



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

POSGRADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICAS

ÁREA: BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR

“Evaluación de la dinámica funcional de la barrera hematoencefálica del sistema cortico-límbico de rata macho Wistar con síndrome metabólico temprano y tardío”

TESIS

presentada para obtener el grado de
MAESTRA EN CIENCIAS QUÍMICAS

PRESENTA

L.N.C. Haisha Cortés Carrasco

Director de tesis:

D.C. Samuel Treviño Mora

Puebla, Pue., diciembre 2024

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mis padres, por su apoyo incondicional, por darme la formación que ha contribuido a forjar lo que soy hoy en día. A pesar de lo duro que fue, y de lo mucho que hemos pasado, todos los días los llevo en mi mente y mi corazón.

A mi director, el Dr. Samuel Treviño. Mi jefe, mi jefecito, el que apostó por mí. Gracias por todo, gracias por apoyarme, por llorar conmigo cuando era necesario y escucharme, aunque no pudiera hablar, y por no perder la fe en mí. Como en una vez anterior, nunca me dejó caer; le doy las gracias infinitas por ello.

A los integrantes de mi comisión revisora, al D.C Alfonso Díaz Fonseca, D.C. Rubén Vázquez Roque, D.C. Eduardo Miguel Brambila Colombres y D.C. Antony Boucard, por su valioso tiempo dedicado a la revisión de mi tesis, por sus contribuciones y comentarios. ¡Muchas gracias!

A Mary, gracias por ser mi amiga, por escucharme y aconsejarme cuando cuidábamos nuestras ratitas (y cuando reparaba mi corazón).

A David. Morrito, mi oaxaco favorito, el más inteligente. Nunca voy a olvidar todo lo que hicimos. Muchísimas gracias por todo tu apoyo, por escucharme, por ayudarme, por enseñarme. Eres grande Davicito.

A Fátima. Pequeña, muchísimas gracias. Gracias por todo tu apoyo, tanto en laboratorio como apoyo moral y emocional. Te llevo en el corazón.

A Carlos, quien me donó material para practicar cuando nadie más lo hizo y me enseñó que yo también podía hacer una cirugía en 15 minutos. Muchísimas gracias amigo.

A Hugo. Amigo, lo logré, al fin lo logré. Aunque tal vez ya no estés a mi lado, no como antes, muchas gracias por creer en mí. Buen viaje. A Ivan, Dani y Getse. Gracias por apoyarme en el tiempo que lo hicieron. Gracias por enseñarme. Buen viaje a los tres.

A los chicos de cocina del Grand Fiesta: Sandra, Lalo, Sam, Hilario, Jaky... Chef Iván, Chef Manu. Por escuchar el “Tengo que llegar a escribir la tesis” durante meses, y darme apoyo moral. Y por el inolvidable: “Suerte Hai, aunque no la necesitas. Porque tú eres buena”.

ÍNDICE GENERAL

ABREVIATURAS.....	6
ÍNDICE DE TABLAS.....	8
ÍNDICE DE FIGURAS.....	9
RESUMEN.....	10
1. INTRODUCCIÓN.....	12
1.1 Síndrome metabólico.....	12
1.2 Características del síndrome metabólico.....	12
1.3 Complicaciones del síndrome metabólico.....	13
1.4 El endotelio.....	14
1.4.1 Tipos de vasos sanguíneos.....	15
1.4.2 Composición general del endotelio.....	16
1.5 La barrera hematoencefálica.....	17
1.5.1 Composición de la unidad neurovascular.....	17
1.5.1.1 La célula endotelial.....	19
1.5.1.2 La matriz extracelular.....	19
1.5.1.3 Proteínas de unión estrecha.....	20
1.5.1.4 Células murales.....	21
1.5.1.4.1 Células de músculo liso vascular y pericitos...	21
1.5.1.4.2 Astrocitos.....	22
1.6 Regulación del transporte a través de la barrera.....	23
1.7 Vascularización cerebral.....	24
1.7.1 Hipocampo.....	25
1.7.2 Corteza frontal.....	26
1.7.3 Amígdala cerebral.....	27
1.8 Vulnerabilidad vascular en la neurodegeneración.....	27
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	29
3. JUSTIFICACIÓN.....	30

4. HIPÓTESIS.....	32
5. OBJETIVOS.....	32
5.1 Objetivo general.....	32
5.2 Objetivos específicos.....	32
6. DIAGRAMA DE TRABAJO.....	33
7. METODOLOGÍA.....	34
7.1 Animales.....	36
7.2 Conformación de grupos.....	36
7.3 Evaluación zoométrica	36
7.4 Ingesta calórica.....	36
7.5 Evaluación bioquímica.....	35
7.5.1 Ensayos séricos.....	35
7.5.2 Modelos matemáticos de resistencia a la insulina.....	35
7.5.2.1 HOMA-IR.....	35
7.5.2.2 Matsuda DeFronzo.....	35
7.5.2.3 Índice de resistencia a la insulina endotelial.....	35
7.6 Evaluación de la tensión arterial.....	35
7.7 Ensayo de Azul de Evans.....	36
7.7.1 Análisis espectrofotométrico.....	36
7.7.2 Análisis histológico por Azul de Evans.....	36
7.8 Inmunofluorescencia.....	37
7.9 Análisis estadístico.....	37
8. RESULTADOS.....	38
8.1 Evaluación zoométrica e ingesta calórica.....	38
8.2 Evaluación bioquímica.....	39
8.3 Evaluación de la tensión arterial.....	41
8.4 Análisis espectrofotométrico por Azul de Evans	42
8.5 Análisis histológico por Azul de Evans.....	42

8.6 Inmunorreactividad a Syndecano-1.....	44
8.7 Inmunorreactividad a Caveolina-1.....	46
8.8 Inmunorreactividad a Endotelina-1.....	48
8.9 Inmunorreactividad a Claudina-5.....	49
8.10 Inmunorreactividad a ZO-1.....	50
8.11 Inmunorreactividad a α -SMA.....	52
9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	54
10. CONCLUSIONES.....	69
11. PERSPECTIVAS.....	70
12. BIBLIOGRAFÍA.....	71

ABREVIATURAS

ABREVIATURA	NOMBRE COMPLETO
AC	Astrocito
AGE	Productos finales de glicación avanzada
AGL	Ácidos grasos libres
AMG	Amígdala cerebral
Ang-II	Angiotensina-II
AQP4	Canal de agua acuaporina 4
BHE	Barrera hematoencefálica
CE	Célula endotelial
Cld-5	Claudina-5
CML	Células de músculo liso
CMT	Transporte mediado por transportadores
CPF	Corteza prefrontal
EGFR	Receptor del factor de crecimiento epidérmico
eNOS	Óxido nítrico sintasa endotelial
ENSANUT	Encuesta Nacional de Nutrición y Salud
ET-1	Endotelina-1
FFA	Ácidos grasos libres
GAPDH	Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa
GD	Giro Dentado
GFAP	Proteína ácida fibrilar glial
HC	Hipercalórico
IDE	Ingesta diaria de energía
IMC	Índice de masa corporal
Kir4.1	Canal de potasio rectificador de entrada 4.1
LCR	Líquido cefalorraquídeo
LDL	Lipoproteína de baja densidad
LRP	Receptor de lipoproteína de baja densidad
MAPK	Proteína quinasa activada por mitógenos
MEC	Matriz extracelular
NC	Normocalórico
NG2	Antígeno neural/glial 2
NO	Óxido nítrico
NVU	Unidad neurovascular
PC	Pericito
PDGFR- β	receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas
RAGE	Receptor de AGE
RI	
RMT	Transporte mediado por receptores

ROS	Especies reactivas de oxígeno
SMA	Actina de músculo liso
SEM	Error estándar de la media
SMet	Síndrome metabólico
SNC	Sistema nervioso central
TOG	Curva de tolerancia oral a la glucosa
TRPV4	Vanilloide tipo 4 TRP
VEGF	Factor de crecimiento vascular endotelial
Vim	Vimentina
ZO	Zónula occludens

ÍNDICE DE TABLAS

NÚMERO DE TABLA	TÍTULO
Tabla 1	<i>Patrón de suministro vascular como factor predictivo de la vulnerabilidad de diversas regiones cerebrales</i>
Tabla 2	<i>Parámetros metabólicos</i>

ÍNDICE DE FIGURAS

NÚMERO DE FIGURA	TÍTULO
Figura 1	<i>Composición general de los vasos sanguíneos</i>
Figura 2	<i>Componentes de la unidad neurovascular</i>
Figura 3	<i>Composición de la vasculatura cerebral</i>
Figura 4	<i>Regiones que constituyen el hipocampo</i>
Figura 5	<i>Parámetros zoométricos e ingesta calórica</i>
Figura 6	<i>Evaluación de la tensión arterial</i>
Figura 7	<i>Cuantificación de Azul de Evans en el tejido</i>
Figura 8	<i>Análisis histológico de Azul de Evans en el tejido</i>
Figura 9	<i>Inmunorreactividad del tejido a Syndecano-1</i>
Figura 10	<i>Inmunorreactividad del tejido a Caveolina-1</i>
Figura 11	<i>Inmunorreactividad del tejido a Endotelina-1</i>
Figura 12	<i>Inmunorreactividad del tejido a Claudina-5</i>
Figura 13	<i>Inmunorreactividad del tejido a ZO-1</i>
Figura 14	<i>Inmunorreactividad del tejido a α-SMA</i>

RESUMEN

El síndrome metabólico) es una entidad patológica que se define como un conjunto de disregulaciones metabólicas y neurohormonales que alteran a la homeostasis de carbohidratos y lípidos, y que comprenden la resistencia a la insulina, dislipidemia aterogénica, obesidad central e hipertensión arterial. Su incidencia se ha incrementado progresivamente con el paso de los años y tanto la enfermedad como sus componentes suponen importantes riesgos a la salud de la población. En los últimos años se ha hecho hincapié en la asociación presente entre el síndrome metabólico y los trastornos neurodegenerativos como la enfermedad de Alzheimer, que dentro de su fisiopatología presenta características distintivas como la neuroinflamación, activación de la microglía y alteraciones de la memoria, rasgos que también se encuentran presentes en el síndrome metabólico. No obstante, de entre todos los componentes celulares involucrados, la barrera hematoencefálica surge como un punto de partida para la comprensión del surgimiento de las alteraciones que conllevan al daño neuronal en los trastornos metabólico-neurodegenerativos. El objetivo de este trabajo fue evaluar cuál era el impacto del SMet sobre la dinámica funcional de la BHE del sistema cortico-límbico de la rata Wistar macho, en etapas tempranas y tardías. Para esto, se utilizaron 60 ratas macho de la cepa Wistar que se dividieron aleatoriamente en 4 grupos: control normocalórico de 3 meses, control normocalórico de 6 meses, grupo hipercalórico de 3 meses y grupo hipercalórico de 6 meses. Se realizaron mediciones de ingesta calórica y de macronutrientes, así como mediciones de zoometría durante todo el periodo de evaluación. Se realizaron en suero análisis bioquímicos y mediciones de la tensión arterial previo a la eutanasia. En hipocampo, corteza prefrontal y amígdala cerebral se analizó de manera macroscópica la alteración de la permeabilidad de la barrera hematoencefálica mediante la prueba de Azul de Evans, y se realizaron cortes histológicos para identificar cambios en las proteínas asociadas a la función de barrera (syndecano-1, caveolina-1, endotelina-1, ZO-1, claudina-5 y α -SMA). Los resultados mostraron que una dieta alta en carbohidratos alteró la permeabilidad de la BHE en hipocampo y corteza a los 3 meses, y en todas las regiones a los 6 meses, dando indicios de angiogénesis aberrante. A los 3 meses, los componentes de matriz extracelular y membrana, el syndecano-1 y la caveolina-1, se incrementaron en las regiones CA1 y giro dentado. Las proteínas de unión estrecha (ZO-1 y claudina-5) mostraron patrones de comportamiento particulares, con disminución de ZO-1 en todas las regiones a los 3 meses, y posterior disminución de claudina-5 a los 6 meses. La endotelina-1 mostró incrementos en la reactividad del endotelio al verse incrementada desde los 3 meses hasta el último tiempo de corte, mientras que la reactividad del pericito con α -SMA mostró disminuciones desde los 3 meses hasta los 6 meses en todas las regiones evaluadas. En conclusión, una dieta alta en calorías y carbohidratos incrementa de manera

significativa la permeabilidad de la barrera hematoencefálica en las regiones del hipocampo, corteza prefrontal y amígdala cerebral, afectando la expresión de elementos sensores del glicocáliz como el syndecano-1, la expresión de ZO-1 y Claudina-5, y la transcitosis asociada a caveola, derivando en procesos de vasoconstricción asociados a insulinoresistencia endotelial mediada por ET-1, asociada a una pérdida de la vasoconstricción mediada por pericitos. Todas estas alteraciones exhiben dinámicas particulares dependiendo del tipo de vascularización subregionalizada.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Síndrome metabólico

El síndrome metabólico (SMet) es una entidad patológica que se define como un conjunto de desregulaciones metabólicas y neurohormonales que alteran a la homeostasis de carbohidratos y lípidos. El Smet es caracterizado por la presencia de anomalías que comprenden la resistencia a la insulina, dislipidemia aterogénica, obesidad central e hipertensión arterial (Fahed et al., 2022), y cuyos denominadores comunes son la inflamación crónica de bajo grado y la activación del sistema inmune (Maiuolo et al., 2021).

La incidencia global del SMet es muy alta y se ha incrementado progresivamente con el paso de los años, por lo que cifras actuales estiman que su prevalencia es de aproximadamente mil millones de personas en todo el mundo, casi una cuarta parte de la población mundial, afectando tanto a hombres y mujeres adultos y adultos mayores. Las asociaciones del SMet y sus componentes con diversas enfermedades suponen importantes riesgos para la salud, la economía y la mortalidad (Treviño et al., 2017; Maiuolo et al., 2021; Zhang et al., 2024).

1.2 Características y fisiopatología del síndrome metabólico

La fisiopatología del SMet involucra mecanismos complejos en los que intervienen diversos factores:

- **Genéticos:** las variables genéticas son responsables del 60% de la alteración en el índice de masa corporal (IMC). Hasta la fecha, se ha descubierto que más de 30 genes distintos tienen una influencia significativa en su patogénesis; sin embargo, solo el 10% de la población se ve afectada por estas alteraciones genéticas, lo que conduce a la obesidad.

- **Ambientales:** el *estilo de vida* tiene un papel importante en la progresión de numerosos factores de riesgo del SMet, así como el cambio de algunos hábitos podría reducir la prevalencia de esta enfermedad. Las personas con SMet suelen tener sobrepeso y un comportamiento sedentario; no obstante, la dieta occidental basada en una alta ingesta de calorías en forma de azúcares refinados y grasas saturadas contribuye significativamente a los cambios observados sobre la composición corporal y el metabolismo (Maiuolo et al., 2021; Fahed et al., 2022).

El aspecto crucial de la fisiopatología del SMet recae sobre la capacidad de movilización y almacenamiento de lípidos del tejido adiposo. La liberación de adipocinas como mediadores que regulan diversas cascadas de señalización están asociadas con la inflamación, así como con un incremento significativo del flujo de ácidos grasos libres (FFA) hacia la vena porta, aumento en la producción de glucosa, triglicéridos y lipoproteínas de baja densidad (LDL). La presencia de FFA contribuye a la disminución de sensibilidad muscular a la insulina, impidiendo la utilización de glucosa; la hiperglucemia conduce a un incremento de la secreción de insulina pancreática (hiperinsulinemia), lo que aunado a la presencia de FFA alimenta la resistencia a la insulina. Además, recientemente se ha puesto en evidencia que una mayor liberación de interleucinas inflamatorias exacerba este proceso.

1.3 Complicaciones del Síndrome Metabólico

Debido a la naturaleza tan compleja de su fisiopatología, el SMet se encuentra asociado con la aparición de diversas enfermedades crónico-degenerativas, como la diabetes tipo 2 y las enfermedades cardiovasculares. Sin embargo, en los últimos años, la vinculación entre la disfunción metabólica y el desarrollo de trastornos neurológicos ha tomado mayor relevancia, ya que se ha observado que el SMet puede favorecer el deterioro cognitivo y la degeneración neuronal (Treviño et al., 2017; Gizem & Abdullah, 2018).

Existen diversos factores propios del SMet que se han asociado directamente con la enfermedad de Alzheimer, de Parkinson y de Huntington, como el exceso de peso corporal, la hiperglucemia y las alteraciones en la señalización de la insulina (Gizem & Abdullah, 2018). Sin embargo, el deterioro de la función vascular fisiológica juega un papel fundamental en la patogenia de todos estos trastornos (Marzoog, 2022). Cada uno de los componentes del SMet tiene el potencial de afectar el endotelio para alterar y comprometer su funcionamiento. A nivel periférico, en la disfunción vascular se producen una variedad de cambios dinámicos que afectan los procesos de contracción y relajación, con la activación de vías proinflamatorias y de estrés oxidativo que favorecen el crecimiento y la remodelación vascular (Tran et al., 2020).

Por otro lado, a nivel del sistema nervioso central (SNC), las alteraciones vasculares comprometen el suministro de nutrientes y metabolitos, conllevando a una disponibilidad inadecuada de glucosa en el cerebro, así como una pérdida de la fluidez de la membrana y déficits a nivel de receptores y transportadores, derivando en la aparición de la neurodegeneración (Noe et al., 2020).

1.4 El endotelio

El endotelio, una monocapa de células endoteliales, constituye el revestimiento celular interno de los vasos sanguíneos (arterias, venas y capilares) y del sistema linfático, y por lo tanto está en contacto directo con la sangre/linfa y las células parenquimatosas de cada tejido. En un principio se consideraba que esta monocapa era una mera barrera de difusión que impedía el acceso de las células sanguíneas a la matriz vascular, pero ahora se reconoce que es un actor predominante en el control de la fluidez sanguínea, la agregación plaquetaria y el tono vascular. Además, se reconoce como actor principal en la regulación de la inmunología, la inflamación y la angiogénesis, y un órgano metabolizador y endocrino (Tran et al., 2020).

1.4.1 Tipos de vasos sanguíneos

El sistema vascular periférico está constituido por todos los vasos sanguíneos que existen fuera del corazón. Los vasos sanguíneos que integran este sistema se clasifican en tres grandes rubros:

- *Arteriolas y arterias*: las arterias desempeñan un papel importante en la nutrición de los órganos. Siempre se encuentran bajo alta presión, por lo que, para soportar dicha tensión, tienen una abundancia de tejido elástico y menos músculo liso. La presencia de elastina en los grandes vasos sanguíneos permite que estos aumenten de tamaño y modifiquen su diámetro. Cuando una arteria llega a un órgano en particular, sufre una nueva división en vasos más pequeños que tienen más músculo liso y menos tejido elástico. A medida que el diámetro de los vasos sanguíneos disminuye, la velocidad del flujo sanguíneo también disminuye.
- *Capilares*: son vasos de paredes delgadas compuestos por una sola capa endotelial. Debido a las paredes delgadas del capilar, el intercambio de nutrientes y metabolitos se produce principalmente por difusión. El lumen arteriolar regula el flujo de sangre a través de los capilares.
- *Vénulas y venas*: Las vénulas son las venas más pequeñas y reciben sangre de los capilares. También desempeñan un papel en el intercambio de oxígeno y nutrientes por productos acuosos. Tienen paredes muy delgadas propensas a romperse fácilmente si tiene un volumen excesivo. La sangre fluye desde las vénulas hacia venas más grandes. Al igual que el sistema arterial, las paredes de las venas están formadas por tres capas, pero a diferencia de las arterias, la presión venosa es baja. Las venas tienen paredes delgadas y son menos elásticas. Esta característica permite que las venas contengan un porcentaje muy alto de la sangre en circulación.

La función y la estructura de cada segmento del sistema vascular periférico varían según el órgano al que irriga.

1.4.2 Composición general de los vasos sanguíneos

A excepción de los capilares, los vasos sanguíneos se encuentran formados por tres capas principales (Figura 1):

- La adventicia o capa externa que proporciona soporte estructural y forma al vaso.
- La túnica media o capa intermedia compuesta de tejido elástico y muscular que regula el diámetro interno del vaso.
- La túnica íntima o capa interna que consiste en un revestimiento endotelial que proporciona una vía sin fricción para el movimiento de la sangre.

Dentro de cada capa, la cantidad de músculo y fibrillas de colágeno varía, dependiendo del tamaño y la ubicación del vaso, dando lugar a estructuras con diversos grados de especialización, como la barrera hematoencefálica (BHE).

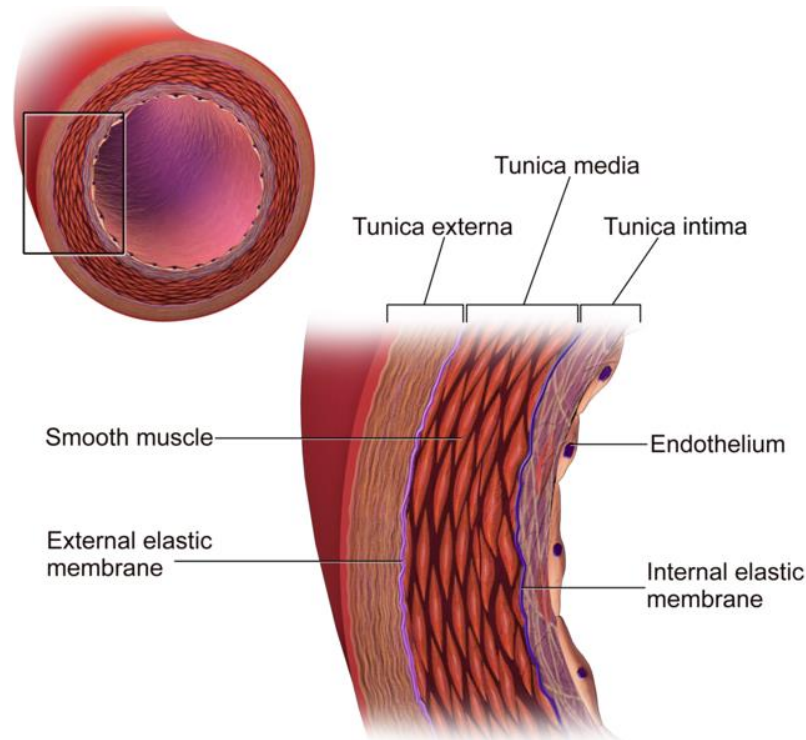


Figura 1. Composición general de los vasos sanguíneos (Tomado y modificado de Hamilton et al., 2010)

1.5. La barrera hematoencefálica

La BHE, es un sistema dinámico, semipermeable y extremadamente selectivo presente en la microvasculatura cerebral que separa el torrente sanguíneo del parénquima del sistema nervioso central (SNC). Forma una interfaz dinámica que regula la homeostasis cerebral al controlar el transporte de moléculas dentro y fuera del SNC, evitando que las células sanguíneas, los componentes del plasma y los patógenos ingresen al cerebro, respondiendo a las condiciones fisiológicas y patológicas (Alahmari, 2021).

1.5.1 Composición de la unidad neurovascular

El correcto funcionamiento de la BHE está regulado mediante la comunicación entre los componentes de un sistema conocido como la unidad neurovascular (NVU) (Figura 2), la cual es un complejo funcional crítico que contempla células endoteliales (CE), pericitos (PC), astrocitos (AC) y una matriz extracelular (MEC) específica, además de algunas neuronas (Xiao et al., 2020).

Desde el punto de vista tanto de la supervivencia celular como del metabolismo, la NVU es fundamental para la salud del SNC y su disfunción puede exacerbar o incluso iniciar enfermedades neurológicas. Para mantener la homeostasis del SNC y satisfacer las demandas metabólicas fluctuantes del tejido cerebral, los componentes de la NVU tienen propiedades funcionales que varían según la región cerebral y la zona vascular. Aunque la NVU está presente en todo el árbol vascular, se destaca la NVU capilar, ya que es donde se produce el intercambio de nutrientes y se manifiestan las propiedades más específicas de la BHE.

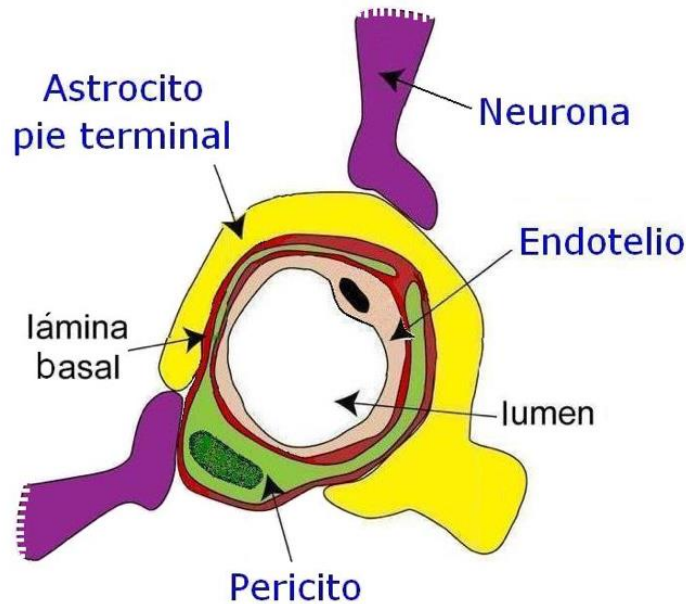


Figura 2. Componentes de la unidad neurovascular (Tomado y modificado de Hamilton et al., 2010)

El sustrato anatómico principal de la NVU son las EC que dan lugar a la red vascular que irriga el tejido cerebral, las cuales se encuentran unidas entre sí mediante uniones estrechas (Kadry et al., 2020). La composición de las células murales que acompañan a esta red se modifica con relación a los diferentes tipos de vasos sanguíneos que recorren el SNC (Figura 3).

En las arterias y arteriolas, las células endoteliales arteriales se encuentran rodeadas por células de músculo liso (CML), que pueden favorecer la constricción y dilatación de los vasos para controlar el flujo sanguíneo que se dirige hacia la red de capilares. Por otro lado, los capilares, que constituyen el 85% de la vasculatura total del cerebro, se encuentran formados por células endoteliales capilares rodeadas por pericitos, un tipo de células murales relacionadas, pero funcionalmente diferentes a las CML, que a su vez contactan con los pies terminales de los astrocitos en la red capilar adulta. Finalmente, la sangre de los capilares drena hacia las vénulas y venas, que constituyen la menor cantidad de vasos sanguíneos de esta red, y sus células endoteliales se encuentran rodeadas de CML que difieren molecularmente de las arteriales (Kaplan et al., 2020; Sweeney et al., 2018).

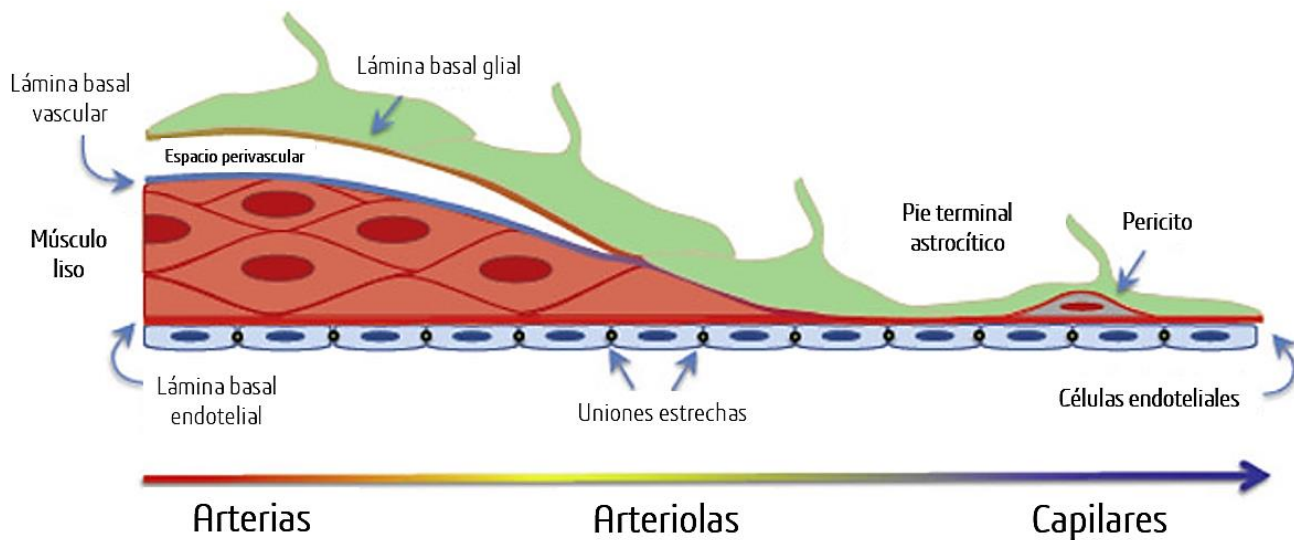


Figura 3. Composición de la vasculatura cerebral (Tomado y modificado de Zlokovic et al., 2016).

1.5.1.1 La célula endotelial

Las EC que conforman la NVU difieren de las del endotelio de otras zonas del cuerpo desde su morfología aplanada, la cual se encuentra cubierta por un estrato de polímeros denominado glicocalix que se extiende sobre la superficie vascular. Generalmente son delgadas y ligeramente alargadas, su dimensión es de aproximadamente 50–70 μm de largo, 10–30 μm de ancho y 0,1–10 μm de espesor. En la pared de los vasos sanguíneos, las células endoteliales están orientadas a lo largo del eje del vaso, minimizando las fuerzas de esfuerzo cortante ejercidas por la sangre que fluye. Estos datos morfológicos indican que las células endoteliales son un sitio privilegiado para el intercambio y la transferencia. Sin embargo, las células endoteliales vasculares no son todas iguales y se producen importantes variaciones morfológicas, fisiológicas y fenotípicas entre ellas y en las diferentes partes del árbol arterial, así como entre arterias y venas.

1.5.1.2 La matriz extracelular

La primera barrera de contacto entre la sangre y las EC es una compleja estructura de glicocalix que comprende una capa de proteoglicanos (con núcleos proteicos de syndecan-1 y glypican-1) y glicoproteínas (moléculas de adhesión) como

selectinas (selectina E y P), integrinas e inmunoglobulinas (como ICAM-1, ICAM-2, VCAM-1 y PECAM-1, cuya expresión es baja) (Kadry et al., 2020; Jin et al., 2021). La característica de barrera de esta estructura se deriva de la carga negativa conferida por las proteínas presentes dentro del glicocalix, las cuales ejercen un efecto de repulsión para los componentes celulares sanguíneos, como los glóbulos blancos, y moléculas de gran tamaño.

La ultraestructura de la MEC que permite a las células endoteliales interactuar con su entorno directo a través de la señalización consiste, en primer lugar, en colágeno tipo IV y las lamininas, que se autoensamblan para formar redes independientes que confieren estabilidad estructural y actividad biológica. Éstas dos redes están conectadas por perlecanos y nidógenos. Los proteoglicanos y glicosaminoglicanos unidos a la membrana contribuyen a la unión y secuestro de factores de crecimiento y morfógenos con sus receptores de superficie (Witjas et al., 2019).

1.5.1.3 Proteínas de unión estrecha

Tras la primera barrera establecida por el glicocáliz, las diferentes interacciones que establecen las EC entre sí, limitan la permeabilidad vascular hacia el cerebro. Las uniones estrechas son complejos de adhesión intercelular en los epitelios y endotelios que controlan la permeabilidad paracelular. Esta barrera de difusión es semipermeable: es selectiva en cuanto a tamaño y carga. Tanto las uniones estrechas entre las EC (las cuales consisten en tres proteínas integrales de membrana: claudina, ocludina, proteínas de unión estrecha o JAM, y proteínas accesorias como zonula occludens o ZO), como las uniones adherentes (compuestas por complejos cadherina-catenina) favorecen la comunicación célula-célula y evitan la libre difusión de moléculas de forma paracelular (Yu et al., 2020; Zihni et al., 2016).

Las uniones estrechas son un componente integral de los mecanismos de señalización conservados evolutivamente que controlan la polarización de las células endoteliales y la formación de dominios apicales morfológica y funcionalmente

distintos. Dan lugar a las plataformas de señalización bidireccional que reciben señales del interior de la célula, que regulan su ensamblaje y función, y que transducen señales para controlar la proliferación, migración, diferenciación y supervivencia celular (Zihni et al., 2016).

1.5.1.4 Células murales

Como se ha mencionado, los vasos sanguíneos están revestidos por una monocapa de CE que se encuentran rodeadas de células murales que se comunican a través de vías de señalización y contacto directo entre células para regular la función y el desarrollo de los vasos. Las células murales contribuyen al correcto mantenimiento de la microcirculación cerebral, desde el mantenimiento de las uniones estrechas como el control del movimiento de sustancias (Brown et al., 2019; Yu et al., 2020).

Se pueden subdividir de la siguiente manera: células musculares lisas vasculares (CMLV) y pericitos, que se caracterizan por diferencias en la morfología, la ubicación y la densidad celular; y células de la glía (astrocitos). Las CMLV se encuentran con mayor frecuencia en vasos más grandes, como arterias y venas, mientras que los pericitos se encuentran en la microvasculatura y los capilares. Los astrocitos se encuentran rodeando la superficie capilar con sus pies terminales, enviando y recibiendo señales desde el interior del parénquima hacia el exterior, y viceversa.

1.5.1.4.1. Células de músculo liso vascular y pericitos

Aunque no existe un único marcador específico para los pericitos, se utilizan varios marcadores de superficie para identificarlos, en concreto el receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR)- β , el antígeno neural/glial 2 (NG2) y el CD13, así como proteínas del citoesqueleto como la actina de músculo liso α (α -SMA), la desmina y la calponina. Los pericitos desempeñan un papel crucial en el desarrollo de los vasos sanguíneos, donde las células endoteliales los reclutan a través

de factores como el PDGF-BB para estabilizar los brotes angiogénicos e inducir la diferenciación de las células endoteliales. La alteración de las interacciones entre pericitos y células endoteliales puede provocar una alteración de la función vascular y se asocia a numerosas patologías, como la disfunción de la BHE (Warren & Gerecht, 2023).

Los vasos sanguíneos son estructuralmente dinámicos y pueden remodelarse para compensar la pérdida de pericitos cercanos o la cobertura de las EC. Particularmente, los pericitos, dependiendo de su ubicación, pueden ejercer diferentes funciones de regulación. Aquellos PC asociados a arteriolas y capilares pueden actuar como esfínteres precapilares, mostrando respuestas contráctiles más débiles que las CMLV; no obstante, esta característica les permite regular el flujo sanguíneo. Por otro lado, los que se encuentran asociados a los capilares medios intervienen en el mantenimiento y estabilidad de las EC. Adicionalmente, ajustan la polarización de las puntas de los AC a lo largo de la pared capilar (McConnell & Mishra, 2022; Yu et al., 2020).

1.5.1.4.2. Astrocitos

Los AC son las células gliales más abundantes en el SNC y se comunican con las EC a través de sus pies terminales, contactando directamente con la lámina basal, estabilizando la interfase entre el compartimento vascular y la neuroglía, y modulando el transporte molecular y el flujo sanguíneo gracias a la densidad de transportadores presentes en la zona de contacto, como el transportador de glucosa GLUT1, el canal de potasio rectificador de entrada 4.1 (Kir4.1), el canal de agua acuaporina 4 (AQP4) y el vanilloide tipo 4 TRP (TRPV4) (Kadry et al., 2020; Benarroch, 2016).

Los astrocitos son una de las últimas células en generarse, y curiosamente, tanto los astrocitos de la materia blanca como los de la materia gris se forman en paralelo con el crecimiento de la vasculatura; estos patrones de crecimiento están tan interconectados que se han descrito como "inseparables" entre sí. Se especula que los astrocitos continúan proliferando y cubriendo la vasculatura con sus patas terminales

al ritmo del cerebro en expansión. La formación de esta interfaz gliovascular se correlaciona con la expresión de muchas proteínas que caracterizan a los astrocitos maduros y parece impulsar su polarización (Stackhouse & Mishra, 2021).

Morfológicamente, los AC se identifican por su forma estrellada y se distinguen por la expresión de los filamentos intermedios vimentina (Vim) y la proteína ácida fibrilar glial (GFAP). Existen dos fenotipos de astrocitos reactivos significativamente diferentes: A1 y A2. Los astrocitos A1 generan sustancias proinflamatorias y neurotoxinas capaces de producir muerte neuronal. Mientras que, los astrocitos A2 liberan sustancias antiinflamatorias y factores neurotróficos. La reactividad astrocítica afectan la integridad endotelial de la BHE; sin embargo, aún no se comprenden las conexiones establecidas entre cada fenotipo con este proceso (Khodadadei et al., 2022; Kim et al., 2022).

1.6. Regulación del transporte a través de la barrera

Debido a las características de selectividad y acoplamiento antes descritas, el sistema de transporte bidireccional de la BHE se ve limitado a los mecanismos transcelulares, los cuales pueden ser:

- 1) *Difusión pasiva*: este transporte es limitado; solo pocas moléculas liposolubles con un límite de peso molecular de 400-500 Da, y pocos donantes y/o aceptores de enlaces de hidrógeno en su estructura pueden atravesar pasivamente e ingresar al cerebro; moléculas como O₂, CO₂ y etanol pueden usar este mecanismo (Kadry et al., 2020; Lochhead et al., 2020).
- 2) *Transportadores de eflujo y de iones*: incluye bombas intercambiadoras dependientes de ATP que transportan metabolitos endógenos, xenobióticos, iones, etc; algunos ejemplos son la Na⁺/K⁺ ATPasa y los transportadores de casetes de unión a ATP (ABC) (Kadry et al., 2020).
- 3) *Mediado por transportadores (CMT)*: estos transportadores suelen tener una distribución polarizada y se encargan del transporte de metabolitos (carbohidratos, aminoácidos, ácidos grasos, nucleótidos, vitaminas) y

xenobióticos; incluye los transportadores Glut1, MCT1 o CAT1 (Pardridge, 2005; Kadry et al., 2020).

- 4) *Mediado por receptores (RMT)*: en este transporte, una molécula se une a un receptor y ambos se combinan creando una vesícula intracelular por invaginación de la membrana, como el receptor de lipoproteínas de baja densidad (LRP) o el receptor de insulina (RI) (Kadry et al., 2020).

La disfunción patológica de la BHE observada tanto en el SMet como en trastornos neurodegenerativos propiamente dichos altera rápidamente la homeostasis celular, disminuye el flujo sanguíneo cerebral, provoca la fuga paracelular de moléculas solubles debido a la rotura de las uniones estrechas, incrementa el ingreso de linfocitos T inflamatorios como consecuencia de la activación de moléculas de adhesión, reduce el transporte de glucosa y conduce a la neuroinflamación (Xiao et al., 2020; Alahmari, 2021; Muddapu et al., 2020). No obstante, las diferencias observadas en la pérdida neuronal derivada de esta ruptura están relacionadas con la variación en los patrones de vascularización de las diferentes regiones cerebrales.

1.7. Vascularización cerebral

El cerebro es un órgano que tiene una alta demanda de sangre oxigenada, lo que ha conllevado al desarrollo de redes específicas de vasos sanguíneos que distribuyen la sangre dentro del SNC. A través de dos pares de arterias principales (carótidas y vertebrales) se suministra sangre a las zonas anterior y posterior del cerebro, dando lugar a un árbol vascular que se ramifica hacia arteriolas y capilares, incrementando el lecho vascular hacia una densa red de capilares con vasos cortos y numerosos (Andjelkovic et al., 2020).

La red capilar de distintas regiones puede presentar modificaciones en su densidad, morfología y función, pudiendo estar relacionado con las diferencias en la actividad de las diferentes zonas cerebrales, particularmente de actividad metabólica

y cognitiva (Tabla 1). Uno de los circuitos locales con más actividad es el correspondiente a las regiones cortico-límbica.

TABLE 1: Pattern of Vascular Supply as a Factor in Predicting Vulnerability of Various Cerebral Regions to Anoxic or Hypoperfusion States

Area	Intraparenchymal Vessels	Capillary Bed	Risk
1. Cortex	Short arteriole, single supply	Dense	Anoxia (hypoperfusion at watershed)
2. Corpus callosum	Short/intermediate arteriole, single supply	Sparse	–
3. U association bundles	Intermediate-length arteriole and small artery, dual supply	Sparse	–
4. External capsule/claustum/extreme capsule	Intermediate-length arteriole and small artery, triple supply	Intermediate	–
5. Centrum	Long arteriole and small artery, single supply	Sparse	Hypoperfusion
6. Basal ganglia/thalamus	Long muscular artery and arteriole, single supply	Dense	Hypoperfusion, anoxia

Tabla 1. Patrón de suministro vascular como factor predictivo de la vulnerabilidad de diversas regiones cerebrales (Tomado de Moody et al., 1990).

1.7.1 Hipocampo

El hipocampo es una estructura cerebral temporal perteneciente al lóbulo límbico que consta de dos regiones: el giro dentado (GD) y el cornu ammonis (donde se distinguen las regiones CA1 y CA3) (Figura 4). Su anatomía y vascularización son importantes para comprender su disfunción (Tatu & Vuillier, 2014).

La vascularización arterial depende de las ramas colaterales de la arteria cerebral posterior y de la arteria coroidea anterior; estas dan lugar a las arterias intrahipocampales superficiales, que penetran y se diversifican en un ángulo perpendicular siguiendo un trayecto largo hasta formar las arterias intrahipocampales profundas (Spallazzi et al., 2018). La arquitectura vascular difiere entre las regiones CA1 y CA3; la región CA1 contiene una gran arteria ventral, mientras en la región CA3 se encontró una mayor cantidad de capilares (Muddapu, 2020). En CA1 los astrocitos asociados a la BHE demostraron tener alto grado de acoplamiento mientras que en CA3 el acoplamiento es menor (González-López, 2021).

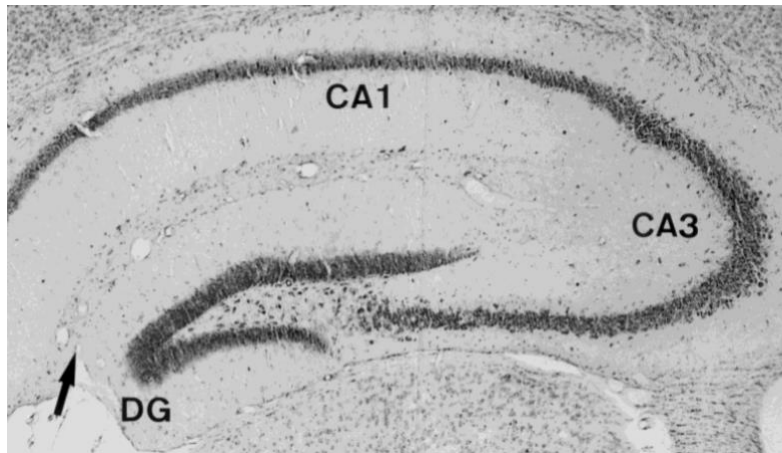


Figura 4. Regiones que constituyen el hipocampo (Tomado de Coulin et al., 2001).

1.7.2 Corteza prefrontal

En la corteza cerebral, las neuronas establecen una arquitectura funcional compuesta por capas horizontales y columnas verticales, que comprenden la capa 1 (capa molecular), la capa II (granular externa), la capa III (capa piramidal externa), la capa IV (granular interna), la capa V (capa piramidal interna) y la capa VI (capa polimórfica). A diferencia del largo trayecto tangencial de las arterias y venas del hipocampo, los vasos de la corteza suelen ser cortos y perpendiculares a la superficie con aspecto de empalizada (Addams et al., 2015; Spallazzi et al., 2018).

Se presume que el suministro microvascular de la corteza cerebral está organizado en coordinación con su arquitectura columnar. Mediante análisis con marcaje de peroxidasa se ha observado que las señales más fuertes se encuentran presentes en las capas 6 y 4c, mientras que el marcaje es débil en las capas 5 y 4b, y casi ausente en la capa 1, asociándose la carga de glóbulos rojos con la densidad neuronal de cada capa horizontal, lo que implica que el suministro de sangre a la corteza está estrechamente relacionado con las demandas metabólicas de las neuronas presentes en cada capa (Addams et al., 2015).

1.7.3 Amígdala cerebral

La amígdala es una estructura subcortical esencial para el procesamiento de las señales sensoriales. En ella convergen diversas proyecciones anatómicas que le permiten la formación de asociaciones entre los diferentes estímulos (Sánchez-Navarro & Román, 2004).

Posee tres fuentes de irrigación. La fuente principal radica en la arteria cerebral media, que penetra en la amígdala de forma perpendicular antes de ramificarse. La segunda fuente es una de las fuentes secundarias, que incluye ramificaciones de arteriolas superficiales de la fuente principal. La tercera fuente, también secundaria, contempla arteriolas delgadas y rectas que penetran la parte basal de la amígdala. No obstante, también existen ciertas formaciones de capilares muy ricos y numerosos que se interconectan con la amígdala desde la cabeza del hipocampo (Di Marino et al., 2016).

1.8. Vulnerabilidad vascular en la neurodegeneración

Existe evidencia de que la neurodegeneración puede afectar de manera diferencial y específica a ciertas regiones del cerebro y a ciertos tipos neuronales en un patrón predecible (Mrdjen et al., 2019).

Las diferencias en la vascularización de las diferentes regiones del hipocampo han sido consideradas como uno de los posibles determinantes involucrados en su degeneración (Spallazzi et al., 2018). En la enfermedad de Alzheimer, las neuronas de la región CA1 son selectivamente más vulnerables a la muerte celular en comparación con las neuronas de CA3 (Muddapu, 2020), lo que a su vez se ha asociado a la ruptura muy temprana de la BHE en la región CA1 (pero no en la región CA3) (Mrdjen et al., 2019).

La corteza cerebral, por su parte, es vulnerable a la hipoperfusión circulatoria en aquellas áreas en las que la irrigación de las arterias cerebrales distal media y anterior (Moody et al., 1990). La amígdala, por otra parte, sufre cambios en su vascularización interna en respuesta a estímulos como el estrés crónico, con variaciones en la

superficie vascular que indican procesos de remodelación (Di Marino et al., 2016). Sin embargo, no se han precisado cuales son los cambios que se presentan en la BHE de las regiones cortico-límbicas asociados a las etapas tempranas y tardías del SMet.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La incidencia del SMet en México se ha incrementado en los últimos años. De acuerdo con los datos presentados por la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) en 2020, se estimó que aproximadamente 36.5 millones de mexicanos vivían con SMet, de los cuales un 10% tenían un riesgo significativo de desarrollar diabetes tipo 2 o enfermedades cardiovasculares (Rojas-Martínez et al., 2021).

Estas cifras alarmantes han puesto en evidencia un problema de salud pública que se ha vinculado con el cambio en la composición de la dieta mexicana, donde una mayor ingesta de azúcares refinados y alimentos procesados con alto contenido de grasa predispone un mayor riesgo de desarrollar, además, enfermedades neurodegenerativas, mostrando que pacientes con SMet muestran peores puntuaciones en síntomas asociados a enfermedades neurológicas, como la enfermedad de Parkinson (Meléndez-Flores et al., 2021).

Las neuropatologías derivadas del SMet se han asociado a alteraciones en el funcionamiento de la BHE, la cual puede verse afectada por los cambios en el metabolismo de los sustratos energéticos y la presencia de inflamación local y sistémica (Van Diken & Lacoste, 2018). No obstante, los mecanismos de interacción que modulan este proceso durante las primeras etapas no se han establecido en su totalidad.

Se propone que la aparición de los componentes del SMet ocasiona cambios en la dinámica de interacción y de transición de la BHE previo a su disfunción, lo que a largo plazo conlleva a los procesos de neurodegeneración. De esta manera, se plantea la siguiente pregunta científica:

¿El consumo crónico de dieta hipercalórica-hiperglúcida inductora de SMet modifica la estructura, reactividad y transporte de la BHE del sistema cortico-límbico?

JUSTIFICACIÓN

El SMet es un conjunto de factores de riesgo cardiometabólico que se ha convertido en un grave problema de salud pública, llegando a afectar a alrededor del 25% de la población general. Su prevalencia suele ser mayor en países urbanos en desarrollo y su tendencia actual es insostenible, por lo que el costo total de la enfermedad, incluido el costo de la atención médica y la pérdida de actividad económica potencial, actualmente asciende a billones. (Rojas et al., 2021; Saklayen, 2018). Los datos epidemiológicos muestran que la presencia de los trastornos asociados al SMet, como la inflamación aguda y la crónica de bajo grado, el estrés oxidativo, y los cambios dismetabólicos asociados a la diabetes tipo 2 y la hiperlipidemia también juega un papel importante en las alteraciones en el rendimiento cognitivo (Rojas et al., 2021; Blom et al., 2013).

Además, las enfermedades neurodegenerativas caracterizados por una disfunción progresiva del sistema nervioso, comparten características bioquímicas y neuropatológicas en común. Dentro de las cuales, en las primeras etapas de dichas enfermedades se presenta una alteración de la BHE, por lo que se ha establecido que el funcionamiento de las CE cerebrales es crucial durante el proceso de deterioro cognitivo (Yuan et al., 2023).

Los estudios muestran que las CE dañadas aceleran el progreso de la enfermedad de Alzheimer, favorecen la extravasación de células inmunes periféricas hacia el cerebro en la esclerosis múltiple, así como la agregación de α -sinucleína en la enfermedad de Parkinson. La pérdida de capacidades cognitivas asociadas al SMet y la susceptibilidad derivada, establecen la importancia del entendimiento del proceso fisiopatológico. Sin embargo, los mecanismos de disfunción vascular temprana y cómo estos pueden contribuir al progreso de la neurodegeneración aún no están claros, por lo que comprender las bases moleculares es crucial para establecer el rol patológico en la BHE y permitir el desarrollo de nuevas terapias durante la fase temprana de las enfermedades neurodegenerativas (Yuan et al., 2023).

Hasta el momento no se ha realizado ningún estudio que evalúe las alteraciones que se presentan en la BHE durante el inicio y la progresión del SMet, por lo que en el presente trabajo abordamos el entorno molecular asociado a la unidad neurovascular.

HIPÓTESIS

Hipótesis nula: *El SMet en etapas temprana y tardía no modifica la estructura, reactividad y transporte de la BHE del sistema cortico-límbico de rata Wistar macho.*

Hipótesis alternativa: *El SMet en etapas temprana y tardía modifica negativamente la estructura, reactividad y transporte de la BHE del sistema cortico-límbico de rata Wistar macho.*

OBJETIVOS

Objetivo general

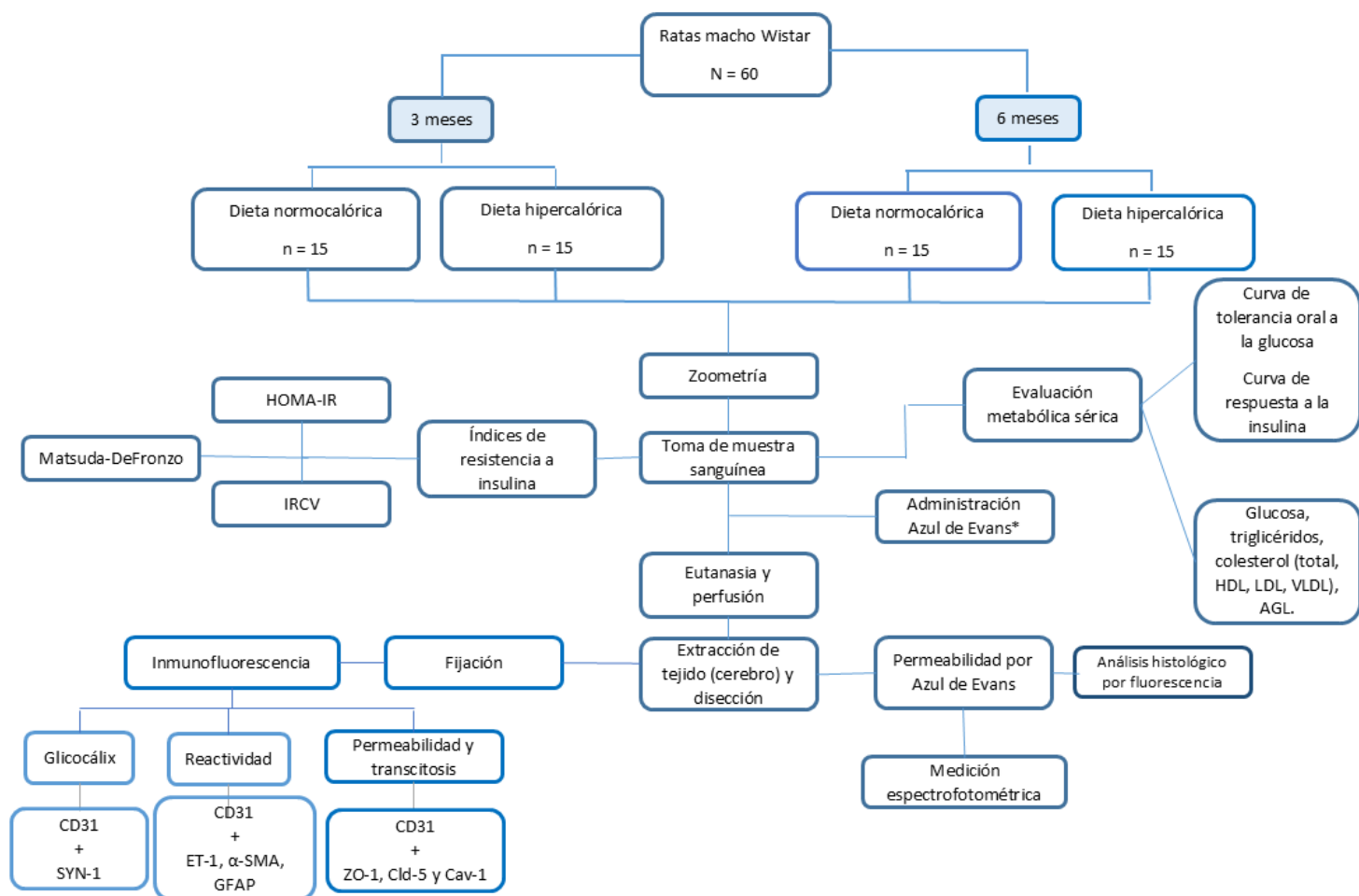
Evaluar el impacto temprano y tardío del SMet sobre la dinámica funcional de la BHE del sistema cortico-límbico de la rata Wistar macho.

Objetivos específicos

En hipocampo, corteza y amígdala de rata macho Wistar con inducción de SMet durante 3 y 6 meses:

- Evaluar la estructura de la BHE sobre el proceso permeabilidad y transitos.
- Evaluar la integridad del glicocálix de la BHE.
- Analizar la reactividad de la unidad endotelio-pericito.

DIAGRAMA DE TRABAJO



METODOLOGÍA

Animales

Se utilizaron 60 ratas macho de la cepa Wistar con un peso entre 70 y 80 g obtenidas del Bioterio “Claude Bernard” de la BUAP. Los animales se mantuvieron en condiciones estándar de bioterio bajo ciclos de luz/oscuridad de 12-12 horas, con acceso de agua y alimento *ad-libitum*, y fueron pesados hasta alcanzar los 100 g antes de conformar los grupos. Las ratas se dividieron de forma aleatoria en dos grupos, con una n=15: el grupo control normocalórico (NC), alimentado con una dieta balanceada a base pellet (LabDiet 5001) y el grupo hipercalórico (HC) alimentado durante 3 y 6 meses con una dieta alta en carbohidratos (MX/E/2013/047377) para inducir el SMet. Todos los procedimientos se llevaron a cabo minimizando el sufrimiento de los animales, de acuerdo con lo establecido por la NOM-62-ZOO-1999.

Eutanasia

Previo a la eutanasia, los animales se mantuvieron en ayuno de cuatro a cinco horas. Las ratas fueron sacrificadas mediante la administración intraperitoneal de ketamina-xilazina a una dosis de 0.20 mL/kg de peso, y se aseguró la muerte del animal. Se realizó la punción cardíaca para recolectar 5 mL de sangre en tubos BD Vacutainer para suero con gel separador, que fueron centrifugados a 3500 rpm durante 10 minutos. El suero fue separado y almacenado a -70 °C hasta su análisis.

Una vez finalizada la extracción de sangre, se procedió a la perfusión de la rata con solución salina isotónica; se realizó la extracción del cerebro y se procedió al almacenamiento en una solución de paraformaldehído al 10% para los posteriores pasos de deshidratación e inclusión para los análisis histológicos.

Evaluación zoométrica e ingesta calórica

Los animales fueron pesados y medidos una vez por semana. La delta de peso se calculó por la diferencia entre el peso inicial y final de cada animal. El índice de masa corporal (IMC) se calculó de la siguiente manera: $IMC = (\text{peso})/(\text{talla})^2$, y el

porcentaje de grasa según el índice de Lee para modelos de roedores (% de grasa = $[(\text{peso en g}^{(0,33)})/\text{talla en mm}] \times 100$). La ingesta de alimentos se controló diariamente y se calculó como $AT = A_i$ (peso del alimento inicial) - A_f (peso del alimento sobrante). La ingesta diaria de energía (IDE) por rata se calculó como sigue: $AT \times$ energía contenida (kcal) por gramo de alimento. Se calculó la energía total y la ingesta de cada macronutriente (carbohidratos, proteínas y grasas) según el aporte calórico de cada dieta.

Evaluación bioquímica

El suero obtenido mediante la extracción sanguínea por punción cardiaca se utilizó para cuantificar: tolerancia oral a la glucosa (TOG) y respuesta insulínica, colesterol total, triglicéridos, colesterol HDL, LDL, VLDL, índice HOMA, índice Matsuda-DeFronzo, índice de resistencia a insulina endotelial. Los niveles de glucosa, colesterol total, triglicéridos y fructosamina se midieron espectrofotométricamente.

Evaluación de tensión arterial

Se realizó la medición de la tensión arterial mediante la ejecución de un método no invasivo conocido como “Tail-cuff”. Se utilizó un sistema no invasivo de adquisición para la tensión arterial CODA para ratas, que detecta los cambios en de volumen en la cola. El sistema se calibró y se utilizaron configuraciones y recomendaciones estándar. Las unidades para la medición se colocaron en una habitación silenciosa previamente designada (22 ± 2 °C), a oscuras en la que, aparte del operador, no ingresaron otras personas durante las mediciones de presión. Los animales fueron entrenados durante 3 días, para aclimatarse al artefacto y se obtuvieron mediciones previas durante 2 días adicionales para mejorar la precisión del método de manguito de cola, hasta que no se obtuvieron variaciones significativas entre mediciones. Para todos, se alentó a los roedores a caminar dentro de los tubos de restricción y se ajustaron los soportes de los extremos de los tubos para evitar

movimientos excesivos. El manguito de oclusión se colocó en la base de la cola y el manguito del sensor VPR se colocó adyacente al manguito de oclusión. Para medir la presión arterial, el manguito de oclusión se infló a 250 mmHg y se desinfló durante 20 s. Cada sesión constó de 15 a 25 ciclos de inflado y desinflado por serie, de los cuales los primeros 5 ciclos fueron ciclos de "aclimatación" y no se utilizaron en el análisis, mientras que los siguientes ciclos se utilizaron (Daugherty et al., 2009).

Ensayo de Azul de Evans: cuantificación

Para evaluar la permeabilidad, se realizó la prueba de Azul de Evans en los animales con 3 y 6 meses de tratamiento. Tras sedar a los animales, se abrió la cavidad torácica hasta exponer el corazón. Se administró la solución de colorante (2 mL/Kg al 4%) a través del ventrículo izquierdo, permitiendo la circulación durante 10 minutos, antes de perfundir al animal durante 5 minutos con PBS. Tras la decapitación, se extrajeron los cerebros y la mitad de estos se diseccionó en las zonas de interés para ser procesados. Para la medición mediante absorbancia, el tejido se procesó y homogeneizó con una solución de ácido tricloroacético al 50% para liberar el colorante de las proteínas. Posteriormente se centrifugó a 12000 rpm a temperatura ambiente y se recolectó el sobrenadante para su análisis. La medición de absorbancia se realizó mediante espectrofotometría a una longitud de onda de 610 nm (Goldim et al, 2019). Los resultados se obtuvieron al analizarlos con la ecuación de la curva estándar de azul de Evans.

Ensayo de Azul de Evans: histología

Los cerebros restantes de la prueba de Azul de Evans se colocaron en una solución de paraformaldehído al 4% durante 48 horas. Posteriormente, con el tejido fijado, se realizaron cortes en vibratomo con un grosor de 40 μ m, con el posterior montaje en seco sobre portaobjetos xilanizados, y sellado con entellán. Los cortes fueron examinados bajo un microscopio de fluorescencia Leica a una longitud de onda de excitación de 620 nm y de emisión de 680 nm.

Imunofluorescencia

Se utilizó la técnica de inmunofluorescencia para evidenciar la expresión de: Claudina-5 (Cld-5) [Millipore ABT45], ZO-1 [Sigma Aldrich SAB5700645], Endotelina-1 [Abcam ab117757], α SMA [Sigma Aldrich AS-228], syndecano-1 [Santa Cruz sc-12765], caveolina-1 [Sigma Aldrich ZRB1602] mediante un doble inmunomarcaje con CD31 [Santa Cruz sc-376764], utilizando anticuerpos secundarios conjugados con Rodamina y FITC. Las fotografías se tomaron con un microscopio de fluorescencia Leica con filtro de excitación vertical con el objetivo 20X y 63X, manteniendo las mismas condiciones de exposición en los distintos grupos experimentales. Se analizaron semicuantitativamente 25 microfotografías de cada grupo experimental utilizando el programa ImageJ, mediante la transformación a escala de grises y el posterior análisis de píxeles, mediante una curva de calibración de píxeles para cada una de las marcas de interés. Los resultados se expresaron como unidades de densidad óptica.

Análisis Estadístico

El análisis estadístico se realizó con el programa GraphPad Prism versión 8.0. Los resultados fueron expresados como la media $\pm$ el error estándar de la media (SEM). Se realizó la comparación entre grupos utilizando la prueba de inferencia t – Student y la prueba no paramétrica de Mann-Whitney. Se consideró un nivel de significancia del 95 % ($P < 0.05$) y una docimasia bilateral.

RESULTADOS

Evaluación zoométrica

Los resultados obtenidos en la evaluación zoométrica de los animales a los 3 y 6 meses de exposición a una dieta hipercalórica mostraron modificaciones en todos los parámetros analizados (Figura 5). En estos animales, tanto la delta de peso, como el IMC, un parámetro para evaluar presencia de obesidad, y el índice de Lee, un indicador de la grasa corporal presente, incrementaron en un 17%, 12% y 4% a los 3 meses, y un 17%, 9% y 3% a los 6 meses de consumo de dieta alta en carbohidratos, en comparación con los animales del grupo control, respectivamente. La ingesta calórica en los animales con dieta hiperglúcida incrementó en un 52% y un 24% a los 3 y 6 meses, respectivamente con respecto al control; asimismo, se observó un incremento del 143% y 98% en el aporte calórico por carbohidratos, un incremento del 101% y 63% en el aporte calórico por lípidos y un decremento en la proporción de proteína ingerida del 58 y 66% a los 3 y 6 meses.

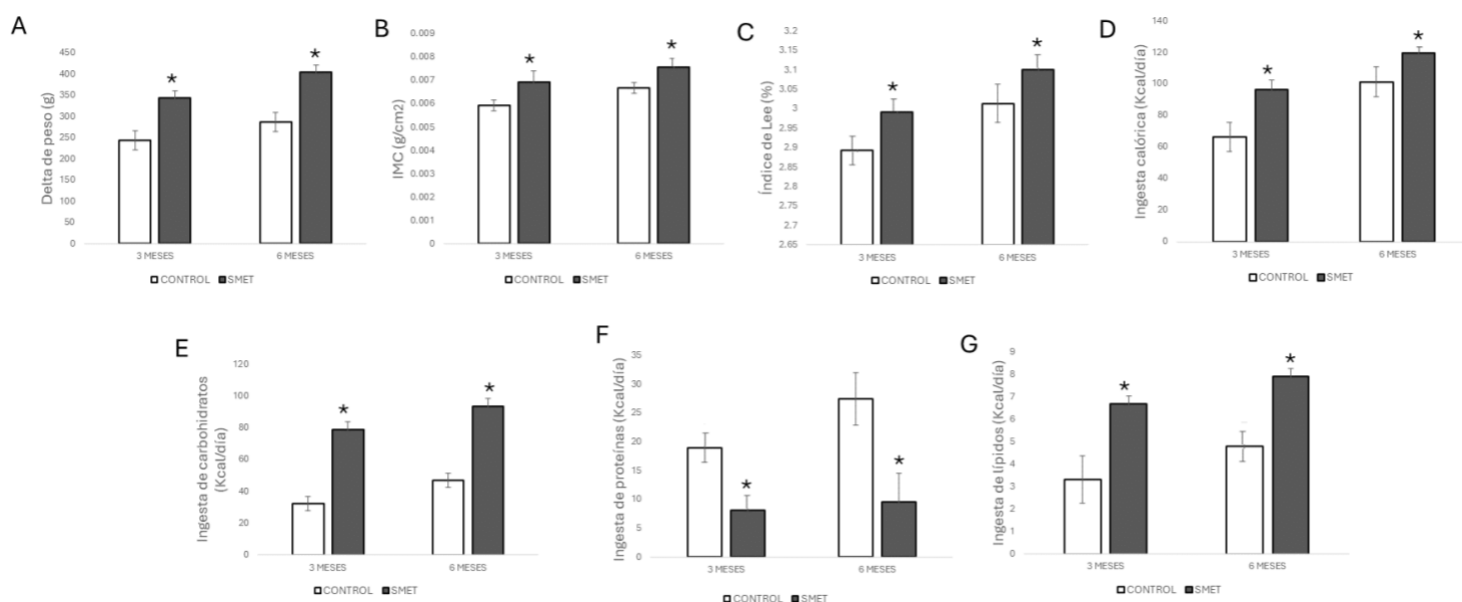


Figura 5. Parámetros zoométricos e ingesta calórica. Se muestra en: A) Delta de peso; B) IMC; C) Índice de Lee; D) Ingesta calórica por día; E-G) Aporte energético de carbohidratos, proteínas y lípidos. NC: Grupo normocalórico; HC: Grupo hipercalórico. Los resultados son un promedio de 15 animales experimentales por grupo $\pm$ SEM. Las comparaciones se realizaron con la prueba *t* de Student. * $P \leq 0,05$ frente al grupo control.

Evaluación bioquímica

Por otro lado, los resultados de la evaluación bioquímica (Tabla 2) mostraron alteraciones en el comportamiento de la glucemia y la respuesta a la insulina, así como alteraciones en los índices de resistencia a la insulina y en la sensibilidad a la misma. En el grupo de dieta hipercalórica a los 3 meses, los niveles de glucosa e insulina se incrementaron en un 39% a los 0 minutos, un 37% a los 30 minutos, un 53% a los 60 minutos, y un 63% a los 90 minutos, con respecto al grupo control. Por otro lado, a los 6 meses, las alteraciones se mantuvieron con incrementos del 220% a los 0 minutos, 143% a los 30 minutos, 154% a los 60 minutos, y 189% a los 90 minutos.

Asimismo, a los 3 y 6 meses se encontraron incrementos estadísticamente significativos en los índices de resistencia a la insulina, así como una disminución de la sensibilidad a la hormona en el grupo hipercalórico. En este rubro destacamos el índice de resistencia endotelial, el cual se encuentra íntimamente relacionado con la respuesta de las CE a la insulina como un regulador crítico. Con respecto a este último parámetro, el índice se vio incrementado en un 1167% a los 3 meses de dieta y 413% a los 6 meses de dieta con respecto a su control, estableciendo un estado insulinoresistente desde las etapas tempranas del SMet.

Dentro de los metabolitos analizados en el panel lipídico, el grupo con dieta hipercalórica a los 3 meses mostró un incremento en los niveles de triglicéridos y de ácidos grasos libres (AGL) del 89% y del 196%, así como incrementos del 71% y 206% en el colesterol LDL y VLDL, y una disminución en la concentración del colesterol HDL en un 29%. Por otro lado, a los 6 meses se observaron incrementos de triglicéridos, AGL, LDL, VLDL y colesterol total del 88%, 400%, 200%, 400% y 53. Mientras que, la fracción del colesterol HDL disminuyó en un 26%. Todos estos cambios fueron estadísticamente significativos respecto de su control.

	3 MESES		6 MESES	
Metabolito	NC	HC	NC	HC
<i>Panel de carbohidratos</i>				
Glucosa en ayuno (mg/dL)	88.9 ± 4.1	123.7 ± 8.3 *	106.3 ± 18.67	185.8 ± 16.2 *
Glucosa 30 min (mg/dL)	127.4 ± 8.2	175.6 ± 11.5 *	142.9 ± 5.2	262.1 ± 6.23 *
Glucosa 60 min (mg/dL)	100.2 ± 7.4	154.3 ± 8.8 *	123.8 ± 1.6	242.06 ± 0.32 *
Glucosa 90 min (mg/dL)	83.6 ± 3.8	136.9 ± 9.4 *	109.77 ± 1.26	229.3 ± 5.5 *
<i>Panel de resistencia a la insulina</i>				
Insulina en ayuno (μUI/mL)	7.9 ± 1.1	25.3 ± 6.1 *	9.89 ± 9.3	34.8 ± 8.2 *
Insulina 30 min (μUI/mL)	19.6 ± 4.5	47.8 ± 12.6 *	25.6 ± 0.85	56.03 ± 2.5*
Insulina 60 min (μUI/mL)	13.2 ± 3.3	33.6 ± 8.4 *	17.03 ± 12.2	33.6 ± 0.4 *
Insulina 90 min (μUI/mL)	9.9 ± 1.5	28.7 ± 6.2 *	12.07 ± 2.03	30.7 ± 4.2 *
HOMA-IR	0.29 ± 0.02	1.29 ± 0.14 *	1.58 ± 0.86	3.45 ± 0.1 *
Matsuda-DeFronzo index	10.8 ± 0.88	2.6 ± 0.3 *	9.22 ± 2.68	1.75 ± 0.5 *
RI endotelial	0.31 ± 0.02	3.62 ± 0.4 *	1.42 ± 1.26	5.87 ± 2.5 *
<i>Panel lipídico</i>				
AGL	7.8 ± 1.4	23.1 ± 3.2 *	6.9 ± 1.29	38.1 ± 4.7 *
Triglicéridos	72.5 ± 4.6	137.5 ± 8.9 *	116 ± 5.6	181.5 ± 7.2 *
Colesterol total	96.3 ± 2.0	107.5 ± 12.1	108.3 ± 0.94	168.5 ± 2.1*
<i>Fracciones de colesterol</i>				
VLDL-c	7.8 ± 0.5	23.9 ± 0.4 *	8.8 ± 3.9	43.4 ± 0.4 *

LDL-c	20.2 ± 2.2	34.7 ± 2.7 *	23.5 ± 8.4	63.7 ± 2.5 *
HDL-c	68.3 ± 3.1	48.9 ± 4.5 *	54.03 ± 5.2	39.8 ± 1.5 *

Tabla 2. Parámetros metabólicos. NC: Grupo normocalórico; HC: Grupo hipercalórico. Los resultados son un promedio de 15 animales experimentales por grupo ± SEM. Las comparaciones entre grupos se realizaron con la prueba paramétrica t de Student. *P ≤ 0,05 frente al grupo control.

Evaluación de la tensión arterial

Se realizaron las mediciones correspondientes a la tensión arterial de los animales previo a su eutanasia. En este rubro, se encontró que, a los 3 meses de consumo de una dieta hipercalórica, se elevaron tanto la presión sistólica como la frecuencia cardíaca, con incrementos del 14.5% y del 4.9%, sin observar cambios en la presión diastólica. No obstante, a los 6 meses de consumo de la dieta alta en calorías, se vieron incrementadas la presión sistólica en un 23%, la presión diastólica en un 20% y la frecuencia cardíaca en un 6.6%. Todos los cambios fueron estadísticamente significativos con respecto al grupo control (Figura 6).

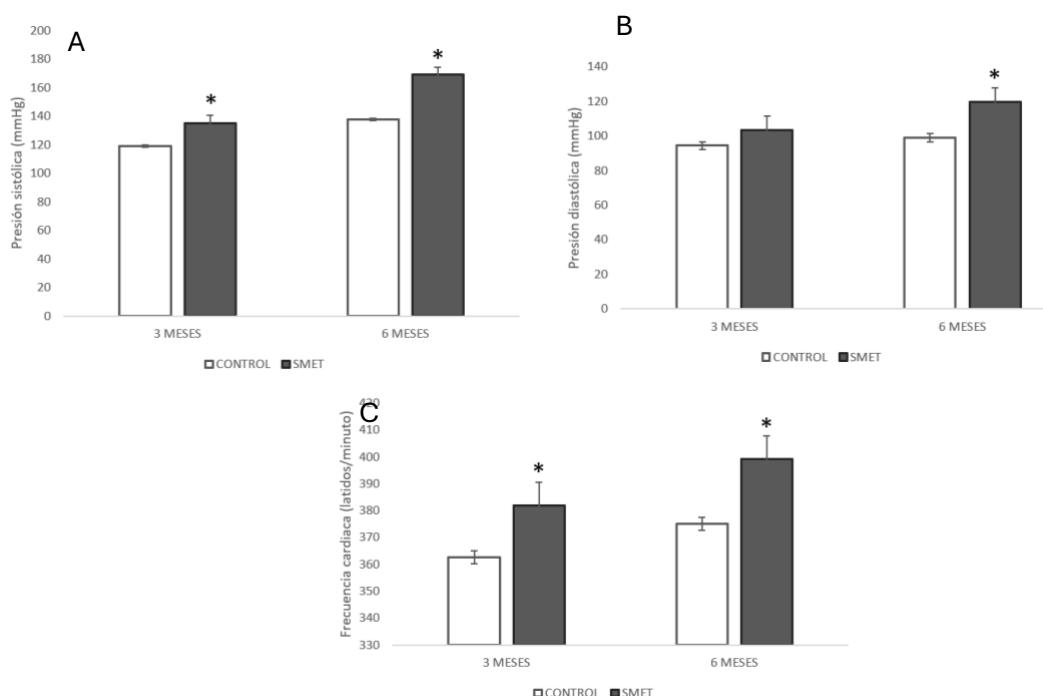


Figura 6. Evaluación de la tensión arterial. Se muestra en: A) Presión sistólica; B) Presión diastólica; C) Frecuencia cardíaca. NC: Grupo normocalórico; HC: Grupo hipercalórico. Los resultados son un promedio de 15 animales experimentales por grupo ± SEM. Las comparaciones se realizaron con la prueba t de Student. *P ≤ 0,05 frente al grupo control.

Evaluación cuantitativa de la permeabilidad

Tras la cuantificación correspondiente a las pruebas de permeabilidad por Azul de Evans en las regiones de interés (Figura 7), se evidenció que el consumo de una dieta alta en calorías modificó la permeabilidad de las regiones de hipocampo y corteza prefrontal en un 67% y 58% con respecto al control, a los 3 meses de alto consumo calórico, sin encontrar diferencias estadísticamente significativas en la región cerebral de la amígdala. No obstante, a los 6 meses se observó una mayor permeabilidad del 72%, 81% y 57% en el hipocampo, la corteza prefrontal y la amígdala cerebral, respectivamente.

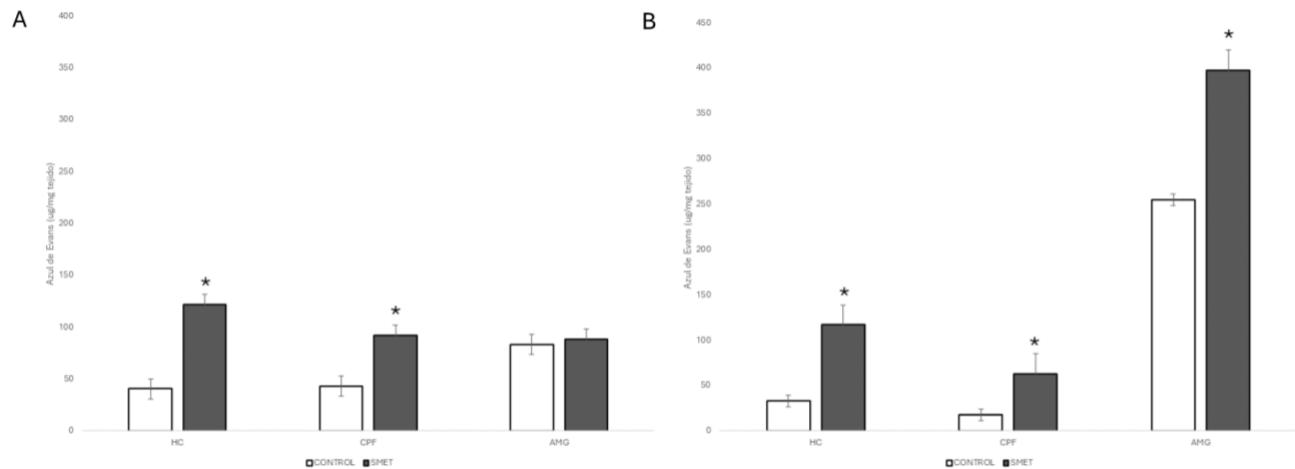


Figura 7. Cuantificación de Azul de Evans en el tejido. Se muestra en: A) Resultados obtenidos en tejido fresco a los 3 meses de tratamiento; B) Resultados obtenidos en tejido fresco a los 6 meses de tratamiento. HC: Hipocampo; CPF: Corteza prefrontal; AMG: Amígdala. Los resultados son un promedio de 5 animales experimentales por grupo $\pm$ SEM. Las comparaciones entre grupos se realizaron con la prueba paramétrica *t* de Student. * $P \leq 0,05$ frente al grupo de control.

Evaluación histológica de la permeabilidad

El análisis histológico permitió visualizar la permeabilidad del Azul de Evans en el parénquima cerebral de las diferentes regiones evaluadas (Figura 8). A los 3 meses, la fluorescencia del Azul de Evans se limitó a los vasos sanguíneos en el grupo control, con niveles bajos de fluorescencia de fondo y la vasculatura claramente delimitada, mientras que en el grupo con dieta hipercalórica se detectaron sitios focales de fuga. Por otro lado, a los 6 meses de tratamiento, los sitios de fuga de

colorante aparecen en la corteza prefrontal y la amígdala, principalmente, denotando adaptaciones morfológicas de la microvasculatura, con posibles signos de anastomosis.

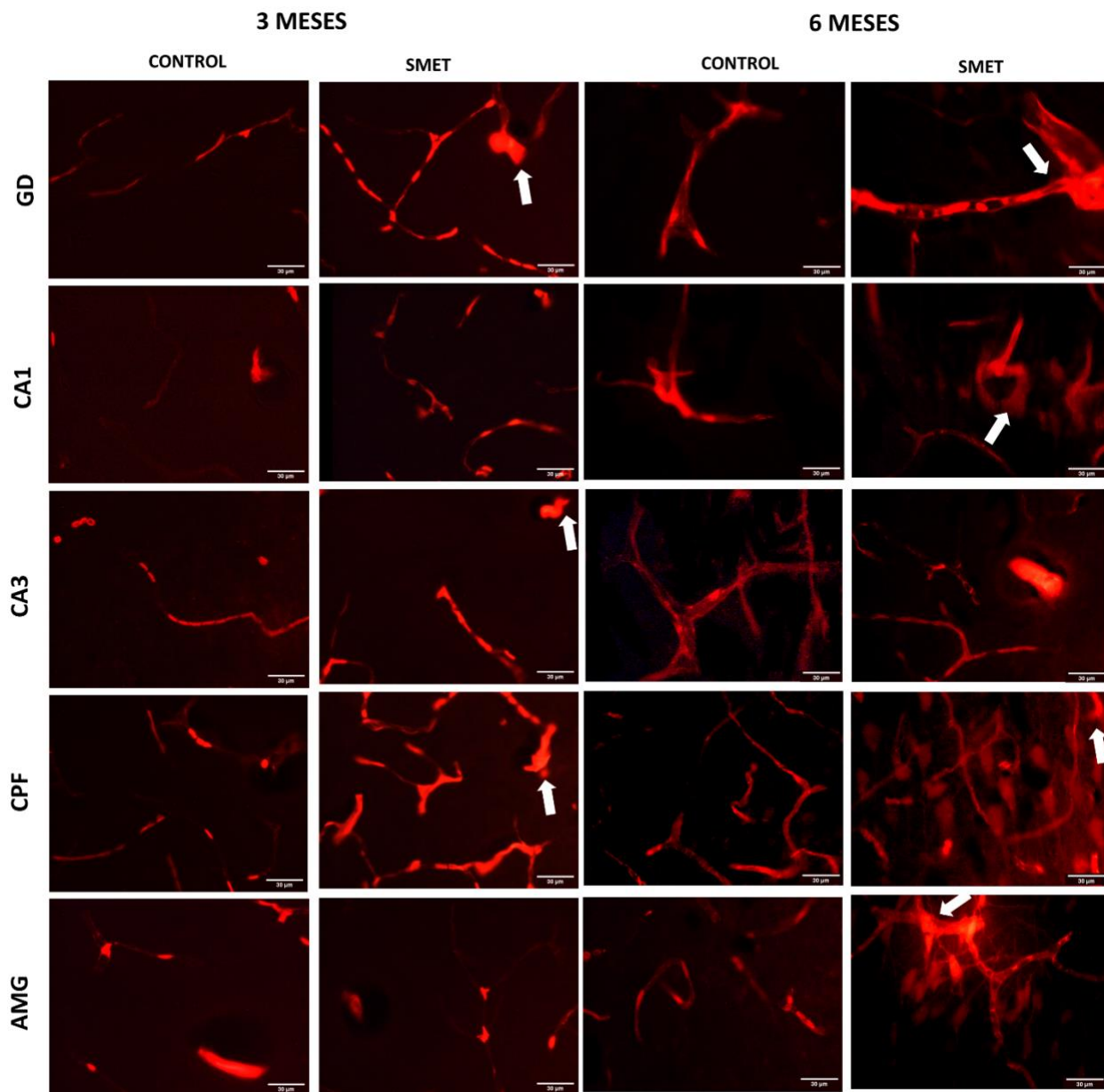


Figura 8. Análisis histológico por Azul de Evans en el tejido. Se observan fotomicrografías representativas de cada región evaluada, tomadas en el objetivo de 40X. GD: Giro dentado; CPF: Corteza prefrontal; AMG: Amígdala. Las flechas blancas muestran zonas de difusión del colorante.

Evaluación de la inmunorreactividad de Syndecano-1

Mediante inmunofluorescencia de doble marcaje se analizó la presencia de la proteína Syndecano-1, presente en la matriz extracelular como una de las primeras barreras de contacto de las células endoteliales cerebrales (Figura 9). En el análisis semicuantitativo, para la región hipocampal se observó en el giro dentado un incremento del 24.7% a los 3 meses de consumo de la dieta alta en carbohidratos, con una posterior disminución del 32.4% a los 6 meses; para la región CA1, se registraron incrementos del 107% y del 37% a los 3 y 6 meses respectivamente; no obstante, la región CA3 y la corteza prefrontal se mantuvieron sin cambios estadísticamente significativos, en ambos tiempos analizados. En la amígdala cerebral, por otro lado, se observaron incrementos del 213% y 100% a los 3 y 6 meses de un consumo alto calórico.

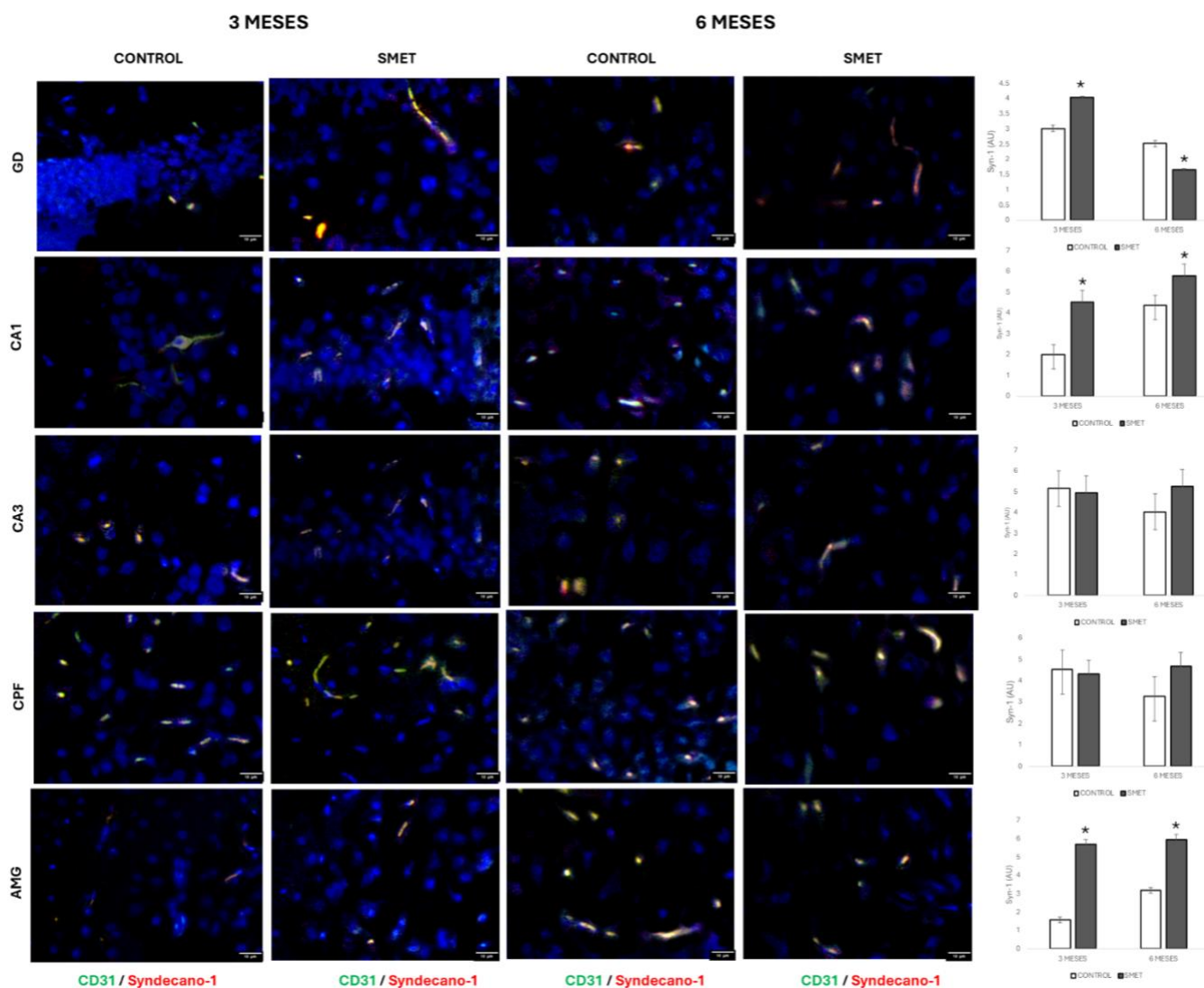


Figura 9. Inmunorreactividad del tejido a Syndecano-1. Se observan las fotomicrografías representativas de cada grupo tomadas en el objetivo de 63X correspondientes a los 3 y 6 meses de exposición a una dieta hipercalórica. GD: Giro dentado hipocampal; CPF: Corteza prefrontal; AMG: Amígdala. Los resultados son un promedio de 5 animales experimentales por grupo $\pm$ SEM. Las comparaciones entre grupos se realizaron con la prueba para datos no paramétricos de Mann-Whitney. $*P \leq 0,05$ frente al grupo de control.

Evaluación de la inmunorreactividad de Caveolina-1

Como parte de los elementos de transporte presentes en la membrana celular endotelial, se analizó la presencia de Caveolina-1 (Figura 10). Se observó inicialmente una disminución del 73% en el giro dentado a los 3 meses en el grupo HC, con un posterior incremento del 41% a los 6 meses. En la región CA1 se observó un incremento del 38% durante los primeros 3 meses en el grupo HC; sin embargo, a los 6 meses no se observaron diferencias significativas entre ambos grupos. La región CA3 no registró cambios significativos en ninguno de los tiempos de corte, mientras que la corteza prefrontal y la amígdala cerebral no presentaron diferencias en los primeros 3 meses, pero sí registraron incrementos del 33% y 17% a los 6 meses de consumo de dieta hipercalórica.

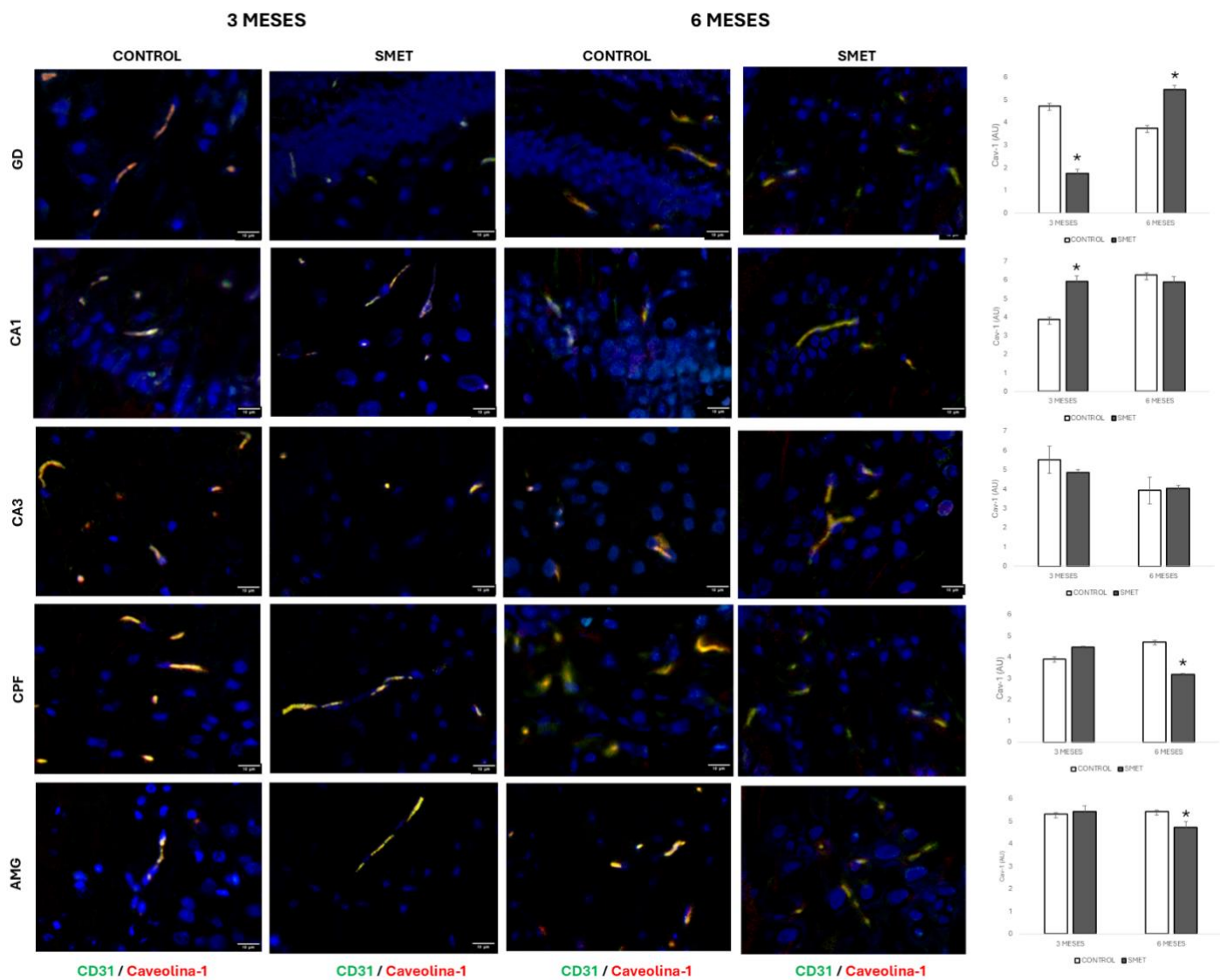


Figura 10. Inmunorreactividad del tejido a Caveolina-1. Se observan las fotomicrografías representativas de cada grupo tomadas en el objetivo de 63X correspondientes a los 3 y 6 meses de exposición a una dieta hipercalórica. GD: Giro dentado hipocampal; CPF: Corteza prefrontal; AMG: Amígdala. Los resultados son un promedio de 5 animales experimentales por grupo $\pm$ SEM. Las comparaciones entre grupos se realizaron con la prueba para datos no paramétricos de Mann-Whitney. * $P \leq 0,05$ frente al grupo de control.

Evaluación de la inmunorreactividad de Endotelina-1

La evaluación correspondiente a Endotelina-1, un péptido vasoconstrictor intrínseco endotelial, se observa en la Figura 11. Interesantemente, se registraron incrementos significativos en todas las regiones analizadas desde los 3 meses de consumo de dieta hipercalórica, del 8%, 11%, 25%, 22% y 17.4% para el giro dentado, la CA1, CA3, la corteza prefrontal y la amígdala cerebral, respectivamente. Por otro lado, a los 6 meses de consumo hipercalórico, se conservó el patrón de aumento establecido, con incrementos del 19.4%, 12%, 18%, 24% y 19.8% para las mismas regiones evaluadas.

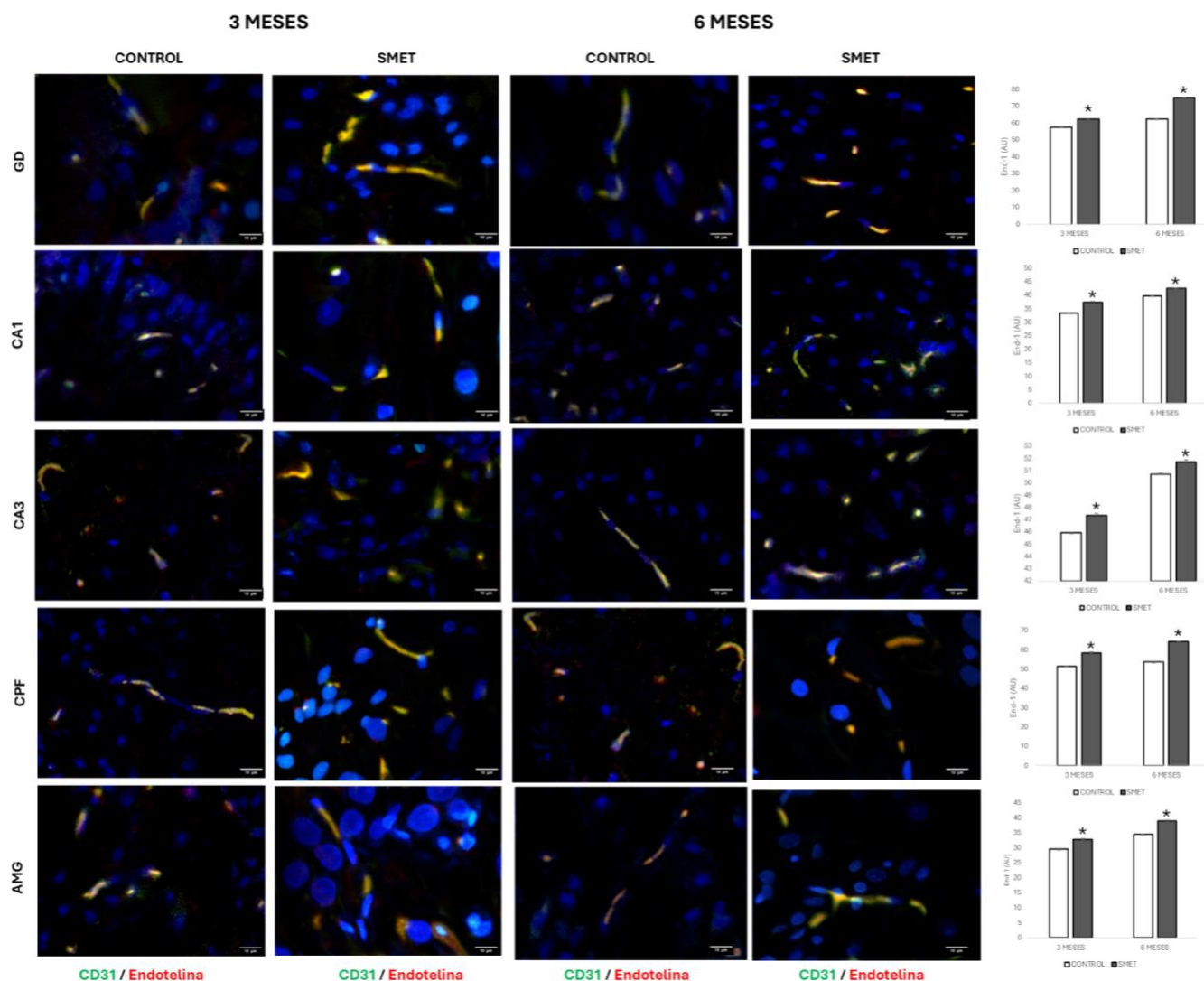


Figura 11. Inmunorreactividad del tejido a Endotelina-1. Se observan las fotomicrografías representativas de cada grupo tomadas en el objetivo de 63X correspondientes a los 3 y 6 meses de

*exposición a una dieta hipercalórica. GD: Giro dentado hipocampal; CPF: Corteza prefrontal; AMG: Amígdala. Los resultados son un promedio de 5 animales experimentales por grupo $\pm$ SEM. Las comparaciones entre grupos se realizaron con la prueba para datos no paramétricos de Mann-Whitney. $*P \leq 0,05$ frente al grupo de control.*

Evaluación de la inmunorreactividad de Claudina-5

En términos de la función de barrera, se analizó también la presencia la proteína de unión estrecha Claudina-5. En el análisis semicuantitativo (Figura 12), a los 3 meses en el grupo HC, se observó que la reactividad para Claudina-5 únicamente incrementó estadísticamente en un 16% en la región CA3 del hipocampo. Sin embargo, se observó una tendencia a la disminución para el grupo con dieta hipercalórica en el giro dentado hipocampal. No obstante, en los animales con 6 meses de consumo de dieta hipercalórica se registraron disminuciones del 40%, 34%, 37%, 60% y del 12% para las regiones del giro dentado, CA1, CA3, corteza prefrontal y amígdala cerebral, respectivamente.

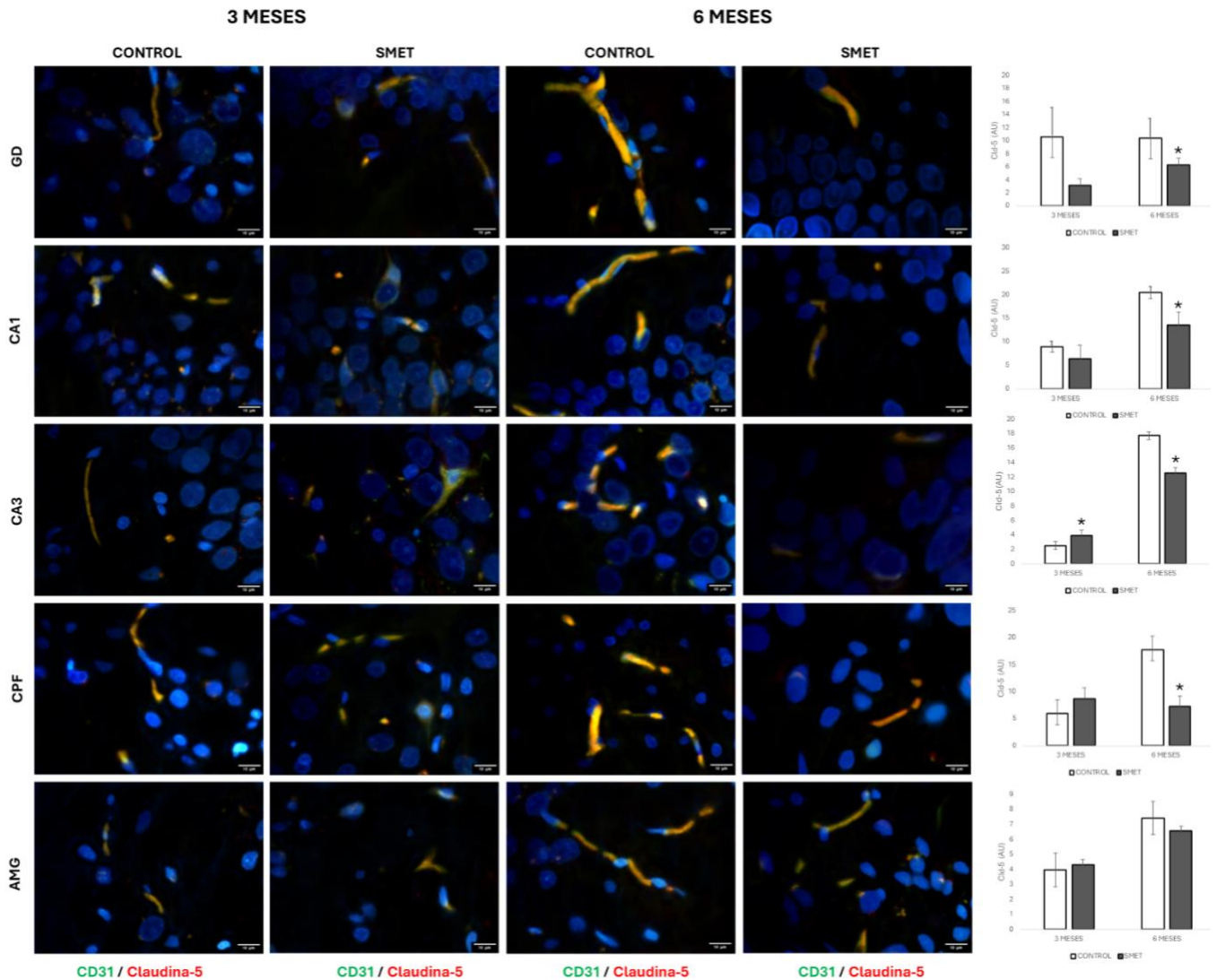


Figura 12. Inmunorreactividad del tejido a Claudina-5. Se observan las fotomicrografías representativas de cada grupo tomadas en el objetivo de 63X correspondientes a los 3 y 6 meses de exposición a una dieta hipercalórica. GD: Giro dentado hipocampal; CPF: Corteza prefrontal; AMG: Amígdala. Los resultados son un promedio de 5 animales experimentales por grupo $\pm$ SEM. Las comparaciones entre grupos se realizaron con la prueba para datos no paramétricos de Mann-Whitney. * $P \leq 0,05$ frente al grupo de control.

Evaluación de la inmunorreactividad de ZO-1

Para el análisis del componente intracelular de la unión estrecha, se realizó la medición semicuantitativa de ZO-1 (Figura 13). En esta proteína, se observó que los animales con 3 meses de consumo con dieta hipercalórica presentaron disminuciones

del 44%, 56%, 59%, 32% y del 80% en el giro dentado hipocampal, la región CA1, región CA3, la corteza prefrontal y la amígdala cerebral, respectivamente. No obstante, a los 6 meses el grupo HC registró incrementos de ZO-1 en las regiones de CA1 y CA3, del 22% y 107% respectivamente, con disminución en la corteza prefrontal del 24%. La amígdala cerebral y el giro dentado permanecieron sin cambios a los 6 meses de dieta.

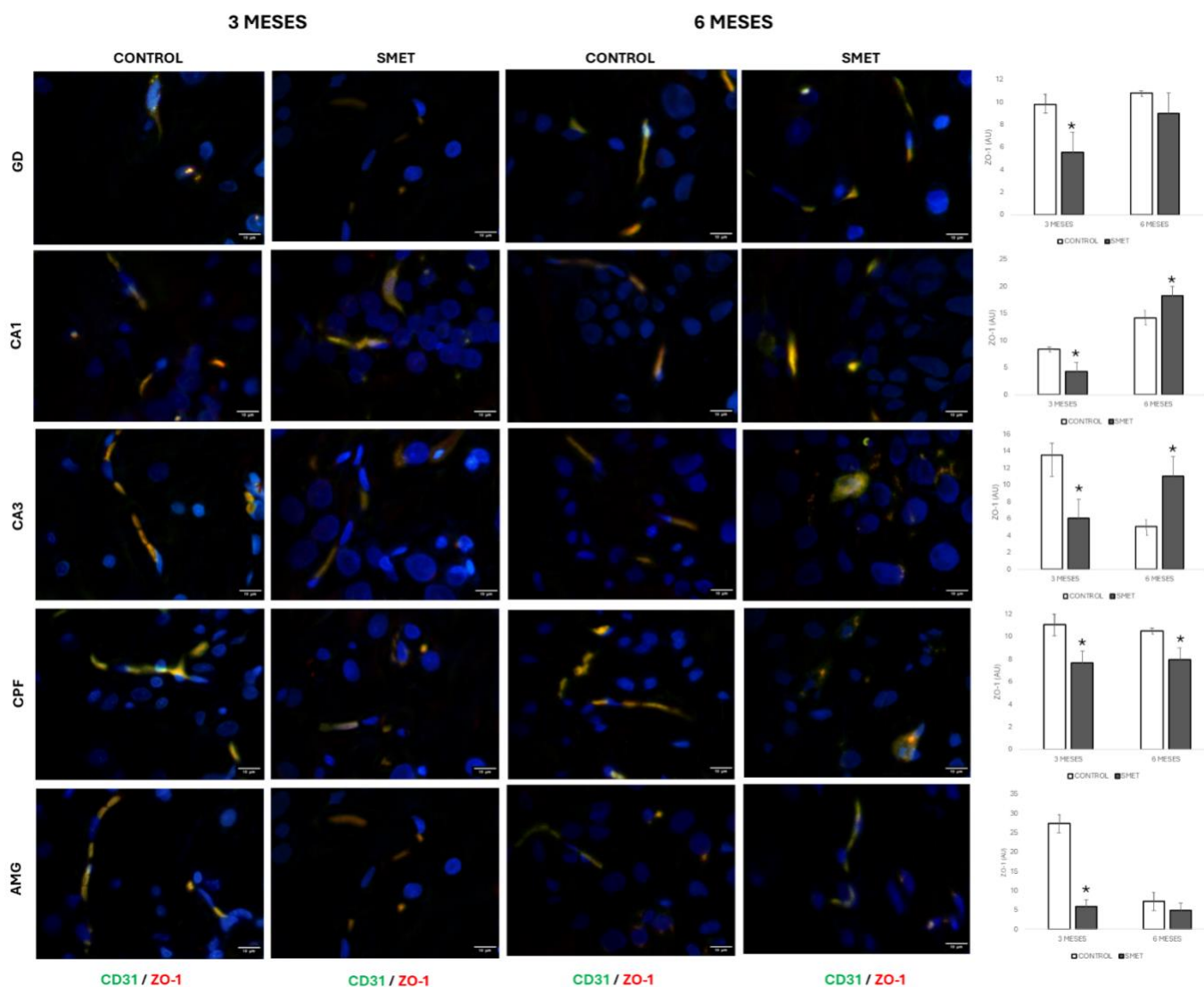


Figura 13. Inmunorreactividad del tejido a ZO-1. Se observan las microfotografías representativas de cada grupo tomadas en el objetivo de 63X correspondientes a los 3 y 6 meses de exposición a una dieta hipercalórica GD: Giro dentado hipocampal; CPF: Corteza prefrontal; AMG: Amígdala. Los resultados son un promedio de 5 animales experimentales por grupo $\pm$ SEM. Las comparaciones

entre grupos se realizaron con la prueba para datos no paramétricos de Mann-Whitney. $*P \leq 0,05$ frente al grupo de control.

Evaluación de la reactividad del pericito

Mediante inmunofluorescencia se analizó la presencia la proteína α -SMA, un marcador de pericitos contráctiles asociados a capilares (Figura 14). Interesantemente, se observaron decrementos desde los 3 meses en el grupo que consumió una dieta hipercalórica. La proteína disminuyó en un 34%, 51%, 47%, 38% y 72% en el giro dentado, la CA1, la CA3, corteza prefrontal y amígdala cerebral, respectivamente. Por su parte, a los 6 meses en el grupo HC, esta disminución se mantuvo.

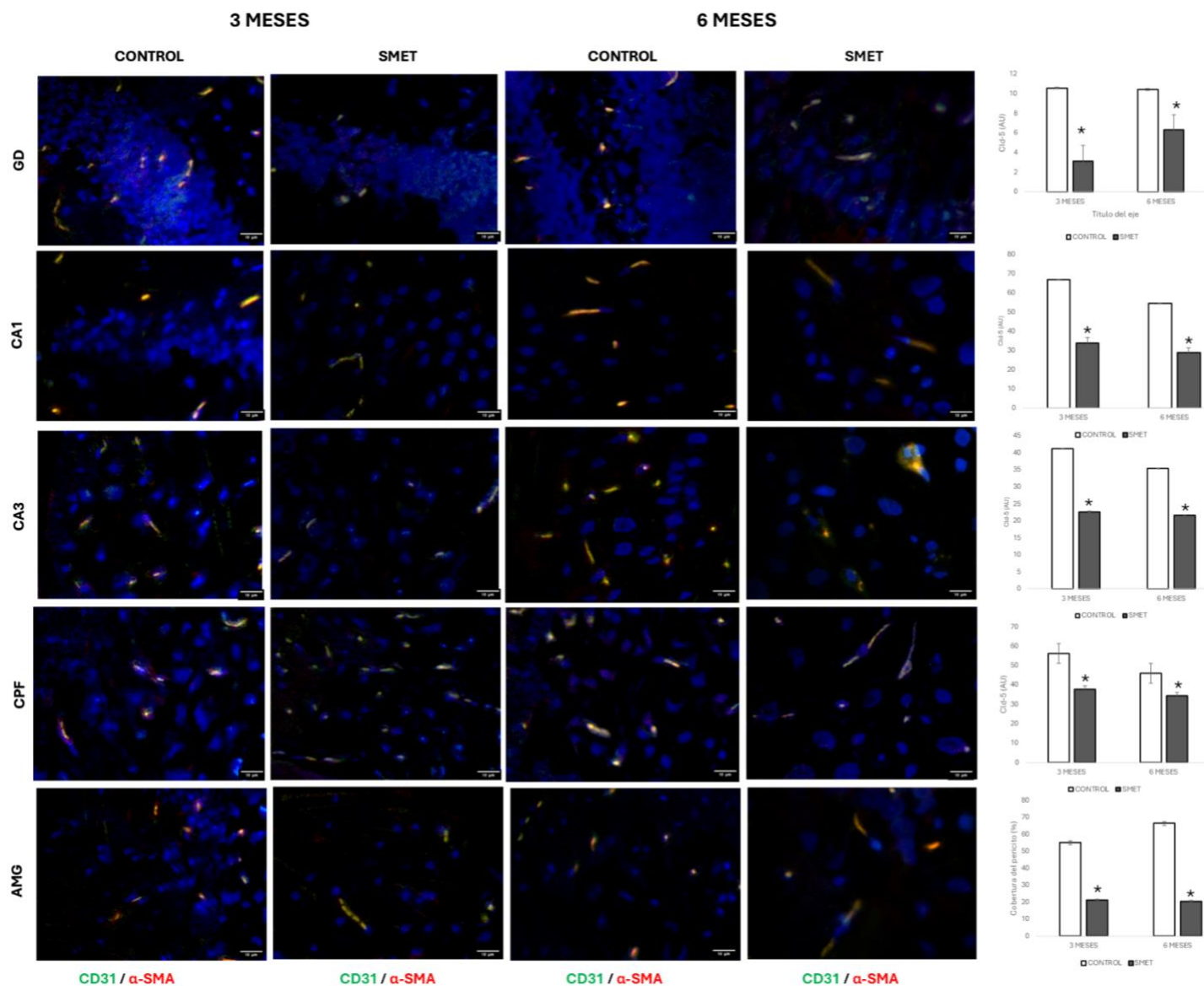


Figura 14. Inmunorreactividad del tejido a α -SMA. Se observan las microfotografías representativas de cada grupo tomadas en el objetivo de 63X correspondientes a los 3 y 6 meses de exposición a una dieta hipercalórica GD: Giro dentado hipocampal; CPF: Corteza prefrontal; AMG: Amígdala. Los resultados son un promedio de 5 animales experimentales por grupo $\pm$ SEM. Las comparaciones entre grupos se realizaron con la prueba para datos no paramétricos de Mann-Whitney. * $P \leq 0,05$ frente al grupo de control.

DISCUSIÓN

El objetivo del presente estudio fue evaluar diversos aspectos de la funcionalidad de la barrera hematoencefálica en un modelo de síndrome metabólico en sus etapas iniciales y tardías. El SMet es una condición clínica caracterizada por un agrupamiento de factores de riesgo metabólico, en el cual existe una asociación importante entre la incidencia y la prevención con los factores modificables del estilo de vida, particularmente los hábitos dietéticos (Castro-Barquero et al., 2020).

Comúnmente se ha descrito que la dieta occidental, cuya característica principal es una sobrecarga continua de calorías provistas por carbohidratos simples, puede ser uno de los principales contribuyentes para desencadenar las vías que inducen la aparición del SMet, y que una simple intervención de modificación de un solo nutriente tiene un gran impacto sobre las alteraciones finales. Los componentes del SMet dan lugar a efectos de gran alcance que son capaces de alterar, además de otros tejidos, al endotelio (Varatharaj & Galea, 2017).

El endotelio cumple con un papel crucial en el mantenimiento de la homeostasis vascular, regulando diversos procesos asociados a proliferación, adhesión celular e inflamación. La disfunción endotelial surge como consecuencia de una serie de estímulos y suele estar ligada a diversos estados patológicos que se derivan de un desequilibrio entre la producción de elementos vasodilatadores y vasoconstrictores. Esta disfunción se puede manifestar como una reducción de la producción y sensibilidad al óxido nítrico (NO); un incremento del estrés oxidativo derivado de factores como LDL oxidadas, homocisteína, glucosa elevada, ácidos grasos libres y angiotensina II (Ang-II); inflamación vascular con liberación de mediadores como interleucinas y quimiocinas; y el estrés de cizallamiento fisiopatológico, que conlleva la degradación del glicocáliz (Wang & He, 2024).

Las células endoteliales poseen un metabolismo enteramente glucolítico. Los niveles elevados de glucosa, como los que se han reportado en nuestro modelo de síndrome metabólico, se han propuesto como uno de los principales estímulos que generan una abundancia de especies reactivas de oxígeno en las CE (Wang & He,

2024). Este estímulo, mediante la activación de polimerasas nucleares, genera inhibiciones de enzimas glucolíticas como la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH), desviando los primeros intermediarios hacia diferentes vías, aumentando el flujo hacia la vía de la hexosamina y de los polioles, incrementando la concentración de diacilglicerol y proporcionando sustratos para la síntesis de metilglioxal (Shah & Brownlee, 2016). El metilglioxal puede modificar covalentemente proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, conduciendo a la formación rápida de productos finales de glicación avanzada (AGE) y productos finales de lipooxidación avanzada; numerosos estudios han puesto de manifiesto la relación causal entre los AGEs con la disfunción endotelial (Yang et al., 2022), los cuales a unirse a su receptor (RAGE) en la superficie celular desencadenan la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y de nitrógeno, activando la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK) y regulando positivamente otros factores como la endotelina-1 (ET-1), como se observó en nuestros resultados tanto en etapas tempranas como tardías del SMet (Wang & He, 2024). Este proceso promueve la vasoconstricción (Abdolahipour et al., 2020).

La disfunción de las células endoteliales también está fuertemente relacionada con la obesidad visceral y la dislipidemia, ambos fenómenos observables en los resultados de nuestro modelo. El incremento de LDL y su unión a su receptor en la superficie endotelial activa cascadas de señalización secundarias que reducen la formación y liberación de NO, e inducen la formación de estrés oxidativo e inflamación (Marzoog, 2022). Aunado a lo anterior, la vía fisiopatológica clásica de la disfunción endotelial también contempla la peroxidación de la membrana lipídica celular y de los organelos, donde la acumulación de malondialdehído como resultado del exceso de lípidos promueven la alteración de la función endotelial (Cao et al., 2023).

Por otro lado, el incremento en la tensión vascular y el estrés cortante también son factores que alteran la función de las CE. Clásicamente el estrés cortante se define como la fuerza ejercida por el flujo sanguíneo sobre las paredes de los vasos; este

estrés genera una respuesta caracterizada por la liberación de mediadores endoteliales que estimulan la remodelación estructural al activar la expresión génica y la síntesis de proteínas (Gautam et al., 2006). Se ha descrito que, en el endotelio, múltiples vías clásicamente implicadas en el desarrollo embrionario, como TGF β , WNT, Notch, y HIF1 α están reguladas por el estrés de cizallamiento (Souilhol et al., 2020).

Cuando el estímulo mecánico es detectado por las CE, se producen señales a través de segundos mensajeros que establecen respuestas a corto o largo plazo (respuesta adaptativa temprana y tardía), en donde se ha informado que se incrementa la expresión de la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS) que, asociada en la membrana plasmática a la caveolina-1, contribuyen a la respuesta angiogénica (Rodríguez & González, 2014), y se producen cambios conformacionales en canales iónicos, de calcio (Ca²⁺), iones de potasio (K⁺) y cloruro (Cl⁻), que modifican el potencial de la membrana celular a través de cambios en la conductancia de los iones (Gautam et al., 2006).

Se ha demostrado que la exposición al flujo continuo, así como el aumento del estrés cortante y la presión arterial con el tiempo durante el desarrollo vascular, requiere una mayor estabilidad de los vasos. Dicha estabilidad de los vasos se logra a través de las interacciones entre la CE, las células murales y la remodelación concomitante de la MEC, incluida la deposición y la reticulación de sus componentes (Stratman & Davis, 2012). El flujo no fisiológico puede alterar la expresión génica, la disposición del citoesqueleto, la adhesión leucocitaria y la respuesta oxidativa e inflamatoria, generando lesiones en el endotelio, promoviendo la migración y una menor adherencia, conduciendo una mayor formación de tubos capilares.

Los resultados en nuestro estudio denotan un incremento de la tensión arterial en los animales que consumieron la dieta hipercalórica. En el ser humano, la hipertensión es uno de los principales factores de riesgo para la aparición de la aterosclerosis, un proceso patológico multifactorial que afecta preferentemente a los bordes exteriores de las bifurcaciones de los vasos (en particular, de las arterias), que al mismo tiempo es detonado por alteraciones en el estrés cortante (Yang et al., 2014).

De acuerdo con diversos mapas de distribución del sistema vascular arterial y venoso en todo el cerebro de un roedor, las arterias y venas correspondientes a las regiones del sistema cortico-límbico presentan diversas curvas de tendencia, enlaces, puntos de origen/término y diversas direcciones de extensión, así como bifurcaciones que contribuyen a la correcta irrigación del hipocampo, y particularmente de la corteza cerebral (Xiong et al., 2017). Las regiones de perturbaciones del flujo cerca de las ramas arteriales, bifurcaciones y curvaturas dan lugar a tensiones de cizallamiento espacio-temporales complejas y sus características pueden predecir la susceptibilidad a la aterosclerosis (Yang et al., 2014).

En este mismo sentido, el glicocáliz endotelial funge también como un mecanosensor que interactúa directamente con el citoesqueleto de las CE y es responsable de la deformación mecánica. El glicocáliz no es una red de soporte inerte, sino una estructura activa y dinámica con un papel fundamental en la regulación de la función vascular en condiciones normales y patológicas, ya que una sola proteína de esta compleja red puede regular la producción de otras. La homeostasis de la MEC vascular puede afectar a las propiedades intrínsecas de la pared y su rigidez (Xu & Shi, 2014).

Nuestros resultados denotan cambios en una de las moléculas principales del glicocáliz cerebral, el syndecano-1. En presencia de flujo elevado, el glicocáliz media la ateroprotección, pero en áreas con estrés de cizallamiento bajo o turbulento, el glicocáliz se altera y el sitio se vuelve propenso a la aterosclerosis o la reactividad endotelial, que conllevan a la aparición de accidentes cerebrovasculares. De esta forma, cuando el endotelio está comprometido, existe una mayor necesidad de reparación y, por lo tanto, una mayor expresión de estas moléculas; este comportamiento se ve reflejado en los incrementos observados de syndecano en las regiones del giro dentado, CA1 y amígdala cerebral (Koo et al., 2013).

En otros estudios realizados tanto *in vitro* como *in vivo* con *knock-out* para el syndecano-1, cuando las CE desprovistas de syndecano se expusieron a un flujo ateroprotector, se vieron afectados varios eventos de señalización temprana clave para

la respuesta al estrés cortante, entre los que se destacan la fosforilación de Akt y la activación de RhoA. Además, se observó un cambio fenotípico a un fenotipo inflamatorio/pro-aterosclerótico en contraste con el fenotipo ateroprotector observado en las células control, así como un incremento de la adhesión y reclutamiento de leucocitos, incrementando la permeabilidad y la inflamación vascular (Voyvodic et al., 2014). Este comportamiento de disminución de esta proteína se observó en nuestros resultados para el giro dentado hipocampal a los 6 meses de dieta hipercalórica, lo que sugiere una pérdida de la barrera de protección endotelial inicial, una mayor probabilidad de migración leucocitaria en la región y desarrollo de eventos trombóticos.

Otro sensor de la membrana plasmática es la caveola. Estas estructuras comprenden alrededor del 30% de la superficie total de las CE capilares. En su composición, cada caveola consta de aproximadamente 140-150 moléculas de caveolina-1. Esta proteína es una importante molécula reguladora de muchas señales y puede inducir la disfunción de las CE a través de una variedad de mecanismos, ya que puede interactuar con la eNOS, el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), las tirosina quinasas de la familia Src y las proteínas G. Al ser un mecanosensor del estrés cortante, transmiten los efectos de este a través de las vías vasodilatadoras el NO y prostaglandinas (Shu & Jin, 2023).

Por otro lado, se ve ampliamente involucrada en los procesos de endocitosis y transcitosis, el cual es independiente de la endocitosis mediada por clatrina, y cuya carga endocítica es principalmente colesterol, albúmina e integrinas. La carga atraviesa la CE sin sufrir degradación por fusión lisosomal, y es liberada al otro lado de la membrana celular, en una bidireccionalidad basal – luminal (Echarri & Del Pozo, 2015).

Uno de los elementos asociados a caveolas y caveolina-1 es el receptor de insulina. La señalización de la insulina es fundamental para la función endotelial y neuronal. Más allá del papel canónico de la insulina en la regulación del metabolismo en todo el cuerpo, la insulina también modifica la actividad neuronal promoviendo la

plasticidad sináptica y mejora la función de la memoria en el cerebro de los mamíferos (Ferreira et al., 2018).

Las alteraciones en la señalización de la insulina se observan comúnmente en el cerebro de los pacientes con diabetes tipo 2 y con enfermedad de Alzheimer. Existe evidencia que indica que la insulina es captada desde el torrente sanguíneo e introducida al parénquima cerebral mediante endocitosis a través de la BHE o mediante el líquido cefalorraquídeo (LCR). Sin embargo, en estados patológicos se han detectado concentraciones reducidas de insulina en el LCR a pesar de los niveles más altos de insulina en plasma, lo que sugiere que puede haber una reducción del transporte de insulina en el SNC (Shetti et al., 2023; Gray et al., 2014). En diversos estudios se ha evaluado la importancia de la caveolina-1 en el proceso de endocitosis de insulina por las CE, evidenciando que, al disminuir los niveles de esta proteína, existe un déficit en la señalización de la hormona dentro del cerebro (Shetti et al., 2023).

En nuestro modelo animal se registraron elevaciones en los niveles de insulina en el plasma desde los primeros tres meses de consumo de dieta hipercalórica, así como elevaciones en el índice HOMA-IR y el índice de resistencia endotelial, elementos que nos indican una afectación de los efectos pleiotrópicos de la insulina en el endotelio. Además, en concordancia con los resultados obtenidos en nuestro proyecto, se observaron ligeras alteraciones en la presencia de caveolina-1 a los 3 meses de consumo de dieta alta en carbohidratos en dos regiones hipocampales principales: el giro dentado y la CA1, así como en la corteza prefrontal; estas mismas regiones se han visto afectadas en otros estados patológicos asociados a la cognición, como la enfermedad de Alzheimer (Rao et al., 2022), en la cual la señalización y efectos neurotróficos de la insulina se han visto comprometidos.

Por otro lado, se sabe que en estados crónicos de concentración elevada de insulina, como resultado de hiperglicemia sostenida, conducen a la resistencia a la hormona. Existen diversos mecanismos asociados a la señalización celular alterada de la insulina: **a)** puede ocurrir como resultado de la desfosforilación del receptor, **b)** y/o

de las proteínas sustrato del receptor en sus residuos de tirosina, c) o por una reducción de la expresión del mismo receptor.

Inicialmente, existe la presencia de estados hiperinsulinémicos compensatorios, los cuales se caracterizan por la presencia de un estímulo de glucosa que desencadena la respuesta pancreática con posterior liberación de insulina. Como la transducción de la señal de insulina es compleja e involucra muchas enzimas y proteínas moduladoras, cualquier defecto en la expresión/función de estos agentes puede afectar la señalización normal de la insulina río abajo a partir de su receptor, conduciendo a una pérdida de la sensibilidad. Se ha puesto en evidencia que la presencia de mediadores inflamatorios, implicados en la activación de diversas vías como la IKK β /NF- κ B y la vía JNK, pueden promover la fosforilación y degradación del sustrato del receptor de insulina 1 (IRS-1), alterando la señalización. Por otra parte, la inflamación también puede suprimir la vía PI3K-Akt mediante la S-nitrosilación de Akt (Yaribeygi et al., 2019).

A este respecto, la capacidad de los receptores de insulina para unirse a los ligandos también es un factor clave en la señalización adecuada de la insulina, por lo que cualquier disminución en el número de receptores o cualquier mutación en el mismo altera notablemente la unión de la insulina y las vías de señalización posteriores, determinando la presencia de resistencia a la insulina (Yaribeygi et al., 2019).

No obstante, aunque los mecanismos de la resistencia a la insulina cerebral no se encuentran precisamente esclarecidos como en tejidos de la periferia, se piensa que pueden ser inducidos por el incremento de ácidos grasos circulantes y por la activación de la microglía y astrocitos que liberan citocinas proinflamatorias (Scherer et al., 2021), los cuales previamente se han reportado como incrementados y activados en nuestro modelo de estudio (González, 2023)

La regulación de la cascada de señalización de la insulina se encuentra bien descrita en los tejidos diana de la insulina clásica, donde los efectos esperados son los asociados al metabolismo. No obstante, la señalización funcional de la insulina

también se encuentra en otros tejidos diana no clásicos, como la vasculatura. Está descrito que la característica dosis-respuesta y el curso temporal de la eliminación de glucosa son paralelos a los efectos vasodilatadores mediados por la insulina en tejidos como el músculo esquelético, por lo que se concluyó que la insulina favorece la integración de un mayor reclutamiento capilar y un mayor flujo sanguíneo total, y ambas acciones se reducen y retardan en estados de resistencia a la insulina (Artunc et al., 2016).

Entre las vías activadas por la señalización de la insulina, la activación de MAPK es un importante mecanismo de control de la proliferación y diferenciación celular. No obstante, los efectos en el endotelio son muy particulares. Después de unirse al receptor de insulina endotelial, la insulina activa la vía PI3K, induciendo la fosforilación de la eNOS, incrementando su actividad y favoreciendo la vasodilatación. No obstante, también estimula la vía MAPK, induciendo la expresión y secreción de ET-1, que estimula la vasoconstricción y la proliferación de las células musculares lisas vasculares. Estos efectos se ven alterados en situaciones de insulinoresistencia, donde la vía PI3K se ve interrumpida y la producción de NO se reduce, mientras que la vía MAPK no se ve afectada o se ve aumentada, lo que da como resultado un desequilibrio que promueve la vasoconstricción, la proliferación de las células musculares lisas vasculares y, finalmente, la hipertensión (Jenkins et al., 2020; Artunc et al., 2016).

La ET-1 se encuentra asociada a la regulación y realización de una gran cantidad de procesos que ocurren en el cuerpo humano sano, relacionados con regulación de reacciones al estrés, cicatrización, regulación de la rigidez vascular, y se le ha asociado a ciertos trastornos neurodegenerativos. Existe una distribución heterogénea de sus receptores dentro del espectro de tejidos, por lo que su interacción con uno u otro receptor promueve resultados multifuncionales. El receptor ET-A en el músculo liso conduce a la vasoconstricción, mientras que la interacción con el receptor ET-B regula la secreción de NO y prostaciclina PGI₂ (Torres et al., 2021).

La homeostasis desplazada de ET-1 puede influir y predecir el desarrollo y la progresión de condiciones de salud subóptimas, alteraciones metabólicas con complicaciones en cascada, envejecimiento y patologías relacionadas, enfermedades cardiovasculares y patologías neurodegenerativas. Se ha observado que, en sujetos con un IMC elevado, una condición presente en nuestros modelos animales, se presenta un claro detrimento de su salud cardiovascular junto con una mayor morbilidad y mortalidad, derivando en incrementos de tensión arterial. En consecuencia, esto provoca una inestabilidad entre la vía NO y el sistema ET-1 como resultado de una interrupción en la homeostasis vascular. Además, existen otros factores que contribuyen a la inestabilidad, como el TNF- α , que directamente induce la secreción de ET-1 en la CE vascular (Torres et al., 2021).

Nuestros resultados muestran que la exposición a la dieta hipercalórica puede desplazar la homeostasis de la ET-1, generando un incremento sostenido del péptido en todas las regiones cortico-límbicas evaluadas desde los 3 hasta los 6 meses de consumo de la dieta alta en carbohidratos.

La ET-1, además, puede afectar la constricción de los pericitos microvasculares cerebrales, induciendo un estado de senescencia tanto en los pericitos como en las CE. También es capaz de estimular a la proteína contráctil α -SMA presente en los pericitos, así como los marcadores de microglía activa (Edgerton-Fulton et al., 2024).

Los pericitos cerebrales son células multifuncionales que desempeñan funciones esenciales en la formación vascular y el mantenimiento de la integridad de la BHE, así como en la generación de nuevos vasos sanguíneos. Se ha demostrado que su desprendimiento es clave para desencadenar la generación de vasos sanguíneos nacientes, promoviendo la migración de las CE, además de liberar el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y la proteína homóloga del locus neurogénico Notch 3. Su presencia es necesaria para el correcto ensamblaje de la MEC endotelial (Hamilton et al., 2010).

Los estudios muestran que la interacción paracrina CE-pericito también afecta su acoplamiento, ya que se ha visto que en ausencia de la señalización del factor de

crecimiento derivado de plaquetas de barrera cerebral (PDGF-BB) por parte de las CE, la cobertura de pericitos en el lecho microvascular se reduce (Stratman et al., 2011). Aunado a esto, la pérdida de pericitos provoca el fracaso de la formación de uniones estrechas entre las CE, lo que conduce a un aumento anormal de la permeabilidad de la BHE, derivando en un daño crónico que precede a la lesión neuronal. Estudios realizados en modelos de Alzheimer demuestran que en esta enfermedad el número de pericitos, y la cobertura en la corteza y el hipocampo de los sujetos se reducen significativamente (Senguillo et al., 2013). Por otro lado, en estudios realizados en modelos de diabetes, existe también un aumento anormal de los vasos no perfundidos y una reducción drástica de los pericitos dentro de la vasculatura, así como una falta de reclutamiento en los vasos recién formados durante las respuestas angiogénicas (Stratman et al., 2011). Estos resultados concuerdan con lo observado en nuestro estudio, donde la presencia de proteína marcadora contráctil se redujo hasta en un 50% en regiones como el giro dentado hipocampal, manteniendo el descenso de la cobertura del vaso hasta los 6 meses de consumo de dieta hipercalórica.

Otros estudios relacionados muestran que los pericitos, al estar expuestos a la hiperglucemia, a la glicación avanzada y a los productos (AGE), disminuyen la expresión de integrina $\alpha 1$, el receptor beta del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR β) y conexina 43, lo que provoca una lesión de la BHE (Rom et al., 2020). Los estímulos proinflamatorios derivados de la microglía, como la IL-1 β , inducen la apoptosis del pericito a través de la activación de NF- κ B en condiciones de alta glucosa, pero no en las células endoteliales. Sin embargo, cuando se co-cultivan pericitos y células endoteliales, se incrementa la permeabilidad entre las CE, al reducir la cantidad de proteína de unión estrecha (Yun, 2021).

Cuando se altera la dinámica de la BHE, se pueden generar cambios disruptivos, los cuales han sido evidenciados en nuestros resultados, con la extravasación del trazador de alto peso molecular conocido como Azul de Evans, y

cambios no disruptivos, los cuales ocurren a nivel molecular y brindan el punto de partida para la comprensión de dichos fenómenos macroscópicos (Varatharaj & Galea, 2017).

Los cambios no disruptivos involucran principalmente las alteraciones en la transcitosis, la reactividad de la NVU y la expresión de las proteínas de la unión estrecha (Serlin et al, 2011). Previamente se ha discutido en nuestro estudio la presencia de alteraciones en la reactividad neurovascular. La NVU al desregularse puede derivar en malformaciones vasculares cerebrales, en las que las vías de señalización angiogénica se activan y conducen a la formación de nuevos vasos permeables y disfuncionales a través de varios modelos de neovascularización, donde pueden surgir nuevos vasos a partir de otros preexistentes (angiogénesis germinal), a partir de angioblastos (vasculogénesis) o de la división de vasos existentes (angiogénesis intususceptiva o angiogénesis de división) (Wälchli et al., 2023).

De entre estos procesos, la angiogénesis de división implica el desarrollo de anastomosis iniciada por las células endoteliales que luego se expanden al crecer en circunferencia, fusionarse y remodelarse en columnas, transformando los vasos en asas vasculares (Ali et al., 2019). Nuestros resultados evidencian tanto en la histología fluorescente por Azul de Evans como en el marcaje por inmunofluorescencia que, desde los 3 meses de consumo de la dieta alta en carbohidratos, en donde la vasculatura presentó cambios morfológicos, signos de anastomosis y expansión del endotelio, lo que podría denotar procesos de neovascularización como mecanismo de adaptación a la inflamación crónica. La neovascularización y la angiogénesis traen consigo alteraciones en las proteínas que conforman las uniones estrechas.

Las uniones estrechas están compuestas por diferentes tipos de proteínas transmembrana, entre las que destacan Claudina-5 y Ocludina, y un complejo conjunto de proteínas citosólicas que unen la membrana de unión con el citoesqueleto para regular la función de barrera endotelial, entre las que se mencionan principalmente ZO-1 y las proteínas JAM. Estos complejos proteicos son altamente dinámicos, y la expresión y/o localización de las proteínas individuales puede

modificarse en respuesta a factores estresantes fisiopatológicos. La regulación de las uniones endoteliales entre células es de vital importancia para los procesos de inflamación y angiogénesis (Tornavaca et al., 2015; Lochhead et al., 2020), así como en el crecimiento y la proliferación celular.

Diversos estudios afirman que las uniones estrechas son centros de señalización intracelular que regulan la actividad de pequeñas Rho GTPasas, como RhoA y Cdc42, lo que afecta la organización de la red de actina-miosina y la contracción en la unión (Schwayer et al., 2019). No obstante, el papel de ZO-1 como regulador de la tensión celular y como probable transductor de señales ha cobrado relevancia.

Nuestros resultados muestran que a los 3 meses de consumo de la dieta hipercalórica existe una disminución de los niveles de ZO-1 en todas las regiones evaluadas. En este sentido, la evidencia respalda la noción de que la microglía activa puede regular la dinámica de la NVU durante el desarrollo y hasta la edad adulta, alterando la angiogénesis y el desarrollo de la BHE (Saili et al., 2017). Ante la presencia de factores proinflamatorios como TNF- α e IL-1 β , los cuales previamente han sido reportados como incrementados en las regiones evaluadas y que son liberados por la microglía activa de tipo M1, los niveles de ZO-1 pueden verse afectados; asimismo, ante la liberación de marcadores de daño endotelial como las angiopoyetinas (particularmente la angiopoyetina-2) podrían afectar directamente la actividad de las caveolas y de la metaloproteinasa 9, derivando en una disminución de los niveles de ZO-1 (Zhu et al., 2005; Voirin et al., 2020).

Se ha reportado que una reducción de la expresión de ZO-1 puede reducir la tensión en la VE-cadherina, una proteína específica de adhesión endotelial, además de otras proteínas de adhesión, provocando una redistribución del citoesqueleto y la formación de fibras de estrés. Esto a su vez puede afectar los niveles de Claudina-5 presentes, incrementando su degradación lisosomal, aunque los mecanismos no están completamente descritos (Tornavaca et al., 2015). Lo anterior sugiere que una reducción de ZO-1 tiene como efecto la alteración de la mecánica directa del endotelio

y su respuesta a los estímulos, lo que podría permitir el paso de moléculas de gran tamaño restringidas a la vasculatura, como el Azul de Evans, lo que se observó en nuestros resultados.

Por otro lado, la depleción de claudina-5 es un determinante crítico de la permeabilidad de la BHE, por lo que una disminución en sus niveles conduce directamente a un defecto selectivo en la barrera de permeabilidad endotelial, y no a otros cambios fenotípicos inducidos por la depleción de ZO-1 (Tornavaca et al., 2015). Se ha reportado que en modelos de rata Zucker con inducción de estados hiperglicémicos, existen fluctuaciones en los niveles de claudina-5 en la zona hipocámpal, así como a una mayor permeabilidad a fluoresceína sódica (Yoo et al., 2016), lo que está en concordancia con lo reportado por Kanoski y colaboradores en 2010, al estimular a las ratas con una dieta alta en calorías.

Nuestros resultados, en contraste con lo observado en las mediciones correspondientes a ZO-1, registran una ligera disminución no significativa de los niveles de claudina-5, a los 3 meses de consumo de dieta HC, con una disminución más pronunciada que se vuelve estadísticamente significativa a los 6 meses de su consumo. Estos cambios en el patrón de proteínas de unión presentes en nuestros animales podrían indicar que los resultados obtenidos al evaluar la presencia de Azul de Evans en el tejido pueden derivarse directamente de la diferencia en la dinámica de expresión de las proteínas de unión estrecha en los diferentes tiempos de corte evaluados, y que la ausencia de uno u otro factor de unión puede generar patrones de alteración de la permeabilidad muy particulares.

Cuando la BHE sufre alteraciones, el microambiente cerebral se modifica y se generan lesiones y anomalías, tanto en neuronas como en células de la glía, que preceden a la aparición de las enfermedades neurodegenerativas. Un suministro adecuado de sangre y nutrientes es un factor decisivo para preservar la función de cualquier región cerebral, al grado de que existe una correlación positiva entre el flujo sanguíneo y el rendimiento cognitivo. Este suministro depende de una correcta regulación de la vasculatura y del funcionamiento de la NVU, ya que son las células

que la conforman las que modulan el flujo sanguíneo para satisfacer las demandas energéticas que se presentan dentro del parénquima (Chen et al., 2024; Perosa et al., 2020). Cuando ciertos elementos de la NVU se alteran, como los pericitos, se modifica el flujo sanguíneo cerebral regional, alterando la función neuronal óptima.

Este aspecto es especialmente relevante en regiones del sistema cortico-límbico, como el hipocampo, donde se ha explorado que el suministro sanguíneo en esta región cerebral se ve íntimamente relacionado con la memoria verbal declarativa, la construcción verbal y una amplia gama de procesos cognitivos. Cuando el suministro vascular es reducido, las neuronas hipocampales se vuelven más vulnerables a la lesión, la degeneración y la inflamación (Perosa et al., 2020), situaciones que han sido observadas en sujetos con Alzheimer.

De la misma forma, existen diferencias vasculares sustanciales en la corteza prefrontal que incrementan su vulnerabilidad ante alteraciones de la BHE, ya que se ha observado que posee capilares con diámetro más pequeño y una menor densidad de CE conformando el lumen (una sola célula), por lo que los cambios en el flujo sanguíneo (derivados de incremento de la tensión arterial) y de disponibilidad de nutrientes, así como los cambios en el transporte paracelular y transcelular impactan de manera muy directa en esta región cerebral. Las CE de la corteza poseen además una mayor interacción con los pericitos y los extremos de los astrocitos, viéndose afectada la comunicación conjunta de la NVU ante la disminución de contacto con éstas células gliales (Nagpurwala et al., 2024).

Por otra parte, diversos estudios han demostrado que la neuroinflamación observada durante la inducción del SMet (González, 2023), puede ocasionar cambios en regiones cerebrales involucradas en la regulación de las emociones, como la amígdala cerebral, siendo que diversos inductores inflamatorios se han asociado a comportamiento depresivo y el desarrollo de ansiedad en roedores. Los mecanismos sugieren que estos factores influyen tanto en la excitabilidad neuronal como en la liberación de neurotransmisores, y la expresión de receptores y transportadores (Hu et al., 2022).

En su conjunto, el sistema cortico-límbico, al ser una red que coordina regiones cerebrales que integran la cognición y las emociones para generar comportamientos flexibles, requiere del mantenimiento de una integridad estructural muy particular. La disfunción de la BHE que funge como puerta de comunicación entre este sistema y el resto del cuerpo puede conducir a respuestas desadaptativas que están íntimamente asociadas a la psicopatología, modificando la respuesta al estrés del individuo e incrementando la vulnerabilidad al desarrollo de trastornos neuropsiquiátricos (Rusbridge, 2020).

Clásicamente, los componentes del SMet solo se habían considerado como independientes entre sí con un efecto que convergía en un posible daño neuronal. No obstante, la interesante hipótesis de que las alteraciones metabólicas pueden conducir a diversos grados de trastorno cognitivo, y que a su vez estos trastornos se reflejan en los efectos de la periferia ha llevado al desarrollo de un nuevo término asociativo, el "síndrome metabólico-cognitivo", en el que todavía falta por explorar los trastornos metabólicos, las alteraciones cognitivas y los límites entre las condiciones normales y las patológicas (Farooqui et al., 2012).

CONCLUSIONES

El consumo de una dieta hipercalórica durante 3 y 6 meses:

- Favorece la aparición de las características distintivas del SMet en rata macho Wistar adulto similares a las del humano.
- Incrementa de manera significativa la permeabilidad de la barrera hematoencefálica en las regiones del hipocampo, corteza prefrontal y amígdala cerebral, afectando la expresión de ZO-1 y Claudina-5, así como la transcitosis asociada a caveola.
- Modifica la expresión de elementos sensores del glicocáliz endotelial, como el syndecano-1.
- Favorece la vasoconstricción asociada a insulinoresistencia endotelial mediada por ET-1, y desfavorece la vasocontractibilidad asociada al pericitos.
- La alteración de la barrera hematoencefálica es tiempo y región cerebral dependiente, con dinámicas particulares dependiendo del tipo de vascularización subregionalizada.

PERSPECTIVAS

- Analizar el funcionamiento del eje PDGFB/PDGFR β sobre el reclutamiento de pericitos en la unidad neurovascular en el SMet.
- Evaluar la activación de vías de angiogénesis cerebral aberrantes durante la exposición a una dieta hipercalórica.
- Analizar el papel de la resistencia a la insulina endotelial cerebral sobre los efectos moduladores de la hormona en el cerebro durante el SMet.

BIBLIOGRAFÍA

1. Fahed, G., Aoun, L., Bou Zerdan, M., Allam, S., Bou Zerdan, M., Bouferraa, Y., Assi, H. I., Metabolic syndrome: Updates on pathophysiology and management in 2021. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(2), 786.
2. Maiuolo, J., Gliozzi, M., Musolino, V., Carresi, C., Scarano, F., Nucera, S., Scicchitano, M., Bosco, F., Ruga, S., Zito, M. C., Macri, R., Bulotta, R., Muscoli, C., Mollace, V. From metabolic syndrome to neurological diseases: Role of autophagy. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2021, 9, 651021.
3. Treviño S, Díaz A, González-López G, Guevara J. Differential biochemical-inflammatory patterns in the astrocyte-neuron axis of the hippocampus and frontal cortex in Wistar rats with metabolic syndrome induced by high fat or carbohydrate diets. *J Chem Neuroanat*. 2022 Dec;126:102186. doi: 10.1016/j.jchemneu.2022.102186.
4. Zhang P, Zhang X, Gao B, Gao Y, Pan Y. The impact of metabolic syndrome on the cerebral cortex: a Mendelian randomization study. *Cereb Cortex*. 2024 Aug 27;34(8):bhae342.
5. Gizem, Y., & Abdullah, Y. (2018). Metabolic Syndrome and Neurodegenerative Diseases. *Journal of geriatric medicine and gerontology*, 4(2). <https://doi.org/10.23937/2469-5858/1510042>
6. Marzoog, B. A. (2022). Recent advances in molecular biology of metabolic syndrome pathophysiology: endothelial dysfunction as a potential therapeutic target. *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders*, 21(2), 1903–1911. <https://doi.org/10.1007/s40200-022-01088-y>
7. Tran, V., De Silva, T. M., Sobey, C. G., Lim, K., Drummond, G. R., Vinh, A., & Jelinic, M. The vascular consequences of metabolic syndrome: Rodent

- models, endothelial dysfunction, and current therapies. *Frontiers in Pharmacology*, 2020, 11, 148.
8. Noe, C. R., Noe-Letschnig, M., Handschuh, P., Noe, C. A., & Lanzenberger, R. Dysfunction of the blood-brain barrier-A key step in neurodegeneration and dementia. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 2020, 12, 185.
 9. Alahmari, A. Blood-brain barrier overview: Structural and functional correlation. *Neural Plasticity*, 2021, 6564585.
 10. Witjas FMR, van den Berg BM, van den Berg CW, Engelse MA, Rabelink TJ. Concise Review: The Endothelial Cell Extracellular Matrix Regulates Tissue Homeostasis and Repair. *Stem Cells Transl Med*. 2019 Apr;8(4):375-382.
 11. Xiao, M., Xiao, Z. J., Yang, B., Lan, Z., & Fang, F. Blood-brain barrier: More contributor to disruption of central nervous system homeostasis than victim in neurological disorders. *Frontiers in neuroscience*, 2020, 14.
 12. Kaplan, L., Chow, B. W., & Gu, C. (2020). Neuronal regulation of the blood-brain barrier and neurovascular coupling. *Nature Reviews. Neuroscience*, 21(8), 416–432. <https://doi.org/10.1038/s41583-020-0322-2>
 13. Jin, J., Fang, F., Gao, W., Chen, H., Wen, J., Wen, X., & Chen, J. (2021). The structure and function of the glycocalyx and its connection with blood-brain barrier. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 15, 739699. <https://doi.org/10.3389/fncel.2021.739699>
 14. Yoo DY, Yim HS, Jung HY, Nam SM, Kim JW, Choi JH, Seong JK, Yoon YS, Kim DW, Hwang IK. Chronic type 2 diabetes reduces the integrity of the blood-brain barrier by reducing tight junction proteins in the hippocampus. *J Vet Med Sci*. 2016 Jul 1;78(6):957-62. doi: 10.1292/jvms.15-0589.
 15. Zihni C, Mills C, Matter K, Balda MS. Tight junctions: from simple barriers to multifunctional molecular gates. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2016 Sep;17(9):564-80. doi: 10.1038/nrm.2016.80.

16. Lochhead JJ, Yang J, Ronaldson PT, Davis TP. Structure, Function, and Regulation of the Blood-Brain Barrier Tight Junction in Central Nervous System Disorders. *Front Physiol.* 2020 Aug 6;11:914.
17. Pardridge, W. M. (2005). The blood-brain barrier: Bottleneck in brain drug development. *Neurotherapeutics: The Journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, 2(1), 3–14. <https://doi.org/10.1007/bf03206638>
18. Warren E, Gerecht S. BEYOND THE ENDOTHELIUM: THE ROLE OF MURAL CELLS IN VASCULAR BIOLOGY: In vitro systems to study endothelial/pericyte cell interactions. *Vasc Biol.* 2023 Feb 6;5(1):e220021.
19. Brown, L. S., Foster, C. G., Courtney, J.-M., King, N. E., Howells, D. W., & Sutherland, B. A. (2019). Pericytes and neurovascular function in the healthy and diseased brain. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 13, 282. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00282>
20. McConnell, H. L., & Mishra, A. (2022). Cells of the blood-brain barrier: An overview of the neurovascular unit in health and disease. *Methods in Molecular Biology* (Clifton, N.J.), 2492, 3–24. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2289-6_1
21. Benarroch, E. E. (2016). Astrocyte signaling and synaptic homeostasis: II: Astrocyte-neuron interactions and clinical correlations. *Neurology*, 87(7), 726–735. <https://doi.org/10.1212/wnl.0000000000003019>
22. Stackhouse TL, Mishra A. Neurovascular Coupling in Development and Disease: Focus on Astrocytes. *Front Cell Dev Biol.* 2021 Jul 12;9:702832.
23. Khodadadei, F., Arshad, R., Morales, D. M., Gluski, J., Marupudi, N. I., McAllister, J. P., 2nd, Limbrick, D. D., Jr, & Harris, C. A. (2022). The effect of A1 and A2 reactive astrocyte expression on hydrocephalus shunt failure. *Fluids and Barriers of the CNS*, 19(1), 78. <https://doi.org/10.1186/s12987-022-00367-3>

24. Kim, H., Leng, K., Park, J., Sorets, A. G., Kim, S., Shostak, A., Embalabala, R. J., Mlouk, K., Katdare, K. A., Rose, I. V. L., Sturgeon, S. M., Neal, E. H., Ao, Y., Wang, S., Sofroniew, M. V., Brunger, J. M., McMahon, D. G., Schrag, M. S., Kampmann, M., & Lippmann, E. S. (2022). Reactive astrocytes transduce inflammation in a blood-brain barrier model through a TNF-STAT3 signaling axis and secretion of alpha 1-antichymotrypsin. *Nature Communications*, 13(1), 6581. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-34412-4>
25. Xiao, M., Xiao, Z. J., Yang, B., Lan, Z., & Fang, F. (2020). Blood-brain barrier: More contributor to disruption of central nervous system homeostasis than victim in neurological disorders. *Frontiers in neuroscience*, 14. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00764>
26. Alahmari, A. (2021). Blood-brain barrier overview: Structural and functional correlation. *Neural Plasticity*, 2021, 6564585. <https://doi.org/10.1155/2021/6564585>
27. Muddapu, V. R., Dharshini, S. A. P., Chakravarthy, V. S., & Gromiha, M. M. (2020). Neurodegenerative diseases - is metabolic deficiency the root cause? *Frontiers in Neuroscience*, 14, 213. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00213>
28. Andjelkovic, A. V., Stamatovic, S. M., Phillips, C. M., Martinez-Revollar, G., & Keep, R. F. (2020). Modeling blood-brain barrier pathology in cerebrovascular disease in vitro: current and future paradigms. *Fluids and Barriers of the CNS*, 17(1), 44. <https://doi.org/10.1186/s12987-020-00202-7>
29. Moody, D. M., Bell, M. A., & Challa, V. R. (1990). Features of the cerebral vascular pattern that predict vulnerability to perfusion or oxygenation deficiency: an anatomic study. *AJNR. American Journal of Neuroradiology*, 11(3), 431–439
30. Spallazzi, M., Dobisch, L., Becke, A., Berron, D., Stucht, D., Oeltze-Jafra, S., Caffarra, P., Speck, O., & Düzel, E. Hippocampal vascularization patterns: A high-resolution 7 Tesla time-of-flight magnetic resonance angiography study. *NeuroImage. Clinical*, 2019, 21(101609), 101609.

31. Adams, D. L., Piserchia, V., Economides, J. R., & Horton, J. C. (2015). Vascular supply of the cerebral cortex is specialized for cell layers but not columns. *Cerebral Cortex* (New York, N.Y.: 1991), 25(10), 3673–3681. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhu221>
32. Sánchez-Navarro, J. P., & Román, F. (2004). Amígdala, corteza prefrontal y especialización hemisférica en la experiencia y expresión emocional. *An. psicol*, 223–240. <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/en/ibc-36458>
33. Di Marino, V., Etienne, Y., & Niddam, M. (2016). Vascularization of the Cerebral Amygdala. En *The Amygdaloid Nuclear Complex* (pp. 107–109). Springer International Publishing.
34. Mrdjen, D., Fox, E. J., Bukhari, S. A., Montine, K. S., Bendall, S. C., & Montine, T. J. (2019). The basis of cellular and regional vulnerability in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathologica*, 138(5), 729–749. <https://doi.org/10.1007/s00401-019-02054-4>
35. Rojas-Martínez, R., Aguilar-Salinas, C. A., Romero-Martínez, M., Castro-Porras, L., Gómez-Velasco, D., & Mehta, R. (2021). Trends in the prevalence of metabolic syndrome and its components in Mexican adults, 2006-2018. *Salud Pública de México*, 63(6,v-Dic), 713–724. <https://doi.org/10.21149/12835>
36. Blom, K., Emmelot-Vonk, M. H., & Koek, H. L. (2013). The influence of vascular risk factors on cognitive decline in patients with dementia: a systematic review. *Maturitas*, 76(2), 113–117. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2013.06.011>
37. Yuan, Y., Sun, J., Dong, Q., & Cui, M. (2023). Blood-brain barrier endothelial cells in neurodegenerative diseases: Signals from the “barrier”. *Frontiers in Neuroscience*, 17, 1047778. <https://doi.org/10.3389/fnins.2023.1047778>
38. Castro-Barquero S, Ruiz-León AM, Sierra-Pérez M, Estruch R, Casas R. Dietary Strategies for Metabolic Syndrome: A Comprehensive Review. *Nutrients*. 2020 Sep 29;12(10):2983.

39. Wang X, He B. Endothelial dysfunction: molecular mechanisms and clinical implications. *MedComm* (2020). 2024 Jul 22;5(8):e651.
40. Shah MS, Brownlee M. Molecular and Cellular Mechanisms of Cardiovascular Disorders in Diabetes. *Circ Res*. 2016 May 27;118(11):1808-29.
41. Yang Z, Zhang W, Lu H, Cai S. Methylglyoxal in the Brain: From Glycolytic Metabolite to Signalling Molecule. *Molecules*. 2022 Nov 15;27(22):7905.
42. Abdolahi-pour R, Nowrouzi A, Khalili MB, Meysamie A, Ardalani S. Aqueous *Cichorium intybus* L. seed extract may protect against acute palmitate-induced impairment in cultured human umbilical vein endothelial cells by adjusting the Akt/eNOS pathway, ROS: NO ratio and ET-1 concentration. *J Diabetes Metab Disord*. 2020 Aug 10;19(2):1045-1059.
43. Marzoug BA. Recent advances in molecular biology of metabolic syndrome pathophysiology: endothelial dysfunction as a potential therapeutic target. *J Diabetes Metab Disord*. 2022 Aug 31;21(2):1903-1911.
44. Cao R, Tian H, Zhang Y, Liu G, Xu H, Rao G, Tian Y, Fu X. Signaling pathways and intervention for therapy of type 2 diabetes mellitus. *MedComm* (2020). 2023 Jun 7;4(3):e283.
45. Rodríguez I, González M. Physiological mechanisms of vascular response induced by shear stress and effect of exercise in systemic and placental circulation. *Front Pharmacol*. 2014 Sep 16;5:209.
46. Gautam M, Shen Y, Thirkill TL, Douglas GC, Barakat AI. Flow-activated chloride channels in vascular endothelium. Shear stress sensitivity, desensitization dynamics, and physiological implications. *J Biol Chem*. 2006 Dec 1;281(48):36492-500.
47. Stratman AN, Davis GE. Endothelial cell-pericyte interactions stimulate basement membrane matrix assembly: influence on vascular tube remodeling, maturation, and stabilization. *Microsc Microanal*. 2012 Feb;18(1):68-80.
48. Xu J, Shi GP. Vascular wall extracellular matrix proteins and vascular diseases. *Biochim Biophys Acta*. 2014 Nov;1842(11):2106-2119.

49. Koo A, Dewey CF Jr, García-Cardena G. Hemodynamic shear stress characteristic of atherosclerosis-resistant regions promotes glycocalyx formation in cultured endothelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2013 Jan 15;304(2):C137-46.
50. Shu Y, Jin S. Caveolin-1 in endothelial cells: A potential therapeutic target for atherosclerosis. *Heliyon*. 2023 Jul 25;9(8):e18653.
51. Echarri A, Del Pozo MA. Caveolae - mechanosensitive membrane invaginations linked to actin filaments. *J Cell Sci*. 2015 Aug 1;128(15):2747-58.
52. Ferreira LSS, Fernandes CS, Vieira MNN, De Felice FG. Insulin Resistance in Alzheimer's Disease. *Front Neurosci*. 2018 Nov 13;12:830.
53. Shetti AU, Ramakrishnan A, Romanova L, Li W, Vo K, Volety I, Ratnayake I, Stephen T, Minshall RD, Cologna SM, Lazarov O. Reduced endothelial caveolin-1 underlies deficits in brain insulin signalling in type 2 diabetes. *Brain*. 2023 Jul 3;146(7):3014-3028.
54. Gray SM, Meijer RI, Barrett EJ. Insulin regulates brain function, but how does it get there? *Diabetes*. 2014 Dec;63(12):3992-7.
55. Rao YL, Ganaraja B, Murlimanju BV, Joy T, Krishnamurthy A, Agrawal A. Hippocampus and its involvement in Alzheimer's disease: a review. *3 Biotech*. 2022 Feb;12(2):55.
56. Scherer T, Sakamoto K, Buettner C. Brain insulin signalling in metabolic homeostasis and disease. *Nat Rev Endocrinol*. 2021 Aug;17(8):468-483.
57. Jenkins HN, Rivera-Gonzalez O, Gibert Y, Speed JS. Endothelin-1 in the pathophysiology of obesity and insulin resistance. *Obes Rev*. 2020 Dec;21(12):e13086.
58. Torres Crigna A, Link B, Samec M, Giordano FA, Kubatka P, Golubnitschaja O. Endothelin-1 axes in the framework of predictive, preventive and personalised (3P) medicine. *EPMA J*. 2021 Aug 4;12(3):265-305.

59. Edgerton-Fulton M, Abdul Y, Jamil S, Ergul A. Endothelin-1 (ET-1) contributes to senescence and phenotypic changes in brain pericytes in diabetes-mimicking conditions. *Clin Sci (Lond)*. 2024 Aug 21;138(16):1009-1022.
60. Hamilton NB, Attwell D, Hall CN. Pericyte-mediated regulation of capillary diameter: a component of neurovascular coupling in health and disease. *Front Neuroenergetics*. 2010 May 21;2:5.
61. Stratman AN, Davis GE. Endothelial cell-pericyte interactions stimulate basement membrane matrix assembly: influence on vascular tube remodeling, maturation, and stabilization. *Microsc Microanal*. 2012 Feb;18(1):68-80.
62. Sengillo JD, Winkler EA, Walker CT, Sullivan JS, Johnson M, Zlokovic BV. Deficiency in mural vascular cells coincides with blood-brain barrier disruption in Alzheimer's disease. *Brain Pathol*. 2013 May;23(3):303-10.
63. Yang JW, Cho KI, Kim JH, Kim SY, Kim CS, You GI, Lee JY, Choi SY, Lee SW, Kim HS, Heo JH, Cha TJ, Lee JW. Wall shear stress in hypertensive patients is associated with carotid vascular deformation assessed by speckle tracking strain imaging. *Clin Hypertens*. 2014 Sep 25;20:10. doi: 10.1186/2056-5909-20-10.
64. Souilhol C, Serbanovic-Canic J, Fragiadaki M, Chico TJ, Ridger V, Roddie H, Evans PC. Endothelial responses to shear stress in atherosclerosis: a novel role for developmental genes. *Nat Rev Cardiol*. 2020 Jan;17(1):52-63.
65. Xiong B, Li A, Lou Y, Chen S, Long B, Peng J, Yang Z, Xu T, Yang X, Li X, Jiang T, Luo Q, Gong H. Precise Cerebral Vascular Atlas in Stereotaxic Coordinates of Whole Mouse Brain. *Front Neuroanat*. 2017 Dec 19;11:128.
66. Yaribeygi H, Farrokhi FR, Butler AE, Sahebkar A. Insulin resistance: Review of the underlying molecular mechanisms. *J Cell Physiol*. 2019 Jun;234(6):8152-8161.

67. Artunc F, Schleicher E, Weigert C, Fritsche A, Stefan N, Häring HU. The impact of insulin resistance on the kidney and vasculature. *Nat Rev Nephrol*. 2016 Dec;12(12):721-737.
68. Daugherty A, Rateri D, Hong L, Balakrishnan A. Measuring blood pressure in mice using volume pressure recording, a tail-cuff method. *J Vis Exp*. 2009 May 15;(27):1291. doi: 10.3791/1291.
69. Perosa V, Priester A, Ziegler G, Cardenas-Blanco A, Dobisch L, Spallazzi M, Assmann A, Maass A, Speck O, Oltmer J, Heinze HJ, Schreiber S, Düzel E. Hippocampal vascular reserve associated with cognitive performance and hippocampal volume. *Brain*. 2020 Feb 1;143(2):622-634.
70. Chen Tongli, Dai Yan, Hu Chenghao, Lin Zihao, Wang Shengzhe, Yang Jing, Zeng Linghui, Li Shanshan, Li Weiyun. Cellular and molecular mechanisms of the blood-brain barrier dysfunction in neurodegenerative diseases. *Fluids and Barriers of the CNS* (2024), 21:60.
71. Pfau SJ, Langen UH, Fisher TM, Prakash I, Nagpurwala F, Lozoya RA, Lee WA, Wu Z, Gu C. Characteristics of blood-brain barrier heterogeneity between brain regions revealed by profiling vascular and perivascular cells. *Nat Neurosci*. 2024 Oct;27(10):1892-1903. doi: 10.1038/s41593-024-01743-y.
72. Hu P, Lu Y, Pan BX, Zhang WH. New Insights into the Pivotal Role of the Amygdala in Inflammation-Related Depression and Anxiety Disorder. *Int J Mol Sci*. 2022 Sep 21;23(19):11076. doi: 10.3390/ijms231911076.
73. Rusbridge C. Neurobehavioral Disorders: The Corticolimbic System in Health and Disease. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 2020 Sep;50(5):1157-1181. doi: 10.1016/j.cvsm.2020.06.009.
74. Farooqui AA, Farooqui T, Panza F, Frisardi V. Metabolic syndrome as a risk factor for neurological disorders. *Cell Mol Life Sci*. 2012 Mar;69(5):741-62. doi: 10.1007/s00018-011-0840-1.