



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS-ICUAP  
POSGRADO EN CIENCIAS QUÍMICAS  
MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICAS  
ÁREA: BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR



Facultad de Ciencias Químicas BUAP

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN MITOCONDRIAL EN  
HIPOCAMPO DE RATA WISTAR CON RESISTENCIA A  
INSULINA INDUCIDA POR EL CONSUMO DE UNA DIETA  
HIPERGLÚCIDA

TESIS PRESENTADA PARA OBTENER EL GRADO DE: MAESTRÍA EN  
CIENCIAS QUÍMICAS EN EL ÁREA DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA  
MOLECULAR

PRESENTA:

QFB KAREN CARRETO MENESES

DIRECTOR DE TESIS:

D.C. SAMUEL TREVIÑO MORA

OCTUBRE 2025



# Ciencia y Tecnología

Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación



Vicerrectoría de Investigación  
y Estudios de Posgrado

*Este proyecto fue realizado gracias al apoyo de la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), mediante la beca nacional para estudios de posgrado otorgada a la estudiante Karen Carreto Meneses (1311580).*



**BUAP**

Oficio No. PCQ/300/2025

**Mtro. Alfredo Avendaño Arenaza**  
**Director General de Bibliotecas**  
**Benemérita Universidad Autónoma de Puebla**  
**Presente**

A través de este medio me dirijo a usted para informarle que la tesis con título **Evaluación de la función mitocondrial en hipocampo de rata Wistar con resistencia a insulina inducida por consumo de una dieta hiperglúcida**, ha sido avalada bajo los preceptos de integridad académica; por tanto, se autoriza la impresión de tesis de la alumna:

Nombre de la alumna: **Karen Carreto Meneses**  
Matrícula: **223470215**  
Facultad: **Facultad de Ciencias Químicas – Instituto de Ciencias**  
Programa Educativo: **Maestría en Ciencias Químicas**  
Licenciatura o Posgrado: **Posgrado**

Sin más por el momento, agradezco la atención al presente.

**ATENTAMENTE**  
**“Pensar bien, para vivir mejor”**  
**H. Puebla de Z., a 27 de octubre de 2025**

  
D.C. Juan Manuel Solano Altamirano  
Secretario Académico



  
D.C. Samuel Treviño Mora  
Director de Tesis

Posgrado en Ciencias Químicas  
FCQ - ICUAP

Edif. FCQ10, Ciudad Universitaria,  
Col. San Manuel, Puebla, Pue.  
C.P. 72570  
22-22-29-55-00 Ext. 7397

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer a mi familia y amigos por las palabras de aliento y el apoyo que siempre me dieron. También a mis compañeros del posgrado y a la gente que conocí durante el tiempo en el programa, sobre todo a los colegas del laboratorio, que hicieron que el lab fuera un lugar más divertido para trabajar.

Además, un gracias especial a mis sinodales por su ayuda en la revisión y gracias a los doctores y compañeros que me apoyaron en los experimentos, sin su colaboración, no habría podido llevar a cabo todo esto.

Cada uno de ustedes sabe cómo me apoyaron durante el período del posgrado y les agradezco profundamente.

## RESUMEN

La resistencia a la insulina (RI) es una alteración metabólica clave que se presenta tras el consumo de dietas hipercalóricas ricas en carbohidratos, provocando desequilibrios en la homeostasis energética y contribuyendo al desarrollo trastornos neurodegenerativos. En el cerebro, la RI afecta la función mitocondrial, esencial para la bioenergética neuronal, y puede inducir estrés oxidativo y disfunción sináptica. Por ello, se analizó el efecto de la RI inducida por dieta hiperglúcida en la dinámica y morfología mitocondrial del hipocampo de ratas Wistar. Se emplearon ratas macho Wistar divididas en un grupo control (dieta estándar NCD) y un grupo HCD (dieta MX/E/2013/047377 con 71.4% de azúcares), que consumieron la dieta durante 3 meses. Se caracterizó la RI en el modelo mediante pruebas de tolerancia oral a la glucosa, índices HOMA-IR y Matsuda-DeFronzo y un perfil lipídico. En mitocondrias de hipocampo aisladas, se evaluó la síntesis de ATP con diferentes sustratos (piruvato+malato, glutamato+malato y succinato), además del potencial de membrana mitocondrial ( $\Delta\Psi_m$ ), junto con la dinámica incluyendo fusión, fisión y mitofagia, y la morfología mediante microscopía electrónica de transmisión.

Los resultados confirmaron el desarrollo de RI en el grupo HCD, con hiperinsulinemia, intolerancia a la glucosa y dislipidemia. En la síntesis de ATP, se observó un mantenimiento de la obtención de ATP a partir de piruvato+malato, disminución con glutamato+malato y aumento con succinato, sugiriendo una adaptación metabólica. En cambio, el  $\Delta\Psi_m$  se incrementó en CA1, CA3 y giro dentado. En la dinámica mitocondrial se presentó una disminución de Mfn1 sin cambios en Opa1, p-Drp1 y Fis1, y aumento de Pink1 y Parkina, sugiriendo una activación de la mitofagia. Mientras que morfológicamente, en el soma neuronal, la longitud mitocondrial disminuyó y el ancho de crestas aumentó, indicando fisión mitocondrial; en axones, el número de mitocondrias disminuyó, pero la longitud y el ancho de cresta aumentaron, sugiriendo fusión compensatoria. En conclusión, la RI inducida por dieta hiperglúcida altera la bioenergética, dinámica y morfología mitocondrial en el hipocampo, favoreciendo la mitofagia, lo que podría contribuir a la disfunción neuronal y a procesos neurodegenerativos tempranos asociados al metabolismo desregulado.

## **ABSTRACT**

Insulin resistance (IR) is a key metabolic alteration that occurs after the consumption of hypercaloric diets high in carbohydrates, causing energy homeostasis imbalances and contributing to neurodegenerative disorders. In the brain, IR affects mitochondrial function, which is essential for neuronal bioenergetics, and can induce oxidative stress and synaptic dysfunction. Therefore, the IR effect caused by a high-carbohydrate diet on mitochondrial dynamics and morphology in the hippocampus of Wistar rats was analyzed. Male Wistar rats were divided into a control group (standard NCD diet) and an HCD group (MX/E/2013/047377 diet with 71.4% sugars), which consumed both diets for 3 months. IR in the model was characterized through oral glucose tolerance tests, HOMA-IR, Matsuda-DeFronzo index, and a lipid profile. In isolated hippocampal mitochondria, ATP synthesis with different substrates (pyruvate+malate, glutamate+malate, and succinate), mitochondrial membrane potential ( $\Delta\Psi_m$ ), dynamics including fusion, fission, mitophagy, and morphology via transmission electron microscopy were evaluated.

The results confirmed the development of IR in the HCD group, with hyperinsulinemia, glucose intolerance, and dyslipidemia. In ATP synthesis, maintenance of ATP production from pyruvate+malate was observed, decreased with glutamate+malate, and increased with succinate, suggesting metabolic adaptations. In contrast,  $\Delta\Psi_m$  increased in CA1, CA3, and the dentate gyrus. In mitochondrial dynamics, a decrease in Mfn1 was observed without changes in Opa1, p-Drp1, and Fis1, and an increase in Pink1 and Parkin, suggesting activation of mitophagy. Morphologically, in the neuronal soma, mitochondrial length decreased, and crest width increased, indicating mitochondrial fission; in axons, the number of mitochondria decreased, but length and crest width increased, suggesting compensatory fusion.

In conclusion, IR induced by a high-carbohydrate diet alters mitochondrial bioenergetics, dynamics, and morphology in the hippocampus, favoring mitophagy, which could contribute to neuronal dysfunction and neurodegenerative processes associated with deregulated metabolism.

# ÍNDICE

<b>AGRADECIMIENTOS .....</b>	<b>3</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>5</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>6</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS .....</b>	<b>9</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>13</b>
<b>1. MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>14</b>
<b>1.1. DIETAS HIPERCALÓRICAS.....</b>	<b>14</b>
<b>1.1.1. DIETAS ALTAS EN LÍPIDOS .....</b>	<b>15</b>
<b>1.1.2. DIETAS ALTAS EN CARBOHIDRATOS .....</b>	<b>16</b>
<b>1.1.2.1. DIETA ALTA EN FRUCTOSA .....</b>	<b>17</b>
<b>1.1.2.2. DIETA ALTA EN GLUCOSA .....</b>	<b>18</b>
<b>1.2. VÍAS CANÓNICAS Y NO CANÓNICAS DE LA SECRECIÓN DE INSULINA .....</b>	<b>20</b>
<b>1.3. PÉRDIDA DE LA SENSIBILIDAD A LA INSULINA .....</b>	<b>22</b>
<b>1.4. RESISTENCIA A INSULINA FISIOLÓGICA Y PATOLÓGICA .....</b>	<b>24</b>
<b>1.5. HIPERINSULINEMIA COMPENSATORIA .....</b>	<b>25</b>
<b>1.6. PASO DE LA INSULINA A TRAVÉS DE LA BARRERA HEMATOENCEFÁLICA .....</b>	<b>26</b>
<b>1.7. INSULINA PERIFÉRICA E INSULINA CEREBRAL .....</b>	<b>27</b>
<b>1.8. ACCIONES DE LA INSULINA EN EL CEREBRO .....</b>	<b>28</b>
<b>1.9. INSULINA E HIPOCAMPO .....</b>	<b>30</b>
<b>1.10. DINÁMICA Y FUNCIÓN MITOCONDRIAL .....</b>	<b>31</b>
<b>1.11. BIOENERGÉTICA MITOCONDRIAL HIPOCAMPAL .....</b>	<b>35</b>
<b>1.12. DISTRIBUCIÓN MITOCONDRIAL EN NEURONAS HIPOCAMPALES .....</b>	<b>36</b>
<b>1.13. DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL HIPOCAMPAL Y SUS CONSECUENCIAS .....</b>	<b>37</b>
<b>2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....</b>	<b>40</b>
<b>3. JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>42</b>
<b>4. OBJETIVOS .....</b>	<b>43</b>
<b>4.1 OBJETIVO GENERAL .....</b>	<b>43</b>
<b>4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....</b>	<b>43</b>
<b>5. HIPÓTESIS .....</b>	<b>43</b>
<b>5.1 HIPÓTESIS NULA .....</b>	<b>43</b>
<b>5.2 HIPÓTESIS ALTERNATIVA .....</b>	<b>43</b>
<b>6. DIAGRAMA DE TRABAJO.....</b>	<b>44</b>
<b>7. METODOLOGÍA .....</b>	<b>45</b>
<b>7.1 MODELO ANIMAL.....</b>	<b>45</b>
<b>7.2 CONFORMACIÓN DE GRUPOS.....</b>	<b>45</b>
<b>7.3 DETERMINACIONES SÉRICAS .....</b>	<b>45</b>
<b>7.4 SÍNTESIS DE ATP .....</b>	<b>45</b>
<b>7.5 WESTERN BLOT .....</b>	<b>46</b>
<b>7.6 DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL DE MEMBRANA MITOCONDRIAL .....</b>	<b>46</b>
<b>7.7 ESTUDIO DE LA MORFOLOGÍA MITOCONDRIAL.....</b>	<b>47</b>
<b>7.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....</b>	<b>47</b>

<b>8.</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>48</b>
	<i>8.1 MODELO DE RESISTENCIA A LA INSULINA .....</i>	<i>48</i>
	<i>8.2 CUANTIFICACIÓN DE ATP.....</i>	<i>50</i>
	<i>8.3 POTENCIAL DE MEMBRANA MITOCONDRIAL (<math>\Delta\Psi_M</math>) .....</i>	<i>52</i>
	<i>8.4 DINÁMICA MITOCONDRIAL .....</i>	<i>53</i>
	<i>8.5 MORFOLOGÍA MITOCONDRIAL .....</i>	<i>55</i>
<b>9.</b>	<b>DISCUSION DE RESULTADOS.....</b>	<b>57</b>
	<b>IMPACTO DE LA HCD EN LA PRODUCCIÓN DE ATP MITOCONDRIAL EN HIPOCAMPO .....</b>	<b>61</b>
	<b>POTENCIAL DE MEMBRANA MITOCONDRIAL .....</b>	<b>64</b>
	<b>ALTERACIONES EN LA DINÁMICA MITOCONDRIAL .....</b>	<b>67</b>
	<b>CAMBIOS EN LA MORFOLOGÍA MITOCONDRIAL .....</b>	<b>70</b>
<b>10.</b>	<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>72</b>
<b>11.</b>	<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>72</b>
<b>12.</b>	<b>ANEXOS .....</b>	<b>93</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

AA	Ácido araquidónico
A $\beta$	Amiloide beta
ADP	Adenosín difosfato
AMPK	Cinasa activada por AMP
ANLS	Transporte de lactato astrocito-neurona
ATP	Adenosín trifosfato
BBB	Barrera hematoencefálica
BAI3	Inhibidor de la angiogénesis específica del cerebro 3
BECs	Células endoteliales cerebrales
BDNF	Factor neurotrófico derivado del cerebro
CA1	Cornu Ammonis 1
CA3	Cornu Ammonis 3
cAMP	Adenosín monofosfato cíclico
cSIS	Secreción de insulina estimulada por cAMP
ChREBP	Proteína de unión a elementos reguladores de carbohidratos
C1ql3	Complemento 1q like-3
CREB	Proteína de unión al elemento de respuesta a cAMP
DAG	Diacilglicerol
DRP1	Proteína relacionada con la Dinamina 1
DT2	Diabetes tipo 2
EA	Enfermedad de Alzheimer
ECV	Enfermedades cardiovasculares
END	Enfermedades neurodegenerativas
EP	Enfermedad de Parkinson
Epac2	Proteína de intercambio activada por cAMP 2
ETC	Cadena de transporte de electrones
FADH2	Flavina adenina dinucleótido reducido
Fis1	Fisión mitocondrial 1
GABA	Ácido gamma-aminobutírico
GD	Giro dentado

GIP	Péptido insulíntrópico glucosa-dependiente
GLP-1	Péptido similar al glucagón tipo 1
GLUT1	Transportador de glucosa tipo 1
GLUT2	Transportador de glucosa tipo 2
GLUT3	Transportador de glucosa tipo 3
GLUT4	Transportador de glucosa tipo 4
GLUT5	Transportador de glucosa tipo 5
GLUT8	Transportador de glucosa tipo 8
GLUT12	Transportador de glucosa tipo 12
GPCR	Receptor acoplado a proteína G
GSK-3 $\beta$	Glicógeno sintasa cinasa 3 beta
GTP	Guanina trifosfato
GTPasa	Guanina trifosfato hidrolasa
HCD	Dieta hipercalórica
HFD	Dieta alta en grasas
HKII	Hexoquinasa II
HOMA-IR	Modelo de evaluación de homeostasis - resistencia a insulina
ICV	Intracerebroventricular
IGF-1	Factor de crecimiento similar a insulina tipo 1
IGF-1R	Receptor de IGF-1
IGT	Intolerancia a la glucosa alterada
IL-6	Interleucina 6
IL-12	Interleucina 12
IMM	Membrana mitocondrial interna
IMS	Espacio intermembrana
IR	Resistencia a insulina
IRS-1	Sustrato del receptor de insulina 1
KATP	Canal de potasio sensible a ATP
Kv2.1	Canal de potasio voltaje-dependiente 2.1
LCR	Líquido cefalorraquídeo
LDL	Lipoproteínas de baja densidad

LDH1	Enzima lactato deshidrogenasa
LTP	Potenciación a largo plazo
LTD	Depresión a largo plazo
MFF	Factor de fisión mitocondrial
MFN1	Mitofusina 1
MFN2	Mitofusina 2
MiD49/51	Proteínas de dinámica mitocondrial 49/51
MICOS	Complejo de sitio de contacto mitocondrial y organización de crestas
MMP	Potencial de membrana mitocondrial
mRNA	ARN mensajero
NADH	Nicotinamida adenina dinucleótido reducido
NCD	Dieta estándar
NEFAs	Ácidos grasos no esterificados
NF- $\kappa$ B	Factor nuclear kappa B
NSCs	Células madre neurales
OMA1	Metaloproteasa mitocondrial 1
OPA1	Atrofia óptica 1
OMM	Membrana mitocondrial externa
OXPHOS	Fosforilación oxidativa
PFKFB3	6-fosfofructo-2-quinasa/fructosa 2,6-bisfosfatasa-3
PINK1	Quinasa 1 inducida por PTEN
PKA	Proteína cinasa A
PKC	Proteína cinasa C
PLC $\epsilon$	Fosfolipasa C épsilon
PP2A	Fosfatasa 2A de proteína
RRP	Pool fácilmente liberable
RIP	Resistencia a insulina patológica
ROS	Especies reactivas de oxígeno
SGLT1	Transportador de sodio-glucosa 1
SMet	Síndrome metabólico
SNC	Sistema nervioso central

SREBP-1c	Proteína de unión a elementos reguladores de esteroides 1c
TCA	Ciclo del ácido tricarbóxico
TFAM	Factor de transcripción A mitocondrial
TMRE	Éster etílico de tetrametilrodamina
TNF $\alpha$	Factor de necrosis tumoral alfa
VDCC	Canales de calcio dependientes de voltaje
VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad
YME1L	Metaloproteasa mitocondrial YME1L
$\Delta\Psi_m$	Potencial de membrana mitocondrial
$\Delta p$	Fuerza protón-motriz
$\Delta pH$	Gradiente de pH
2DG	2-desoxi-D-glucosa
3-NP	ácido 3-nitropropiónico

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Caracterización metabólica de los grupos experimentales.....	43
<b>Figura 2.</b> Evaluación de la insulinoresistencia.....	44
<b>Figura 3.</b> Perfil lipídico sérico en condiciones de ayuno. ....	45
<b>Figura 4.</b> Medición de la síntesis de ATP con diferentes sustratos.....	46
<b>Figura 5.</b> Potencial de membrana mitocondrial ( $\Delta\Psi_m$ ).....	47
<b>Figura 6.</b> Efecto de HCD en la fusión mitocondrial.....	48
<b>Figura 7.</b> Efecto de HCD en la fisión mitocondrial.....	49
<b>Figura 8.</b> Efecto de HCD en la mitofagia.....	50
<b>Figura 9.</b> Fotomicrografías de TEM de mitocondrias somáticas de hipocampo.....	51
<b>Figura 10.</b> Fotomicrografías de TEM de mitocondrias axonales de hipocampo.....	52

# 1. MARCO TEÓRICO

## 1.1. Dietas hipercalóricas

Las dietas hipercalóricas se caracterizan por un exceso de ingesta energética que supera las necesidades metabólicas del organismo. En el contexto de la transición alimentaria y nutricional, estas dietas han reemplazado patrones tradicionales por opciones procesadas y densas en calorías (Ibarra-Sánchez et al., 2016). Históricamente, la alimentación tradicional mexicana se basaba en maíz y frijol junto con vegetales y semillas, proporcionando un alto aporte energético de carbohidratos complejos y fibra, pero baja en grasas (Ibarra-Sánchez et al., 2016, Mata Rodríguez et al., 2021). Sin embargo, la apertura comercial y la incorporación de México al mundo globalizado aceleraron los cambios socioculturales que modificaron la cultura alimentaria (Ibarra-Sánchez et al., 2016). De esta manera, la dieta tradicional ha sido reemplazada por alimentos ultraprocesados, hipercalóricos y de bajo valor nutritivo, como comida rápida empaquetada, refrescos, pastas refinadas y productos de panadería (Mata Rodríguez et al., 2021). Esto ha implicado un aumento en el consumo de colesterol, grasas saturadas, sodio y azúcares simples, resultando en graves consecuencias para la salud pública, como el sobrepeso y la obesidad (Ibarra-Sánchez et al., 2016, Mata Rodríguez et al., 2021).

El consumo de macronutrientes en México ha experimentado cambios significativos, particularmente en los carbohidratos, que han sufrido una transformación en su tipo y calidad al pasar de carbohidratos complejos a carbohidratos simples. De manera similar, la ingesta de grasas ha aumentado de forma notable, mientras que, en cuanto a las proteínas, su contribución calórica ha permanecido estable, aunque con desplazamiento de fuentes vegetales a animales (Ibarra-Sánchez et al., 2016). Estos patrones hipercalóricos, particularmente aquellos altos en lípidos y carbohidratos, alteran la regulación metabólica y sirven de base para investigar sus impactos en la secreción y acción de la insulina, así como en la función cerebral.

### 1.1.1. Dietas altas en lípidos

Una dieta alta en lípidos (HFD, por sus siglas en inglés) es aquella en la que al menos el 30% de las calorías totales provienen de lípidos, tanto saturados como insaturados, y típicamente oscila entre el 30% y el 60% de grasa en su composición (Willebrords et al., 2015). Este tipo de dieta se emplea comúnmente en modelos experimentales con roedores para inducir experimentalmente condiciones patológicas relevantes para la salud humana, como la obesidad, resistencia a la insulina, el hígado graso, el síndrome metabólico, la esteatohepatitis no alcohólica y el deterioro cognitivo, ayudando a comprender los mecanismos de enfermedades relacionadas con el exceso calórico (Adolph & Tilg, 2024; Duan et al., 2018; Willebrords et al., 2015). No obstante, las respuestas metabólicas varían según la cantidad de grasa, su composición, la duración del consumo de la dieta, así como factores como la especie, la cepa y el género del animal (Soret et al., 2020; Takahashi, 2012). Por ejemplo, estas dietas pueden desencadenar obesidad, intolerancia a la glucosa, dislipidemia, aumento de la lipogénesis, producción de citoquinas proinflamatorias y estrés oxidativo en grados diferentes (Soret et al., 2020; Takahashi, 2012). En particular, una HFD rica en grasas insaturadas promueve una peroxidación lipídica hepática más pronunciada y una mayor expresión de quimiocinas y citoquinas en comparación con aquellas basadas en grasas saturadas (Nanji, 2004).

Las fuentes de grasa comúnmente empleadas en las HFD incluyen aceites vegetales como el de maíz, maní, soya y girasol, así como manteca de cerdo, pero se ha reportado que diferentes grasas dietéticas generan efectos fisiológicos y en el microbioma intestinal distintos (An et al., 2022). En particular, una HFD rica en grasas insaturadas promueve una peroxidación lipídica hepática más pronunciada y una mayor expresión de quimiocinas y citoquinas en comparación con aquellas basadas en grasas saturadas (Nanji, 2004). Además, estudios en ratones alimentados con una HFD enriquecida con tocino presentan un impacto mayor en la sensibilidad hepática a la insulina que una basada en aceite de palma (van den Berg et al., 2010). En general, el consumo de HFD puede asemejar a las patologías humanas, lo que lo convierte en un modelo valioso para investigar los mecanismos subyacentes a las alteraciones metabólicas inducidas por dietas hipercalóricas. Esta evidencia sobre los riesgos de las dietas altas en lípidos contrasta con enfoques históricos que buscaban mitigarlos mediante la reducción drástica de grasas y el

aumento de carbohidratos, cuya lógica inicial parecía impecable pero ha sido reevaluada por investigaciones recientes que destacan los peligros de ambos extremos.

### **1.1.2. Dietas altas en carbohidratos**

Los carbohidratos, también conocidos como sacáridos, constituyen un grupo de compuestos químicos que abarca azúcares, almidón y celulosa (Witek et al., 2022). Estos se clasifican en cuatro subgrupos según su grado de polimerización, determinado por la longitud de la cadena de carbohidratos: monosacáridos (con una sola unidad de azúcar), disacáridos (con dos unidades), oligosacáridos (de tres a nueve unidades) y polisacáridos (con diez o más unidades) (Witek et al., 2022). Al principio, la lógica de las dietas bajas en grasas y altas en carbohidratos parecía simple e impecable; la grasa es altamente calórica, con el doble de calorías por onza en comparación con los carbohidratos o las proteínas, y los alimentos ricos en grasas suelen contener colesterol, un contribuyente clave a las enfermedades cardíacas. La conclusión más razonable parecía ser que reducir la ingesta de grasas y depender más de los carbohidratos para obtener energía facilitaría la pérdida de peso y mejoraría la salud cardiovascular, lo que llevó al desarrollo de tales regímenes para estos fines (Mendelson, 2008).

Sin embargo, lo que se sabe ahora, respaldado por evidencia creciente, revela que una dieta alta en carbohidratos y baja en grasas también puede ser un factor de riesgo significativo (L. Zhang et al., 2023). A pesar de la confirmación previa de que el alto contenido de grasa es un factor significativo en las enfermedades metabólicas, en los últimos años, cada vez más estudios han sugerido que la ingesta excesiva de carbohidratos contribuye igualmente al desarrollo del síndrome metabólico (SMet) (L. Zhang et al., 2023). De hecho, una dieta alta en carbohidratos y baja en grasas (HCLF) es tan dañina como una dieta alta en grasas y calorías, en cuanto al desarrollo y progresión de la lesión hepática en ratones (Pompili et al., 2020; Yan et al., 2022).

Las dietas ricas en carbohidratos superan el 60% de la energía total y generan efectos metabólicos perjudiciales, como el aumento de la resistencia a la insulina (RI), con un impacto especialmente adverso en condiciones preexistentes de esta, tales como la diabetes tipo 2 (DT2) o el embarazo (Frost, 2003). Varios estudios clínicos a corto plazo han demostrado que las dietas con alto contenido de carbohidratos e índice glucémico reducen la sensibilidad a la insulina e

influyen negativamente en los perfiles lipídicos, tanto en sujetos normoglicémicos como en diabéticos (Reddy, 2013) . Por lo que este tipo de dieta exhibe efectos metabólicos perjudiciales comparables a los de las altas en lípidos, exacerbando desequilibrios que promueven SMet.

#### **1.1.2.1. Dieta alta en fructosa**

El azúcar común, derivado de la caña de azúcar, es un disacárido formado por glucosa y fructosa unidas por un vínculo glucosídico  $\alpha$ 1-4 (Tappy et al., 2010). La fructosa, que representa aproximadamente la mitad de su composición, también aparece como monosacárido en frutas y miel (Tappy et al., 2010). En épocas recientes, se han desarrollado edulcorantes alternativos a partir del almidón de maíz, mediante su hidrólisis a glucosa y la conversión enzimática parcial a fructosa, generando el jarabe de maíz de alta fructosa. Este producto ofrece beneficios industriales clave, como su costo reducido, y ha desplazado gradualmente al azúcar tradicional en el consumo de América del Norte en las últimas tres décadas (White, 2008; Wolf et al., 2008).

En el tracto digestivo, la fructosa se absorbe mediante transportadores específicos de carbohidratos simples o monoméricos como el GLUT5 (Corpe et al., 1999; Douard & Ferraris, 2008). Una vez absorbida, la fructosa pasa a la vena porta y se metaboliza casi exclusivamente en el hígado (Tappy et al., 2010). Sus etapas iniciales no requieren insulina, por lo que no eleva significativamente los niveles de la hormona en sangre ni estimula su secreción (Tappy et al., 2010). Esto ocurre debido a que una porción de la molécula se transforma en lactato y glucosa en los enterocitos intestinales, mientras que la mayoría llega al hígado, donde enzimas como la fructoquinasa, aldolasa B y triocinasa la convierten rápidamente en fructosa-1-fosfato y triosas-fosfatos (Tappy et al., 2010).

A diferencia de la glucosa, el metabolismo de la fructosa no se ve inhibido por el ADP o el citrato, lo que implica una falta de regulación por el balance energético celular (Tappy et al., 2010). Como resultado, casi toda la fructosa ingerida se transforma en triosas-fosfatos en el hígado (Mayes, 1993). Estos intermediarios se oxidan localmente, se convierten en glucosa o lactato para su liberación a la circulación sanguínea, o se almacenan como glucógeno (Tappy et al., 2010). Una fracción menor, pero relevante, se destina a la síntesis de triglicéridos vía

lipogénesis *de novo* en hepatocitos (Parks et al., 2008), un proceso asociado directamente a las alteraciones metabólicas.

Inicialmente, la fructosa se consideró un reemplazo ideal para la sacarosa en diabéticos debido a su independencia de la insulina y su mínimo efecto en la glucemia. No obstante, investigaciones en animales y humanos han revelado consecuencias metabólicas graves, en periodos de tiempo relativamente cortos (Bizeau & Pagliassotti, 2005), incluyendo elevación de triglicéridos plasmáticos, acumulación de grasa en el hígado, intolerancia glucídica, RI e incluso hipertensión (Havel, 2005; Lê & Tappy, 2006). Las dietas ricas en sacarosa o jarabe de maíz de alta fructosa, comunes en bebidas y productos procesados, desencadenan una secuencia de alteraciones que fomentan las patologías antes mencionadas (Israel et al., 1983; Reaven, 1991).

En animales, las dietas altas en fructosa generan simultáneamente obesidad y resistencia a la insulina, influenciadas por el aumento de la masa grasa, su distribución y depósitos ectópicos en hígado y músculo, contribuyendo al desarrollo de SMet. En humanos, la grasa abdominal y visceral se asocia con riesgos metabólicos y cardiovasculares (Klein et al., 2004; VAGUE, 1956), y la grasa intrahepática correlaciona fuertemente con RI y SMet (Klein et al., 2004; Wildman, 2009). La fructosa promueve grasa visceral (Stanhope et al., 2009) e intrahepática (Lê et al., 2009), sugiriendo que su estimulación de la lipogénesis hepática genera depósito de grasa local, mayor secreción de VLDL-TG y RI selectivamente hepática, lo que podría extenderse a grasa visceral y, eventualmente, a lipotoxicidad muscular y resistencia sistémica.

#### **1.1.2.2. Dieta alta en glucosa**

A diferencia de la fructosa, el metabolismo hepático de la glucosa está estrictamente regulado por la insulina y las demandas energéticas del organismo, permitiendo que una porción significativa de la glucosa ingerida pase rápidamente por la vena porta y se distribuya a tejidos periféricos como músculo y cerebro para su utilización inmediata (Tappy et al., 2010). Esta regulación contrasta con la fructosa, ya que la glucosa estimula la secreción insulínica postprandial, promoviendo su transporte vía GLUT4, 8 y 12 (Mayes, 1993).

El metabolismo normal de la glucosa tiene una regulación dinámica, manteniendo concentraciones plasmáticas estables entre 72–144 mg/dL (4–8 mmol/L) mediante un equilibrio entre la entrada (ingesta exógena o producción endógena vía gluconeogénesis/glicogenólisis) y la salida (utilización periférica o excreción como glucosuria en casos patológicos) (Garrison et al., 2015). La digestión de carbohidratos (polisacáridos, oligosacáridos y disacáridos) por amilasa y glicosidasas intestinales libera monosacáridos como glucosa, absorbidos vía SGLT1/GLUT5 en enterocitos y liberados al portal por GLUT2, alcanzando primero el hígado (Leighton et al., 2017; Regnell & Lernmark, 2017). La hiperglucemia postprandial estimula la secreción insulínica de células  $\beta$  pancreáticas, inhibiendo localmente el glucagón de células  $\alpha$  y potenciando el "efecto incretina" (N. Zhang et al., 2019). El hígado capta glucosa para oxidación, gluconeogénesis o síntesis de triacilgliceroles, mientras que el excedente llega a tejidos periféricos; la insulina moviliza GLUT4 en músculo y tejido adiposo, controlando la glucemia postprandial <140 mg/dL (7.8 mmol/L) a las 2 horas (Mihir et al., 2023).

En ayuno (postabsortivo, >12 h), la insulina disminuida y el glucagón elevado activan la glucogenólisis y gluconeogénesis hepática, manteniendo la homeostasis mientras la lipólisis adiposa provee ácidos grasos y cetonas como fuentes de energía alternas. En ayuno prolongado (>24 h), el cerebro reduce la demanda de glucosa al oxidar cetonas, preservando proteínas musculares. A nivel celular, la glucosa entra vía transportadores GLUT (14 isoformas, tejido específico: GLUT1/3 en cerebro, GLUT2 en hígado/páncreas/riñón, GLUT4 insulino-regulado en músculo/adiposo) (Mihir et al., 2023). En el citosol, hexoquinasa fosforila glucosa a glucosa-6-fosfato, atrapándola para la glucólisis, vía que genera piruvato, 2 ATP netos y 2 NADH, con paso limitante por fosfofructoquinasa-1 inhibida por 2-desoxi-D-glucosa (2DG) (Mihir et al., 2023). Bajo hipoxia, la glucólisis anaeróbica produce lactato; con oxígeno, piruvato entra al ciclo de los ácidos tricarboxílicos (TCA) o ciclo de Krebs mitocondrial, generando NADH/FADH<sub>2</sub> para fosforilación oxidativa y ~30-32 ATP por glucosa. La gluconeogénesis hepática revierte la glicólisis (excepto pasos irreversibles: piruvato-PEP, fructosa-1,6-bisfosfato-fructosa-6-fosfato, glucosa-6-fosfato-glucosa), usando lactato/glicerol/aminoácidos para mantener la glucemia en ayuno. Estas vías se interconectan con el metabolismo lipídico y proteico (vía acetil-CoA, pentosa fosfato para NADPH/nucleótidos, ciclo urea para amoníaco), destacando cómo dietas altas en glucosa pueden desequilibrar la homeostasis celular si exceden

la capacidad de respuesta de la insulina, exacerbando hiperinsulinemias y la resistencia en contextos crónicos (Mihir et al., 2023).

## 1.2. Vías canónicas y no canónicas de la secreción de insulina

La señalización de insulina en las células  $\beta$  del páncreas sigue un modelo canónico que describe cómo la glucosa estimula la secreción de insulina (GSIS, por sus siglas en inglés) (Ramanadham et al., 2023). La glucosa ingresa a las células  $\beta$  a través de los transportadores GLUT2 y GLUT1, tanto en humanos como en roedores, pero con diferentes grados de expresión, y es rápidamente metabolizada a través de la glucólisis y la fosforilación oxidativa (Ramanadham et al., 2023). El metabolismo de la glucosa genera adenosín trifosfato (ATP), lo que provoca un aumento en la relación ATP/ADP (Ramanadham et al., 2023).

En las células  $\beta$  pancreáticas, los canales  $K_{ATP}$  pueden modular la secreción de insulina en respuesta a las fluctuaciones de los niveles de glucosa plasmática y, por lo tanto, son un importante regulador de la homeostasis de la glucosa (D. Wang et al., 2011). El cierre del canal  $K_{ATP}$  en respuesta al ATP generado metabólicamente reduce la corriente  $K_{ATP}$ , de modo que las corrientes de fondo entrantes contribuyen ahora en mayor medida al potencial de membrana; como consecuencia, la membrana se despolariza (Ashcroft & Rorsman, 2013). La despolarización abre los canales de  $Ca^{2+}$  dependientes de voltaje (VDCC), permitiendo el flujo de  $Ca^{2+}$  citosólico  $[Ca^{2+}]_c$  (Ramanadham et al., 2023). Este aumento en el  $[Ca^{2+}]_c$  desencadena la fusión de los gránulos de insulina con la membrana citoplasmática y su posterior exocitosis (Kalwat & Cobb, 2017; E. Zhang et al., 2019).

La secreción de insulina en respuesta a la glucosa es bifásica (Ramanadham et al., 2023). Es una liberación corta y robusta de insulina (aproximadamente 10 minutos), que proviene principalmente del pool fácilmente liberable (RRP) de gránulos pre-acoplados (Ramanadham et al., 2023). Esta fase es esencial para preparar al músculo esquelético para la captación sostenida de glucosa (Daniel et al., 1999; Rorsman & Renström, 2003; Z. Wang & Thurmond, 2009). La segunda fase es una liberación de insulina de menor velocidad, pero prolongada, que implica el

reclutamiento de gránulos de insulina desde el pool de almacenamiento distal en el citoplasma (Seino et al., 2011).

Para alcanzar una secreción óptima, la GSIS debe ser amplificada por la señalización del adenosín monofosfato cíclico (cAMP) (Ramanadham et al., 2023) (10.1002/cphy.c220031). Esta vía de amplificación es independiente de un aumento adicional de  $[Ca^{2+}]_c$  (Ramanadham et al., 2023). Los principales efectores canónicos de la vía de cAMP son la proteína quinasa A (PKA) y el factor de intercambio activado por cAMP (Epac2) (Kanno et al., 1998). La PKA amplifica la secreción de insulina modulando la función de los canales de  $Ca^{2+}$  (VDCC), los canales de  $K^+$  ( $K_{ATP}$  y  $K_V$ ) (Lee et al., 2018; Light et al., 2002) y aumentando la sensibilidad del aparato secretor al  $Ca^{2+}$  (Ramanadham et al., 2023). También regula la expresión génica a través de la proteína de unión al elemento de respuesta a AMPc (CREB) (Ramanadham et al., 2023). Proteína de intercambio activada por AMP cíclico 2 (Epac2) es un factor de intercambio de nucleótidos de guanina (GEF) crucial que potencia la secreción (Niimura et al., 2009). Actúa modulando la abundancia de gránulos en el RRP y facilitando la fusión a la membrana (Shibasaki et al., 2007). También se ha propuesto que Epac2 activa la fosfolipasa C- $\epsilon$  (PLC $\epsilon$ ), que produce DAG (diacilglicerol), el cual activa a Munc13-1 y a la proteína quinasa C (PKC), facilitando la secreción de insulina (C. Song et al., 2002).

Por otro lado, la Secreción de Insulina Estimulada por Glucosa (GSIS) es potenciada por ácidos grasos no esterificados (NEFAs), correlacionada directamente con la longitud de la cadena y la saturación de los ácidos grasos (Maedler et al., 2001; Poitout, 2018). Constantemente, la GSIS se ve reforzada por dietas enriquecidas con ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) o poliinsaturados (PUFA) y disminuida por dietas enriquecidas con ácidos grasos saturados (Picinato et al., 1998). También se ha demostrado que otros metabolitos del ácido araquidónico (AA), como los ácidos hidroxiicosatetraenoicos (HETE), tienen efectos profundos en la GSIS (Ramanadham et al., 2023). Otra clase importante de lípidos implicados en la modulación de GSIS y DT2 son los esfingolípidos (Strackowski et al., 2007). Entre ellos, las ceramidas inducen RI (Summers, 2010) y disminuyen la transcripción de genes de la insulina (Guo et al., 2010) y se informa que están elevadas en DT2 (Haus et al., 2009).

Existen vías no canónicas emergentes que modulan la secreción de insulina, a menudo interactuando directamente con la vía canónica de amplificación de cAMP (Ramanadham et al., 2023). La isoforma  $\beta$  de la enzima  $\text{Ca}^{2+}$ -independiente fosfolipasa A2 (iPLA2 $\beta$ ) es un modulador lipídico esencial que participa en la secreción de insulina estimulada por cAMP (cSIS, por sus siglas en inglés) (Ramanadham et al., 2023). La activación de iPLA2 $\beta$  por glucosa promueve la acumulación de ácido araquidónico (AA) dentro de la célula  $\beta$ . El AA actúa como segundo mensajero, inactivando el canal de  $\text{K}^+$  rectificador retardado (Kv2.1), lo que prolonga la despolarización y aumenta el flujo de  $\text{Ca}^{2+}$  para amplificar la GSIS. Estudios recientes consideran la disfunción de iPLA2 $\beta$  en las células  $\beta$  crítica para la descompensación asociada con la diabetes (Jacobson et al., 2007).

Por otro lado, la proteína Complemento 1q-like-3 (C1ql3) es una proteína secretada que actúa de manera autocrina para inhibir la secreción de insulina (Koltes et al., 2019). C1ql3 se une a su receptor, el BAI3 (Brain-specific angiogenesis inhibitor 3), que es un receptor acoplado a proteína G (GPCR) (Koltes et al., 2019). La activación de esta vía inhibe potentemente la señalización de cAMP, bloqueando casi por completo la secreción de insulina estimulada por agonistas como el péptido similar al glucagón-1 (GLP-1). Por lo tanto, es posible que GLP-1/cAMP, a través de sus efectores Epac2 y PKA, inhiba directamente los canales  $\text{K}_{\text{ATP}}$ . Sin embargo, el mecanismo molecular por el cual un aumento en la señalización GLP1R modula la actividad del canal  $\text{K}_{\text{ATP}}$  no se ha dilucidado completamente (Ramanadham et al., 2023).

### **1.3. Pérdida de la sensibilidad a la insulina**

Un tejido sensible a la insulina es capaz de activar las vías de señalización intracelular al unirse la hormona a su receptor, lo que conduce a la translocación del GLUT4 a la membrana plasmática, facilitando así la captación de la glucosa al interior de la célula (Deshmukh, 2016). La sensibilidad celular a la insulina se basa en una cascada de señalización molecular bien definida (Deshmukh, 2016; Petersen & Shulman, 2018), que comienza con la unión de la insulina a su receptor de insulina (IR) en la membrana plasmática, activando su dominio de tirosina cinasa (Deshmukh, 2016). Esta activación lleva a la fosforilación de proteínas de andamio, especialmente los sustratos del receptor de insulina (IRS), principalmente IRS-1 y IRS-2 (Deshmukh, 2016). Los IRS fosforilados reclutan y activan la fosfoinositida 3-cinasa

(PI3K), que produce PIP3 (fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfato), a su vez reclutando la proteína cinasa B (Akt/PKB) y PDK1 a la membrana (Deshmukh, 2016).

La activación de Akt, mediante la fosforilación en Thr308 (por PDK1) y Ser473 (por mTORC2), es un punto nodal que amplifica la señal (Deshmukh, 2016). La activación de Akt media el transporte de glucosa (Deshmukh, 2016), siendo el músculo esquelético el sitio primario de la disposición de glucosa estimulada por insulina (alrededor del 70%-80% de una carga de glucosa) (Deshmukh, 2016). El efecto más estudiado en el músculo y el tejido adiposo es la translocación del GLUT4 a la membrana plasmática (Deshmukh, 2016), mientras que la insulina también promueve la síntesis de glucógeno al activar la glucógeno sintasa (GS) a través de la inactivación de la GSK-3 (Glucógeno Sintasa Kinasa 3) mediada por Akt (Petersen & Shulman, 2018).

Para cuantificar esta sensibilidad, las técnicas de pinzamiento hiperglucémico y euglucémico ofrecen un método fisiológico altamente reproducible para medir tanto la sensibilidad de las células  $\beta$  a la glucosa como la sensibilidad tisular periférica a la insulina (DeFronzo et al., 1979). Cuando se combinan con trazadores de glucosa, permiten cuantificar la contribución individual de los tejidos periféricos (principalmente músculo) y del hígado a la sensibilidad a la insulina (Matsuda & DeFronzo, 1999). Por otro lado, el test de tolerancia oral a la glucosa (OGTT) es la prueba más común utilizada clínicamente (Matsuda & DeFronzo, 1999). A partir de los resultados obtenidos de la OGTT y su respuesta insulínica se han desarrollado índices matemáticos para aproximar la sensibilidad o resistencia a la hormona (Matsuda & DeFronzo, 1999).

Un índice compuesto que integra valores de glucosa e insulina en ayunas y durante el OGTT, como lo es el desarrollado por Matsuda y DeFronzo, muestra una fuerte correlación con el clamp hiperinsulinémico-euglicémico (Matsuda & DeFronzo, 1999). Además, el modelo de evaluación de homeostasis (HOMA) utiliza concentraciones de glucosa e insulina plasmáticas en ayunas para proporcionar un índice de sensibilidad a la insulina, correlacionándose bien con el clamp euglucémico (Matsuda & DeFronzo, 1999). Sin embargo, cuando existe una pérdida de la sensibilidad a la insulina, el organismo entra en un estado de RI (Galizzi & Di Carlo, 2022). El uso de estos indicadores matemáticos ha demostrado que las personas sanas presentan alta

sensibilidad en el músculo esquelético, el hígado y el tejido adiposo, mientras que los individuos con obesidad o con DT2 no responden adecuadamente a la hormona y se denominan resistentes a la insulina (Galizzi & Di Carlo, 2022).

#### **1.4. Resistencia a insulina fisiológica y patológica**

La pérdida en la sensibilidad a la insulina evoluciona a RI. Un concepto que abarca tanto respuestas fisiológicas adaptativas como estados patológicos fundamentales en el desarrollo de enfermedades metabólicas y neurodegenerativas. A nivel molecular, la RI se caracteriza por una capacidad reducida de la hormona para activar las vías de señalización que culminan con el transporte y manejo de glucosa por los tejidos (Petersen & Shulman, 2018), además de la incapacidad para suprimir la producción hepática de glucosa, provocando hiperglucemias de tipo diabético.

Los mecanismos moleculares de la RI incluyen defectos en la transducción de señales que inhiben la cascada PI3K/Akt y fallan en la translocación de GLUT4 (Deshmukh, 2016), con defectos proximales como actividad deteriorada de la tirosina cinasa del receptor de insulina y fosforilación disminuida o modificada en IRS-1 (Deshmukh, 2016), regulados negativamente por aumento de fosforilación en residuos de serina/treonina en IRS y IR, promovida por quinasas activadas por estrés oxidativo e inflamación, como se ha informado en las vías de JNK e IKK $\beta$  (Wali et al., 2020).

Además, la acumulación de triglicéridos e incremento de ceramidas ectópicas en los tejidos no adiposos, lipotoxicidad esteatótica, y lipo-metabolitos bioactivos, (Petersen & Shulman, 2018), activan vías que inhiben la acción de la insulina (Wali et al., 2020), incluyendo diacilglicerol (DAG) que activa PKC- $\epsilon$  en el hígado y PKC- $\theta$  en el músculo (Petersen & Shulman, 2018; Wali et al., 2020), fosforilando Thr1160 en el receptor de insulina para inhibir su actividad (Wali et al., 2020), y ceramidas (especialmente C16:0 y C18:0) que inducen RI al activar proteína fosfatasa 2A (PP2A), desfosforilando Akt (Wali et al., 2020).

Además, la oxidación incompleta de ácidos grasos genera acilcarnitinas y especies reactivas de oxígeno (ROS) que dañan mitocondrias y también contribuyen a la RI (Deshmukh, 2016; Petersen & Shulman, 2018). La inflamación y el estrés celular también juegan roles clave, con disfunción de adipocitos reclutando macrófagos que secretan citoquinas proinflamatorias como Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF $\alpha$ ), Interleucina 6 (IL-6) e Interleucina 12 (IL-12), induciendo RI en tejidos sensibles (Wali et al., 2020), y estrés del retículo endoplasmático (ER) activando la respuesta de proteínas no plegadas ((UPR, por sus siglas en inglés) que promueve fosforilación inhibitoria de IRS-1 vía JNK (Deshmukh, 2016; Petersen & Shulman, 2018). La disfunción mitocondrial, con actividad reducida en el músculo esquelético, exacerba la acumulación de lípidos intramiocelulares (IMCL) y la RI muscular (Petersen & Shulman, 2018).

Aunque la RI es a menudo patológica, también puede ser fisiológica, como en el embarazo, donde aumenta gradualmente para asegurar glucosa al feto, equilibrándose con mayor secreción de insulina para mantener homeostasis glucémica (Leoni et al., 2022), con reducción del 40-60% en la disposición periférica de glucosa en el tercer trimestre (Leoni et al., 2022). De manera similar, en exposiciones al frío, en respuesta a la inanición, a las infecciones y a los procesos febriles e inflamación aguda, este proceso es una adaptación fisiológica para proveer nutrientes al o a los tejidos dañados. Asimismo, la RI en músculo y ciertas regiones cerebrales actúa como adaptación para prevenir la hipoglucemia y mantener la euglucemia vía lipólisis y gluconeogénesis hepática, crucial evolutivamente, pero desadaptativa hoy por sobrealimentación, sedentarismo, estrés social y alteraciones circadianas (Scherer et al., 2021).

### **1.5. Hiperinsulinemia compensatoria**

Como respuesta a la RI, surge la hiperinsulinemia compensatoria, una adaptación fisiológica donde las células  $\beta$  pancreáticas aumentan la secreción de insulina para superar la reducción de sensibilidad en tejidos diana y mantener normoglucemia (Petersen & Shulman, 2018). Esta sobreproducción implica un incremento en la masa de células  $\beta$ , interpretando este proceso como una respuesta a una mayor demanda del control de la vía canónica y no canónica de la secreción de insulina, o por resistencia periférica a la hormona (Buettner et al., 2007). Dicha sobrecompensación se ha asociado a rutas inducidas por incretinas, como GIP y GLP-1, por la

misma insulina, lactógeno placentario, prolactina y estrógenos, así como por intermediarios del ciclo de Krebs y algunos ácidos grasos de cadena corta. Todos ellos contribuyen en la vía de señalización cAMP/PKA/Epac para proliferación y diferenciación de células  $\beta$  (Ramanadham et al., 2023). Crónicamente, la hiperinsulinemia compensatoria desensibiliza los receptores periféricos y centrales de insulina, contribuye y es parte fundamental para el desarrollo de RI patológica y precede al SMet y a la DT2 (Deshmukh, 2016), manifestándose en intolerancia a la glucosa alterada (IGT) asociada a la obesidad durante la fase compensatoria (Ramanadham et al., 2023).

### **1.6. Paso de la insulina a través de la barrera hematoencefálica**

La acción de la insulina en el sistema nervioso central (SNC) depende críticamente de su transporte a través de la barrera hematoencefálica (BBB) (Pemberton et al., 2022). Este transporte es fundamental para administrar insulina al cerebro (Nguyen et al., 2023). Este proceso se ha investigado durante varias décadas y se caracteriza por ser saturable (Banks, Jaspán, Huang, et al., 1997; Baura et al., 1993), unidireccional, de la sangre al cerebro (Cashion et al., 1996), selectivo para la insulina (Banks et al., 1996), aunque el grado de especificidad es actualmente desconocido, es conservado en todas las especies (Banks, Jaspán, & Kastin, 1997), con una tasa variable de transporte entre las regiones cerebrales (Heni et al., 2014), y requiere insulina intacta (Gray et al., 2017). Además, el paso de la insulina a través de la BBB es un proceso altamente regulado (Nguyen et al., 2023).

El mecanismo por el cual la insulina atraviesa las células endoteliales cerebrales (BECs) es la transcitosis mediada por vesículas, un proceso que típicamente involucra la endocitosis mediada por receptores en el lado luminal de la BEC, la transferencia vesicular a través de la célula y la exocitosis en el lado abluminal (Gray et al., 2017). Este transporte requiere la funcionalidad de las balsas lipídicas (lipid rafts) y un proceso de endocitosis mediada por vesículas (Gray et al., 2017). La tasa de transporte de insulina ( $K_i$ ) varía entre las diferentes regiones cerebrales (Pemberton et al., 2022), con las regiones que muestran las tasas de transporte más altas, incluyendo el bulbo olfatorio y el hipotálamo (Pemberton et al., 2022), mientras que se han registrado niveles significativamente menores de insulina en regiones como la amígdala y el mesencéfalo (Gray et al., 2017).

Respecto al aumento de insulina central, se ha demostrado que la administración de altas concentraciones de insulina directamente en el cerebro (intracerebroventricular, ICV) disminuyó significativamente la tasa de transporte de <sup>125</sup>I-insulina del torrente sanguíneo al cerebro en el cerebro completo (en un ~57%) y en el bulbo olfatorio (en un ~82%) (Nguyen et al., 2023). Esto apoya la idea de un mecanismo de retroalimentación negativa por el cual los altos niveles de insulina en el sistema nervioso central (SNC) ralentizan el sistema de transporte de la BBB (Nguyen et al., 2023). Finalmente, el transporte de insulina a través de la barrera BBB es un proceso saturable, lo que significa que, si las concentraciones de insulina periférica exceden un punto de saturación (alrededor de 10 ng/mL en ratones), la tasa de entrada al cerebro no aumenta proporcionalmente, limitando el nivel de insulina central.

### **1.7. Insulina periférica e insulina cerebral**

La relación entre la insulina periférica y la insulina cerebral es fundamental, ya que la insulina que actúa en el cerebro se deriva primariamente de la circulación periférica y su acceso está estrictamente controlado (Tamura et al., 2009). El transporte de la BBB de la insulina está modificado por muchos factores séricos (Banks, Jaspán, Huang, et al., 1997; Urayama & Banks, 2008), tanto en condiciones fisiológicas como patológicas, incluyendo obesidad, diabetes, enfermedad de Alzheimer (EA), envejecimiento y ejercicio (A Banks et al., 2022; Rhea & Banks, 2019, 2021). Los niveles de insulina en el líquido cefalorraquídeo (LCR) son aproximadamente una décima parte de los de la sangre en condiciones basales (Bromander et al., 2010; Craft et al., 1998; Stanley et al., 2016) y la insulina se puede detectar en el líquido intersticial con niveles similares a los del LCR (Stanley et al., 2016). En ratas, los niveles de insulina en el LCR se han reportado en el rango de 2 a 3  $\mu$ U/mL (Scherer et al., 2021).

La alimentación con dieta alta en calorías puede interrumpir el transporte de insulina. Por ejemplo, el consumo de HFD en un modelo murino durante 4 semanas disminuyó la captación de insulina en las células endoteliales cerebrales (BECs) y aumentó la actividad de unión de Factor nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B) (Gray et al., 2017). Además, la eficiencia del transporte de insulina a través de la BBB puede disminuir debido a condiciones patológicas como la obesidad, la inflamación y la EA (Galizzi & Di Carlo, 2022).

La RI cerebral se puede originar, en parte, debido a la reducción del transporte de insulina a través de la BBB (Scherer et al., 2021), lo que se evidencia en la reducción del cociente LCR/plasma de insulina, que se observa en humanos con RI sistémica, en individuos mayores con enfermedades neurodegenerativas como la EA (Scherer et al., 2021). La hipoinsulinemia cerebral relativa surge en estados de RI agravada, donde el transporte saturable de insulina a través de la BBB genera una hipoinsulinemia relativa en el cerebro en comparación con la periferia, a pesar de la hiperinsulinemia sistémica (Scherer et al., 2021). Estudios realizados en modelos de roedores con hiperinsulinemia (ratones obesos) e hipoinsulinemia (ratas tratadas con estreptozotocina) demostraron que la concentración de insulina en el SNC era independiente de los niveles de insulina periférica (Scherer et al., 2021).

Aunque la principal fuente de insulina cerebral es pancreática, existe debate sobre la síntesis endógena de insulina en ciertas regiones del cerebro (Flear et al., 1998). Se ha reportado la presencia de receptores de insulina en varias regiones cerebrales, con las concentraciones más altas en el bulbo olfatorio y el hipotálamo (Galizzi & Di Carlo, 2022), además de identificarse receptores de insulina en el hipocampo, el estriado, el cerebelo y la corteza cerebral (Galizzi & Di Carlo, 2022). La identificación de RI cerebral llevó al reporte de la síntesis extrapancreática de insulina (Scherer et al., 2021), con detección de ARN mensajero (mRNA) y proteína de proinsulina endógena en neuronas piramidales del hipocampo y del bulbo olfatorio (Scherer et al., 2021). Sin embargo, la síntesis de péptidos de insulina en el cerebro en cantidades fisiológicamente relevantes sigue siendo controvertida (Scherer et al., 2021), ya que algunos estudios no han descartado de manera convincente que los péptidos de insulina detectados en las células cerebrales provengan simplemente de la circulación (Scherer et al., 2021).

### **1.8. Acciones de la insulina en el cerebro**

Una vez presente en el SNC, la insulina actúa como una hormona pleiotrópica, regulando el metabolismo, la cognición y el estado de ánimo (Pemberton et al., 2022). Esencialmente, la insulina en el SNC es crucial para la regulación integrada del metabolismo corporal, más allá del control glucémico directo (Petersen & Shulman, 2018). Una función importante de la insulina en el cerebro es la supresión del apetito (Benedict et al., 2008; Woods et al., 1979), y se ha demostrado que la señalización del SNC regula la acción de la insulina hepática a través

de mecanismos independientes del balance energético (Petersen & Shulman, 2018). Por ejemplo, la acción de la insulina en ciertas regiones del hipotálamo puede suprimir la producción hepática de glucosa (Obici et al., 2002; Pocai et al., 2005), promover la captación de glucosa en el músculo (Koch et al., 2008) suprimir la lipólisis del tejido adiposo (Koch et al., 2008; Scherer et al., 2011) y suprimir la secreción de glucagón (Paranjape et al., 2010) en roedores.

Además, la insulina en el SNC es neuroprotectora, ya que participa activa y positivamente en los procesos de sinaptogénesis y el crecimiento neuronal (Flear et al., 1998) y ha demostrado ser beneficiosa para mejorar la cognición y la memoria (Flear et al., 1998). De hecho, se está investigando la terapia con insulina intranasal para el tratamiento del deterioro cognitivo en pacientes con enfermedad de Alzheimer (AD) (Nguyen et al., 2023). La insulina central es esencial para la plasticidad sináptica y la potenciación a largo plazo (LTP) (Galizzi & Di Carlo, 2022), modulando la endocitosis de los receptores AMPA (ácido  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxa-zolpropiónico) y la transferencia de los receptores NMDA (N-metil-D-aspartato) a la membrana postsináptica (Galizzi & Di Carlo, 2022). Asimismo, está involucrada en el desarrollo neuronal, como el crecimiento de neuritas y la guía axonal, demostrado mediante la activación de la vía PI3K/Akt (Galizzi & Di Carlo, 2022).

La acción de la insulina en el cerebro se orquesta principalmente a través de la vía del receptor de insulina, la cual converge en la quinasa Akt y el sensor de energía AMPK (cinasa activada por AMP) (Galizzi & Di Carlo, 2022; Hees et al., 2024). En la vía PI3K/Akt, que maneja efectos metabólicos y antiapoptóticos, la unión de la insulina al receptor de insulina activa la PI3K, que a su vez activa la Akt, responsable de la mayoría de los efectos metabólicos (Galizzi & Di Carlo, 2022). Esto incluye un mecanismo antiapoptótico: Akt se acumula en las mitocondrias, fosforilando GSK-3 $\beta$  y hexoquinasa II (HKII), lo que inhibe la apoptosis (Galizzi & Di Carlo, 2022). Además, la insulina revierte disfunciones inducidas por el amiloide  $\beta$  (A $\beta$ ), como el estrés oxidativo y la apoptosis, al activar Akt y orquestar el tráfico molecular (Galizzi & Di Carlo, 2022). En términos de dinámica mitocondrial, el tratamiento con insulina o factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1) reduce la generación de ROS mitocondriales y la fosforilación de proteína relacionada con la dinamin-1 (DRP1), una proteína clave en la fisión,

a través de la vía PI3K/Akt, sugiriendo una mejora en la función mitocondrial (Galizzi & Di Carlo, 2022).

Por otro lado, en la regulación metabólica de la mitofagia a través de la vía AMPK-PINK1 (quinasa 1 inducida por PTEN), se ha descubierto recientemente que la señalización de insulina controla la localización del ARN mensajero (Pink1 mRNA) y la actividad de la proteína PINK1, un sensor de daño mitocondrial crucial para la mitofagia a través de AMPK (Hees et al., 2024). La activación de la vía de la insulina conduce a la inhibición de AMPK (Hees et al., 2024), lo que provoca la disociación del Pink1 mRNA de la superficie mitocondrial. Esta disociación, es un paso necesario para aumentar la disponibilidad de la proteína PINK1 y activar la mitofagia (Hees et al., 2024).

### **1.9. Insulina e hipocampo**

El hipocampo es una de las áreas del SNC de mayor interés debido a su papel fundamental en la regulación de la cognición, el aprendizaje y la memoria (Spinelli et al., 2007). La insulina ejerce una acción trófica en esta región, y su función es sensible a los cambios metabólicos periféricos (Spinelli et al., 2019). De hecho, el hipocampo es altamente sensible a la insulina y expresa una densidad significativa de receptores, incluyendo tanto el receptor de insulina como el IGF-1R (Spinelli et al., 2007). Además, es una de las áreas cerebrales donde se generan nuevas neuronas a lo largo de la vida adulta, proceso conocido como neurogénesis adulta, y la activación de la vía de insulina/IGF-I regula la salida de los neuroblastos de la quiescencia, promoviendo la supervivencia, proliferación y diferenciación de las células madre neurales (NSCs) (Spinelli et al., 2007, 2019)

Sin embargo, alteraciones en la señalización de insulina en el hipocampo pueden alterar significativamente la función cognitiva y acelerar la progresión de enfermedades neurodegenerativas, siendo un factor clave en la patogénesis de enfermedades como la EA (Spinelli et al., 2007). Por ejemplo, la HFD perjudica la señalización de la insulina en el hipocampo, lo que conduce a una reducción del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) y la plasticidad neuronal (Spinelli et al., 2007, 2019), además de neuroinflamación hipocampal caracterizada por la activación de microglía y astrocitos, y un aumento de citoquinas

proinflamatorias como IL-6 y TNF- $\alpha$  (Spinelli et al., 2019). Esto también genera un aumento del estrés oxidativo (Spinelli et al., 2019) y cambios en la neurotransmisión, con una disminución en la concentración de ácido gamma-aminobutírico (GABA) y alteraciones en el metabolismo del glutamato en el hipocampo (Labban et al., 2020).

La RI a nivel hipocampal puede causar un deterioro de la plasticidad sináptica, incluyendo la pérdida o disminución de la LTP y la depresión a largo plazo (LTD), así como del aprendizaje espacial (Spinelli et al., 2019). Además, implica la inhibición de la vía de señalización del receptor de insulina (IR/IRS-1/PI3K/Akt) y la sobreactivación de la GSK-3 $\beta$  (Spinelli et al., 2007, 2019), siendo la GSK-3 $\beta$  crítica porque su activación hiperfosforila la proteína tau, un sello distintivo de la patogénesis de EA (Spinelli et al., 2019).

### **1.10. Dinámica y función mitocondrial**

La dinámica mitocondrial describe el complejo conjunto de procesos mediante los cuales las mitocondrias, lejos de ser organelos estáticos, experimentan cambios constantes de forma, movimiento y organización para adaptarse a las demandas metabólicas, asegurar el control de calidad celular e influir en el destino de la célula (Schaffer & Suleiman, 2007). Esta dinámica es crucial para la homeostasis celular, especialmente en células de alta demanda energética y estructura polarizada, como las neuronas (Bustamante-Barrientos et al., 2023).

La morfología de la red mitocondrial resulta del equilibrio entre los procesos opuestos de fisión (división) y fusión (unión), mecanismos mediados por grandes GTPasas relacionadas con la dinamina (Wang et al., 2022). La fusión permite que los contenidos de los orgánulos, incluido el ADN mitocondrial (ADNmt), se mezclen, lo que se considera un mecanismo para complementar mitocondrias parcialmente dañadas y proteger contra el estrés y la neurodegeneración (Bustamante-Barrientos et al., 2023). Este proceso requiere la participación de mitofusinas (MFN1 y MFN2) en la membrana mitocondrial externa (OMM) y la proteína OPA1 (Optic Atrophy 1) en la membrana mitocondrial interna (IMM) (Galloway et al., 2012), donde MFN1 y MFN2 son estructuralmente similares (Alan & Scorrano, 2022; Giacomello et al., 2020). Las mitocondrias fusionadas o elongadas maximizan la producción de ATP y

favorecen la supervivencia celular, ya que permiten la mezcla de contenido mitocondrial para reparar componentes dañados (Song et al., 2025).

Por otro lado, la fisión es esencial para segregar las mitocondrias dañadas del resto de la red, facilitando su posterior degradación (Wang et al., 2022), y también es necesaria para una distribución adecuada de los orgánulos durante la división celular y en los axones (Gao et al., 2017; N. Song et al., 2024). Este proceso está orquestado por la proteína citosólica DRP1 (Dynamamin-related protein 1), una GTPasa que se recluta a la OMM a través de receptores como MFF (Mitochondrial Fission Factor), FIS1 y MiD49/51 (Galloway et al., 2012). La fosforilación de DRP1 por la PKA lo mantiene en el citosol, inhibiendo la fisión, mientras que su desfosforilación por la fosfatasa dependiente de  $\text{Ca}^{2+}$ , la calcineurina, promueve su translocación a las mitocondrias e induce la fisión (Giacomello et al., 2020). En el contexto neuronal, la fisión es crucial para el transporte de mitocondrias a lo largo de los axones hacia las sinapsis distales (Klaczanova et al., 2019). Además, el procesamiento proteolítico de OPA1 por metaloproteasas de la IMM, como OMA1 y YME1L, actúa como un punto de control de calidad (Galloway et al., 2012), donde la disipación del potencial de membrana ( $\Delta\Psi_m$ ) o la inhibición de la OXPHOS desencadenan el procesamiento mediado por OMA1, generando formas cortas (S-OPA1) que inhiben la fusión y promueven la fisión, facilitando la eliminación de mitocondrias dañadas (Alan & Scorrano, 2022).

La organización de la IMM en crestas es otro componente crucial de la dinámica mitocondrial para la eficiencia bioenergética (Giacomello et al., 2020), ya que alberga la maquinaria de la OXPHOS y su arquitectura dinámica se adapta a la demanda metabólica (Giacomello et al., 2020). Una arquitectura de crestas ajustada aumenta la eficiencia respiratoria y favorece el ensamblaje de supercomplejos respiratorios (SC) (Gao et al., 2017). OPA1 no solo regula la fusión, sino que también es fundamental para la remodelación de las crestas, controlando la apertura y cierre de las uniones de las crestas (Alan & Scorrano, 2022), junto con el complejo MICOS (Mitochondrial Contact Site and Cristae Organizing System), que es clave para mantener las uniones de las crestas y la arquitectura general (Alan & Scorrano, 2022).

OPA1, en conjunto con MICOS, regula la arquitectura de las crestas, por lo que la alteración de OPA1 compromete su estructura (Alan & Scorrano, 2022). El equilibrio entre fisión y fusión se

ajusta en respuesta a las demandas energéticas; por ejemplo, la restricción de nutrientes o el ayuno inducen la fusión para maximizar la producción de ATP (Pyakurel et al., 2015), mientras que el exceso de nutrientes o el estrés promueve la fisión (M. Song et al., 2025).

La mitofagia es la degradación selectiva de mitocondrias dañadas o superfluas mediante el proceso de autofagia (Liu et al., 2023), donde la quinasa mitocondrial PINK1 detecta el daño (Bustamante-Barrientos et al., 2023). En mitocondrias sanas, PINK1 se importa rápidamente a la matriz y se degrada, pero si el  $\Delta\Psi_m$  colapsa, PINK1 se estabiliza en la OMM y comienza a acumularse (Bustamante-Barrientos et al., 2023). Esta acumulación de PINK1 lleva a la fosforilación de la ubiquitina en Ser65 (Liu et al., 2023), lo que activa la E3 ubiquitina ligasa Parkin, que se transloca desde el citosol a la OMM de la mitocondria dañada (Liu et al., 2023). A continuación, Parkin ubiquitina proteínas en la OMM (Liu et al., 2023), en particular las proteínas de fusión Mfn1 y Mfn2, dirigiéndolas a la degradación proteasomal (Liu et al., 2023).

Por otro lado, la biogénesis mitocondrial es un proceso fundamental y altamente regulado mediante el cual la célula aumenta la cantidad de mitocondrias (Liu et al., 2023), con el coactivador del receptor activado por proliferadores de peroxisomas  $\gamma$  1 $\alpha$  (PGC-1 $\alpha$ ) actuando como el principal regulador transcripcional (N. Song et al., 2024). PGC-1 $\alpha$  impulsa la expresión de factores respiratorios nucleares (NRF1 y NRF2), que a su vez controlan la expresión de genes que codifican subunidades OXPHOS y regulan la expresión del factor de transcripción A mitocondrial (TFAM), el cual promueve la replicación y transcripción del ADNmt (Bustamante-Barrientos et al., 2023).

El movimiento, o tráfico, es vital para distribuir ATP y amortiguar  $Ca^{2+}$  en sitios de alta demanda, especialmente en las neuronas, donde el transporte axonal a larga distancia es esencial (Schaffer & Suleiman, 2007). Este transporte bidireccional ocurre a lo largo de los microtúbulos, utilizando cinesinas (Kinesin-1/KIF5) para el movimiento anterógrado y dineína/dinactina para el retrógrado (Gao et al., 2017).

Las mitocondrias son esenciales para el metabolismo celular, desempeñando un papel fundamental en diversos procesos, como la producción de ATP a través del TCA y OXPHOS, la biosíntesis de hormonas esteroideas, el metabolismo y señalización de  $Ca^{2+}$ , la homeostasis

del hierro, la  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos y la muerte celular (W. Chen et al., 2023). La OXPHOS y la cadena de transporte de electrones (ETC) representan la función mitocondrial más crítica, siendo el mecanismo más eficiente para la producción de energía biológica en la célula (Schaffer & Suleiman, 2007). La ETC está compuesta por cuatro complejos proteicos (I, II, III y IV) y la ATP sintasa (Complejo V), todos ubicados en la IMM (Bustamante-Barrientos et al., 2023).

En la IMM, los complejos respiratorios no residen como entidades individuales que se difunden libremente, sino que se ensamblan en estructuras cuaternarias estables conocidas como supercomplejos (SCs) o respirasomas (Frenzel et al., 2010). La organización de los SCs presenta una marcada especificidad tisular y celular (Frenzel et al., 2010); por ejemplo, en las neuronas, el Complejo I se ensambla eficientemente en SCs, mientras que, en los astrocitos, el ensamblaje es menos eficiente, lo que se correlaciona con una mayor producción de ROS en los astrocitos (Zheng et al., 2023). La abundancia de SCs puede ser regulada por el estado metabólico y la disponibilidad de sustratos (Zheng et al., 2023), como la oxidación de ácidos grasos, que promueve niveles más altos de SCs en mitocondrias cardíacas que el piruvato (un sustrato derivado de carbohidratos) (Zheng et al., 2023).

La ETC recibe electrones de cofactores reducidos NADH (nicotinamida adenina dinucleótido) y FADH<sub>2</sub> (flavin adenina dinucleótido) producidos por el ciclo de Krebs y la glucólisis (Alan & Scorrano, 2022; Bustamante-Barrientos et al., 2023). El flujo de estos electrones a través de los complejos I, III y IV es un proceso exergónico que impulsa el bombeo de protones (H<sup>+</sup>) desde la matriz hacia el espacio intermembrana (IMS) (Bustamante-Barrientos et al., 2023). Este bombeo de H<sup>+</sup> establece la fuerza protón-motriz ( $\Delta p$ ), la cual representa la energía conservada y es esencial para la operación del principio quimiosmótico de conservación de energía (Schaffer & Suleiman, 2007). El  $\Delta p$  se compone de dos elementos principales: el potencial de membrana mitocondrial ( $\Delta\Psi_m$ ), que es el gradiente eléctrico o de carga y el componente dominante del  $\Delta p$ , crucial para la regulación de la captación de Ca<sup>2+</sup> y la importación de proteínas en la mitocondria (Schaffer & Suleiman, 2007), y el gradiente de pH ( $\Delta p H_m$ ), que es el gradiente de concentración de H<sup>+</sup> (Perry et al., 2011). La energía almacenada en el  $\Delta p$  es

utilizada por la  $F_1F_0$ -ATP sintasa (Complejo V) para catalizar la síntesis de ATP a partir de ADP y fosfato inorgánico (Pi) (Alan & Scorrano, 2022).

### **1.11. Bioenergética mitocondrial hipocampal**

Investigaciones como las de Beckervordersandforth et al., (2017) han revelado que la neurogénesis hipocampal depende críticamente de la ETC mitocondrial y de la OXPHOS, especialmente en células progenitoras intermedias proliferantes. Mientras que Trigo et al., (2022) enfatizan que la plasticidad de la red mitocondrial es esencial para satisfacer las diferentes demandas energéticas y mantener la homeostasis neuronal. Las alteraciones metabólicas pueden afectar significativamente la función hipocampal, como notaron Jia Yao et al. (2011a), quienes observaron que una bioenergética mitocondrial comprometida puede conducir a cambios metabólicos de vías cetogénicas impulsadas por la glucosa a vías menos eficientes, desencadenando procesos neuropatológicos que hacen al hipocampo particularmente vulnerable a los cambios metabólicos relacionados con la edad.

El cerebro tiene una demanda energética excepcionalmente alta, consumiendo hasta el 20% del gasto metabólico del cuerpo y el 25% de la glucosa total (Trigo et al., 2022), con las neuronas consumiendo entre el 70% y el 80% de esa energía y dependiendo estrictamente del metabolismo aeróbico para la producción de ATP (Trigo et al., 2022). El hipocampo, una de las pocas áreas del cerebro donde ocurre la neurogénesis adulta (la generación continua de nuevas neuronas), requiere que esta demanda energética se satisfaga rápidamente para mantener la homeostasis (Beckervordersandforth et al., 2017; Trigo et al., 2022). La bioenergética mitocondrial en el hipocampo juega un papel crucial en el mantenimiento de la salud neuronal y es altamente sensible a las interrupciones metabólicas, dependiendo fuertemente de la interacción metabólica entre neuronas y astrocitos, particularmente a través del transporte de lactato astrocito-neurona (ANLS) (Qi et al., 2020).

En este proceso, el glutamato liberado por las neuronas activas en el hipocampo estimula la glucólisis astrocítica y la producción de lactato, el cual es utilizado por las neuronas para mantener sus actividades sinápticas y su metabolismo oxidativo (Mulica et al., 2021; Qi et al., 2020) Se ha demostrado que este transporte de lactato de astrocito a neurona es necesario para

la formación de la memoria a largo plazo en el hipocampo (Qi et al., 2020), aunque en neuronas envejecidas se observa una dependencia reducida del lactato astrocítico, junto con una alteración en la comunicación metabólica, y esta alteración del ANLS se ha reportado en modelos de EA y esclerosis lateral amiotrófica (ELA) (Qi et al., 2020). Las mitocondrias, como orgánulos multifacéticos, desempeñan una amplia gama de funciones esenciales, especialmente en tejidos de alta demanda energética como el cerebro (M. Song et al., 2025), sustentando la estructura axonal en las neuronas, proporcionando energía para el reciclaje de neurotransmisores, el funcionamiento de receptores y canales iónicos, y el suministro de energía para la síntesis de proteínas local necesaria para la plasticidad sináptica (M. Song et al., 2025).

### **1.12. Distribución mitocondrial en neuronas hipocampales**

Las neuronas son células altamente polarizadas con estructuras complejas, que incluyen axones largos y dendritas, y debido al gran tamaño de la neurona, el cual impide la rápida difusión de ATP desde el soma a las regiones distales, las mitocondrias deben ser transportadas activamente para proporcionar ATP y amortiguación de calcio (Bustamante-Barrientos et al., 2023). La distribución y la morfología de las mitocondrias en las neuronas del hipocampo son altamente dinámicas y especializadas, reflejando las elevadas demandas energéticas y los distintos roles metabólicos en las diferentes regiones subcelulares y etapas de maduración neuronal (Trigo et al., 2022). La posición de las mitocondrias en una célula está determinada principalmente por su transporte a lo largo de las vías del citoesqueleto, y esta característica es particularmente relevante para las neuronas, ya que la longitud axonal requiere una distribución correcta de las mitocondrias para satisfacer los requisitos metabólicos locales (Hollenbeck & Saxton, 2005). El transporte axonal de mitocondrias se lleva a cabo a través de microtúbulos y neurofilamentos (Trigo et al., 2022), donde el transporte retrógrado involucra motores de dineína, mientras que el transporte anterógrado utiliza motores de cinesina (Trigo et al., 2022).

Las mitocondrias se acumulan en ubicaciones subcelulares neuronales específicas, lo que se especula que es el resultado de un reclutamiento activo de mitocondrias impulsado por el aumento de las necesidades metabólicas locales (Trigo et al., 2022). Un ejemplo es la restauración de la homeostasis axonal después de la conducción del impulso nervioso, donde la bomba de sodio y potasio ATPasa requiere un aporte energético constante (Trigo et al., 2022).

Por ello, resulta esencial que la red mitocondrial sea plástica y dinámica, pudiendo pasar de estructuras fragmentadas a estructuras tubulares grandes y completamente conectadas a lo largo del citoplasma (Trigo et al., 2022), disponibles para responder a los requerimientos de la célula.

Las mitocondrias son determinantes clave de la bioenergética sináptica y, en las neuronas, se clasifican según su forma, asociada con su capacidad energética. Por ejemplo, las mitocondrias presinápticas están ubicadas estratégicamente para responder a las altas demandas energéticas locales requeridas para la transmisión sináptica (Mendelsohn et al., 2022). Un análisis en el cerebelo mostró que las mitocondrias globulares, más frecuentes en terminales presinápticas, presentan alta capacidad energética (Mendelsohn et al., 2022), con mayor densidad de uniones de cresta (CJs) y un factor de forma de cresta elevado (relación entre el área de la membrana de cresta y el volumen) (Mendelsohn et al., 2022). Asimismo, en reconstrucciones 3D de mitocondrias presinápticas y axonales, los orgánulos se clasificaron en dos categorías principales: globulares y elongadas (Mendelsohn et al., 2022). Las mitocondrias globulares, más frecuentes en terminales presinápticas, mostraron características de alta capacidad energética, como una mayor densidad de uniones de cresta y un factor de forma de cresta más alto, lo que sugiere una alta capacidad para la producción de ATP (Mendelsohn et al., 2022). Por otra parte, las mitocondrias elongadas son orgánulos con una relación de aspecto mayor, más largos y delgados, compuestos por una mezcla de mitocondrias axonales y presinápticas (Mendelsohn et al., 2022). En consecuencia, la distribución y morfología dinámica de las mitocondrias son esenciales para mantener la homeostasis energética neuronal y están directamente implicadas en el deterioro observado en el envejecimiento y las enfermedades neurodegenerativas (Trigo et al., 2022).

### **1.13. Disfunción mitocondrial hipocampal y sus consecuencias**

El cerebro tiene una demanda energética excepcionalmente alta, lo que lo hace particularmente sensible a la disfunción mitocondrial (Trigo et al., 2022). Esta disfunción mitocondrial hipocampal y sus consecuencias son un eje central en la comprensión del deterioro cognitivo asociado a las enfermedades metabólicas, el envejecimiento y las enfermedades neurodegenerativas, ya que el hipocampo, crucial para el aprendizaje y la memoria, es un órgano con una demanda energética excepcionalmente alta (Trigo et al., 2022). La disfunción

mitocondrial y el subsiguiente déficit bioenergético se consideran eventos antecedentes y potencialmente causales de los mecanismos de neurodegeneración (Trigo et al., 2022). Por ejemplo, existe un declive significativo y dependiente de la edad en la captación de glucosa en el hipocampo (Trigo et al., 2022), y los déficits en la maquinaria catalítica mitocondrial contribuyen a un estado de hipometabolismo y estrés oxidativo (Trigo et al., 2022). De hecho, el hipometabolismo cerebral de la glucosa y la disfunción bioenergética son eventos antecedentes a la EA, precediendo a menudo a los síntomas clínicos por años (Yao et al., 2011). Asimismo, estudios han demostrado una reducción en la actividad de los complejos de la ETC, particularmente los complejos I y IV, en cerebros envejecidos y en pacientes con EA (Trigo et al., 2022).

Además, la alteración de la señalización de la insulina en el hipocampo se asocia con defectos bioenergéticos (He et al., 2025), y la RI cerebral impacta negativamente la neuroplasticidad hipocampal (Spinelli et al., 2019). La insuficiencia bioenergética en el hipocampo tiene consecuencias devastadoras para la función neuronal y la estructura del SNC, ya que los déficits bioenergéticos contribuyen sustancialmente al declive cognitivo observado durante el envejecimiento y en los trastornos neurodegenerativos (Trigo et al., 2022). La reducción de la energía disponible compromete la función neuronal, con la disminución de ATP y la señalización neuronal inadecuada (Trigo et al., 2022). Esto afecta directamente la cognición, el aprendizaje y la memoria (Trigo et al., 2022).

La disfunción mitocondrial aumenta la producción de ROS (Trigo et al., 2022) como un subproducto de la OXPHOSP, y este aumento provoca daño oxidativo a macromoléculas, lo que, si supera los niveles fisiológicos, puede causar muerte celular ("estrés oxidativo") (Trigo et al., 2022; Yao et al., 2011). El estrés oxidativo está fuertemente implicado en la patogénesis de las enfermedades neurodegenerativas (Trigo et al., 2022), como en el caso del A $\beta$ , que se acumula dentro de las mitocondrias e interactúa con la proteína ABAD (A $\beta$ -binding-alcohol-dehydrogenase), resultando en una disminución de la actividad de COX (citocromo c oxidasa) y un aumento del estrés oxidativo (Yao et al., 2011). La disfunción mitocondrial exacerba la generación de A $\beta$ , creando un círculo vicioso (Yao et al., 2011), y los agregados A $\beta$  y tau en conjunto deterioran el sistema de fosforilación oxidativa (Yao et al., 2011). Además, el deterioro

del transporte mitocondrial y la función se ven comprometidos por las proteínas relacionadas con la EA, como A $\beta$  y tau (Mendelsohn et al., 2022; Trigo et al., 2022), donde la producción del péptido A $\beta$  (implicado en la EA) causa un desequilibrio dinámico con un marcado aumento en la fisión (Bustamante-Barrientos et al., 2023), lo que resulta en fragmentación mitocondrial, disminución del potencial de membrana mitocondrial (MMP) y agotamiento de mitocondrias en las terminales sinápticas distales (J. Wang et al., 2022).

La disfunción mitocondrial también contribuye a la señalización apoptótica perturbada y desencadena respuestas inflamatorias (Trigo et al., 2022), como en la EA, donde el manejo defectuoso del Ca<sup>2+</sup> mitocondrial contribuye a la excitotoxicidad inducida por glutamato y a la pérdida neuronal (Trigo et al., 2022). Esta disfunción mitocondrial inducida por dietas ricas en grasa se evidencia claramente en tejidos con alta demanda energética, como el corazón, y está fuertemente asociada con la resistencia a la insulina y la diabetes. La relación entre las dietas altas en calorías y la disfunción mitocondrial es un área de investigación crítica, ya que el consumo crónico de dietas altocalóricas se considera un modelo primario para estudiar la patogénesis de la RI, la obesidad y los trastornos neurodegenerativos, incluido el deterioro cognitivo (Petersen & Shulman, 2018), tanto en humanos como en roedores (Petersen & Shulman, 2018).

Además, esta disfunción mitocondrial derivada de dietas altas en calorías se extiende a procesos inflamatorios en el cerebro, donde el sobreconsumo de calorías induce neuroinflamación hipocámpal, caracterizada por la activación de NF- $\kappa$ B y el aumento de citocinas proinflamatorias como IL-6 e IL-12 (Labban et al., 2020), lo que puede contribuir al daño neuronal. Se ha demostrado que este consumo induce la activación de microglía y astrocitos, aumentando los mediadores proinflamatorios como el TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6 en el hipocampo de ratones (Labban et al., 2020; Spinelli et al., 2019).

En resumen, la disfunción mitocondrial inducida por HCD, caracterizadas por un exceso de lípidos y/o carbohidratos simples, altera la bioenergética neuronal y la señalización de insulina, a través de mecanismos como el estrés oxidativo, la inflamación y la fragmentación mitocondrial, lo que compromete la plasticidad sináptica y acelera procesos neurodegenerativos como la EA.

## **2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Las enfermedades crónicas no transmisibles se han convertido en una de las principales amenazas para la salud a nivel mundial. Aunque la resistencia a la insulina surgió en el mundo occidental, su prevalencia ha aumentado progresivamente en diversas regiones del mundo (Saklayen, 2018). En México, la obesidad abdominal y las dislipidemias, tanto de manera individual como en conjunto, son resultantes de la resistencia a la insulina patológica (RIP), situando a esta población en un alto riesgo de desarrollar DT2 (Freemantle et al., 2008; Warraich & Rana, 2017) y enfermedades cardiovasculares (ECV) (Schneider et al., 2010). Por ello, fortalecer las estrategias de prevención y control es una prioridad.

Desde 2012, en México se ha registrado un incremento sostenido en la prevalencia de obesidad, hipertensión, DT2 y dislipidemias, consolidándose como un grave problema de salud pública (Ortiz-Rodríguez et al., 2022). A nivel global en 2018, se reportaron más de mil millones de personas con estos padecimientos (Saklayen, 2018). De manera específica, en México durante ese mismo año, la prevalencia de esta condición fue del 56% en comparación con el 40% reportado en 2006. Asimismo, entre los adultos mayores de 60 años, la prevalencia pasó del 68% en 2006 al 77% en 2016 (Rojas-Martínez et al., 2021). Estos datos reflejan una tendencia creciente de RIP y sus complicaciones en la población mexicana a lo largo de los últimos doce años.

A nivel mundial, el costo total de la RIP y sus complicaciones, que incluye el costo de la atención médica y la pérdida de productividad económica potencial, asciende a billones de dólares, y se proyecta que esta cifra continuará aumentando si no se implementan acciones concertadas a nivel gubernamental y social para modificar los estilos de vida que favorecen su desarrollo (Saklayen, 2018). La tendencia actual no es sostenible a menos que se encuentren intervenciones efectivas para su prevención y control.

Recientemente, múltiples estudios han evidenciado una asociación significativa entre la resistencia a la RIP, la disfunción mitocondrial y el desarrollo de enfermedades

neurodegenerativas (END). La RIP contribuye mediante diversos mecanismos, como alteraciones en el metabolismo energético, incremento del estrés oxidativo y disfunción mitocondrial, lo que puede comprometer la función neuronal y la homeostasis de los neurotransmisores (Matioli & Nitrini, 2015).

Las END, en particular la EA y la enfermedad de Parkinson (EP), representan un creciente desafío sanitario tanto en México como a nivel global. Se estima que el número de personas con demencia aumentará de 57,4 millones de casos en todo el mundo en 2019 a 152,8 millones de casos en 2050 (Nichols et al., 2022). En México, la prevalencia de EA alcanza el 7,3 %, con una incidencia de 27,3 casos por cada 1.000 personas/año (Gutiérrez-Robledo, L. Arrieta-Cruz, 2015), y se estima que para 2050 habrá 3,5 millones de personas afectadas (Choez-García et al., 2020).

Dado este panorama, resulta fundamental entender los mecanismos celulares y moleculares que vinculan la RIP con la neurodegeneración.

En este contexto, surge la siguiente pregunta de investigación: **¿Cuál es el efecto de la resistencia a la insulina inducida por una dieta hiperglucídica en la dinámica, morfología y bioenergética mitocondrial en el hipocampo de ratas Wistar?**

### 3. JUSTIFICACIÓN

Las modificaciones en los patrones de consumo alimentario, especialmente el aumento en la ingesta de alimentos hipercalóricos y ultraprocesados, han contribuido al incremento en la prevalencia de enfermedades crónicas no transmisibles. En este contexto, la investigación se ha centrado cada vez más en comprender las causas metabólicas subyacentes y los efectos sistémicos del consumo de este tipo de dietas, dada su creciente repercusión sobre la salud global.

Una dieta occidental típica, rica en azúcares y grasas saturadas, combinada con un estilo de vida sedentario, puede tener efectos perjudiciales sobre la función cerebral, particularmente al alterar los procesos bioenergéticos que tienen lugar en las mitocondrias (Advani et al., 2021; Murtaza et al., 2021). En especial, el consumo sostenido de HCD puede inducir un desequilibrio en los mecanismos de la dinámica mitocondrial, afectando la homeostasis energética celular (Haigh et al., 2020). Las mitocondrias en las neuronas son particularmente susceptibles al daño y al deterioro funcional debido a su alta demanda energética (Cicali & Tapia-Rojas, 2024).

El hipocampo, una estructura esencial para la memoria y el aprendizaje, es una de las regiones cerebrales más vulnerables al daño metabólico, dada su sensibilidad al equilibrio entre el suministro de nutrientes y oxígeno y las altas demandas metabólicas de las neuronas y células gliales (Bartsch & Wulff, 2015; Kirschen et al., 2018). Esta vulnerabilidad puede agravarse por cambios en la preferencia de sustratos energéticos así como por la inhibición de respuestas adaptativas mitocondriales ante el estrés oxidativo.

No obstante, el hipocampo también presenta una notable plasticidad, lo que sugiere un potencial de adaptación/recuperación funcional en respuesta a intervenciones terapéuticas (Raefsky & Mattson, 2017; Vilaboa, 2018). Comprender los mecanismos que determinan esta dualidad resulta clave para el diseño de estrategias terapéuticas efectivas frente a condiciones neurodegenerativas.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 Objetivo general**

Analizar el efecto de la resistencia a la insulina inducida por el consumo de una dieta hiperglúcida en la dinámica y morfología mitocondrial en el hipocampo de la rata Wistar.

### **4.2 Objetivos específicos**

- a) Cuantificar la síntesis de ATP de mitocondrias hipocampales de rata Wistar a partir de diferentes sustratos.
- b) Evaluar la mitofagia, fusión y fisión mitocondrial en el hipocampo de ratas Wistar.
- c) Evaluar el potencial de membrana mitocondrial en el hipocampo de la rata Wistar.
- d) Estudiar la morfología externa e interna de mitocondrias hipocampales de rata Wistar.

## **5. HIPÓTESIS**

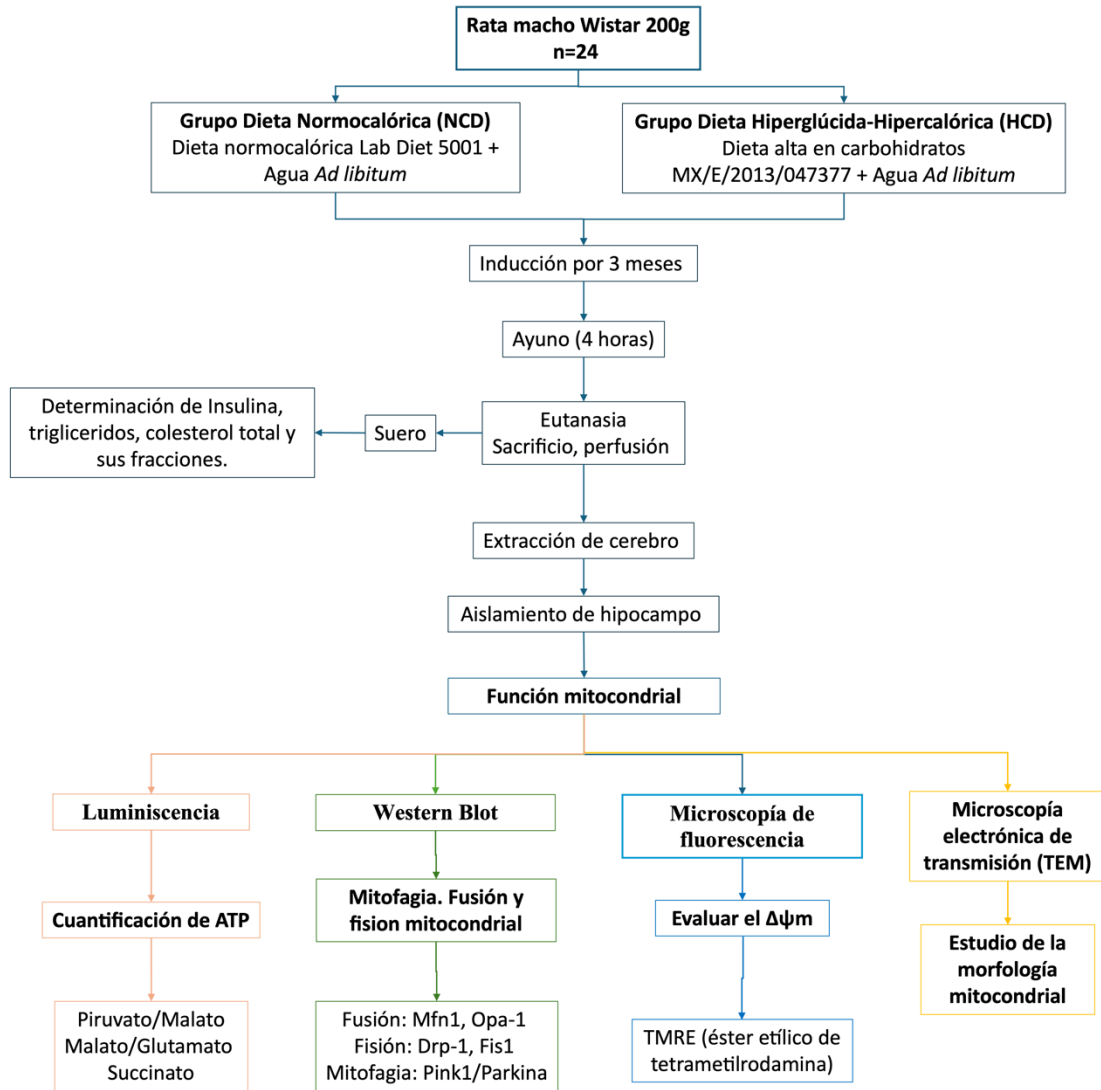
### **5.1 Hipótesis nula**

La resistencia a la insulina inducida por el consumo de una dieta hiperglúcida no modifica la dinámica y morfología mitocondrial en el hipocampo de rata Wistar.

### **5.2 Hipótesis alternativa**

La resistencia a la insulina inducida por el consumo de una dieta hiperglúcida modifica la dinámica y morfología mitocondrial en el hipocampo de la rata Wistar.

## 6. DIAGRAMA DE TRABAJO



## 7. METODOLOGÍA

### 7.1 Modelo animal

Se utilizaron 24 ratas macho de la cepa Wistar de 200 g de peso provenientes del bioterio “Claude Bernard” de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Los animales se mantuvieron en condiciones controladas de acondicionamiento con ciclos de luz y oscuridad de 12 horas y temperatura de 19 a 26 °C. Todos los procedimientos se realizaron bajo las condiciones establecidas por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) de la BUAP y la NOM-062-ZOO-1999, que establece las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

### 7.2 Conformación de grupos

Se conformaron 2 grupos con una  $n = 12$  ratas por grupo, como se indica a continuación: el Grupo Control (Control NCD) será alimentado con la dieta LabDiet 5001 y agua de beber *ad libitum*, y el Grupo Dieta Hiperglúcida-Hiperclórica (HCD), el cual consumirá la dieta MX/E/2013/047377 y agua de beber *ad libitum*.

La inducción del modelo fue durante tres meses y posteriormente se realizaron determinaciones de glucosa, insulina, triglicéridos y colesterol y sus fracciones para validar el modelo.

### 7.3 Determinaciones séricas

Los animales se mantuvieron en ayuno por cuatro horas y por punción cardíaca se obtuvo la muestra sanguínea para realizar las determinaciones de glucosa, triglicéridos, colesterol total y sus fracciones mediante pruebas espectrofotométricas con kits comerciales. La determinación de insulina se realizó mediante una prueba de ELISA, también con un kit comercial, y se determinaron los índices de resistencia empleando lo reportado por (Treviño et al., 2015).

### 7.4 Síntesis de ATP

Se empleó un método cinético para determinar la síntesis de ATP en mitocondrias recién aisladas aprovechando el sistema luciferina-luciferasa, como fue reportado por Vives-Bauza et al., 2007. Las mitocondrias recién aisladas se resuspenden en Buffer A (KCl 150 mM, Tris-HCl 25 mM pH 7.4, EDTA 2 mM, BSA 0.1%, KHPO<sub>4</sub> 10 mM, MgCl<sub>2</sub> 0.1 mM), se colocan 10 µg de mitocondrias en micropozos blancos, se añaden 160 µL de Buffer A, adenosín pentafosfato

6 mM, y los sustratos: Piruvato/Malato, Malato/Glutamato o Succinato, ADP 6 mM y 20  $\mu$ L de Buffer B (Tris-Acetato pH 7.75, luciferina 0.8 mM, 20  $\mu$ g/mL luciferasa). Inmediatamente después de la adición del Buffer B, se sigue la síntesis de ATP durante 3 minutos en un luminómetro (Lumistat 4900), se calcula la  $\Delta$ RFU y se extrapola el valor contra una curva de concentración estándar de ATP para obtener las concentraciones de las muestras que posteriormente son normalizadas contra la concentración de proteínas, y el tiempo de reacción.

### **7.5 Western Blot**

El tejido congelado fue homogenizado en Medio A (sacarosa 0.32 M, Tris-HCl 10 mM pH 7.4, EDTA 1 mM) para aislar las mitocondrias. El pellet de mitocondrias se resuspendió en RIPA, se centrifugó a 13000 rpm durante 15 min a 4 °C y posteriormente se tomó el sobrenadante y se realizó la cuantificación de proteínas por el método de Bradford. A continuación, se realizó el corrimiento electroforético en condiciones desnaturalizantes (SDS-PAGE) en un gel de acrilamida/bisacrilamida a un porcentaje dependiente de la proteína buscada, a continuación, se realizó la transferencia húmeda a membranas de fluoruro de polivinilideno (0.45  $\mu$ m, Millipore, USA). La membrana se bloqueó con albúmina de suero bovino (BSA) en solución salina tamponada con Tris con detergente Tween 20 (TBS-T 0,1 %) al 2,5 % por 2 horas. Posteriormente, se incubó la membrana con uno de los siguientes anticuerpos primarios: Mfn1 (14739S), Opa-1 (Sc-393296), Drp-1 (3455S), Fis1 (sc-376447), Pink1 (6946S), Parkina (4211S), TOM20 (sc-17764) o SDHA (ab14715) toda la noche a 4 °C. Al día siguiente, las membranas se lavaron con TBS-T y se incubaron con el anticuerpo secundario durante 1 hora a temperatura ambiente; finalmente, las bandas se detectaron mediante quimioluminiscencia (WBKLS0500 Millipore) empleando un fotodocumentador UVITEC y el software Nine Alliance de UVITEC.

### **7.6 Determinación del potencial de membrana mitocondrial**

La evaluación del potencial de membrana mitocondrial se llevó a cabo utilizando el Kit de Ensayo de Potencial de Membrana Mitocondrial con éster etílico de tetrametilrodamina (TMRE, Cat. Num. ab113852, Abcam, Cambridge, MA, USA). El día del experimento, una rebanada de hipocampo de 1 mm fue incubado en el medio Krebs Ringer (CaCl<sub>2</sub> 2 mM, HEPES 5 mM, KCl 3 mM, MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 1 mM, NaCl 139 mM, NaHCO<sub>3</sub> 2 mM, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.5 mM, glucosa 10 mM) durante 1 hora a 37°C con 5 % de CO<sub>2</sub>, posteriormente la sonda TMRE se diluyó con medio

Krebs Ringer para incubar la rebanada de hipocampo durante 30 minutos a 37 °C con 5 % de CO<sub>2</sub>. Al finalizar la incubación, el tejido fue lavado con solución Krebs-Ringer para eliminar el exceso de colorante. Los tejidos se fijaron en paraformaldehído al 4% durante 24 horas y luego se transfirieron a una solución de sacarosa al 30% para su crioprotección y finalmente se cortaron secciones de 20 µm utilizando un criostato a -21 °C. Las imágenes se capturan utilizando un microscopio de fluorescencia Leica DM1000 LED con un objetivo 20x a  $\lambda_{\text{exc}}/\lambda_{\text{em}} = 488/575$  nm. La intensidad de fluorescencia se analizó con el software ImageJ.

### **7.7 Estudio de la morfología mitocondrial**

La estructura de las mitocondrias hipocampales se visualizó mediante TEM. Los animales se perfundieron intracardíaco con PBS 1x y luego con 4% de paraformaldehído (PFA) y 0,1% de glutaraldehído en solución salina tamponada con fosfato (PBS, pH 7.4). Los cerebros se extrajeron, se diseccionó el hipocampo y se cortó en cubos de ~1 mm<sup>3</sup> para fijarse durante toda la noche a 4 °C con glutaraldehído al 2.5% en un buffer de Sorenson (pH 7.2). Posteriormente, las muestras se fijaron con un tetroxido de osmio (OsO<sub>4</sub>) al 1 %, se deshidrataron en series de etanol y fueron incrustadas en resina epoxi. Finalmente, se prepararon secciones ultrafinas de 60 nm utilizando un ultramicrotómico Leica Ultracut, contrastadas con acetato de uranilo 2.5% y citrato de plomo 0.3%, y se observaron utilizando un microscopio electrónico de transmisión Zeiss modelo LIBRA 120.

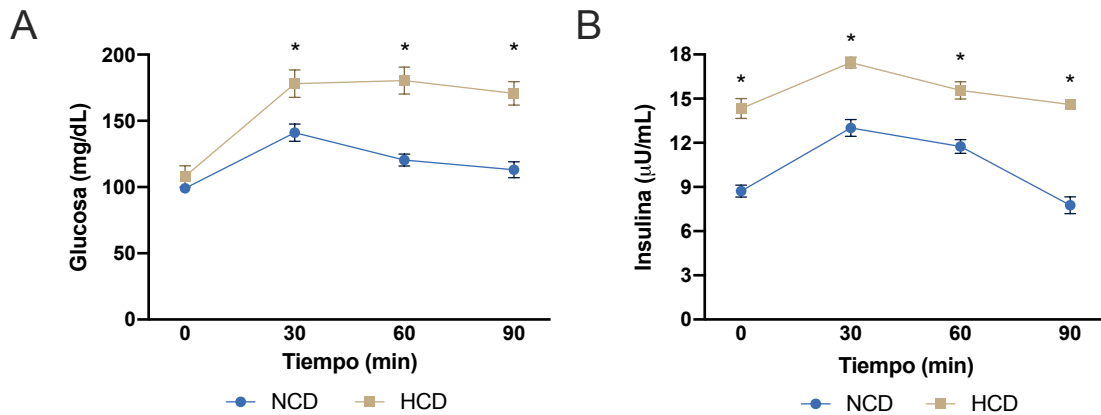
### **7.8 Análisis estadístico**

Los resultados se presentan como la media  $\pm$  el error estándar de la media y el análisis estadístico se realizó mediante la prueba t de Student no pareada o la prueba de Mann-Whitney, considerando un nivel de significancia de  $p < 0,05$ , utilizando el programa GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA) para gráficos y análisis estadístico.

## 8. RESULTADOS

### 8.1 Modelo de resistencia a la insulina

Nuestro grupo de trabajo ha demostrado que las dietas hipercalóricas, particularmente aquellas ricas en carbohidratos, inducen un fenotipo caracterizado por hiperglucemia, hiperinsulinemia y RIP.

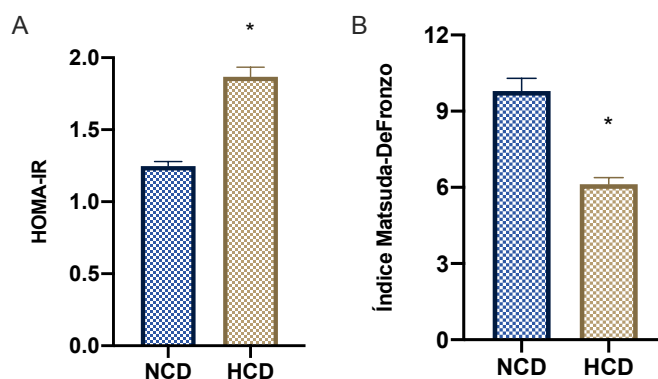


**Figura 1.** Caracterización metabólica de los grupos experimentales. **A)** Curva de tolerancia oral a la glucosa, **B)** Niveles de insulina a los 0, 30, 60 y 90 minutos después de una carga de 1.75 g de glucosa/kg de peso. Los resultados mostrados son la media de 10 mediciones individuales  $\pm$  el error estándar de la media (EEM). El análisis estadístico se realizó por la prueba *t* de Student. (\*) Indica una diferencia significativa a  $p < 0,05$ .

Los niveles plasmáticos de glucosa e insulina durante la prueba de tolerancia oral a la glucosa (OGTT) en los grupos HCD y NCD se presentan en la Figura 1. El grupo HCD mostró un aumento del 26.2% en la concentración de glucosa plasmática a los 30 minutos, alcanzando su punto máximo a los 60 minutos, con una diferencia del 49.9% respecto al grupo NCD (Figura 1A). En contraste, el grupo NCD presentó niveles significativamente más bajos de glucosa a los 30, 60 y 90 minutos, además de mostrar una recuperación más eficiente, regresando a niveles basales a los 90 minutos, mientras que en el grupo HCD la glucemia permaneció significativamente elevada (51%).

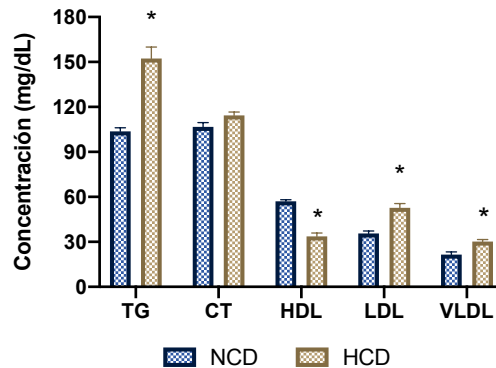
En cuanto a la respuesta a la insulina (Figura 1B), el grupo HCD presentó valores basales de insulina plasmática mayores (64.5%) que el grupo NCD. Ambos grupos mostraron un pico de liberación de insulina a los 30 minutos, coincidiendo con los niveles más altos de glucosa, pero la respuesta fue significativamente mayor en el grupo HCD (34.1% más respecto a NCD), permitiendo al grupo NCD reducir la glucemia en el minuto 60 (32.4%) y regresar a valores basales a los 90 minutos (88% de diferencia respecto al grupo HCD).

Estos patrones de resistencia a la insulina. En particular, el índice HOMA-IR, calculado a partir de glucosa e insulina en ayuno, mostró un aumento del 49.7% en la resistencia a la insulina en el grupo HCD, mientras que el índice de Matsuda, calculado a partir de los datos de la OGTT, mostró una disminución del 37.5% de la sensibilidad a la insulina en el grupo HCD en comparación con el NCD (Fig. 2).



**Figura 2.** Evaluación de la insulinoresistencia. **A)** Índice Matsuda-DeFronzo de sensibilidad a la insulina postestimulación, **B)** Índice HOMA-IR. Los resultados de los parámetros determinados se representan como el promedio de 12 sujetos experimentales  $\pm$  EEM. El análisis estadístico se realizó por la prueba t-Student. (\*) Indica diferencias significativas  $p < 0.05$ .

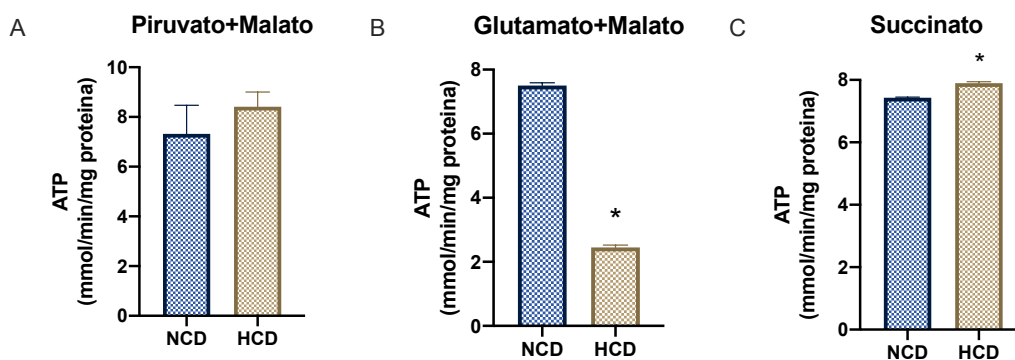
Por otra parte, la Figura 3 muestra el perfil lipídico sérico en condiciones de ayuno. El grupo HCD presentó aumentos significativos en los niveles de TG (46.9%), LDL (48.2%) y VLDL (40.6%) en comparación con el grupo NCD, mientras que los niveles de HDL disminuyeron significativamente (40.9%). Estas alteraciones lipídicas son características de la RIP y contribuyen al desarrollo del SMet y del estado inflamatorio crónico de bajo grado.



**Figura 3.** Perfil lipídico sérico en condiciones de ayuno. Los resultados de los parámetros determinados se representan como el promedio de 10 sujetos experimentales  $\pm$  EEM. El análisis estadístico se realizó por la prueba *t*-Student. (\*) Indica diferencias significativas  $p < 0.05$ . TG, triglicéridos; TC, colesterol total; HDL, colesterol en lipoproteínas de alta densidad; LDL, colesterol en lipoproteínas de baja densidad; VLDL, colesterol en lipoproteínas de muy baja densidad.

## 8.2 Cuantificación de ATP

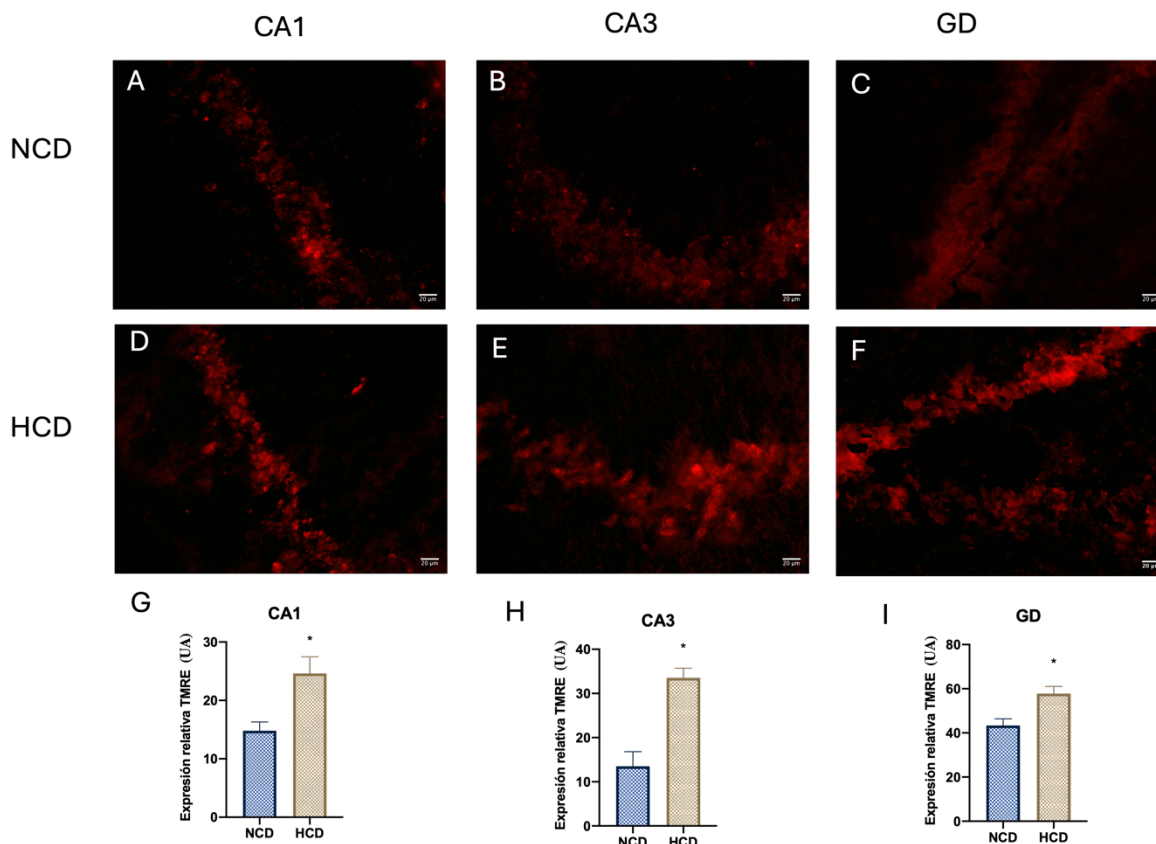
Para evaluar la capacidad de síntesis de ATP mitocondrial, se utilizaron sustratos específicos que alimentan el TCA, que permiten evaluar la capacidad de las mitocondrias para incorporar estos sustratos y generar ATP. En este contexto, la combinación de piruvato+malato (P+M) permite evaluar el Complejo I de la cadena de transporte de electrones, dado que el malato se convierte en oxaloacetato y el piruvato en acetil-CoA, generando NADH que alimenta dicho complejo. Los resultados (Figura 4A) mostraron una tendencia no significativa al aumento de ATP del grupo HCD, sugiriendo que, a pesar de los cambios metabólicos inducidos por la dieta, la capacidad de generar ATP a partir de los sustratos piruvato + malato (P+M) permanece sin alteraciones en comparación con el grupo NCD.



**Figura 4.** Medición de la síntesis de ATP con diferentes sustratos. **A)** piruvato+malato, **B)** glutamato+malato, **C)** succinato. Los valores presentados son la media de 4 mediciones individuales  $\pm$  EEM. El análisis estadístico se realizó por la prueba t-Student. (\*) Indica diferencias significativas  $p < 0.05$ .

Sin embargo, en la Figura 4B se observa una disminución en la producción de ATP (67.4%) a través de OXPHOS cuando se añade Glutamato+Malato (G+M) como sustrato, lo que permite evaluar la actividad del Complejo I y el aporte del catabolismo de aminoácidos mediante la conversión de glutamato a  $\alpha$ -cetoglutarato y de malato a oxaloacetato. En contraste, la función del Complejo II puede ser evaluada en presencia de succinato, el cual se oxida a fumarato, generando  $FADH_2$ . La Figura 4C muestra que la producción de ATP mediada por  $FADH_2$  aumentó (6.2%) en el grupo HCD, lo que sugiere que el succinato se convierte en la principal fuente para la obtención de ATP, quedando los sustratos piruvato/malato como la opción secundaria. Esta clara alteración en la preferencia y eficiencia del uso de sustratos refleja una reorganización del metabolismo energético mitocondrial bajo condiciones de dieta hipercalórica.

### 8.3 Potencial de membrana mitocondrial ( $\Delta\Psi_m$ )



**Figura 5.** Potencial de membrana mitocondrial ( $\Delta\Psi_m$ ). Fotomicrografías representativas de la expresión de TMRE 20x. **A-C**, TMRE en CA1, CA3 y GD del grupo NCD. **D-F**, TMRE en CA1, CA3 y GD del grupo HCD. **G-I**, Análisis del  $\Delta\Psi_m$  basal por expresión relativa de TMRE (UA). Los datos se presentan como la media de 3 mediciones individuales  $\pm$  EEM. Las comparaciones entre grupos se realizaron mediante la prueba U de Mann-Whitney. (\*) Indica diferencia significativa a  $p < 0,05$ .

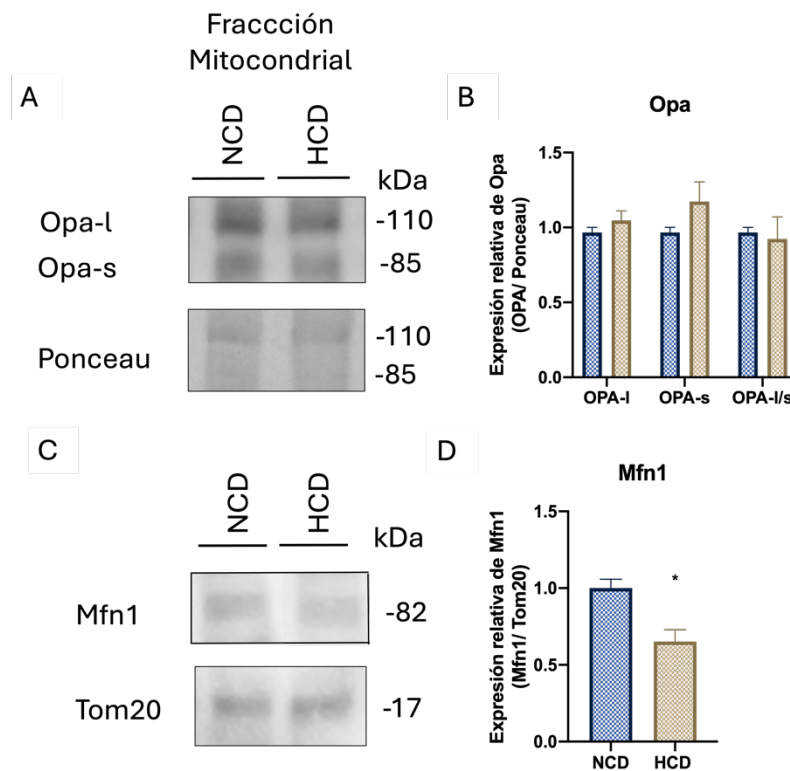
El potencial de membrana mitocondrial ( $\Delta\Psi_m$ ) representa la capacidad de las mitocondrias para mantener un gradiente electroquímico necesario para producir ATP (Baranov et al., 2021). En este estudio, se utilizó TMRE, un marcador fluorescente dependiente de  $\Delta\Psi_m$ , para evaluar el estado funcional de las mitocondrias en las regiones CA1, CA3 y GD del hipocampo.

En el grupo NCD, se observa una señal emitida por el TMRE en las tres regiones analizadas (Figura 5A-C), mientras que en el grupo HCD se detecta un aumento significativo, lo que indica un incremento del potencial de membrana mitocondrial. Específicamente, en CA1 se detectó

un aumento del 66.2 %, en CA3 un incremento marcado del 148.1 % y en GD un aumento del 33.4 % en comparación con el grupo NCD.

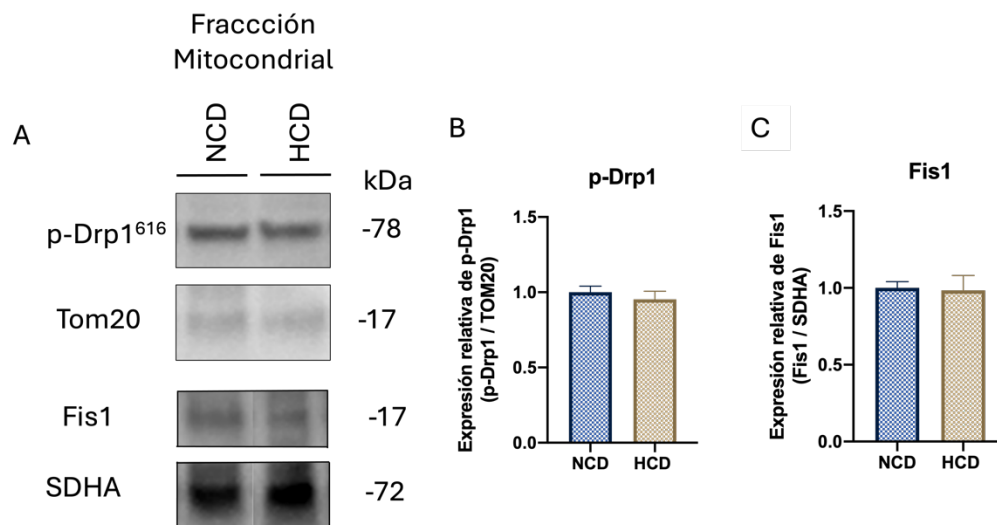
#### 8.4 Dinámica mitocondrial

Opa y Mfn1 son proteínas esenciales para la fusión de las membranas mitocondriales interna y externa, respectivamente. En el grupo HCD no se observaron cambios significativos en las isoformas larga y corta de Opa (Figura 6B), ni en la relación entre estas isoformas (l/s). Sin embargo, se detectó una disminución significativa del 34.8% en los niveles de Mfn1 (Figura 6D). Esta disminución de Mfn1 podría afectar la fusión de la membrana mitocondrial, lo que podría influir en la dinámica y, por lo tanto, en la función mitocondrial.



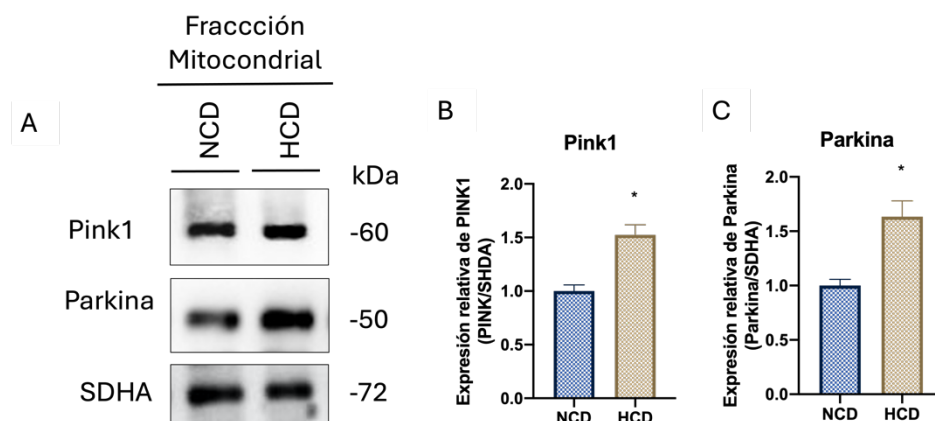
**Figura 6.** Efecto de HCD en la fusión mitocondrial. **A)** Western blot de Opa y Mfn1. **B)** Análisis de Opa/Ponceau. **C)** Análisis de Mfn1/TOM20. Los datos se presentan como la media de 3 mediciones individuales  $\pm$  EEM. Las comparaciones entre grupos se realizaron mediante la prueba "t" de Student. (\*) Indica diferencia significativa a  $p < 0,05$ .

Por otro lado, las proteínas involucradas en la fisión mitocondrial, p-Drp1 y Fis1 (Figura 7A), no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos, lo que sugiere que la fisión mitocondrial no se encuentra alterada en respuesta a la dieta HCD.



**Figura 7.** Efecto de HCD en la fisión mitocondrial. **A)** Western blot de p-Drp1<sup>616</sup> y Fis1. **B)** Análisis de p-Drp1<sup>616</sup>/TOM20. **C)** Análisis de Fis1/SDHA. Los datos se presentan como la media de 3 mediciones individuales  $\pm$  EEM. Las comparaciones entre grupos se realizaron mediante la prueba "t" de Student. (\*) Indica diferencia significativa a  $p < 0,05$ .

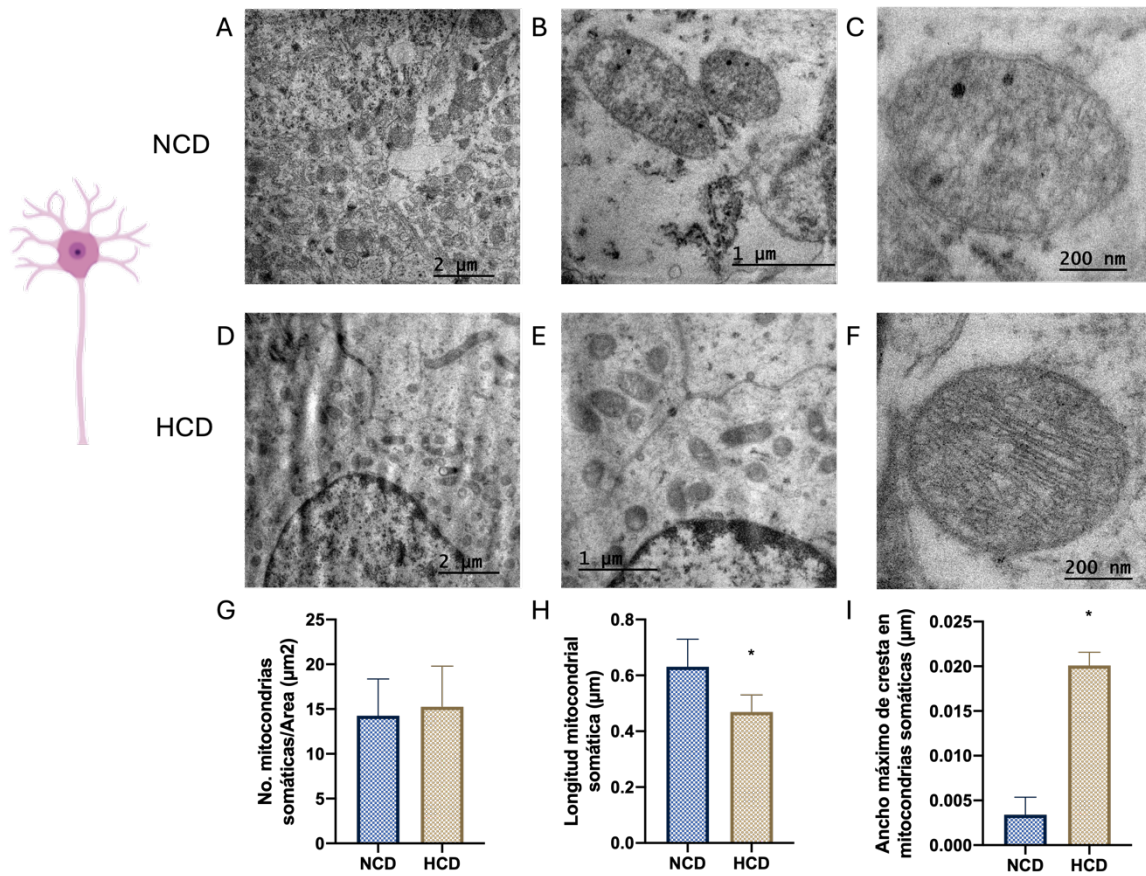
Finalmente, Pink1 y Parkina son proteínas clave en el proceso de mitofagia, el cual permite la eliminación selectiva de mitocondrias dañadas y es esencial para mantener la calidad y el funcionamiento mitocondrial. Los resultados mostrados en la Figura 8 indican que el grupo HCD presentó un aumento significativo en la expresión de Pink1 (52.4%) y Parkina (63.3%) en la fracción mitocondrial, lo que nos sugiere una activación del proceso de mitofagia.



**Figura 8.** Efecto de HCD en la mitofagia. **A)** Western blot de Pink1 y Parkina. **B)** Análisis de Pink1/SDHA. **C)** Análisis de Parkina/SDHA. Los datos se presentan como la media de 3 mediciones individuales  $\pm$  EEM. Las comparaciones entre grupos se realizaron mediante la prueba "t" de Student. (\*) Indica diferencia significativa a  $p < 0,05$ .

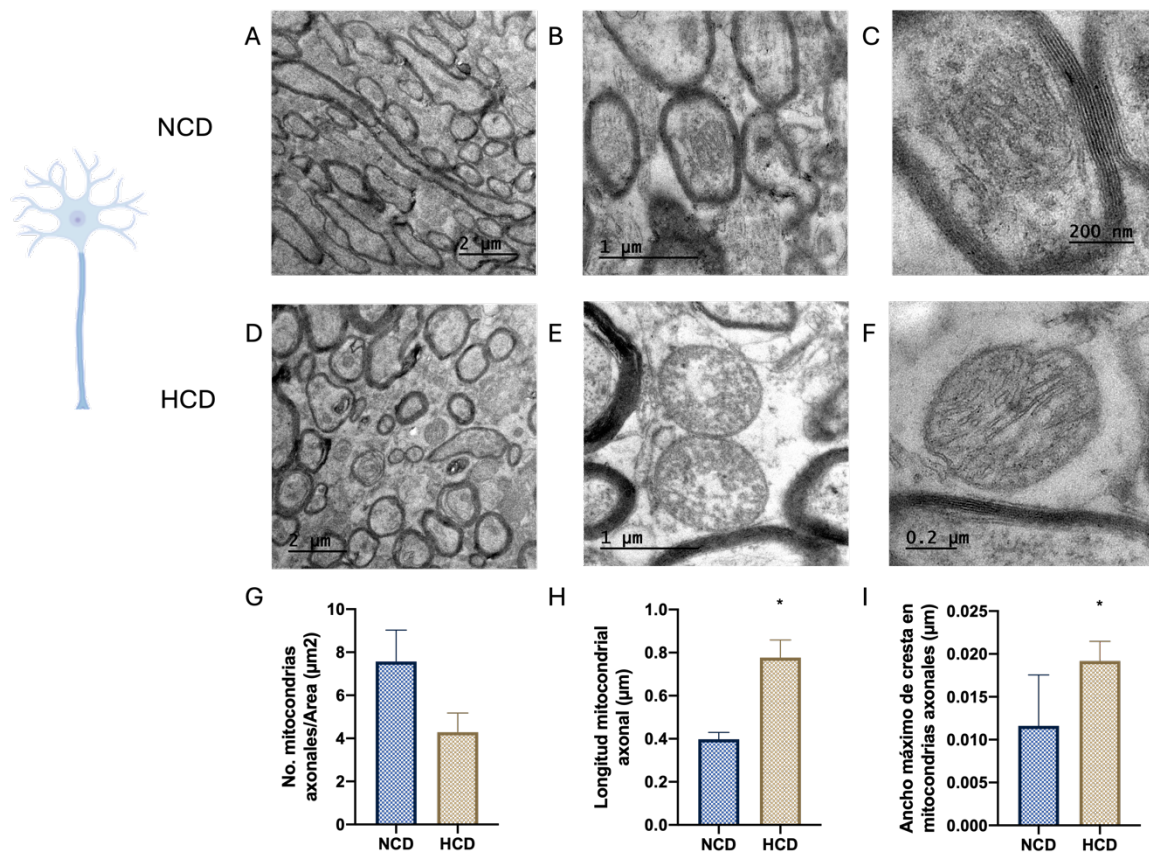
### 8.5 Morfología mitocondrial

La morfología mitocondrial está directamente relacionada con su función y puede variar desde estructuras esféricas hasta redes tubulares, dependiendo del tipo celular y del entorno (Ding et al., 2025). Por lo anterior, se llevó a cabo la evaluación de la morfología mitocondrial en los grupos NCD y HCD mediante TEM. El primer parámetro analizado fue el número de mitocondrias somáticas por  $\mu\text{m}^2$ , en donde no se encontraron cambios significativos en comparación con el grupo NCD. Sin embargo, la longitud mitocondrial ( $\mu\text{m}$ ) disminuyó un 25.7 % y el ancho máximo de cresta ( $\mu\text{m}$ ) aumentó en el grupo HCD, lo que sugiere un predominio de la fisión.



**Figura 9.** Fotomicrografías de TEM de mitocondrias somáticas de hipocampo. Los valores presentados son la media de >70 mitocondrias medidas  $\pm$  EEM. Las comparaciones entre grupos se realizaron mediante la prueba "t" de Student. (\*) Indica diferencia significativa a  $p < 0,05$ .

En el compartimento axonal, el número de mitocondrias se redujo un 43.4%, mientras que su longitud y el ancho máximo de cresta aumentaron un 95.1% y 65.3%, mostrando una tendencia a la reducción en el número de mitocondrias probablemente por la fusión mitocondrial.



**Figura 10.** Fotomicrografías de TEM de mitocondrias axonales de hipocampo. Los valores presentados son la media de >70 mitocondrias medidas  $\pm$  EEM. Las comparaciones entre grupos se realizaron mediante la prueba "t" de Student. (\*) Indica diferencia significativa a  $p < 0,05$ .

## 9. DISCUSION DE RESULTADOS

### **Modelo de resistencia a la insulina**

El incremento global de trastornos metabólicos, como la obesidad y la DT2, plantea desafíos significativos para los sistemas de salud. Con la RI surgiendo como un precursor fundamental que desestabiliza la comunicación entre tejidos mediante metabolitos desregulados (Gancheva et al., 2018). En una ingesta calórica excesiva, especialmente con dietas que contienen principalmente azúcares simples, la RIP impide respuestas fisiológicas normales en tejidos objetivo, como la inhibición de la producción endógena de glucosa en el hígado, el bloqueo de

la lipólisis, la absorción tisular de glucosa y la formación de reservas glucogénicas (Petersen & Shulman, 2018)

En nuestro modelo, después de tres meses del consumo de la dieta MX/E/2013/047377 con alto contenido de carbohidratos simples (compuesta por 71.4% de azúcares, predominantemente glucosa al 80% y fructosa al 20%), se observó una alteración en el grupo HCD, iniciando con mecanismos compensatorios. Las células  $\beta$  pancreáticas responden inicialmente elevando la liberación de insulina para contrarrestar la carga glicémica periférica ocasionada por el sobreconsumo de azúcares, lo que genera hiperinsulinemia que preserva temporalmente la euglicemia, aunque eleva el riesgo de intolerancia a la glucosa, exceso de triglicéridos y disminución de colesterol HDL (Reaven, 2005). Con el tiempo, esta compensación se agota, demandando fallos tanto en tejidos insulino-sensibles como en la capacidad secretora de las células  $\beta$ , lo que lleva a una hiperglucemia franca (Petersen & Shulman, 2018)

La prueba de tolerancia oral a la glucosa (Figura 1A) muestra estas disrupciones. En el grupo NCD, la curva inicialmente presenta un ascenso (0-60 minutos) y posteriormente un descenso (60-90 minutos) gracias a la acción eficiente de la insulina, que frena la gluconeogénesis hepática y favorece la captación muscular. En contraste, tras tres meses de consumo de HCD, la curva presenta un perfil alterado; si bien no se observan hiperglucemias basales, sí presenta un pico prolongado después de los 30 minutos y ausencia de retorno a los niveles basales a los 90 minutos (Figura 1A). Esta primera fase defectuosa señala una sensibilidad hepática comprometida, incapaz de suprimir la liberación endógena de glucosa pese a la hiperinsulinemia (Figura 1B), mientras que la fase tardía indica una recaptura periférica deficiente en músculo y tejido adiposo. El grupo HCD presenta hiperinsulinemia compensatoria (Figura 1B) que se mantiene a lo largo de la curva y que mantiene un nivel euglicémico basal. Sin embargo, con la cronicidad, esta hiperinsulinemia puede llevar a la pérdida de la capacidad de la célula  $\beta$  para mantener esta secreción. Lo anterior coincide con observaciones previas en el grupo de trabajo en donde exposiciones similares de 90 días generan patrones hiperinsulinémicos persistentes (Treviño et al., 2015; Moroni-Gonzalez, 2016).

Estas alteraciones en el manejo de la glucosa se vinculan directamente con los resultados de HOMA-IR (Figura 2A), que se eleva de forma significativa en comparación con el grupo NCD. Asimismo, el índice Matsuda-DeFronzo disminuye (Figura 2B), indicando la pérdida de sensibilidad hepática y periférica durante la prueba de tolerancia oral a la glucosa. Esto destaca la ineficacia postprandial, lo que se traduce en el desarrollo de RIP (Caumo et al., 2006).

Paralelamente, surge una dislipidemia característica del SMet, con incrementos notables en triglicéridos, colesterol LDL y VLDL (Fig. 1C), impulsados por la hiperinsulinemia que estimula factores de transcripción como SREBP-1c (Proteínas de unión a elementos reguladores de esteroides) y ChREBP (Proteínas de unión a elementos reguladores de carbohidratos), lo que potencia la síntesis hepática de ácidos grasos y triglicéridos (Horton, 2003; Ma, 2006; Xu, 2013). Esto eleva las VLDL cargadas de lípidos, cuya hidrólisis ineficaz aumenta la liberación de ácidos grasos libres, aumentando las LDL con una disminución de HDL por transferencia mediada por CETP, aumentando el aclaramiento de HDL a expensas de disminuir su concentración en circulación (Fahed et al., 2022). Los ácidos grasos libres circulantes agravan la RI al interferir en cascadas como PI3K-IRS-1, manteniendo lipotoxicidad en hígado y músculo, en un ciclo que deteriora la función  $\beta$  pancreática mediante estrés oxidativo y apoptosis (Bovolini et al., 2021).

Además, los trastornos metabólicos asociados a la RI también pueden alterar el funcionamiento de las células del parénquima cerebral. En el grupo de trabajo, se han evidenciado cambios en el lipidoma cerebral después de 3 meses del consumo crónico de dieta hipercalórica hiperglúcida. Específicamente, se redujo el contenido de colesterol en el hipocampo, mientras que aumentaron los niveles de triglicéridos, fosfolípidos y ácidos grasos, además de un incremento de SREBP-1c y ChREBP (González 2021). SREBP-1c se vincula con la transcripción de enzimas como la esteroil-CoA desaturasa (SCD), y su sobreexpresión puede alterar la dinámica de MUFAs y PUFAs, lo que impacta en la sinapsis neuronal (Maruyama et al., 2002). De manera sinérgica, ChREBP -1c, otro factor de transcripción asociado a la lipogénesis, media la respuesta a los carbohidratos de la dieta (Steinbusch et al., 2015). Este factor también se encontró elevado, lo que podría indicar un desvío hacia la lipogénesis *de novo* como mecanismo para evitar glucotoxicidad (Steinbusch et al., 2015).

Además, en los cambios en el lipidoma, ya se ha demostrado que existen fluctuaciones fisiológicas significativas en los niveles de glucosa del LCR, relacionadas con la ingesta de alimentos (Verbeek et al., 2016). Las fluctuaciones de glucosa difieren significativamente entre pacientes con distintos niveles de RI y RIP; esta última provoca una mayor inestabilidad metabólica posprandial (Arias, 2022). En condiciones fisiológicas, las oscilaciones de la glucosa plasmática suelen tener una amplitud relativamente baja, mantenida mediante una delicada regulación hormonal (Arias, 2022). Sin embargo, a medida que RI transiciona a RIP, este equilibrio homeostático se altera. R. Galvão et al. (2012) encontraron diferencias significativas en la función endotelial entre los grupos con RI, lo que sugiere que se producen variaciones metabólicas incluso en las primeras etapas de la resistencia (Galvão et al., 2012).

Particularmente, el cerebro carece de reservas significativas de energía y, por lo tanto, requiere un suministro continuo de sustratos, principalmente glucosa, a través de la circulación (Bonvento & Bolaños, 2021). Su transporte a través de la BBB es mediado por la familia de transportadores de glucosa (GLUTs). El transportador GLUT1 es fundamental para la captación de glucosa a través de la BBB y se encuentra principalmente en las BECs y los astrocitos (Spinelli et al., 2019). Además, la insulina, aunque principalmente se sintetiza en el páncreas, es transportada desde la sangre a través de la BBB hacia el SNC mediante un sistema saturable (Flear et al., 1968). Se ha demostrado que las dietas altocalóricas pueden disminuir la captación de insulina por las BECs (Gray et al., 2017). Asimismo, la obesidad disminuye el transporte de insulina a través de la BBB (Nguyen et al., 2023).

Una vez en el parénquima cerebral, la glucosa y otros metabolitos se distribuyen y utilizan de manera especializada por los diferentes tipos celulares, lo que constituye la base de la cooperación metabólica astrocito-neurona (Bonvento & Bolaños, 2021). En este contexto, mientras que los astrocitos exhiben una firma metabólica predominantemente glucolítica, las neuronas dependen más de la OXPHOS para la supervivencia (Bonvento & Bolaños, 2021)

Los astrocitos utilizan principalmente GLUT1 para la captación de glucosa (Spinelli et al., 2019). Además, expresan GLUT4, un transportador sensible a la insulina, aunque no en todas las regiones del cerebro (He et al., 2025). El metabolismo glucolítico de los astrocitos produce

piruvato, que se convierte en L-lactato. El lactato se convierte en un precursor energético que es transportado a las neuronas (Astrocyte-Neuron Lactate Shuttle, ANLS (Bonvento & Bolaños, 2021)).

Las neuronas, como células excitables que generan señales eléctricas, tienen una alta demanda energética y poseen una firma metabólica oxidativa (Bonvento & Bolaños, 2021). Aunque la glucosa es el principal combustible, las neuronas son propensas a utilizar el lactato transportado por los astrocitos como sustrato mitocondrial, convirtiéndolo en piruvato y oxidándolo en el ciclo de Krebs (Bonvento & Bolaños, 2021). Gran parte de la actividad metabólica neuronal se destina al mantenimiento de los procesos sinápticos y a la restauración del potencial de membrana mediante bombas iónicas, como la bomba de sodio y potasio ( $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa) (Bonvento & Bolaños, 2021).

El manejo coordinado de los nutrientes y el metabolismo entre astrocitos, neuronas y microglía es fundamental para la función cerebral, y su disrupción se considera un factor clave en la iniciación y progresión de enfermedades neurodegenerativas y metabólicas (Bonvento & Bolaños, 2021). En nuestro grupo de trabajo, se ha informado un aumento en la permeabilidad de la BBB en regiones como el hipocampo y la corteza prefrontal tras tres meses de dieta hipercalórica (Cortes 2024), lo que sugiere alteraciones en el flujo de nutrientes hacia el parénquima cerebral. Este hallazgo resalta la importancia de investigar cómo estos cambios en la permeabilidad influyen en la distribución y el procesamiento de metabolitos por parte de las células cerebrales y, específicamente, por las mitocondrias, especialmente en contextos de resistencia a la insulina, donde el equilibrio metabólico coordinado resulta esencial para mantener las funciones celulares y prevenir disfunciones a largo plazo.

### **Impacto de la HCD en la producción de ATP mitocondrial en hipocampo**

El consumo de HCD generó alteraciones específicas en la función mitocondrial y, por tanto, en el metabolismo hipocampal. Previamente, en el grupo de trabajo se ha reportado que el consumo de una HCD induce un aumento en la actividad del complejo I mitocondrial, lo cual también ha sido reportado por Subramaniyan et al., 2024 quien lo vincula con un incremento inicial en la

producción de ATP, pero al mismo tiempo con una elevada producción de ROS, lo que lleva al estrés oxidativo y la disfunción mitocondrial.

Estos hallazgos resaltan la necesidad de evaluar la función de los complejos a través de su capacidad para sintetizar ATP a partir de diferentes sustratos metabólicos. Para evaluar la capacidad de síntesis a través del complejo I, utilizamos los sustratos piruvato + malato. Interesantemente, encontramos que no hay diferencias significativas, lo que se observa en la figura 4A. Esta preservación de la síntesis de ATP dependiente de piruvato sugiere una capacidad de adaptación, lo cual coincide con evidencia de que las mitocondrias cerebrales pueden mantener su capacidad oxidativa incluso ante sobrecargas lipídicas.

El estudio de Jørgensen et al., 2015 que evaluaron mitocondrias aisladas de la corteza cerebral en ratas Wistar tras el consumo de una HFD durante un año, no observó diferencias significativas en la respiración mitocondrial con piruvato+malato, lo que sugiere que las mitocondrias cerebrales dependientes predominantemente de piruvato derivado de glucosa, pueden mantener su capacidad oxidativa y producción de ATP, incluso ante una sobrecarga lipídica prolongada, posiblemente por la BBB que limita el paso de ácidos grasos y mantiene el flujo glucolítico hacia la utilización de piruvato.

Adicionalmente, el glutamato es un sustrato alternativo clave para la producción de ATP mitocondrial en el cerebro, donde contribuye al ciclo de Krebs a través de la conversión de  $\alpha$ -cetoglutarato, complementando el metabolismo glucolítico. Las dietas ricas en carbohidratos y/o grasas, que inducen el desarrollo de SMet y obesidad, se han relacionado ampliamente con alteraciones en el equilibrio del ciclo glutamato-glutamina (Harris et al., 2014; S. C. Langley & York, 1990; Raider et al., 2016; Sickmann et al., 2010; Sookoian, 2012; Valladolid-Acebes et al., 2012). Raider et al., 2016, en un modelo crónico de HFD (8 semanas) reportaron una disminución significativa del ratio glutamato/glutamina en el hipocampo de ratas, vinculándolo con un aumento en la recaptación y metabolismo del glutamato, posiblemente como un mecanismo compensatorio para evitar excitotoxicidad. Adicionalmente, Tsai et al., 2018, también en un modelo crónico de HFD (12 semanas), observaron una disminución en la expresión de los transportadores gliales GLAST y GLT-1, lo que sugiere una reducción en la

captación de glutamato por los astrocitos, afectando la glucólisis y la producción de lactato, y por lo tanto alterando el metabolismo energético. Estas alteraciones en el equilibrio del ciclo glutamato-glutamina ocurren junto con el deterioro de la transmisión sináptica y la memoria (Martínez-Orozco et al., 2022), lo que sugiere que, cuando se utiliza glutamato como sustrato para la producción de ATP hay una eficiencia comprometida, un comportamiento que difiere del mecanismo protector inicial propuesto por Raider et al., 2016, pero que concuerda con la desregulación observada por Tsai et al., 2018 en etapas crónicas de alimentación con una HFD. En la Figura 4B, se evidencia que en nuestro modelo de HCD se presentó una disminución en la síntesis de ATP a partir de glutamato, lo que incrementa la predisposición del hipocampo al estrés oxidativo y la disfunción sináptica.

En contraste, la Figura 4C muestra que la producción de ATP mediada por  $\text{FADH}_2$  incrementa significativamente en el grupo HCD. Esto coincide con un modelo de ratón de obesidad inducida por HFD (50 % de grasa durante 18 semanas) donde se observaron cambios en la bioenergética de la corteza cerebral. Específicamente, en este modelo, las células del parénquima de la corteza cerebral de los animales alimentados con HFD utilizaron ácidos grasos como fuente de energía preferencial en comparación con controles (Cavaliere et al., 2018). Sin embargo, este cambio metabólico hacia sustratos alternativos como el succinato puede provocar un aumento en la producción de ROS, como se evidenció tras una lesión cerebral hipóxico-isquémica, en la que las mitocondrias recurren transitoriamente a la oxidación del succinato dependiente del complejo II (Sahni et al., 2018). De manera similar, Mills et al., en 2016, demostraron que el aumento de la oxidación mitocondrial del succinato y la elevación del potencial de membrana mitocondrial se combinan para impulsar la producción de ROS mitocondriales en macrófagos, sugiriendo un mecanismo similar en contextos de estrés metabólico e inflamación pueden ser parte del daño neuronal y neurodegeneración hipocampal, previamente informada por nuestro grupo de trabajo (Treviño et al., 2015).

La vinculación entre la dinámica de obtención de energía (piruvato/malato, glutamato/glutamina y succinato) y el potencial de membrana mitocondrial ( $\Delta\Psi_m$ ) en el hipocampo es fundamental para la función neuronal y la plasticidad sináptica. El  $\Delta\Psi_m$  es esencialmente la batería de la mitocondria; su estabilidad y magnitud dependen de la velocidad a la que los sustratos

energéticos donan electrones a la CTE, razón por la que decidimos valorar los posibles cambios en  $\Delta\Psi_m$ , asociados al consumo de HCD.

### **Potencial de membrana mitocondrial**

El  $\Delta\Psi_m$  se puede definir como la diferencia de potencial eléctrico entre la matriz mitocondrial y el citosol (Connolly et al., 2018); se genera por los complejos I, III y IV de la CTE y es un gradiente electroquímico generado cuando se bombean protones ( $H^+$ ) desde la matriz hacia el espacio intermembrana. El  $\Delta\Psi_m$  es un componente esencial para la producción de ATP mediante la OXPHOS (Zorova et al., 2018). La estabilidad del  $\Delta\Psi_m$  y de los niveles intracelulares de ATP son fundamentales para la viabilidad celular (Yaniv et al., 2010; Dmitry B. Zorov et al., 2014). El mantenimiento de este potencial es crucial porque es la fuerza impulsora para la ATP sintasa (Complejo V), que usa el flujo de  $H^+$  de regreso a la matriz para generar ATP. Una disminución o despolarización del  $\Delta\Psi_m$  indica un compromiso en la bioenergética y puede llevar a la disfunción neuronal y la apoptosis.

Los tres sustratos antes mencionados (piruvato/malato, glutamato/glutamina y succinato) son donantes de electrones que se dirigen a diferentes puntos de entrada de la CTE, regulando la actividad de los complejos que bombean protones. El piruvato/malato (vía del complejo I) son moléculas obtenidas producto de la glucólisis (piruvato), mientras que el malato se oxida dentro del ciclo de Krebs para producir NADH. El NADH dona sus electrones al complejo I, el cual, al oxidarlo, bombea una gran cantidad de protones, lo que contribuye significativamente a la generación y al mantenimiento del  $\Delta\Psi_m$ .

En el hipocampo, la oxidación de la glucosa a través del piruvato representa la principal fuente de energía durante periodos de intensa actividad neuronal (Rose et al., 2020). Aunque la glucosa es el sustrato energético primario, su aprovechamiento en las neuronas se ve limitado por la degradación continua de la enzima glucolítica 6-fosfofructo-2-quinasa/fructosa 2,6-bisfosfatasa-3 (PFKFB3), lo que restringe su conversión eficiente en energía (Rose et al., 2020). Como consecuencia, en los astrocitos, gran parte del metabolismo de la glucosa se orienta hacia

la producción de lactato, que posteriormente se transporta a las neuronas como combustible alternativo para la OXPHOS, según la hipótesis del ANLS (Mulica et al., 2021).

Dentro de las neuronas, el lactato se transforma en piruvato mediante la enzima lactato deshidrogenasa (LDH1), y este piruvato resulta crucial para alimentar el TCA y promover la síntesis mitocondrial de ATP (Vicente-Gutiérrez et al., 2021). No obstante, una disminución en la actividad del complejo I, por ejemplo por inhibidores como la rotenona, provoca una menor expulsión de protones, lo que reduce el gradiente electroquímico y desencadena una despolarización del  $\Delta\Psi_m$  (Connolly et al., 2018).

Adicionalmente, el succinato puede utilizarse para mantener la respiración cuando la vía del Complejo I está inhibida o comprometida, ya que actúa a través del Complejo II (Moroni, 2019). Este proceso implica la conversión de succinato en fumarato por la enzima succinato deshidrogenasa (que forma parte del Complejo II de la cadena de transporte de electrones), generando FADH<sub>2</sub>. Al oxidarse, el FADH<sub>2</sub> dona sus electrones al Complejo III a través del pool de ubiquinona. A diferencia del Complejo I, el Complejo II no bombea protones por sí mismo; sin embargo, al alimentar el pool de ubiquinona, sus electrones llegan al Complejo III, que sí bombea protones. El ácido 3-nitropropiónico (3-NP), un inhibidor del Complejo II, produce un fenotipo patológico en modelos de ratón, como encefalopatía. Esto subraya que la funcionalidad del Complejo II es crítica para la salud neuronal, y que su compromiso puede ser patológico, reforzando la idea de que su apoyo metabólico es vital en el cerebro (Connolly et al., 2018)

Finalmente, el ratio glutamato y glutamina, también conocido como la vía anaplerótica, mantiene concentraciones constantes de  $\alpha$ -cetoglutarato, que entra al ciclo de Krebs, generando NADH, FADH<sub>2</sub> y GTP. Al generar NADH y FADH<sub>2</sub>, la oxidación de glutamato contribuye a la generación de  $\Delta\Psi_m$  a través de los complejos I y II. Aunque nuestros resultados sugieren una disminución importante de esta vía de mantenimiento energético y de mantenimiento del  $\Delta\Psi_m$ . En el hipocampo, esta vía es crítica para la neurotransmisión y la homeostasis en el cerebro. La oxidación de glutamato/glutamina no solo produce energía, sino que también repone los intermediarios del ciclo de Krebs que se consumen para la síntesis de neurotransmisores. Un

fallo en esta vía tiene implicaciones directas en la excitotoxicidad y la muerte celular debido a una disfunción mitocondrial.

La disfunción mitocondrial, frecuentemente caracterizada por alteraciones en el  $\Delta\Psi_m$ , está íntimamente ligada a la aparición de diversas patologías, incluyendo trastornos neurodegenerativos, enfermedades metabólicas y cardiovasculares, aunque a menudo no está claro si actúa como causa o consecuencia (Chen et al., 2023; Connolly et al., 2018; Liu et al., 2023). Una perturbación sostenida de estos parámetros puede desencadenar consecuencias patológicas, dado que el  $\Delta\Psi_m$ , la actividad de los complejos de la CTE y la tasa de producción de ROS son altamente interdependientes (Votyakova & Reynolds, 2001). En particular, la producción excesiva de ROS puede desencadenar directamente múltiples patologías (D. B. Zorov et al., 2005, 2013) y mantener un  $\Delta\Psi_m$  excesivamente alto resulta potencialmente perjudicial para las mitocondrias y, por ende, para la célula (Skulachev, 1996).

Múltiples estudios han demostrado que el consumo de HFD o HCD promueve una generación excesiva de ROS en el cerebro de modelos animales (Freeman et al., 2013; Fuentes et al., 2023; Treviño et al., 2022), especialmente en el hipocampo y la corteza cerebral (Besseiche et al., 2015; Treviño et al., 2015; Żebrowska-Gamdzyk et al., 2018). En nuestro modelo, el grupo HCD mostró un aumento significativo del  $\Delta\Psi_m$  en las tres regiones analizadas del hipocampo (CA1, CA3 y GD), como se observa en la Figura 5 (A-C). Se ha descrito que este incremento de la respiración mitocondrial y la hiperpolarización de la membrana mitocondrial pueden elevar la producción de ROS en neuronas (Connolly et al., 2018). Recientemente, Mori et al. (2025) han establecido que un aumento crónico del  $\Delta\Psi_m$  en reposo se vincula a adaptaciones moleculares y genómicas, actuando como una señal para comunicarse con el epigenoma; sin embargo, esto ocurre en ausencia de disfunción mitocondrial.

Por otro lado, la disfunción del  $\Delta\Psi_m$  puede alterar la dirección del transporte mitocondrial y su localización subcelular, lo que empeora la deficiencia energética en neuronas con función mitocondrial comprometida (Bustamante-Barrientos et al., 2023). Además, el  $\Delta\Psi_m$  tiene un papel importante en el proceso de fisión mitocondrial y en el control de calidad mitocondrial (You et al., 2024). La pérdida de este potencial en la membrana interna desencadena la

liberación de OMA1 y la escisión proteolítica de OPA1, un mecanismo que bloquea eventos de fusión no deseados y favorece el mantenimiento de una población dinámicamente mitocondrial funcional (Galloway et al., 2012).

### **Alteraciones en la dinámica mitocondrial**

Las mitocondrias son altamente dinámicas, por lo que pueden modificar su forma y posición dentro de la célula, adaptándose a las condiciones fisiológicas y a las necesidades energéticas específicas de los tejidos. La dinámica mitocondrial forma parte de los mecanismos de control de calidad, que son necesarios para mantener la función de las mitocondrias en respuesta a las diferentes demandas metabólicas. Tras el consumo de dietas hipercalóricas, se ha reportado una alteración significativa en el equilibrio entre fisión y fusión mitocondrial, con un aumento de la fragmentación que agrava la disfunción bioenergética (M. R. Langley et al., 2020; Xia et al., 2024).

Nuestros resultados muestran una reducción en Mfn1 (Figura 6D) en el hipocampo tras 12 semanas de consumo de HCD, lo que se ha asociado con la fragmentación mitocondrial en oligodendrocitos, expuestos a ácidos grasos saturados como el palmitato, sugiriendo un mecanismo lipotóxico que compromete la morfología mitocondrial (Estévez-Vázquez et al., 2020). Esta disrupción en la fusión mitocondrial, observada en el SNC, contrasta con hallazgos en órganos periféricos como el hígado, donde la deficiencia específica de Mfn1 (Mfn1LKO) confiere una protección metabólica. En este sentido, el knockout de Mfn1 mejora la homeostasis de glucosa, con glucemia en ayunas más baja, menor RI y mayor sensibilidad a esta hormona, a pesar de ganancias de peso similares a los controles (García-Rúa et al., 2020; Lee et al., 2021). Curiosamente, esta protección se asocia con un uso preferente de lípidos como fuente energética, lo que mejora el acoplamiento del ciclo de TCA con la oxidación de ácidos grasos (García-Rúa et al., 2020; Lee et al., 2021).

Por el contrario, en el SNC, la disminución de la expresión de Mfn1 se ha reportado en la EA y en la enfermedad de Huntington, asociándose a la fragmentación y disfunción mitocondrial

(Chen et al., 2023). Además, Dietrich et al., (2013), demostraron que el knockdown selectivo a Mfn1 en neuronas AgRP resulta en un tamaño y densidad mitocondrial alterados, con mitocondrias más redondeadas y fragmentadas bajo dieta normal, y una prevención de la disminución de la densidad mitocondrial tras el consumo de una HFD lo que reduce la síntesis de ATP, aunque protege contra la ganancia de peso (Dietrich et al., 2013).

Además, Opa1 actúa como un regulador central de los procesos de fusión mitocondrial, modulando la morfología de las crestas mitocondriales (Bertolin et al., 2021). La fusión de la membrana mitocondrial interna se promueve en coordinación con las mitofusinas Mfn1 y Mfn2, manteniendo un equilibrio dinámico entre la fusión y la fisión mitocondrial (Galloway et al., 2012). Este equilibrio se ve comprometido con el consumo de HFD, como se demostró en ratones C57BL/6J, donde la expresión de Opa1 y Mfn2 disminuye en múltiples tejidos de alta demanda energética, incluyendo corazón, músculo esquelético, riñón, hígado y bazo, mientras que Mfn1 permanece sin cambios (Zheng et al., 2023).

En nuestro modelo, tras 12 semanas del consumo de una HCD se observó una disminución de los niveles de Mfn1 sin cambios significativos en Opa, a diferencia de lo reportado por Zheng et al. (2023), donde después del consumo de una HFD durante 24 semanas, Opa disminuyó consistentemente en varios tejidos periféricos. Por otro lado, en el modelo de Vilela et al. (2024), con HFD+L-NAME, la expresión de Opa aumenta en el hipocampo, lo que destaca la complejidad de cada tejido en la respuesta mitocondrial a las alteraciones metabólicas, dependiente del tiempo y la composición de la dieta.

Esta diferencia en la expresión de proteínas de fusión como Opa1 y Mfn1 demuestra cómo el estrés metabólico por el consumo de HFD/HCD puede alterar el equilibrio de fusión-fisión. Se ha descrito que la fisión mitocondrial se ve promovida por el estrés oxidativo y la oxidación de ácidos grasos inducida por el exceso de nutrientes, a través de la activación de Drp1 y Fis1 (Alan y Scorrano, 2022). En modelos con enfermedad de Alzheimer asociada a mutaciones en el precursor amiloide, se observa un desequilibrio similar, una reducción de Opa, Mfn1 y Mfn2, junto con un aumento de Drp1 y Fis1, lo que promueve la fragmentación, confirmada por

microscopía electrónica de transmisión, y se correlaciona con la disfunción sináptica y la pérdida neuronal (Wang et al., 2022b).

El aumento de la fisión mitocondrial mediada por Drp1 se considera un factor patológico prominente que precede la neurodegeneración (Gao et al., 2017). Interesantemente, en el corazón, la oxidación de ácidos grasos puede paradójicamente inducir elongación mitocondrial vía procesamiento de Opa por YME1L, mejorando tanto el estrés mitocondrial como la insuficiencia cardíaca (Guo et al., 2018). Sin embargo, en el cerebro, el aumento de ROS promueve la fragmentación, exacerbando la disfunción mitocondrial. Las mitocondrias en los astrocitos, que tienen una eficiencia de la CTE menor que la de las neuronas y, por lo tanto, una mayor producción basal de ROS, desempeñan un papel crucial en el equilibrio redox (Vicente-Gutiérrez et al., 2020). El aumento de la producción de ROS se ha asociado con la fragmentación mitocondrial bajo condiciones hiperglucémicas (Galloway et al., 2012).

La ubiquitinación mediada por parkina facilita la degradación selectiva de múltiples proteínas de la MME, como Mfn1, Mfn2 y VDAC1, promoviendo así la eliminación de mitocondrias dañadas durante la mitofagia (Chen et al., 2023). El estrés oxidativo inducido por HCD/HFD se ha descrito como un activador de la mitofagia, con un aumento en los niveles de Pink1 y Parkin que responde a la acumulación de especies reactivas de oxígeno mitocondriales (mtROS). De hecho, la mitofagia mediada por parkina protege contra la acumulación de mtROS, actuando como un mecanismo de control de calidad para prevenir la disfunción mitocondrial.

Nuestros resultados muestran un aumento en la expresión de Pink1 y Parkina (Figura 8), lo que sugiere una activación compensatoria de la mitofagia en respuesta al daño inducido por el consumo crónico de HCD y sus complicaciones metabólicas asociadas. La mitofagia en respuesta al daño mitocondrial está destinada a mitigar la acumulación de organelos defectuosos. Sin embargo, el deterioro de la mitofagia mediada por Pink1/Parkin se ha relacionado con diversas patologías del sistema nervioso central y periférico, particularmente en procesos neurodegenerativos como en la EA, donde se ha reportado una disminución en los niveles de Pink1 y en la actividad mitofágica general (Bonzano et al., 2024).

En modelos de EA, la mitofagia mediada por Parkina se induce en las etapas tempranas de la enfermedad como respuesta adaptativa, pero a medida que la patología progresa, el agotamiento de Parkina provoca una mitofagia defectuosa y la acumulación de mitocondrias anormales en las neuronas (Bonzano et al., 2024). Un estudio en ratones envejecidos y alimentados con HFD durante 6 meses encontró que el consumo de esta dieta suprimió significativamente los procesos relacionados con la mitofagia en el hipocampo y la corteza, exacerbando la disfunción mitocondrial y contribuyendo potencialmente a déficits cognitivos (M. Song et al., 2025).

### **Cambios en la morfología mitocondrial**

El estrés metabólico por el consumo de HCD que induce alteraciones metabólicas en el flujo de macronutrientes en el hipocampo desregula la vía Pink1/Parkina-Mfn. Específicamente, se observó un aumento en la expresión de Pink1 y Parki, lo que promueve un desbalance en la dinámica mitocondrial que parece favorecer la fragmentación sobre la fusión, con consecuencias morfológicas y bioenergéticas observables en el hipocampo. Como evidencia de este impacto, en un modelo de envejecimiento murino con consumo prolongado de una HFD, se observaron mitocondrias ligeramente agrandadas, lo que indica un daño estructural temprano asociado al estrés metabólico (Wen et al., 2023). De manera similar, en modelos de la EA, se ha reportado agrandamiento y daño mitocondrial en las neuronas corticales, contribuyendo a la disfunción bioenergética y la progresión de la neurodegeneración (J. Wang et al., 2022). Estas alteraciones morfológicas reflejan un desequilibrio en la dinámica mitocondrial, donde la fusión y la fisión juegan roles cruciales en la adaptación celular.

Bajo condiciones fisiológicas, las mitocondrias pueden adoptar una morfología tubular y fusionada para maximizar la capacidad de OXPHOS y satisfacer altas demandas energéticas, como durante la inanición o la producción intensiva de ATP (Van Huynh et al., 2023). En contraste, el desacoplamiento de la fusión reduce la eficiencia bioenergética, favoreciendo la fragmentación. La fusión y la fisión son procesos esenciales para segregar vías metabólicas en subpoblaciones mitocondriales distintas: por ejemplo, una red fusionada mantiene la OXPHOS, mientras que mitocondrias fragmentadas priorizan la biosíntesis de macromoléculas (Ryu et al., 2024). La alteración de esta segregación por disfunción dinámica compromete la capacidad

celular para mantener ambas funciones simultáneamente, exacerbando la vulnerabilidad metabólica.

La morfología mitocondrial se adapta dinámicamente a señales ambientales y metabólicas, pero el consumo de HFD/HCD perturba este equilibrio, inclinándose predominantemente hacia la fragmentación (Alan & Scorrano, 2022). Esta fragmentación excesiva se correlaciona con la pérdida del  $\Delta\Psi_m$ , lo que impide satisfacer las demandas energéticas y precede a procesos apoptóticos (Galloway et al., 2012). Por ejemplo, en células endoteliales de pacientes y modelos animales diabéticos, así como en cardiomiocitos expuestos a niveles elevados de glucosa, se observa un aumento en la fisión mitocondrial, lo que agrava la disfunción bioenergética y contribuye a complicaciones tisulares como las observadas en el hipocampo bajo HFD (Galloway et al., 2012). En conjunto, estos hallazgos subrayan cómo la HFD promueve una transición patológica de mitocondrias fusionadas (adaptativas) a fragmentadas (disfuncionales), vinculando el estrés metabólico con el daño neuronal en el envejecimiento y la EA.

Esta transición patológica de mitocondrias fusionadas a fragmentadas no solo ocurre a nivel tisular general, sino que se manifiesta de manera diferencial en compartimentos subcelulares, destacando la complejidad de la dinámica mitocondrial en células altamente especializadas como las neuronas. Los datos de un estudio en el cerebro de ratón confirman que las mitocondrias exhiben morfologías distintas en axones, dendritas y soma, con diferencias cuantitativas significativas en tamaño y forma que reflejan demandas energéticas locales (Faitg et al., 2021). Esta especialización morfológica no es exclusiva de las neuronas: en el músculo esquelético, las mitocondrias dentro de la misma célula muestran variaciones, con diferencias de  $\sim 1$  a 1,5 veces en longitud y volumen en humanos (Vincent et al., 2019) y  $\geq 1$  vez en el soleo de ratón (Picard et al., 2013). Por lo tanto, se puede suponer que la complejidad a nivel celular genera dominios bioquímicos y energéticos distintos, impulsando el establecimiento de tamaños, morfologías y funciones mitocondriales adaptados a cada subcompartimento (Faitg et al., 2021).

Nuestros resultados mostraron esta heterogeneidad subcelular en la morfología mitocondrial, particularmente en animales jóvenes, donde las mitocondrias axonales y del soma presentaron

patrones opuestos. Bajo condiciones de estrés metabólico inducido por HCD, estos patrones se alteraron diferencialmente. En el soma neuronal, la longitud mitocondrial disminuyó un 25.7%, y el ancho máximo de la cresta aumentó significativamente, lo que sugiere un predominio de la fisión y una reducción en la eficiencia de la red mitocondrial central (Figura 9). En contraste, en el compartimento axonal, el número de mitocondrias se redujo un 43.4%, mientras que su longitud y ancho máximo de cresta aumentaron un 95.1% y 65.3%, indicando una tendencia hacia la fusión mitocondrial compensatoria, posiblemente para mantener el suministro de ATP en axones distales.

Este patrón diferencial es consistente con cambios observados en modelos de envejecimiento y EA, donde los axones exhiben mayor tamaño, mielina más gruesa y mitocondrias elongadas, correlacionados con niveles alterados de ATP y un aumento en marcadores de estrés oxidativo (Manczak et al., 2011; Reddy et al., 2017; Stahon et al., 2016). Tales adaptaciones subcelulares resaltan cómo la alimentación con HCD no solo desequilibra la dinámica global, sino que exagera la vulnerabilidad en dominios neuronales específicos, contribuyendo a la disfunción sináptica y al deterioro cognitivo.

## **10.CONCLUSIONES**

La resistencia a la insulina genera una inflexibilidad metabólica en el hipocampo, favoreciendo la obtención de ATP a partir de ácidos grasos e hiperpolarización mitocondrial.

Las mitocondrias hipocampales del modelo con resistencia a la insulina aumentan los procesos de mitofagia y disminuyen la fusión mitocondrial.

La resistencia a la insulina induce cambios en la morfología mitocondrial del hipocampo, compatibles con fisión en el soma y fusión en los axones.

## **11.REFERENCIAS**

A Banks, W., Noonan, C., & M Rhea, E. (2022). Evidence for an alternative insulin transporter at the blood-brain barrier. *Aging Pathobiology and Therapeutics*, 4(4), 100–108.

<https://doi.org/10.31491/APT.2022.12.100>

- Adolph, T. E., & Tilg, H. (2024). Western diets and chronic diseases. *Nature Medicine*, *30*(8), 2133–2147. <https://doi.org/10.1038/s41591-024-03165-6>
- Advani, D., Sharma, S., Tripathi, R., Gupta, R., Jaiswal, A., Ambasta, R. K., & Kumar, P. (2021). Mitochondrial dysfunction in metabolic disorders. In *Mitochondrial Dysfunction and Nanotherapeutics* (pp. 91–137). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85666-9.00015-2>
- Alan, L., & Scorrano, L. (2022). Shaping fuel utilization by mitochondria. *Current Biology*, *32*(12), R618–R623. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2022.05.006>
- An, J., Wang, Q., Yi, S., Liu, X., Jin, H., Xu, J., Wen, G., Zhu, J., & Tuo, B. (2022). The source of the fat significantly affects the results of high-fat diet intervention. *Scientific Reports*, *12*(1), 4315. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-08249-2>
- Arias, P. (2022). Simposio 6: Etiopatogenia y mecanismos involucrados. *Revista de La Sociedad Argentina de Diabetes*, *56*(3Sup), 19–19. <https://doi.org/10.47196/diab.v56i3Sup.509>
- Ashcroft, F. M., & Rorsman, P. (2013). KATP channels and islet hormone secretion: new insights and controversies. *Nature Reviews Endocrinology*, *9*(11), 660–669. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2013.166>
- Banks, W. A., Jaspan, J. B., Huang, W., & Kastin, A. J. (1997). Transport of Insulin Across the Blood-Brain Barrier: Saturability at Euglycemic Doses of Insulin. *Peptides*, *18*(9), 1423–1429. [https://doi.org/10.1016/S0196-9781\(97\)00231-3](https://doi.org/10.1016/S0196-9781(97)00231-3)
- Banks, W. A., Jaspan, J. B., & Kastin, A. J. (1997). Selective, Physiological Transport of Insulin Across the Blood-Brain Barrier: Novel Demonstration by Species-Specific Radioimmunoassays. *Peptides*, *18*(8), 1257–1262. [https://doi.org/10.1016/S0196-9781\(97\)00198-8](https://doi.org/10.1016/S0196-9781(97)00198-8)
- Banks, W. A., Kastin, A. J., Huang, W., Jaspan, J. B., & Maness, L. M. (1996). Leptin enters the brain by a saturable system independent of insulin. *Peptides*, *17*(2), 305–311. [https://doi.org/10.1016/0196-9781\(96\)00025-3](https://doi.org/10.1016/0196-9781(96)00025-3)
- Baranov, S. V., Jauhari, A., Carlisle, D. L., & Friedlander, R. M. (2021). Two hit mitochondrial-driven model of synapse loss in neurodegeneration. *Neurobiology of Disease*, *158*, 105451. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2021.105451>
- Bartsch, T., & Wulff, P. (2015). The hippocampus in aging and disease: From plasticity to vulnerability. *Neuroscience*, *309*, 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.07.084>

- Baura, G. D., Foster, D. M., Porte, D., Kahn, S. E., Bergman, R. N., Cobelli, C., & Schwartz, M. W. (1993). Saturable transport of insulin from plasma into the central nervous system of dogs in vivo. A mechanism for regulated insulin delivery to the brain. *Journal of Clinical Investigation*, *92*(4), 1824–1830. <https://doi.org/10.1172/JCI116773>
- Beckervordersandforth, R., Ebert, B., Schäffner, I., Moss, J., Fiebig, C., Shin, J., Moore, D. L., Ghosh, L., Trincherio, M. F., Stockburger, C., Friedland, K., Steib, K., von Wittgenstein, J., Keiner, S., Redecker, C., Hölter, S. M., Xiang, W., Wurst, W., Jagasia, R., ... Lie, D. C. (2017). Role of Mitochondrial Metabolism in the Control of Early Lineage Progression and Aging Phenotypes in Adult Hippocampal Neurogenesis. *Neuron*, *93*(3), 560-573.e6. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.12.017>
- Benedict, C., Kern, W., Schultes, B., Born, J., & Hallschmid, M. (2008). Differential Sensitivity of Men and Women to Anorexigenic and Memory-Improving Effects of Intranasal Insulin. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, *93*(4), 1339–1344. <https://doi.org/10.1210/jc.2007-2606>
- Besseiche, A., Riveline, J.-P., Gautier, J.-F., Bréant, B., & Blondeau, B. (2015). Metabolic roles of PGC-1 $\alpha$  and its implications for type 2 diabetes. *Diabetes & Metabolism*, *41*(5), 347–357. <https://doi.org/10.1016/j.diabet.2015.02.002>
- Bizeau, M. E., & Pagliassotti, M. J. (2005). Hepatic adaptations to sucrose and fructose. *Metabolism*, *54*(9), 1189–1201. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2005.04.004>
- Bonvento, G., & Bolaños, J. P. (2021). Astrocyte-neuron metabolic cooperation shapes brain activity. *Cell Metabolism*, *33*(8), 1546–1564. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2021.07.006>
- Bonzano, S., Dallorto, E., Bovetti, S., Studer, M., & De Marchis, S. (2024). Mitochondrial regulation of adult hippocampal neurogenesis: Insights into neurological function and neurodevelopmental disorders. *Neurobiology of Disease*, *199*, 106604. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2024.106604>
- Bromander, S., Anckarsäter, R., Ahrén, B., Kristiansson, M., Blennow, K., Holmäng, A., Zetterberg, H., Anckarsäter, H., & Wass, C. E. (2010). Cerebrospinal fluid insulin during non-neurological surgery. *Journal of Neural Transmission*, *117*(10), 1167–1170. <https://doi.org/10.1007/s00702-010-0456-x>
- Buettner, R., Schölmerich, J., & Bollheimer, L. C. (2007). High-fat Diets: Modeling the Metabolic Disorders of Human Obesity in Rodents. *Obesity*, *15*(4), 798–808. <https://doi.org/10.1038/oby.2007.608>
- Bustamante-Barrientos, F. A., Luque-Campos, N., Araya, M. J., Lara-Barba, E., de Solminihac, J., Pradenas, C., Molina, L., Herrera-Luna, Y., Utreras-Mendoza, Y., Elizondo-Vega, R.,

- Vega-Letter, A. M., & Luz-Crawford, P. (2023). Mitochondrial dysfunction in neurodegenerative disorders: Potential therapeutic application of mitochondrial transfer to central nervous system-residing cells. *Journal of Translational Medicine*, 21(1), 613. <https://doi.org/10.1186/s12967-023-04493-w>
- Cacho, J., Sevillano, J., de Castro, J., Herrera, E., & Ramos, M. P. (2008). Validation of simple indexes to assess insulin sensitivity during pregnancy in Wistar and Sprague-Dawley rats. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 295(5), E1269–E1276. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.90207.2008>
- Cashion, M. F., Banks, W. A., & Kastin, A. J. (1996). Sequestration of Centrally Administered Insulin by the Brain: Effects of Starvation, Aluminum, and TNF- $\alpha$ . *Hormones and Behavior*, 30(3), 280–286. <https://doi.org/10.1006/hbeh.1996.0034>
- Caumo, A., Perseghin, G., Brunani, A., & Luzi, L. (2006). New insights on the simultaneous assessment of insulin sensitivity and  $\beta$ -cell function with the HOMA2 method. *Diabetes Care*, 29(12), 2733–2734. <https://doi.org/10.2337/dc06-0070>
- Cavaliere, G., Viggiano, E., Trinchese, G., De Filippo, C., Messina, A., Monda, V., Valenzano, A., Cincione, R. I., Zammit, C., Cimmino, F., Catapano, A., Sessa, F., Messina, G., Monda, M., Crispino, M., & Mollica, M. P. (2018). Long Feeding High-Fat Diet Induces Hypothalamic Oxidative Stress and Inflammation, and Prolonged Hypothalamic AMPK Activation in Rat Animal Model. *Frontiers in Physiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00818>
- Chen, W., Zhao, H., & Li, Y. (2023). Mitochondrial dynamics in health and disease: mechanisms and potential targets. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 8(1), 333. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01547-9>
- Choez-García, A. B., Rodríguez-Zavala, B. M., Parrales-Pincay, I. G., & Valero-Cedeño, N. J. (2020). El Alzheimer, la epidemia del siglo. *Polo Del Conocimiento*, 5(6). <https://polodelconocimiento.com/ojs/index.php/es/article/view/2280>
- Cicali, K. A., & Tapia-Rojas, C. (2024). Synaptic mitochondria: A crucial factor in the aged hippocampus. *Ageing Research Reviews*, 101, 102524. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2024.102524>
- Connolly, N. M. C., Theurey, P., Adam-Vizi, V., Bazan, N. G., Bernardi, P., Bolaños, J. P., Culmsee, C., Dawson, V. L., Deshmukh, M., Duchen, M. R., Düssmann, H., Fiskum, G., Galindo, M. F., Hardingham, G. E., Hardwick, J. M., Jekabsons, M. B., Jonas, E. A., Jordán, J., Lipton, S. A., ... Prehn, J. H. M. (2018). Guidelines on experimental methods to assess mitochondrial dysfunction in cellular models of neurodegenerative diseases. *Cell Death & Differentiation*, 25(3), 542–572. <https://doi.org/10.1038/s41418-017-0020-4>

- Corpe, C. P., Burant, C. F., & Hoekstra, J. H. (1999). Intestinal Fructose Absorption: Clinical and Molecular Aspects. *Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition*, 28(4), 364–374. <https://doi.org/10.1097/00005176-199904000-00004>
- Craft, S., Peskind, E., Schwartz, M. W., Schellenberg, G. D., Raskind, M., & Porte, D. (1998). Cerebrospinal fluid and plasma insulin levels in Alzheimer's disease. *Neurology*, 50(1), 164–168. <https://doi.org/10.1212/WNL.50.1.164>
- Daniel, S., Noda, M., Straub, S. G., & Sharp, G. W. (1999). Identification of the docked granule pool responsible for the first phase of glucose-stimulated insulin secretion. *Diabetes*, 48(9), 1686–1690. <https://doi.org/10.2337/diabetes.48.9.1686>
- DeFronzo, R. A., Tobin, J. D., & Andres, R. (1979). Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 237(3), E214. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.1979.237.3.E214>
- Deshmukh, A. S. (2016). Insulin-stimulated glucose uptake in healthy and insulin-resistant skeletal muscle. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*, 26(1), 13–24. <https://doi.org/10.1515/hmbci-2015-0041>
- Dietrich, M. O., Liu, Z.-W., & Horvath, T. L. (2013). Mitochondrial Dynamics Controlled by Mitofusins Regulate Agrp Neuronal Activity and Diet-Induced Obesity. *Cell*, 155(1), 188–199. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.09.004>
- Ding, Y., Li, J., Zhang, J., Li, P., Bai, H., Fang, B., Fang, H., Huang, K., Wang, G., Nowell, C. J., Voelcker, N. H., Peng, B., Li, L., & Huang, W. (2025). Mitochondrial segmentation and function prediction in live-cell images with deep learning. *Nature Communications*, 16(1), 743. <https://doi.org/10.1038/s41467-025-55825-x>
- Douard, V., & Ferraris, R. P. (2008). Regulation of the fructose transporter GLUT5 in health and disease. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 295(2), E227–E237. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.90245.2008>
- Duan, Y., Zeng, L., Zheng, C., Song, B., Li, F., Kong, X., & Xu, K. (2018). Inflammatory Links Between High Fat Diets and Diseases. *Frontiers in Immunology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02649>
- Faitg, J., Lacefield, C., Davey, T., White, K., Laws, R., Kosmidis, S., Reeve, A. K., Kandel, E. R., Vincent, A. E., & Picard, M. (2021). 3D neuronal mitochondrial morphology in axons, dendrites, and somata of the aging mouse hippocampus. *Cell Reports*, 36(6), 109509. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109509>
- Flear, C. T., Florence, I., & McNeill, I. F. (1968). The volume of extracellular fluid (E.C.F.) in

- skeletal muscle. *The British Journal of Surgery*, 55(11), 868. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5687018>
- Freeman, L. R., Zhang, L., Nair, A., Dasuri, K., Francis, J., Fernandez-Kim, S.-O., Bruce-Keller, A. J., & Keller, J. N. (2013). Obesity increases cerebrocortical reactive oxygen species and impairs brainfunction. *Free Radical Biology and Medicine*, 56, 226–233. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2012.08.577>
- Freemantle, N., Holmes, J., Hockey, A., & Kumar, S. (2008). How strong is the association between abdominal obesity and the incidence of type 2 diabetes? *International Journal of Clinical Practice*, 62(9), 1391–1396. <https://doi.org/10.1111/j.1742-1241.2008.01805.x>
- Frenzel, M., Rommelspacher, H., Sugawa, M. D., & Dencher, N. A. (2010). Ageing alters the supramolecular architecture of OxPhos complexes in rat brain cortex. *Experimental Gerontology*, 45(7–8), 563–572. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2010.02.003>
- Frost, G. (2003). GLUCOSE | Glucose Tolerance and the Glycemic (Glycaemic) Index. In *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* (pp. 2916–2922). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227055-X/00560-5>
- Fuentes, E., Venegas, B., Muñoz-Arenas, G., Moran, C., Vazquez-Roque, R. A., Flores, G., Treviño, S., Diaz, A., & Guevara, J. (2023). High-carbohydrate and fat diet consumption causes metabolic deterioration, neuronal damage, and loss of recognition memory in rats. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 129, 102237. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2023.102237>
- Galizzi, G., & Di Carlo, M. (2022). Insulin and Its Key Role for Mitochondrial Function/Dysfunction and Quality Control: A Shared Link between Dysmetabolism and Neurodegeneration. *Biology*, 11(6), 943. <https://doi.org/10.3390/biology11060943>
- Galloway, C. A., Lee, H., & Yoon, Y. (2012). Mitochondrial morphology—emerging role in bioenergetics. *Free Radical Biology and Medicine*, 53(12), 2218–2228. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2012.09.035>
- Galvão, R., Plavnik, F. L., Ribeiro, F. F., Ajzen, S. A., Christofalo, D. M. de J., & Kohlmann Jr., O. (2012). Efeitos de diferentes graus de sensibilidade a insulina na função endotelial de pacientes obesos. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 98(1), 45–51. <https://doi.org/10.1590/S0066-782X2011005000119>
- Gancheva, S., Jelenik, T., Álvarez-Hernández, E., & Roden, M. (2018). Interorgan Metabolic Crosstalk in Human Insulin Resistance. *Physiological Reviews*, 98(3), 1371–1415. <https://doi.org/10.1152/physrev.00015.2017>
- Gao, J., Wang, L., Liu, J., Xie, F., Su, B., & Wang, X. (2017). Abnormalities of Mitochondrial

- Dynamics in Neurodegenerative Diseases. *Antioxidants*, 6(2), 25. <https://doi.org/10.3390/antiox6020025>
- Giacomello, M., Pyakurel, A., Glytsou, C., & Scorrano, L. (2020). The cell biology of mitochondrial membrane dynamics. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 21(4), 204–224. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0210-7>
- Gray, S. M., Aylor, K. W., & Barrett, E. J. (2017). Unravelling the regulation of insulin transport across the brain endothelial cell. *Diabetologia*, 60(8), 1512–1521. <https://doi.org/10.1007/s00125-017-4285-4>
- González, G. (2019). Efecto del síndrome metabólico sobre la dinámica del lipidoma en regiones cerebrales límbicas de rata wistar (Tesis de licenciatura) Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- Guo, J., Qian, Y., Xi, X., Hu, X., Zhu, J., & Han, X. (2010). Blockage of ceramide metabolism exacerbates palmitate inhibition of pro-insulin gene expression in pancreatic  $\beta$ -cells. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 338(1–2), 283–290. <https://doi.org/10.1007/s11010-009-0362-4>
- Haigh, J. L., New, L. E., & Filippi, B. M. (2020). Mitochondrial Dynamics in the Brain Are Associated With Feeding, Glucose Homeostasis, and Whole-Body Metabolism. *Frontiers in Endocrinology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.580879>
- Harris, J. L., Yeh, H.-W., Swerdlow, R. H., Choi, I.-Y., Lee, P., & Brooks, W. M. (2014). High-field proton magnetic resonance spectroscopy reveals metabolic effects of normal brain aging. *Neurobiology of Aging*, 35(7), 1686–1694. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2014.01.018>
- Haus, J. M., Kashyap, S. R., Kasumov, T., Zhang, R., Kelly, K. R., DeFronzo, R. A., & Kirwan, J. P. (2009). Plasma Ceramides Are Elevated in Obese Subjects With Type 2 Diabetes and Correlate With the Severity of Insulin Resistance. *Diabetes*, 58(2), 337–343. <https://doi.org/10.2337/db08-1228>
- Havel, P. J. (2005). Dietary Fructose: Implications for Dysregulation of Energy Homeostasis and Lipid/Carbohydrate Metabolism. *Nutrition Reviews*, 63(5), 133–157. <https://doi.org/10.1301/nr.2005.may.133-157>
- He, Y., Sun, M., Qu, M., Lu, Y., Yang, H., Wang, R., Li, Y., Li, P., Mi, W., & Ma, Y. (2025). Brain Insulin Signaling Pathway Regulation of Hippocampal Neuroplasticity in Neurocognitive Disorders: Mechanisms and Therapeutic Implications. *Journal of Integrative Neuroscience*, 24(8). <https://doi.org/10.31083/JIN39446>
- Hees, J. T., Wanderoy, S., Lindner, J., Helms, M., Murali Mahadevan, H., & Harbauer, A. B.

- (2024). Insulin signalling regulates Pink1 mRNA localization via modulation of AMPK activity to support PINK1 function in neurons. *Nature Metabolism*, 6(3), 514–530. <https://doi.org/10.1038/s42255-024-01007-w>
- Heni, M., Schöpfer, P., Peter, A., Sartorius, T., Fritsche, A., Synofzik, M., Häring, H.-U., Maetzler, W., & Hennige, A. M. (2014). Evidence for altered transport of insulin across the blood–brain barrier in insulin-resistant humans. *Acta Diabetologica*, 51(4), 679–681. <https://doi.org/10.1007/s00592-013-0546-y>
- Hollenbeck, P. J., & Saxton, W. M. (2005). The axonal transport of mitochondria. *Journal of Cell Science*, 118(23), 5411–5419. <https://doi.org/10.1242/jcs.02745>
- Ibarra-Sánchez, L.S., Viveros-Ibarra, L.S., González-Bernal, V.M., & Hernández-Guerrero, F. (2016). Transición Alimentaria en México || Mexico Food Transition. *Razón y Palabra*, 20, 166-182
- Israel, K. D., Michaelis IV, O. E., Reiser, S., & Keeney, M. (1983). Serum Uric Acid, Inorganic Phosphorus, and Glutamic-Oxalacetic Transaminase and Blood Pressure in Carbohydrate-Sensitive Adults Consuming Three Different Levels of Sucrose. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 27(5), 425–435. <https://doi.org/10.1159/000176714>
- Jacobson, D. A., Weber, C. R., Bao, S., Turk, J., & Philipson, L. H. (2007). Modulation of the Pancreatic Islet  $\beta$ -Cell-delayed Rectifier Potassium Channel Kv2.1 by the Polyunsaturated Fatty Acid Arachidonate. *Journal of Biological Chemistry*, 282(10), 7442–7449. <https://doi.org/10.1074/jbc.M607858200>
- Jørgensen, T., Grunnet, N., & Quistorff, B. (2015). One-Year High Fat Diet Affects Muscle-But Not Brain Mitochondria. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 35(6), 943–950. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2015.27>
- Kalwat, M. A., & Cobb, M. H. (2017). Mechanisms of the amplifying pathway of insulin secretion in the  $\beta$  cell. *Pharmacology & Therapeutics*, 179, 17–30. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2017.05.003>
- Kanno, T., Suga, S., Wu, J., Kimura, M., & Wakui, M. (1998). Intracellular cAMP potentiates voltage-dependent activation of L-type Ca<sup>2+</sup> channels in rat islet  $\beta$ -cells. *Pflügers Archiv European Journal of Physiology*, 435(4), 578–580. <https://doi.org/10.1007/s004240050556>
- Kirschen, G. W., Kéry, R., & Ge, S. (2018). The Hippocampal Neuro-Glio-Vascular Network: Metabolic Vulnerability and Potential Neurogenic Regeneration in Disease. *Brain Plasticity*, 3(2), 129–144. <https://doi.org/10.3233/BPL-170055>
- Klaczanova, K., Kovalska, M., Chomova, M., Pilchova, I., Tatarkova, Z., Kaplan, P., & Racay,

- P. (2019). Global brain ischemia in rats is associated with mitochondrial release and downregulation of Mfn2 in the cerebral cortex, but not the hippocampus. *International Journal of Molecular Medicine*. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2019.4168>
- Klein, S., Fontana, L., Young, V. L., Coggan, A. R., Kilo, C., Patterson, B. W., & Mohammed, B. S. (2004). Absence of an Effect of Liposuction on Insulin Action and Risk Factors for Coronary Heart Disease. *New England Journal of Medicine*, *350*(25), 2549–2557. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa033179>
- Koch, L., Wunderlich, F. T., Seibler, J., Könnner, A. C., Hampel, B., Irlenbusch, S., Brabant, G., Kahn, C. R., Schwenk, F., & Brüning, J. C. (2008). Central insulin action regulates peripheral glucose and fat metabolism in mice. *Journal of Clinical Investigation*. <https://doi.org/10.1172/JCI31073>
- Koltes, J. E., Arora, I., Gupta, R., Nguyen, D. C., Schaid, M., Kim, J., Kimple, M. E., & Bhatnagar, S. (2019). A gene expression network analysis of the pancreatic islets from lean and obese mice identifies complement 1q like-3 secreted protein as a regulator of  $\beta$ -cell function. *Scientific Reports*, *9*(1), 10119. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46219-3>
- Labban, R. S. M., Alfawaz, H., Almnaizel, A. T., Hassan, W. M., Bhat, R. S., Moubayed, N. M., Bjørklund, G., & El-Ansary, A. (2020). High-fat diet-induced obesity and impairment of brain neurotransmitter pool. *Translational Neuroscience*, *11*(1), 147–160. <https://doi.org/10.1515/tnsci-2020-0099>
- Langley, M. R., Yoon, H., Kim, H. N., Choi, C.-I., Simon, W., Kleppe, L., Lanza, I. R., LeBrasseur, N. K., Matveyenko, A., & Scarisbrick, I. A. (2020). High fat diet consumption results in mitochondrial dysfunction, oxidative stress, and oligodendrocyte loss in the central nervous system. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, *1866*(3), 165630. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2019.165630>
- Langley, S. C., & York, D. A. (1990). Increased type II glucocorticoid-receptor numbers and glucocorticoid-sensitive enzyme activities in the brain of the obese Zucker rat. *Brain Research*, *533*(2), 268–274. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(90\)91349-L](https://doi.org/10.1016/0006-8993(90)91349-L)
- Lê, K.-A., Ith, M., Kreis, R., Faeh, D., Bortolotti, M., Tran, C., Boesch, C., & Tappy, L. (2009). Fructose overconsumption causes dyslipidemia and ectopic lipid deposition in healthy subjects with and without a family history of type 2 diabetes. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *89*(6), 1760–1765. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2008.27336>
- Lê, K.-A., & Tappy, L. (2006). Metabolic effects of fructose. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, *9*(4), 469–475. <https://doi.org/10.1097/01.mco.0000232910.61612.4d>

- Lee, C.-H., Chu, C.-S., Tsai, H.-J., Ke, L.-Y., Lee, H.-C., Yeh, J.-L., Chen, C.-H., & Wu, B.-N. (2018). Xanthine-derived KMUP-1 reverses glucotoxicity-activated Kv channels through the cAMP/PKA signaling pathway in rat pancreatic  $\beta$  cells. *Chemico-Biological Interactions*, 279, 171–176. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2017.11.017>
- Leighton, E., Sainsbury, C. A., & Jones, G. C. (2017). A Practical Review of C-Peptide Testing in Diabetes. *Diabetes Therapy*, 8(3), 475–487. <https://doi.org/10.1007/s13300-017-0265-4>
- Leoni, M., Padilla, N., Fabbri, A., Della-Morte, D., Ricordi, C., & Infante, M. (2022). Mechanisms of Insulin Resistance during Pregnancy. In *Evolving Concepts in Insulin Resistance*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.107907>
- Light, P. E., Manning Fox, J. E., Riedel, M. J., & Wheeler, M. B. (2002). Glucagon-Like Peptide-1 Inhibits Pancreatic ATP-Sensitive Potassium Channels via a Protein Kinase A- and ADP-Dependent Mechanism. *Molecular Endocrinology*, 16(9), 2135–2144. <https://doi.org/10.1210/me.2002-0084>
- Liu, L., Li, Y., Chen, G., & Chen, Q. (2023). Crosstalk between mitochondrial biogenesis and mitophagy to maintain mitochondrial homeostasis. *Journal of Biomedical Science*, 30(1), 86. <https://doi.org/10.1186/s12929-023-00975-7>
- Maedler, K., Spinas, G. A., Dyntar, D., Moritz, W., Kaiser, N., & Donath, M. Y. (2001). Distinct Effects of Saturated and Monounsaturated Fatty Acids on  $\beta$ -Cell Turnover and Function. *Diabetes*, 50(1), 69–76. <https://doi.org/10.2337/diabetes.50.1.69>
- Martínez-Orozco, H., Reyes-Castro, L. A., Lomas-Soria, C., Sandoval-Salazar, C., Ramírez-Emiliano, J., Díaz-Cintra, S., & Solís-Ortiz, S. (2022). High-fat and combined high-fat–high-fructose diets impair episodic-like memory and decrease glutamate and glutamine in the hippocampus of adult mice. *Nutritional Neuroscience*, 25(12), 2479–2489. <https://doi.org/10.1080/1028415X.2021.1977452>
- Mata Rodríguez, P. O., Delgado Jacobo, D. P., & Guillén Riebeling, R. del S. (2021). ¿Cuáles son los hábitos alimenticios de jóvenes universitarios y cuál es su relación con el sobrepeso? (Primera parte). *Psic-Obesidad*, 6(23). <https://doi.org/10.22201/fesz.20075502e.2016.6.23.80807>
- Matioli, M. N. P. S., & Nitrini, R. (2015). Mechanisms linking brain insulin resistance to Alzheimer's disease. *Dementia & Neuropsychologia*, 9(2), 96–102. <https://doi.org/10.1590/1980-57642015DN92000003>
- Matsuda, M., & DeFronzo, R. A. (1999). Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: comparison with the euglycemic insulin clamp. *Diabetes Care*, 22(9), 1462–1470. <https://doi.org/10.2337/diacare.22.9.1462>

- Mayes, P. (1993). Intermediary metabolism of fructose. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 58(5), 754S-765S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/58.5.754S>
- Mendelsohn, R., Garcia, G. C., Bartol, T. M., Lee, C. T., Khandelwal, P., Liu, E., Spencer, D. J., Husar, A., Bushong, E. A., Phan, S., Perkins, G., Ellisman, M. H., Skupin, A., Sejnowski, T. J., & Rangamani, P. (2022). Morphological principles of neuronal mitochondria. *Journal of Comparative Neurology*, 530(6), 886–902. <https://doi.org/10.1002/cne.25254>
- Mendelson, S. D. (2008). DIETS FOR WEIGHT LOSS AND METABOLIC SYNDROME. In *Metabolic Syndrome and Psychiatric Illness* (pp. 129–140). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-012374240-7.50011-5>
- Mills, E. L., Kelly, B., Logan, A., Costa, A. S. H., Varma, M., Bryant, C. E., Tourlomousis, P., Däbritz, J. H. M., Gottlieb, E., Latorre, I., Corr, S. C., McManus, G., Ryan, D., Jacobs, H. T., Szibor, M., Xavier, R. J., Braun, T., Frezza, C., Murphy, M. P., & O’Neill, L. A. (2016). Succinate Dehydrogenase Supports Metabolic Repurposing of Mitochondria to Drive Inflammatory Macrophages. *Cell*, 167(2), 457-470.e13. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.08.064>
- Moroni, D. (2016). Estudio del efecto insulínico del extracto de *Stevia rebaudiana* Bertoni como modulador del metabolismo de glucosa y lípidos en ratas wistar expuestas a dieta normo e hipercalórica (Tesis de licenciatura) Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- Moroni, D. (2019). Evaluación de la función mitocondrial en islotes pancreáticos de ratas con resistencia a insulina inducida por exposición a dietas hipercalóricas y cadmio (Tesis de maestría) Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- Mulica, P., Grünewald, A., & Pereira, S. L. (2021). Astrocyte-Neuron Metabolic Crosstalk in Neurodegeneration: A Mitochondrial Perspective. *Frontiers in Endocrinology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.668517>
- Murtaza, G., Tariq, M., & Shawahna, R. (2021). *Mitochondrial Dysfunction in Metabolic Disorders* (pp. 57–68). [https://doi.org/10.1007/978-3-030-45923-9\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-030-45923-9_3)
- Nanji, A. A. (2004). Role of different dietary fatty acids in the pathogenesis of experimental alcoholic liver disease. *Alcohol*, 34(1), 21–25. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2004.08.005>
- Nguyen, V., Thomas, P., Pemberton, S., Babin, A., Noonan, C., Weaver, R., Banks, W. A., & Rhea, E. M. (2023). Central nervous system insulin signaling can influence the rate of insulin influx into brain. *Fluids and Barriers of the CNS*, 20(1), 28.

<https://doi.org/10.1186/s12987-023-00431-6>

- Nichols, E., Steinmetz, J. D., Vollset, S. E., Fukutaki, K., Chalek, J., Abd-Allah, F., Abdoli, A., Abualhasan, A., Abu-Gharbieh, E., Akram, T. T., Al Hamad, H., Alahdab, F., Alanezi, F. M., Alipour, V., Almustanyir, S., Amu, H., Ansari, I., Arabloo, J., Ashraf, T., ... Vos, T. (2022). Estimation of the global prevalence of dementia in 2019 and forecasted prevalence in 2050: an analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *The Lancet Public Health*, 7(2), e105–e125. [https://doi.org/10.1016/S2468-2667\(21\)00249-8](https://doi.org/10.1016/S2468-2667(21)00249-8)
- Niimura, M., Miki, T., Shibasaki, T., Fujimoto, W., Iwanaga, T., & Seino, S. (2009). Critical role of the N-terminal cyclic AMP-binding domain of Epac2 in its subcellular localization and function. *Journal of Cellular Physiology*, 219(3), 652–658. <https://doi.org/10.1002/jcp.21709>
- Obici, S., Zhang, B. B., Karkanias, G., & Rossetti, L. (2002). Hypothalamic insulin signaling is required for inhibition of glucose production. *Nature Medicine*, 8(12), 1376–1382. <https://doi.org/10.1038/nm1202-798>
- Ortiz-Rodríguez, M. A., Bautista-Ortiz, L. F., Villa, A. R., Antúnez-Bautista, P. K., Aldaz-Rodríguez, M. V., Estrada-Luna, D., Denova-Gutiérrez, E., Camacho-Díaz, B. H., & Martínez-Salazar, M. F. (2022). Prevalence of Metabolic Syndrome Among Mexican Adults. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*, 20(5), 264–272. <https://doi.org/10.1089/met.2021.0115>
- Paranjape, S. A., Chan, O., Zhu, W., Horblitt, A. M., McNay, E. C., Cresswell, J. A., Bogan, J. S., McCrimmon, R. J., & Sherwin, R. S. (2010). Influence of Insulin in the Ventromedial Hypothalamus on Pancreatic Glucagon Secretion In Vivo. *Diabetes*, 59(6), 1521–1527. <https://doi.org/10.2337/db10-0014>
- Parks, E. J., Skokan, L. E., Timlin, M. T., & Dingfelder, C. S. (2008). Dietary Sugars Stimulate Fatty Acid Synthesis in Adults<sup>3</sup>. *The Journal of Nutrition*, 138(6), 1039–1046. <https://doi.org/10.1093/jn/138.6.1039>
- Pemberton, S., Galindo, D. C., Schwartz, M. W., Banks, W. A., & Rhea, E. M. (2022). Endocytosis of insulin at the blood-brain barrier. *Frontiers in Drug Delivery*, 2. <https://doi.org/10.3389/fddev.2022.1062366>
- Perry, S. W., Norman, J. P., Barbieri, J., Brown, E. B., & Gelbard, H. A. (2011). Mitochondrial Membrane Potential Probes and the Proton Gradient: A Practical Usage Guide. *BioTechniques*, 50(2), 98–115. <https://doi.org/10.2144/000113610>
- Petersen, M. C., & Shulman, G. I. (2018). Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance. *Physiological Reviews*, 98(4), 2133–2223. <https://doi.org/10.1152/physrev.00063.2017>

- Picinato, M., Curi, R., Machado, U., & Carpinelli, A. (1998). Soybean- and olive-oils-enriched diets increase insulin secretion to glucose stimulus in isolated pancreatic rat islets. *Physiology & Behavior*, *65*(2), 289–294. [https://doi.org/10.1016/S0031-9384\(98\)00157-7](https://doi.org/10.1016/S0031-9384(98)00157-7)
- Pocai, A., Lam, T. K. T., Gutierrez-Juarez, R., Obici, S., Schwartz, G. J., Bryan, J., Aguilar-Bryan, L., & Rossetti, L. (2005). Hypothalamic KATP channels control hepatic glucose production. *Nature*, *434*(7036), 1026–1031. <https://doi.org/10.1038/nature03439>
- Poitout, V. (2018). Fatty Acids and Insulin Secretion: From FFAR and Near? *Diabetes*, *67*(10), 1932–1934. <https://doi.org/10.2337/dbi18-0027>
- Pompili, S., Vetuschi, A., Gaudio, E., Tessitore, A., Capelli, R., Alesse, E., Latella, G., Sferra, R., & Onori, P. (2020). Long-term abuse of a high-carbohydrate diet is as harmful as a high-fat diet for development and progression of liver injury in a mouse model of NAFLD/NASH. *Nutrition*, *75–76*, 110782. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2020.110782>
- Pyakurel, A., Savoia, C., Hess, D., & Scorrano, L. (2015). Extracellular Regulated Kinase Phosphorylates Mitofusin 1 to Control Mitochondrial Morphology and Apoptosis. *Molecular Cell*, *58*(2), 244–254. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.02.021>
- Qi, G., Mi, Y., & Yin, F. (2020). Cellular Specificity and Inter-cellular Coordination in the Brain Bioenergetic System: Implications for Aging and Neurodegeneration. *Frontiers in Physiology*, *10*. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.01531>
- Raefsky, S. M., & Mattson, M. P. (2017). Adaptive responses of neuronal mitochondria to bioenergetic challenges: Roles in neuroplasticity and disease resistance. *Free Radical Biology and Medicine*, *102*, 203–216. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.11.045>
- Raider, K., Ma, D., Harris, J. L., Fuentes, I., Rogers, R. S., Wheatley, J. L., Geiger, P. C., Yeh, H.-W., Choi, I.-Y., Brooks, W. M., & Stanford, J. A. (2016). A high fat diet alters metabolic and bioenergetic function in the brain: A magnetic resonance spectroscopy study. *Neurochemistry International*, *97*, 172–180. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2016.04.008>
- Ramanadham, S., Turk, J., & Bhatnagar, S. (2023). Noncanonical Regulation of cAMP-Dependent Insulin Secretion and Its Implications in Type 2 Diabetes. In *Comprehensive Physiology* (pp. 5023–5049). Wiley. <https://doi.org/10.1002/cphy.c220031>
- Reaven, G. M. (1991). Insulin resistance, hyperinsulinemia, and hypertriglyceridemia in the etiology and clinical course of hypertension. *The American Journal of Medicine*, *90*(2), S7–S12. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(91\)90028-V](https://doi.org/10.1016/0002-9343(91)90028-V)
- Reaven, G. M. (2005). THE INSULIN RESISTANCE SYNDROME: Definition and Dietary Approaches to Treatment. *Annual Review of Nutrition*, *25*(1), 391–406.

<https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.24.012003.132155>

- Reddy, K. S. (2013). Coronary Heart Disease: Prevention. In *Encyclopedia of Human Nutrition* (pp. 409–415). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-375083-9.00064-7>
- Regnell, S. E., & Lernmark, Å. (2017). Early prediction of autoimmune (type 1) diabetes. *Diabetologia*, *60*(8), 1370–1381. <https://doi.org/10.1007/s00125-017-4308-1>
- Rhea, E. M., & Banks, W. A. (2019). Role of the Blood-Brain Barrier in Central Nervous System Insulin Resistance. *Frontiers in Neuroscience*, *13*. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00521>
- Rhea, E. M., & Banks, W. A. (2021). A historical perspective on the interactions of insulin at the blood-brain barrier. *Journal of Neuroendocrinology*, *33*(4). <https://doi.org/10.1111/jne.12929>
- Rorsman, P., & Renström, E. (2003). Insulin granule dynamics in pancreatic beta cells. *Diabetologia*, *46*(8), 1029–1045. <https://doi.org/10.1007/s00125-003-1153-1>
- Rose, J., Brian, C., Pappa, A., Panayiotidis, M. I., & Franco, R. (2020). Mitochondrial Metabolism in Astrocytes Regulates Brain Bioenergetics, Neurotransmission and Redox Balance. *Frontiers in Neuroscience*, *14*. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.536682>
- Ryu, K. W., Fung, T. S., Baker, D. C., Saoi, M., Park, J., Febres-Aldana, C. A., Aly, R. G., Cui, R., Sharma, A., Fu, Y., Jones, O. L., Cai, X., Pasolli, H. A., Cross, J. R., Rudin, C. M., & Thompson, C. B. (2024). Cellular ATP demand creates metabolically distinct subpopulations of mitochondria. *Nature*, *635*(8039), 746–754. <https://doi.org/10.1038/s41586-024-08146-w>
- Sahni, P. V., Zhang, J., Sosunov, S., Galkin, A., Niatsetskaya, Z., Starkov, A., Brookes, P. S., & Ten, V. S. (2018). Krebs cycle metabolites and preferential succinate oxidation following neonatal hypoxic-ischemic brain injury in mice. *Pediatric Research*, *83*(2), 491–497. <https://doi.org/10.1038/pr.2017.277>
- Saklayen, M. G. (2018). The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. *Current Hypertension Reports*, *20*(2), 12. <https://doi.org/10.1007/s11906-018-0812-z>
- Schaffer, S. W., & Suleiman, M.-S. (2007). *Mitochondria* (S. W. Schaffer & M.-S. Suleiman (eds.)). Springer New York. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-69945-5>
- Scherer, T., O'Hare, J., Diggs-Andrews, K., Schweiger, M., Cheng, B., Lindtner, C., Zielinski, E., Vempati, P., Su, K., Dighe, S., Milsom, T., Puchowicz, M., Scheja, L., Zechner, R., Fisher, S. J., Previs, S. F., & Buettner, C. (2011). Brain Insulin Controls Adipose Tissue Lipolysis and Lipogenesis. *Cell Metabolism*, *13*(2), 183–194.

<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2011.01.008>

- Scherer, T., Sakamoto, K., & Buettner, C. (2021). Brain insulin signalling in metabolic homeostasis and disease. *Nature Reviews Endocrinology*, *17*(8), 468–483. <https://doi.org/10.1038/s41574-021-00498-x>
- Schneider, H. J., Friedrich, N., Klotsche, J., Pieper, L., Nauck, M., John, U., Dörr, M., Felix, S., Lehnert, H., Pittrow, D., Silber, S., Völzke, H., Stalla, G. K., Wallaschofski, H., & Wittchen, H.-U. (2010). The Predictive Value of Different Measures of Obesity for Incident Cardiovascular Events and Mortality. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, *95*(4), 1777–1785. <https://doi.org/10.1210/jc.2009-1584>
- Seino, S., Shibasaki, T., & Minami, K. (2011). Dynamics of insulin secretion and the clinical implications for obesity and diabetes. *Journal of Clinical Investigation*, *121*(6), 2118–2125. <https://doi.org/10.1172/JCI45680>
- Shibasaki, T., Takahashi, H., Miki, T., Sunaga, Y., Matsumura, K., Yamanaka, M., Zhang, C., Tamamoto, A., Satoh, T., Miyazaki, J., & Seino, S. (2007). Essential role of Epac2/Rap1 signaling in regulation of insulin granule dynamics by cAMP. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *104*(49), 19333–19338. <https://doi.org/10.1073/pnas.0707054104>
- Sickmann, H. M., Waagepetersen, H. S., Schousboe, A., Benie, A. J., & Bouman, S. D. (2010). Obesity and Type 2 Diabetes in Rats are Associated with Altered Brain Glycogen and Amino-Acid Homeostasis. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, *30*(8), 1527–1537. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2010.61>
- Skulachev, V. P. (1996). Role of uncoupled and non-coupled oxidations in maintenance of safely low levels of oxygen and its one-electron reductants. *Quarterly Reviews of Biophysics*, *29*(2), 169–202. <https://doi.org/10.1017/S0033583500005795>
- Song, C., Satoh, T., Edamatsu, H., Wu, D., Tadano, M., Gao, X., & Kataoka, T. (2002). Differential roles of Ras and Rap1 in growth factor-dependent activation of phospholipase C $\epsilon$ . *Oncogene*, *21*(53), 8105–8113. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1206003>
- Song, M., Bai, Y., & Song, F. (2025). High-fat diet and neuroinflammation: The role of mitochondria. *Pharmacological Research*, *212*, 107615. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2025.107615>
- Song, N., Mei, S., Wang, X., Hu, G., & Lu, M. (2024). Focusing on mitochondria in the brain: from biology to therapeutics. *Translational Neurodegeneration*, *13*(1), 23. <https://doi.org/10.1186/s40035-024-00409-w>
- Sookoian, S. (2012). Alanine and aspartate aminotransferase and glutamine-cycling pathway: Their roles in pathogenesis of metabolic syndrome. *World Journal of Gastroenterology*,

18(29), 3775. <https://doi.org/10.3748/wjg.v18.i29.3775>

- Soret, P.-A., Magusto, J., Housset, C., & Gautheron, J. (2020). In Vitro and In Vivo Models of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: A Critical Appraisal. *Journal of Clinical Medicine*, 10(1), 36. <https://doi.org/10.3390/jcm10010036>
- Spinelli, M., Fusco, S., & Grassi, C. (2007). *Mitochondria* (S. W. Schaffer & M.-S. Suleiman (eds.)). Springer New York. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-69945-5>
- Spinelli, M., Fusco, S., & Grassi, C. (2019). Brain Insulin Resistance and Hippocampal Plasticity: Mechanisms and Biomarkers of Cognitive Decline. *Frontiers in Neuroscience*, 13. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00788>
- Stanhope, K. L., Schwarz, J. M., Keim, N. L., Griffen, S. C., Bremer, A. A., Graham, J. L., Hatcher, B., Cox, C. L., Dyachenko, A., Zhang, W., McGahan, J. P., Seibert, A., Krauss, R. M., Chiu, S., Schaefer, E. J., Ai, M., Otokoza, S., Nakajima, K., Nakano, T., ... Havel, P. J. (2009). Consuming fructose-sweetened, not glucose-sweetened, beverages increases visceral adiposity and lipids and decreases insulin sensitivity in overweight/obese humans. *Journal of Clinical Investigation*, 119(5), 1322–1334. <https://doi.org/10.1172/JCI37385>
- Stanley, M., Macauley, S. L., Caesar, E. E., Koscal, L. J., Moritz, W., Robinson, G. O., Roh, J., Keyser, J., Jiang, H., & Holtzman, D. M. (2016). The Effects of Peripheral and Central High Insulin on Brain Insulin Signaling and Amyloid- $\beta$  in Young and Old APP/PS1 Mice. *The Journal of Neuroscience*, 36(46), 11704–11715. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2119-16.2016>
- Straczkowski, M., Kowalska, I., Baranowski, M., Nikolajuk, A., Oziomek, E., Zabielski, P., Adamska, A., Blachnio, A., Gorski, J., & Gorska, M. (2007). Increased skeletal muscle ceramide level in men at risk of developing type 2 diabetes. *Diabetologia*, 50(11), 2366–2373. <https://doi.org/10.1007/s00125-007-0781-2>
- Subramanian, V., Jansi, A. H., & Muruganantham, H. (2024). High-fat diet effects on brain mitochondrial complex I activity and protein lipoxidation: implications for translational medicine. *Clinical and Translational Discovery*, 4(4). <https://doi.org/10.1002/ctd2.354>
- Summers, S. A. (2010). Sphingolipids and insulin resistance: the five Ws. *Current Opinion in Lipidology*, 21(2), 128–135. <https://doi.org/10.1097/MOL.0b013e3283373b66>
- Takahashi, Y. (2012). Animal models of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. *World Journal of Gastroenterology*, 18(19), 2300. <https://doi.org/10.3748/wjg.v18.i19.2300>
- Tamura, Y., Saito, M., & Ito, A. (2009). The phenomenological model of muscle contraction

- with a controller to simulate the excitation–contraction (E–C) coupling. *Journal of Biomechanics*, 42(3), 400–403. <https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2008.11.018>
- Tappy, L., Lê, K. A., Tran, C., & Paquot, N. (2010). Fructose and metabolic diseases: New findings, new questions. *Nutrition*, 26(11–12), 1044–1049. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2010.02.014>
- Treviño, S., Díaz, A., González-López, G., & Guevara, J. (2022). 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. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 126, 102186. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2022.102186>
- Treviño, S., Waalkes, M. P., Flores Hernández, J. A., León-Chavez, B. A., Aguilar-Alonso, P., & Brambila, E. (2015). Chronic cadmium exposure in rats produces pancreatic impairment and insulin resistance in multiple peripheral tissues. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 583, 27–35. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2015.07.010>
- Trigo, D., Avelar, C., Fernandes, M., Sá, J., & da Cruz e Silva, O. (2022). Mitochondria, energy, and metabolism in neuronal health and disease. *FEBS Letters*, 596(9), 1095–1110. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.14298>
- Tsai, S.-F., Chen, Y.-W., & Kuo, Y.-M. (2018). High-fat diet reduces the hippocampal content level of lactate which is correlated with the expression of glial glutamate transporters. *Neuroscience Letters*, 662, 142–146. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2017.10.024>
- Urayama, A., & Banks, W. A. (2008). Starvation and Triglycerides Reverse the Obesity-Induced Impairment of Insulin Transport at the Blood-Brain Barrier. *Endocrinology*, 149(7), 3592–3597. <https://doi.org/10.1210/en.2008-0008>
- VAGUE, J. (1956). The Degree of Masculine Differentiation of Obesities. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 4(1), 20–34. <https://doi.org/10.1093/ajcn/4.1.20>
- Valladolid-Acebes, I., Merino, B., Principato, A., Fole, A., Barbas, C., Lorenzo, M. P., García, A., Del Olmo, N., Ruiz-Gayo, M., & Cano, V. (2012). High-fat diets induce changes in hippocampal glutamate metabolism and neurotransmission. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 302(4), E396–E402. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00343.2011>
- van den Berg, S. A., Guigas, B., Bijland, S., Ouwens, M., Voshol, P. J., Frants, R. R., Havekes, L. M., Romijn, J. A., & van Dijk, K. W. (2010). High levels of dietary stearate promote adiposity and deteriorate hepatic insulin sensitivity. *Nutrition & Metabolism*, 7(1), 24. <https://doi.org/10.1186/1743-7075-7-24>

- Van Huynh, T., Rethi, L., Rethi, L., Chen, C.-H., Chen, Y.-J., & Kao, Y.-H. (2023). The Complex Interplay between Imbalanced Mitochondrial Dynamics and Metabolic Disorders in Type 2 Diabetes. *Cells*, *12*(9), 1223. <https://doi.org/10.3390/cells12091223>
- Verbeek, M. M., Leen, W. G., Willemsen, M. A., Slats, D., & Claassen, J. A. (2016). Hourly analysis of cerebrospinal fluid glucose shows large diurnal fluctuations. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, *36*(5), 899–902. <https://doi.org/10.1177/0271678X16637612>
- Vicente-Gutiérrez, C., Jiménez-Blasco, D., & Quintana-Cabrera, R. (2021). Intertwined ROS and Metabolic Signaling at the Neuron-Astrocyte Interface. *Neurochemical Research*, *46*(1), 23–33. <https://doi.org/10.1007/s11064-020-02965-9>
- Vilaboa, S. dos A. (2018). Papel de los receptores NMDA de glutamato en la vulnerabilidad neuronal después de isquemia cerebral transitoria en rata. *Ambiociencias*, 46–49. <https://doi.org/10.18002/ambioc.v0i2.4879>
- Vives-Bauza, C., Yang, L., & Manfredi, G. (2007). *Assay of Mitochondrial ATP Synthesis in Animal Cells and Tissues* (pp. 155–171). [https://doi.org/10.1016/S0091-679X\(06\)80007-5](https://doi.org/10.1016/S0091-679X(06)80007-5)
- Votyakova, T. V., & Reynolds, I. J. (2001).  $\Delta\Psi$  m -Dependent and -independent production of reactive oxygen species by rat brain mitochondria. *Journal of Neurochemistry*, *79*(2), 266–277. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2001.00548.x>
- Wali, J. A., Jarzebska, N., Raubenheimer, D., Simpson, S. J., Rodionov, R. N., & O’Sullivan, J. F. (2020). Cardio-Metabolic Effects of High-Fat Diets and Their Underlying Mechanisms—A Narrative Review. *Nutrients*, *12*(5), 1505. <https://doi.org/10.3390/nu12051505>
- Wang, D., Hu, Y., Kong, S., Yu, Y., Zhu, D., & Lou, Y. (2011). Promoting effects of isobavachin on neurogenesis of mouse embryonic stem cells were associated with protein prenylation. *Acta Pharmacologica Sinica*, *32*(4), 425–432. <https://doi.org/10.1038/aps.2011.5>
- Wang, J., Liu, W.-J., Shi, H.-Z., Zhai, H.-R., Qian, J.-J., & Zhang, W.-N. (2022). A Role for PGC-1 $\alpha$  in the Control of Abnormal Mitochondrial Dynamics in Alzheimer’s Disease. *Cells*, *11*(18), 2849. <https://doi.org/10.3390/cells11182849>
- Wang, S., Tan, J., Miao, Y., & Zhang, Q. (2022). Mitochondrial Dynamics, Mitophagy, and Mitochondria–Endoplasmic Reticulum Contact Sites Crosstalk Under Hypoxia. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, *10*. <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.848214>
- Wang, Z., & Thurmond, D. C. (2009). Mechanisms of biphasic insulin-granule exocytosis – roles of the cytoskeleton, small GTPases and SNARE proteins. *Journal of Cell Science*,

122(7), 893–903. <https://doi.org/10.1242/jcs.034355>

- Warraich, H. J., & Rana, J. S. (2017). Dyslipidemia in diabetes mellitus and cardiovascular disease. *Cardiovascular Endocrinology*, 6(1), 27–32. <https://doi.org/10.1097/XCE.0000000000000120>
- Wen, J., Wang, Y., Wang, C., Yuan, M., Chen, F., Zou, Q., Cai, Z., & Zhao, B. (2023). Dietary High-Fat Promotes Cognitive Impairment by Suppressing Mitophagy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2023, 1–14. <https://doi.org/10.1155/2023/4822767>
- White, J. S. (2008). Straight talk about high-fructose corn syrup: what it is and what it ain't. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 88(6), 1716S-1721S. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2008.25825B>
- Wildman, R. P. (2009). Healthy obesity. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 12(4), 438–443. <https://doi.org/10.1097/MCO.0b013e32832c6db7>
- Willebrords, J., Pereira, I. V. A., Maes, M., Crespo Yanguas, S., Colle, I., Van Den Bossche, B., Da Silva, T. C., de Oliveira, C. P. M. S., Andraus, W., Alves, V. A., Cogliati, B., & Vinken, M. (2015). Strategies, models and biomarkers in experimental non-alcoholic fatty liver disease research. *Progress in Lipid Research*, 59, 106–125. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2015.05.002>
- Witek, K., Wydra, K., & Filip, M. (2022). A High-Sugar Diet Consumption, Metabolism and Health Impacts with a Focus on the Development of Substance Use Disorder: A Narrative Review. *Nutrients*, 14(14), 2940. <https://doi.org/10.3390/nu14142940>
- Wolf, A., Bray, G. A., & Popkin, B. M. (2008). A short history of beverages and how our body treats them. *Obesity Reviews*, 9(2), 151–164. <https://doi.org/10.1111/j.1467-789X.2007.00389.x>
- Woods, S. C., Lotter, E. C., McKay, L. D., & Porte, D. (1979). Chronic intracerebroventricular infusion of insulin reduces food intake and body weight of baboons. *Nature*, 282(5738), 503–505. <https://doi.org/10.1038/282503a0>
- Xia, W., Veeragandham, P., Cao, Y., Xu, Y., Rhyne, T. E., Qian, J., Hung, C.-W., Zhao, P., Jones, Y., Gao, H., Liddle, C., Yu, R. T., Downes, M., Evans, R. M., Rydén, M., Wabitsch, M., Wang, Z., Hakozaiki, H., Schöneberg, J., ... Saltiel, A. R. (2024). Obesity causes mitochondrial fragmentation and dysfunction in white adipocytes due to RalA activation. *Nature Metabolism*, 6(2), 273–289. <https://doi.org/10.1038/s42255-024-00978-0>
- Yan, S., Liu, S., Qu, J., Li, X., Hu, J., Zhang, L., Liu, X., Li, X., Wang, X., Wen, L., & Wang, J. (2022). A Lard and Soybean Oil Mixture Alleviates Low-Fat–High-Carbohydrate Diet-Induced Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Mice. *Nutrients*, 14(3), 560.

<https://doi.org/10.3390/nu14030560>

- Yaniv, Y., Juhaszova, M., Nuss, H. B., Wang, S., Zorov, D. B., Lakatta, E. G., & Sollott, S. J. (2010). Matching ATP supply and demand in mammalian heart. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1188(1), 133–142. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.05093.x>
- Yao, J., Rettberg, J. R., Klosinski, L. P., Cadenas, E., & Brinton, R. D. (2011). Shift in brain metabolism in late onset Alzheimer's disease: Implications for biomarkers and therapeutic interventions. *Molecular Aspects of Medicine*, 32(4–6), 247–257. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2011.10.005>
- You, W., Li, Y., Liu, K., Mi, X., Li, Y., Guo, X., & Li, Z. (2024). Latest assessment methods for mitochondrial homeostasis in cognitive diseases. *Neural Regeneration Research*, 19(4), 754–768. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.382222>
- Żebrowska-Gamdzyska, M., Maciejczyk, M., Zalewska, A., Guzińska-Ustymowicz, K., Tokajuk, A., & Car, H. (2018). Whey Protein Concentrate WPC-80 Intensifies Glycoconjugate Catabolism and Induces Oxidative Stress in the Liver of Rats. *Nutrients*, 10(9), 1178. <https://doi.org/10.3390/nu10091178>
- Zhang, E., Mohammed Al-Amily, I., Mohammed, S., Luan, C., Asplund, O., Ahmed, M., Ye, Y., Ben-Hail, D., Soni, A., Vishnu, N., Bompada, P., De Marinis, Y., Groop, L., Shoshan-Barmatz, V., Renström, E., Wollheim, C. B., & Salehi, A. (2019). Preserving Insulin Secretion in Diabetes by Inhibiting VDAC1 Overexpression and Surface Translocation in  $\beta$  Cells. *Cell Metabolism*, 29(1), 64-77.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.09.008>
- Zhang, L., Li, X., Liu, X., Wu, X., Xu, Q., Qu, J., Li, X., Zhu, Y., Wen, L., & Wang, J. (2023). High-Carbohydrate Diet Consumption Poses a More Severe Liver Cholesterol Deposition than a High-Fat and High-Calorie Diet in Mice. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(19), 14700. <https://doi.org/10.3390/ijms241914700>
- Zhang, N., Jiang, H., Bai, Y., Lu, X., Feng, M., Guo, Y., Zhang, S., Luo, Q., Wu, H., & Wang, L. (2019). The molecular mechanism study of insulin on proliferation and differentiation of osteoblasts under high glucose conditions. *Cell Biochemistry and Function*, 37(5), 385–394. <https://doi.org/10.1002/cbf.3415>
- Zheng, Y., Gibb, A. A., Xu, H., Liu, S., & Hill, B. G. (2023). The metabolic state of the heart regulates mitochondrial supercomplex abundance in mice. *Redox Biology*, 63, 102740. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2023.102740>
- Zorov, D. B., Bannikova, S. Y., Belousov, V. V., Vyssokikh, M. Y., Zorova, L. D., Isaev, N. K., Krasnikov, B. F., & Plotnikov, E. Y. (2005). Reactive oxygen and nitrogen species:

Friends or foes? *Biochemistry (Moscow)*, 70(2), 215–221. <https://doi.org/10.1007/s10541-005-0103-6>

Zorov, D. B., Isaev, N. K., Plotnikov, E. Y., Silachev, D. N., Zorova, L. D., Pevzner, I. B., Morosanova, M. A., Jankauskas, S. S., Zorov, S. D., & Babenko, V. A. (2013). Perspectives of mitochondrial medicine. *Biochemistry (Moscow)*, 78(9), 979–990. <https://doi.org/10.1134/S0006297913090034>

Zorov, Dmitry B., Juhaszova, M., & Sollott, S. J. (2014). Mitochondrial Reactive Oxygen Species (ROS) and ROS-Induced ROS Release. *Physiological Reviews*, 94(3), 909–950. <https://doi.org/10.1152/physrev.00026.2013>

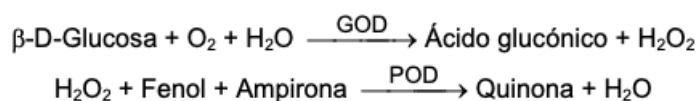
Zorova, L. D., Popkov, V. A., Plotnikov, E. Y., Silachev, D. N., Pevzner, I. B., Jankauskas, S. S., Babenko, V. A., Zorov, S. D., Balakireva, A. V., Juhaszova, M., Sollott, S. J., & Zorov, D. B. (2018). Mitochondrial membrane potential. *Analytical Biochemistry*, 552, 50–59. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2017.07.009>

## 12.ANEXOS

### a. Determinación de la concentración de glucosa sérica

**Método:** Glucosa Oxidasa/Peroxidasa

**Fundamento:** La glucosa presente en la muestra se oxida a ácido glucónico por medio de la glucosa oxidasa (GOD). El peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) producido en la reacción origina un complejo coloreado en presencia de peroxidasa (POD) que se cuantifica por espectrofotometría.



**Procedimiento:**

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: 505 nm (490-550)

Cubeta: 1 cm paso de luz

Temperatura: 37°C / 15-25°C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
3. Pipetear en un tubo de ensayo lo siguiente:

	Blanco	Patrón	Muestra
Reactivo (mL)	1.0	1.0	1.0
Patrón ( $\mu$ L)	--	10	--
Muestra ( $\mu$ L)	--	--	10

4. Mezclar bien e incubar los tubos durante 10 min. a 37°C ó durante 30 min. a temperatura ambiente (15-25°C)
5. Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 30 minutos.

**Cálculos:**

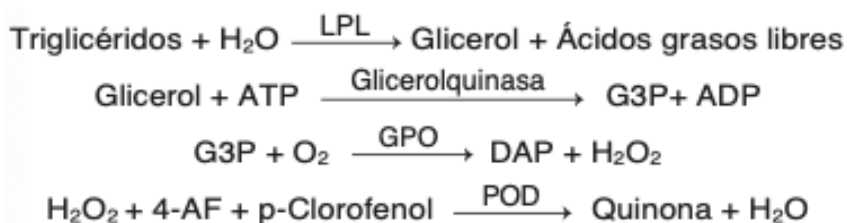
La concentración de glucosa en la muestra se calcula a partir de la siguiente fórmula.

$$\frac{(A)_{\text{Muestra}}}{(A)_{\text{Patrón}}} \times 100 (\text{Conc. Patrón}) = \text{mg/dL de glucosa en la}$$

## b. Determinación de la concentración de triglicéridos

**Método:** Glicerolfosfato deshidrogenasa- Peroxidasa

**Fundamento:** La lipoproteinlipasa (LPL) hidroliza los triglicéridos liberando glicerol y ácidos grasos libres. El glicerol formado es fosforilado por glicerolfosfato deshidrogenasa (GPO) y ATP en presencia de glicerol quinasa (GK) para producir glicerol-3-fosfato (G3P) y adenosina-5-difosfato (ADP). El G3P es entonces convertido a dihidroxiacetona fosfato (DAP) y  $H_2O_2$  por GPO. Finalmente, el  $H_2O_2$  reacciona con 4- aminofenazona (4-AF) y p-clorofenol, reacción catalizada por la peroxidasa (POD) dando una coloración roja, con una intensidad proporcional a la concentración de triglicéridos presentes en la muestra.



### Procedimiento:

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: 505 nm (490-550)

Cubeta: 1 cm paso de luz

Temperatura: 37°C / 15-25°C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
3. Pipetear en un tubo de ensayo lo siguiente:

	Blanco	Patrón	Muestra
Reactivo (mL)	1.0	1.0	1.0
Patrón (μL)	--	10	--
Muestra (μL)	--	--	10

4. Mezclar e incubar 5 minutos a 37oC o 10 min. a 15-25oC.
5. Leer la absorbancia (A) del patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 30 minutos.

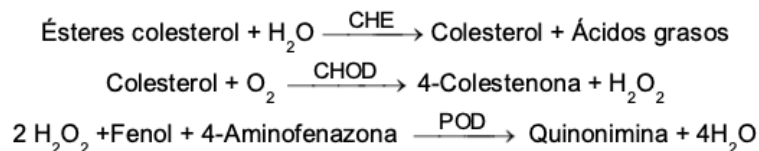
### Cálculos:

$$\frac{(A) \text{ Muestra} - (A) \text{ Blanco}}{(A) \text{ Patrón} - (A) \text{ Blanco}} \times \text{Conc. Patrón} = \text{mg/dl de triglicéridos}$$

**c. Determinación de la concentración de colesterol total**

**Método:** Colesterol oxidasa-Peroxidasa

**Fundamento:** La colesterol esterasa (CHE) hidroliza los ésteres de colesterol a colesterol más ácidos grasos libres. En la siguiente reacción la colesterol oxidasa (CHOD) oxida el colesterol a colesteno y el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> formado es sustrato de la peroxidasa que junto con 4-AF da lugar a la formación de una quinona roja que es proporcional a la concentración de colesterol en la muestra.



**Procedimiento:**

1. Condiciones del ensayo:  
 Longitud de onda: 505 nm (490-550)  
 Cubeta: 1 cm paso de luz  
 Temperatura: 37°C / 15-25°C
2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
3. Pipetear en un tubo de ensayo lo siguiente:

	Blanco	Patrón	Muestra
Reactivo (mL)	1.0	1.0	1.0
Patrón (µL)	--	10	--
Muestra (µL)	--	--	10

4. Mezclar e incubar 5 min a 37°C ó 10 min a 15-25°C.
5. Leer la absorbancia (A) del patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 60 minutos

**Cálculos:**

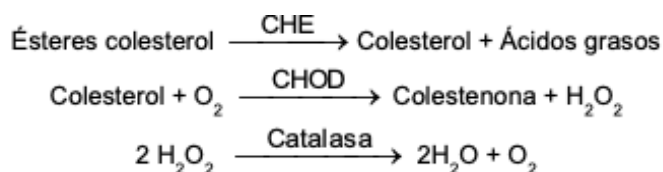
$$\frac{(A) \text{ Muestra}}{(A) \text{ Patrón}} \times \text{Conc. Patrón} = \text{mg/dl de colesterol en la muestra}$$

#### d. Determinación de la concentración de HDL-c

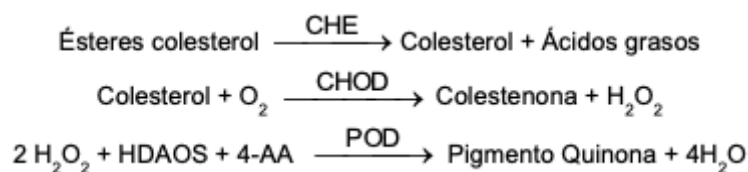
**Método:** Directo. Enzimático colorimétrico

**Fundamento:** Determinación directa del HDLc (colesterol de lipoproteínas de alta densidad) sin necesidad de pre-tratamiento o centrifugado de la muestra. La determinación se realiza en dos pasos: En la primera etapa se obtiene un producto no coloreado mientras que en la segunda etapa el N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3,5- dimetoxianilina (HDAOS) y 4-Aminoantipirina en presencia de la peroxidasa reaccionan por acción del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y generan un producto coloreado.

##### 1. Eliminación de lipoproteínas no-HDL



##### 2. Medición de HDLc



#### Procedimiento:

- Condiciones del ensayo:  
Longitud de onda: 550-650 nm  
Cubeta: 1 cm paso de luz  
Temperatura: 37°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en un tubo de ensayo lo siguiente:

	Blanco	Calibrador	Muestra
Reactivo 1 (µL)	300	300	300
Calibrador (µL)	--	3	--

Muestra (μL)	--	--	3
--------------	----	----	---

4. Mezclar e incubar 5 min a 37°C y leer absorbancia (A1) del calibrador y la muestra

5. Añadir:

	Blanco	Calibrador	Muestra
Reactivo 2 (μL)	100	100	100

6. Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C y leer la absorbancia (A2) frente al Blanco de reactivo.

#### Cálculos:

$$\frac{(A2 - A1) Muestra - (A2 - A1) Blanco}{(A2 - A1) Calibrador - (A2 - A1) Blanco} \times Conc. Calibrador = mg/dl de HDL - col$$

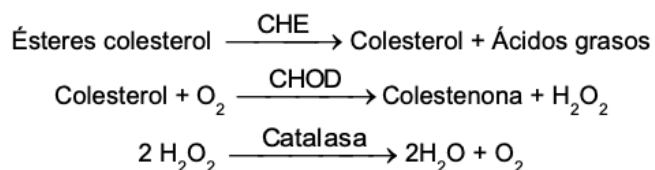
#### e. Determinación de la concentración de LDL-c

*Método: Enzimático colorimétrico*

**Fundamento:** Determinación directa del LDLc (colesterol de lipoproteínas de baja densidad) sin necesidad de pre-tratamiento o centrifugado de la muestra. La determinación se realiza en dos pasos:

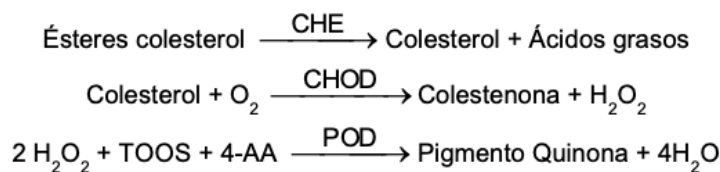
1. Eliminación de lipoproteínas no-LDL

La CHE hidroliza los ésteres de colesterol a colesterol y ácidos grasos libres, a continuación, la CHOD oxida el colesterol a colestenoa y peróxido de hidrógeno, la catalasa descompone el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a oxígeno y agua.



2. Medición de LDLc

En la segunda etapa se permite la reacción completa de CHE, CHOD y peroxidasa, el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> reacciona con la 4-Aminoantipirina y el N-etil-N-(2-hidroxi-3-sul-fopropil)- 3-toluidina disódica (TOOS) generando un producto con color que se cuantifica espectrofotométricamente.



**Procedimiento:**

1. Condiciones del ensayo:  
 Longitud de onda: 600 (590-700) nm  
 Cubeta: 1 cm paso de luz  
 Temperatura: 37°C
2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
3. Pipetear en un tubo de ensayo lo siguiente:

	Blanco	Patrón	Muestra
Reactivo 1 (µL)	300	300	300
Patrón (µL)	--	4	--
Muestra (µL)	--	--	4

4. Mezclar e incubar 5 min a 37°C
5. Añadir

	Blanco	Calibrador	Muestra
Reactivo 2 (µL)	100	100	100

6. Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C y leer la absorbancia, frente al Blanco de reactivo

**Cálculos:**

$$\frac{(A) \text{ Muestra} - (A) \text{ Blanco}}{(A) \text{ Calibrador} - (A) \text{ Blanco}} \times \text{Conc. Calibrador} = \text{mg/dl de LDL colesterol}$$

**f. Determinación de la concentración de VLDL-col**

Los niveles de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) se obtendrán utilizando la estimación de Martin-Hopkins.

### **g. Determinación de la concentración de insulina**

**Fundamento:** Se realizará por el método de inmunoensayo enzimático (ELISA) tipo sándwich. En este procedimiento, la inmovilización toma lugar durante el ensayo en la superficie del pozo en la microplaca a través de la interacción de estreptavidina revestida en los pozos y con el anticuerpo de insulina monoclonal marcado con biotina. Una vez mezclado el anticuerpo monoclonal biotinilado, el anticuerpo de enzima etiquetada y un suero que contiene el antígeno nativo resulta una reacción entre el antígeno nativo y los anticuerpos, sin competencia o impedimento estérico, para formar un complejo de sándwich soluble. Después de que se obtiene el equilibrio, la fracción del anticuerpo-atado es separado del antígeno libre por la decantación o la aspiración. La actividad enzimática en la fracción del anticuerpo-limite es directamente proporcional a la concentración nativa del antígeno. Utilizando diversas referencias del suero de los valores sabidos del antígeno, una curva de la reacción a cierta dosis puede ser generada de la cual la concentración del antígeno de un desconocido puede ser comprobada.

#### **Procedimiento**

1. Sacar los micropozos necesarios para cada suero de referencia, controles y muestras. Colocar 50  $\mu\text{L}$  de los sueros de referencia, controles y muestras en los pozos correspondientes.
2. Agregar 100 $\mu\text{L}$  de la solución del Reactivo de la Enzima de Insulina a todos los pozos y golpear suavemente uno de los extremos de la microplaca por 20- 30 segundos para mezclar. Sellar la microplaca con una cubierta de plástico.
3. Incubar por 120 minutos a temperatura ambiente (20-27°C)
4. Desechar el contenido de la microplaca por decantación o aspiración.
5. Agregar 300 $\mu\text{L}$  de la solución de lavado. Repetir dos veces adicionales.
6. Agregar 100 $\mu\text{L}$  de la solución de sustrato a todos los pozos
7. Incubar a temperatura ambiente por 15 minutos.
8. Agregar 50 $\mu\text{L}$  de la solución de paro a cada pozo y mezclar suavemente de 15 a 20 segundos. Agregar siempre los reactivos en el mismo orden para reducir al mínimo diferencias del tiempo de reacción entre los pozos.
9. Leer la absorbancia en cada pozo a 450 nm (con una longitud de onda de referencia de 620-630nm para reducir al mínimo imperfecciones del pozo) en un lector de

microplacas. Los resultados se deben leer en el plazo de 30 minutos de haber agregado la solución de paro.

### Cálculos

Una curva en la reacción se usa para comprobar la concentración de Insulina en especímenes desconocidos.

1. Registrar la absorbancia obtenida del listado del lector del microplacas.
2. Trazar la absorbancia para cada referencia duplicada del suero contra la concentración correspondiente de Insulina en  $\mu\text{IU/mL}$ .
3. Calcular la ecuación de la línea recta para la curva de calibración.
4. Para determinar la concentración de Insulina para un desconocido, despejar x de la ecuación de la línea recta.

### h. Índices de resistencia a insulina

**Matsuda-DeFronzo:** Evalúa la resistencia a insulina a nivel sistémico, se cuantifica empleando la fórmula.

$$IR = \frac{10,000}{\sqrt{\left( Glucosa\ basal \left( \frac{mg}{dL} \right) * Insulina\ basal \left( \frac{\mu U}{mL} \right) \right) * \left( \bar{x}\ Glucosa\ TOG \left( \frac{mg}{dL} \right) * \bar{x}\ Insulina\ TOG \left( \frac{\mu U}{mL} \right) \right)}} \quad (\text{Matsuda \& DeFronzo, 1999})$$

**HOMA-IR:** Proporciona información sobre la resistencia a la insulina a nivel de tejido periférico.

$$HOMA - IR = \frac{Glucosa\ basal \left( \frac{mg}{dL} \right) * Insulina\ basal \left( \frac{\mu U}{mL} \right)}{2430} \quad (\text{Cacho et al., 2008})$$

### i. Índices de resistencia a insulina

**Método:** Bradford

**Fundamento:** El método de Bradford es un ensayo colorimétrico para cuantificar proteínas, basado en la interacción entre el colorante azul brillante de Coomassie y las proteínas en un medio ácido. La unión del Coomassie a las proteínas causa un cambio en la absorción del

colorante, de 465 nm a 595 nm, lo que permite determinar la concentración de proteína en una muestra.

**Procedimiento:**

1. Preparar un estándar de albúmina a una concentración de 100 mg/mL y a partir de él preparar las siguientes diluciones.
2. Preparar diluciones del estándar de proteína de 0.5, 1, 2, 5 y 10 mg/ml.
3. Tanto para las muestras como para los estándares colocar en un eppendorf 1mL de reactivo de Bradford y 2 ul de la muestra o del estándar
4. Eezclar con un agitador vórtex e incubar la reacción 10 minutos a temperatura ambiente.
5. Leer a 595 nm y calcular la cantidad de proteínas por extrapolación con la curva estándar.

**j. Western Blot**

**Procedimiento:**

1. Preparar un gel de acrilamida para SDS-PAGE en vidrios de 1.5 cm con peine de 10 pocillos al porcentaje indicado por la tabla a continuación
2. Para preparar muestras para Western Blot en una proporción 1:1 con buffer de carga (LOAEMLI)
3. Cargar las muestras en el gel en los pocillos correspondientes y correr el gel durante una hora con 30 minutos aproximadamente.
4. Sacar el gel con cuidado y prepararlo para transferencia húmeda en membrana de PVDF y transferir a 100V durante 60 minutos.
5. Una vez concluida la transferencia, retirar la membrana y lavarla 5 minutos con 1X TBS, 0,1% Tween®
6. Bloquear la membrana con 2.5% w/v BSA, 1X TBS, 0,1% Tween® a 4° durante toda la noche con agitación suave.
7. Lavar 3 veces con TBS-T, 10 minutos cada lavado
8. Incubar el anticuerpo primario toda la noche a 4°C con agitación suave.
9. Lavar 3 veces con TBS-T, 10 minutos cada lavado
10. Incubar el anticuerpo secundario por 1 hora a temperatura ambiente.
11. Lavar 3 veces con TBS-T, 10 min cada lavado (

12. Colocar la membrana en la bandeja del fotodocumentador Nine Alliance Uvitec y colocar el Sustrato Immobilon quimioluminiscente de HRP (WBKLS0050, diluyendo una parte de la solución de Peroxido y una parte de luminol)

Para el presente trabajo se tomaron en cuenta las siguientes condiciones:

	<b>Anticuerpo</b>	<b>Peso molecular</b>	<b>% Gel</b>	<b>Concentración de proteínas [ug]</b>
<b>Pink1</b>	1:1000 #6946	60, 50 kDa	10%	30 ug
<b>Parkina</b>	1:1000 #4211	50 kDa	10%	30 ug
<b>Opa-1</b>	1:500 sc-393296	120 kDa 79 kDa	7.5%	30 ug
<b>Mitofusin-1</b>	1:1000 #14739	82 kDa	10%	50 ug
<b>p-Drp1</b>	1:1000 #3455	78-82 kDa	10%	40 ug
<b>Fis1</b>	1:1000 sc-376447	17 kDa	12.5%	50 ug

#### **k. Síntesis de ATP**

**Método:** Reportado por Vives, Bauza 2007.

#### **Reactivos:**

- BufferA: 150 mM KCl, 25 mM Tris-HCl, 2 mM EDTA, 0.1% BSA, 10 mM KHPO<sub>4</sub>, 0.1 mM MgCl<sub>2</sub> en dH<sub>2</sub>O, pH 7.4
- BufferB: Tris Acetato 0.5M, pH 7.75, Luciferina 0.8 mM, Luciferasa 20 ug/mL (preparar en fresco)

- ATP 10 mM
- ADP 6 mM en buffer A
- Diadenosin pentafofato 6 mM en dH<sub>2</sub>O.
- Sustratos: Malato / Piruvato, Malato/Glutamato, Succinato 100 mM

**Procedimiento:**

- Curva con estándares de 10, 5, 1, 0.5, 0.1, 0.05 mM ATP (preparar por separado y tomar 10 µL de cada estándar)
- Colocar 160 µL de Buffer A en el fondo del pozo
- Poner 10 µL de muestra de mitocondrias aisladas o estándar de ATP en el buffer A
- Colocar 15 µL de mix de sustratos (ADP 6 mM, Diadenosin pentafofato 6 mM, y sustrato 100 mM) en la pared
- Adicionar 20 µL de Buffer B y homogeneizar rápido.
- Medir la RLU cada 15 seg durante 2 minutos en el luminómetro (Lumistat 4900)

**Cálculo**

o Valor 2 minutos – valor inicial

o Calcular concentración de curva estándar (nmol/ATP/min) o Dividir / µg proteínas

o Reportar como nom ATP/min/µg proteínas

**1. Evaluación del potencial de membrana mitocondrial**

**Procedimiento:**

1. Incubar una rebanada de hipocampo de 1 mm en el medio Krebs Ringer (CaCl<sub>2</sub> 2 mM, HEPES 5 mM, KCl 3 mM, MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 1 mM, NaCl 139 mM, NaHCO<sub>3</sub> 2 mM, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.5 mM, glucosa 10 mM) durante 1 hora a 37°C con 5 % de CO<sub>2</sub>,
2. Posteriormente preparar TMRE (Cat. n.º ab113852 Abcam, Cambridge, MA, EE. UU) a 200 mM en medio Krebs Ringer para incubar la rebanada de hipocampo durante 30 minutos a 37 °C con 5 % de CO<sub>2</sub>.
3. Lavar con Krebs Ringer 10 min en agitación suave para eliminar el exceso de colorante.

4. Fijar los tejidos en paraformaldehído al 4 % durante 24 horas y luego transferirlos a una solución de sacarosa al 30 % para su crioprotección
5. Posteriormente cortar secciones de 20  $\mu\text{m}$  utilizando un criostato a  $-21^{\circ}\text{C}$ .
6. Las imágenes se capturan utilizando un microscopio de fluorescencia Leica DM1000 LED con un objetivo 20x a  $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}} = 488/575 \text{ nm}$ .
7. La intensidad de fluorescencia se analizó con el software ImageJ.