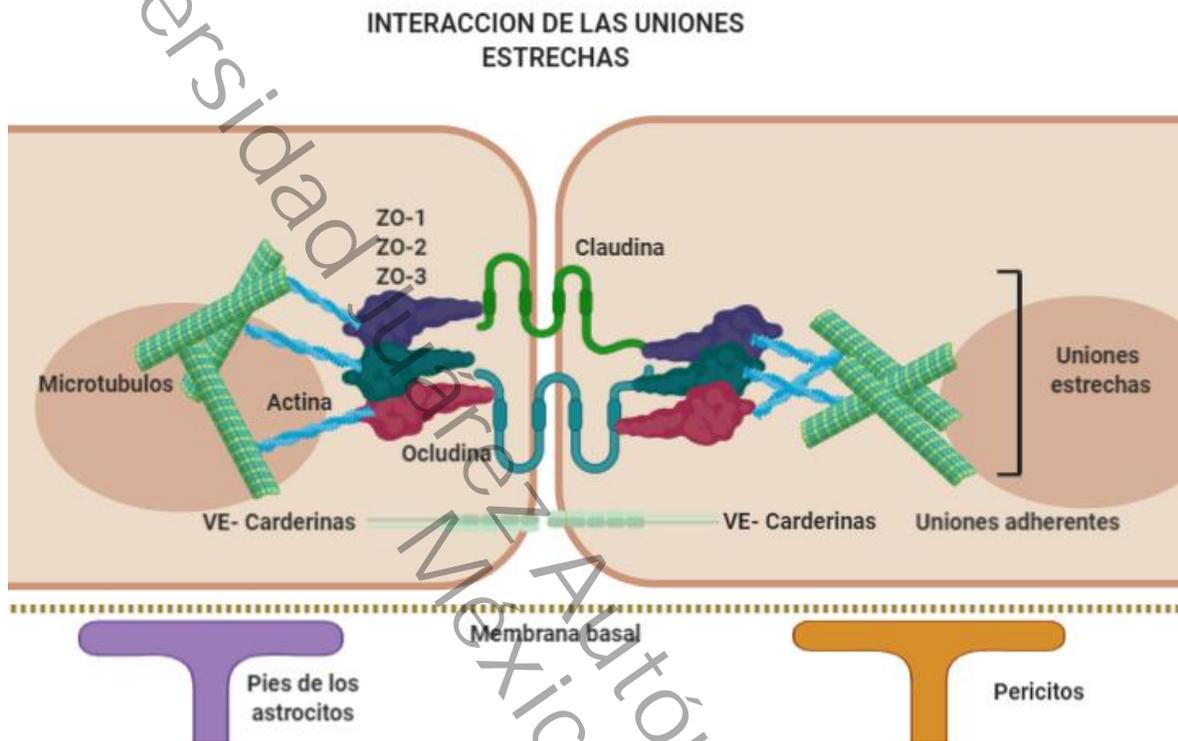


Figura 3. Interacción de las proteínas de unión estrecha en células endoteliales de la barrera hematoencefálica.

La familia de las Claudinas está compuesta por aproximadamente 27 proteínas, que oscilan entre los 20 y 27 KDa, estas son las principales reguladoras del paso de sustancias entre la periferia y el cerebro. Contienen cuatro dominios transmembrana con porciones citoplasmáticas ricas en Serina (Ser), Treonina (Thr) y Tirosina (Tyr), denominados motivo de unión a PDZ, la cual interactúa con los dominios PDZ de las proteínas ZO-1, ZO-2 y ZO-3. La fosforilación de las Claudinas se ha propuesto como un mecanismo clave en su regulación, los sitios de fosforilación se encuentran aguas arriba de extremo C terminal y son capaces de afectar también los motivos

de unión a PDZ. La fosforilación de diferentes residuos tienen efectos sobre la función de las Claudinas, por ejemplo, si Claudina 4 se fosforila en la Tyr1 disminuye la interacción con ZO-1, de la misma manera, la fosforilación del mismo residuo en la Claudina 2 disminuye la afinidad de esta al sitio PDZ de unión a ZO-1, se ha demostrado que la fosforilación de Claudina 1 en el residuo Tyr191 se asocia con un aumento en la formación o localización de los filamentos de unión y río arriba parece afectar al dominio PDZ, aún y cuando los últimos cuatro residuos se mantengan en contacto directo con el PDZ de la proteína ZO-1 (Van Itallie, CM *et al.* 2017).

Por otro lado, la Ocludina es una proteína con un peso molecular de 65 KDa, fue la primera proteína integral de membrana de las uniones estrechas descrita en el endotelio, tiene cuatro dominios transmembranales y dos giros extracelulares, aunque no es el principal regulador del transporte de sustancias, la ausencia de esta puede tener consecuencias graves, por ejemplo, en ratones modificados genéticamente, la ausencia de ocludina promueve la formación de calcificaciones alrededor de los vasos cerebrales (Greene C *et al.* 2016). Esta proteína posee diferentes sitios de regulación por fosforilación en el extremo C terminal, algunos estudios demostraron que la defosforilación se asocia con una pérdida en la función de barrera. La cantidad de fosfatasas y quinasas involucradas en la regulación de la Ocludina es amplia, destaca la participan de CK1, CK2, PKC, Rho quinasa, Src, receptor de quinasas acoplados a G (GRK). La fosforilación en la región Ser408 y Ser490 debilita la interacción con ZO-1, por lo que se ha sugerido como un mecanismo de disociación dentro de las uniones estrechas, ya que esto aumenta la permeabilidad de la barrera. También se ha demostrado que cuando CK2 fosforila

los residuos Try400, Tyr404 y Ser408, se afecta la interacción con ZO-1 y ZO-2 (Van Itallie CM *et al.* 2017).

Finalmente la familia de las proteínas de la Zona Ocludens está compuesta por tres miembros, ZO-1, ZO-2 y ZO-3, que oscilan entre los 130 y los 220 KDA, estas proteínas citoplasmáticas cumplen diversas funciones, como la regulación, el crecimiento y la proliferación celular, de igual forma en la barrera hematoencefálica forma parte de las uniones estrechas, al formar conexiones entre el citoesqueleto y los filamentos de Claudinas y Ocludina, esta puede dejar de ejercer su función si otras proteínas de unión estrecha pierden su conexión con las ZO (Cong X 2019). Uno de los mecanismos propuestos en la regulación de las proteínas de unión estrecha es la endocitosis mediante balsas lipídicas dirigidas por la Caveolina 1, la cual al fosforilarse desencadena la formación de las caveolas. Se ha descrito la internalización de las uniones estrechas mediada por clatrina en donde la interacción entre clatrina y fosfatidinositol (4,5) bifosfato (pip2) desencadena la formación de las vesículas, la GTPasa juega un papel importante en la fusión vesicular fuera de la membrana plasmática, este mecanismo es muy importante en la eliminación y disociación de las uniones estrechas. Otra vía de regulación es el reciclaje, se conocen dos formas, una dependiente de (Rab 4 y 11) que son promotores de la translocación y es un reciclaje rápido. En contraparte se encuentra el reciclaje lento dependientes de (vps 26,29 y 35) que seleccionan y empaquetan las proteínas en endosomas. En el cerebro la quimiocina CCL2 induce la acumulación de las Claudinas y la Ocludina en vesículas Rab 4 y Rab 11, lo que ocasiona un reciclaje rápido de las uniones estrechas, una vez en el citoplasma, al ser retirada

la CCL2 las uniones estrechas regresan a la membrana plasmática para sellar de nuevo el espacio entre células endoteliales (Stamatovic SM *et al.* 2017).

## **OBESIDAD**

La OMS define a la obesidad como una acumulación excesiva de grasa corporal, que comprende un desequilibrio energético como consecuencia del aumento en la ingesta de alimentos con alto contenido calórico (ricos en azúcares y grasas), acompañado por un descenso en la actividad física (sedentarismo), que acarrea consigo un ambiente pro-inflamatorio debido a una elevada concentración de moléculas como IL-1, IL-6, TNF $\alpha$ , entre otras (Stolarczyk E. 2017).

El hipocampo es una estructura cerebral especialmente susceptible a cambios ambientales, se ha observado que ratas jóvenes alimentadas con dietas altas en grasa sufren de pérdida de memoria espacial. De igual manera, se observan cambios en las proteínas de unión estrecha, por ejemplo, decrece la expresión de las Claudina 5 y 12 así como la Ocludina, en adición el citoesqueleto que juega un papel fundamental en la función de las uniones estrechas se ve afectado, habiendo una regulación negativa de algunas proteínas como vimentina y tubulina (Ouyang S *et al.* 2014).

Por otro lado, los adipocitos producen citosinas pro-inflamatorias como IL-6, y TNF, las cuales pueden cruzar la barrera hematoencefálica mediante mecanismos de transporte saturables, sin embargo, aún no está del todo claro cómo se transportan hacia el SNC. Estas citosinas circulantes pueden activar la expresión de moléculas de adhesión por parte del endotelio. Se identificó la proteína C Kinasa Beta (PKCB)

como un responsable de alterar la barrera hematoencefálica durante un estado de elevación de citosinas circulantes (Rhea EM *et al* 2017).

Se ha demostrado que una alta cantidad de la IL-6, sirve de señalizador y modula la talla corporal y el metabolismo celular en el sistema nervioso central, entre los efectos negativos se encuentran la inhibición de la neurogénesis, además, es capaz de causar una disrupción de circuitos neurales. Otros reportes demuestran que el endotelio no expresa receptores de IL-6, sin embargo, funciona como transeñalizador en conjunto con TNF $\alpha$ , induciendo un cambio en los niveles de las uniones adherentes y las uniones estrechas, lo que genera un aumento en la permeabilidad de la BHE (Buie JJ *et al.* 2019).

## **HIPERGLUCEMIA**

La hiperglucemia que caracteriza a la diabetes tipo 2 incrementa la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) en el endotelio vascular, los pericitos y astrocitos, lo cual promueve un aumento del estrés oxidativo que activa NF $\kappa$  $\beta$ , la proteína activadora 1 y las vías STAT, que inducen la síntesis de citosinas pro-inflamatorias, la comunicación del endotelio con los atrocitos se ve interrumpida por la inhibición de las proteínas de unión, a largo plazo, se promueve la pérdida de pericitos, degeneración de los pies de los astrocitos y una disfunción de la barrera hematoencefálica que puede inducir un deterioro cognitivo. El estado inflamatorio causado por la diabetes tipo 2, regula de forma negativa las proteínas de unión, como las claudinas, ZO-1 y la ocludina, lo que permite una mayor afluencia de algunas sustancias como albumina y sacarosa. Se observa un engrosamiento de la membrana basal mediante la activación de PKC, AGE y TGF-B, lo que cambia la

composición de la matriz extracelular, el aumento de la fibronectina, colágeno IV y laminina compromete la unión existente entre célula-célula y por lo tanto la barrera hematoencefálica se ve afectada (Van Itallie CM *et al.* 2017).

## **DISLIPIDEMIA**

El aumento en los niveles de triglicéridos y colesterol LDL pueden contribuir a una disfunción de la barrera hematoencefálica por el aumento del estrés oxidativo. Los altos niveles de lípidos en sangre pueden causar la formación de placas ateroscleróticas en los vasos sanguíneos, por lo que se presentan cambios estructurales y funcionales en el endotelio, la acumulación de colesterol, triglicéridos y fibrina en la íntima arterial, conduce a un estado inflamatorio y por lo tanto aumenta el estrés oxidativo. Los ateromas engrosan la pared de los vasos y reducen el espacio interior, debido a esto se produce un reducido flujo sanguíneo que ocasiona hipoperfusión, así como, un mayor riesgo de formación de coágulos (Ferrer I *et al.* 2018). La aterosclerosis disminuye la biodisponibilidad de óxido nítrico, que en condiciones normales tendría un rol protector contra el estrés oxidativo, al disminuir la producción de óxido nítrico endotelial, la producción de especies reactivas de oxígeno aumenta como consecuencia de la actividad de NADPH sintasa, factores que dañan el endotelio y su función. Todo el conjunto de alteraciones presentes en la aterosclerosis también promueve la activación de las células endoteliales, favoreciendo la infiltración de macrófagos y un estado neuroinflamatorio (Förstermann U *et al.* 2017).

## HIPERTENSIÓN

La hipertensión se caracteriza por un aumento en los niveles de especies reactivas de oxígeno, derivados de la actividad mitocondrial, así como de la actividad de la NADPH oxidasa en el endotelio vascular, niveles elevados de C3a deterioran la función endotelial a través de la reducción de la actividad de EPC y el aumento de la proteína C reactiva (Incalza MA *et al.* 2018). Se describe que, al aumentar la presión arterial, esta provoca un aumento en la producción de superóxido y una disminución de la biodisponibilidad de óxido nítrico. Al parecer la disfunción del endotelio está dado por un mecanismo de regulación positiva, la vasoconstricción provocada por la angiotensina II (ANGII) promueve la producción de otro potente vasoconstrictor, la endotelina que causa disfunción endotelial, la producción de superóxido promovida por la ANG II induce la formación de peroxinitritos, que oxidan el ácido araquidónico y forman isoprostano que es otro potente vasodilatador (Mordi I *et al.* 2016). Reportes indican que durante la hipertensión aguda aumenta la permeabilidad de las uniones estrechas, sin embargo, en la hipertensión crónica, no es así, lo que sugiere que existe una adaptación en las uniones estrechas (Cong X *et al.* 2019). Uno de los principales factores del desarrollo de la hipertensión es la ANG II, esta es capaz de activar la tirosina-hidroxilasa dentro de las neuronas y modificando la cantidad de algunos neurotransmisores evitando una correcta transmisión de señales, en modelos animales se ha observado que el desarrollo de hipertensión conduce a una disrupción de la barrera hematoencefálica. La ANG II es capaz de activar los receptores de angiotensina 1 (AT1) en las células endoteliales, incrementando la permeabilidad de la barrera hematoencefálica. Los

mecanismos por los cuales sucede aún no están claros, por lo que se necesitan más estudios para dilucidarlos (Setiadi A 2017).

Por otro lado, la interrupción del flujo laminar y la formación de un flujo turbulento durante la hipertensión es capaz de causar disfunción endotelial, que se define como la expresión de moléculas de adhesión celular, causado por un estado inflamatorio, a su vez, aumenta el estrés oxidativo, el cual regula la extravasación de leucocitos a través de una activación directa de moléculas de adhesión celular (CAM, por sus siglas en inglés), regulados por NF-KB, y AP-1. Cuando el endotelio entra en disfunción existe un desequilibrio entre los vasodilatadores y vasoconstrictores, que conducen a un estado pro-trombótico, pro-aterogénico, que se caracteriza por una vasoconstricción, adhesión leucocitaria, activación de plaquetas, que aumenta el estado inflamatorio del endotelio (Incalza MA *et al.* 2018).

## **ENFERMEDAD DE ALZHEIMER**

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una de las demencias con más prevalencia a nivel mundial, se estima que de 26 millones de personas la padecen y el riesgo de desarrollarla aumenta con la edad (Fettelschoss A. *et al*/2014). La EA se caracteriza por una pérdida progresiva de las habilidades cognitivas, como consecuencia de la acumulación extracelular del péptido  $\beta$ -amiloide y la formación de agregados intracelulares de la proteína Tau hiperfosforilada que conlleva a la formación placas neuríticas y ovillos neurofibrilares respectivamente (Estrada AE *et al.* 2017). Varios estudios han evidenciado que la presencia de alguna alteración metabólica es capaz de aumentar el riesgo de padecer la enfermedad de Alzheimer. En modelos

animales alimentados con sacarosa, estos presentaron anomalías mitocondriales, aumento del estrés oxidativo, aumento en los niveles del péptido amiloide y pequeños incrementos en la proteína TAU hiperfosforilada, en conjunto son características que se pueden asociar a la fisiopatología de la EA, también se ha evaluado la conducta y cognición de estos animales y se encontró que tienen trastornos conductuales como el miedo y ansiedad, pero también muestran una disminución en el aprendizaje y la memoria, signos que a su vez estuvieron acompañados de disfunción endotelial, aumento de la permeabilidad de la BHE, y un significativo aumento en los niveles de  $\beta$ A (Carvalho C *et al.* 2012, Carvalho C, *et al.* 2013).

La resistencia a la insulina también puede causar un aumento de la agregación del péptido ya mencionado a través de algunos mecanismos, como el aumento de la actividad de las alfa y gamma secretasas, que se encargan de cortar la proteína precursora de amiloide, y potencialmente pueden generar la forma patológica de la proteína. Algunos cambios en la morfología de la vasculatura cerebral durante la hipertensión pueden estar asociados a al inicio de un deterioro cognitivo y la progresión de este deterioro, estos cambios incluyen una disfunción en el endotelio que causa remodelación de los vasos sanguíneos, y daños a la BHE, que se asocia también a la acumulación de  $\beta$ A. A su vez, el estrés oxidativo causado por la disfunción endotelial agrava el problema de la agregación de  $\beta$ A, presentando un estado neuroinflamatorio que aumenta el problema y se convierte en un círculo vicioso (Campos-Peña V *et al.* 2017).

## II. ANTECEDENTES

Algunos trabajos han descrito alteraciones estructurales en el cerebro de adolescentes con obesidad y síndrome metabólico (SM), evidenciando una disminución en el volumen de diversas regiones cerebrales como el hipocampo, la corteza frontal, límbica y orbitofrontal; aunque estos cambios no se asocian con un coeficiente intelectual bajo (Convit A 2012, Belsky DW *et al.* 2013). Otros estudios sugieren que las alteraciones que se presentan en el SM pueden desencadenar una respuesta inflamatoria crónica y la muerte neuronal, al inducir estrés oxidativo, lo que afecta los procesos cognitivos (Samuel T *et. al* 2012). Además, hay evidencia que muestra una relación estrecha entre la diabetes tipo 2 y una mayor prevalencia de la enfermedad de Alzheimer (EA) (Arvanitakes Z *et. al* 2012).

Diversos trabajos han demostrado que alteraciones en la permeabilidad de la barrera hematoencefálica y una disrupción de las uniones estrechas, favorecen la extravasación de sustancias pro-inflamatorias y un incremento del estrés oxidativo causando neuroinflamación crónica, que puede verse reflejado en la activación astrocítica (Abbott *et al.* 2010, Serban *et al.* 2016, Wang *et al.* 2012, Kook SY *et al.* 2013, Zlokovic BV 2011).

Las dislipidemias también pueden estar asociadas al desarrollo de EA, por ejemplo, algunos estudios apuntan que un exceso de colesterol circulante promueve de alguna forma una mayor acumulación del péptido  $\beta$  amiloide y un incremento en la cantidad de proteína TAU hiperfosforilada, que son las principales proteínas relacionadas con la enfermedad de Alzheimer (Zhang *et al.* 2015, Chen YL *et al.*

2016). Hoyk Z *et al.* en 2018 reportan que la hipertrigliceridemia disminuye la expresión de algunas proteínas de las uniones estrechas como la Claudina 5 y Ocludina, causando una disrupción de la BHE, también observaron estrés oxidativo, hiperfosforilación de TAU, disfunción sináptica, aumento de la apoptosis neuronal y deterioro cognitivo, por lo que sugieren una fuerte relación de estos eventos con el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer.

Por otro lado, otros trabajos han señalado que las alteraciones en el sistema renina-angiotensina pueden estar implicados en la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer (Papadopoulos P *et al.* 2016). La hipertensión se caracteriza por una mayor cantidad de angiotensina II (ANG II) circulante, estudios muestran que la ANG II tiene capacidad de aumentar la permeabilidad del endotelio vascular en la barrera hematoencefálica mediante la activación de los receptores AT1, sin embargo, faltan estudios que muestren el mecanismo de señalización intracelular que modifica la permeabilidad. (Fleegal-DeMotta M *et al.* 2009), a su vez también causa la activación del endotelio vascular, ligado a una neuroinflamación debido a la liberación de sustancias pro-inflamatorias, lo que puede asociarse a un deterioro cognitivo. (Winklewsky *et al.* 2016).

La diabetes tipo 2 se ha asociado fuertemente a un mayor riesgo de desarrollar la enfermedad de Alzheimer, en estudios de pacientes y modelos animales con diabetes se ha demostrado que la presencia de hiperglucemia, favorece la pérdida de memoria espacial, y atrofia en algunas áreas cerebrales, donde el área con mayor afectación es el hipocampo, estructura vital para la memoria y el aprendizaje (Cherubin N *et al.* 2012, Biessels GJ *et al.* 2014).

Una cantidad elevada de lípidos en sangre puede causar diversos desordenes cardiovasculares (Sun *et al.* 2017), por ejemplo, en ratones Knockout con hipercolesterolemia se observó una desregulación en la actividad mitocondrial del hipocampo y un marcado déficit cognitivo, así como acumulación de  $\beta$ A (De la Monte SM *et al.* 2014, De Oliveira *et al.* 2014). En ratones modificados para suprimir la expresión de APOE, alimentados con una dieta alta en grasa para inducir hiperlipidemia, mostraron una gran cantidad de lípidos en el hipocampo y grandes cantidades de  $\beta$ A lo que está fuertemente ligado a la enfermedad de Alzheimer (Zhao XS *et al.* 2017).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

### **III. HIPÓTESIS**

Las alteraciones metabólicas que forman parte del síndrome metabólico inducen una disfunción en la barrera hematoencefálica favoreciendo la presencia de un estado de neuroinflamación crónica que contribuye a un deterioro cognitivo y por tanto al desarrollo de Alzheimer.

### **IV. JUTIFICACIÓN**

La prevalencia de la obesidad y síndrome metabólico (SM) causado por un estilo de vida sedentario y un régimen dietario alto en azúcar o grasas, sigue en aumento en todo mundo y es uno de los principales problemas de salud pública. Las alteraciones metabólicas propias del síndrome metabólico se relacionan con la pérdida de la capacidad cognitiva, la acumulación de  $\beta$ A y TAU que son proteínas muy relacionadas con la enfermedad de Alzheimer, la obesidad se asocia con la reducción de los volúmenes de algunas áreas cerebrales como el hipocampo, a sí mismo induce un estado de inflamación sistémica que puede inducir neuroinflamación, por otro lado, la hiperglucemia causa una activación del endotelio vascular provocando una disfunción de la vasculatura, modificando la permeabilidad de la barrera hematoencefálica (BHE) también en la obesidad se puede traducir en una neuroinflamación y un deterioro cognitivo, por otra parte las dislipidemias pueden contribuir al desarrollo de la enfermedad de Alzheimer, ya que propician una acumulación del péptido amiloide, hiperfosforilación de TAU, así como inducir estrés oxidante, causado en un principio por cambios en la permeabilidad la BHE. También la hipertensión puede modificar la permeabilidad de la barrera por el exceso de ANG II circulante que activa los T1, también induce una activación del endotelio vascular

causando una disfunción del mismo, volviendo más permeable a la barrera y causando la extravasación de algunas sustancias que deberían estar en la periferia que a su vez inicia un estado de neuroinflamación crónica.

Debido a que el síndrome metabólico causado por diferentes dietas hipercalóricas también desencadenan perfiles lipídicos diferentes se hace importante analizar si las dietas altas en azúcares o grasa pueden repercutir en la BHE y en la memoria de forma distinta. Nuestro estudio se basa en un modelo de síndrome metabólico con ratas recién destetadas, diferentes a la mayoría de los modelos, por lo cual la reacción que puedan tener será distinto, por lo que es necesario esclarecer los mecanismos moleculares que contribuyen al desarrollo de EA con el fin de generar estrategias preventivas y de diagnóstico temprano.

## **V. OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el efecto del síndrome metabólico inducido por dos diferentes dietas hipercalóricas (altas en sacarosa y altas en grasa) sobre la integridad y permeabilidad de la barrera hematoencefálica, así como, su repercusión sobre la memoria.

## **VI. OBJETIVOS PARTICULARES**

- 1.-Inducir síndrome metabólico en ratas Wistar macho recién destetadas, mediante el consumo de dietas hipercalóricas (alta en sacarosa y alta en grasa).
- 2.-Demostrar la presencia de síndrome metabólico en las ratas mediante la medición del peso, grasa retroperitoneal y presión arterial, así como la determinación de pruebas bioquímicas (glucosa, colesterol, triglicéridos).
- 3.-Analizar los cambios en la memoria y el aprendizaje en ratas a los 8,10 y 12 meses después del consumo de una dieta alta en sacarosa o alta en grasa, mediante el laberinto acuático de Morris.
- 4.-Evaluar la permeabilidad in vivo de la barrera hematoencefálica mediante la perfusión del colorante azul de Evans.
- 5.-Medir la expresión de las proteínas que conforman las uniones estrechas de la barrera hematoencefálica (Claudina 1, Ocludina y ZO1) mediante Western Blot y PCR tiempo real (qPCR).
- 6.-Determinar la neuroinflamación por la medición de la expresión de la proteína ácida fibrilar glial (GFAP).
- 7.- Medir la cantidad de  $\beta$ A en el hipocampo por western blot.

## **VII. METODOLOGIA**

### **MODELO MURINO**

Para este estudio se usaron ratas machos de la cepa Wistar recién destetadas, de aproximadamente 21 días de edad, obtenidas de la Unidad de Producción, Cuidado y Experimentación animal (UPCA) de la División Académica de Ciencias de la Salud de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Siguiendo los procedimientos para el cuidado de los animales de experimentación establecidos en la NOM-062-ZOO-1999, los animales permanecieron durante toda la fase experimental en un área con temperatura controlada a 25 °C y periodos de luz-oscuridad de 12 horas respectivamente. Fueron colocados en cajas de acrílico con cama de viruta y tapas de acero tipo tolva para permitir acceso ilimitado al alimento y agua. Los animales fueron divididos aleatoriamente en 3 grupos: 1) CONTROL consumió alimento estándar y agua corriente, 2) SACAROSA consumió alimento estándar y una solución de sacarosa al 30% y 3) GRASA consumió alimento estándar adicionado con 30% de manteca de cerdo y agua corriente estándar durante 8, 10 y 12 meses.

### **ELABORACIÓN DE LAS DIETAS**

#### **DIETA CONTROL**

La dieta del grupo control consistió en alimento peletizado de la marca LabDiet 5001 y agua corriente a libre demanda.

#### **DIETA ALTA EN SACAROSA**

La dieta alta en sacarosa consistió en el consumo de alimento estándar de la marca LabDiet 5001 y una solución de sacarosa al 30%, la cual se preparó de la siguiente manera: en un vaso de precipitado se pesaron 300 gramos de azúcar refinada

marca Zulka y se agregó 1 litro de agua corriente, se dejó en agitación durante 10 minutos en una parrilla magnética a 350 rpm, una vez disuelta toda el azúcar la solución se vertió en los bebederos para roedores y se les proporcionó a los animales a libre demanda.

### **DIETA ALTA EN GRASA**

La dieta alta en grasa consistió en el consumo de alimento estándar 5008 adicionado con 30% de manteca de cerdo y agua corriente a libre demanda. La preparación de alimento pelletizado adicionado con manteca se preparó de la siguiente manera: se trituraron 750 gramos de pellets de alimento LabDiet 5008, la cual fue cernida hasta obtener una textura de polvo fino, el resto de alimento fue licuado e integrado al alimento previamente molido, posteriormente en un recipiente se pesaron 250 gramos de manteca de cerdo para ser mezclada con el polvo, se agregó agua hasta formar una masa homogénea, con ayuda de una jeringa se formaron nuevamente las croquetas, las cuales fueron colocadas en bandejas de aluminio y horneadas a 50 °C durante 48 horas.

### **DETERMINACIÓN DEL SÍNDROME METABÓLICO**

Obesidad: Se realizó un monitoreo mensual del peso corporal a los animales de cada grupo experimental hasta cumplir 8, 10 y 12 meses de consumo de las dietas hipercalóricas. Los animales fueron colocados en un recipiente de plástico con tapa para evitar que se salieran y limitar el movimiento, posteriormente, con ayuda de una balanza tipo granataria marca OHANUS, se procedió a determinar el peso de cada rata.

Porcentaje de grasa: Una vez cumplidos los 8, 10 y 12 meses consumo de las dietas hipercalóricas, los animales se sacrificaron por decapitación debido a que la Norma Oficial Mexicana 062-ZOO-1999 sobre las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio, recomienda la decapitación como método mecánico para el sacrificio de roedores y que permite la obtención de tejidos y fluidos corporales libres de contaminación química y/o tejido cerebral íntegro, posteriormente realizó una incisión abdominal para la disección y colecta de la grasa retroperitoneal. Toda la grasa obtenida se pesó en una balanza tipo granataria marca OHANUS y posteriormente se realizó el cálculo del porcentaje de grasa corporal, el cual se calculó haciendo un cociente del peso de la grasa entre el peso del animal y multiplicado por 100.

Presión arterial: Una vez cumplidos los 8, 10 y 12 meses de consumo se realizó la determinación de la presión arterial, la cual consistió en dos fases (habituaación y registro) que se explican a continuación:

1) Habituaación: Con el objetivo de minimizar el estrés de los animales y obtener mediciones más precisas y consistentes se realizaron las maniobras para la toma de la presión arterial. Primero se colocó un foco incandescente dentro de una caja de cartón hasta alcanzar una temperatura de 30 °C, posteriormente se introdujo una caja de acrílico con el grupo experimental a examinar, durante 20 minutos para permitir que los vasos sanguíneos de la cola de las ratas se dilataran y las mediciones fueran más exactas. Después de los 20 minutos se colocó a la rata en un inmovilizador de acrílico para evitar que se moviera y se cubrió con una franela para mantenerla tranquila, posteriormente se colocó el transductor en la cola y se

hicieron 10 mediciones por cada rata, este proceso se repitió 3 días antes de la obtención de los registros se utilizó un equipo para la medición de presión arterial para cola de animales pequeños marca BIOPAC System modelo NIBP 200A con un transductor de 9.5mm.

2) Registro de la presión: Al cuarto día se repitió el procedimiento anterior y se realizaron las mediciones definitivas, un total de 10 mediciones por animal, se realizaron 10 mediciones para obtener un promedio más exacto y se promediaron los valores de la presión de cada grupo, se determinó calcular la presión arterial media (PAM) ya que está relacionada con la correcta perfusión en la BHE.

Glucosa, Colesterol y Triglicéridos: Una vez cumplidos los 8, 10 y 12 meses de consumo las ratas se sacrificaron por decapitación y se colectaron muestras de sangre en tubos sin EDTA y fueron centrifugados a 3000 rpm durante 10 minutos para separar el suero, el cual fue almacenado en tubos Eppendorf a -20 °C hasta su procesamiento. Una vez colectadas todas las muestras se realizaron las determinaciones bioquímicas de glucosa, colesterol y triglicéridos por métodos colorimétricos con ayuda del equipo de química clínica Selectra Xpro, utilizando kits comerciales de la marca Randox® para cada parámetro.

## **EVALUACIÓN DE LA MEMORIA Y APRENDIZAJE**

Después de 8, 10 y 12 meses de consumo de las dietas hipercalóricas, se les evaluó la memoria y aprendizaje mediante la prueba del laberinto acuático de Morris, esta se desarrolló en una piscina circular de 1.8 metros de diámetro y se llenó con agua a una profundidad de 30 cms, estaba dividida en cuatro cuadrantes imaginarios (designados como noroeste, suroeste, noreste y sureste). En uno de los cuadrantes

se colocó una plataforma sumergible y móvil de plexiglás, a una altura de 0,5 cm por debajo del agua. Alrededor de la piscina se colocaron cuatro señales visuales, una por cuadrante, para facilitar la orientación espacial del animal. En una primera fase de adquisición se introdujo a la rata con el hocico apuntando hacia la pared de la piscina en el cuadrante opuesto de donde se colocó la plataforma, para que la buscara por 90 segundos, en caso de no la encontrara, se le colocó de forma manual por 30 segundos sobre ésta. Se consideró que el animal había encontrado la plataforma cuando permaneció 5 segundos en ella, después se retiró la rata de la plataforma. Este procedimiento se repitió con cada animal por 4 días consecutivos. Al día siguiente de finalizar la fase anterior se llevó a cabo la última prueba de retención, repitiendo el procedimiento anterior, pero sin plataforma y sin referencias visuales durante 120 segundos, esta última prueba es video grabada, en secciones de aproximadamente dos minutos por animal, para su posterior análisis.

## **EVALUACIÓN IN VIVO DE LA PERMEABILIDAD DE LA BARRERA HEMATOENCEFÁLICA**

Una vez completada la prueba del laberinto, se procedió con el ensayo de permeabilidad *in vivo* de la barrera hematoencefálica a los 8, 10 y 12 meses de consumo de las dietas. Cada animal fue anestesiado con pentobarbital sódico (Sedalpharma) a una dosis de 50 mg/kg, después de confirmar el efecto de la anestesia la rata se colocó en una placa de unicel sobre la mesa y se sujetaron las extremidades para evitar algún movimiento, posteriormente se retiró el pelo del cuello y se desinfectó la zona con Isodine para realizar una incisión. Se disectó la arteria carótida para administrar una solución de Azul de Evans al 2% (Sigma-

Aldrich) en PBS a una dosis de 100  $\mu$ l por cada 100 gramos de peso, se verificó hemostasia y luego se suturó la incisión para mantener en recuperación a cada rata durante una hora y media. Se verificó la distribución del colorante en todo el cuerpo, y se anestesió nuevamente para realizar perfusión del sistema vascular, para ello se expuso la cavidad pectoral y se localizó el ventrículo izquierdo del corazón, se colocó una cánula en él y con una máquina de perfusión marca CONTROL COMPANY se comenzó el bombeo de PBS a una velocidad de 9 mililitros por minuto por 15 minutos (aproximadamente 135 mililitros) para eliminar restos de colorante y sangre del sistema, inmediatamente se cortó la vena hepática para permitir la salida del líquido.

Una vez terminada la perfusión con PBS se inició de nuevo con 100 mililitros de paraformaldehído al 4% a una velocidad de 9 mililitros por minuto para la fijar al animal, posteriormente se decapitó y se realizó la disección del cerebro e hipocampo, fueron guardados en 2 y 5 mililitros respectivamente de formamida y almacenados a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento.

Para el procesamiento las muestras de hipocampo fueron puestas en un Termoblock a  $80^{\circ}\text{C}$  por 20 horas, pasado este tiempo se disgregó el tejido con ayuda de un vortex, y se centrifugó a 9740 gravedades por 1 hora, terminado esto se tomaron 100  $\mu$ l de sobrenadante y se colocó en placas de 96 pozos, se elaboró una curva estándar de Azul de Evans y se procedió hacer la lectura en un espectrofotómetro tipo EPOCH a una longitud de onda de 620 nanómetros.

## DETERMINACIÓN LAS PROTEÍNAS POR WESTERN BLOT

Las muestras de hipocampo fueron homogenizadas en 100  $\mu$ l buffer de lisis con inhibidores de proteasas mediante trituración mecánica con pistilo después se llevó al sonicador, el cual se programó a una amplitud de 80% a 20 por 30 pulsos por 1 minuto, todo el proceso anterior fue hecho en frío con la ayuda de una nevera con hielo, luego se centrifugó a 10,000 rpm por 10 minutos y se rescató el sobrenadante en tubos de 2ml, posteriormente se procedió a la cuantificación de las proteínas con la técnica colorimétrica de Bradford y analizadas en un espectrofotómetro tipo EPOCH a 495 nanómetros.

Luego se preparó la proteína a una concentración de 400  $\mu$ g/  $\mu$ l en buffer de Laemmli 5X y buffer de lisis y se incubó a 100°C por 10 minutos para que las proteínas se desnaturalizaran y luego se almacenaron a -20°C hasta su utilización. Para el procesamiento las muestras fueron sacadas del congelador y vortexeadas para homogenizar las muestras, luego estas fueron separadas por electroforesis en geles de poliacrilamida al 12% a 80V y transferidas a una membrana de PVDF mediante transferencia húmeda por 16 horas a 110mA, luego se tiñó la membrana con Rojo Ponceau para asegurar una correcta transferencia y fue cortada de acuerdo a los pesos moleculares de las proteínas de interés y fueron lavadas con buffer tris-fosfatos/tween 20 (TTNS) 3 veces por 10 minutos, posteriormente se bloqueó con una solución de leche sin grasa al 5% en TTNS por 2 horas, al pasar este tiempo fueron lavadas 3 veces por 10 minutos con el TTNS y posteriormente las membranas fueron incubadas por 1 noche a 4°C con los anticuerpos primarios Anti-Claudina 1, (Santa Cruz) , Anti-Ocludina(Abcam), Anti-ZO-1(Abcam), Anti-GFAP (Abcam) y Anti- $\beta$ -amiloide(Santa Cruz) a una concentración de 1:1000 en

una solución de albumina sérica bovina al 5% en TTNS, posteriormente se lavó 3 veces por 10 minutos cada lavado y se incubó por 2 horas con el anticuerpo secundario que correspondía en una solución 1:10,000 en leche al 5%, luego de se efectuaron 3 lavados por 10 minutos con TTNS y finalmente se reveló usando un sustrato químico luminiscente (Peróxido de hidrogeno y luminol), la señal luminosa fue capturada en un fotodocumentador Image quant LAS500 (GE Healthcare) y la imagen obtenida se analizó utilizando el programa ImageJ.

#### **DETERMINACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE GENES ESPECÍFICOS POR PCR EN TIEMPO REAL**

Para la extracción de ARN de las muestras de hipocampo previamente extraídas, se les agregó 800 µl de TRIzol LS Reagent AMBION y se guardó toda la noche a -80 °C, posteriormente se descongeló a temperatura ambiente y se procedió a disolver de manera mecánica con pistilo y se pasaron por el vortex para asegurar la correcta disgregación del tejido, luego de agregó 160µl de cloroformo y llevó al por al vortex por 15 segundos, posteriormente se dejó incubar por 3 minutos a temperatura ambiente hasta que se observaron dos fases, después se centrifugó a 12000 rpm por 15 minutos a 4°C y se colectó la fase acuosa (aproximadamente 450µl) en tubos estériles de 1.5 ml y se le agregó 400 µl de isopropanol al 100% y se vortexeo por 15 segundos, paso seguido se incubó por 10 minutos a temperatura ambiente, posteriormente se centrifugó a 12000 rpm por 10 minutos a 4°C y se decantó el sobrenadante, se agregaron 1000 µl de etanol al 70%, una vez hecho lo anterior, se mezcló por inversión y se centrifugó de a 12000 rpm por 10 minutos a

4°C, se decantó y se secó volteado al aire, una vez seco se agregó 20 µl agua DEPC (Pirocarbonato de Dietilo) y se llevó al Termoblock a 50°C por 10 minutos y finalmente se almacenó a 80°C hasta su uso.

El ARN previamente extraído se cuantificó con un espectrofotómetro tipo EPOCH y se calculó la cantidad de muestra necesaria para tener 1µg de RNA. Para la síntesis de cDNA se utilizó el Thermo Scientific RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit, para esto en tubos de 0.2 ml se colocó la cantidad necesaria de muestra para tener 1µg de ARN y se agregó 1µl de Random Hexamer Primer y se completó con agua libre de nucleasas hasta los 12µl, luego se llevó al termociclador a 65°C por 5 minutos para eliminar estructuras secundarias en el ARN posteriormente se agregó 8 µl de MIX de reacción a cada muestra, el cual contenía: 4µl de 5x Reaction Buffer, 1 µl de RiboLock RNASE inhibitor, 2 µl de 10mM dNTP Mix y 1 µl de RevertAid M-MuLV RT y se llevó al termociclador con la siguiente programación: 5 minutos a 25 °C, seguido de 60 minutos a 42 °C, 5 minutos a 70°C y terminada la reacción a 4 °C indefinido, una vez sintetizado el cDNA se almacenó a -80°C hasta su uso.

Para la reacción de PCR tiempo real en tubos de PCR de 0.2ml se colocó 1µl de muestra y 19 µl de Mix de reacción a cada una de ellas, el cual contenía: 10 µl de Quanti Nova SYBR Master Mix, 5 µl de primer específico para cada gen y 8.5 µl de agua, el volumen de reacción fue de 20 µl, luego se llevó a un termociclador Rotor-Gene Q marca QIAGEN. Primero fue evaluado el gen GAPDH para verificar la integridad del ARN y que sirvió como gen de referencia, posteriormente fueron evaluados los genes de las uniones estrechas (Claudina 1, Ocludina y ZO-1), todas las pruebas se hicieron por triplicado.

El termociclador fue programado a 38 ciclos de 10 segundos a 95°C seguido de 30 segundos a 60°C, se programó una ganancia de fluorescencia de 10 en verde.

**PRIMERS**

Gen	Secuencia
ZO-1	5'-ACAGGTAGGACAGACGATCA-3' 5'-TCAGCAGCAACAGAACCAG-3'
Ocludina	5'-TGTCTCTAGGTTATCGTTGCTG-3' 5'-CTTTGTATAAGTCACCGCCTCT-3'
Claudina	5'-GCACTTCATCATCTTCTAAGCAC-3' 5' TTCGACTCCTTGCTGAATCTG-3'
GAPDH	5'-TCTCTGCTCCTCCCTGTTC-3' 5'- GTAACCAGGCGTCCGATAC-3'

### **VIII. Análisis estadístico**

Se utilizó una prueba de ANOVA para reconocer diferencias entre los grupos y una prueba Pos-Hoc de Dunnet para comparar contra los controles utilizando el programa Graph Pad Prism 7, se consideraron significativos los valores con una  $p < 0.05$

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

## IX. RESULTADOS

### Determinación de la presencia de síndrome metabólico

Tabla 1. Niveles bioquímicos, presión arterial, presión arterial medial y % de grasa después de 8 10 y 12 meses de consumo de dietas hipercalóricas. Para los experimentos n=6 ANOVA con poshoc de Dunnet vs control \*p<0.05 \* Cambio significativo.

	8 meses			10 meses			12 meses		
	Control	Sacarosa	Grasa	Control	Sacarosa	Grasa	Control	Sacarosa	Grasa
<b>Peso corporal</b>	537 ± 45	583 ± 29	505 ± 48	555 ± 43	519 ± 48	552 ± 30	582 ± 35	654 ± 23	591 ± 88
<b>Grasa retroperitoneal</b>	1.9 ± 0.65	3.2 ± 0.53*	5.2 ± 1.80 *	1.5 ± 0.14	3.7 ± 1.20 *	5.4 ± 0.94 *	2.3 ± 0.40	4.9 ± 2.10 *	6.3 ± 1.30 *
<b>Glucosa</b>	130.16±10.0	149.8±11.1*	131.2±7.4	118.4±3.3	137.4±1.94*	150.2±14.09*	100.7±10.44	121.7±14.06	128.8±16.6
<b>Triglicéridos</b>	152.5 ± 28.57	177.2 ± 34.09	90.5 ± 24.80*	128.6 ± 36.96	181.8 ± 46.26	154.2 ± 32.01	124.28 ± 22.28	197.22 ± 31.22*	108 ± 4.3
<b>Colesterol</b>	96.8 ± 9.2	74.8 ± 9.2*	97.3 ± 7.5	84.8 ± 13.25	81.4 ± 17.6	88.4 ± 8.9	116.3 ± 17.3	84 ± 13.4	93.83±24.0
<b>HDL</b>	24 ± 2.1	23.4 ± 3.8	22.16 ± 1.16	20.8 ± 2.5	28.4 ± 8.5	25 ± 3.3	21.5±2.8	21±3	21.3±6.0
<b>LDL</b>	13.1 ± 3.7	8.4 ± 1.6	14 ± 3.0	12 ± 3.3	6.4 ± 1.3	7.6 ± 1.14	16 ± 4.1	7.3 ± 1.5	10.1 ± 3.5
<b>Presión sistólica</b>	104 ± 2.5	106 ± 9.8	115 ± 8.6	94 ± 4.0	143 ± 30.1*	131.4 ± 22.4*	126 ± 15	143 ± 15	135 ± 11
<b>Presión diastólica</b>	54 ± 6.7	52 ± 3.9	69 ± 14.5	69 ± 5.1	83.9 ± 17.22	92.0 ± 21.70	126±15	112 ± 20	84 ± 11
<b>PAM</b>	71.46±12.9	69.05±4.72	82.73±10.26	77.8±3.76*	104.2±18.32	105.94±19.47*	106.81±17.07	178.4±28.14*	102.0±11.45

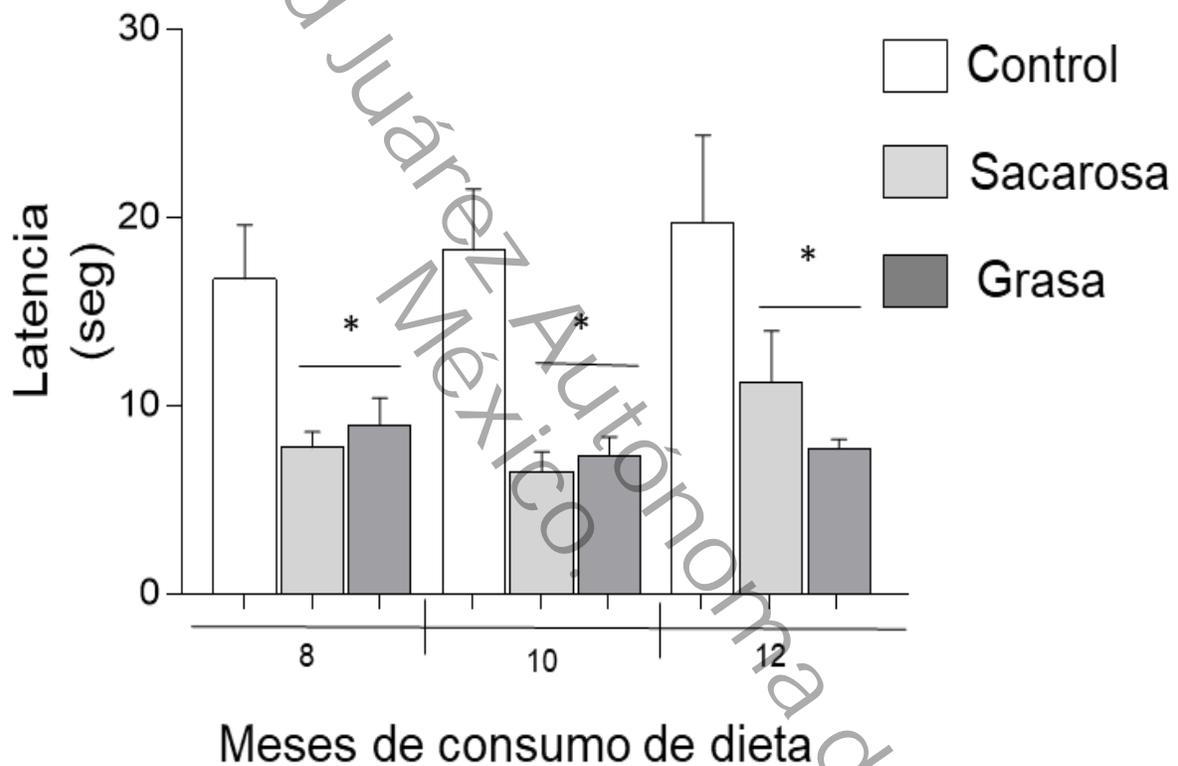
A los ocho meses se puede observar que, en el grupo de grasa hubo un aumento en el porcentaje grasa corporal, así como en los niveles de glucosa en suero, en el grupo alimentado con la dieta alta en grasa únicamente hay aumento en el porcentaje de grasa, por lo cual el síndrome metabólico no está establecido de consumo de las dietas experimentales.

A los 10 meses de dieta, hay aumentos en el porcentaje de grasa corporal, presión arterial, glucosa en suero y triglicéridos en ambos grupos experimentales con respecto al grupo control, por lo que el síndrome metabólico se encuentra establecido al haber cuatro de las cinco alteraciones propias de este síndrome.

A los doce meses de consumo de las dietas, en el grupo control se observa un aumento en la presión arterial, atribuible a la edad de las ratas, en el grupo alimentado con sacarosa están aumentados el porcentaje de grasa corporal, presión arterial, glucosa en suero y triglicéridos, mientras que en el grupo de la dieta alta en grasa solo hay aumento en porcentaje de grasa corporal, presión arterial, glucosa en suero, los triglicéridos disminuyeron, posiblemente debido a la auto restricción dietética que se presenta en las ratas de forma normal por la edad.

## Análisis de memoria mediante el laberinto acuático de Morris

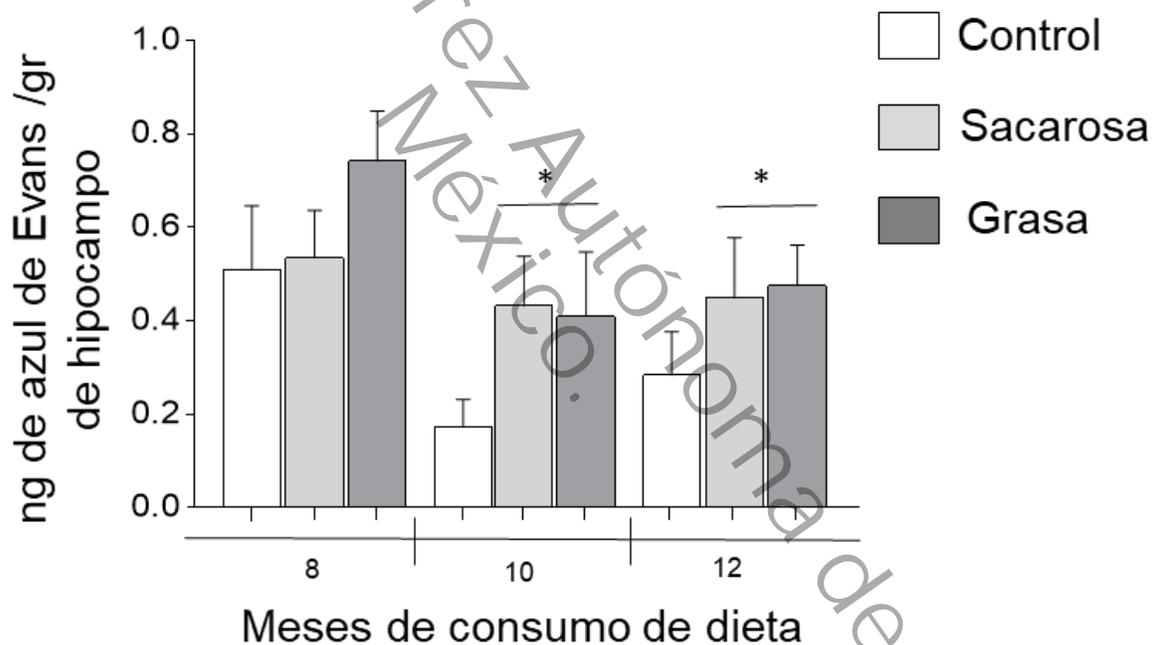
De acuerdo a los datos obtenidos se observa una disminución en la memoria espacial en comparación con los grupos control, que tienen un tiempo de latencia promedio de 20 segundos, mientras que con las dietas experimentales se reduce a aproximadamente 10 segundos en los 3 tiempos experimentales.



Gráfica 1. Tiempos de latencia mostrados en segundos luego de 8, 10 y 12 meses de consumo de las dietas hipercalóricas. Para todos los experimentos  $n=4$ . Anova y poshoc de Dunnet vs control. (Barra blanca)  $*p<0.05$

## Ensayo de permeabilidad in vivo de la barrera hematoencefálica

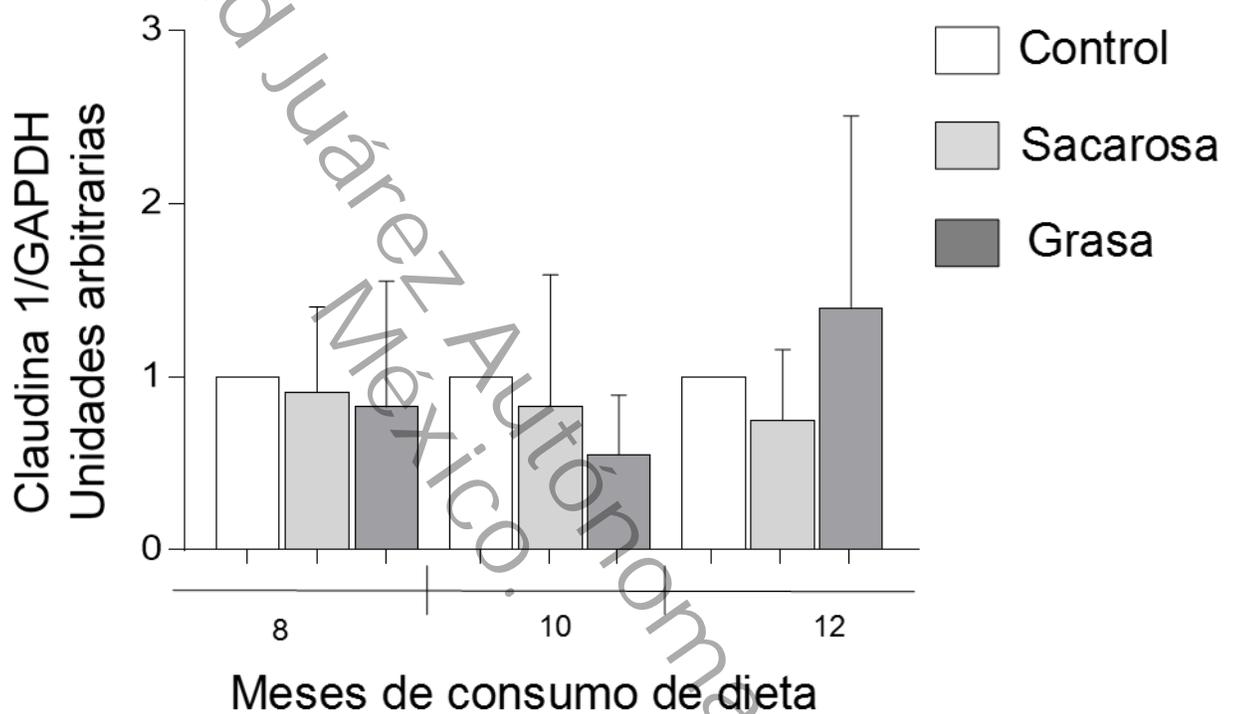
La gráfica muestra que en relación con el grupo control a los 8 meses de consumo de dietas no hubo cambios en la permeabilidad de la barrera hematoencefálica, a los 10 meses comparando con su grupo control la permeabilidad aumentó considerablemente en los grupos de sacarosa y grasa, a los 12 meses se repite en mismo patrón que el grupo anterior.



Gráfica 2. Se muestra la permeabilidad de la barrera hematoencefálica en ng por gramo de hipocampo. ng= nanogramos AE= Azul de Evans. Para todos los experimentos n=5. ANOVA y poshoc de Dunnet vs control. (Barra blanca) \*P<0.05

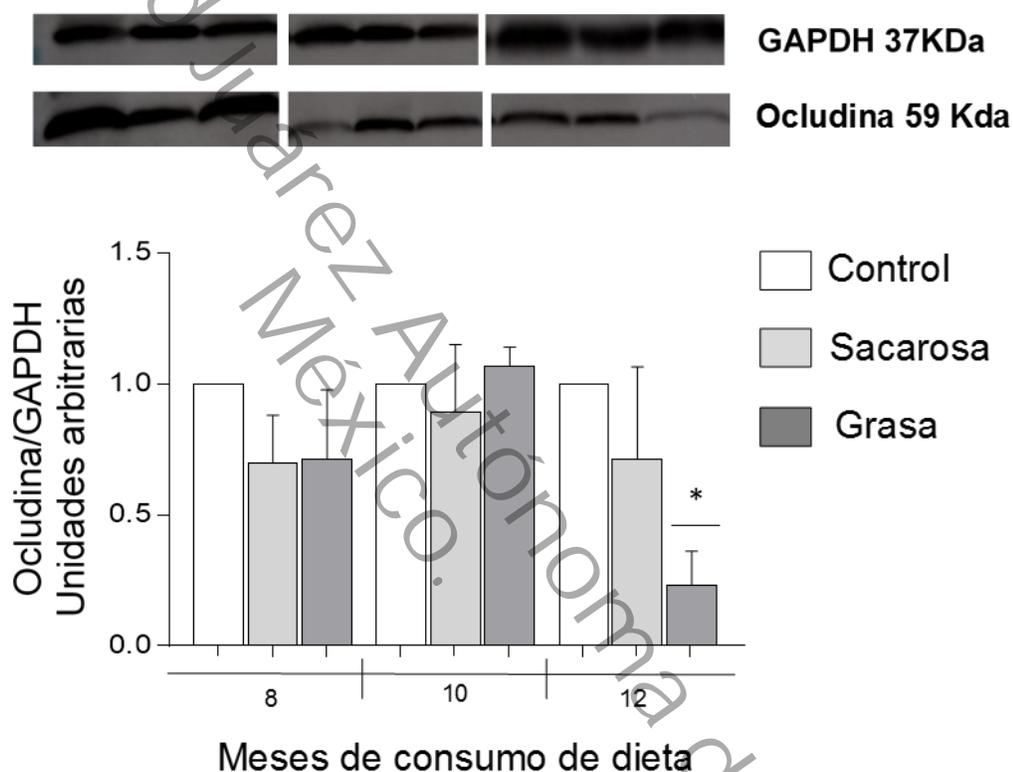
## Niveles de expresión de las proteínas de unión estrecha

Los datos no muestran cambios en los niveles de expresión de Claudina 1 en comparación con el grupo control, en ninguno de los tiempos experimentales, del mismo modo, no hay diferencias entre los grupos de sacarosa o grasa.



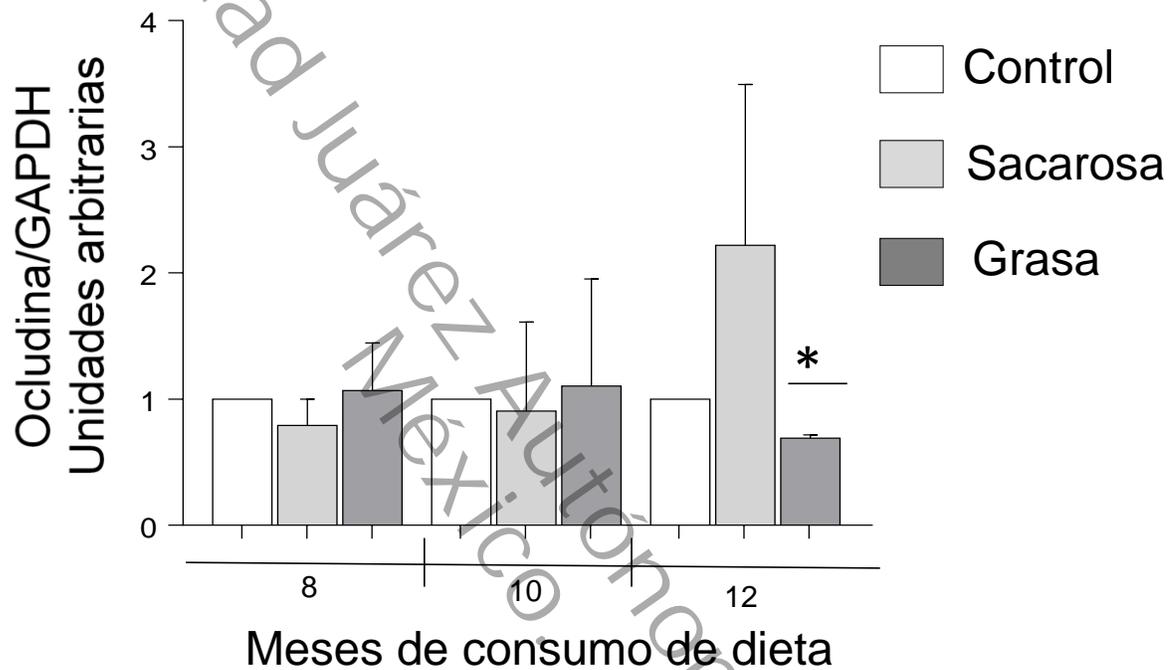
Gráfica 3. Se muestran los niveles de expresión de Claudina 1 mediante qPCR a los 8, 10 y 12 meses de consumo de las dietas. Para todos los experimentos  $n=3$  prueba de ANOVA  $*p<0.05$

La grafica muestra que a los ocho y diez meses de consumo de las dietas experimentales no hubo cambios en los niveles de ocludina, a los doce meses el grupo de sacarosa no mostró cambios con respecto al grupo control, en el grupo de grasa hay una reducción bastante significativa en los niveles de ocludina.



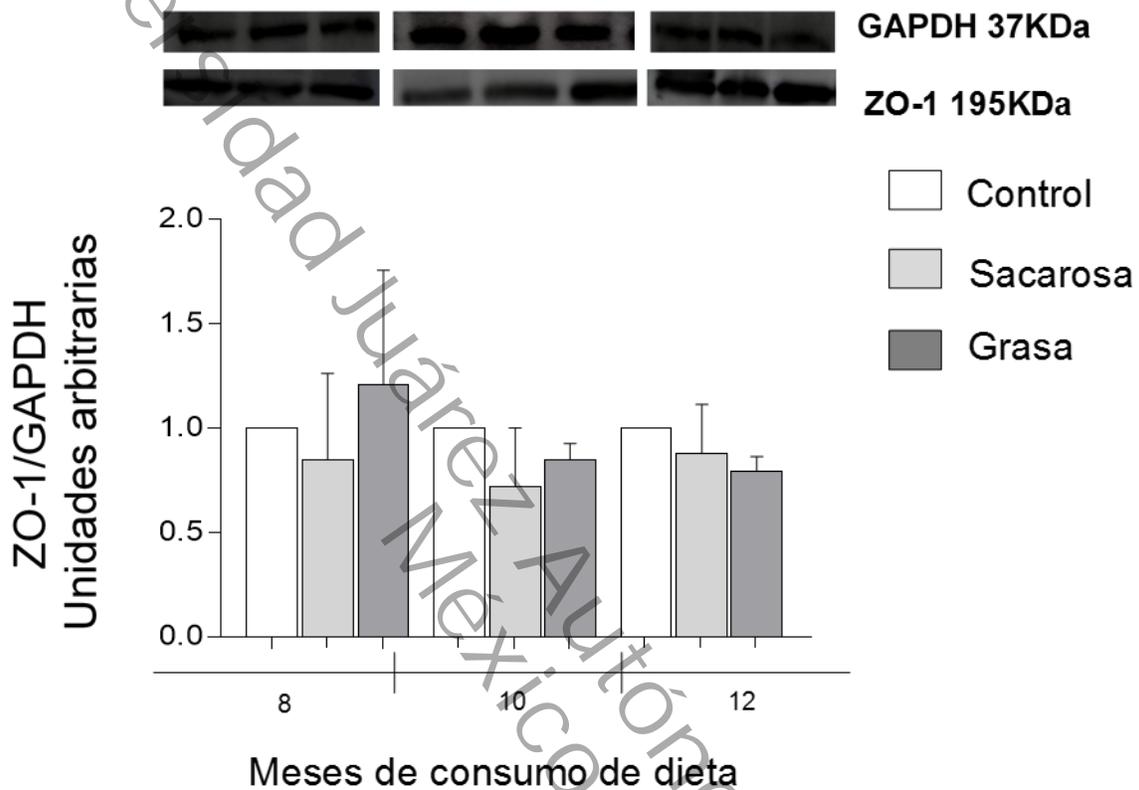
Gráfica 3. Se muestran los niveles de expresión de Ocludina mediante Western Blot a los 8, 10 y 12 meses de consumo de las dietas. Para todos los experimentos n=4. ANOVA y poshoc de Dunnet vs control (Barra blanca) \*p<0.05

En la gráfica se observa que a los ocho y diez meses de consumo de las dietas experimentales no existen cambios en la expresión de ocludina, a los doce meses el grupo de sacarosa no muestra cambios con respecto al grupo control, sin embargo, en el grupo de grasa, hay una reducción bastante significativa en los niveles de expresión de Ocludina.



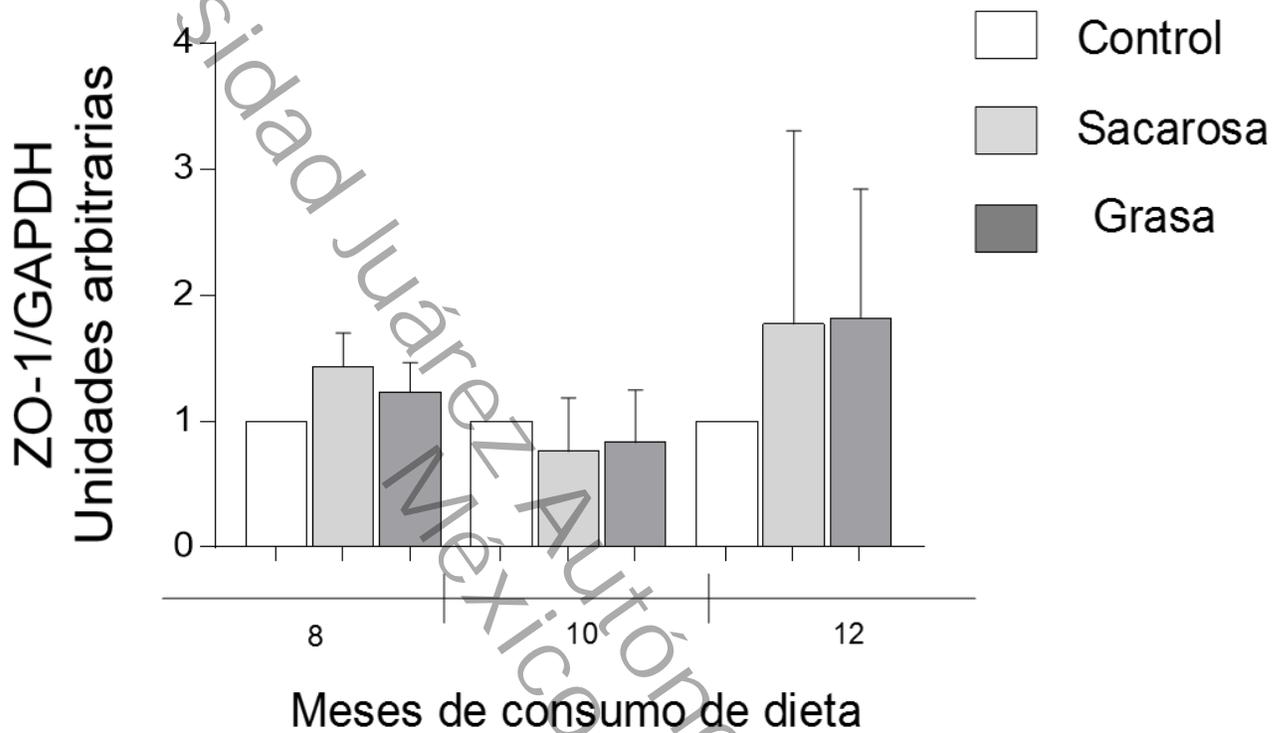
Gráfica 4. Se muestran los niveles de expresión de Ocludina mediante qPCR a los 8, 10 y 12 meses de consumo de las dietas. Para todos los experimentos n=3. ANOVA y poshoc de Dunnet vs control (Barra blanca) \*p<0.05

Los datos obtenidos muestran que hay cambios en los niveles de ZO-1 en ninguno de los tiempos experimentales, tampoco se observan cambios con respecto a las dietas.



Gráfica 5. Se muestran los niveles de ZO-1 mediante Western Blot a los 8, 10 y 12 meses de consumo de las dietas. Para todos los experimentos n=4. Prueba de ANOVA \*p<0.05

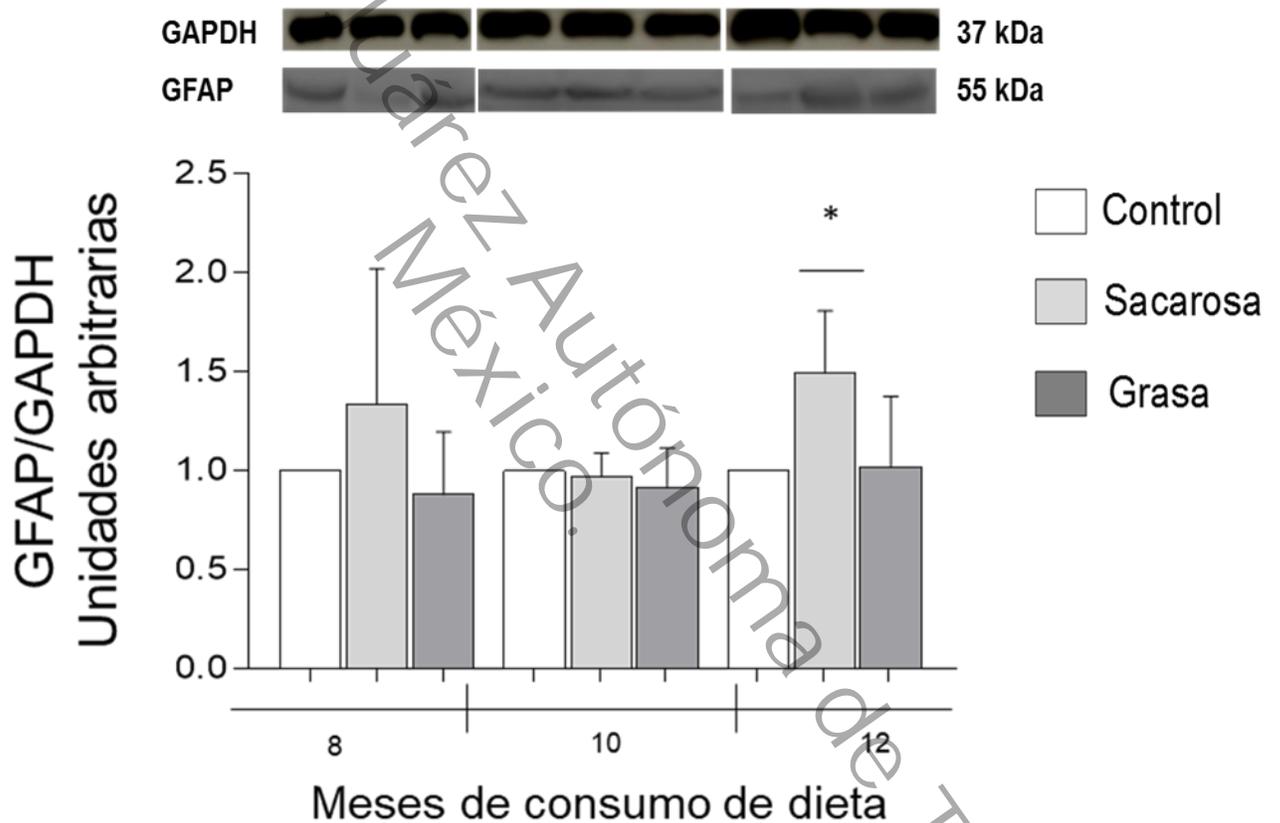
La grafica muestra que no hubo cambio en los niveles de expresión de ZO-1 en ninguno de los tiempos experimentales, tampoco se muestran cambios con respecto a las dietas.



Gráfica 6. Se muestran los niveles de ZO-1 mediante qPCR a los 8, 10 y 12 meses de consumo de las dietas. Para todos los experimentos n=3 Prueba de ANOVA \*p<0.05

## Determinación de activación astrocítica

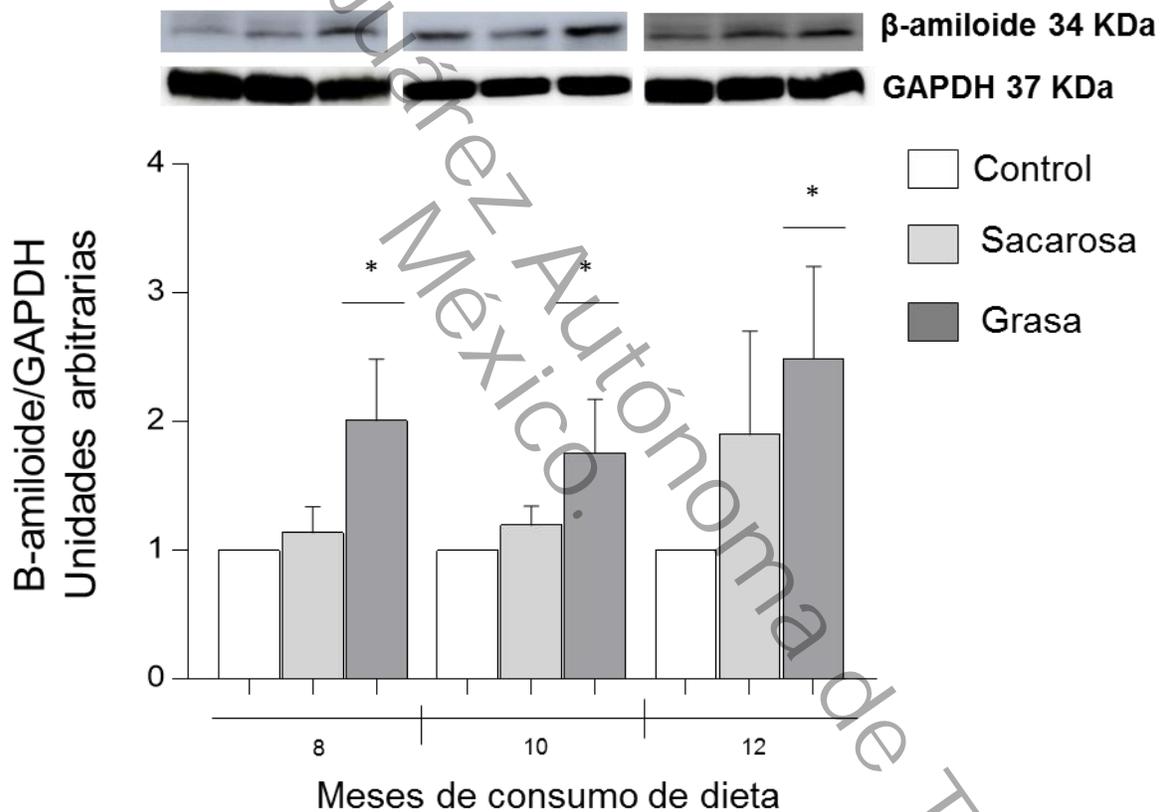
A los 8 y 10 meses de consumo de las dietas experimentales no hay evidencia de haber activación astrocítica, debido a que no se observa aumento en los niveles de GFAP, a los 12 meses de consumo, el grupo de sacarosa presenta un aumento de estos niveles, mientras que en el grupo de grasa de este tiempo no hay aumentos.



Gráfica 6. Niveles de expresión de GFAP en unidades arbitrarias. Para todos los experimentos n=4. ANOVA y poshoc de Dunnet vs control (Barra Blanca). \*p<0.05.

## Determinación de la cantidad de $\beta$ -amiloide

El grafico muestra que no hay elevación de la cantidad de  $\beta$ A en aquellos animales que fueron alimentados con la dieta alta en sacarosa en ninguno de los tiempos experimentales, por otro lado, en aquellos animales que fueron alimentados con una dieta alta en grasa mostraron una mayor concentración de  $\beta$  amiloide.



Gráfica 6. Niveles de  $\beta$ A en unidades arbitrarias. Para todos los experimentos n=4.

ANOVA y poshoc de Dunnet vs control (Barra Blanca). \*p<0.05

## X. DISCUSIÓN

La Organización Mundial de la Salud, la Federación Internacional de la Diabetes y el Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia llegaron al consenso que el síndrome es un problema de salud pública que va en aumento en todo el mundo metabólico, alcanzando proporciones epidémicas, (Gomez-Crisostomo et al 2018).

Los principales factores para el desarrollo de síndrome metabólico son una vida sedentaria y el consumo de dietas altas en azúcares y altas en grasas. (Grundy SM 2016)

Diversos estudios han evidenciado que el consumo de dietas altas en grasa o altas en sacarosa por doce a 18 semanas son suficientes para la generación y establecimiento del síndrome metabólico (Moreno-Fernández S *et al.* 2018, Aslam M *et al.* 2017), sin embargo, en nuestro modelo, este se establece hasta los diez meses de consumo de las dietas experimentales, debido principalmente a una diferencia sustancial, en nuestro estudio se utilizaron ratas Wistar macho recién destetadas, de aproximadamente 21 días de edad al iniciarse la dieta, mientras que en la mayoría de los estudios los animales utilizados tienen una edad aproximada de tres meses cuando estos inician la dieta. Posiblemente la diferencias en los tiempos para el establecimiento del síndrome metabólico en nuestro modelo se deba a adaptaciones metabólicas, ya que los animales no han tenido otro tipo de dieta, mientras que cuando la dieta es iniciada luego de tres meses, esta puede resultar muy agresiva al metabolismo y establecerse desde las 8 semanas (Treviño S *et al.* 2017)

Desde hace varios años se ha reportado una relación entre el síndrome metabólico y el desarrollo de un deterioro cognitivo, (Treviño *et al.* 2015) los resultados muestran que, desde los ocho meses de las dietas hipercalóricas, repitiéndose el patrón a los diez y doce meses del consumo de las dietas, en donde al parecer la edad no es un factor que juegue un papel sinérgico en el deterioro de la memoria espacial, ya que en los tres tiempos experimentales en promedio, el tiempo de latencia bajó de aproximadamente 20 segundos en los grupos control a poco más de diez segundos en los animales que consumieron las dietas, interesantemente, a los ocho meses, si bien el síndrome metabólico no se encuentra establecido, si se observa un decremento en la memoria espacial, lo que parece indicar que con la sola presencia de alguna alteración metabólica, es suficiente para que se refleje un daño a las capacidades cognitivas, lo anterior concuerda con algunos estudios, por ejemplo, Boitard C *et al.* 2014 mostraron que en ratas tratadas con una dieta alta en grasa desde el destete, mostraron disminución de la memoria espacial y un ambiente inflamatorio en el hipocampo, usando la misma dieta, pero iniciada en la edad adulta no mostraron cambios conductuales ni presencia de un ambiente inflamatorio. En estudios en los que se suministró una dieta alta en sacarosa como el publicado por Lemos C *et al.* 2016, en el cual, se les suministró una dieta con 35% de sacarosa por 9 semanas a ratas Wistar macho, mostraban un marcado deterioro cognitivo.

La barrera hematoencefálica cumple un papel vital en la homeostasis del cerebro, esta sirve como interfaz entre la periferia y el cerebro, regulando el paso de sustancias como iones, proteínas, células inmunológicas y sustancias proinflamatorias, al aumentar la permeabilidad, hay extravasación de sustancias al

sistema nervioso central, lo que por diversos mecanismos puede causar deterioro cognitivo (Janelidze *et al.* 2017). En este estudio se muestra un aumento en la permeabilidad de la barrera hematoencefálica desde los diez meses, en ambos grupos de dieta experimental, a los doce meses, esta tendencia se repite, sin embargo, a los ocho meses de consumo de las dietas, la memoria espacial está afectada, pero en relación al grupo control no existe un aumento en la permeabilidad de la BHE lo que podría sugerir otro mecanismo por el cual hay deterioro cognitivo, por ejemplo Kothari V *et al.* 2016 publicaron un trabajo en donde se les suministro una dieta alta en grasa los cuales mostraron deterioro cognitivo y se le atribuye a algunos mecanismos como la acumulación del péptido  $\beta$ -amiloide, la hiperfosforilación de TAU, así como la disminución de la plasticidad sináptica.

Las uniones estrechas son clave para mantener la permeabilidad selectiva de la BHE, existen 3 grupos de proteínas de unión estrecha, entre ellas la familia de las claudinas, las cuales son las principales responsables de mantener el sello entre célula-célula, sin embargo, esta no presentó cambios en los niveles de expresión a lo largo del tiempo, tampoco se mostraron diferencias entre las dietas.

La Ocludina es otra proteína transmembranal de suma importancia en la homeostasis cerebral, es la segunda en importancia en la participación en la selectividad de la BHE, en este trabajo no se observaron cambios en la expresión a los ocho ni diez meses de consumo de las dietas experimentales, a los doce meses, con la dieta alta en sacarosa no hubieron cambios en los niveles de expresión ni en la cantidad de proteína, en el mismo tiempo, en el grupo alimentado con grasa se observó un decremento en el nivel de expresión de ARN así como en la cantidad de proteínas, indicando posiblemente que con la dieta y en tiempos tan prolongados

puede resultar en una imposibilidad de mantener los niveles de la proteína , en contraste, Ogata S *et al.* 2019, publicaron una investigación en donde se les suministró a ratones una dieta alta en grasa por dos a diez semanas, estos mostraron un decremento significativo de los niveles de ocludina, sin embargo, los niveles de recuperaron a niveles normales en los tiempos posteriores de dieta.

La familia de las proteínas de la zona ocludens también conocidas como ZO-1 sirve como nexo entre el citoesqueleto y las proteínas tansmembrana Claudinas y ocludina, proporcionando el andamiaje y soporte necesario para que las uniones estrechas mantengan su función, los resultados no muestran cambio alguno en los niveles de expresión ni en la cantidad de proteína, al ser una proteína citosólica, puede sufrir menos daños que una expuesta. (Stamatovic SM 2017)

Lo anterior es evidencia de que la permeabilidad de la BHE no se ve disminuida por cambios en la concentración o expresión de las proteínas de unión estrecha, resultados similares fueron presentados por (Contu *et al.* 2019). Existen varias formas de regulación de estas proteínas que se podrían estar llevando a cabo, como las ya mencionadas anteriormente, estas pueden estar encapsuladas en balsas lipídicas por acción de las caveolinas sin haber disminución en la cantidad o pueden sufrir fosforilación en algunos de sus residuos, y cambiar ligeramente su constitución, lo que puede desacoplar el complejo de unión estrecha o cambiar de lugar en el espacio y dejar de ejercer su función (Keaney J *et al.* 2015).

La proteína GFAP se expresa de forma constitutiva en los atrociitos, tiene una función fundamental en el mantenimiento de las funciones del mismo, sin embargo, esta aumenta su expresión durante un estado inflamatorio, esta proteína sirve como marcador indirecto de neuroinflamación, algunos trabajos reportan que algunos

tipos de dieta como las altas en grasa son capaces de inducir un aumento de la expresión de GFAP debido a un ambiente pro inflamatorio, como lo reportado por (Lizarbe B *et al* 2019), en contraparte, los niveles de GFAP en nuestro grupo experimental no mostró cambios a los ocho ni los diez meses de consumo, a los doce meses de consumo, se observó un incremento de la proteína en las ratas con una dieta alta en sacarosa, y sin cambios con la dieta alta en grasa, por lo que la dieta alta en sacarosa podría causar neuroinflamación en periodos muy largos de tiempo, no siendo así la dieta alta en grasa. Un estudio publicado por Kothari *et al.* 2016 en la que alimentaron ratones con una dieta alta en grasa, mostraron un deterioro cognitivo, pero no mostraron activación astrocítica, lo que podría indicar una ausencia de neuroinflamación y hay otras vías interviniendo en el declive cognitivo.

El  $\beta$ -amiloide se expresa de manera normal en todas las neuronas, pero su sobreproducción se asocia con la enfermedad de Alzheimer, hay reportes que indican que algunas dietas pueden incrementar la cantidad del amiloide, por ejemplo, Taylor MK *et al.* en 2018 reportaron que una dieta con un alto índice glicémico era capaz de aumentar la cantidad de este péptido en ratas adultas, lo que potencialmente incrementa el riesgo de desarrollar la enfermedad. Por otra parte, nuestros experimentos no mostraron aumento en los niveles de esta proteína, pero exhiben deterioro cognitivo, lo que indica otras vías que deterioran la memoria, puede deberse a nuestro modelo murino, basado en ratas recién destetadas, lo que podría conferirle cierta adaptación.

Hay reportes en donde una dieta alta en grasa es capaz de propiciar la acumulación de la proteína en el cerebro, por ejemplo, Walker JM *et al.* 2017 quienes sometieron a ratones APP/PSEN1 a una dieta alta en grasas causó deterioro cognitivo y acumulación de  $\beta$ A, condiciones que pudieron ser revertidas al cambiar la dieta por una baja en grasa. En nuestro estudio, aquellas ratas que fueron alimentadas con una dieta alta en grasa mostraron un marcado deterioro cognitivo posiblemente ocasionado por la acumulación del  $\beta$ A.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

## **XI.CONCLUSIONES**

- El consumo de nuestras dietas hipercalóricas altas en sacarosa y alta grasa afectan el metabolismo de forma diferencial.
- Ambas dietas causan daño sustancial en la barrera hematoencefálica aumentando su permeabilidad.
- El aumento de la permeabilidad no está mediado por la disminución de las proteínas de unión estrecha.
- La neuroinflamación no es el mecanismo por el cual la BHE está dañada y la memoria disminuye en nuestro modelo.

## XII. BIBLIOGRAFIA

- Abbott, N. J., Patabendige, A. A., Dolman, D. E., Yusof, S. R., & Begley, D. J. (2010). Structure and function of the blood-brain barrier. *Neurobiology of disease*, 37(1), 13–25. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2009.07.030>
- Alexandru, N., Badila, E., Weiss, E., Cochior, D., Stępień, E., & Georgescu, A. (2016). Vascular complications in diabetes: Microparticles and microparticle associated microRNAs as active players. *Biochemical and biophysical research communications*, 472(1), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.02.03>
- Arvanitakis, Z., Wilson, R. S., Bienias, J. L., Evans, D. A., & Bennett, D. A. (2004). Diabetes mellitus and risk of Alzheimer disease and decline in cognitive function. *Archives of neurology*, 61(5), 661–666. <https://doi.org/10.1001/archneur.61.5.661>
- Belsky, D. W., Moffitt, T. E., Sugden, K., Williams, B., Houts, R., McCarthy, J., & Caspi, A. (2013). Development and evaluation of a genetic risk score for obesity. *Biodemography and social biology*, 59(1), 85–100. <https://doi.org/10.1080/19485565.2013.774628>
- Bhatta, A., Yao, L., Xu, Z., Toque, H. A., Chen, J., Atawia, R. T., Fouda, A. Y., Bagi, Z., Lucas, R., Caldwell, R. B., & Caldwell, R. W. (2017). Obesity-induced vascular dysfunction and arterial stiffening requires endothelial cell arginase 1. *Cardiovascular research*, 113(13), 1664–1676. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvx164>

Biessels, G. J., & Reijmer, Y. D. (2014). Brain changes underlying cognitive dysfunction in diabetes: what can we learn from MRI?. *Diabetes*, 63(7), 2244–2252.

<https://doi.org/10.2337/db14-0348>

Boitard, C., Cavaroc, A., Sauvant, J., Aubert, A., Castanon, N., Layé, S., & Ferreira, G. (2014). Impairment of hippocampal-dependent memory induced by juvenile high-fat diet intake is associated with enhanced hippocampal inflammation in rats. *Brain, behavior, and immunity*, 40, 9–17. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2014.03.005>

Buie, J. J., Watson, L. S., Smith, C. J., & Sims-Robinson, C. (2019). Obesity-related cognitive impairment: The role of endothelial dysfunction. *Neurobiology of disease*, 132, 104580. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2019.104580>

Campos-Peña, V., Toral-Rios, D., Becerril-Pérez, F., Sánchez-Torres, C., Delgado-Namorado, Y., Torres-Ossorio, E., Franco-Bocanegra, D., & Carvajal, K. (2017). Metabolic Syndrome as a Risk Factor for Alzheimer's Disease: Is A $\beta$  a Crucial Factor in Both Pathologies?. *Antioxidants & redox signaling*, 26(10), 542–560. <https://doi.org/10.1089/ars.2016.6768>

Carvalho, C., Cardoso, S., Correia, S. C., Santos, R. X., Santos, M. S., Baldeiras, I., Oliveira, C. R., & Moreira, P. I. (2012). Metabolic alterations induced by sucrose intake and Alzheimer's disease promote similar brain mitochondrial abnormalities. *Diabetes*, 61(5), 1234–1242. <https://doi.org/10.2337/db11-1186>

Carvalho, C., Machado, N., Mota, P. C., Correia, S. C., Cardoso, S., Santos, R. X., Santos, M. S., Oliveira, C. R., & Moreira, P. I. (2013). Type 2 diabetic and Alzheimer's disease mice present similar behavioral, cognitive, and vascular anomalies. *Journal of Alzheimer's disease : JAD*, 35(3), 623–635. <https://doi.org/10.3233/JAD-130005>

Chen, Y. L., Wang, L. M., Chen, Y., Gao, J. Y., Marshall, C., Cai, Z. Y., Hu, G., & Xiao, M. (2016). Changes in astrocyte functional markers and  $\beta$ -amyloid metabolism-related proteins in the early stages of hypercholesterolemia. *Neuroscience*, 316, 178–191.

<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.12.039>

Cherbuin, N., Sachdev, P., & Anstey, K. J. (2012). Higher normal fasting plasma glucose is associated with hippocampal atrophy: The PATH Study. *Neurology*, 79(10), 1019–1026.

<https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e31826846de>

Cong, X., & Kong, W. (2020). Endothelial tight junctions and their regulatory signaling pathways in vascular homeostasis and disease. *Cellular signalling*, 66, 109485. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2019.109485>

De la Monte, S. M., & Tong, M. (2014). Brain metabolic dysfunction at the core of Alzheimer's disease. *Biochemical pharmacology*, 88(4), 548–559.

<https://doi.org/10.1016/j.bcp.2013.12.012>

De Oliveira, J., Moreira, E. L., dos Santos, D. B., Piermartiri, T. C., Dutra, R. C., Pinton, S., Tasca, C. I., Farina, M., Prediger, R. D., & de Bem, A. F. (2014). Increased susceptibility to amyloid- $\beta$ -induced neurotoxicity in mice lacking the low-density lipoprotein receptor. *Journal of Alzheimer's disease : JAD*, 41(1), 43–60.

<https://doi.org/10.3233/JAD-132228>

Erickson, M. A., & Banks, W. A. (2013). Blood-brain barrier dysfunction as a cause and consequence of Alzheimer's disease. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 33(10), 1500–1513. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2013.135>

Estrada RAE, Zomosa SVC. (2017);Papel de la agregación del péptido Beta amiloide en la enfermedad de Alzheimer. *Rev Educ Bioquímica*. 36(1):2-11.

Ferrer, J., & Vidal, N. (2017). Neuropathology of cerebrovascular diseases. *Handbook of clinical neurology*, 145, 79–114.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802395-2.00007-9>

Fettelschoss, A., Zabel, F., & Bachmann, M. F. (2014). Vaccination against Alzheimer disease: an update on future strategies. *Human vaccines & immunotherapeutics*, 10(4), 847–851. <https://doi.org/10.4161/hv.28183>

Fleegal-DeMotta, M. A., Doghu, S., & Banks, W. A. (2009). Angiotensin II modulates BBB permeability via activation of the AT(1) receptor in brain endothelial cells. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 29(3), 640–647.  
<https://doi.org/10.1038/jcbfm.2008.158>

Förstermann, U., Xia, N., & Li, H. (2017). Roles of Vascular Oxidative Stress and Nitric Oxide in the Pathogenesis of Atherosclerosis. *Circulation research*, 120(4), 713–735. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.309326>

Grandl, G., & Wolfrum, C. (2018). Hemostasis, endothelial stress, inflammation, and the metabolic syndrome. *Seminars in immunopathology*, 40(2), 215–224.  
<https://doi.org/10.1007/s00281-017-0666-5>

Greene, C., & Campbell, M. (2016). Tight junction modulation of the blood brain barrier: CNS delivery of small molecules. *Tissue barriers*, 4(1), e1138017.  
<https://doi.org/10.1080/21688370.2015.1138017>

Grundý S. M. (2016). Metabolic syndrome update. *Trends in cardiovascular medicine*, 26(4), 364–373. <https://doi.org/10.1016/j.tcm.2015.10.004>

Haseloff, R. F., Dithmer, S., Winkler, L., Wolburg, H., & Blasig, I. E. (2015). Transmembrane proteins of the tight junctions at the blood-brain barrier: structural and functional aspects. *Seminars in cell & developmental biology*, 38, 16–25. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2014.11.004>

Incalza, M. A., D'Oria, R., Natalicchio, A., Perrini, S., Laviola, L., & Giorgino, F. (2018). Oxidative stress and reactive oxygen species in endothelial dysfunction associated with cardiovascular and metabolic diseases. *Vascular pharmacology*, 100, 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2017.05.005>

Janelidze, S., Hertze, J., Nägga, K., Nilsson, K., Nilsson, C., Swedish BioFINDER Study Group, Wennström, M., van Westen, D., Blennow, K., Zetterberg, H., & Hansson, O. (2017). Increased blood-brain barrier permeability is associated with dementia and diabetes but not amyloid pathology or APOE genotype. *Neurobiology of aging*, 51, 104–112. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2016.11.017>

Janelidze, S., Hertze, J., Nägga, K., Nilsson, K., Nilsson, C., Swedish BioFINDER Study Group, Wennström, M., van Westen, D., Blennow, K., Zetterberg, H., & Hansson, O. (2017). Increased blood-brain barrier permeability is associated with dementia and diabetes but not amyloid pathology or APOE genotype. *Neurobiology of aging*, 51, 104–112. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2016.11.017>

Janelidze, S., Hertze, J., Nägga, K., Nilsson, K., Nilsson, C., Swedish BioFINDER Study Group, Wennström, M., van Westen, D., Blennow, K., Zetterberg, H., & Hansson, O. (2017). Increased blood-brain barrier permeability is associated with dementia and diabetes but not amyloid pathology or APOE genotype. *Neurobiology of aging*, 51, 104–112. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2016.11.017>

- Keaney, J., & Campbell, M. (2015). The dynamic blood-brain barrier. *The FEBS journal*, 282(21), 4067–4079. <https://doi.org/10.1111/febs.13412>
- Kook, S. Y., Seok Hong, H., Moon, M., & Mook-Jung, I. (2013). Disruption of blood-brain barrier in Alzheimer disease pathogenesis. *Tissue barriers*, 1(2), e23993. <https://doi.org/10.4161/tisb.23993>
- Kothari, V., Luo, Y., Tornabene, T., O'Neill, A. M., Greene, M. W., Geetha, T., & Babu, J. R. (2017). High fat diet induces brain insulin resistance and cognitive impairment in mice. *Biochimica et biophysica acta. Molecular basis of disease*, 1863(2), 499–508. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2016.10.006>
- Lemos, C., Rial, D., Gonçalves, F. Q., Pires, J., Silva, H. B., Matheus, F. C., da Silva, A. C., Marques, J. M., Rodrigues, R. J., Jarak, I., Prediger, R. D., Reis, F., Carvalho, R. A., Pereira, F. C., & Cunha, R. A. (2016). High sucrose consumption induces memory impairment in rats associated with electrophysiological modifications but not with metabolic changes in the hippocampus. *Neuroscience*, 315, 196–205. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.12.018>
- Lizarzaburu Robles, Juan Carlos. (2013). Síndrome metabólico: concepto y aplicación práctica. *Anales de la Facultad de Medicina*, 74(4), 315-320. Recuperado en 06 de julio de 2020, de [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1025-55832013000400009&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832013000400009&lng=es&tlng=es).
- Mordi, I., Mordi, N., Delles, C., & Tzemos, N. (2016). Endothelial dysfunction in human essential hypertension. *Journal of hypertension*, 34(8), 1464–1472. <https://doi.org/10.1097/HJH.0000000000000965>

Moreno-Fernández, S., Garcés-Rimón, M., Vera, G., Astier, J., Landrier, J. F., & Miguel, M. (2018). High Fat/High Glucose Diet Induces Metabolic Syndrome in an Experimental Rat Model. *Nutrients*, 10(10), 1502.

<https://doi.org/10.3390/nu10101502>

Norhammar, A., Tenerz, A., Nilsson, G., Hamsten, A., Efendíc, S., Rydén, L., & Malmberg, K. (2002). Glucose metabolism in patients with acute myocardial infarction and no previous diagnosis of diabetes mellitus: a prospective study. *Lancet (London, England)*, 359(9324), 2140–2144.

[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)09089-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)09089-X)

Ogata, S., Ito, S., Masuda, T., & Ohtsuki, S. (2019). Changes of Blood-Brain Barrier and Brain Parenchymal Protein Expression Levels of Mice under Different Insulin-Resistance Conditions Induced by High-Fat Diet. *Pharmaceutical research*, 36(10), 141. <https://doi.org/10.1007/s11095-019-2674-8>

[OMS. www.who.int](https://www.who.int)

Pal, K., Mukadam, N., Petersen, I., & Cooper, C. (2018). Mild cognitive impairment and progression to dementia in people with diabetes, prediabetes and metabolic syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Social psychiatry and psychiatric epidemiology*, 53(11), 1149–1160. <https://doi.org/10.1007/s00127-018-1581-3>

Papadopoulos, P., Tong, X. K., Imboden, H., & Hamel, E. (2017). Losartan improves cerebrovascular function in a mouse model of Alzheimer's disease with combined overproduction of amyloid- $\beta$  and transforming growth factor- $\beta$ 1. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 37(6), 1959–1970.

<https://doi.org/10.1177/0271678X16658489>

Pasquier, F., Boulogne, A., Leys, D., & Fontaine, P. (2006). Diabetes mellitus and dementia. *Diabetes & metabolism*, 32(5 Pt 1), 403–414.

[https://doi.org/10.1016/s1262-3636\(07\)70298-7](https://doi.org/10.1016/s1262-3636(07)70298-7)

Prasad, S., Sajja, R. K., Naik, P., & Cucullo, L. (2014). Diabetes Mellitus and Blood-Brain Barrier Dysfunction: An Overview. *Journal of pharmacovigilance*, 2(2), 125.

<https://doi.org/10.4172/2329-6887.1000125>

Rhea EM, Salameh TS, Logsdon AF, Hanson AJ, Erickson MA, Banks WA. Blood-Brain Barriers in Obesity. *AAPS J*. 2017;19(4):921-930. [https://doi:10.1208/s12248-](https://doi:10.1208/s12248-017-0079-3)

[017-0079-3](https://doi:10.1208/s12248-017-0079-3)

Romanitan, M. O., Popescu, B. O., Spulber, S., Băjenaru, O., Popescu, L. M., Winblad, B., & Bogdanovic, N. (2010). Altered expression of claudin family proteins in Alzheimer's disease and vascular dementia brains. *Journal of cellular and molecular medicine*, 14(5), 1088–1100. [https://doi.org/10.1111/j.1582-](https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2009.00999.x)

[4934.2009.00999.x](https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2009.00999.x)

Rtveladze, K., Marsh, T., Barquera, S., Sanchez Romero, L. M., Levy, D., Melendez, G., Webber, L., Kilpi, F., McPherson, K., & Brown, M. (2014). Obesity prevalence in Mexico: impact on health and economic burden. *Public health nutrition*, 17(1), 233–239. <https://doi.org/10.1017/S1368980013000086>

<https://doi.org/10.1017/S1368980013000086>

Samuel, V. T., & Shulman, G. I. (2012). Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links. *Cell*, 148(5), 852–871.

<https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.02.017>

Solfrizzi, V., Frisardi, V., Capurso, C., D'Introno, A., Colacicco, A. M., Vendemiale, G., Capurso, A., & Panza, F. (2010). Dietary fatty acids in dementia and predementia

syndromes: epidemiological evidence and possible underlying mechanisms. *Ageing research reviews*, 9(2), 184–199. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2009.07.005>

Stamatovic, S. M., Johnson, A. M., Sladojevic, N., Keep, R. F., & Andjelkovic, A. V. (2017). Endocytosis of tight junction proteins and the regulation of degradation and recycling. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1397(1), 54–65. <https://doi.org/10.1111/nyas.13346>

Stolarczyk E. (2017). Adipose tissue inflammation in obesity: a metabolic or immune response?. *Current opinion in pharmacology*, 37, 35–40. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2017.08.006>

Sun, F., Chen, L., Wei, P., Chai, M., Ding, X., Xu, L., & Luo, S. Z. (2017). Dimerization and Structural Stability of Amyloid Precursor Proteins Affected by the Membrane Microenvironments. *Journal of chemical information and modeling*, 57(6), 1375–1387. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.7b00196>

Taylor, M. K., Sullivan, D. K., Swerdlow, R. H., Vidoni, E. D., Morris, J. K., Mahnken, J. D., & Burns, J. M. (2017). A high-glycemic diet is associated with cerebral amyloid burden in cognitively normal older adults. *The American journal of clinical nutrition*, 106(6), 1463–1470. <https://doi.org/10.3945/ajcn.117.162263>

Treviño, S., Aguilar-Alonso, P., Flores Hernandez, J. A., Brambila, E., Guevara, J., Flores, G., Lopez-Lopez, G., Muñoz-Arenas, G., Morales-Medina, J. C., Toxqui, V., Venegas, B., & Diaz, A. (2015). A high calorie diet causes memory loss, metabolic syndrome and oxidative stress into hippocampus and temporal cortex of rats. *Synapse (New York, N.Y.)*, 69(9), 421–433. <https://doi.org/10.1002/syn.21832>

Treviño, S., Vázquez-Roque, R. A., López-López, G., Perez-Cruz, C., Moran, C., Handal-Silva, A., González-Vergara, E., Flores, G., Guevara, J., & Díaz, A. (2017).

Metabolic syndrome causes recognition impairments and reduced hippocampal neuronal plasticity in rats. *Journal of chemical neuroanatomy*, 82, 65–75.

<https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2017.02.007>

UNICEF. [www.unicef.org/mexico](http://www.unicef.org/mexico)

Van Itallie, C. M., & Anderson, J. M. (2018). Phosphorylation of tight junction transmembrane proteins: Many sites, much to do. *Tissue barriers*, 6(1), e1382671.

<https://doi.org/10.1080/21688370.2017.1382671>

Walker JM, Dixit S, Saulsberry AC, May JM, Harrison FE. Reversal of high fat diet-induced obesity improves glucose tolerance, inflammatory response,  $\beta$ -amyloid accumulation and cognitive decline in the APP/PSEN1 mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis*. 2017;100:87-98. doi:10.1016/j.nbd.2017.01.004

Wang, J., Li, G., Wang, Z., Zhang, X., Yao, L., Wang, F., Liu, S., Yin, J., Ling, E. A., Wang, L., & Hao, A. (2012). High glucose-induced expression of inflammatory cytokines and reactive oxygen species in cultured astrocytes. *Neuroscience*, 202, 58–68. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.11.062>

Winklewski, P. J., Radkowski, M., & Demkow, U. (2016). Neuroinflammatory mechanisms of hypertension: potential therapeutic implications. *Current opinion in nephrology and hypertension*, 25(5), 410–416.

<https://doi.org/10.1097/MNH.0000000000000250>

Yau, P. L., Castro, M. G., Tagani, A., Tsui, W. H., & Convit, A. (2012). Obesity and metabolic syndrome and functional and structural brain impairments in adolescence. *Pediatrics*, 130(4), e856–e864. <https://doi.org/10.1542/peds.2012-0324>

[0324](https://doi.org/10.1542/peds.2012-0324)

Zhang, D. D., Yu, H. L., Ma, W. W., Liu, Q. R., Han, J., Wang, H., & Xiao, R. (2015). 27-Hydroxycholesterol contributes to disruptive effects on learning and memory by modulating cholesterol metabolism in the rat brain. *Neuroscience*, 300, 163–173.

<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.05.022>

Zhao, X. S., Wu, Q., Peng, J., Pan, L. H., Ren, Z., Liu, H. T., Jiang, Z. S., Wang, G. X., Tang, Z. H., & Liu, L. S. (2017). Hyperlipidemia-induced apoptosis of hippocampal neurons in apoE(-/-) mice may be associated with increased PCSK9 expression. *Molecular medicine reports*, 15(2), 712–718.

<https://doi.org/10.3892/mmr.2016.6055>

Zlokovic B. V. (2011). Neurovascular pathways to neurodegeneration in Alzheimer's disease and other disorders. *Nature reviews. Neuroscience*, 12(12), 723–738.

<https://doi.org/10.1038/nrn3114>

### XIII. ANEXOS



**SAN DIEGO, CA**  
NOVEMBER 3-7



*Neuroscience 2018*  
*November 3 - 7*  
*San Diego, CA*

Please let this serve to certify that

***Carlos Aguilar-Gamas***

has attended Neuroscience 2018, the 48th Annual Meeting of the Society for Neuroscience at the San Diego Convention Center in San Diego, CA. The person listed above has participated in the presentation listed below:

Session Type: Poster

Session Title: Altered Energy Homeostasis in Alzheimer's Disease

Session Date/Time: 11/4/2018 1:00:00 PM

Presentation Number: 205.12

Presentation Title: Effect of the consumption of hypercaloric diets on the integrity of the blood-brain barrier in hippocampus of rats

The Society for Neuroscience (SfN) is a nonprofit membership organization of basic scientists and physicians who study the brain and nervous system. The Society's primary goal is to promote the exchange of information among researchers. For this purpose, SfN holds a prestigious annual meeting, attended by scientists and researchers from around the globe. It is considered the most important annual forum for the neuroscience research community, offering attendees the opportunity to learn about the latest advances in brain research and to meet and network with their colleagues at top destinations throughout the United States.

Sincerely,

Kyle Hayden, CMP  
Director, Meeting Programs and Attendee Services  
Society for Neuroscience

Date: November 5, 2018



CHICAGO, IL  
OCTOBER 19-23



1969-2019



*Neuroscience 2019*  
*October 19 - 23*  
*Chicago, IL*

Please let this serve to certify that

***Carlos Aguilar-Gamas***

has attended Neuroscience 2019, the 49th Annual Meeting of the Society for Neuroscience at McCormick Place in Chicago, IL. The person listed above has participated in the presentation listed below:

Session Type: Poster

Session Title: Neurotoxicity, Inflammation, and Neuroprotection: Preclinical Studies II

Session Date/Time: 10/21/2019 13:00

Presentation Number: 389.17

Presentation Title: Effect of metabolic syndrome on the clearance of amyloid beta peptide through the blood brain barrier and neuroinflammation in rat hippocampus

The Society for Neuroscience (SfN) is a nonprofit membership organization of basic scientists and physicians who study the brain and nervous system. The Society's primary goal is to promote the exchange of information among researchers. For this purpose, SfN holds a prestigious annual meeting, attended by scientists and researchers from around the globe. It is considered the most important annual forum for the neuroscience research community, offering attendees the opportunity to learn about the latest advances in brain research and to meet and network with their colleagues at top destinations throughout the United States.

Sincerely,

Kyle Hayden, CMP  
Director, Meeting Programs and Attendee Services  
Society for Neuroscience

**Date:** October 23, 2019

## Track your recent Co-Authored submission to NSL



Recibidos x

Neuroscience Letters <eesserver@eesmail.elsevier.co... vie., 6 mar. 10:06 (hace 7 días)  
para mí



inglés > español Traducir mensaje

Desactivar para: inglés x

\*\*\* Automated email sent by the system \*\*\*

Dear Dr. Carlos Aguilar-Gamas,

You have been listed as a Co-Author of the following submission:

Journal: Neuroscience Letters

Title: METABOLIC SYNDROME AND OBESITY INDUCED BY TWO HYPERCALORIC DIETS AFFECT DIFFERENTIALLY AMYLOID BETA ACCUMULATION ASSOCIATED WITH BLOOD-BRAIN BARRIER PERMEATION AND COGNITIVE IMPAIRMENT

Corresponding Author: NANCY GOMEZ-CRISOSTOMO

Co-Authors: Carlos F Aguilar-Gamas, Bachelor; Eduardo Martínez-Abundis, PhD; Erick N De La Cruz-Hernández, PhD; Maria F Hernández-Landero, Bachelor.

To be kept informed of the status of your submission, register or log in (if you already have an Elsevier profile).

Register here: <https://ees.elsevier.com/nsi/default.asp?acw=&pg=preRegistration.asp&user=coauthor&fname=Carlos&lname=Aguilar-Gamas&email=carlosgamas246@gmail.com>

Or log in: <https://ees.elsevier.com/nsi/default.asp?acw=&pg=login.asp&email=carlosgamas246@gmail.com>

If you did not co-author this submission, please do not follow the above link but instead contact the Corresponding Author of this submission at [gomezcrisostomo@yahoo.com.mx](mailto:gomezcrisostomo@yahoo.com.mx), [nancy.gomez@ujat.mx](mailto:nancy.gomez@ujat.mx).

Thank you,

Neuroscience Letters