



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE BIOLOGÍA
LICENCIATURA EN BIOTECNOLOGÍA

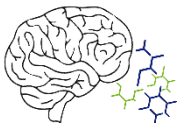
**EVALUACIÓN DE LA MEMORIA, ACTIVIDAD MOTORA
Y ESTRUCTURA NEURONAL DE REGIONES
HIPOCAMPALES Y CORTEZA PREFRONTAL
EN LA CEPA ZDF: IMPLICACIONES EN
LA DIABETES TIPO II**

Tesis presentada para obtener el grado de
LICENCIADA EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA

Aleida Monserrat Coss Orozco

DIRECTOR: Dr. Rubén Antonio Vázquez Roque
CO-DIRECTOR: Dr. José Everardo Avelino Cruz



LABORATORIO DE
NEUROPLASTICIDAD Y
METABOLISMO

Mayo 2024

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL.....	3
ÍNDICE DE ABREVIATURAS	6
ÍNDICE DE TABLAS	9
ÍNDICE DE FIGURAS	10
RESUMEN	11
ABSTRACT	12
VISUAL ABSTRACT	13
I. INTRODUCCIÓN.....	14
1.1 DIABETES MELLITUS.....	14
1.1.1.Generalidades	14
1.2 DIABETES TIPO 2.....	14
1.2.1.Cuadro Clínico y Diagnóstico	14
1.2.2.Etiología y Factores de riesgo	16
1.2.3.Fisiopatología de la enfermedad	17
1.2.4.Complicaciones en la DT2.....	26
1.3 MEMORIA Y DIABETES.....	29
1.3.1 Conceptos clave: Memoria	29
1.3.2.Memoria de reconocimiento: un componente de la memoria episódica	33
1.3.3.Neurobiología: el papel de estructuras cerebrales	33
1.3.4.Déficit en la memoria relacionada a la DT2.....	43
1.4.MODELOS ANIMALES EN EL ESTUDIO DE LA DIABETES.....	45
1.4.1.La cepa ZDF como modelo animal de estudio	46
II. JUSTIFICACIÓN.....	48
III. HIPÓTESIS	50
IV. OBJETIVOS	50
4.1. Objetivo General	50
4.2. Objetivos Específicos.....	50
V. METODOLOGÍA.....	51
5.1. Determinación de Grupos Experimentales.....	52
5.2. Pruebas Conductuales.....	52

5.2.1.Prueba de Actividad motora	52
5.2.2.Prueba de Reconocimiento de Objetos Novedosos (NOR)	53
5.3. Perfusión del Animal de laboratorio	53
5.4. Morfología Neuronal.....	54
5.4.1.Protocolo de tinción Golgi-Cox	54
5.4.2.Protocolo de revelado de la tinción Golgi-Cox.....	54
5.4.3.Trazado de Neuronas	54
5.4.4.Análisis de Sholl	55
5.5. Cuantificación Celular	56
5.5.1.Protocolo de Tinción de Nissl	57
5.5.2.Cuantificación celular por área	57
5.6. Análisis Estadístico	58
5.6.1.Pruebas Conductuales	58
5.6.2.Morfología Neuronal	58
5.6.3.Cuantificación celular por área	58
VI. RESULTADOS	58
6.1 GRUPOS EXPERIMENTALES	58
6.1.1 Parámetros Zoométricos	58
6.1.2 Comparación de pesos.....	59
6.1.3 Curva de Tolerancia a la Glucosa	60
6.2 ACTIVIDAD MOTORA	61
6.2.1 Distancia Total.....	61
6.2.2 Velocidad.....	63
6.2.3 Distancia recorrida en el centro vs periferia.....	63
6.3 RECONOCIMIENTO DE OBJETOS NOVEDOSOS (NOR).....	64
6.4. MORFOLOGÍA NEURONAL	65
6.4.1.Hipocampo	65
6.4.2.Corteza Prefrontal	69
6.5. CUANTIFICACIÓN CELULAR POR ÁREA.....	71
6.5.1.Hipocampo	71
6.5.2.Corteza Prefrontal	72
VII. DISCUSIÓN.....	73

7.1. Subdivisión de la condición obesa: Normo-glucemia e hiperglucemia.....	73
7.2. Actividad Motora: más allá de la condición obesa.....	74
7.3. Déficit en la memoria a largo plazo	78
VIII. CONCLUSIONES.....	83
IX. PERSPECTIVAS A FUTURO.....	83
X. REFERENCIAS	84

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ADA – Asociación Americana de Diabetes

AGEs – Advanced Glycation End Products / Productos finales de glicación avanzada

AKT – Protein Kinase B (PKB) / Proteína Cinasa B

AMPK – Proteína Cinasa dependiente de AMP

BDNF – Brain-Derived Neurotrophic Factor / Factor Neurotrófico Derivado del Cerebro

BHE – Barrera Hematoencefálica

CA – Cuerno de Amón

cAMP – AMP cíclico

CCA – Corteza Cingulada Anterior

CE – Corteza Entorhinal

Cg1 – Corteza cingulada 1

COF – Corteza Orbitofrontal

CPF – Corteza Prefrontal

CPoRh – Corteza postrhinal

CPrRh – Corteza perirhinal

CRP – C-Reactive Protein / Proteína C reactiva

CTE – Cadena Transportadora de Electrones

DT1 – Diabetes Tipo 1

DT2 – Diabetes Tipo 2

FPG – Fasting Plasma Glucose / Glucosa Plasmática en Ayunas

GD – Giro Dentado

GP – Globo Pálido

GPx – Glutation Peroxidasa

HbA1c – Hemoglobina glicosilada

HDL-C – High-Density Lipoprotein Cholesterol / Colesterol de lipoproteínas de alta densidad

HOMA-IR – Homeostatic model assessment, Insulin Resistance (representa las siglas en inglés del modelo homeostático para evaluar la resistencia a la insulina)

hs-CRP – High-Sensitivity C-Reactive Protein / Proteína C reactiva altamente sensible

IDF – International Diabetes Federation / Federación Internacional de Diabetes

IKK – I κ B Kinase / Cinasa del Inhibitor del factor- κ B

IL – Corteza Infralímbica

IL – Interleucina

IMC – Índice de masa corporal

IRS-1 – Insulin Receptor Substrate-1 / Sustrato del Receptor de Insulina-1

JNK – Quinasas Jun N-terminales

LMT – Lóbulo Medio Temporal

LTM – Long Term Memory / Memoria de Largo Plazo

LTP – Long Term Potentiation / Potenciación de Largo Plazo

MAPK – Mitogen-Activated Protein Kinase / Proteína Cinasa Activada por Mitógenos

MGO – Metilglioxal

MHN – Metabolically Healthy Normal / (pacientes con IMC) Normales Metabólicamente Sanos

MHO – Metabolically Healthy Obese / Obesos Metabólicamente Sanos

mTOR – Mammalian Target Of Rapamycin / Diana de Rapamicina en células de mamífero

MUN – Metabolically Unhealthy Normal / (pacientes con IMC) Normales Metabólicamente No Sanos

MUO – Metabolically Unhealthy Obese / Obesos Metabólicamente No Sanos

NF- κ B – Factor Nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas

NOR – Novel Object Recognition / Reconocimiento de objetos novedosos

Nrf2 – Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 / Factor 2 relacionado al Factor Nuclear Eritroide 2

NuRe – Núcleo Reuniens

OGTT – Oral Glucose Tolerance Test / Prueba Oral de Tolerancia Glucosa

OZDF HiG – Obese ZDF Hyperglycemic / ZDF Obesa Hiperglucémica
OZDF NG – Obese ZDF Normoglycemic / ZDF Obesa Normoglucémica
PFA – Paraformaldehído
PI3K – Phosphatidylinositol 3-Kinase / Fosfatidilinositol-3–cinasa.
PKC – Proteína Quinasa C
Pr – Corteza Prelímbica
RI – Receptor de Insulina
RNS – Reactive Nitrogen Species / Especies Reactivas de Nitrógeno
ROS – Reactive Oxygen Species / Especies Reactivas de Oxígeno
SNC – Sistema Nervioso Central
SOCS3 – Proteína 3 Supresora de la Señalización de Citocinas
SOD – Superóxido Dismutasa
STM – Short Term Memory / Memoria de Corto Plazo
STZ – Streptozotocin / Estreptozotocina
TGF- β – Factor de crecimiento transformador-beta
TNF- α – Factor de Necrosis Tumoral Alfa
TrkB – Receptor quinasa B de tropomiosina
TSC1/2 – Tuberous Sclerosis protein 1 and 2 / Proteínas de Esclerosis Tuberosa 1 y 2
VTA – Área Ventral Tegmental
WM – Working Memory / Memoria de Trabajo
ZDF – Zucker Diabetic Fatty
ZF – Zucker fatty

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Parámetros para el diagnóstico de DT2.....	15
Tabla 2. Complicaciones en la enfermedad de DT2.	26
Tabla 3. Otros mecanismos de inhibición de glucogenólisis hepática	29
Tabla 4. Distinción de las áreas implicadas en los diferentes componentes de la memoria de reconocimiento.	37
Tabla 5. Resumen del involucramiento de distintos componentes del sistema de memoria hipocampal y sus conexiones a la CPF.....	42
Tabla 6. Modelos experimentales de murinos para el estudio de la DT2	45
Tabla 7. Parámetros registrados en el análisis de Sholl.	56
Tabla 8. Parámetros para el conteo celular por área.....	57
Tabla 9. Datos zoométricos de los grupos experimentales.....	59
Tabla 10. Comparación de la cepa ZDF con pacientes humanos	74

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Organización celular de las células pancreáticas.....	18
Figura 2. Vía de señalización de la insulina y sus funciones.....	19
Figura 3. Comparación de tejido adiposo sano e hipertrófico (enfermo)	20
Figura 4. Vía de la insulina alterada en la Diabetes Tipo 2	21
Figura 5. Patofisiología de la Diabetes Tipo 2	25
Figura 6. Modelo de procesamiento de información.....	31
Figura 7. Clasificación de los diferentes sistemas de memoria y sus regiones cerebrales asociadas	32
Figura 8. Representación del flujo de información hacia el hipocampo (Izq). Estructuras del sistema hipocampal medial temporal (Der)	34
Figura 9. Circuito trisnáptico hipocampal.....	35
Figura 10. Función de índice del hipocampo.....	36
Figura 11. Estructura de la CPF en un corte sagital de cerebro humano	38
Figura 12. La CPF de la rata.	39
Figura 13. Interacción entre el Hipocampo y la CPF en un cerebro de rata	41
Figura 14. Vías prefrontales-hipocampales directas e indirectas	42
Figura 15. Representación del trazado de neuronas utilizando una cámara lúcida.	55
Figura 16. Representación de la plantilla de círculos concéntricos utilizados para el análisis de Sholl	56
Figura 17. Comparación de pesos entre los 3 grupos experimentales.....	60
Figura 18. Comparación de la curva de tolerancia a la glucosa	61
Figura 19. Comparación de distancia total recorrida	62
Figura 20. Comparación de velocidades y tiempos totales de movimiento de los 3 grupos experimentales	63
Figura 21. Comparación de distancia total recorrida en periferia vs centro	64
Figura 22. Gráfica de índices de reconocimiento en la prueba NOR.	65
Figura 23. Análisis morfológico de Hipocampo: CA1.	66
Figura 24. Análisis morfológico de Hipocampo: GD	68
Figura 25. Análisis morfológico de CPF.	70
Figura 26. Comparación del conteo celular en la región CA1.	71
Figura 27. Comparación del conteo celular en la región GD.....	72
Figura 28. Comparación del conteo celular en la región Cg1	73
Figura 29. Conexiones entre Hipocampo y Corteza Prefrontal asociadas a los ganglios basales.....	77

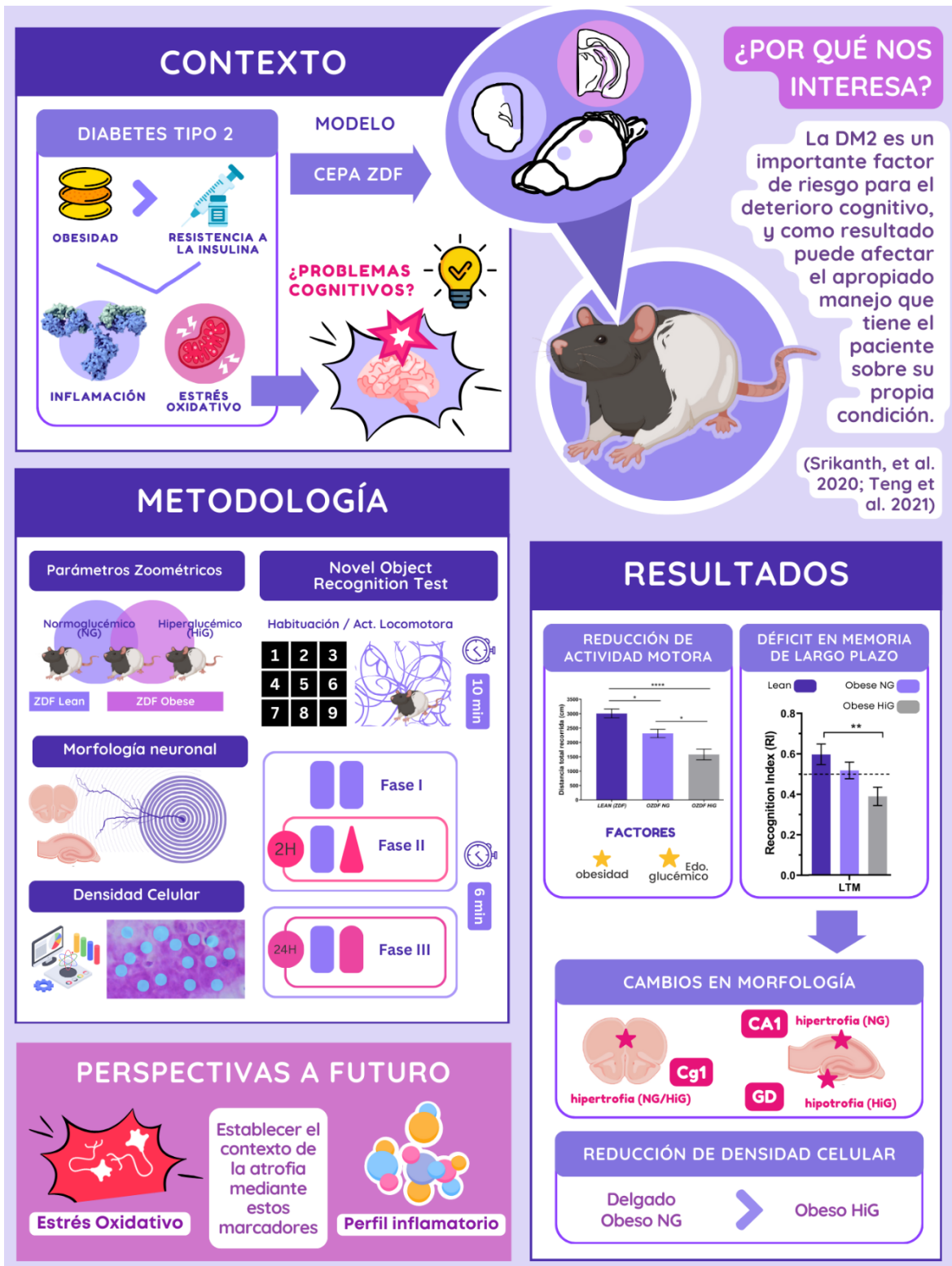
RESUMEN

La diabetes tipo 2 (DT2) es un trastorno metabólico crónico multifactorial caracterizado por una condición hiperglucémica resultado de alteraciones asociadas a la insulina. Se ha reportado una mayor incidencia de declive cognitivo, así como atrofia cortical y subcortical en la población diabética; incluso, se sugiere como factor de riesgo para enfermedades como el Alzheimer y otras demencias. Siendo que la DT2 afecta ~6.3% de la población global, y es la 2ª causa de muerte en México, la relevancia de su estudio es indiscutible. Así pues, el objetivo del presente trabajo fue la evaluación de la memoria y conducta de actividad motora, así como la caracterización de sus regiones cerebrales asociadas, en la cepa ZDF. En este estudio se evaluó memoria a corto y largo plazo mediante la prueba de reconocimiento de objetos novedosos (NOR), utilizando la fase de habituación para la valoración motora en términos de distancia y velocidad. Respecto al tejido cerebral, se realizó tinción de Nissl y posteriormente se llevó a cabo la cuantificación celular por área en las regiones de Hipocampo (CA1 y Giro Dentado) y Corteza Prefrontal. Los resultados evidencian una afectación en la memoria de largo plazo, así como una tendencia a la disminución de la población neuronal en las tres regiones cuantificadas, comparados con el control. Esta atrofia es consistente con el daño en la memoria de largo plazo, sin embargo, los mecanismos de estos cambios aún deben ser explorados a diferentes niveles para evidenciar su asociación a la condición metabólica de la cepa.

ABSTRACT

Type 2 diabetes (T2D) is a chronic multifactorial metabolic disorder characterised by a hyperglycaemic condition resulting from insulin-associated disturbances. An increased incidence of cognitive decline, as well as cortical and subcortical atrophy, has been reported in the diabetic population and is even suggested as a risk factor for diseases such as Alzheimer's and other dementias. Given that TD2 affects ~6.3% of the global population, and is the 2nd leading cause of death in Mexico, the relevance of its study is indisputable. Thus, the aim of the present work was the evaluation of memory and motor activity behaviour, as well as the characterisation of its associated brain regions, in the ZDF strain. In this study, short- and long-term memory were assessed by the novel object recognition test (NORT), using the habituation phase for motor assessment in terms of distance and speed. Regarding brain tissue, Nissl staining was performed and cell quantification by area was carried out in the Hippocampus (CA1 and DG) and Prefrontal Cortex regions. The results showed an atrophy in long-term memory, as well as a tendency to a decrease in the neuronal population in the three regions quantified, compared to the control. This atrophy is consistent with long-term memory impairment, however, the mechanisms of these changes have yet to be explored at different levels to elucidate their association with the metabolic condition of the strain.

VISUAL ABSTRACT



I. INTRODUCCIÓN

1.1 DIABETES MELLITUS

1.1.1. Generalidades

La diabetes es un trastorno metabólico crónico en el cual existe una alteración de la secreción de insulina y grados variables de resistencia periférica a ésta que conducen a la hiperglucemia (Brutsaert, 2022). Este desorden metabólico de etiología multifactorial se caracteriza además por una perturbación en el metabolismo tanto de carbohidratos, grasas y proteínas debido a las alteraciones mencionadas (Reed, Bain, & Kanamarlapudi, 2021). Se distinguen dos grandes categorías de acuerdo con el conjunto de características de presentación de la enfermedad, siendo las descripciones con base en la edad de inicio o esquema de tratamiento clasificaciones obsoletas. Así pues, la enfermedad se clasifica en diabetes tipo 1 (DT1) y diabetes tipo 2 (DT2). La DT1 se define por una ausencia de producción de insulina debido a la destrucción autoinmune de las células beta pancreáticas; en contraste, la DT2 se describe como *“una agrupación de trastornos caracterizados por grados variables de resistencia a la insulina, menor secreción de dicha hormona y una mayor producción de glucosa hepática”* (Powers, Niswender, & Evans-Molina, 2018).

Cabe resaltar que existen, y comienzan a ser reconocidos, otros tipos adicionales de diabetes de acuerdo con su etiología (ElSayed, *et al.* 2022). Ejemplo de estos son (1) la diabetes gestacional y otros tipos específicos que son consecuencia de: (2) defectos genéticos relacionados a la función o desarrollo de las células beta pancreáticas, (3) defectos genéticos relacionados a la función y acción de la insulina, (4) trastornos mitocondriales, (5) endocrinopatías, (6) condiciones que afectan al páncreas, entre otros.

1.2 DIABETES TIPO 2

1.2.1. Cuadro Clínico y Diagnóstico

La presentación común de la diabetes es una condición de hiperglucemia. Ambos tipos presentan un periodo preliminar en el que existe una ligera hiperglucemia, donde se evidencia una alteración en las concentraciones de glucosa plasmática y tolerancia a esta. Debido a la condición de hiperglucemia, el paciente diabético también presenta síntomas como glucosuria, que es la excreción de glucosa en la orina. En consecuencia, se presenta una diuresis osmótica que conlleva a polaquiuria (necesidad de orinar con frecuencia en volúmenes menores a lo normal), poliuria (producción anormal de gran cantidad de orina) y polidipsia (sed intensa) (Powers, Niswender, & Evans-Molina, 2018).

Estos síntomas pueden complicarse en una condición de deshidratación. Adicionalmente, la hiperglucemia es un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedad cardiovascular y complicaciones microvasculares en el paciente.

El diagnóstico de DT2 se basa en la presencia de la sintomatología descrita, acompañada de un conjunto de análisis clínicos donde se evalúan los niveles de glucosa en sangre. De forma rutinaria se utilizan 3 tipos de análisis para analizar la tolerancia a la glucosa: glucosa plasmática en ayunas (FPG, *Fasting Plasma Glucose*), la respuesta a una carga oral de glucosa (OGTT, *Oral Glucose Tolerance Test*), y prueba de la hemoglobina glicosilada (HbA1c). Aunque, esta última no es recomendada por la Secretaría de Salud (2021) como prueba única o como sustitución a las otras, puesto que debido a su costo no está estandarizada en nuestro país.

Adicionalmente también se puede realizar una prueba aleatoria de glucosa plasmática. A continuación, en la tabla 1, se comparan los valores normales y los valores para diagnóstico en cada uno de ellos.

Tabla 1. Parámetros para el diagnóstico de DT2. Fuente: American Diabetes Association, ADA. (2023); World Health Organization, WHO. (2020); Secretaría de Salud, SS. (2021).

Parámetro evaluado	Valores normales	Valores considerados prediabéticos	Valores para diagnóstico de DM
Concentración glucémica plasmática al azar (sin considerar el tiempo de la última ingesta de alimento)	< 140 mg/dL	-	Sintomatología diabética junto a una concentración glucémica \geq 200 mg/dL
Glucosa plasmática en ayunas (FPG)	< 100 mg/dL	100 - 125 mg/dL	\geq 126 mg/dL
Hemoglobina A _{1c}	< 5.7%	5.7 - 6.4%	\geq 6.5% (140 mg/dL)
Glucosa plasmática a las 2 h (durante una prueba oral de tolerancia a la glucosa, OGTT)	< 140 mg/dL	140 - 199 mg/dL	\geq 200 mg/dL

Es relevante mencionar que en la detección y el diagnóstico suele enfatizarse a las pruebas de FPG y la HbA_{1c}, debido a que son útiles incluso en pacientes asintomáticos; en contraste, la OGTT no es usada con frecuencia, sin embargo, se aplica en casos de embarazo para la detección de diabetes gestacional (Powers, Niswender, & Evans-Molina, 2018). Adicionalmente, hoy en día se realizan otros análisis, como la medición de niveles de Proteína C reactiva (CRP) o CRP altamente sensible (hs-CRP), así como

perfiles de lípidos en sangre para establecer el perfil metabólico del paciente y confirmar el diagnóstico (Randeria, *et al.* 2019). En efecto, la medición de niveles de CRP y perfiles lipídicos han demostrado ser buenos indicadores del futuro desarrollo de DT2 incluso en pacientes que no presentan obesidad (Esser, *et al.* 2014); particularmente, niveles elevados de hs-CRP están asociados con el desarrollo de DT2 más adelante en la vida del paciente (Pradhan, *et al.* 2001).

1.2.2. Etiología y Factores de riesgo

Si bien la etiología de la DT2 puede resumirse como resistencia a la insulina predominante con déficit relativo y defecto secretor de insulina (Powers, Niswender, & Evans-Molina, 2018), puntualmente las causas se deben a una interacción compleja entre una predisposición genética y fuertes factores ambientales (Javeed, & Matveyenko, 2018), particularmente una vida sedentaria e ingesta de dieta hipercalórica.

La probabilidad del desarrollo de DT2, se ve afectada además por una serie de factores de riesgo. De acuerdo con las pautas de práctica clínica para la DT2 de la Asociación Americana de Endocrinólogos Clínicos y Colegio Americano de Endocrinología (Handelsman *et al.*, 2015), se describen para un estado prediabético y de DT2 los siguientes factores:

- Sobrepeso u obesidad: Se conoce que la obesidad puede incrementar por 90 el riesgo de padecer DT2 y la mayoría de los pacientes presentan obesidad o sobrepeso (este riesgo también se encuentra asociado al incremento de depósitos de grasa ectópica) (Reed, Bain, & Kanamarlapudi, 2021).
- Colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL-C) <35 mg/dL y/o un nivel de triglicéridos > 250 mg/dL.
- Estilo de vida sedentario.
- Índice de masa corporal (IMC) > 30.
- Edad ≥ 45 años sin otros factores de riesgo. No obstante, la Asociación Americana de Diabetes (ADA) (2022) recomienda que análisis preventivos y de detección debe comenzar a los 35 años.
- Enfermedad cardiovascular o antecedentes familiares de DT2.
- Miembro de un grupo étnico en riesgo: asiático, afroamericano, hispano, nativo americano o isleños del Pacífico.

Otros factores están relacionados a condiciones preexistentes en el paciente, e.g. síndrome de ovario poliquístico, hígado graso no alcohólico, antecedentes de diabetes gestacional; o la exposición a ciertos tratamientos farmacológicos, e.g. terapia antipsicótica para la esquizofrenia y/o la enfermedad bipolar grave, y exposición crónica a glucocorticoides.

No obstante, de los factores de riesgo mencionados, aquellos relacionados al Síndrome Metabólico pueden ser los más relevantes, al menos para el estudio presente. El síndrome metabólico es un conjunto de factores de riesgo que incrementan la probabilidad del paciente de desarrollar DT2 y/o enfermedad cardiovascular. El impacto de la intersección de obesidad abdominal, presión arterial alta, niveles altos de triglicéridos y alteración de la glucosa en sangre en ayunas no puede pasarse por alto al hablar de DT2 debido a los porcentajes de comorbilidad entre ésta y condiciones cardiovasculares y de obesidad.

Particularmente con respecto a la condición de obesidad, cabe resaltar que se reporta que entre 80-90% de los pacientes con DT2 la padecen (Daousi *et al.* 2006; Nianogo, & Arah, 2022). En México, de acuerdo con datos de Basto-Abreu, *et al.* (2019), las personas con sobrepeso y obesidad tienen 51% y 2.2 veces más prevalencia de diabetes, respectivamente. A pesar de lo anterior, es importante distinguir que esta relación no es bilateral. Si bien la obesidad está directamente correlacionada a hiperinsulinemia y resistencia periférica a ésta, además de un incremento en la probabilidad de padecer DT2, no todos los pacientes con obesidad desarrollan DT2. Aunque aún se debate, cada vez existen más publicaciones que explican este fenómeno al diferenciar entre grupos obesos metabólicamente normales (sanos) y anormales (no sanos), en el que el grupo metabólicamente sano presenta valores dentro de los parámetros adecuado en análisis metabólicos (Treviño, *et al.* 2022), incluso después de la ganancia de peso (Fabbrini, *et al.* 2015), en comparación con su contraparte no sana.

1.2.3. Fisiopatología de la enfermedad

La fisiopatología de la DT2 está caracterizada por dos anomalías fisiológicas: (1) la resistencia a la insulina en tejidos, y (2) disfunción en las células β -pancreáticas, que incluye el mal funcionamiento, así como consecuente pérdida progresiva de masa; aunque recientemente se ha incluido a un estado inflamatorio crónico dentro de las características fisiopatológicas. La resistencia a la insulina está asociada tanto al mal funcionamiento de las células β -pancreáticas como a la incapacidad de respuesta de tejidos sensibles a ésta: músculo, hígado, tejido adiposo y tejido óseo (Galicia-García, *et al.* 2020; Banday, Sameer, & Nissar, 2020). En resumen, en la DT2 existe una disfunción en la retroalimentación de la vía de acción y secreción de la insulina en la que se implica la resistencia de los tejidos periféricos del cuerpo a los efectos de esta.

En las etapas iniciales de la enfermedad, se presentan altos niveles de insulina (hiperinsulinemia) como una medida compensatoria para mantener los niveles glucémicos en niveles adecuados. Lo anterior se debe a una reducida sensibilidad a la insulina, lo que provoca la hiperactividad de las células beta. No obstante, la incrementada y constante secreción de insulina no es capaz de mantener niveles

glucémicos normales y, a su vez, propicia el atrofiamiento de las células β -pancreáticas. De esta forma, finalmente se alcanza el estado hiperglucémico característico en la DT2. Adicional a una condición hiperglucémica, las 2 alteraciones fisiológicas discutidas resultan en dislipidemia, disfunción en la captación de aminoácidos y producción de ATP, así como un incremento de producción de glucagón (Reed, Bain, & Kanamarlapudi, 2021).

Las células β -pancreáticas (Fig. 1) son células endócrinas, las cuales se encuentran en los islotes de Langerhans y representan el 60–75% de las células en ellos (Barrett, *et al.*, 2020). Estas son responsables de la síntesis, almacenamiento y liberación de insulina. Bajo condiciones normales, las células β son principalmente estimuladas por la concentración de glucosa (aunque algunos aminoácidos y ácidos grasos pueden también estimular su secreción). En la vía de secreción estimulada por glucosa, ésta entra mediante los transportadores GLUT (1-humanos, 2-roedores), es fosforilada y experimenta la glucólisis; este aumento en la proporción ATP:ADP inhibe a los canales de K^+ sensibles a ATP, llevando a una despolarización membranaral, que al llegar a -55 mV activa a los canales de Na^+ y Ca^{2+} (Rorsman, & Ashcroft, 2018; Kurauti, *et al.* 2021). Este flujo de Ca^{2+} es clave para la exocitosis de gránulos de insulina (Trexler, & Taraska, 2017).

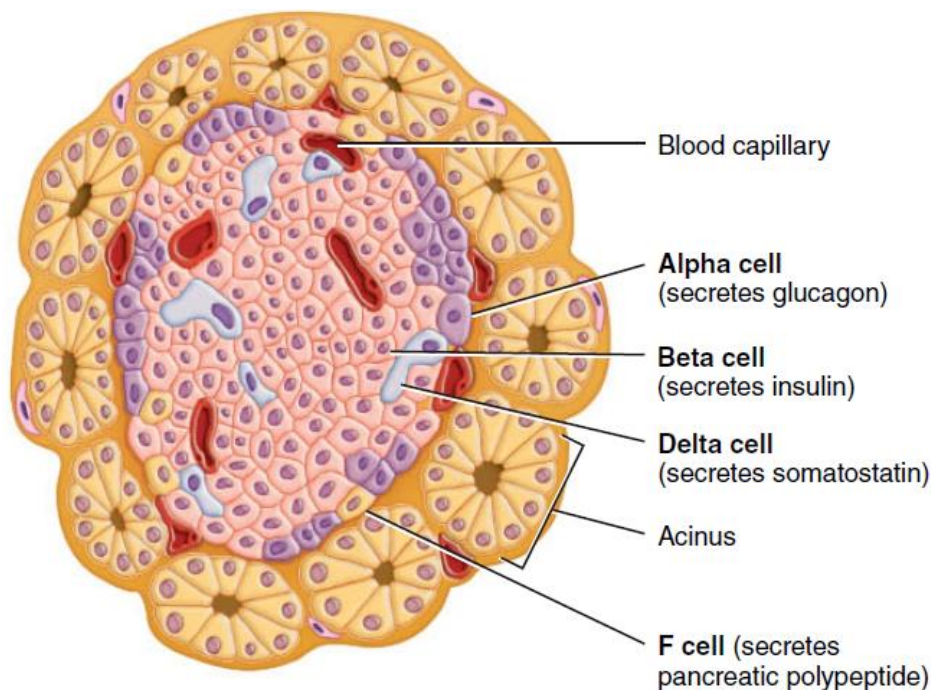


Figura 1. Organización celular de las células pancreáticas. Fuente: Tortora, & Derrickson (2017).

Posteriormente la acción de la insulina dependerá de 2 factores principales: (1) niveles circulantes -controlados por la secreción previamente descrita-, y (2) la sensibilidad de los tejidos -dependiente de la vía de señalización de la insulina en el tejido-. La vía de

señalización de la insulina regula no sólo el metabolismo de la glucosa, sino también el metabolismo lipídico, síntesis proteica, proliferación y diferenciación celular, e incluso apoptosis (Di Camillo, *et al.* 2016). Ésta comienza con la unión de ésta a su receptor (Fig. 2) y culmina en 3 cascadas diferentes: (1) PI3K-AKT, (2) TSC1/2-mTOR -involucrada en síntesis proteica- y (3) RAS-MAPK -involucrada en eventos de supervivencia celular-. La vía de PI3K-AKT es la responsable del efecto metabólico de la insulina al propiciar la translocación de los transportadores de glucosa GLUT4 hacia la membrana, permitiendo la captura de glucosa en tejidos como hígado, músculo y tejido adiposo.

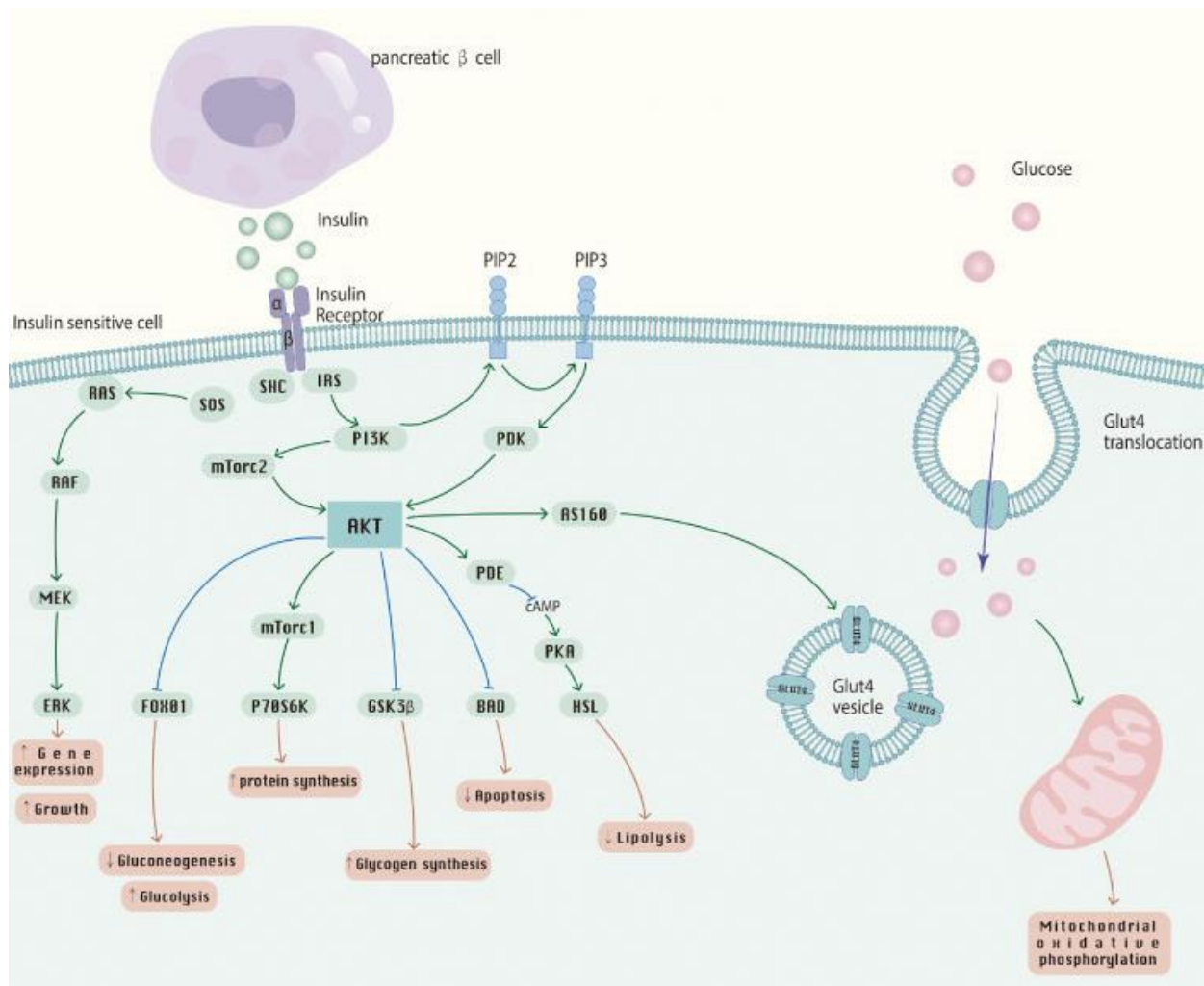
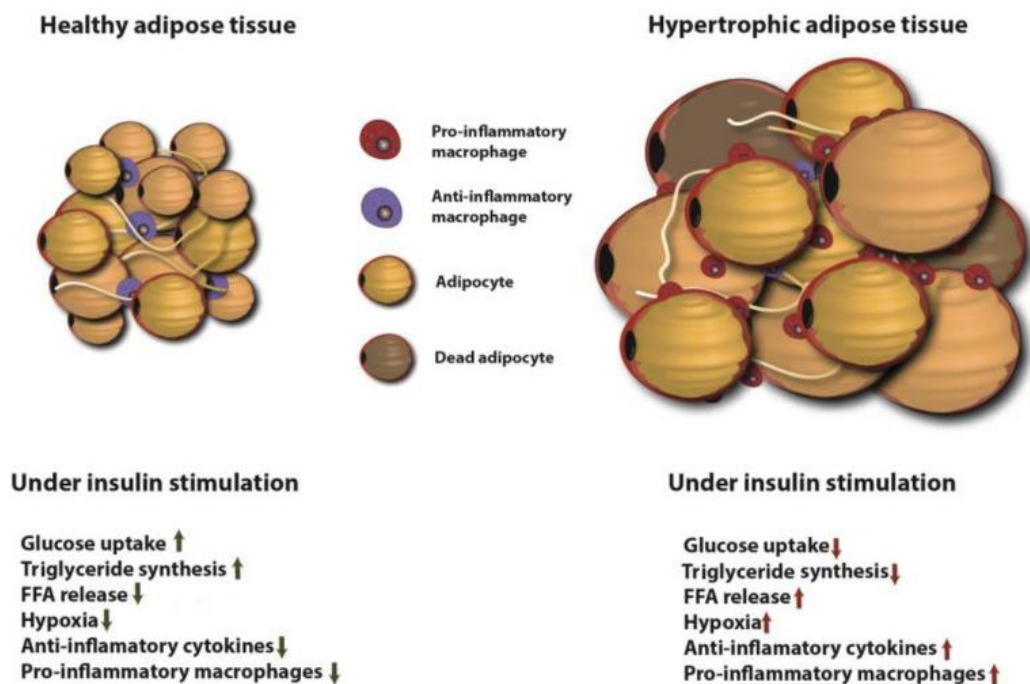


Figura 2. Vía de señalización de la insulina y sus funciones. Fuente: Zhao, *et al.* (2023).

Previo a la manifestación de la DT2 existe una fase pre-diabética causada por un estado de sobrenutrición. La condición se caracteriza por un incremento en los niveles glucémicos y un declive progresivo en la función de las células β (aunque no a un grado

suficiente para justificar el diagnóstico de la DT2). Así pues, la DT2 es causada, en un inicio, por la manifestación de resistencia insulínica en los tejidos periféricos, la cual es usualmente el resultado de obesidad. La obesidad no es la única responsable de la resistencia a la insulina, éste puede ser producto de factores genéticos (e.g. genes que afectan la estructura de la insulina o sus receptores) como ambientales, no obstante, la que precede a la DT2 es usualmente por factores modificables. Durante largo tiempo se ha planteado que la RI inducida por obesidad se debe a la acumulación del tejido adiposo y el agrandamiento de los adipocitos, que a su vez propicia la muerte de los propios adipocitos por falta de oxígeno. Así, el tejido adiposo se vuelve una fuente de citocinas proinflamatorias, ácidos grasos libres y estrés oxidativo (Fig. 3). Por ejemplo, Ahmed, Sultana, & Greene (2021) discuten que el incremento de Factor de Necrosis Tumoral Alfa (TNF- α) promueve la actividad de moléculas como Cinasas del Inhibitor del factor- κ B (IKK), p38 MAPK, Quinasas Jun N-terminales (JNK) y la Proteína Quinasa C (PKC), las cuales atacan a los residuos de Serina del Receptor de Insulina (RI), impidiendo entonces la autofosforilación de los residuos de Tirosina, llevando a un malfuncionamiento del receptor.



*Figura 3. Comparación de tejido adiposo sano e hipertrófico (enfermo).
Fuente: Galicia-Garcia, et al. (2020).*

Adicionalmente, en la actualidad, ha ganado mayor relevancia la condición crónica inflamatoria y de estrés oxidativo como parte de la etiología de la enfermedad. En la literatura se ha reportado repetidamente que los pacientes con DT2 presentan niveles

elevados de citocinas proinflamatorias, en comparación con sujetos sanos. Dentro de este contexto se ha sugerido que la grasa abdominal visceral, la cual se manifiesta frecuentemente junto a la DT2, es la causante del incremento de estas moléculas proinflamatorias. Este proceso culmina en un estado inflamatorio crónico de bajo nivel, cuyo impacto en el paciente se ve reflejado en la disrupción en la respuesta a insulina- conocido como resistencia a la insulina- la cual es una de las manifestaciones clave de la DT2. Rohm, *et al.* (2022) exponen que la inflamación crónica de bajo grado en los islotes pancreáticos es un sello distintivo de la DT2, caracterizada por un mayor número de células inmunitarias innatas, citocinas y quimiocinas. Dicha inflamación puede ser relacionada a la obesidad que la mayoría de los casos acompaña a la DT2. Esser, *et al.* (2014) reportan que el tejido adiposo, hígado, músculo y páncreas son sitios de inflamación en presencia conjunta de diabetes y DT2. En la Fig. 4 se presentan las vías alteradas y sus consecuencias dentro de la señalización de la insulina.

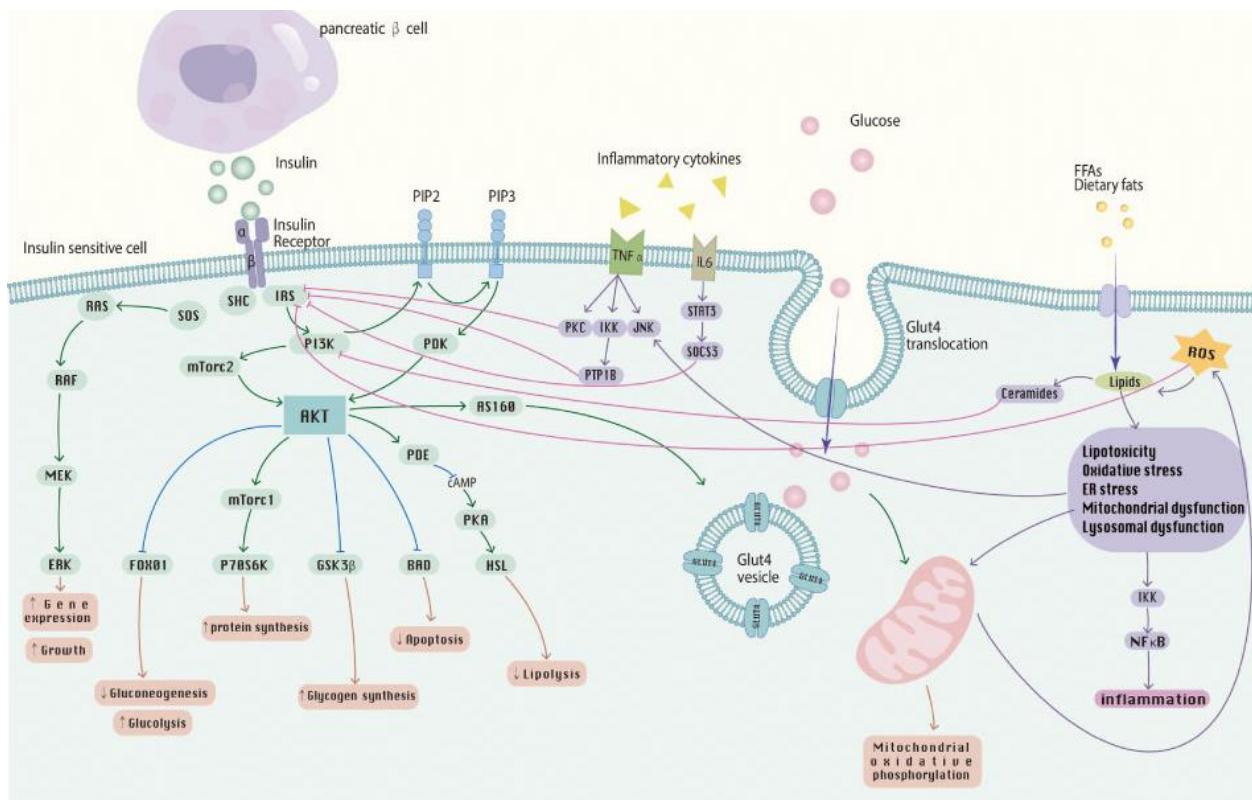


Figura 4. Vía de la insulina alterada en la Diabetes Tipo 2. Se presentan las vías afectadas en consecuencia a una resistencia insulínica y los efectos de éstas. Fuente: Zhao, *et al.* (2023).

Tsalamandris, *et al.* (2019) describen dos principales vías inflamatorias activadas en la obesidad y síndrome metabólico: JNK activadas por estrés y el factor de transcripción llamado factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NFκB), en conjunto con la producción de adipocinas, las cuales amplifican

esta respuesta inflamatoria de bajo grado. Así mismo señalan al tejido adiposo blanco visceral como el principal origen de biomarcadores como citocinas proinflamatorias (TNF- α , diversas interleucinas: IL-1 β , IL-6, IL-10, etc.) y adipocinas en la DT2. Rohm, *et al.* 2022 citan trabajos en los que se asocian a estas citocinas con la patogénesis de la DT2. Por ejemplo, el TNF- α conduce a la intolerancia a la glucosa en roedores, así como interviene en la señalización de la insulina (reduciendo sensibilidad a esta), la activación del inflammasoma debido a glucosa y ácidos grasos libres en sangre, la cual conlleva a la producción de IL-1 β , como un indicador de estrés oxidativo que a su vez también puede afectar el funcionamiento y masa de las células β -pancreáticas. Además, la inflamación de bajo grado también está implicada en el desarrollo de resistencia a la insulina, siendo que IL-1 β interviene en el funcionamiento de sustrato del receptor de insulina-1 (IRS-1) (Rehman, & Akash, 2016); IL-6 previene la fosforilación del receptor a insulina y del IRS-1 mediante la producción de la Proteína 3 Supresora de la Señalización de Citocinas (SOCS3) (Rehman, *et al.* 2017) que ha sido descrito como regulador negativo de la vía de señalización de la insulina en los principales tejidos sensibles a la insulina, como hepatocitos y adipocitos (Cao, Wang, & Wan, 2018); y TNF- α inhibiendo el receptor a insulina de adipocitos, reduciendo fosforilación y activación de IRS-1, consecuentemente disminuyendo la respuesta a insulina (Nieto-Vazquez, *et al.* 2008; Cruz, *et al.* 2013).

Interesantemente un estudio de 2019 también encontró evidencia de que es probable que los principales conductores inflamatorios sean defectos mitocondriales y derivados grasos más que la glucosa por sí misma (Nicholas, *et al.* 2019). Lo anterior más que contradecir la hipótesis de inflamación derivada por glucosa durante hiperglucemia, podría ser parte del propio empalme entre mecanismos de daño, pues de igual forma se ha reportado un incremento en marcadores de estrés oxidativo en pacientes con DT2 como resultado de hiperglucemia, resistencia a la insulina, hiperinsulinemia y dislipidemia (Folli, *et al.* 2011), y así, la disfunción mitocondrial podría verse como parte del ciclo de causantes de la patogénesis. De hecho, el estrés oxidativo inducido por hiperglucemia ha sido mencionado como un posible factor para el incremento en factores proinflamatorios, y en la DT2 también se ha reportado cambios en la membrana mitocondrial desencadenando en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Oguntibeju, 2019).

Sin embargo, esta relación entre el estado inflamatorio en la DT2 con la manifestación de obesidad no depende únicamente de la cantidad de tejido adiposo acumulado, ya que se tienen registros de la presencia de grupos obesos metabólicamente sanos. Aunque esta paradoja ha sido estudiada más extensivamente sólo bajo el contexto de obesidad, es posible que dichos grupos se extiendan a aquellos pacientes diabético-obesos. Ejemplo de ello es el estudio publicado por Treviño *et al.* (2022) en donde se evaluó el perfil inflamatorio en pacientes con COVID 19 relacionado a la salud metabólica.

Destacable son los resultados en pacientes negativos para SARS-CoV-2 clasificados como obesos y metabólicamente sanos (MHO) en comparación con aquellos también negativos para SARS-CoV-2 pero obesos y metabólicamente no sanos (MUO). Pacientes MHO presentaron niveles normales de HbA1c (5.1 ± 0.1 %) y glucosa en ayunas (84.4 ± 1.7 mg/dL) así como para Insulina en ayunas y HOMA-IR, indicando un estado de obesidad sin diabetes, es decir normoglucémico. Para el grupo MUO los valores de HbA1c (6.5 ± 0.1 %) y glucosa en ayunas (144.4 ± 1.5 mg/dL), así como para insulina en ayunas y valores HOMA-IR fueron elevados, sugiriendo una condición diabética (DT2) junto a la condición obesa. Si bien ambos grupos presentaron niveles elevados de citocinas proinflamatorias (TNF- α , MCP-1, IL-1 β , IL-6) con respecto al grupo metabólicamente sano y sin obesidad (MHN), entre el grupo MHO y MUO hay diferencias significativas, siendo el grupo MUO caracterizado por mayores concentraciones de las citocinas proinflamatorias mencionadas, así como una reducción en la producción de citocinas antiinflamatorias como IL-10. Lo anterior concuerda con el consenso de que la resistencia a la insulina se le atribuye la activación del tejido adiposo asociada con una mayor liberación de citoquinas inflamatorias como TNF- α , IL-6 y una producción decreciente de antiinflamatorias como IL-10 (Cruz, *et al.* 2013). En resumen, si bien el grupo MHO presenta inflamación, el grupo obeso y diabético presenta un perfil inflamatorio mucho más exacerbado.

Ahora bien, aunque la producción de radicales libres es, hasta cierto punto, normal debido a los procesos fisiológicos, una elevada producción de estos es causa y consecuencia de diversos problemas (i.e. estrés oxidativo). Se han reportado estudios en los que la condición hiperglucémica se correlaciona con el aumento de biomarcadores de estrés oxidativo tanto en humanos como en roedores (Oguntibeju, 2019). Se tiene bien caracterizado que el aumento en la producción de especies reactivas de Oxígeno y Nitrógeno (ROS y RNS) ocurre por la activación de 4 vías principales: (1) la vía de la proteína quinasa C (PKC), (2) producción de productos finales de glicación avanzada (AGEs), (3) autoxidación de la glucosa e (4) hiperactivación de la vía de la hexosima (King, & Loeken, 2004; Bhatti *et al.*, 2022; Oguntibeju, 2019). Además, se sabe de la reducción de la expresión de enzimas antioxidantes como la Superóxido Dismutasa (SOD) o la Glutacion Peroxidasa (GPx) a nivel periférico (Ganjifrockwala, Joseph, & George, 2017), así como en zonas relevantes a la memoria como el hipocampo (Rababa'h, *et al.* 2019). Como resultado, el estrés oxidativo tiene tres consecuencias diferentes: (1) modificaciones proteicas, (2) peroxidación de lípidos, y (3) daño al DNA, cuyo impacto en la patofisiología y/o complicaciones se explica a continuación.

El aumento de ROS y RNS se ha visto implicado en la señalización de insulina, y el desarrollo de resistencia a esta. El estrés oxidativo por glucotoxicidad se ha implicado en la supresión de la transcripción del gen de insulina (Matsuoka, *et al.* 1997).

Debido a la condición de dislipidemia, abundan en la sangre altas concentraciones de lipoproteínas de baja densidad y triglicéridos, los cuales pueden sufrir lipoperoxidación. Diversos autores resaltan que el proceso de lipoperoxidación puede “sobrecargar” el sistema enzimático antioxidante (Shabalala *et al.*, 2022), empeorando la condición de estrés oxidativo. De esta forma, la lipoperoxidación se acompaña de una disminución en la actividad enzimática antioxidante.

Lo anterior cobra sentido al encontrar estudios que reportan una asociación entre (1) marcadores de peroxidación elevados junto con HbA1c elevada (Shawki, 2020), esta como indicador de “mal control” glucémico, a la disminución de la actividad de SOD (Gunawardena, *et al.* 2019; Vázquez-Silva *et al.* 2019). No obstante, de Souza Bastos, *et al.* (2016) reportaron que incluso en pacientes normoglucémicos, pero con dislipidemia, existe un incremento en la inflamación resultado de lipoperoxidación. Igualmente, la lipoperoxidación tiene un papel en la reducción de masa de células β y densidad de volumen celular (Shabalala *et al.*, 2022). Aunado a esto, el estrés oxidativo también tiene un impacto en el mantenimiento de la inflamación crónica. Rehman y Akash (2016) reportan que la producción de ROS también activa las vías previamente mencionadas, JNK y NF κ B, las cuales también se han visto disminuyen la captación de glucosa mediada por insulina por los tejidos y la señalización de insulina.

Finalmente, dentro del proceso patológico de DT2 también se ha reportado la disfunción progresiva de las células β , así como una disminución en la masa de celular de alrededor de 30-40%, la cual se cree que ocurre mediante apoptosis y autofagia desregulada (DeFronzo *et al.*, 2015). En un estudio de la patología pancreática en una cohorte de sujetos europeos, se ha reportado que la apoptosis por sí sola es insuficiente para explicar la profunda disfunción de las células beta; aunque otros mecanismos como la desdiferenciación de células beta también son citados como posible explicación a la reducción de la masa de éstas en la DT2 (White, Shaw, & Taylor, 2016). Pasquier *et al.* (2019), reportan un posible mecanismo mediante la vía de degradación de gránulos nacientes inducida por estrés (SINGD, por sus siglas en inglés). En esencia el estrés metabólico incrementa la degradación lisosomal independiente de macro autofagia de los gránulos de insulina en las células beta. Igualmente, se ha propuesto que la pérdida de masa se debe más bien a una reducción del número de células en vez del tamaño de células beta. Sasaki, *et al.* (2021) analizaron células beta de pacientes japoneses con y sin DT2, después de una pancreatectomía, y encontraron que tanto el tamaño de éstas, como el número era menor en los pacientes con DT2, corroborando que la disminución de masa en la DT2 se debe probablemente a la apoptosis inducida por los mecanismos previamente mencionados. Una diferente perspectiva es la que señalan Masharani y German (2019), en la que el malfuncionamiento de las células beta puede deberse a una predisposición genética, así como a un proceso concertado en el que la acumulación de grasa ectópica en los islotes y la inflamación local causada por adipocinas y citocinas

inflamatorias aceleren la pérdida de éstas. En un estado hipercalórico o de obesidad, el atrofiamiento de las células beta es producto de la resistencia a insulina e inflamación crónica resultantes; en este escenario, las células beta son sometidas a diferentes factores estresores ya mencionados como la inflamación, estrés de retículo endoplásmico (RE), estrés oxidativo, y estrés amiloide (Galicia-Garcia *et al.*, 2020). De igual forma, se propone que la apoptosis de las células beta sea consecuencia de la hiperglucemia por sí misma (glucotoxicidad), pues se tiene evidencia del declive en la función con el incremento de las concentraciones de glucosa en plasma, así como por incremento en ácidos grasos libre o “lipotoxicidad”, e incluso disfunción mitocondrial (Saisho, 2015; Khin, Lee, & Jun, 2023). En la Fig. 5 se muestra un resumen de todos los factores involucrados en la pérdida de células beta y la patogénesis de la enfermedad.

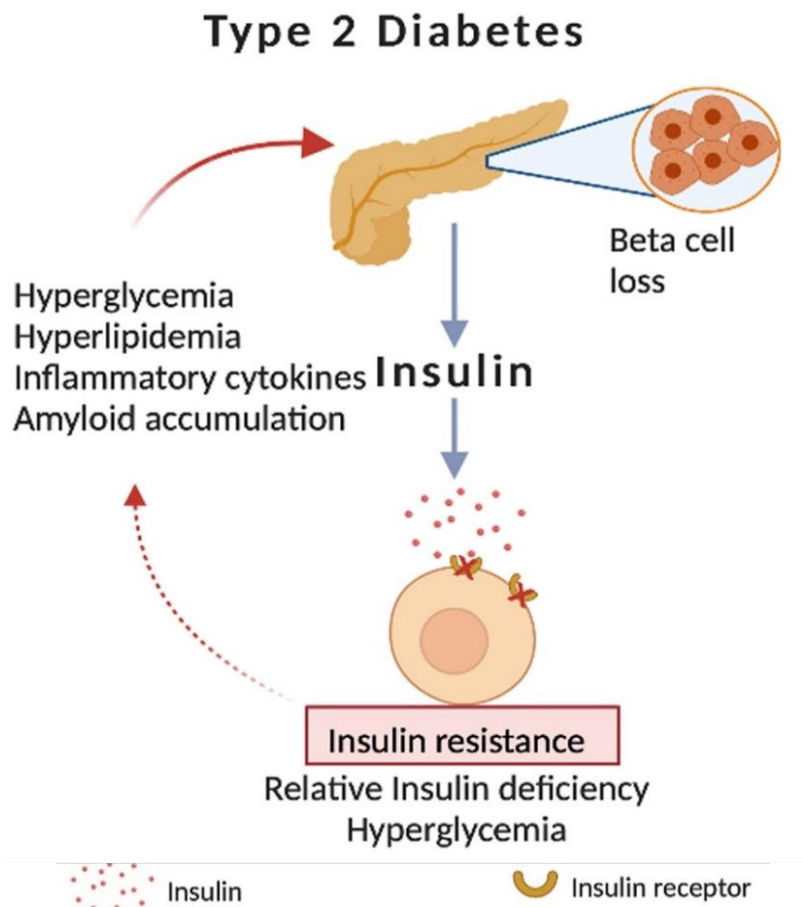


Figura 5. Patofisiología de la Diabetes Tipo 2.
 Fuente: Khin, P. P., Lee, J. H., & Jun, H.-S. (2023)

1.2.4. Complicaciones en la DT2

1.2.4.1. Generales

En pacientes diabéticos, las complicaciones de la enfermedad pueden propiciarse debido a un mal manejo y control de niveles glicémicos. Las principales complicaciones son enfermedad microvascular, cardiovascular, y disfunción de la respuesta inmune (Brutsaert, 2022; Goyal, & Jialal, 2022). La tabla 2 presenta un resumen de las complicaciones presentadas por pacientes con DT2.

Tabla 2. Complicaciones en la enfermedad de DT2.

Complicaciones crónicas microvasculares	Retinopatía	Microaneurismas en capilares de la retina (retinopatía de fondo), neovascularización (retinopatía proliferativa) y edema macular
	Nefropatía	Engrosamiento de la membrana basal glomerular, expansión mesangial y esclerosis glomerular; estos cambios provocan hipertensión glomerular y disminución progresiva de la tasa de filtración
	Neuropatía	Isquemia nerviosa debida a enfermedad microvascular, efectos directos de la hiperglucemia en las neuronas y cambios metabólicos intracelulares que deterioran la función nerviosa
	Lesiones de la piel	Deterioro de la curación; incluso lesiones menores en la integridad de la piel pueden convertirse en úlceras profundas que se infectan fácilmente, especialmente en las extremidades inferiores (e.g. pie diabético*) <i>*atribuible a enfermedad vascular, neuropatía e inmunosupresión relativa.</i>
Complicaciones crónicas macrovasculares		<ul style="list-style-type: none"> • Infarto de miocardio • Ataques isquémicos transitorios y cerebrovasculares • Enfermedad arterial coronaria (CAD) • Enfermedad arterial periférica (PAD) • Enfermedad cardiovascular (ECV)* <p><i>*DM es una de las principales causas de enfermedad cardiovascular</i></p>
Deficiencia inmune		Existe una mayor susceptibilidad a las infecciones bacterianas y fúngicas como resultado de una disfunción del sistema inmune debido a la hiperglucemia y deficiencia insulínica (Berbudi, <i>et al.</i> 2020).

El estrés oxidativo ha sido implicado como una posible vía detrás de las complicaciones tanto micro- como macrovasculares en la diabetes, siendo que la propia condición de hiperglucemia y el estado metabólico general del paciente diabético crean un ciclo vicioso incrementando la producción de ROS y RNS, así como una reducción en las enzimas antioxidantes. Así pues, el estrés oxidativo es tanto parte de la etiología como de las complicaciones.

Se ha sugerido que el estrés oxidativo por hiperglucemia es suficiente para desencadenar daño tisular. Por ejemplo, el incremento en la producción de AGEs ha sido vinculado con daño tisular al alterar función proteica y la matriz extracelular. Proteínas modificadas por AGEs pueden activar la vía del factor de transcripción NFκB. Activación de esta vía se ha relacionado con el desarrollo de neuropatía diabética (Bierhaus *et al.* 2004). También se ha implicado en la incidencia de retinopatía diabética mediante la alteración causada por ROS de la vasculatura retinal, así como activación del factor vascular endotelial de crecimiento (VEGF), la molécula de adhesión de células vasculares 1 (VCAM-1) y molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1) como consecuencia de la vía del NFκB (Bhatti, *et al.* 2022). En el caso de la cardiomiopatía diabética, el aumento de ROS activa vías de estrés oxidativo que desembocan en daño como oxidación proteica (afectando grosor de filamentos y, en consecuencia, capacidad de contracción), así como activación de la angiotensina-II y el factor de crecimiento transformador-beta (TGF-β), que puede desencadenar en fibrosis cardíaca. Este, y otros ejemplos que rebasan el propósito del presente trabajo, son indicadores de la relación entre el estrés oxidativo y las complicaciones diabéticas.

1.2.4.2. Procesos neurodegenerativos en la diabetes

Las complicaciones presentadas en pacientes con DT2 son de relevancia para el sistema nervioso central. Ejemplo de ello es el alto riesgo de sufrir complicaciones microvasculares, pues el daño a los vasos sanguíneos pequeños conlleva a complicaciones como neuropatía (DeFronzo, *et al.* 2015). En general existe evidencia neurofisiológica y de comportamiento que apunta a la presencia de perturbaciones cognitivas. De hecho, se le ha otorgado la denominación de encefalopatía diabética a las complicaciones en el sistema nervioso central consecuencia de la patofisiología y complicaciones de la DT2.

García-Serrano y Duarte (2020) plantean que la patofisiología de la DT2 afecta a la función cerebral a través de diversos mecanismos, entre los que se encuentran el daño vascular previamente mencionado, toxicidad por glucosa, alteraciones de la barrera hematoencefálica (BHE), disfunción mitocondrial, estrés oxidativo, resistencia a la insulina, falla sináptica, neuroinflamación y gliosis. Es de resaltar que los mecanismos descritos tienen un efecto en la cognición del paciente, sin embargo, los efectos específicos serán abordados posteriormente.

1.2.5. Tratamiento Farmacológico

El tratamiento de la DT2 se realiza bajo un plan de múltiples objetivos, en el cual se busca llevar los niveles glucémicos lo más cercano posible a valores normales (mediante hábitos de dieta y ejercicio, así como medicación), tratar cualquier trastorno asociado (e.g. dislipidemia y obesidad), así como evaluar constantemente en busca de detección de complicaciones asociadas, previamente mencionadas. Para los enfoques del presente trabajo, se describe un fármaco de tipo biguanida.

Las biguanidas son un grupo de fármacos de tipo oral, las cuales no aumentan las concentraciones de insulina plasmática y no provocan hipoglucemia grave, por lo que se consideran antihiperglucemiantes. De ellas, la metformina es el medicamento más representativo, el cual está derivado del compuesto de la Galegina de la planta *Galega officinalis*. La metformina es un medicamento administrado para el control glucémico en pacientes adultos que presentan DT2. El efecto que ejerce es principalmente el de inhibir la gluconeogénesis hepática, i.e. decrementa la producción de glucosa a nivel del hígado (LaMoia, & Shulman, 2020). Adicionalmente, disminuye la absorción de glucosa en el tracto gastrointestinal e incrementa la sensibilidad a insulina de las células diana mientras que aumenta la entrada de glucosa en tejidos periféricos, principalmente músculo (Rojas, & Gomes, 2013; LaMoia, & Shulman, 2020).

El mecanismo molecular que ejerce la metformina para inhibir la gluconeogénesis hepática continúa siendo debatido, sin embargo, el más estudiado es el de la inhibición del complejo I de la cadena transportadora de electrones (CTE). En resumen, la metformina ingresa a la célula a través del transportador de cationes orgánicos-1 (OCT1), y se acumula en la célula y membrana interna de la mitocondria debido a su carga positiva; posteriormente, al inhibir al Complejo I de la CTE se incrementa la relación ADP:ATP y AMP:ATP, llevando a la activación de la proteína cinasa dependiente de AMP (AMPK) que a su vez reduce la producción hepática de glucosa al contrarrestar la capacidad del glucagón para generar AMP cíclico (cAMP) en los hepatocitos, así como reducir la transcripción necesaria para la síntesis de enzimas gluconeogénicas (Rojas, & Gomes, 2013; Rena, Hardie, & Pearson, 2017; Powers, Niswender, & Rickels, 2018).

LaMoia y Shulman (2020) esclarecen que el debate respecto al mecanismo molecular es debido a la inconsistencia en las dosis utilizadas de metformina, i.e. el uso de concentraciones supra farmacológicas (milimolar) y, en consecuencia, su relevancia clínica. Adicionalmente, se han reportado mecanismos independientes de la inhibición del Complejo I o de la activación de la AMPK. En la tabla 3 se comparan otros mecanismos que resultan en la inhibición de gluconeogénesis hepática.

Tabla 3. Otros mecanismos de inhibición de glucogenólisis hepática. Información obtenida de Rena, Hardie y Pearson (2017), LaMoia y Shulman (2020).

Activación de AMPK	<ul style="list-style-type: none"> • Como consecuencia de Complejo I y cambio en proporciones de AMP/ATP y ADP/ATP • Activación mediante la vía lisosomal (necesita de Axina, MAPK y LAMTOR1) • Una vez activada, AMPK fosforila y activa a la Fosfodiesterasa 4B cAMP-específica (PDE4B), la cual reduce cAMP por otro mecanismo
Mecanismos independientes	<ul style="list-style-type: none"> • Aumento en la proporción AMP/ATP inhibe a la fructosa-1,6-bisfosfatasa, lo cual impide la gluconeogénesis, pues a su vez inhibe al adenilato ciclasa y en consecuencia se reduce producción de cAMP • Aumento del estado redox citosólico debido a la inhibición de GPD2. En consecuencia, hay una inhibición de gluconeogénesis a partir de sustratos redox dependientes (glicerol y lactato). Sin embargo, no es claro si la inhibición de GPD2 por metformina es directa o indirecta

1.3 MEMORIA Y DIABETES

1.3.1 Conceptos clave: Memoria

La memoria y el aprendizaje no son entidades tangibles, sino conceptos teóricos utilizados para explicar *cómo la experiencia afecta al comportamiento* (Rudy, 2014). La memoria puede entenderse como el conjunto de procesos que permite la recuperación de experiencias en un individuo, la cual involucra procesos de codificación (dividido en adquisición y consolidación). En contraste, el aprendizaje es el proceso por el cual dichas experiencias e información son adquiridas. Squire (1987) expresa que, si bien el aprendizaje es la adquisición de información, *la memoria es la persistencia del aprendizaje en un estado que puede recobrase en un periodo posterior*. Así pues, estas aseveraciones implican a la memoria como un proceso que dirige y da forma al comportamiento a través de la recuperación y manipulación de la información

Esta definición nos lleva a preguntarnos si toda la información se almacena y procesa de la misma manera ya que, incluso intuitivamente, podemos reconocer que no toda la información que adquirimos a lo largo de la vida es *“del mismo tipo”*: aprender a manejar no es igual que aprender conceptos de biología celular, y recordar la definición de célula no es igual a recordar nuestra infancia). Entonces, *¿cómo conceptualizamos a la memoria para su estudio?, ¿puede simplificarse a un simple proceso de adquisición y recuperación de información?, o bien como expresa Tulving (2007) “¿existen 256 tipos de memoria?”*.

A lo largo de los años se han demostrado, gracias a experimentos de lesiones en estructuras cerebrales, la existencia de redes neuronales “*particulares*” a ciertos tipos de tareas asociadas a la memoria. Estos llevaron al reconocimiento de distintos “sistemas” de memoria asociados a una estructura neural central cuyo procesamiento evidencia el tipo de memoria producido (Ferbinteanu, 2019). Aunque el debate y extensa explicación de estos sistemas de memoria y sus diversas clasificaciones exceden los objetivos de este trabajo, es importante no perder de vista que a pesar de la posibilidad de dividir en redes neurales funciones y tipos de memoria particulares, estos siguen siendo parte de un sistema dinámico (y no unidades aisladas). Así pues, se reconoce a la teoría de los “Sistemas múltiples de memoria”, la cual conceptualiza a la memoria como una red de sistemas que, si bien es independiente uno de otro, funciona en sincronización entre sí (Constantinou, 2019).

La memoria puede ser conceptualizada de acuerdo con el (1) tiempo en el que la información almacenada está disponible, es decir, el tiempo de retención: memoria de corto (STM, por sus siglas en inglés) y largo plazo (LTM, por sus siglas en inglés); y (2) a la naturaleza del procesamiento del recuerdo: memoria declarativa y no declarativa.

La memoria de corto plazo (STM) se refiere a la *retención de información en intervalos cortos de tiempo (segundos), la cual es de capacidad limitada* (Bouyeure, & Noulhiane, 2020). La STM hace referencia a una retención activa de información mediante diversos sistemas de memoria, en la cual el rastro de la información decae en pocos segundos a menos de que se realice una repetición continua de la misma (Vallar, 2017). Aunque se intercambia sin distinción el concepto de STM y memoria de trabajo (WM), es de resaltar que no son lo mismo. Aunque la WM también es de capacidad limitada y de poco tiempo de retención, la diferencia clave está en que la WM es un sistema que permite temporalmente mantener información disponible para su procesamiento. La memoria de trabajo implica la activación de representaciones de información almacenada en regiones corticales especializadas que varían según el contenido, así como la activación de mecanismos generales de control en la corteza prefrontal. Las señales de control prefrontal en la memoria de trabajo dependen además de la interacción con el cuerpo estriado y las entradas dopaminérgicas ascendentes del mesencéfalo (Kandel, 2021). En resumen, WM permite la manipulación de la información almacenada.

Si la información adquirida en STM es consolidada, esta puede pasar a la LTM. La LTM hace referencia a la retención de información a lo largo de la vida, y es teóricamente, de capacidad ilimitada (Bouyeure, & Noulhiane, 2020). Esta permite el almacenamiento de información durante un tiempo indefinido (horas a años). La Fig. 6 muestra una esquematización de la evolución de un estado a otro.

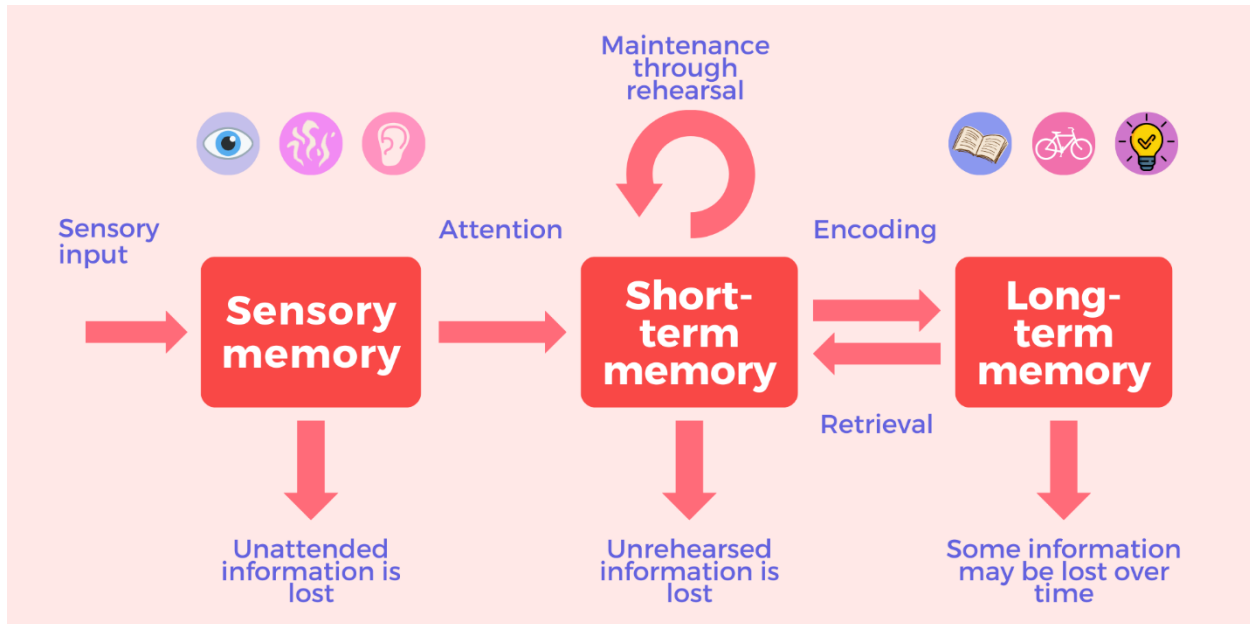


Figura 6. Modelo de procesamiento de información. Adaptado de Atkinson & Shiffrin (1968).

Ahora bien, el segundo parámetro de clasificación es “la naturaleza” del proceso de recuerdo. En términos más simples, el tipo de memoria Declarativa (también llamado Explícita) hace referencia a la información que se recuerda de manera intencional, es decir, que el *proceso de recordar* se hace conscientemente. Es relevante a este trabajo hacer la distinción de que si bien, el término de memoria declarativa es utilizado, el concepto también se aplica en especies no humanas que no hacen “*declaraciones*” (Byrne, 2017). Cabe resaltar que, si bien hablamos de “recuerdo consciente” en la memoria explícita/declarativa, un recuerdo dentro de la memoria episódica puede formarse independientemente de si es voluntario o no el aprendizaje. En otras palabras, el aprendizaje episódico puede suceder intencional o incidentalmente: depende de si estamos prestando atención o no (Gage, & Baars, 2018).

En contraste, la memoria No declarativa (o Implícita) se refiere a aquella en la que no hay recuerdo consciente, sino que *la experiencia lleva a la realización de una tarea/acción*, o lo que Ryle (1949) define el “*saber cómo*”. Aunque la revisión de cada uno de los diferentes tipos de memoria está fuera de los alcances y propósitos de este trabajo, en la Fig. 7 se presenta un resumen de ellas.

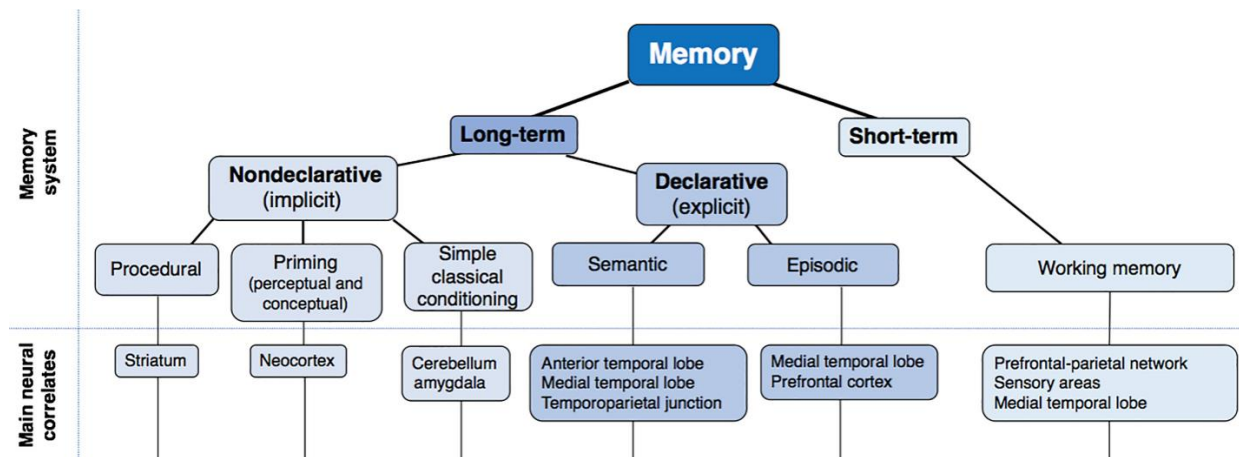


Figura 7. Clasificación de los diferentes sistemas de memoria y sus regiones cerebrales asociadas. Bouyeure, A., & Noulhiane, M. (2020).

De la clasificación anterior, lo que coloquialmente llamamos “*memoria*” se refiere a la **memoria declarativa (explícita)**. Dentro de ésta, encontramos a la memoria de tipo (1) semántica, la cual es la memoria “no contextual”, que involucra conocimientos generales como conceptos, hechos, categorías, etc.; y de tipo (2) episódica, la cual es aquella memoria contextual sobre eventos relacionados a un espacio y tiempo específico.

A pesar de que se ha argumentado que este tipo de memoria únicamente corresponde a funciones superiores humanas, también se ha evidenciado que los animales efectivamente recuerdan los contextos de los estímulos, y que estos procesos dependen de las mismas estructuras (análogas) que en los humanos (Camina, & Güell, 2017), en algo que se ha referido como “memoria similar a episódica”. Por ejemplo, Ergorul y Eichenbaum (2004) reportaron que ratas expuestas a un olor (qué) particular en un lugar específico (dónde) de un campo abierto eran capaces de integrar *cuándo* ocurrieron los eventos (orden de estímulos). Panoz-Brown, *et al.* (2016) reportaron resultados similares, en los que las ratas recuerdan olores y los contextos en los que éstos ocurrieron incluso después de un intervalo largo de retención. Bajo la definición de que la memoria episódica es una representación de un acontecimiento único que integra distintos tipos de información, ya sea factual (evento), perceptual (el qué), espacial (dónde), temporal (cuándo), cognitiva, etc. (Bouyeure, & Noulhiane, 2020), lo anterior supone cierta integración por parte del animal de información del estímulo por sí mismo, así como del contexto en el que se encontró. Finalmente, uno de los argumentos más convincentes es la observación de actividad del hipocampo (ondulaciones de onda aguda) durante el proceso de repetición de la memoria, que ha sido propuesto como esencial para la consolidación, y que ocurre durante el sueño (Atherton, Dupret, & Mellor, 2015). Slotnick (2017) resume que esta actividad ha sido demostrada también en periodos de vigilia no exploratorios, como al comer, beber, asearse o la vigilia tranquila; además de ser observada en otras zonas como una actividad sincrónica entre el hipocampo y las cortezas prefrontal, parietal, y la corteza sensorial visual, que son las mismas regiones

asociadas con la memoria episódica en los seres humanos. Este fenómeno se ha observado en diversos mamíferos, como ratones, murciélagos, conejos, gatos y monos (Buzsáki, 2015). Las observaciones presentadas apoyan la idea de una memoria *similar a la episódica* incluso en animales no humanos, al menos considerando a la memoria episódica no desde un punto antropocentrista, sino como “*la capacidad de comportarse de acuerdo con la recuperación de información sobre lo que ocurrió en un evento, cuándo ocurrió y dónde ocurrió*” (Stark, 2017).

1.3.2. Memoria de reconocimiento: un componente de la memoria episódica

Independientemente de si el enfoque es en humanos, u otros animales mamíferos, se tiene bien caracterizado que la memoria episódica tiene un factor muy importante, y es aquel del *reconocimiento*. La **memoria de reconocimiento**, la *habilidad de identificar como familiar a algún estímulo o situación que ha sido enfrentada previamente* (Moreno-Castilla, Guzman-Ramos, & Bermudez-Rattoni, 2018); nos permite evaluar si un estímulo es “nuevo” o “viejo. La memoria de reconocimiento se construye a partir de 2 procesos: (1) familiaridad del estímulo, y (2) el contexto, espacial o temporal, del estímulo, los cuales tienen su propia red funcional (Van Goethem, Blokland, & Prickaerts, 2018).

La familiaridad implica únicamente reconocer si el evento ha sucedido, o se ha enfrentado antes, es por ello que también se le refiere como “saber” (KNOW). En contraste, el conocimiento de los detalles específicos del evento (contexto) es lo que se conoce como recuerdo o “recolección” (REMEMBERING). La diferencia esencial es que en la familiaridad únicamente tenemos el “sentimiento” de que recordamos algo, incluso si el evento ha pasado o no; mientras que la recolección es mucho más similar a “re-experimentar” el evento.

1.3.3. Neurobiología: el papel de estructuras cerebrales

Así como se describieron a los diversos tipos de memoria, de acuerdo con el parámetro de interés, es importante mencionar que las estructuras anatómicas requeridas para la formación de dichos tipos de memoria son diferentes. La memoria declarativa depende de 2 componentes: el Hipocampo, como una estructura asociativa que contiene a los mecanismos mediante los cuales diferentes características del recuerdo se integran en un solo engrama o representación; y la CPF, como una estructura que guía el acceso consiente y manipulación de la información adquirida, i.e. guía el comportamiento mediante la recuperación de la memoria. El Sistema de memoria episódica es un sistema jerárquico del lóbulo medio temporal (LMT), dentro del cual la información fluye de la corteza al hipocampo, y cuyos niveles de integración o abstracción incrementa conforme nos acercamos a éste último. Adicionalmente es un circuito cerrado, ya que la información que fluye al hipocampo también es proyectada de regreso. Como se observa

en la Fig. 8, el sistema se compone de diversas estructuras. En el presente trabajo se describen aquellas relevantes para la memoria episódica, y la relevancia particular de estas estructuras en el contexto de la memoria de reconocimiento.

1.3.3.1. Hipocampo

El Hipocampo es una de las áreas cerebrales cruciales para la formación de memoria y navegación espacial. Esta estructura es parte del sistema límbico, el cual se encarga de la regulación de emociones, motivación y memoria. El Hipocampo toma un papel esencial al estar en la cúspide de la jerarquía de sistemas corticales (Fig. 8), integrando la información de sistemas previos (Roux, Leger, & Freret, 2021).

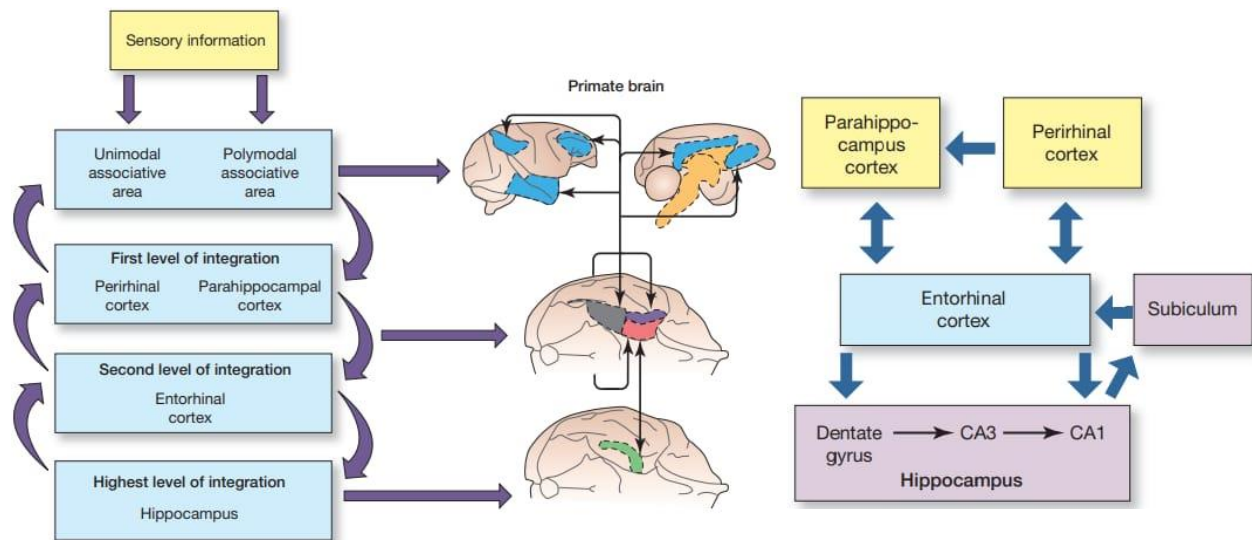


Figura 8. Representación del flujo de información hacia el hipocampo (Izq). Estructuras del sistema hipocampal medial temporal (Der). Fuente: Rudy (2014).

El Hipocampo se encuentra ubicado en el lóbulo temporal, y consiste de Hipocampo propio (que incluye las subdivisiones del Cuerno de Amón, CA 1-3) y el Giro Dentado (GD), cada uno con sus funciones propias. La región CA1 se compone de neuronas piramidales glutamatérgicas, y se ve implicada específicamente en funciones de consolidación de memoria, procesamiento espacial y temporal, y contextualización de la memoria (integración de información). Por otro lado, el GD es una región de transmisión de información al hipocampo, y un sitio primordial de neurogénesis incluso en cerebros adultos. Se encuentra asociado a funciones como la codificación de recuerdos, creación de mapas cognitivos del ambiente, separación de patrones (que permite la discriminación de recuerdos similares) y el aprendizaje asociativo. El GD por sí mismo se encuentra dividido en 3 capas: la capa molecular, granular y polimórfica (el hilus). Su principal componente celular son las células granulosas, ubicadas en la capa granular, sin

embargo, también cuenta con neuronas glutamatergicas y GABAérgicas, y células musgosas.

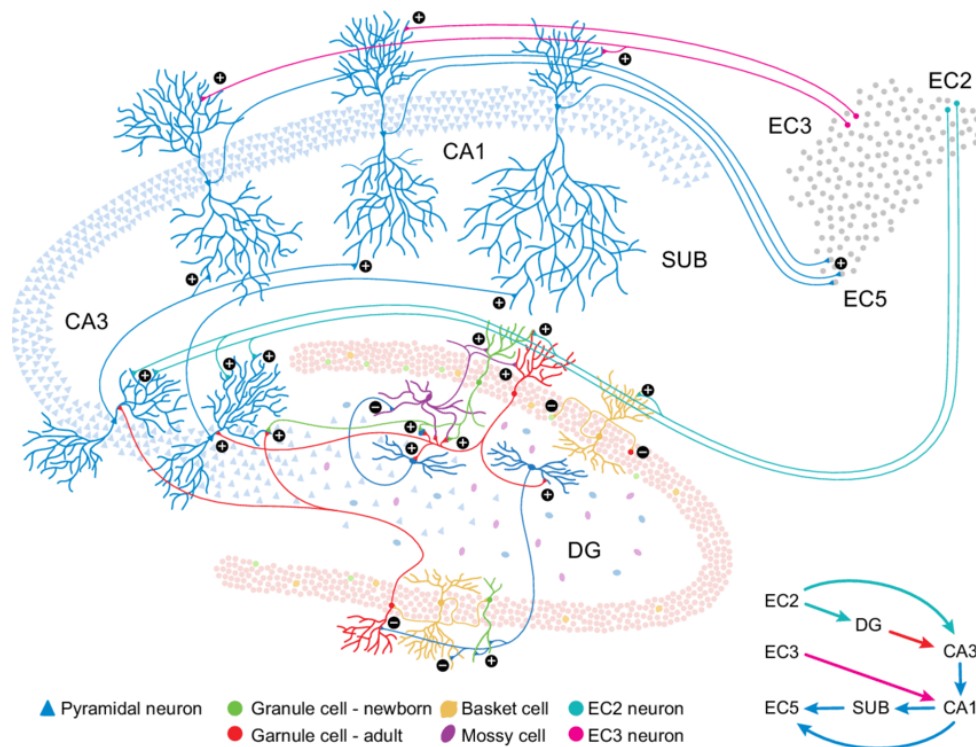


Figura 9. Circuito trisináptico hipocámpico. Aimone, et al. (2014)

Las conexiones del Hipocampo son únicas y mayoritariamente unidireccionales (Fig. 9). El sistema de memoria hipocámpico incluye al hipocampo que incluye a los subcampos del CA, al GD y al subículo, así como a las cortezas entorrinal (CE), perirrinal (CPrRh) y postrrinal (CPOrh). Dentro del Hipocampo, el circuito trisináptico comienza con la vía perforante desde la Corteza Entorrinal (CE) hacia las células granulosas del GD. La CE vincula al Hipocampo con el resto del neocórtex, y provee de la mayor cantidad de aferencias corticales hipocámpicas, siendo sus conexiones más fuertes hacia el GD (representa la mayoría de aferentes glutamatergicos en la capa molecular de éste). Esta conexión a la CE es la que se encarga de la comunicación de información espacial y sensorial (Kitchigina, Shubina, & Popova, 2023). Las células granulosas del GD, a su vez, se conectan mediante las fibras musgosas a las neuronas piramidales de CA3. Por último, los axones de CA3 (colaterales de Schaffer) se conectan a las neuronas piramidales de la región CA1.

Se cree que este sistema de estructuras ayuda en la formación inicial de los engramas (“*memory traces*” o trazos/huellas de memoria) (Rudy, 2014). En principio, el Hipocampo recibe información de diversas regiones corticales (gracias a la región parahipocámpica).

El engrama inicial se compone de patrones de actividad neocortical, y el hipocampo mantiene la coherencia de este engrama. Metafóricamente podemos entender esta función como la de un “índice”. Así pues, la reactivación de un patrón específico de actividad en el hipocampo dará pie al patrón cortical donde está “guardada” la memoria (en la corteza) (Fig. 10). Así pues, se piensa que los recuerdos son transferidos del hipocampo a la corteza para su almacenamiento a largo plazo (Weible, *et al.* 2012).

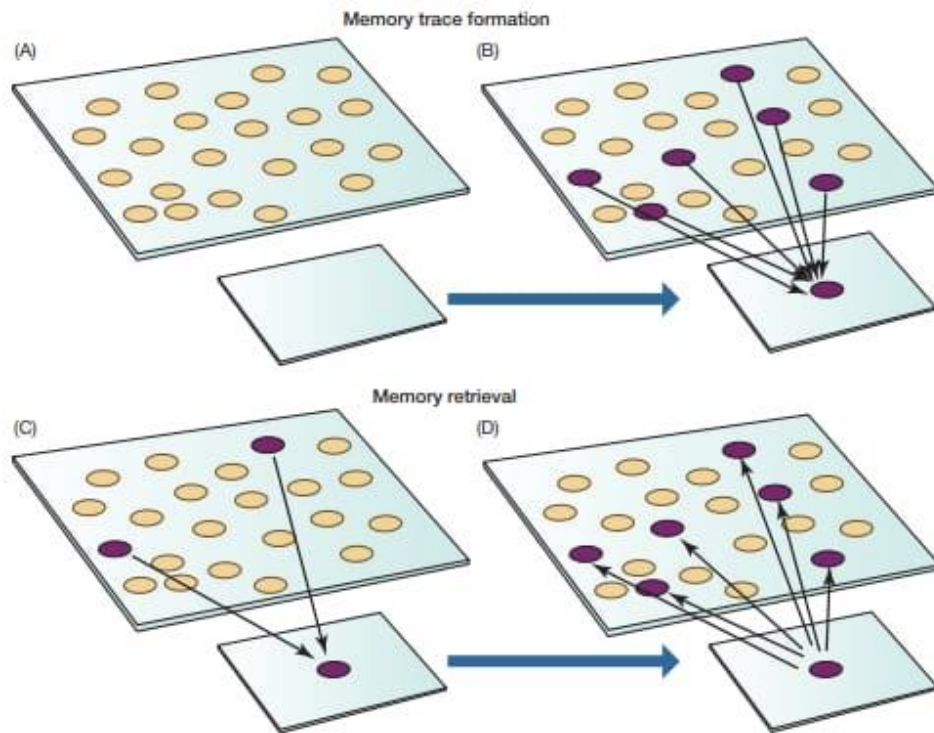


Figura 10. Función de índice del hipocampo. **(A)** Formación del engrama (trazo de memoria). **(B)** Conjunto de posibles patrones en la corteza es activado por una experiencia y proyectado al hipocampo. **(C)** Durante la recuperación de la memoria un subconjunto puede activar la representación hipocámpica, provocando que **(D)** el hipocampo proyecte de regreso a la corteza y active el patrón original del recuerdo. Fuente: Rudy (2014).

Mientras que las estructuras del sistema hipocámpal son necesarias para **integrar** la información, la memoria como tal se “*guarda*” en patrones de actividad específicos en la corteza. Así pues, el hipocampo siempre es requerido para la recuperación de la memoria episódica. Sin embargo, una vez que el patrón es codificado, puede existir por sí mismo. En resumen, el hipocampo no guarda ningún engrama, sólo los “organiza”. La formación de un engrama es la representación hipocámpica de la actividad en el neocórtex. Las sinapsis que responden en el hipocampo son reforzadas por procesos de Potenciación de Largo Plazo (LTP). Así las neuronas activadas en el hipocampo que

representan a la experiencia original activarán a su vez el patrón que representa a la experiencia completa.

Dentro de la memoria de reconocimiento se habló de la distinción entre “recordar” (recuerdo) y “saber” (familiaridad). Estas se encuentran gobernadas por distintas estructuras dentro de sistema hipocampal (tabla 4). Se tiene bien caracterizado el circuito involucrado en la memoria de reconocimiento. La corteza perirrhinal se involucra en el reconocimiento del objeto y el procesamiento perceptual de éste (ya que la CPRh tiene entradas de información sensorial visual, olfatoria y somatosensorial). Particularmente se involucra en el reconocimiento de objetos, pero sólo durante intervalos cortos de tiempo, ya que en intervalos desde 24 hrs, la información en el PRhC se deteriora rápidamente y no es suficiente para su retención a largo plazo.

Por otro lado, la formación hipocampal está involucrada en la información contextual de la memoria. El hipocampo está involucrado en la memorización del objeto al codificar información sobre este. Adicionalmente es responsable del reconocimiento del objeto a largo plazo. Es decir que el hipocampo (en particular dorsal) es esencial para la consolidación a partir de las 3 hr desde el evento. Aunque el hipocampo no se involucra en distinguir características del objeto, es fundamental como detector de novedad al comparar la información previa con la información nueva.

Tabla 4. Distinción de las áreas implicadas en los diferentes componentes de la memoria de reconocimiento.

Familiaridad (Saber) KNOW	Recuerdo (Recordar) REMEMBERING
<i>Reconocer estímulo</i>	<i>Contexto temporal y espacial</i>
<ul style="list-style-type: none"> • Corteza Perirrhinal • Corteza lateral Entorhinal 	<ul style="list-style-type: none"> • Hipocampo propio: recuerdo de información contextual del estímulo (detalles cualitativos del evento)

1.3.3.2. Corteza Prefrontal

La corteza prefrontal (CPF) es una región importante de la corteza cerebral debido a su papel en funciones cognitivas y ejecutivas, como la toma de decisiones, memoria, atención, regulación emocional. Ésta se encuentra en el lóbulo frontal del cerebro y se encuentra organizada en 3 regiones interconectadas: dorsolateral, ventromedial y corteza anterior cingulada. Las células de la CPF son principalmente (80-90%) neuronas piramidales excitatorias glutamatérgicas, y el resto (10-20%) son neuronas inhibitorias GABAérgicas (Xu, *et al.* 2019). Todas ellas, a su vez, se encuentran organizadas en 6 capas (I-VI), siendo las capas II a VI donde se encuentran neuronas piramidales excitatorias. Al menos en el humano y primates, la CPF se divide, anterior a la corteza motora) en 3 regiones: CPF medial (que se subdivide en Corteza Cingulada Anterior,

CCA, Corteza Prelímbica, Pr, Corteza Infralímbica, IL), CPF lateral y corteza orbitofrontal (COF) (Kolk, & Rakic, 2021).

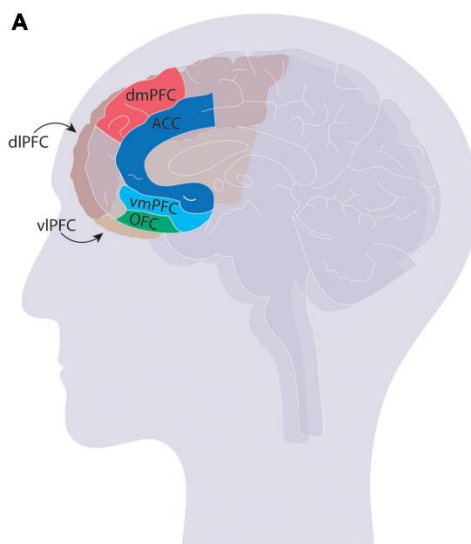


Figura 11. Estructura de la CPF en un corte sagital de cerebro humano. Abreviaciones (en inglés): ACC, corteza cingulada anterior, dlPFC, CPF dorsolateral, dmPFC, CPF dorsomedial, OFC, Corteza Orbitofrontal, vlPFC, CPF ventrolateral, vmPFC, CPF ventromedial. Fuente: Hui, M., & Beier, K. T. (2022).

Debido a su asociación a funciones ejecutivas relacionadas a seleccionar o ignorar información de acuerdo con su relevancia, las conexiones de la CPF deben relacionarse tanto a la información sensorial, como a la memoria, e incluso emociones (Barbas, 2009). Así pues, las eferencias y aferencias son similarmente hacia estructuras corticales y subcorticales.

Las conexiones aferentes de la CPF son variadas, pues recibe información de un amplio número de regiones. La CPF recibe información del Tálamo, del sistema límbico y de estructuras subcorticales como los ganglios basales. Esta red de conexiones permite la integración de información sensorial, pero también información de eventos pasados, contribuyendo a sus funciones. Similarmente, los eferentes de la CPF se extienden a un gran abanico de regiones, como la corteza motora, el sistema límbico y los ganglios basales; a través de estas conexiones la CPF ejerce control sobre la ejecución motriz, la regulación emocional y motivación, así como aprendizaje y formación de hábitos.

A pesar de su gran influencia sobre el comportamiento, el estudio e involucramiento de la CPF en diversas enfermedades y condiciones son complicados de puntualizar y comparar entre especies. En primates no humanos, la asociación entre cada una de las áreas del cerebro y su paralelismo con partes humanas es un poco más directa. Sin embargo, en otros modelos animales, como lo son los roedores, hay menos claridad

sobre cuáles son las homologías estructurales y funcionales; incluso se ha cuestionado “¿qué es, en todo caso, la corteza prefrontal de los roedores?” (Laubach, *et al.* 2018). Esto se debe a la diferencia entre capacidades cognitivas, pero también a las inconsistencias en el uso de la nomenclatura, aunque esta problemática se extiende más allá de los objetivos de este trabajo.

Lo que se considera como CPF, en el roedor parece ser una combinación de la corteza cingulada anterior y de la CPF medial del humano y primate; pero igualmente, por su citoarquitectura, la CPF del roedor se encuentra dividida en: (1) Corteza Cingulada, (2) Corteza Prelímbica (Pr), (3) Corteza Infralímbica (IL) (Xu, *et al.* 2019; Anastasiades, & Carter, 2021). Adicionalmente, la división en 6 capas es similar (I-VI), siendo la capa I la más superficial, y las capas II/III y V/VI las capas con neuronas piramidales.

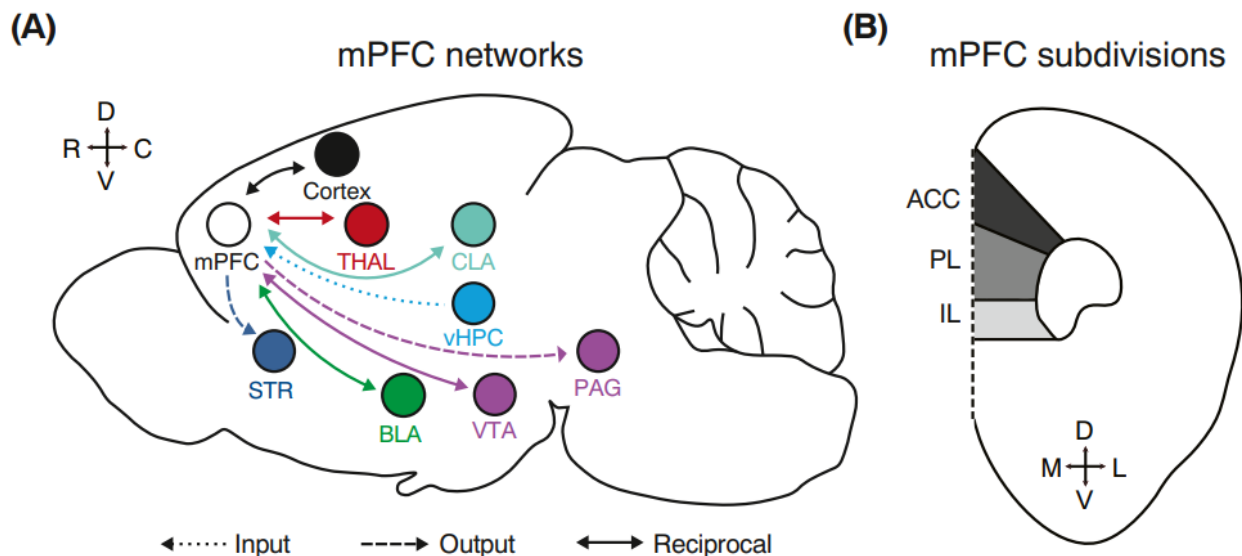


Figura 12. La CPF de la rata. (Izq) Se muestran las conexiones hacia BLA, Amígdala Basolateral, CLA, claustrum, PAG, Materia gris Periacueductal, STR, Estriado, vHPC, Hipocampo ventral, VTA, Área Ventral Tegmental, THAL, Tálamo. (Der) Representación de la CPF en un corte coronal del cerebro de rata. Fuente: Anastasiades, & Carter (2021).

La región de la Corteza cingulada 1 (Cg1) se encuentra asociada al control cognitivo, pero las regiones PL e IL son las que se han asociado a funciones dentro de la memoria declarativa. La región Cg1 tiene importantes conexiones al área PL, que son esenciales para la integración de información cognitiva. Siendo la Cg1 encargada de evaluar al estímulo, y la PL de consolidación de memoria. Así mismo, PL e IL se encargan de la flexibilidad cognitiva, en la que la evaluación emocional de Cg1 permite que PL/IL cambien la respuesta en el comportamiento del animal dependiendo de las circunstancias (adaptación de comportamiento).

La CPF se ha asociado de diferentes formas a la memoria de reconocimiento: (1) al recuerdo pero no a la familiaridad. Farovik, *et al.* (2008) encontraron que el daño hacia

la CPF (la región dañada incluía a la región PL, IL y Cg1) reducía severamente el desempeño basado en la recolección de los roedores, resultando en falsos positivos. (2) A la discriminación de objetos novedosos; lesiones en esta área provocan déficit en la memoria de reconocimiento en ámbitos que requieran distinguir cuán reciente es el objeto y su ubicación. De hecho tanto en ratas como monos, se ha demostrado la asociación de la corteza cingulada a la familiaridad de objetos (Pezze, *et al.* 2017). Así mismo, existen estudios donde se evidenció un incremento en la expresión de C-Fos en el cerebro de ratas al enfrentarse a objetos novedosos (Zhu, Brown, McCabe, & Aggleton, 1995).

1.3.3.3. Circuito Hipocampo-CPF: construcción de un panorama

Teniendo en contexto la función del Hipocampo y de la CPF, podemos hablar de cómo este sistema se integra dentro de la memoria de reconocimiento. El sistema Hipocampo-CPF ha sido discutido ampliamente. Miller y Cohen (Eichenbaum 2017a) proponen entender a este circuito mediante una metáfora de "ferrovía" en la que el hipocampo es responsable de trazar nuevas "vías" (i.e. recuerdos episódicos), mientras que la CPF es responsable de cambiar de forma flexible entre estas vías de acuerdo con reglas contextuales. Entonces, el hipocampo y el CPF pueden interactuar estrechamente en funciones complementarias.

Wang *et al.* (2021) reportan que la prueba de NOR (y por tanto la memoria de reconocimiento) requiere de la actividad conjunta del hipocampo y la CPF, evidenciado por la acoplada actividad Theta. Así mismo reportan un incremento en la expresión de C-Fos en CA1 y CPF después de la prueba NOR. Lo anterior sugiere el papel crítico de ambas regiones en el reconocimiento de objetos novedosos.

Si bien el hipocampo es capaz de recuperar los recuerdos incluso en ausencia de la CPF, en este caso la relevancia del CPF no es "la formación de contextos" sino su aplicación en una situación. Esta idea proviene de estudios en los que pacientes con daño a la CPF no tienen daños severos en formación de recuerdos, sino en la recolección de información en eventos de interferencia o distracción (i.e. distinción de información en eventos/contextos similares). En apoyo a esta idea, el estudio previamente mencionado de Farovik, *et al.* (2008) precisamente señala que la presencia de falsos-positivos fue debido a objetos observados previamente pero no en la fase de estudio, implicando una interferencia del recuerdo de objetos previos en contextos similares.

Así pues, se sugiere que el eje Hipocampo-CPF contribuye a la memoria mediante un control sobre la recuperación del recuerdo apropiada al contexto en el que se necesite (Depue, 2012). Bajo esta premisa, se ha investigado y llegado a la conclusión de que el control prefrontal que se ejerce sobre el Hipocampo es uno de supresión de recuerdos en competencia. En esencia el hipocampo funciona como un índice de recuerdos (y a su vez apoya la integración su información en un contexto, su formación y consolidación),

mientras que la CPF es quien extrae selectivamente los recuerdos dependiendo de la tarea a la mano, suprimiendo aquellos que no son apropiados o irrelevantes de acuerdo con el contexto (Eichenbaum, 2017b) (Fig. 13). Esta actividad es necesaria para minimizar proactivamente la interferencia, posterior a la codificación hipocampal, entre representaciones durante la recuperación de la memoria (Guise, & Shapiro, 2017).

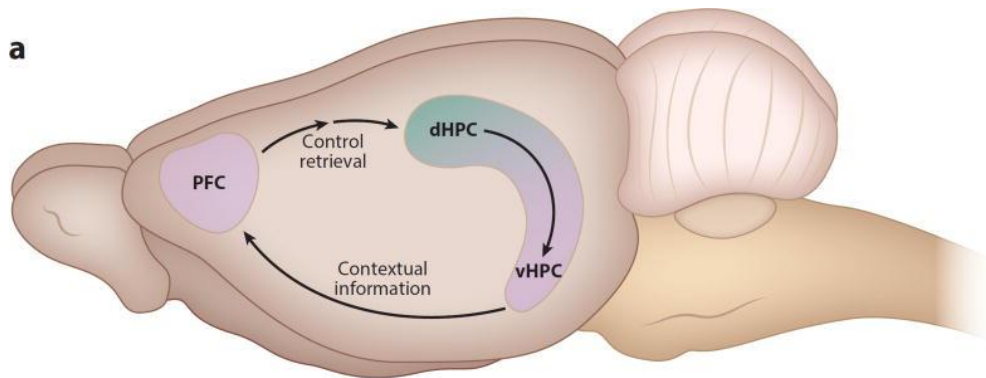


Figura 13. Interacción entre el Hipocampo y la CPF en un cerebro de rata. La CPF recibe información contextual del hipocampo ventral y proyecta indirectamente a la CPrRh y CE. En este modelo, pistas contextuales en el Hipocampo son procesadas hacia la CPF, quien con esta información controla la recuperación de recuerdos apropiados al contexto que inició el proceso. Fuente: Eichenbaum H. (2017b).

¿Pero cómo se ejerce este control? En la tabla 5 se resumen las áreas posiblemente involucradas en el control global del eje Hipocampo-CPF. Se conoce que el hipocampo tiene conexiones indirectas y directas a la CPF (Fig. 14). Eichenbaum (2017a) resume que existen 3 vías de conexión:

- A. Vía directa Hipocampo-CPF:** Proyección monosináptica desde CA1 a todas las capas de la CPF medial y CPF orbital. Se propone que mediante este se envía información contextual del recuerdo.
- B. Vías indirectas**
 - a. *Vía bidireccional talámica:* Conexiones bidireccionales entre el núcleo Reuniens (NuRe) y todas las áreas e la CPF, así como con el área CA1, la CPrRh y la CE. Se ha propuesto al NuRe como un “switch” capaz de sincronizar el flujo de información HP-CPF o CPF-HP.
 - b. *Vía bidireccional a través de la CPrRh y CE:* la CPF se encuentra fuertemente conectada a la CPrRh y a la CE, sirviendo éstas como intermediario hacia la región CA1. Debido a la función de la CPrRh y CE en

la memoria de reconocimiento, se cree que esta vía se encarga de la transmisión de información sensorial de objetos.

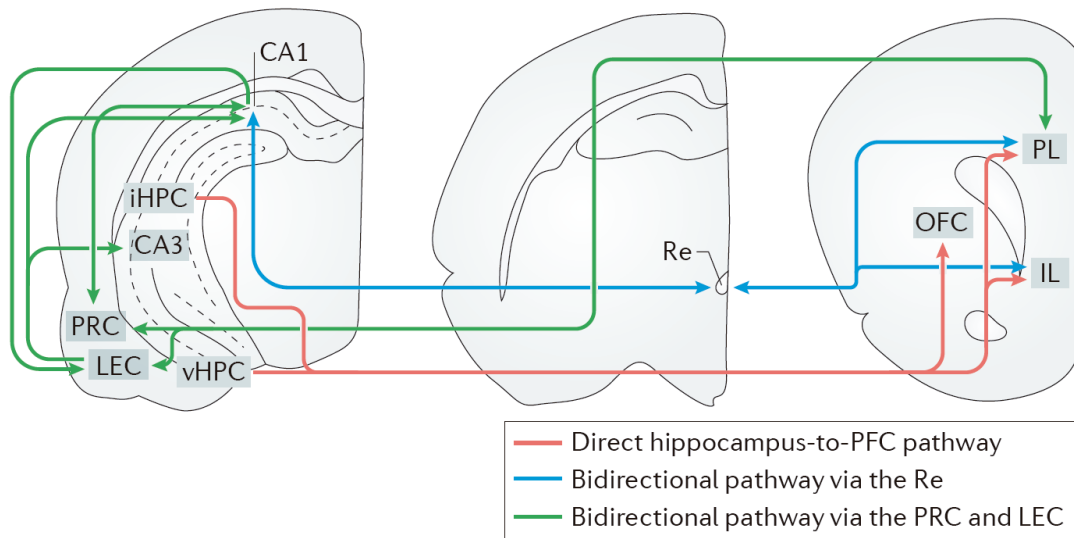


Figura 14. Vías prefrontales-hipocámpicas directas e indirectas. Fuente: Eichenbaum H. (2017a).

Tabla 5. Resumen del involucramiento de distintos componentes del sistema de memoria hipocámpal y sus conexiones a la CPF.

REGIÓN	FUNCIÓN
Corteza Entorhinal	Lateral → “qué” – información sensorial Medial → “dónde” – información espacial
Corteza Perirhinal	“Qué” – información sensorial
Corteza Parahippocámpal	“Dónde” – información espacial
Hipocampo	Integración de información sensorial Dorsal – Objeto (vincular el objeto con el espacio) Ventral – Contexto: vinculación del evento con el contexto; sirve para la diferenciación de recuerdos La representación contextual se manda a la CPF
CPF	La información contextual influye el recuerdo de representaciones específicas de objetos mediante sus conexiones a la CPRh y la CE lateral

1.3.4. Déficit en la memoria relacionada a la DT2

Tal y como se abordó en el apartado de complicaciones, existen diversos mecanismos por los que la patofisiología de la DT2 afecta al cerebro, existiendo una creciente cantidad de trabajos en la literatura que evidencian el impacto que la DT2 tiene sobre las funciones cognitivas.

Se han reportado asociaciones entre la DT2 y el deterioro cognitivo, identificando déficits cognitivos en hasta el 43% de las personas con DT2 (Luchsinger *et al.*, 2007). Este deterioro ha sido identificado en diversas áreas, como la velocidad psicomotora, la función ejecutiva, la memoria verbal y de trabajo, la velocidad de procesamiento, el funcionamiento motor complejo, el recuerdo inmediato y retardado, la fluidez verbal, la retención visual y la atención (Roy *et al.*, 2020). Aunado a esto, también existe evidencia de la presencia de atrofia cortical y subcortical, que afecta a varias regiones del cerebro y a una disminución de la perfusión cerebral regional y de la vasorreactividad (Last *et al.*, 2007).

Particularmente, una condición de hiperglucemia, incluso sin la presencia de diabetes es un factor de riesgo de disfunción cognitiva. Este deterioro en la función cerebral puede atribuirse a la modificación en los procesos neuroquímicos y pérdida de sinapsis lo que a su vez detona una serie de eventos neurodegenerativos que conjuntamente afectan a los procesos de plasticidad (Treviño *et al.*, 2017). Kodl y Seaquist (2008) discuten resultados de diversas investigaciones en pacientes con alteración de la tolerancia a la glucosa, en los que se ha demostrado un desempeño más bajo en evaluaciones del estado mental y memoria a largo plazo, el deterioro de la fluidez verbal e incluso un aumento en la incidencia de demencia (Alzheimer y vascular) en comparación con los sujetos de control, aunque no todos los estudios revisados por los autores se encontró que los pacientes con desregulación de la glucosa o DT2 tuvieran un peor rendimiento que los controles. De esta forma, se reportan en la literatura diversos mecanismos de daño en el cerebro que conllevan a la presentación de déficit cognitivo. No obstante, debido a la diversidad de fenotipos en los modelos animales para DT2, existe gran controversia en su estudio. Aunque, Garcia-Serrano y Duarte (2020) reportan en un artículo de revisión que independientemente de las diferencias presentadas en la literatura, las cuales pueden ser explicadas por los diferentes perfiles metabólicos que diferentes dietas diabetogénicas induzcan sobre distintos modelos animales, todas desencadenan en un fenotipo que afecta a la función cerebral, particularmente el desempeño en tareas de memoria dependientes del hipocampo.

Pero ¿cómo relacionar estos efectos con la patogénesis de la enfermedad? Respecto al deterioro de la señalización de insulina presente en los pacientes con DT2, existe

evidencia que sugiere su asociación con un mayor riesgo de desarrollar deterioro cognitivo e incluso Alzheimer y este defecto en la señalización de insulina no sólo es periférico, sino que también afecta a las células del SNC (particularmente neuronas) debido a la presencia de receptores a insulina en regiones del cerebro como hipocampo, corteza, hipotálamo, bulbo olfatorio, glándula pituitaria, cerebelo y cuerpo estriado (Duarte, Moreira, & Oliveira, 2012). Duarte (2015) resume la contribución del señalamiento de la insulina como un proceso multifactorial, debido a que controla la homeostasis de la glucosa, impactando en metabolismo, osmolaridad y balance redox (este último propiciando incremento en estrés oxidativo mediante la producción de productos finales de glicación avanzada (AGE) y afectando negativamente a la mitocondria); así también se le asocia a la formación de depósitos de proteína beta amiloide. Además, se ha demostrado el papel de la insulina en el aprendizaje y la memoria (Suarez, Noble, & Kanoski, 2019). Cabe resaltar que la resistencia periférica a la insulina no siempre conduce a la resistencia a la insulina del Sistema Nervioso Central (SNC), y ambos deben diferenciarse, hablando del efecto sobre la cognición (Rhea, Banks, & Raber, 2022).

Ahora bien, siguiendo las complicaciones relacionadas con la inflamación crónica y el estrés oxidativo en la DT2, está claro que la exposición prolongada a estos factores puede impactar a nivel sistémico. Se tiene registros de que existe correlación entre niveles basales más altos de marcadores inflamatorios y declive cognitivo en pacientes con DT2. Por ejemplo, en un estudio de cohorte en la población de Edimburgo en adultos mayores con y sin DT2, se encontró que los pacientes con DT2 presentaban marcadores inflamatorio más elevados, y que éstos se correlacionan a peor desempeño en pruebas cognitivas; particularmente niveles elevados de IL-6 se asociaron con una mayor disminución en las pruebas de función ejecutiva y de razonamiento abstracto (Sluiman, *et al.* 2021). Otras citocinas proinflamatorias asociadas son las ya mencionadas IL-1 β y el TNF- α . En compañía al incremento de citocinas proinflamatorias, se ha visto que puede éstas pueden incrementar la permeabilidad de la barrera hematoencefálica. En un modelo de ratón deficiente del receptor de Leptina (similar a la cepa), se encontró que el déficit cognitivo además de estar acompañado por un incremento de marcadores proinflamatorios desencadenados por la hiperglucemia, también está acompañado por infiltración de macrófagos (Stranahan, *et al.* 2016) y ácidos grasos libres (Milanski, *et al.* 2009; Rapoport, 2001) exacerbando la neuroinflamación.

Finalmente, también se han registrado cambios estructurales en pacientes diabéticos. Oh, *et al.* (2021) reportan cambios estructurales, como reducción en el volumen de materia blanca y gris en cerebelo y lóbulo frontal de pacientes mayores con diabetes.

1.4. MODELOS ANIMALES EN EL ESTUDIO DE LA DIABETES

El uso de modelos animales para el estudio de la diabetes es esencial para entender su patogénesis, ya que permite el análisis de la etiología y las complejas interacciones multisistémicas de la enfermedad. A pesar del desarrollo de modelos *in vitro* (como por ejemplo cultivos de células animales) o modelos *in silico* (mediante programas de modelaje), los modelos animales se han mantenido como el estándar en la investigación.

En el estudio de la diabetes el uso de modelos murinos es una práctica ampliamente distribuida, ya que ofrecen ventajas como su tamaño, fácil mantenimiento (tanto en términos económicos, como de espacio) y tiempos de reproducción cortos. Estos modelos pueden clasificarse dependiendo del método de obtención. De acuerdo con Kottaisamy, *et al.* (2021), es posible clasificar a los modelos basados en si la inducción de la enfermedad se ha realizado utilizando agentes químicos o dietas específicas, transformaciones genéticas dirigidas o espontáneas, etc. En la tabla 6 se condensan diversos modelos murinos para el estudio de DT2.

Tabla 6. Modelos experimentales de murinos para el estudio de la DT2. Tabla traducida y modificada de Kottaisamy *et al.* (2021), y King y Austin (2017).

Métodos de Obtención		Modelos representativos	Características
Genética	<i>Genética inducida</i>	Ratas Zucker Diabetic Fatty (ZDF)	Desarrollado con mutación sin sentido en el gen del receptor de leptina.
		Ratones Lep db/db	Posee una mutación en el gen que codifica el receptor de leptina
		Ratas Goto-Kakizaki (GK)	Modelo poligénico que desarrolla diabetes tipo 2 de inicio en adultos más temprano en su vida
		Ratas Zucker fatty (ZF)	Modelo genético de obesidad caracterizado por hiperlipidemia e hipoinsulinemia
	<i>Ingeniería genética</i>	Ratón KK	Modelo diabético poligénico que exhibe hiperglucemia, intolerancia a la glucosa y microalbuminuria
	<i>Inducción viral</i>	Por virus EMC	Destrucción selectiva de células β
Inducción química		Inducido por <i>Aloxano</i>	Inhibición selectiva de la secreción de insulina estimulada por glucosa

	Inducido por <i>Estreptozotocina</i>	Daña la célula β del páncreas, lo que provoca hipoinsulinemia e hiperglucemia
Manipulación dietética	Alimentación rica en grasas	Cierta compensación de células beta
	Alimentación alta en grasa/alta en sacarosa	Cierta compensación de células beta
	<i>Psammomys obesus</i>	Degeneración progresiva de células beta
Métodos quirúrgicos	Modelo de pancreatectomía	Presentación de la enfermedad parecida, ya que la masa de células beta pancreáticas se reduce cuando se extirpa cierto porcentaje del páncreas

1.4.1. La cepa ZDF como modelo animal de estudio

Las ratas de la cepa ZDF (Zucker Diabetic Fatty) representan un modelo animal de diabetes obtenido a partir de la crianza selectiva entrecruzando ratas ZF (Zucker fatty, *fa/fa*) hiperglicémicas con el propósito de obtener características diabéticas (Capcarova, & Kalafova, 2019).

La cepa ZF presenta una hiperfagia y obesidad debido a que estas ratas son portadoras de una mutación espontánea del gen del receptor de leptina (gen *fa*) (Shiota, & Printz, 2012). Esta mutación conlleva al inicio de obesidad debido al crecimiento de depósitos grasos subcutáneos (Durham, & Truett, 2006). La disfunción consecuente en la señalización hipotalámica del receptor de leptina desemboca en una leve hiperglucemia e intolerancia a la glucosa (aunque no son diabéticas), resistencia a la insulina, hiperlipidemia e hipertensión moderada (Capcarova, & Kalafova, 2019). La condición de obesidad e hiperfagia es aparente a partir de las 4 semanas de edad (King, & Austin, 2017).

En contraste, la cepa ZDF presenta una resistencia insulínica severa debido a la incapacidad de las células beta pancreáticas para compensar la misma (King, & Austin, 2017). Cabe resaltar que existen marcadas diferencias entre las ratas macho y hembra de la cepa ZDF, siendo las macho las únicas severamente afectadas y con una clara progresión del estado prediabético a diabético, por lo cual sólo éstas se utilizan como modelos de enfermedad para la DT2. Las ratas macho, homocigotas para la mutación del gen *fa*, desarrollan progresivamente con la edad una mayor de resistencia a la insulina, intolerancia a la glucosa y deterioro de la función de las células β -pancreáticas, lo que conlleva a una condición diabética, similar a la DT2 asociada a obesidad (Shiota,

& Printz, 2012). Adicionalmente presentan hiperglucemia, hiperfagia, hiperlipidemia, hipertensión e insuficiencia cardíaca (Pugsley *et al.*, 2021). Así pues, para las 8 a 12 semanas de edad, las ratas ZDF macho presentan una condición completamente diabética.

Por otro lado, en el caso de las ratas ZDF hembra, éstas no presentan una condición diabética incluso cuando se presenta una obesidad avanzada, reportándose que mantienen niveles en sangre de glucosa e insulina normales. Especímenes homocigotos (hembras con el genotipo *fa/fa*) también presentan obesidad y resistencia insulínica, sin embargo, no llegan a presentar hiperglucemia (Capcarova, & Kalafova, 2019). A pesar de ello, la condición hiperglucémica (diabética) en las ratas ZDF hembra puede ser inducida con una dieta diabetogénica (King, & Austin, 2017).

Es importante puntualizar que no todos los animales de la línea ZDF, ya sea macho o hembra, presentan condiciones de obesidad y diabetes. Los animales ZDF que son heterocigotos para la mutación del gen *fa* (ZDF-lean *fa/+*) o de tipo silvestre (ZDF-lean *+/+*) en este locus del gen no se vuelven obesos y no desarrollan diabetes (Griffen, Wang, & German, 2001).

Debido a la manifestación de sintomatología clínicamente relevante para la DT2, el modelo de la cepa ZDF también se utiliza en el estudio de la neuro y nefropatía observadas en conjunto con esta condición crónica. En la literatura existen diversos reportes sobre alteraciones morfológicas del hipocampo y la corteza prefrontal, y consecuentemente en procesos cognitivos como la memoria y aprendizaje, en modelos de DT2 como la cepa ZDF.

Respecto a la caracterización metabólica de la cepa, Yokoi, *et al.* (2013) reportan diferencias en el peso, siendo las ratas *fa/fa* las de peso incrementado en comparación con las ratas *fa/+*, cambio que es evidente desde las 6 semanas de edad. Para niveles de glucosa en sangre sin ayuno la diferencia fue evidente desde las 8 semanas de edad (siendo los niveles de ratas *fa/fa* más elevados). Similarmente, los niveles de insulina sin ayuno fueron similares, con la excepción de que la diferencia era notable a partir de las 6 semanas de edad. Por último, todas las ratas *fa/fa* desarrollaron DM con una glucosa en sangre de ≥ 300 mg/dL para las 10 semanas de edad, cuando en las ratas *fa/+* ninguna desarrolló diabetes. En cuanto al perfil lipídico, todos los parámetros se mantuvieron elevados en las ratas *fa/fa* en comparación con las *fa/+*. Todos los cambios mencionados se mantuvieron hasta las 21 semanas de edad. Chohnan, *et al.* (2020) realizaron la caracterización de la cepa a las 12 semanas de edad. En su estudio reportan diferencias significativas para valores de glucosa (media \pm SEM: 295 ± 20 mg/dL ZDF Obesa; 114 ± 5 mg/dL ZDF delgada), peso (297.2 ± 2.1 g ZDF Obesa; 338.0 ± 5.6 g ZDF

delgada), triglicéridos (237 ± 40 mg/dL ZDF Obesa; 19.8 ± 1.5 mg/dL ZDF delgada) y colesterol total (137 ± 6 mg/dL ZDF Obesa; 64.3 ± 1 mg/dL ZDF delgada).

En contraste, Otani, *et al.* (2022) hacen la descripción de la cepa a las 36-38 semanas de edad. Contradictoriamente, a esta edad se registró que las ratas *fa/+* tienen un mayor peso corporal (450 ± 8.8 g) que las *fa/fa* (389.6 ± 14.7 g), sin embargo, su BMI es significativamente menor (0.85 ± 0.01 g/cm² vs. $0.94 \pm$ g/cm²). En cuanto al nivel de glucosa en sangre, los valores del grupo *fa/fa* fueron significativamente mayores (504.3 ± 20 mg/dL) respecto a los del grupo *fa/+* (162.5 ± 8.2 mg/dL). Para el perfil lipídico únicamente se evaluaron triglicérido y colesterol total, en los cuales el grupo *fa/fa* también presentó niveles mucho mayores (681.2 ± 85.2 mg/dL en triglicéridos y 271.8 ± 18.7 mg/dL en colesterol total) al grupo *fa/+* (56.5 ± 8.8 mg/dL en triglicéridos y 90.9 ± 4.3 mg/dL en colesterol total). Finalmente, Wang, *et al.* (2014) hacen la distinción en grupos obesos hiperglucémicos y normoglucémicos.

II. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad, aproximadamente 537 millones de adultos viven con diabetes, de los cuales el 90% de los diagnósticos representa DT2 (IDF, 2021). Datos epidemiológicos muestran una tendencia alarmante, en la que se espera un incremento de otros 200 millones para 2040 (Zheng, Ley, &, Hu, 2018). Si bien la incidencia y prevalencia de DM varía de acuerdo con la región geográfica, las regiones de Medio Oriente y Norte de África (16.2%), seguida por la región de Norte América y el Caribe (14%), son las de mayor prevalencia (IDF, 2021). No obstante, cabe resaltar que reportes recientes apuntan a que aproximadamente 1 de cada 2 adultos con diabetes no ha sido diagnosticado (Ogurtsova *et al.*, 2022). Así pues, es probable que las predicciones de incidencia de DM no son más que una subrepresentación de los valores reales.

Por otro lado, la DM se encuentra entre las enfermedades con mayor gasto a nivel global, representando un gasto de aproximadamente 760 mil millones de USD en 2019 (Williams *et al.*, 2020). De hecho, Federación Internacional de Diabetes (IDF) (2021) reporta a la región de Norte América y el Caribe como aquella con el mayor coste promedio por persona, así como el mayor gasto a nivel global (43% del gasto mundial, ~415 mil millones de USD). Por si fuera poco, se ha encontrado que a nivel global el 81% de pacientes (4 de cada 5 personas) con esta enfermedad se encuentran en países de bajos a medios ingresos. Lo anterior evidencia una gran problemática en materia de acceso y calidad de tratamiento para la población diabética, ya que en países de bajos ingresos el gasto en salud relacionado a diabetes solo alcanza el 0.51% del producto interno bruto (en países de mediano y altos ingresos supera el 1%).

En México las cifras son igual de preocupantes. La Federación Internacional de Diabetes (IDF) (2021) reporta que la prevalencia de diabetes en nuestro país alcanza el 16.9% de la población adulta, con una proporción de diabetes no diagnosticada del 47.5%. Adicionalmente, México ocupa el 7° lugar a nivel mundial en población diabética, así como la posición n°6 en pacientes diabéticos no diagnosticados. Estos datos son confirmados por instituciones mexicanas. De acuerdo con datos preliminares del INEGI (2023), durante 2022 se reportó a la DT2 como la segunda causa de muerte en el país, representando alrededor del 13.6% (115 025) de las defunciones totales.

Es evidente la apremiante necesidad, reflejada por las cifras anteriormente presentadas, de desarrollar mejores herramientas de diagnóstico y tratamiento. Aunque se han enfocado extensivos esfuerzos científicos en investigación biomédica alrededor de la DT2, estos están principalmente dirigidos a aspectos metabólicos de la enfermedad, mecanismos de acción y búsqueda de blancos terapéuticos. A más de dos años del inicio de la pandemia, ganó relevancia la vulnerabilidad a la enfermedad de COVID-19 entre los pacientes con DT2, no sólo en el aspecto inmunológico, pero también de secuelas. Y aunque las complicaciones de la DT2 también han sido extensivamente estudiadas (ya sea en un contexto general o como comorbilidad), aquellas de tipo cognitivo han sido dejadas en segundo plano, aunque no son inexistentes.

Ya desde hace más de 15 años la evidencia sugería que la DT2 era un factor de predisposición para el declive cognitivo, así como que la DT2 estaba asociada a un incremento de hasta 50% del riesgo para demencia (Biessels *et al.*, 2006). En la última década se han incrementado los reportes de asociación como factor de riesgo para un incrementado declive cognitivo, así como a la enfermedad de Alzheimer y demencias relacionadas. Además, con el acontecimiento de la emergencia sanitaria causada por el virus SARS-CoV-2, se ha evidenciado potenciales asociaciones entre los mecanismos de COVID-19, DT2 y secuelas cognitivas a largo plazo. Si bien ejemplos variados ya han sido abordados en la sección de antecedentes, cabe resaltar que no hay un consenso definitivo si el declive cognitivo es una consecuencia directa de los mecanismos de hiperglucemia y resistencia a insulina presentes en la DT2, y por tanto se requiere de mayor estudio para esclarecer el tema.

Considerando que la edad de inicio de la demencia es alrededor de los 65 años, que la prevalencia de DT2 es mayor en los grupos de edad de 55 a 65 años y que el envejecimiento de la población requiere hacerles frente a retos relacionados con el envejecimiento, la investigación en funciones cognitivas es clave para proporcionar una mejor calidad de vida a la población mayor. Incluso un impedimento cognitivo menor tiene interferencia con actividades que requieran de funciones cognitivas como la atención,

memoria y funciones ejecutivas. En el caso de la DT2, cualquier disfunción en la cognición puede impedir el correcto cuidado y automanejo de la enfermedad, así como en el sentido de independencia del paciente.

Es por ello por lo que resulta de gran interés el estudio de las funciones cognitivas en un contexto relacionado a la DT2. El presente trabajo pretende ser un estudio descriptivo, que permita enriquecer la información disponible acerca de la influencia de condiciones hiperglucémicas sobre funciones cognitivas, particularmente la memoria y el aprendizaje.

III. HIPÓTESIS

Los niveles de glucosa elevados, indicativos de una condición de hiperglucemia, se encuentran asociados a cambios estructurales y de comportamiento en el modelo diabético de la cepa ZDF que sugieren un deterioro cognitivo, así como una potencial relación entre ambos.

IV. OBJETIVOS

4.1. Objetivo General

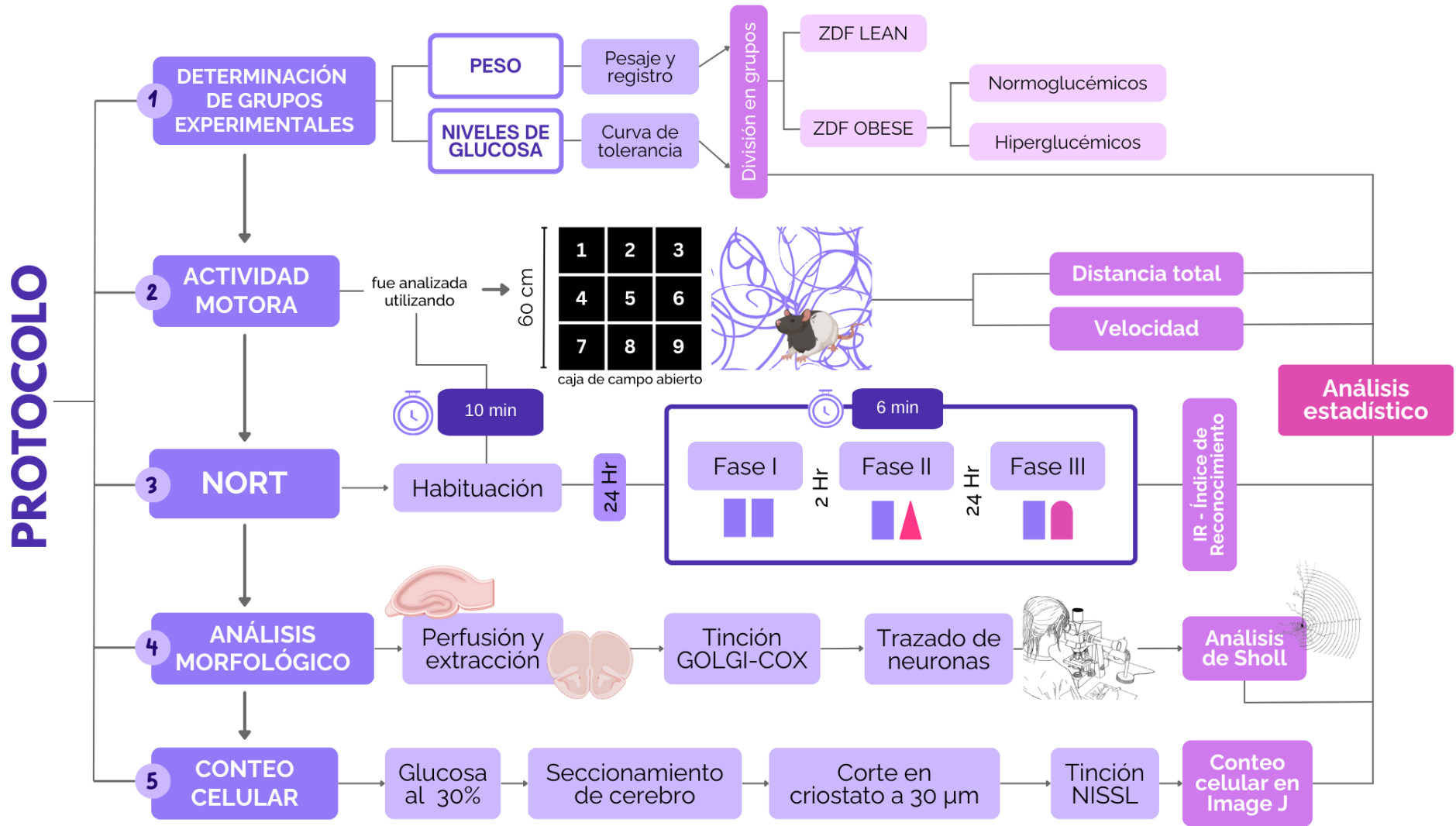
Analizar el efecto de una condición de hiperglucemia sobre la memoria y el aprendizaje, evidenciado mediante alteraciones morfológicas y de comportamiento en la cepa ZDF.

4.2. Objetivos Específicos

- Evaluar el estado glucémico de la cepa ZDF para la validación del modelo.
- Evaluar el efecto de la condición hiperglucémica sobre la actividad exploratoria y la memoria de reconocimiento a corto y largo plazo en la cepa ZDF
- Evaluar la morfología neuronal en regiones de la corteza prefrontal (Cg1) y de regiones hipocampales (CA1 y GD) en la cepa ZDF
- Cuantificar la densidad celular en la corteza prefrontal (Cg1) y regiones hipocampales (CA1 y GD) asociadas a la memoria y aprendizaje en la cepa ZDF.

V. METODOLOGÍA

5.1. Diagrama de trabajo



5.1. Determinación de Grupos Experimentales

Para el presente trabajo se obtuvieron, del Bioterio Claude Bernard, 18 ratas macho de la cepa Zucker Diabetic Fatty (ZDF) de 12 semanas de edad, divididas en dos grupos de acuerdo con su fenotipo: ratas obesas (OBESE ZDF, abreviado de aquí en adelante como OZDF) como grupo problema, y ratas delgadas (LEAN) como grupo control emparejado por edad. Dichos animales corresponden al proyecto aprobado por el CICUAL: 100332977-UALVIEP-23/1, y fueron mantenidos bajo condiciones estándar, designadas por la NOM-062-ZOO-1999.

Debido a la naturaleza de la cepa, primero se llevó a cabo una prueba de tolerancia a la glucosa para todos los grupos (LEAN y OZDF). En este procedimiento, se dejó al animal en un ayuno de 6 hrs y se llevó a cabo la primera medición (Tiempo cero, T0). Posteriormente, se administró intraperitonealmente una solución salina glucosada (2g / Kg de peso), evaluando niveles de glucosa en sangre cada 30 min en un periodo de 2 horas. Con estos valores se elaboró una curva de tolerancia a la glucosa, y con ello fue posible evidenciar la presencia de 2 subgrupos dentro del grupo Obese ZDF: normo glucémico (OZDF NG) e hiperglucémico (OZDF HiG). Una vez detectada esta diferencia dentro del grupo obeso, los animales fueron posteriormente divididos en 3 grupos: LEAN ZDF, OZDF NG y OZDF HiG. Adicionalmente fueron medidos los siguientes parámetros zoométricos de los animales: peso, cintura -*standing*-, y largo de nariz a ano del animal. Con los datos mencionados también se obtuvo el Índice de Masa Corporal (IMC).

Los animales fueron sometidos a las pruebas conductuales de la actividad motora a campo abierto y a la prueba de reconocimiento de objetos, las cuáles fueron videograbadas para su posterior análisis.

5.2. Pruebas Conductuales

5.2.1. Prueba de Actividad motora

La prueba de actividad motora se llevó a cabo con el propósito de registrar la distancia recorrida. Consiste en dejar que el animal explore libremente la caja de campo abierto (60 x 60 x 60 cm) dividida en 9 cuadrantes durante un tiempo de 10 minutos. El desplazamiento se cuantificó mediante el número total de visitas a los cuadrantes, multiplicado por la medida de un lado del cuadrante (20 cm). Las visitas por cuadrante se consideran cuando la rata ha pasado al menos la mitad de su cuerpo por éste (sin contar la cola). Los datos obtenidos fueron registrados para su posterior análisis como distancia total, velocidad y visitas al centro vs periferia.

5.2.2. Prueba de Reconocimiento de Objetos Novedosos (NOR)

Primero se realizó la evaluación de la memoria de corto y largo plazo mediante las pruebas de NOR. Esta prueba se aprovecha de la tendencia natural de los roedores a explorar objetos percibidos como “nuevos”, y se compone de tres etapas:

- I. **Habitación:** se coloca al animal en una caja de campo abierto (área de estudio dividida en 9 cuadrantes; la caja es de dimensiones cuadradas: 60 cm de ancho X 60 cm de largo X 60 cm de alto), sin ningún objeto, por un periodo de 10 minutos.
- II. **Fase I (Familiarización de Objetos):** consiste en colocar al animal en la caja y que este se familiarice con dos objetos iguales durante 6 minutos.
- III. **Fase II (Memoria de corto plazo, STM):** Posteriormente se deja descansar durante 2 hrs y nuevamente se introduce al animal a la caja, pero esta vez se coloca uno de los objetos ya familiarizados y un nuevo objeto, e igualmente se deja por 6 minutos. Nótese que la fase I y II se llevan a cabo el mismo día.
- IV. **Fase III (Memoria de largo plazo, LTM):** se realiza 24 horas después de la fase anterior. En esta se coloca a la rata en la caja y se le expone a un objeto familiarizado y otro objeto novedoso que no se le haya presentado antes (un segundo objeto novedoso).

En todas las etapas se contabilizó el tiempo de interacción de la rata con los objetos presentados, y con ello se realizó el cálculo del índice de reconocimiento IR (Ec. 1).

$$IRC = \frac{T_N}{T_t} = \frac{T_N}{(T_N + T_F)} \quad (\text{Ec. 1})$$

En donde:

- T_F – Tiempo de Objeto familiar (es el objeto que permanecerá constante durante todas las fases de la prueba NOR)
- T_{F2} – Tiempo de Objeto familiar 2
- T_N – Tiempo de Objeto novedoso (en el caso de la familiarización T_N es sustituido por T_{F2})
- T_t – Tiempo Total

5.3. Perfusión del Animal de laboratorio

Los animales fueron anestesiados con Pentobarbital sódico. Después, fueron perfundidos con solución salina al 0.9% por el ventrículo izquierdo ligando la arteria aorta

descendente previamente y realizando corte en la aurícula derecha, administrando aproximadamente 60 mL de solución. Este proceso se realiza con la finalidad de eluir la sangre del tejido cerebral. Dependiendo del uso que se le dará el tejido, se añade un paso posterior, en el que se perfunde con paraformaldehído (PFA) al 4% para preservar el tejido. Este paso se omite cuando el cerebro está destinado al protocolo de Golgi-Cox.

Posterior a la perfusión se extraen los cerebros.

5.4. Morfología Neuronal

5.4.1. Protocolo de tinción Golgi-Cox

Los cerebros extraídos se colocaron en solución Golgi-Cox ($K_2Cr_2O_7$ 170 mM, HgCl 2200 mM, K_2CrO 4200 mM) para su almacenamiento en total oscuridad durante 30 días. Al término de este periodo, se dejaron en una solución de sacarosa al 30% durante 5 días en condiciones de total oscuridad. Pasado este tiempo, se realizaron cortes coronales con ayuda de un vibratomo motorizado, para la obtención de cortes con un espesor de 200 μ m. Estos fueron montados en laminillas gelatinizadas, manteniéndolas en una cámara húmeda hasta su revelado.

5.4.2. Protocolo de revelado de la tinción Golgi-Cox

Para el revelado se requiere de condiciones de oscuridad. Las muestras recibieron un tratamiento con hidróxido de amonio durante 30 minutos, seguido de un fijador rápido de película fotográfica Kodak, con un lavado en agua destilada entre cada paso. Finalmente se sometió al tejido a deshidratar mediante lavados con concentraciones progresivamente mayores de Etanol. Una vez revelados, los tejidos fueron montados con cubreobjetos y resina sintética. Los tejidos se conservaron en oscuridad para su secado y observación posterior.

5.4.3. Trazado de Neuronas

Para el trazado de neuronas, se empleó una cámara lúcida adaptada a un microscopio Leica modelo DMSL. En primera instancia, se ubicó el área de interés con ayuda de coordenadas estereotáxicas (*The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, Paxinos & Watson, 2007). En el caso de este proyecto las áreas de interés se enlistan a continuación: (1) neuronas piramidales de la capa III de la Corteza Prefrontal (CPF), (2) las neuronas piramidales de la región CA1 y (3) neuronas granulosas del Giro Dentado

(GD) del hipocampo dorsal. La elección de la célula más adecuada se realizó tomando en cuenta los siguientes parámetros:

1. El soma neuronal debe encontrarse dentro de la región de interés
2. La neurona debe estar completamente teñida
3. Se deben observar por lo menos tres dendritas basales primarias, las cuales se ramifiquen
4. Las neuronas deben estar lo más intactas posibles.

Al encontrar una neurona que cumpla con todos los parámetros previamente mencionados, se procedió a trazarla sobre una hoja de papel, utilizando el objetivo 40X (Fig. 15). Para cada región de interés se trazaron 10 neuronas en total por sujeto, específicamente 5 neuronas por hemisferio de cada rata.



Figura 15. Representación del trazado de neuronas utilizando una cámara lúcida.

5.4.4. Análisis de Sholl

La evaluación morfológica se llevó a cabo mediante el análisis de Sholl, este análisis es utilizado como herramienta para evaluar la arborización dendrítica en neuronas individuales. Se consideran intersecciones dendríticas de acuerdo con distancias establecidas por círculos concéntricos a partir del soma neuronal (Fig. 16). Los datos obtenidos son: longitud dendrítica, número total de ramificaciones dendríticas y arborización, los cuales se describen en la tabla 7. Con base en los datos recopilados, se puede conocer el número de ramificaciones y patrones generales de ramificación de las neuronas.

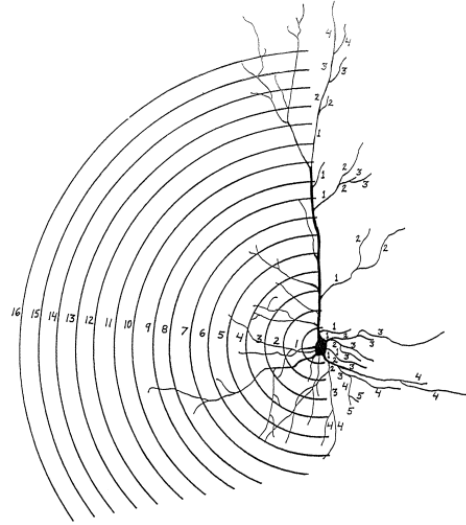


Figura 16. Representación de la plantilla de círculos concéntricos utilizados para el análisis de Sholl. La distancia entre cada circunferencia está calibrada a aumentos de 10 μm en el radio de estos.

Tabla 7. Parámetros registrados en el análisis de Sholl.

Longitud dendrítica total	Valor promedio obtenido por cada círculo concéntrico (10 μm de diferencia entre cada círculo que antecede a otro) obtenido con base en el número de dendritas que cruzan cada círculo. Se graficó el número de intersecciones contra el número ordinal de cada círculo.
N° total de ramificaciones	Valor determinado a partir de los órdenes de bifurcación de las dendritas, comenzando desde el soma hasta la parte más distal de la neurona.
Arborización dendrítica	Se obtiene al graficar el total de las intersecciones dendríticas que tiene cada círculo concéntrico.

5.5. Cuantificación Celular

Los cerebros destinados al análisis por conteo celular fueron colocados, posterior al protocolo de perfusión, en una solución de sacarosa al 30%, como crioprotector para su posterior corte en el criostato. Los cerebros fueron seccionados para la obtención de Hipocampo (por grupo experimental). La sección relevante fue colocada en medio de congelación de tejidos (LEICA ©), y el corte fue realizado a 30 μm . Cada corte fue montado en portaobjetos gelatinizados, en una distribución de 4 cortes por laminilla.

5.5.1. Protocolo de Tinción de Nissl

La tinción de Nissl se basa en el uso del violeta de cresilo para la detección de cuerpos de Nissl en el citoplasma de las neuronas, los cuales son cúmulos de retículo endoplasmático rugoso. Estos se tiñen con colorantes básicos (como el cresil violeta) debido al gran contenido de ribosomas y por tanto de RNA (ribosomal y mensajero). En este trabajo se utilizó esta tinción para la identificación de neuronas en el tejido cerebral.

Se seleccionaron 3 laminillas de cortes, con una separación de 120 μm entre cada una. Posteriormente, la laminilla fue hidratada brevemente en agua destilada para después colocarse en Violeta de Cresilo durante 3 minutos. Concluido este tiempo, la laminilla se sometió a dos lavados en Etanol al 95% y Etanol Absoluto (1 min c/u). Por último, se aclaró el tejido con Xilol (30 segundos). Una vez terminado el protocolo, se montó la laminilla con cubreobjetos y resina sintética. Las laminillas se dejaron reposar y secar durante un mínimo de 3 días antes de su manejo en el microscopio de campo claro.

5.5.2. Cuantificación celular por área

Posterior a la tinción, las laminillas fueron observadas al microscopio a 4x para la obtención representativa del Hipocampo y CPF, así también a 40x para el conteo celular de las regiones CA1, GD y CPF. La cuantificación celular se realizó utilizando la herramienta multi-pointer en el programa de ImageJ, estandarizando mediante los siguientes parámetros: un área 100 x 100 μm (10 000 μm^2) para las regiones correspondientes a hipocampo dorsal, y un área de 200 x 200 μm (40 000 μm^2) para la región de CPF. Otros parámetros se resumen en la Tabla 8. Los resultados fueron registrados para la obtención del conteo promedio por cerebro.

Tabla 8. Parámetros para el conteo celular por área.

PARÁMETROS	REGIONES	
	Hipocampo	Corteza Prefrontal
Grosor del tejido	30 μm	30 μm
Región seleccionada (coordenadas estereotáxicas respecto a Paxinos, y Watson, 2007)	Región CA1 Región de GD Bregma -3.24 mm a -4.20 mm	Región Cg1 Bregma 4.20 mm a 3 mm
Área de conteo	10 000 μm^2	40 000 μm^2
Magnificación del objetivo utilizada	Imagen representativa: 4x Imagen para conteo: 40x	

5.6. Análisis Estadístico

El análisis estadístico de todos los datos obtenidos se realizó en el programa GraphPad Prism versión 8.0. El tratamiento específico en cada uno de los casos se especifica a continuación.

5.6.1. Pruebas Conductuales

Todos los datos obtenidos de distancia total recorrida e IRc para las 3 fases de la prueba NOR, fueron analizados. La actividad motora fue analizada mediante ANOVA de una vía ($p < 0.05$), mientras que los IRc fueron comparados mediante una ANOVA de dos vías ($p < 0.05$).

5.6.2. Morfología Neuronal

Los datos obtenidos con el análisis de Sholl (longitud dendrítica total, número de orden y datos de intersección por círculo concéntrico) se analizaron mediante ANOVA de dos vías ($p < 0.05$).

5.6.3. Cuantificación celular por área

Los promedios obtenidos por cerebro, para cada una de las regiones especificadas, fueron analizados mediante ANOVA de una vía ($p < 0.05$). Se realizó un análisis por región, distinguiendo grupo experimental.

VI. RESULTADOS

6.1 GRUPOS EXPERIMENTALES

6.1.1 Parámetros Zoométricos

Adicionalmente se registraron algunos datos zoométricos de los animales (Tabla 9), los cuales ayudaron a confirmar la separación de grupos.

Tabla 9. Datos zoométricos de los grupos experimentales. Se presenta la media \pm SEM.

PARÁMETROS	GRUPOS EXPERIMENTALES		
	ZDF LEAN	OZDF NG	OZDF HiG
Peso (g)	266.5 \pm 10.59	353.1 \pm 23.46	408 \pm 24.09
Cintura (cm) -standing-	16.44 \pm 0.346	18.08 \pm 0.952	20.50 \pm 0.646
Largo (cm)	21.31 \pm 0.499	22.5 \pm 0.476	22.57 \pm 0.297
IMC (g/cm ²)	0.599 \pm 0.028	0.688 \pm 0.047	0.758 \pm 0.037
Grasa peripancreática (g)	0.125 \pm 0.125	1.966 \pm 0.08	2.305 \pm 0.125
Grasa retroperitoneal (g)	0.765 \pm 0.224	9.325 \pm 0.496	11.67 \pm 1.389
Grasa epididimal (g)	1.556 \pm 0.258	7.680 \pm 0.96	9.277 \pm 0.917

Respecto a estas mediciones, se observan diferencias significativas entre LEAN y ambos grupos OZDF en los aspectos de peso (previamente abordado). Respecto al parámetro de cintura, se observaron diferencias significativas entre el grupo Lean y el grupo OZDF NG respecto al grupo OZDF HiG ($p < 0.001$ y $p < 0.05$, respectivamente), mientras que en el largo no se encontraron diferencias significativas. En cuanto al IMC, sólo se encontraron diferencias entre Lean y OZDF HiG ($p < 0.05$). Finalmente, en cuestión de grasas, el peso de la grasa peripancreática, retroperitoneal y epididimal presentó diferencias significativas entre LEAN y ambos grupos obesos (OZDF NG $p < 0.005$; OZDF HiG $p < 0.0001$).

6.1.2 Comparación de pesos

La comparación de pesos entre los grupos experimentales (refiérase a los datos de la Tabla 9) corroboró la diferencia en fenotipos dentro de la cepa ZDF, en donde se nota una diferencia significativa entre los pesos de LEAN y OBESE. Como puede observarse en Fig. 17 sin importar el estado glucémico, los grupos OZDF NG y OZDF HiG presentan pesos similares, mucho mayores a los del grupo LEAN corroborando la condición Obesa.

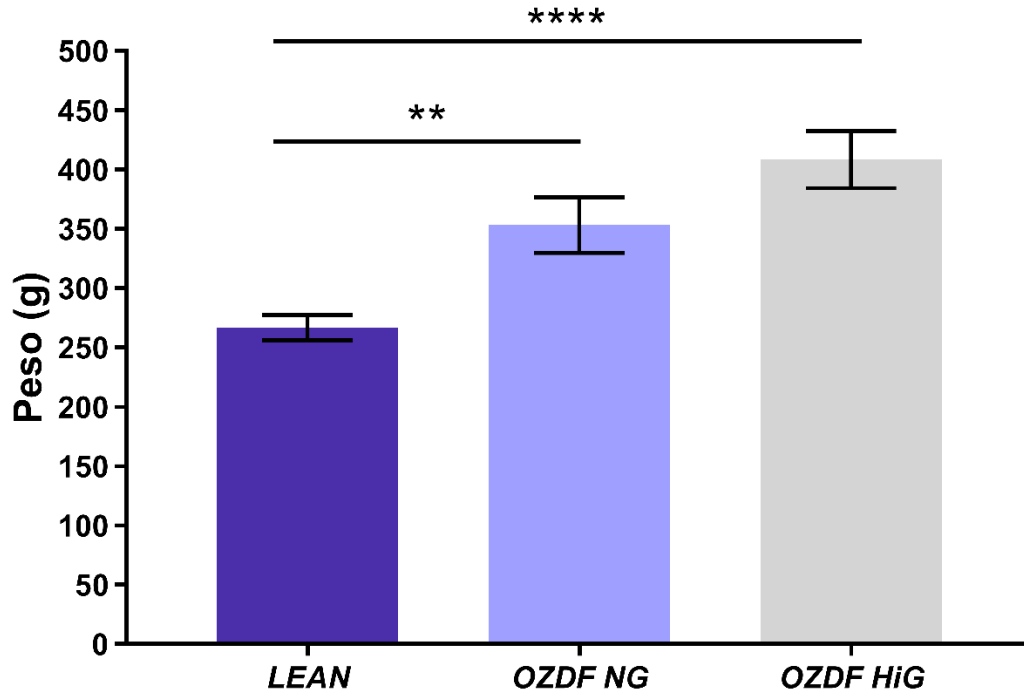


Figura 17. Comparación de pesos entre los 3 grupos experimentales. Se observan diferencias significativas entre LEAN y el resto de los grupos, sin ser relevante la condición glucémica. En la gráfica ** $p < 0.01$, **** $p = 0.0001$. Los datos fueron analizados por ANOVA de una vía con posthoc de Tukey. Se muestra la media \pm SEM ($n=9$).

6.1.3 Curva de Tolerancia a la Glucosa

A partir de la prueba de tolerancia a la glucosa, se evidenció diferencias en el estado glucémico de las ratas dentro del grupo obeso, presentándose entonces una subdivisión dentro de este grupo. La Fig. 18 muestra el comportamiento de la curva para cada grupo experimental. El grupo hiperglucémico (HiG) presenta elevadas concentraciones glucémicas, indicando una pobre tolerancia a la glucosa. Por otro lado, el grupo normoglucémico (NG) tiene niveles similares a los del grupo control (LEAN) a pesar de su condición de obesidad.

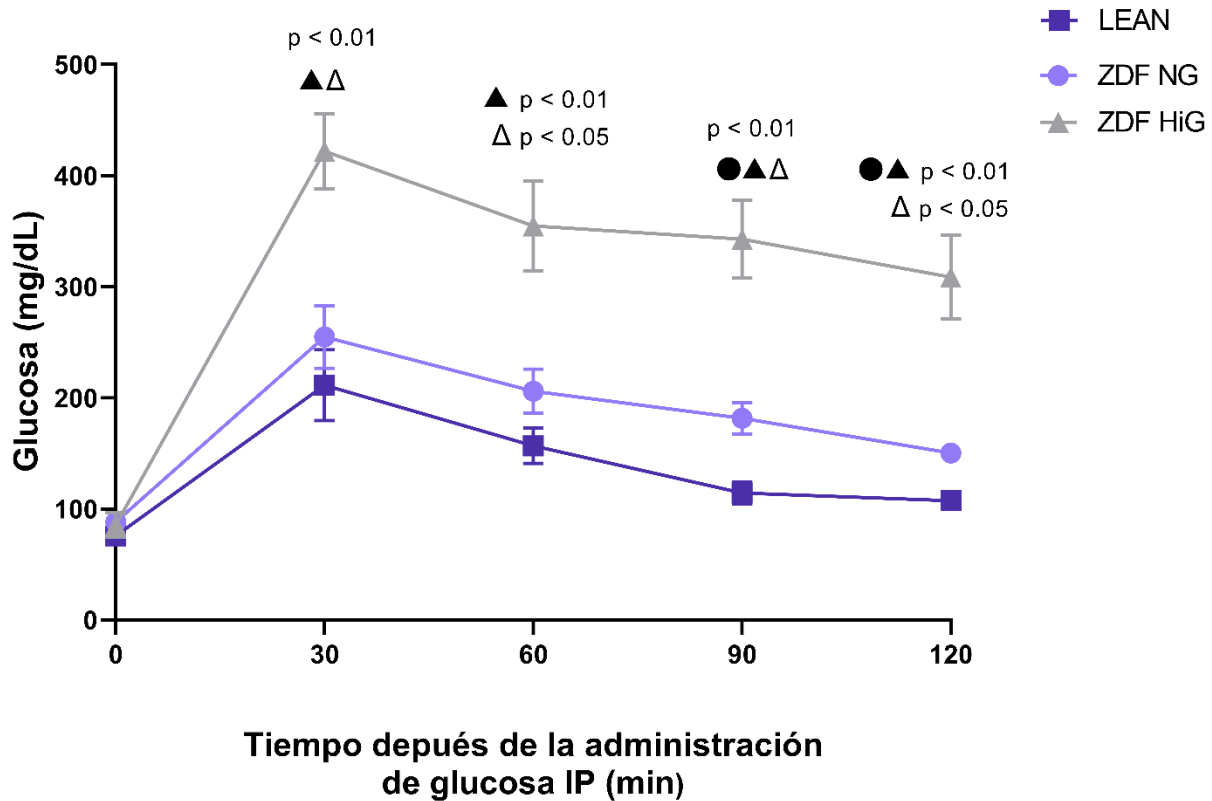


Figura 18. Comparación de la curva de tolerancia a la glucosa. ● representa la diferencia entre LEAN y OZDF NG, ▲ representa la diferencia entre LEAN y OZDF HiG, mientras que Δ representa la diferencia entre OZDF NG y OZDF HiG. ▲ y Δ ($p < 0.0001$). Los datos fueron analizados por ANOVA de dos vías con posthoc de Tukey. Se muestra la media \pm SEM ($n=10$). Valores presentados como media \pm S.E.M.

6.2 ACTIVIDAD MOTORA

6.2.1 Distancia Total

En la prueba de actividad motora, se registraron los datos de distancia total recorrida. Como se observa en Fig. 19, se observaron diferencias entre todos los grupos. Son evidentes las diferencias del grupo LEAN (3008.889 ± 154.168) respecto a los grupos obesos OZDF NG (2310 ± 146.128) y OZDF HiG (1583.33 ± 183.987), resaltando la marcada disminución de actividad locomotora en éstos últimos.

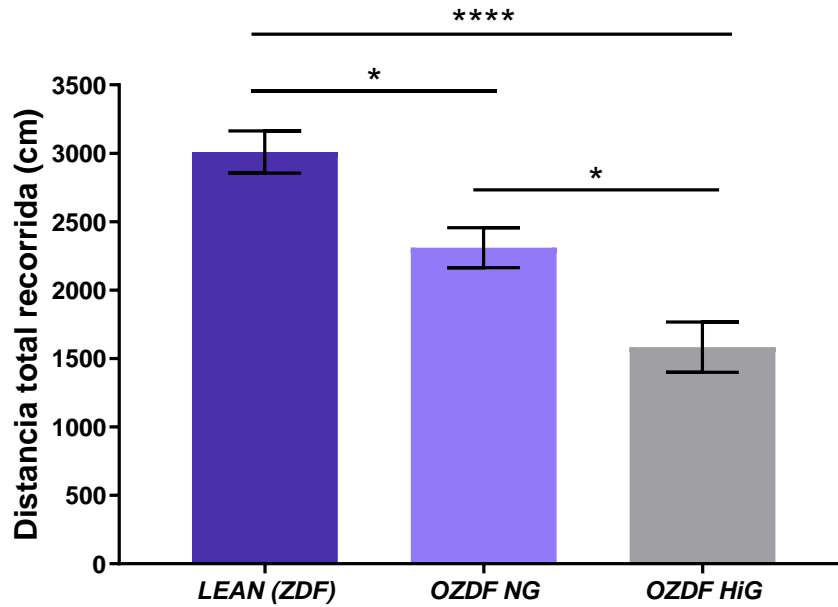


Figura 19. Comparación de distancia total recorrida. Se observan diferencias significativas entre LEAN y el resto de los grupos. En la gráfica * $p < 0.05$, **** $p < 0.0001$. Los datos fueron analizados por ANOVA de una vía con posthoc de Tukey. Valores presentados como media \pm S.E.M (n=6).

No obstante, es relevante notar la diferencia significativa en la distancia total recorrida entre OZDF NG e HiG, en los que la única diferencia es la condición glucémica, ya que como se reportó anteriormente en Fig. 17, no hay diferencias en los pesos de dichos grupos. Con esto se especula que la diferencia en actividad motora no es producto únicamente de una mayor masa corporal.

6.2.2 Velocidad

Referente a la velocidad (Fig. 20a), calculada como la distancia total entre el tiempo total de movimiento, de encontró que no existen diferencias entre los tres grupos experimentales (LEAN, 21.673 ± 2.231 ; OZDF NG 21.828 ± 0.895 ; OZDF HiG, 20.702 ± 2.048). Sin embargo, si observamos el comportamiento de los tiempos totales de movimiento (Fig. 20b) podemos observar una diferencia entre los grupos normoglucémicos (LEAN, 150.571 ± 10.364 ; OZDF NG, 111 ± 7.095) y el grupo OZDF (76.833 ± 6.036). Similarmente a los datos de distancia total recorrida, la condición glucémica parece ser un factor importante más allá de la obesidad, como factor determinante. Así pues, la diferencia de distancia total y tiempo de movimiento durante la prueba no depende únicamente del mayor peso del animal.

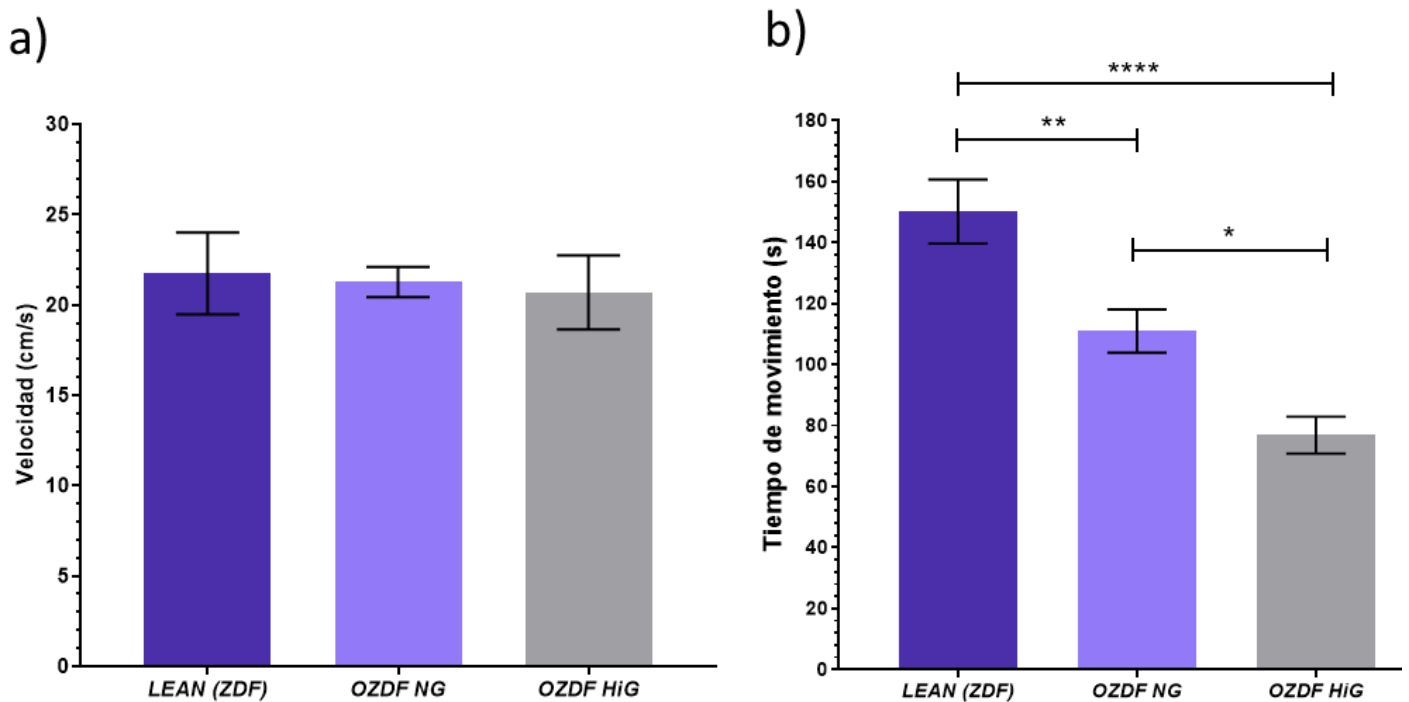


Figura 20. Comparación de a) velocidades y b) tiempos totales de movimiento de los 3 grupos experimentales. Se observan diferencias significativas entre LEAN y el resto de los grupos, así como diferencias en el grupo obeso dependiente de la condición glucémica. En la gráfica * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, **** $p < 0.0001$. Los datos fueron analizados por ANOVA de una vía con posthoc de Tukey. Valores presentados como media \pm S.E.M ($n=6$).

6.2.3 Distancia recorrida en el centro vs periferia

Adicionalmente se realizaron análisis respecto a la distancia recorrida en el centro vs la periferia de la caja de la prueba de campo abierto. En el caso de la periferia, se observan las mismas diferencias entre el grupo control y ambos grupos obesos, sin presentarse

diferencias entre estos últimos (LEAN, 2637.778 ± 135.992 ; OZDF NG 2040 ± 125.113 ; OZDF HiG, 1568.571 ± 194.440); así también en lo referente a las distancias recorridas en el centro (LEAN, 351.111 ± 33.518 ; OZDF NG 223.333 ± 38.093 ; OZDF HiG, 145.714 ± 18.369) (Fig. 21).

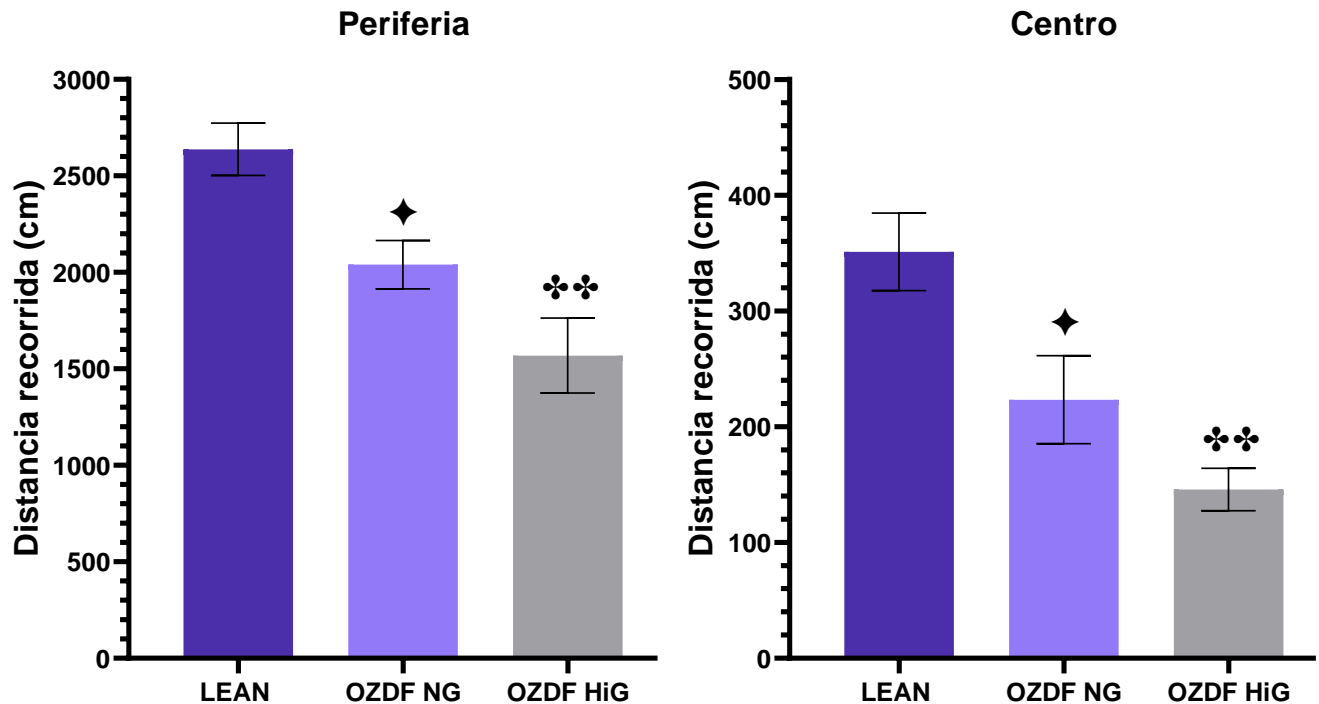


Figura 21. Comparación de distancia total recorrida en periferia vs centro. Se observan diferencias significativas entre LEAN y el resto de los grupos, únicamente en la periferia, sin ser relevante la condición glucémica. En ambas gráficas \blacklozenge ($p < 0.05$) representa diferencia entre Lean/NG, $\clubsuit\clubsuit$ ($p < 0.0001$) representa la diferencia entre Lean/HiG. Los datos fueron analizados por ANOVA de una vía con posthoc de Tukey. Valores presentados como media \pm S.E.M.

Adicionalmente se observa un mayor recorrido por la periferia que en el centro, lo cual también es indicativo de una preferencia estándar de la periferia en vez del centro. Por otro lado, no se reportan diferencias en la distancia recorrida en el centro para ninguno de los grupos.

6.3 RECONOCIMIENTO DE OBJETOS NOVEDOSOS (NOR)

La Fig. 22 muestra los resultados para cada una de las etapas de la prueba NOR. En la fase de familiarización no se observaron diferencias significativas. Así mismo, en la fase de STM tampoco se observaron diferencias, aunque se puede observar una tendencia a la baja en el grupo HiG.

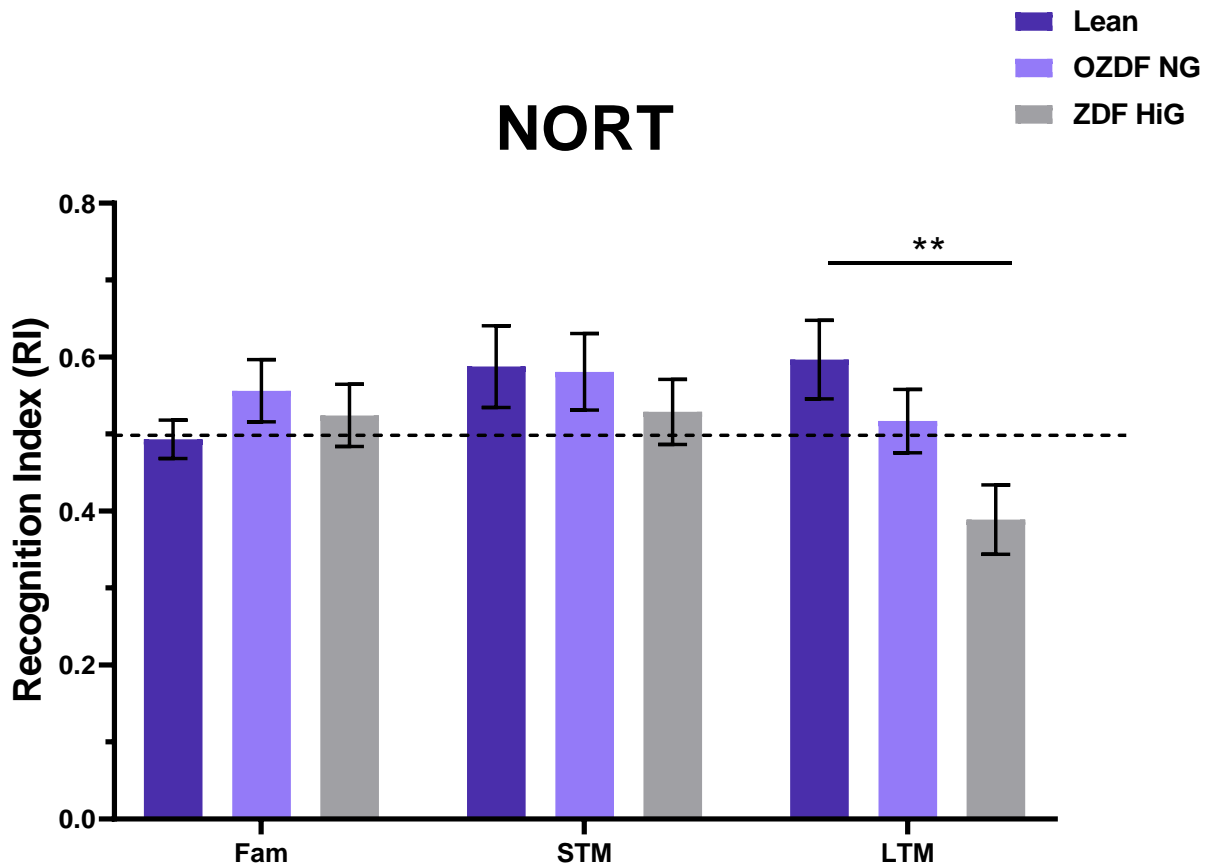


Figura 22. Gráfica de índices de reconocimiento en la prueba NOR. En la gráfica se observa una diferencia significativa ($p = 0.011$) en el desempeño. Los datos fueron analizados por ANOVA de dos vías con posthoc de Tukey ($n=6$). Valores presentados como media \pm S.E.M.*

En la fase de la LTM se observa una diferencia significativa en los índices de reconocimiento del grupo LEAN (0.597 ± 0.05) y el grupo OZDF HiG (0.387 ± 0.05), demostrando la presencia de un déficit en este aspecto de la memoria.

6.4. MORFOLOGÍA NEURONAL

6.4.1. Hipocampo

6.4.1.1. Región CA1

El análisis de la morfología de neuronas piramidales glutamatérgicas en CA1 evidenció la presencia de una hipertrofia dendrítica en las neuronas del grupo OZDF NG. Tal como se presenta en la Fig. 23(A), la longitud dendrítica total del grupo OZDF NG ($1339.572 \pm$

47.230) se encuentra incrementada en comparación al grupo OZDF HiG (1052.196 ± 37.716); y la diferencia respecto a LEAN no fue estadísticamente significativa (1099.546 ± 110.158).

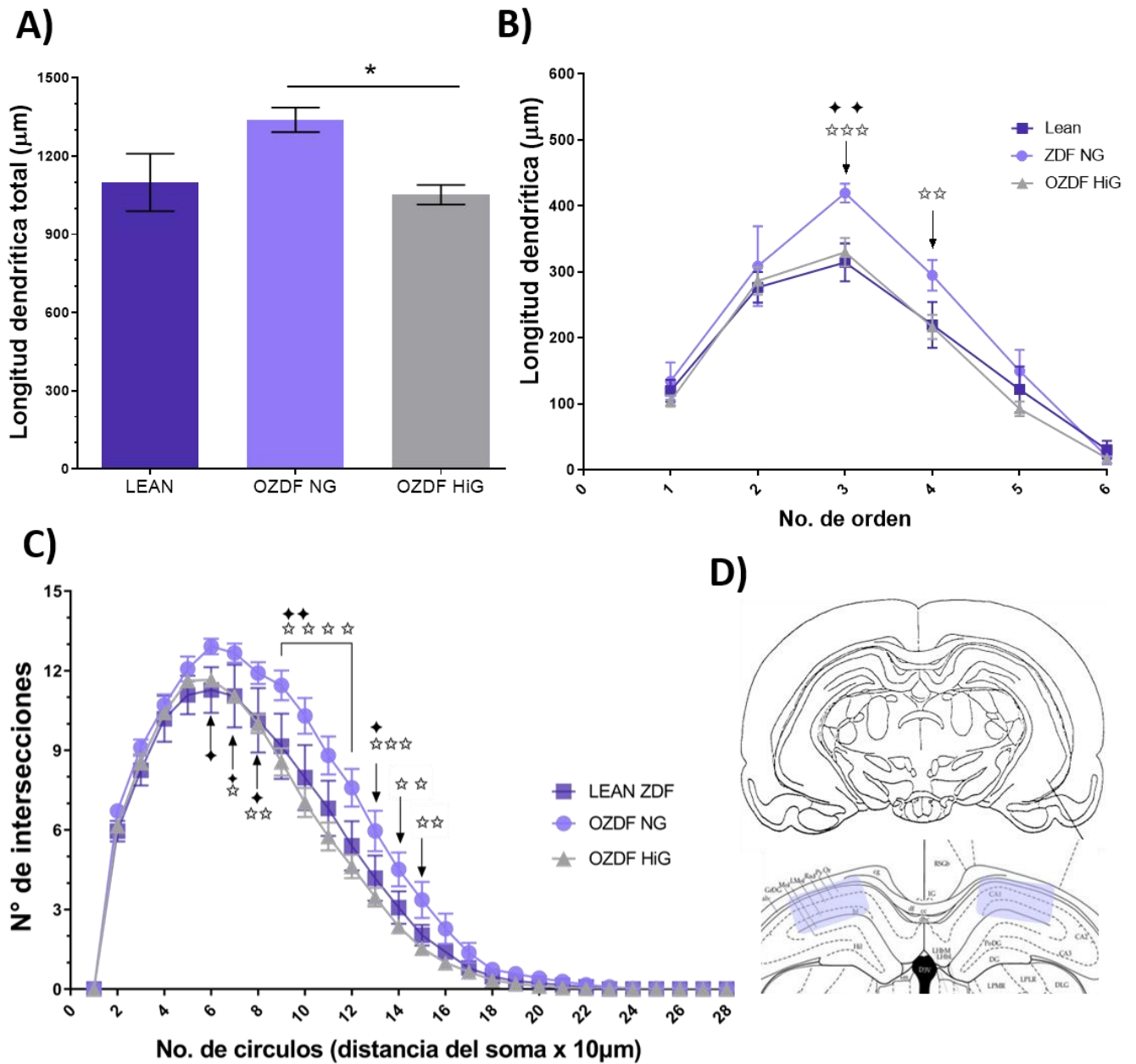


Figura 23. Análisis morfológico de Hipocampo: CA1. **A)** Comparación de la **longitud dendrítica total** de neuronas piramidales de hipocampo dorsal. Se observan diferencias significativas entre OZDF NG y OZDF HiG. En la gráfica * ($p < 0.05$). **B)** Comparación de **longitud dendrítica dependiendo del orden dendrítico**. Se observan diferencias significativas entre LEAN y OZDF NG (♦), así como entre NG/HiG (☆). En la gráfica ♦♦/☆☆ ($p < 0.01$) y ☆☆☆ ($p < 0.001$). **C)** Comparación de la **arborización dendrítica** de cada grupo. Se observan diferencias significativas entre LEAN y OZDF NG (♦), así como entre NG/HiG (☆). En la gráfica ♦/☆ ($p < 0.05$), ♦♦/☆☆ ($p < 0.01$), ☆☆☆ ($p < 0.001$), ☆☆☆☆ ($p < 0.0001$). Los datos fueron analizados por ANOVA de una (longitud total) y dos vías (longitud por orden dendrítico y arborización) con posthoc de

Tukey. Todos los valores presentados en A, B y C se muestran como media \pm S.E.M (n=6). D) Representación esquemática del hipocampo en un corte coronal de cerebro de rata. En el inserto inferior se resalta la región de CA1.

Este comportamiento anterior se confirma al analizar la longitud con relación al número de orden de la dendrita (Fig. 23B), en donde se encontraron diferencias significativas en las dendritas de tercer y cuarto orden entre los grupos. En las dendritas de tercer orden, existe un incremento significativo en OZDF NG en comparación con LEAN ($\blacklozenge\blacklozenge$ $p < 0.01$) y OZDF HiG ($\star\star\star$ $p < 0.001$); mientras que en las dendritas de cuarto orden sólo se presentó una diferencia significativa en OZDF NG y OZDF HiG ($\star\star$ $p < 0.01$). Finalmente, la arborización dendrítica en esta zona (Fig. 23C) presenta incrementos significativos en la longitud dendrítica para el grupo OZDF NG respecto a LEAN y OZDF HiG desde la capa 6 hasta la 15 de círculos concéntricos. Así pues, el comportamiento morfológico de las neuronas de CA1 del grupo LEAN y del grupo OZDF HiG parece no ser distinto.

6.4.1.2. Giro Dentado

El análisis de la morfología de neuronas granulares de la región Giro Dentado evidenció *una tendencia* a la hipotrofia dendrítica en las neuronas del grupo OZDF HiG. En la Fig. 24A se presenta la comparación de longitudes dendríticas totales en la que, si bien no existe una diferencia estadísticamente significativa, se aprecia cierta tendencia a la disminución del promedio de longitud dendrítica total del grupo OZDF HiG (651.073 ± 35.522) en comparación con el grupo LEAN (817.201 ± 92.255) y OZDF NG (904.035 ± 120.100). Así mismo, respecto a LEAN/NG no se encontraron diferencias significativas.

Cabe resaltar que, al analizar el resto de las gráficas, es evidente la reducción de longitud dendrítica y arborización del grupo OZDF HiG, y que los valores del grupo LEAN y OZDF NG son muy similares entre sí. Primeramente, al analizar la longitud dendrítica en relación con el número de orden (Fig. 24B), se encontraron diferencias significativas en las dendritas de tercer y cuarto orden entre LEAN y OZDF HiG ($\clubsuit\clubsuit$ $p < 0.01$), así como entre NG/HiG ($\star\star\star\star$ $p < 0.0001$ y $\star\star\star$ $p < 0.001$, respectivamente).

Segundo, en la arborización (Fig. 24C) se presentaron diferencias significativas nuevamente entre los mismos grupos, evidenciando un decremento en la longitud dendrítica de OZDF HiG en comparación al grupo LEAN y OZDF NG desde la capa 11 hasta la 21 de los círculos concéntricos (\clubsuit/\star $p < 0.05$, $\star\star$ $p < 0.01$).

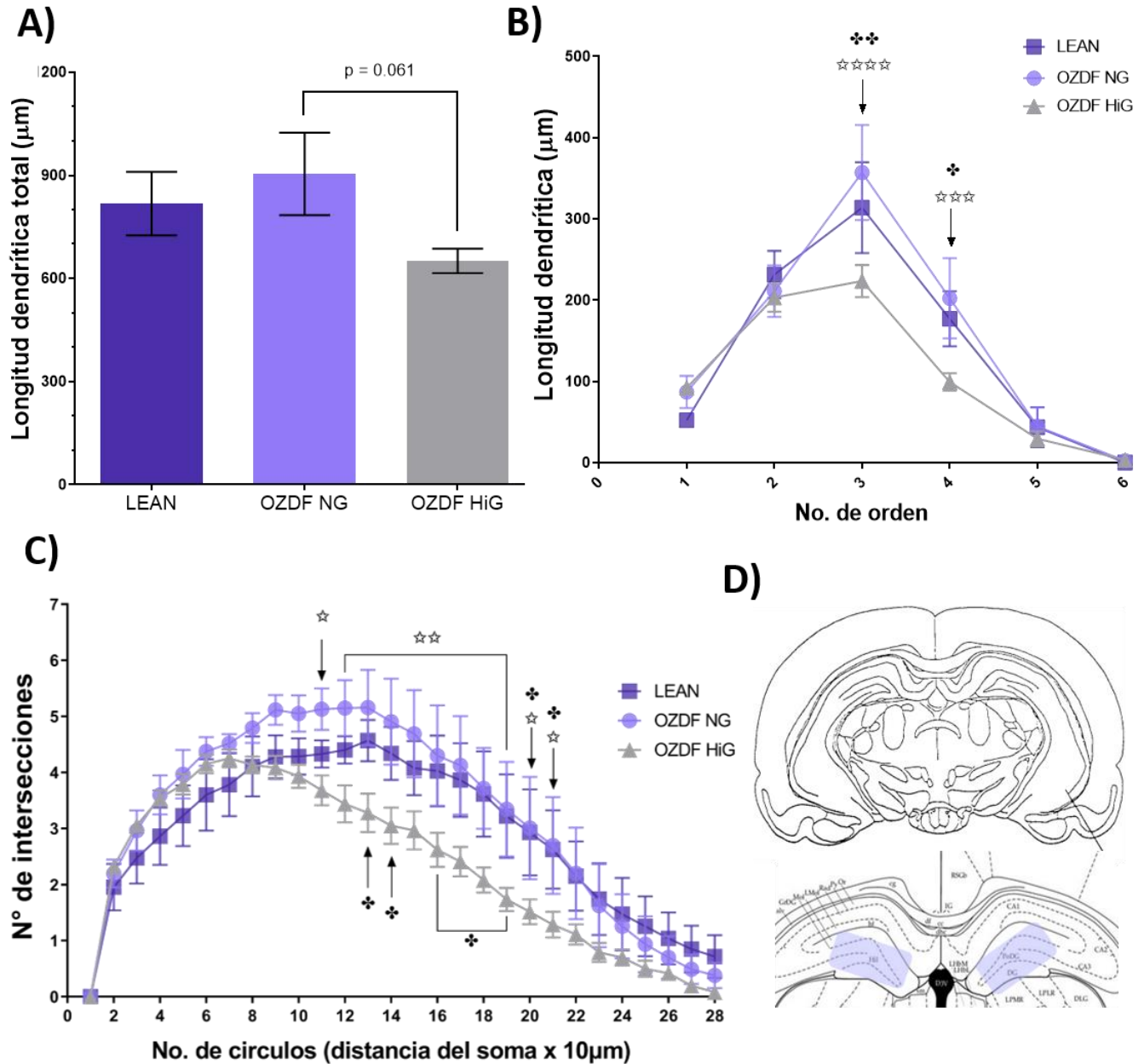


Figura 24. Análisis morfológico de Hipocampo: GD. A) Comparación de la **longitud dendrítica total** de neuronas granulares del Giro Dentado. No se observan diferencias significativas entre grupos, sin embargo, se observa una tendencia a la hipotrofia en el grupo HiG. **B)** Comparación de **longitud dendrítica dependiendo del orden dendrítico**. Se observan diferencias significativas entre LEAN y OZDF HiG (*), así como entre NG/HiG (☆). En la gráfica * (p < 0.05), ** (p < 0.01), *** (p < 0.001) y **** (p < 0.0001). **C)** Comparación de la **arborización dendrítica** de cada grupo. Se observan diferencias significativas entre LEAN y OZDF HiG (*) y entre NG/HiG (☆). En la gráfica */☆ (p < 0.05), ** (p < 0.01). Los datos fueron analizados por ANOVA de una (longitud total) y dos vías (longitud por orden dendrítico y arborización) con posthoc de Tukey. Todos los valores presentados en A, B y C se muestran como media ± S.E.M (n=6). **D)** Representación esquemática del hipocampo en un corte coronal de cerebro de rata. En el inserto inferior se resalta la región del giro dentado.

6.4.2. Corteza Prefrontal

El análisis de la morfología de neuronas piramidales en la capa 3 de la región Cg1 evidenció la presencia de hipertrofia dendrítica en las neuronas glutamatérgicas del grupo OZDF HiG. Tal como se presenta en la Fig. 25A, la longitud dendrítica total del grupo HiG (1366.079 ± 43.255) se encuentra incrementada en comparación con el grupo LEAN (1134.667 ± 76.711) (* $p < 0.05$). Respecto a los grupos LEAN/NG y NG/HiG no se encontraron diferencias. Sin embargo, en el resto de los parámetros se nota también una tendencia en el grupo OZDF NG (1300.150 ± 88.425) al incremento en comparación con LEAN.

Al analizar la longitud dendrítica en relación con el número de orden (Fig. 25B), se encontraron diferencias significativas en las dendritas de segundo y tercer orden. El comportamiento presentado es interesante, ya que en las dendritas de segundo orden se encuentra un incremento significativo en la longitud dendrítica del grupo OZDF HiG respecto a LEAN (♣♣♣ $p < 0.001$) y OZDF NG (☆ $p < 0.05$), mientras que en las dendritas de tercer orden el comportamiento se invierte y las neuronas del grupo OZDF NG tienen una mayor longitud en comparación a LEAN (◆◆ $p < 0.01$).

La arborización en esta zona (Fig. 25C) muestra diferencias significativas únicamente entre los grupos LEAN y los grupos OZDF NG e HiG, evidenciando en estos dos últimos un incremento en la longitud dendrítica en comparación al grupo LEAN desde la capa 6 hasta la 15 de los círculos concéntricos.

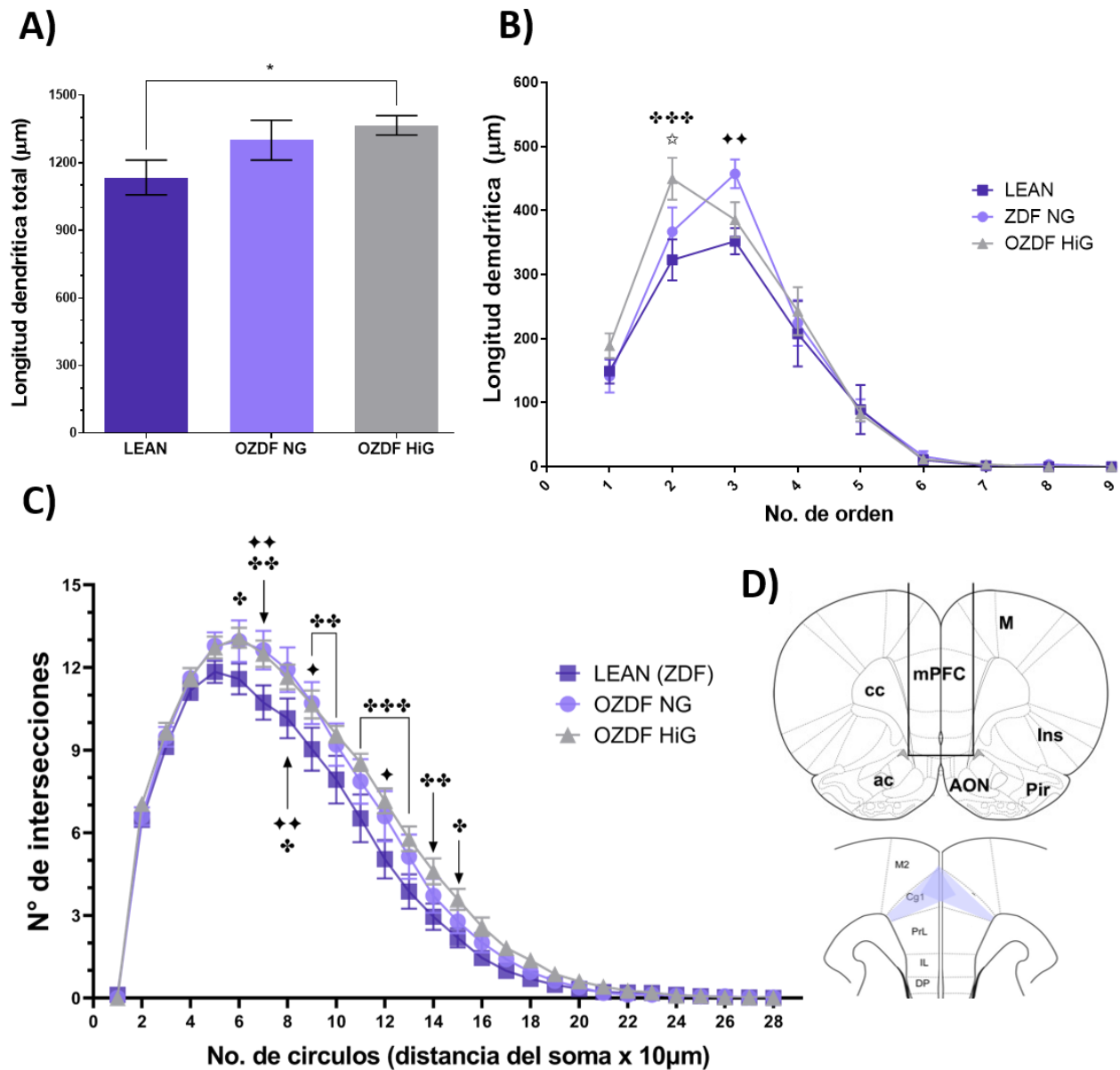


Figura 25. Análisis morfológico de CPF. **A)** Comparación de la **longitud dendrítica total** de neuronas piramidales de corteza Cg1. Se observan diferencias significativas entre LEAN y OZDF HiG. En la gráfica * ($p < 0.05$). **B)** Comparación de **longitud dendrítica dependiendo del orden dendrítico**. Se observan diferencias significativas entre LEAN y OZDF HiG (❀) LEAN y OZDF NG (♦♦), así como entre NG/HiG (☆). En la gráfica ☆ ($p < 0.05$), ♦♦ ($p < 0.01$) y ❀❀❀ ($p < 0.001$). **C)** Comparación de la **arborización dendrítica** de cada grupo. Se observan diferencias significativas entre LEAN y OZDF NG (♦), así como entre LEAN y OZDF HiG (❀). En la gráfica ♦/❀ ($p < 0.05$), ♦♦/❀❀ ($p < 0.01$), ❀❀❀ ($p < 0.001$). Los datos fueron analizados por ANOVA de una (longitud total) y dos vías (longitud por orden dendrítico y arborización) con posthoc de Tukey. Se muestra la media \pm SEM ($n=6$). Todos los valores presentados en A, B y C se muestran como media \pm S.E.M ($n=6$). **D)** Representación esquemática de la corteza prefrontal en un corte coronal de cerebro de rata. En el inserto inferior se resalta la corteza cingulada (Cg1).

6.5. CUANTIFICACIÓN CELULAR POR ÁREA

6.5.1. Hipocampo

6.5.1.1. Región CA1

La cuantificación del número de células en la región CA1 (Fig. 26) mostró una disminución significativa en el conteo del grupo OZDF HiG (32.562 ± 0.473) en comparación al grupo LEAN (36.028 ± 0.667) como al grupo OZDF NG (36.542 ± 0.478), sin existir alguna diferencia entre estos últimos.

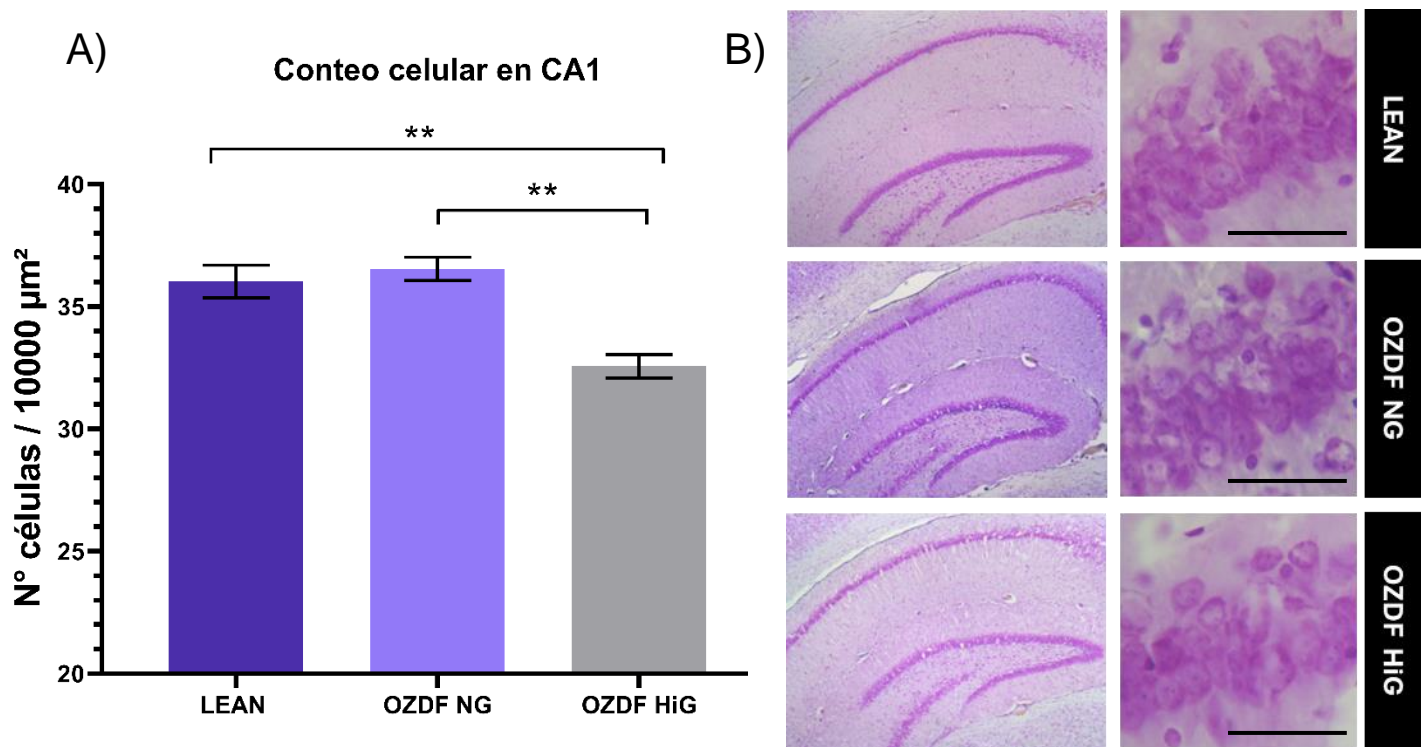


Figura 26. Comparación del conteo celular en la región CA1. **A)** En la gráfica se muestra el promedio del número de células/área para cada uno de los grupos experimentales (** $p < 0.01$); los datos fueron analizados por ANOVA de una vía con posthoc de Tukey. Se muestra la media \pm SEM ($n=4$). **B)** Se muestran micrografías de la región: Izquierda: 4x; Derecha: 40x, la barra de la escala representa 50 μ m.

6.5.1.2. Giro Dentado

Respecto a la cuantificación en Giro Dentado (Fig. 27), se aprecia igualmente una reducción en el conteo celular del grupo OZDF HiG (52.620 ± 0.715) respecto a los grupos LEAN (59.694 ± 1.911) y OZDF NG (59.346 ± 1.998), sin diferencias significativas entre estos últimos.

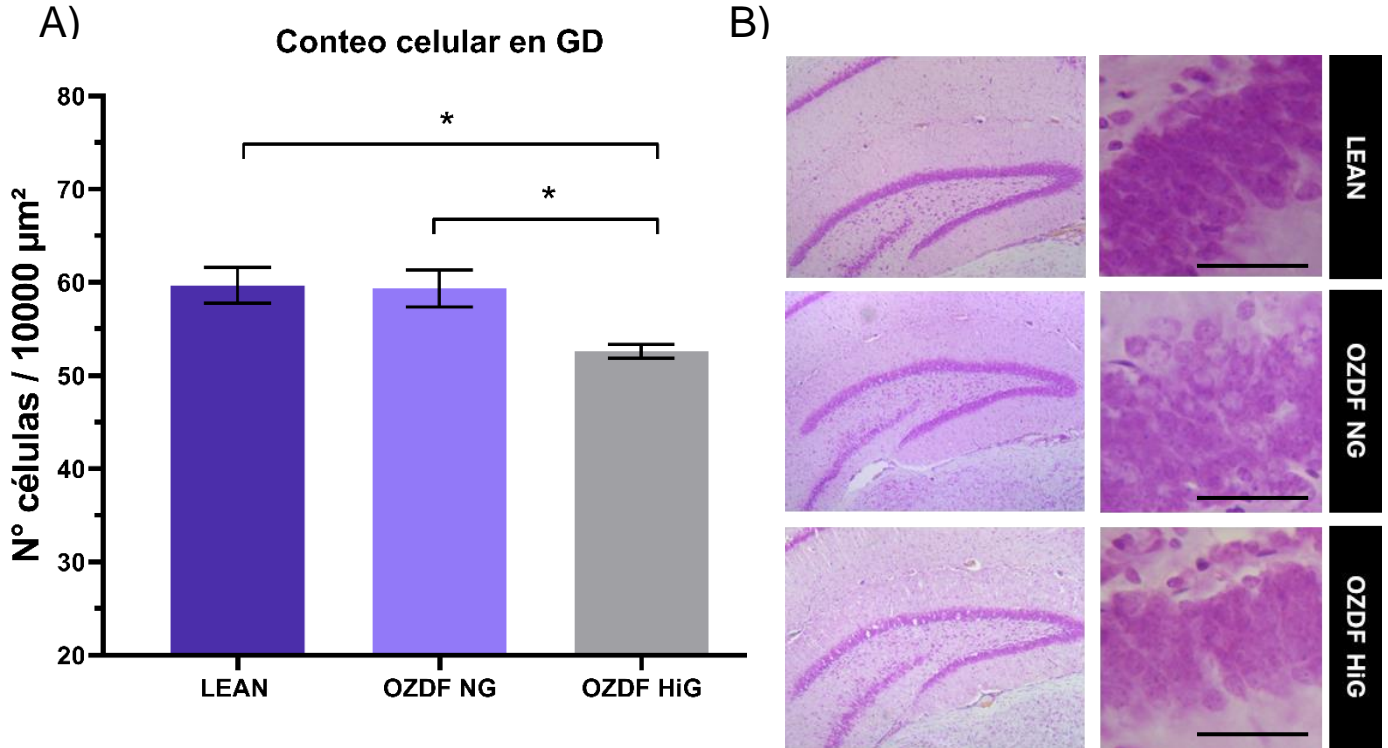


Figura 27. Comparación del conteo celular en la región GD. **A)** En la gráfica se muestra el promedio del número de células/área para cada uno de los grupos experimentales (* $p < 0.05$); los datos fueron analizados por ANOVA de una vía con posthoc de Tukey. Se muestra la media \pm SEM ($n=4$). **B)** Se muestran micrografías de la región: Izquierda: 4x; Derecha: 40x, la barra de la escala representa 50 μm .

6.5.2. Corteza Prefrontal

Para Cg1 de la corteza prefrontal (Fig. 28) únicamente se registraron diferencias en el número de células del grupo OZDF NG (15.854 ± 0.540) respecto al grupo LEAN (19.250 ± 0.495), siendo el promedio de OZDF NG significativamente reducido. Respecto a OZDF HiG no se encontraron diferencias significativas (17.188 ± 0.926).

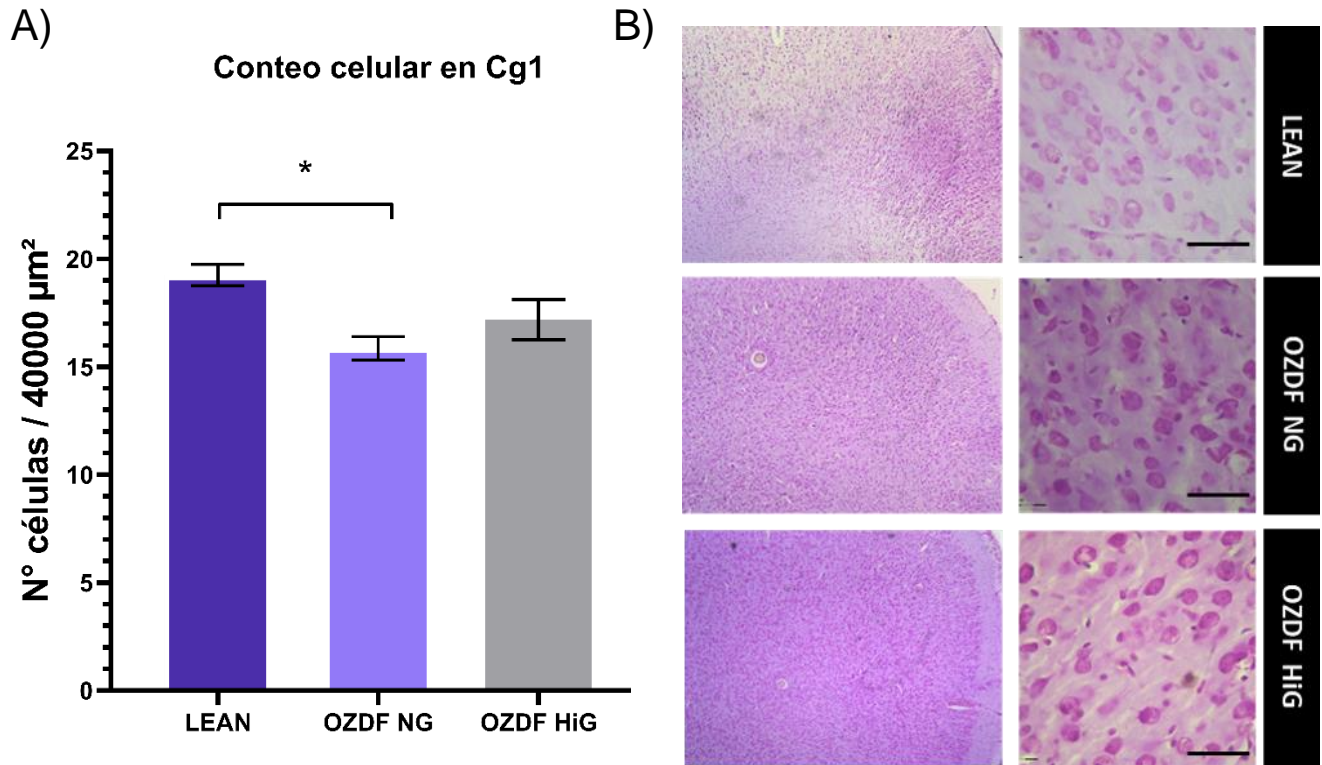


Figura 28. Comparación del conteo celular en la región Cg1. **A)** En la gráfica se muestra el promedio del número de células/área para cada uno de los grupos experimentales (* $p < 0.05$); los datos fueron analizados por ANOVA de una vía con posthoc de Tukey. Se muestra la media \pm SEM ($n=4$). **B)** Se muestran micrografías de la región: Izquierda: 4x; Derecha: 40x, la barra de la escala representa 50 μm .

VII. DISCUSIÓN

En general, los animales en condición de obesidad de la cepa Zucker Diabetic Fatty (OZDF) demostraron cambios importantes respecto al control ZDF LEAN en todos los ámbitos analizados. No obstante, dentro del grupo obeso se encontraron alteraciones conductuales, tisulares y morfológicas asociadas a las regiones del Hipocampo y la Corteza Prefrontal.

7.1. Subdivisión de la condición obesa: Normo-glucemia e hiperglucemia

Los datos obtenidos en el análisis de la condición glucémica demostraron una subdivisión dentro del grupo obeso: obesidad asociada a normoglucemia o hiperglucémica. Lo anterior corrobora lo reportado en la bibliografía acerca de la cepa ZDF, ya que como se mencionó en anteriormente en antecedentes, Wang, *et al.* (2014) hacen la distinción en grupos hiperglucémicos y normoglucémicos, en los cuales los perfiles de glucosa en sangre en normoglucémicos no difieren de los de ZDF Lean no diabéticos a cualquier

edad, mientras que las ratas hiperglucémicas fueron significativamente diferentes de las ratas normoglucémicas ZDF (obesas) y ZDF Lean a partir de las 9 semanas de edad.

Esta característica de la cepa ZDF la hace ideal como modelo de la condición en la diabetes tipo 2 en la población humana, puesto que existen pacientes sanos (LEAN), pacientes predispuestos o únicamente con obesidad, pero sin condición hiperglucémica (OZDF NG), así como grupos diabéticos (OZDF HiG). Por ejemplo, en un estudio realizado en pacientes con diversas condiciones metabólicas, Treviño *et al.* (2022) reportaron la diferenciación entre 4 grupos: pacientes metabólicamente sanos y metabólicamente no saludables, con peso normal (MHN, MUN) y con obesidad (MHO, MUO). Estos estados en pacientes humanos pueden compararse con la condición de la cepa ZDF, como se compara en la tabla 10.

Tabla 10. Comparación de la cepa ZDF con pacientes humanos. En humanos se utilizan las mismas abreviaciones que en Treviño *et al.* (2022): **MHN** (inglés, Metabólicamente sano/peso normal), **MHO** (inglés, Metabólicamente sano/obeso), **MUO** (inglés, Metabólicamente no saludable/obeso). Datos de la cepa ZDF recuperados de Chohnan, *et al.* (2020) y Wang *et al.* (2014) comparados con los presentados en este trabajo (*A)

Parámetros	Control		Normoglucemia		Hiperglucemia	
	LEAN (ZDF)	MHN (Hum)	NG (OZDF)	MHO (Hum)	HiG (OZDF)	MUO (Hum)
Peso	250 g ^A 297.2 g ^{Chohnan}	75.5 Kg	350 g	106 Kg	400 g ^A 338 g ^{Chohnan}	113.6 Kg
Glucosa en sangre en ayunas (mg/dL)	150 ^A 114 ^{Chohnan}	82.1 <i>Fasting</i>	(~150) Wang	107.5	300 ^A 295 ^{Chohnan}	144.4
Triglicéridos (mg/dL)	19.8 ^{Chohnan}	77.9	<i>Sin datos específicos para NG</i>	254	237 ^{Chohnan}	553
Colesterol total (mg/dL)	64.3 ^{Chohnan}	167.9	<i>Sin datos específicos para NG</i>	300	137 ^{Chohnan}	318

Sin embargo, es claro que aún debe realizarse el análisis del perfil inflamatorio para determinar la extensión de las similitudes del modelo con los resultados encontrados en humanos.

7.2. Actividad Motora: más allá de la condición obesa

Se demostró la diferencia en actividad motora entre el grupo control (LEAN) y el grupo obeso (OZDF), cuantificada como la distancia total recorrida y evidenciada con el tiempo total de movimiento (observándose ninguna diferencia en cuanto a velocidad).

Dicho fenómeno puede ser atribuido a la diferencia significativa de peso entre los dos grupos, siendo que un aumento de peso está asociado a un decremento en la actividad motora. No obstante, la explicación detrás de esto puede entenderse desde diversos ángulos: (1) atrofia muscular, (2) déficit en el control de movimiento -en cuestión de conexión o neurotransmisores, o (3) problemas directamente en corteza motora. A continuación, se abordan los mismos.

Primeramente, se tienen registros de que en la rata Zucker obesa existe un incremento en la degradación proteica de músculo esquelético (Argilés, *et al.* 1999), así como reducción en músculo en comparación con ratas Lean Zucker y afectaciones en la capacidad de adaptación del músculo (Katta, *et al.* 2009); es decir que los músculos no presentan una respuesta adecuada al aumento de carga -*mayor peso*-. Esto podría explicar que esta reducción en actividad motora se debe a que la musculatura de la rata obesa no puede soportar el nuevo peso, y por tanto no permite mucho movimiento. En consecuencia, las ratas obesas entran un ciclo vicioso de reducción motora, menor desgaste energético y un incremento de peso. Sin embargo, adicionalmente se registraron diferencias significativas en la actividad motora dentro de los subgrupos glicémicos del grupo obeso (OZDF NG vs HiG). En línea con la previa explicación de atrofia muscular, existe evidencia de que esta podría ser causada o exacerbarse debido a la condición diabética. Por ejemplo, Hirata, *et al.* (2019) demostraron un incremento asociado a la hiperglucemia en los niveles del factor de transcripción KLF5 y así como de expresión de genes relacionados a atrofia muscular, en un modelo diabético de ratón. Interesantemente se observó que la ausencia de este factor protegía a los sujetos contra deterioro muscular asociado a la hiperglucemia. Así pues, en primera instancia es posible argumentar que la disminución en actividad motora puede deberse (1) por el aumento de masa corporal en las ratas obesas, así como por las afectaciones a nivel muscular y (2) que el efecto de distrofia muscular se vea exacerbado al agregar la condición diabética a la ecuación. Además, esto concuerda con los reportes en humanos, donde se ha visto que la diabetes está asociada a una pérdida acelerada de fuerza y calidad de músculo en piernas en adultos mayores (Park, *et al.* 2007). Aun así, es importante recalcar que en general la atrofia muscular en diversos modelos de diabetes no es consistente, pues hay modelos donde no hay cambios en la masa muscular, o bien hay una marcada reducción (Kemmochi, *et al.* 2018)

Segundo, esta disminución en la actividad motora dependiente del estado glucémico podría asociarse a un posible *aumento de en la fatiga* en los animales HiG. Es sabido que pacientes diabéticos presentan fatiga incrementada debido a la falta de captura de glucosa por las células como consecuencia de la resistencia a la insulina. Existe el término de “fatiga central”, el cual es aplicado a aquella fatiga en ausencia de debilidad muscular aparente (Fritsch & Quinn, 2010) o bien un decremento en la activación voluntaria de los músculos asociada a una disminución en activación y sincronización neuronal (Tornero-Aguilera, *et al.* 2022). Se piensa que una posible explicación a la fatiga presentada podría estar asociada a fallos en los circuitos de ganglios basales, CPF, hipotálamo y sistema límbico, así como a desbalances a nivel de neurotransmisores.

Los resultados del presente trabajo concuerdan con estudios previos, en los que ya desde hace más de 4 décadas se ha reportado una reducción en la actividad motora únicamente dependiendo del *estado glicémico* del animal. Shimizu *et al.* (1990) reportaron que una condición hiperglucémica crónica (> 200 mg/dL) es un factor en la disminución de actividad motora en un modelo diabético de estreptozotocina (STZ) en ratas Wistar. Igualmente, en el mismo modelo, Doria, Nadia, y Abdelkrim (2016) y Bădescu *et al.* (2016) reportaron la reducción de actividad motora casi a la mitad en comparación con el control, por el estado diabético. Por otro lado, Can (2018) también reporta una disminución significativa en la actividad locomotora de ratas hiperglucémicas (>300 mg/dL) en comparación con sus controles normoglucémicos, en un modelo de diabetes inducido por STZ en ratas Sprague-dawley. Así mismo, incluso en modelos de ratón (e igualmente inducidos con STZ) se presentaron comportamientos similares (Momeni, *et al.* 2021). Si bien los modelos son diferentes al de la cepa ZDF, estos estudios han demostrado una afectación dependiente únicamente del estado glucémico y no únicamente del peso del animal. Posibles explicaciones a esta dependencia asociada al estado glucémico reportado en el presente trabajo pueden abordarse desde diferentes aspectos. Se ha sugerido en continuas ocasiones que esta reducción en la actividad motora se debe a problemas relacionados a la dopamina, así como a perturbaciones en el estriado. En su estudio, Shimizu *et al.* (1990) sugieren la existencia de perturbaciones dopaminérgicas en receptores postsinápticos. Por su parte, Smythe *et al.* (1984) reportan un decremento en la actividad neuronal del estriado, inversamente relacionada con los niveles de glucosa en sangre. Esta hipótesis es respaldada por otros investigadores, tales como: Bădescu *et al.* (2016) quienes demostraron que la exposición crónica a la cafeína afectó a la actividad locomotora de ratas control, pero no del modelo diabético, sugiriendo afectaciones en receptores dopaminérgicos, ya que la cafeína es un agonista de receptores A1 y A2. Similarmente se reportan asociaciones entre la condición diabética, alteraciones dopaminérgicas en el estriado y los niveles de estrés oxidativo, por ejemplo: Pérez-Taboada *et al.* (2020) reportaron un incremento en estrés oxidativo en ratones diabéticos (modelo STZ y genético db/db), así como una reducción en niveles dopaminérgicos, de sus metabolitos asociados, y de proteínas reguladoras de liberación y recaptura en el estriado. Así pues, y en línea con la evidencia que existe en la biografía relacionada a las deficiencias dopaminérgicas en modelos diabéticos, Tornero-Aguilera, *et al.* 2022 exponen que la reducción en la secreción de dopamina de la Substancia Nigra puede impactar en la activación de los ganglios basales y reducir la activación de la corteza motora.

Pero entonces, ¿cómo se asocian estas modificaciones a las estructuras analizadas en este trabajo? Du, *et al.* (2021) describieron conexiones entre el Hipocampo y el Estriado (Fig 29), e igualmente se pudo observar el involucramiento de la región Cg1 (parte de la CPF). En el hipocampo, puntualmente la región CA1, se encontró una reducción en el número celular, así como una hipertrofia dendrítica en el grupo OZDF NG; aunque cabe destacar que un aumento en la longitud dendrítica no implica que existan espinas dendríticas funcionales. Estas afectaciones en CA1 podrían estar afectando

indirectamente a las funciones en estriado dorsal -control de movimientos conscientes- y Nucleo Accumbens -motivación del movimiento-.

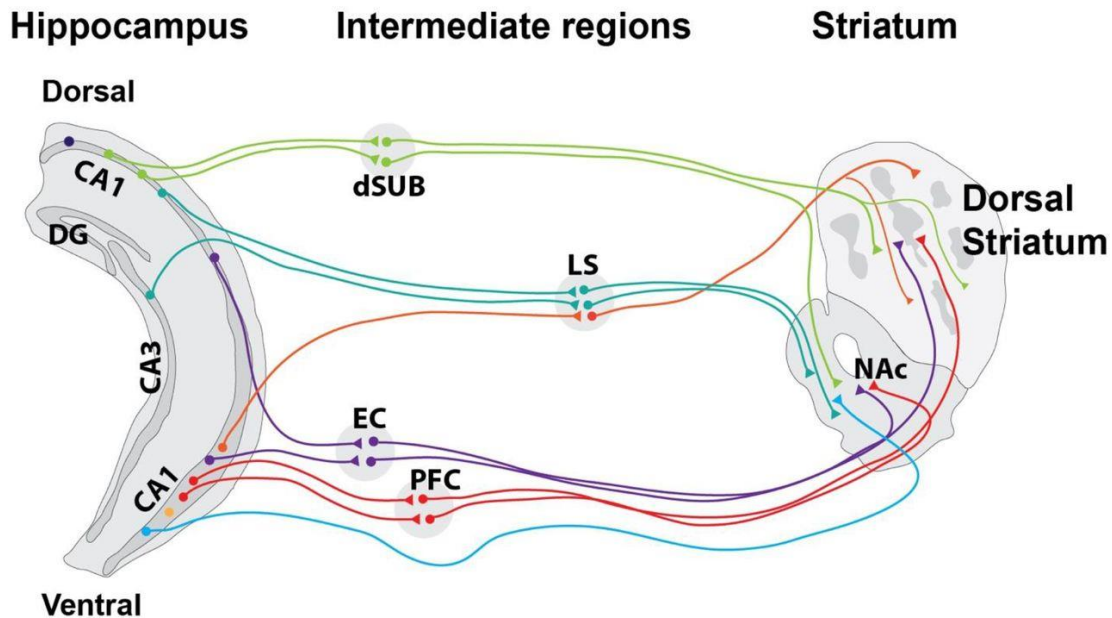


Figura 29. Conexiones entre Hipocampo y Corteza Prefrontal asociadas a los ganglios basales. Recuperado de Du, et al. (2021).

Ahora bien, se sabe que la CPF cuenta con asociaciones directas al estriado, y que éstos son parte de un circuito cerrado CPF-Estriado-Tálamo. Adicionalmente se ha demostrado que la corteza cingulada (Cg) tiene proyecciones directas al Estriado y al Globo Pálido (GP) (Karube, *et al.* 2019). De acuerdo con los datos obtenidos en el presente trabajo, se puede argumentar que los daños en Cg1 tienen cierto involucramiento en la reducción de actividad motora, al no poder modular la actividad del estriado, del núcleo accumbens y del GP (que en ratas es homólogo al GP externo de humanos) en ratas con hiperglucemia (HiG). La reducción en la densidad neuronal de Cg1 y la hipertrofia asociada al incremento en la longitud dendrítica neuronal, así como el hecho de que las neuronas analizadas son de la capa 3 (y que estas son conexiones aferentes al estriado (Anastasiades, & Carter, 2021)), son argumentos razonables para plantear una posible disfunción en el circuito desde la corteza hasta ganglios basales, afectando tanto la vía directa como indirecta. Junto a ello podemos observar que en los grupos HiG (e incluso en el NG con obesidad) el incremento en longitud dendrítica puede ser un proceso de compensación concordante con este fenómeno de pérdida celular.

Respecto a la corteza motora, existen estudios que apuntan a la atrofia directamente en ésta, por lo cual la disminución en la actividad del animal podría ser resultado de problemas de comando motor. Emerick *et al.* (2005) encontraron una atenuación en la activación de algunas neuronas motoras corticales para comando de extremidades anteriores. Igualmente, Muramatsu (2020) discute amplia evidencia de deterioro

directamente en la vía cortico-muscular (corteza motora M1, el tracto corticoespinal, y las neuronas motoras).

Elucidar cuál de todos estos argumentos es el causante de los problemas motores en una condición diabética comórbida con obesidad o si bien es una compleja interconexión de fenómenos, es un trabajo que requiere de más estudio.

Finalmente, es necesario mencionar que nuestros resultados de actividad motora no sugieren un cambio en el estado de ansiedad de los animales, al menos cuantificado como número de entradas al cuadrante central (y evidenciado por el comportamiento de la trayectoria). Se destaca que en ninguno de los grupos existieron anormalidades y que en el recorrido que realizaron los animales no existió una preferencia o aversión particular por el centro. A pesar de ello, sería necesario evaluar nuevamente a los grupos, considerando ahora el tiempo transcurrido en el centro para poder afirmar o descartar si hay un comportamiento ansioso o no, ya que autores mencionan la presencia de una asociación entre el aumento de peso y el aumento en comportamientos similares a ansiosos en ratas con obesidad, incluida la cepa Zucker (Alonso-Caraballo, *et al.* 2019; Vogel, *et al.* 2017; Rebolledo-Solleiro, *et al.* 2017), así como en modelos inducidos por STZ de hiperglucemia (Momeni, *et al.* 2021; Ergenc, *et al.* 2022).

7.3. Déficit en la memoria a largo plazo

Respecto a la memoria de reconocimiento, se evidenció un déficit en la memoria de largo plazo únicamente en el grupo OZDF HiG. Este déficit puede estar asociado a las deficiencias morfológicas y de población celular en Hipocampo y CPF.

Evidencia del déficit en memoria en modelos diabéticos ha sido reportada tanto en modelos animales como en pacientes humanos. De conformidad con lo encontrado en este trabajo, Kassab, *et al.* (2019) han reportado déficits en la memoria de reconocimiento de largo plazo (pero no en la de corto plazo) de animales diabéticos, en un modelo de STZ en ratas Wistar (8 semanas post STZ). No obstante, en otros estudios se ha demostrado un déficit en ambos tipos de memoria, Alqudah, *et al.* (2022) reportan una deficiencia en la memoria de corto y largo plazo (analizada mediante la prueba de radial water maze) en el mismo modelo a 12 semanas. Es verosímil argumentar que los daños presentados en el grupo de estudio del presente trabajo, al ser aún en una etapa aguda, no se manifiesten por completo todavía. Por ello, valdría la pena seguir analizando los cambios en la cepa ZDF en un lapso crónico. Este déficit en la memoria puede ser resultado de los cambios observados en morfología y conteo celular tanto en regiones hipocampales (GD, CA1) y CPF, siendo dichos cambios asociados a procesos moleculares consecuencia de la condición diabética.

Si bien, a conocimiento del autor no existen reportes del conteo celular en región de Hipocampo para la cepa ZDF, los resultados de conteo celular son consistentes con la literatura para otros modelos murinos con hiperglucemia. Gupta, *et al.* (2022) hacen una

revisión en la que se encontró que la condición de hiperglicemia es un factor que suprime el crecimiento de las células granulares del GD. Por su parte, Can, *et al.* (2018) reportan una disminución global en el número de células de las regiones CA1-3 así como de la región del GD en un modelo de diabetes por STZ. Esto es comparable a lo encontrado por Li *et al.* (2021) en donde se encontró que pacientes con DT2 mostraron déficit de memoria, así como una reducción hipocampal significativa, particularmente en la capa molecular, y granular del GD. De forma similar, en pacientes con DT2 también se ha encontrado una disminución en el volumen hipocampal, así como una correlación de déficit en memoria asociado a la disminución particularmente del volumen de CA1 (Zhang, *et al.* 2015).

Estas atrofas afectan a los procesos de memoria de diversas formas. Las atrofas en el GD pueden afectar todo el flujo de información hipocampal, siendo que éste recibe la información proveniente de la corteza entorrinal. Una afectación en el GD implica un evento en cascada, donde el circuito trisináptico canónico ya no recibe información apropiadamente. Hainmueller y Bartos (2020) argumentan que el GD y sus eferencias de fibras musgosas son relevantes para la codificación de memoria, pero no para su recuperación/evocación. Adicionalmente, el GD se encarga de la separación de patrones de codificación de la memoria (Hainmueller, & Bartos, 2020; Roux, Leger, & Freret, 2021). Así pues, en este contexto, si la rata OZDF HiG se encuentra con déficits en GD, la representación del objeto familiar podría no estar codificándose apropiadamente y como consecuencia la memoria de largo plazo se ve afectada; o bien, existe interferencia en el proceso de recuerdo del objeto familiar. Similarmente, las atrofas en CA1 impactan a los procesos de memoria al ser no sólo el principal output del hipocampo, sino la representación efectiva del recuerdo completo, i.e. la integración de la información de la CE III y CA3 (Kovács, 2020; Roux, Leger, & Freret, 2021).

Con respecto a la CPF, Joghataie, *et al.* (2007) reportaron una disminución en la densidad de espinas dendríticas un modelo de STZ. Así mismo, en pacientes con DT2 se reporta una reducción en el volumen de la CPF asociada negativamente a los niveles de HbAc1 (Choi, *et al.* 2020). Por otro lado, se reporta también en un modelo de STZ reducción en la señalización glutamatérgica de la CPF, aunque esta fue asociada a comportamientos depresivos (Baek, *et al.* 2022).

De esta forma, los daños en esta región pueden desencadenar problemas en la memoria de reconocimiento mediante: (1) su asociación con la corteza entorrinal lateral y la función asociativa de reconocimiento de objetos, (2) su papel en la discriminación de objetos y (3) su papel en la consolidación de la memoria de reconocimiento de largo plazo. Weible, *et al.* (2012) realizaron un experimento que sugiere que las neuronas de la corteza cingulada están involucradas en la memoria de reconocimiento de largo plazo, reflejando un recuerdo consolidado del objeto. Por otro lado, Pezze *et al.* (2017) reportan que la corteza cingulada parece ser necesaria en el proceso de recuperación, pero no de codificación de la memoria de reconocimiento, particularmente en recuerdos a largo plazo (24 hrs) pero no recientes. En su experimento, se aplicó una infusión de muscimol

en la corteza cingulada, la cual afectó la habilidad de las ratas de discriminar al objeto nuevo del familiar. Recientemente también se ha reportado una proyección directa entre el hipocampo y la corteza cingulada, la cual activa a las neuronas de la región dorsal de CA1 y CA3, y que se sugiere es esencial para la recuperación de memoria (Rajasehupathy *et al.*, 2015).

En sí la CPF es necesaria para el reconocimiento del objeto en un contexto particular. Esto parece respaldar que una atrofia en la CPF sí afecta la recuperación del recuerdo a largo plazo, asociando que las atrofas presentadas en OZDF pueden estar impactando el reconocimiento del objeto. Explicando la falta de “memoria” respecto al objeto familiar.

Aunado al papel de la CPF en la modulación de la actividad motora (y su diferenciación de acuerdo con el estado glucémico), una deficiencia dopaminérgica podría estar afectando a la consolidación de la memoria de largo plazo. Previamente ya se discutió que existen reportes de una disminución en la vía dopaminérgica asociada a la condición diabética. Esta situación con la dopamina podría estar igualmente asociada a los déficits en LTM. Se le ha asociado como un posible modulador de la función de la CPF, puesto que éste tiene una gran cantidad de aferencias provenientes del Área ventral Tegmental (VTA). Como ya se ha mencionado en el apartado de antecedentes, la CPF parece estar involucrada en la consolidación de la LTM. Evidencia de esta conexión son los resultados de Rossato *et al* (2013), quien en su estudio bloqueó al Área Ventral Tegmental (VTA) posterior al entrenamiento en la prueba de reconocimiento, encontrando un déficit en la LTM, en particular, el bloqueo de receptores D1 y D5 ejercieron el déficit, sugiriendo su papel en la consolidación de la LTM.

Por otro lado, se tienen caracterizadas vías directas e indirectas de comunicación entre el hipocampo y la CPF, no obstante, aquellas relacionadas a la memoria se reportan como la zona ventro-medial de la CPF, las cuales serían la parte Infra y Prelímbica de la corteza. Aunque en este trabajo se realizó la evaluación de la zona Cg1, y no directamente de estas zonas, la Cg1 parece tener proyecciones directas hacia la PL, la cual es la parte central en el circuito de memoria Hipocampo-CPF-Tálamo (Heidbreder, & Groenewegen, 2003; Morici, Bekinschtein, & Weisstaub, 2015; Chao, *et al* 2022).

Finalmente, la comunicación entre el eje Hipocampo-CPF no puede obviarse, ya que se ha encontrado que la sincronización de ambos es requerida para la recuperación de memoria (Xia, *et al.* 2017), así como una activación conjunta en este tipo de tareas, demostrado por la sincronización de ondas theta y el incremento de C-fos en ambas regiones (Wang, *et al.* 2021). Así pues, un fallo en la comunicación entre ambos, sobre todo considerando la importancia de la CPF como un director en el recuerdo contexto-apropiado de la información (refiérase a los antecedentes de este trabajo) podría ser otra explicación al déficit evidenciado.

Entonces, ¿cómo podemos asociar puntualmente a la condición hiperglucémica con la presencia de estos cambios en las estructuras hipocampales? Si bien el propósito de este trabajo es describir las afectaciones observadas en la cepa ZDF, existen

asociaciones en la literatura que pueden proveer una posible explicación a las atrofas evidenciadas. A continuación, se argumentará la relación de 3 factores diferentes: (1) la disminución de neurotrofinas, particularmente el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), (2) estrés oxidativo, (3) inflamación.

Primero, en la literatura se ha sugerido, en humanos y en modelos murinos, un decremento en la concentración de BDNF, la cual se ha registrado en la condición diabética, y que al mismo tiempo ha sido relacionada a la neuroinflamación y el declive cognitivo (Zhen, *et al.* 2013; Kim, & Song, 2020; Tomiga, *et al.* 2022; Shekarchian, Peeri, & Azarbayjani, 2023). Esta reducción del BDNF es relevante en dos aspectos: primero el que esta neurotrofina es esencial para el mantenimiento de dendritas y segundo, el papel que tiene en la regulación del estado oxidativo de la célula.

Si esta hipótesis es correcta, podría explicar la reducción en la longitud dendrítica del grupo obeso HiG. El BDNF es un factor esencial en la función y supervivencia neuronal, al activar diversas vías de señalización mediante el Receptor quinasa B de tropomiosina (TrkB). Por ejemplo, es sabido que la sinaptogénesis es modulada por la señalización de BDNF, y que esta puede modular el proceso mediante el incremento en la arborización axónica y dendrítica, la inducción de botones sinápticos, o la estabilización de sinapsis (Wang, Kavalali, & Monteggia, 2022).

Desde otra perspectiva, el BDNF también contribuye a la creación de un ciclo vicioso oxidativo, pues se ha visto involucrado en la producción de enzimas antioxidantes, como regulador indirecto del metabolismo redox mediante el factor de transcripción sensible a redox denominado Factor 2 relacionado con el Factor Nuclear eritroide 2 (Nrf2) en los astrocitos (Hannan, *et al.* 2020; Ishii, Warabi, & Mann, 2019; Murphy, & Park, 2017). La asociación del BDNF y el Nrf2 se ha evidenciado en Bouvier, *et al.* (2016), donde se describió menor traslocación de Nrf2 como consecuencia de una disminución de niveles de BDNF en el hipocampo; y a su vez, un persistente estado de estrés oxidativo por la disminución de Nrf2.

La relación de ambos comienza con la activación del TrkB mediante el BDNF, la cual a su vez activa la vía del PI3K/AKT, y ésta regula al Nrf2. El Nrf2 se encuentra involucrado en la homeostasis redox mediante la producción de enzimas como la glutatión peroxidasa y la catalasa. La importancia de Nrf2 en el desbalance redox en la diabetes es una vía de investigación prometedora y versátil, ya que estudios recientes apuntan a su papel en la protección de las células β contra estrés oxidativo y nitrosativo (Yagishita, *et al.* 2014). Por otro lado, el impacto de la diabetes sobre la expresión de Nrf2 en cerebro también ha sido reportado. Por ejemplo, Zhao *et al.* 2019 encontraron una disminución en la expresión de Nrf2 en células HT22 cultivadas en una condición de glucosa alta, y aunque se podría argumentar que no se ha encontrado un incremento directo en los niveles de glucosa en cerebro en pacientes diabéticos, Wang, *et al.* (2020) reportaron un incremento de factores inflamatorios y de estrés oxidativo, acompañado de una reducción en la expresión de Nrf2 en un modelo murino. El decremento de Nrf2 en la condición diabética podría ser otro eslabón en la cadena que una a la diabetes con el

estrés oxidativo, la lipoperoxidación y la muerte neuronal en el cerebro. Cabe mencionar que, adicionalmente a su papel en el control antioxidante, Nrf2 se ha visto implicado en la regulación del metabolismo de glucosa, incrementando la captura de esta en neuronas y astrocitos (Esteras, *et al.* 2023).

Bajo este panorama, se puede argumentar que la disminución en la densidad celular puede ser consecuencia de un incremento en procesos apoptóticos en el cerebro, como consecuencia del estrés oxidativo (Maciejczyk, Żebrowska, & Chabowski, 2019; Elsaeed, *et al.* 2022). Sadeghi, *et al.* (2016) hacen una revisión del efecto de la diabetes en este tema, y encontraron consistencia entre el aumento de estrés oxidativo y un incremento significativo en el número de neuronas apoptóticas en el hipocampo, incluidos incrementos en la expresión de caspasas y de factores inflamatorios. Huang, *et al.* (2012) y Pignalosa, *et al.* (2021) mostraron una correlación entre el incremento de glucosa en sangre con la presencia de metilglioxal (MGO) en el suero de un modelo STZ hiperglucémico, y que este incremento en la concentración de MGO -precursor de AGEs- se asocia a un mayor porcentaje de apoptosis en neuronas hipocampales. No sólo eso, sino que el aumento de MGO también está relacionado a déficits en la memoria de reconocimiento (medida por prueba de NOR) a corto y largo plazo (Lissner, *et al.* 2021).

Otro eslabón en la cadena de procesos moleculares es el efecto de la posible disminución de Nrf2 y del incremento de estrés oxidativo respecto a los procesos inflamatorios en el cerebro. Primeramente, en diversos estudios se confirma el incremento de citocinas proinflamatorias en la condición hiperglucémica, particularmente TNF- α , IL-1 β e IL-6 (Shekarchian, Peeri, & Azarbayjani, 2023) y de su asociación al déficit cognitivo en humanos y modelos murinos (Anita, *et al.* 2022; Piatkowska-Chmiel, *et al.* 2021). Por otro lado, asociando a la condición diabética, Stranahan, *et al.* (2016) reportan en un modelo susceptibilidad de la barrera hematoencefálica, que en consecuencia facilita la infiltración de macrófagos al SNC e inducción de citocinas al hipocampo. Este incremento en factores inflamatorios puede relacionarse al estrés oxidativo, puesto que niveles excesivos de ROS/RNS se han reportado como iniciadores de procesos inflamatorios. Aunado a esto, la reducción en la expresión de Nrf2 previamente mencionada eleva la expresión de NF κ B (Jin, *et al.* 2008; Pan, *et al.* 2018), un factor de transcripción que controla la expresión de factores inflamatorios como TNF- α , IL-1 β e IL-6 (Liu, *et al.* 2017).

Cerrando el ciclo vicioso entre estos 3 factores mencionados, se han sugerido a los propios factores inflamatorios como responsables por el decremento en niveles de BDNF. Por ejemplo, Yap, *et al.* (2021) reportan una reducción en BDNF correlacionada a un incremento de IL-1 β , posiblemente mediante la vía de PI3K/MAPK (Porter, & O'Connor, 2022).

Esta perspectiva que ofrece la literatura como explicación a la atrofia reportada en los resultados de este trabajo, nos plantea un panorama en el cual el estado metabólico del animal propicia el incremento del estrés oxidativo, no sólo como ROS sino también NOS, el cual a su vez puede causar procesos de muerte celular ya sea por apoptosis o daño a la membrana (como consecuencia de una lipoperoxidación). Igualmente, inflamación

crónica de bajo grado, similar a la reportada por Treviño *et al.* (2022) en pacientes obesos y diabéticos crea una interesante línea de estudio alrededor de la propia OZDF NG.

Por último, es relevante mencionar que además de todos estos factores, se ha registrado disminución en factores relacionados a la neurogénesis en un modelo diabético de ratón db/db (el cual también presenta una mutación en el gen receptor a leptina, similar a la cepa ZDF), demostrando impedimentos tanto en la proliferación como diferenciación de neuronas hipocampales a las 12 semanas de edad (Bonds, *et al.* 2020). Por lo cual la disminución en la densidad neuronal también podría explicarse por este medio.

VIII. CONCLUSIONES

Este trabajo ha revelado la presencia de atrofas en la morfología neuronal, una disminución en de conteo celular y modificaciones en el comportamiento de la cepa ZDF. Esto presenta un panorama interesante de estudio, en el cual se puede profundizar sobre los mecanismos detrás de estas afectaciones, así como comparaciones del modelo animal a los pacientes y las diferencias metabólicas que existen, similares a las presentadas entre la OZDF NG e HiG. Lo planteado en el presente, así como aquellos puntos respaldados por la literatura, hacen a este modelo como una opción viable del estudio de los efectos de la condición diabética sobre las habilidades cognitivas, dando un paso más cerca en el camino hacia la elucidación de los mecanismos del daño cognitivo en pacientes diabéticos. Cabe mencionar que profundizar en este tipo de modelos es de gran importancia, ya que si bien existen estudios relacionados a la diabetes y las facultades cognitivas, la investigación en modelos animales está dominado por modelos que no presentan condiciones metabólicas similares, es decir, que únicamente abordan los daños propiciados por la condición de resistencia insulínica o hiperglucémica, pero que no tocan con la intersección de una condición metabólica de obesidad y dislipidemia, factores comúnmente presentes en conjunto a la diabetes.

IX. PERSPECTIVAS A FUTURO

Si bien los objetivos de este trabajo no involucran a los mecanismos de daño, existen diversas oportunidades de seguimiento para esta línea de investigación respecto a (1) la actividad motora, (2) el déficit de memoria y (3) daño a las regiones cerebrales.

Los cambios en la actividad motora de la cepa ZDF crea preguntas de investigación interesantes de carácter interdisciplinario que pueden asociarse a estudios directamente en las zonas motoras del cerebro y a su vez a evaluaciones de atrofia muscular del animal. Por ejemplo, la evaluación de las vías dopaminérgicas en la cepa, así como la evaluación del andar del animal y su coordinación en general, de forma tal que sea posible establecer si esta deficiencia motora es consecuencia de problemas asociados únicamente el SNC, a la placa neuromuscular, o bien a la constitución del músculo de la

rata. Alternativamente, se podría evaluar si la reducción en actividad motora ya es consecuencia temprana de una neuropatía, siendo que en pacientes humanos ya está reportado que aquellos con complicaciones

El déficit de memoria en OZDF HiG requiere de mayor investigación, la cual puede ramificarse a estudios de atención y más pruebas de aprendizaje ya que, si bien no se presentaron problemas en la memoria de corto plazo, por los índices presentados pareciera que existe un problema de aprendizaje (i.e. adquisición y consolidación) en el animal. Adicionalmente, aunque se conoce la relación entre diversas áreas en el cerero asociadas a memoria de reconocimiento, vale la pena realizar la caracterización de estas en la cepa ZDF, como por ejemplo las de la corteza entorrinal o de la zona parahipocampal, y hacer un enfoque a zonas de la CPF reportadas con una relación más directa a la memoria, como lo son la zona Pre- e Infralímbica. Además de que es razonable evaluar si la resistencia a la insulina es un factor con influencia en la adquisición y consolidación del aprendizaje.

Finalmente, las atrofas y reducción del número celular plantean una interesante línea de investigación en la que se ahonde en los posibles procesos moleculares responsables, como los previamente argumentados de estrés oxidativo e inflamación. El evaluar si este modelo presenta condiciones metabólicas similares a las de los pacientes con comorbilidad obesa (que representa a una mayoría de los diagnósticos de DT2) mediante niveles de ROS, RNS, e incluso asociaciones a daños mitocondriales, permitiría a futuro mejorar el entendimiento de la encefalopatía diabética así como las diferentes posibilidades de tratamiento farmacológico.

X. REFERENCIAS

Ahmed, B., Sultana, R., & Greene, M. W. (2021). Adipose tissue and insulin resistance in obese. In *Biomedicine & Pharmacotherapy* (Vol. 137, p. 111315). Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111315>

Aimone, J. B., Li, Y., Lee, S. W., Clemenson, G. D., Deng, W., & Gage, F. H. (2014). Regulation and Function of Adult Neurogenesis: From Genes to Cognition. *Physiological Reviews*, 94(4), 991–1026. <https://doi.org/10.1152/physrev.00004.2014>

Alonso-Caraballo, Y., Hodgson, K. J., Morgan, S. A., Ferrario, C. R., & Vollbrecht, P. J. (2019). Enhanced anxiety-like behavior emerges with weight gain in male and female obesity-susceptible rats. *Behavioural brain research*, 360, 81–93. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.12.002>

Alqudah, M. A. Y., Al-Nosairy, A., Alzoubi, K. H., Kahbour, O. F., & Alazzam, S. I. (2022). Edaravone prevents memory impairment in diabetic rats: Role of oxidative stress. In *Informatics in Medicine Unlocked* (Vol. 33, p. 101096). Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.imu.2022.101096>

American Diabetes Association. (2023). Diagnóstico | ADA. Retrieved from diabetes.org website: <https://diabetes.org/diagnostico>

Anastasiades, P. G., & Carter, A. G. (2021). Circuit organization of the rodent medial prefrontal cortex. *Trends in Neurosciences*, 44(7), 550–563. doi: 10.1016/j.tins.2021.03.006

Anita, N. Z., Zebarth, J., Chan, B., Wu, C.-Y., Syed, T., Shahrul, D., Nguyen, M. M., Pakosh, M., Herrmann, N., Lanctôt, K. L., & Swardfager, W. (2022). Inflammatory markers in type 2 diabetes with vs. without cognitive impairment; a systematic review and meta-analysis. In *Brain, Behavior, and Immunity* (Vol. 100, pp. 55–69). Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2021.11.005>

Argilés, J. M., Busquets, S., Alvarez, B., & López-Soriano, F. J. (1999). Mechanism for the increased skeletal muscle protein degradation in the obese Zucker rat. *The Journal of nutritional biochemistry*, 10(4), 244–248. [https://doi.org/10.1016/s0955-2863\(98\)00098-9](https://doi.org/10.1016/s0955-2863(98)00098-9)

Atherton, L. A., Dupret, D., & Mellor, J. R. (2015). Memory trace replay: the shaping of memory consolidation by neuromodulation. *Trends in neurosciences*, 38(9), 560–570. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2015.07.004>

Bădescu, S. V., Tătaru, C. P., Kobylinska, L., Georgescu, E. L., Zahiu, D. M., Zăgrean, A. M., & Zăgrean, L. (2016). Effects of caffeine on locomotor activity in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of medicine and life*, 9(3), 275–279.

Baek, J. H., Son, H., Kang, J. S., Yoo, D. Y., Chung, H. J., Lee, D. K., & Kim, H. J. (2022). Long-Term Hyperglycemia Causes Depressive Behaviors in Mice with Hypoactive Glutamatergic Activity in the Medial Prefrontal Cortex, Which Is Not Reversed by Insulin Treatment. *Cells*, 11(24), 4012. <https://doi.org/10.3390/cells11244012>

Banday, M. Z., Sameer, A. S., & Nissar, S. (2020). Pathophysiology of diabetes: An overview. *Avicenna journal of medicine*, 10(4), 174–188. https://doi.org/10.4103/ajm.ajm_53_20

Barbas, H. (2009). Prefrontal Cortex: Structure and Anatomy. *Encyclopedia of Neuroscience*, 909–918. doi:10.1016/b978-008045046-9.00427-7

Barrett K.E., & Barman S.M., & Brooks H.L., & Yuan J.J. (2020). Funciones endocrinas del páncreas y regulación del metabolismo de los carbohidratos. *Ganong Fisiología médica*, 26^a Eds. McGraw Hill. <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=2954§ionid=250024836>

Basto-Abreu, A., Barrientos-Gutiérrez, T., Rojas-Martínez, R., Aguilar-Salinas, C. A., López-Olmedo, N., De la Cruz-Góngora, V., Rivera-Dommarco, J., Shamah-Levy, T., Romero-Martínez, M., Barquera, S., López-Ridaura, R., Hernández-Ávila, M., & Villalpando, S. (2019). Prevalencia de diabetes y descontrol glucémico en México:

resultados de la Ensanut 2016. In *Salud Pública de México* (Vol. 62, Issues 1, ene-feb, p. 50). Instituto Nacional de Salud Publica. <https://doi.org/10.21149/10752>

Berbudi, A., Rahmadika, N., Tjahjadi, A. I., & Ruslami, R. (2020). Type 2 Diabetes and its Impact on the Immune System. *Current diabetes reviews*, 16(5), 442–449. <https://doi.org/10.2174/1573399815666191024085838>

Bhatti, J. S., Sehwat, A., Mishra, J., Sidhu, I. S., Navik, U., Khullar, N., ... Reddy, P. H. (2022). Oxidative stress in the pathophysiology of type 2 diabetes and related complications: Current therapeutics strategies and future perspectives. *Free Radical Biology and Medicine*, 184, 114–134. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2022.03.019>

Bierhaus A, Haslbeck KM, Humpert PM, Liliensiek B, Dehmer T, Morcos M, Sayed AA, Andrassy M, Schiekofer S, Schneider JG, Schulz JB, Heuss D, Neundörfer B, Dierl S, Huber J, Tritschler H, Schmidt AM, Schwaninger M, Haering HU, Schleicher E, Kasper M, Stern DM, Arnold B, Nawroth PP. Loss of pain perception in diabetes is dependent on a receptor of the immunoglobulin superfamily. *J Clin Invest*. 2004;114:1741–51

Biessels, G. J., Staekenborg, S., Brunner, E., Brayne, C., & Scheltens, P. (2006). Risk of dementia in diabetes mellitus: a systematic review. *The Lancet. Neurology*, 5(1), 64–74. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(05\)70284-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(05)70284-2)

Bonds, J. A., Shetti, A., Stephen, T. K. L., Bonini, M. G., Minshall, R. D., & Lazarov, O. (2020). Deficits in hippocampal neurogenesis in obesity-dependent and -independent type-2 diabetes mellitus mouse models. *Scientific reports*, 10(1), 16368. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-73401-9>

Bouvier, E., Brouillard, F., Molet, J., Claverie, D., Cabungcal Jh, Cresto, N., ... Becker, C. (2016). Nrf2-dependent persistent oxidative stress results in stress-induced vulnerability to depression. *Molecular Psychiatry*, 22(12), 1701–1713. <https://doi.org/10.1038/mp.2016.144>

Bouyeure, A., & Noulhiane, M. (2020). Memory: Normative development of memory systems. *Handbook of Clinical Neurology*, 173, 201–213. <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-64150-2.00018-6>

Brutsaert, E. F. (2022). Diabetes Mellitus (DM) - Endocrine and Metabolic Disorders. Retrieved from Merck Manuals Professional Edition website: <https://www.merckmanuals.com/professional/endocrine-and-metabolic-disorders/diabetes-mellitus-and-disorders-of-carbohydrate-metabolism/diabetes-mellitus-dm?query=diabetes>

Buzsáki, G. (2015). Hippocampal sharp wave-ripple: A cognitive biomarker for episodic memory and planning. *Hippocampus*, 25(10), 1073–1188. <https://doi.org/10.1002/hipo.22488>

- Byrne, J. H. (2017). *Learning and memory: a comprehensive reference*. Kidlington, Oxford, United Kingdom: Academic Press Is An Imprint Of Elsevier.
- Camina, E., & Güell, F. (2017). The neuroanatomical, neurophysiological and psychological basis of memory: Current models and their origins. *Frontiers in Pharmacology*, 8(1). <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00438>
- Can, Ö., Üçel, U., Demir Özkay, Ü., & Ulupınar, E. (2018). The Effect of Agomelatine Treatment on Diabetes-Induced Cognitive Impairments in Rats: Concomitant Alterations in the Hippocampal Neuron Numbers. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 19, Issue 8, p. 2461). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms19082461>
- Cao, L., Wang, Z., & Wan, W. (2018). Suppressor of Cytokine Signaling 3: Emerging Role Linking Central Insulin Resistance and Alzheimer's Disease. In *Frontiers in Neuroscience* (Vol. 12). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00417>
- Capcarova, M., Kalafova, A., Schwarzova, M., Schneidgenova, M., Svik, K., Prnova, M. S., Slovak, L., Kovacik, A., Lory, V., Zorad, S., & Brindza, J. (2019). Cornelian cherry fruit improves glycaemia and manifestations of diabetes in obese Zucker diabetic fatty rats. *Research in veterinary science*, 126, 118–123. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2019.08.024>
- Chao, O. Y., Nikolaus, S., Yang, Y. M., & Huston, J. P. (2022). Neuronal circuitry for recognition memory of object and place in rodent models. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 141, 104855. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2022.104855>
- Chohnan, S., Matsuno, S., Shimizu, K., Tokutake, Y., Kohari, D., & Toyoda, A. (2020). Coenzyme A and Its Thioester Pools in Obese Zucker and Zucker Diabetic Fatty Rats. *Nutrients*, 12(2), 417. <https://doi.org/10.3390/nu12020417>
- Choi, S. E., Roy, B., Freeby, M., Mullur, R., Woo, M. A., & Kumar, R. (2020). Prefrontal cortex brain damage and glycemic control in patients with type 2 diabetes. *Journal of diabetes*, 12(6), 465–473. <https://doi.org/10.1111/1753-0407.13019>
- Constantinou, M. (2019). Multiple Memory Systems. In: Shackelford, T., Weekes-Shackelford, V. (eds) *Encyclopedia of Evolutionary Psychological Science*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-16999-6_1094-1
- Cruz, N. G., Sousa, L. P., Sousa, M. O., Pietrani, N. T., Fernandes, A. P., & Gomes, K. B. (2013). The linkage between inflammation and Type 2 diabetes mellitus. In *Diabetes Research and Clinical Practice* (Vol. 99, Issue 2, pp. 85–92). Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2012.09.003>
- Daousi, C., Casson, I. F., Gill, G. V., MacFarlane, I. A., Wilding, J. P., & Pinkney, J. H. (2006). Prevalence of obesity in type 2 diabetes in secondary care: association with cardiovascular risk factors. *Postgraduate medical journal*, 82(966), 280–284. <https://doi.org/10.1136/pmj.2005.039032>

- de Souza Bastos, A., Graves, D. T., de Melo Loureiro, A. P., Júnior, C. R., Corbi, S. C. T., Frizzera, F., Scarel-Caminaga, R. M., Câmara, N. O., Andriankaja, O. M., Hiyane, M. I., & Orrico, S. R. P. (2016). Diabetes and increased lipid peroxidation are associated with systemic inflammation even in well-controlled patients. *Journal of diabetes and its complications*, 30(8), 1593–1599. <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2016.07.011>
- DeFronzo, R. A., Ferrannini, E., Groop, L., Henry, R. R., Herman, W. H., Holst, J. J., Hu, F. B., Kahn, C. R., Raz, I., Shulman, G. I., Simonson, D. C., Testa, M. A., & Weiss, R. (2015). Type 2 diabetes mellitus. *Nature Reviews Disease Primers*, 1(1). <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.19>
- Depue, B. E. (2012). A neuroanatomical model of prefrontal inhibitory modulation of memory retrieval. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 36(5), 1382–1399. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2012.02.012>
- Di Camillo, B., Carlon, A., Eduati, F., & Toffolo, G. M. (2016). A rule-based model of insulin signalling pathway. In *BMC Systems Biology* (Vol. 10, Issue 1). Springer Science and Business Media LLC. <https://doi.org/10.1186/s12918-016-0281-4>
- Doria, A. B., Nadia, B., & Abdelkrim, T. (2016). Hesperidin effects on behavior and locomotor activity of diabetic Wistar rat. *African Journal of Biotechnology*, 15(45), 2572–2577. <https://doi.org/10.5897/ajb2016.15715>
- Du, W. R., Li, E., Guo, J., Chen, Y., Oh, S. J., Samuel, A., Li, Y., Oyibo, H. K., & Xu, W. (2021). Hippocampus-striatum wiring diagram revealed by directed stepwise polysynaptic tracing. Cold Spring Harbor Laboratory. <https://doi.org/10.1101/2021.10.12.464132>
- Duarte J. M. (2015). Metabolic Alterations Associated to Brain Dysfunction in Diabetes. *Aging and disease*, 6(5), 304–321. <https://doi.org/10.14336/AD.2014.1104>
- Duarte, A. I., Moreira, P. I., & Oliveira, C. R. (2012). Insulin in central nervous system: more than just a peripheral hormone. *Journal of aging research*, 2012, 384017. <https://doi.org/10.1155/2012/384017>
- Durham, H., & Truett, G. E. (2006). Development of insulin resistance and hyperphagia in Zucker fatty rats. *American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 290(3), R652–R658. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00428.2004>
- Eichenbaum, H. (2017a). Prefrontal–hippocampal interactions in episodic memory. In *Nature Reviews Neuroscience* (Vol. 18, Issue 9, pp. 547–558). Springer Science and Business Media LLC. <https://doi.org/10.1038/nrn.2017.74>
- Eichenbaum, H. (2017b). Memory: Organization and Control. *Annual review of psychology*, 68, 19–45. <https://doi.org/10.1146/annurev-psych-010416-044131>
- Elsaeed, E., Hamad, A., Erfan, O., El-Shahat, M., & Ebrahim, F. (2022). Effect of Exenatide on Apoptosis, Autophagy, and Necroptosis in the Hippocampus of STZ-

Induced Diabetic Female Rats: An Immunohistochemical Study. In *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, D. Histology & Histochemistry* (Vol. 14, Issue 1, pp. 1–25). Egypt's Presidential Specialized Council for Education and Scientific Research. <https://doi.org/10.21608/eajbsd.2022.214866>

ElSayed, N. A., Aleppo, G., Aroda, V. R., Bannuru, R. R., Brown, F. M., Bruemmer, D., Collins, B. S., Gaglia, J. L., Hilliard, M. E., Isaacs, D., Johnson, E. L., Kahan, S., Khuntj, K., Leon, J., Lyons, S. K., Perry, M. L., Prahalad, P., Pratley, R. E., ... Seley, J. J. (2022). 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Care in Diabetes—2023. In *Diabetes Care* (Vol. 46, Issue Supplement_1, pp. S19–S40). American Diabetes Association. <https://doi.org/10.2337/dc23-s002>

Emerick, A. J., Richards, M. P., Kartje, G. L., Neafsey, E. J., & Stubbs, E. B., Jr. (2005). Experimental Diabetes Attenuates Cerebral Cortical–Evoked Forelimb Motor Responses. In *Diabetes* (Vol. 54, Issue 9, pp. 2764–2771). American Diabetes Association. <https://doi.org/10.2337/diabetes.54.9.2764>

Ergenc, M., Ozacmak, H. S., Turan, I., & Ozacmak, V. H. (2022). Melatonin reverses depressive and anxiety like-behaviours induced by diabetes: involvement of oxidative stress, age, rage and S100B levels in the hippocampus and prefrontal cortex of rats. *Archives of physiology and biochemistry*, 128(2), 402–410. <https://doi.org/10.1080/13813455.2019.1684954>

Ergorul, C., & Eichenbaum, H. (2004). The hippocampus and memory for "what," "where," and "when". *Learning & memory* (Cold Spring Harbor, N.Y.), 11(4), 397–405. <https://doi.org/10.1101/lm.73304>

Esser, N., Legrand-Poels, S., Piette, J., Scheen, A. J., & Paquot, N. (2014). Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes. In *Diabetes Research and Clinical Practice* (Vol. 105, Issue 2, pp. 141–150). Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2014.04.006>

Esteras, N., Blacker, T. S., Zhrebtsov, E. A., Stelmashuk, O. A., Zhang, Y., Wigley, W. C., Duchon, M. R., Dinkova-Kostova, A. T., & Abramov, A. Y. (2023). Nrf2 regulates glucose uptake and metabolism in neurons and astrocytes. *Redox biology*, 62, 102672. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2023.102672>

Fabbrini, E., Yoshino, J., Yoshino, M., Magkos, F., Tiemann Luecking, C., Samovski, D., Fraterrigo, G., Okunade, A. L., Patterson, B. W., & Klein, S. (2015). Metabolically normal obese people are protected from adverse effects following weight gain. In *Journal of Clinical Investigation* (Vol. 125, Issue 2, pp. 787–795). American Society for Clinical Investigation. <https://doi.org/10.1172/jci78425>

Farovik, A., Dupont, L. M., Arce, M., & Eichenbaum, H. (2008). Medial Prefrontal Cortex Supports Recollection, But Not Familiarity, in the Rat. In *The Journal of Neuroscience* (Vol. 28, Issue 50, pp. 13428–13434). Society for Neuroscience. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.3662-08.2008>

Ferbinteanu J. (2019). Memory systems 2018 - Towards a new paradigm. *Neurobiology of learning and memory*, 157, 61–78. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2018.11.005>

Folli, F., Corradi, D., Fanti, P., Davalli, A., Paez, A., Giaccari, A., Perego, C., & Muscogiuri, G. (2011). The role of oxidative stress in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus micro- and macrovascular complications: avenues for a mechanistic-based therapeutic approach. *Current diabetes reviews*, 7(5), 313–324. <https://doi.org/10.2174/157339911797415585>

Fritschi, C., & Quinn, L. (2010). Fatigue in patients with diabetes: A review. *Journal of Psychosomatic Research*, 69(1), 33–41. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychores.2010.01.021>

Gage, N. M., & Baars, B. J. (2018). Chapter 7: Learning and remembering. In *Fundamentals of cognitive neuroscience: a beginner's guide*. London Academic Press, An Imprint Of Elsevier.

Galicia-Garcia, U., Benito-Vicente, A., Jebari, S., Larrea-Sebal, A., Siddiqi, H., Uribe, K. B., Ostolaza, H., & Martín, C. (2020). Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus. *International journal of molecular sciences*, 21(17), 6275. <https://doi.org/10.3390/ijms21176275>

Ganjifrockwala, F., Joseph, J., & George, G. (2017). Decreased total antioxidant levels and increased oxidative stress in South African type 2 diabetes mellitus patients. In *Journal of Endocrinology, Metabolism and Diabetes of South Africa* (Vol. 22, Issue 2, pp. 21–25). Informa UK Limited. <https://doi.org/10.1080/16089677.2017.1324590>

Garcia-Serrano, A. M., & Duarte, J. (2020). Brain Metabolism Alterations in Type 2 Diabetes: What Did We Learn From Diet-Induced Diabetes Models?. *Frontiers in neuroscience*, 14, 229. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00229>

Goyal R, Jialal I. Diabetes Mellitus Type 2. [Updated 2021 Sep 28]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513253/>

Griffen, S. C., Wang, J., & German, M. S. (2001). A Genetic Defect in β -Cell Gene Expression Segregates Independently From the fa Locus in the ZDF Rat. *Diabetes*, 50(1), 63–68. <https://doi.org/10.2337/diabetes.50.1.63>

Guise, K. G., & Shapiro, M. L. (2017). Medial Prefrontal Cortex Reduces Memory Interference by Modifying Hippocampal Encoding. In *Neuron* (Vol. 94, Issue 1, pp. 183–192.e8). Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.03.011>

Gunawardena, H. P., Silva, R., Sivakanesan, R., Ranasinghe, P., & Katulanda, P. (2019). Poor Glycaemic Control Is Associated with Increased Lipid Peroxidation and Glutathione Peroxidase Activity in Type 2 Diabetes Patients. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019, 9471697. <https://doi.org/10.1155/2019/9471697>

- Gupta, M., Pandey, S., Rumman, M., Singh, B., & Mahdi, A. A. (2022). Molecular mechanisms underlying hyperglycemia associated cognitive decline. *IBRO neuroscience reports*, 14, 57–63. <https://doi.org/10.1016/j.ibneur.2022.12.006>
- Hainmueller, T., & Bartos, M. (2020). Dentate gyrus circuits for encoding, retrieval and discrimination of episodic memories. *Nature reviews. Neuroscience*, 21(3), 153–168. <https://doi.org/10.1038/s41583-019-0260-z>
- Handelsman, Y., Bloomgarden, Z. T., Grunberger, G., Umpierrez, G., Zimmerman, R. S., Bailey, T. S., Blonde, L., Bray, G. A., Cohen, A. J., Dagogo-Jack, S., Davidson, J. A., Einhorn, D., Ganda, O. P., Garber, A. J., Garvey, W. T., Henry, R. R., Hirsch, I. B., Horton, E. S., Hurley, D. L., Jellinger, P. S., ... Zangeneh, F. (2015). American association of clinical endocrinologists and american college of endocrinology - clinical practice guidelines for developing a diabetes mellitus comprehensive care plan - 2015. *Endocrine practice: official journal of the American College of Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists*, 21 Suppl 1(Suppl 1), 1–87. <https://doi.org/10.4158/EP15672.GL>
- Hannan, Md. A., Dash, R., Sohag, A. A. M., Haque, Md. N., & Moon, I. S. (2020). Neuroprotection Against Oxidative Stress: Phytochemicals Targeting TrkB Signaling and the Nrf2-ARE Antioxidant System. In *Frontiers in Molecular Neuroscience* (Vol. 13). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2020.00116>
- Heidbreder, C. A., & Groenewegen, H. J. (2003). The medial prefrontal cortex in the rat: evidence for a dorso-ventral distinction based upon functional and anatomical characteristics. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 27(6), 555–579. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2003.09.003>
- Hirata, Y., Nomura, K., Senga, Y., Okada, Y., Kobayashi, K., Okamoto, S., Minokoshi, Y., Imamura, M., Takeda, S., Hosooka, T., & Ogawa, W. (2019). Hyperglycemia induces skeletal muscle atrophy via a WWP1/KLF15 axis. In *JCI Insight* (Vol. 4, Issue 4). American Society for Clinical Investigation. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.124952>
- Huang, X., Wang, F., Chen, W., Chen, Y., Wang, N., & von Maltzan, K. (2012). Possible link between the cognitive dysfunction associated with diabetes mellitus and the neurotoxicity of methylglyoxal. *Brain research*, 1469, 82–91. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2012.06.011>
- Hui, M., & Beier, K. T. (2022). Defining the interconnectivity of the medial prefrontal cortex and ventral midbrain. In *Frontiers in Molecular Neuroscience* (Vol. 15). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2022.971349>
- IDF International Diabetes Federation. (2021). *IDF Diabetes Atlas 10th edition*. Retrieved from https://diabetesatlas.org/idfawp/resource-files/2021/07/IDF_Atlas_10th_Edition_2021.pdf

Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2023). ESTADÍSTICAS DE DEFUNCIONES REGISTRADAS (EDR) 2022. Retrieved from <https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2023/EDR/EDR2022-Dft.pdf>

Ishii, T., Warabi, E., & Mann, G. E. (2019). Circadian control of BDNF-mediated Nrf2 activation in astrocytes protects dopaminergic neurons from ferroptosis. In *Free Radical Biology and Medicine* (Vol. 133, pp. 169–178). Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.09.002>

Javeed, N., & Matveyenko, A. V. (2018). Circadian Etiology of Type 2 Diabetes Mellitus. *Physiology* (Bethesda, Md.), 33(2), 138–150. <https://doi.org/10.1152/physiol.00003.2018>

Jin, W., Wang, H., Yan, W., Xu, L., Wang, X., Zhao, X., Yang, X., Chen, G., & Ji, Y. (2008). Disruption of Nrf2 enhances upregulation of nuclear factor-kappaB activity, proinflammatory cytokines, and intercellular adhesion molecule-1 in the brain after traumatic brain injury. *Mediators of inflammation*, 2008, 725174. <https://doi.org/10.1155/2008/725174>

Joghataie, M. T., Roghani, M., Jalali, M. R., Baluchnejadmojarad, T., & Sharayeli, M. (2007). Dendritic spine changes in medial prefrontal cortex of male diabetic rats using Golgi-impregnation method. *Archives of Iranian medicine*, 10(1), 54–58.

Kandel, E. R., Koester, J. D., Mack, S. H., & Siegelbaum, S. A. (2021). *Principles Of Neural Science*. (6th ed.). S.L.: Mcgraw-Hill Education.

Karube, F., Takahashi, S., Kobayashi, K., & Fujiyama, F. (2019). Motor cortex can directly drive the globus pallidus neurons in a projection neuron type-dependent manner in the rat. *eLife*, 8, e49511. <https://doi.org/10.7554/eLife.49511>

Kassab, S., Begley, P., Church, S. J., Rotariu, S. M., Chevalier-Riffard, C., Dowsey, A. W., Phillips, A. M., Zeef, L. A. H., Grayson, B., Neill, J. C., Cooper, G. J. S., Unwin, R. D., & Gardiner, N. J. (2019). Cognitive dysfunction in diabetic rats is prevented by pyridoxamine treatment. A multidisciplinary investigation. *Molecular metabolism*, 28, 107–119. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2019.08.003>

Katta, A., Karkala, S. K., Wu, M., Meduru, S., Desai, D. H., Rice, K. M., & Blough, E. R. (2009). Lean and obese Zucker rats exhibit different patterns of p70s6 kinase regulation in the tibialis anterior muscle in response to high-force muscle contraction. In *Muscle & Nerve* (Vol. 39, Issue 4, pp. 503–511). Wiley. <https://doi.org/10.1002/mus.21255>

Kemmochi, Y., Ohta, T., Motohashi, Y., Kaneshige, A., Katsumi, S., Kakimoto, K., Yasui, Y., Anagawa-Nakamura, A., Toyoda, K., Taniyai-Riya, E., Takahashi, A., Shoda, T., & Yamada, T. (2018). Pathophysiological analyses of skeletal muscle in obese type 2 diabetes SDT fatty rats. *Journal of toxicologic pathology*, 31(2), 113–123. <https://doi.org/10.1293/tox.2017-0064>

- Khin, P. P., Lee, J. H., & Jun, H.-S. (2023). Pancreatic Beta-cell Dysfunction in Type 2 Diabetes. In *European Journal of Inflammation* (Vol. 21, p. 1721727X2311541). SAGE Publications. <https://doi.org/10.1177/1721727x231154152>
- Kim, O. Y., & Song, J. (2020). The importance of BDNF and RAGE in diabetes-induced dementia. In *Pharmacological Research* (Vol. 160, p. 105083). Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.105083>
- King, A., & Austin, A. (2017). Animal Models of Type 1 and Type 2 Diabetes Mellitus. *Animal Models for the Study of Human Disease*, 245–265. doi:10.1016/b978-0-12-809468-6.00010-3
- King, G. L., & Loeken, M. R. (2004). Hyperglycemia-induced oxidative stress in diabetic complications. *Histochemistry and Cell Biology*, 122(4), 333–338. doi:10.1007/s00418-004-0678-9
- Kitchigina, V. F., Shubina, L. V., & Popova, I. Yu. (2023). The Role of the Dentate Gyrus in Mediating Hippocampal Functions: The Healthy Brain. In *Neuroscience and Behavioral Physiology*. Springer Science and Business Media LLC. <https://doi.org/10.1007/s11055-023-01372-1>
- Kodl, C. T., & Seaquist, E. R. (2008). Cognitive dysfunction and diabetes mellitus. *Endocrine reviews*, 29(4), 494–511. <https://doi.org/10.1210/er.2007-0034>
- Kolk, S. M., & Rakic, P. (2021). Development of prefrontal cortex. In *Neuropsychopharmacology* (Vol. 47, Issue 1, pp. 41–57). Springer Science and Business Media LLC. <https://doi.org/10.1038/s41386-021-01137-9>
- Kottaisamy, C. P. D., Raj, D. S., Prasanth Kumar, V., & Sankaran, U. (2021). Experimental animal models for diabetes and its related complications-a review. *Laboratory animal research*, 37(1), 23. <https://doi.org/10.1186/s42826-021-00101-4>
- Kovács, K. A. (2020). Episodic Memories: How do the Hippocampus and the Entorhinal Ring Attractors Cooperate to Create Them? In *Frontiers in Systems Neuroscience* (Vol. 14). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2020.559186>
- Kurauti, M. A., Soares, G. M., Marmentini, C., Bronczek, G. A., Branco, R. C. S., & Boschero, A. C. (2021). Insulin and aging. In *Vitamins and Hormones* (pp. 185–219). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.vh.2020.12.010>
- LaMoia, T. E., & Shulman, G. I. (2020). Cellular and Molecular Mechanisms of Metformin Action. In *Endocrine Reviews* (Vol. 42, Issue 1, pp. 77–96). The Endocrine Society. <https://doi.org/10.1210/endrev/bnaa023>
- Last, D., Alsop, D. C., Abduljalil, A. M., Marquis, R. P., de Bazelaire, C., Hu, K., Cavallerano, J., & Novak, V. (2007). Global and Regional Effects of Type 2 Diabetes on Brain Tissue Volumes and Cerebral Vasoreactivity. *Diabetes Care*, 30(5), 1193–1199. <https://doi.org/10.2337/dc06-2052>

- Laubach, M., Amarante, L. M., Swanson, K., & White, S. R. (2018). What, If Anything, Is Rodent Prefrontal Cortex? *eNeuro*, 5(5), ENEURO.0315-18.2018. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0315-18.2018>
- Li, M., Li, Y., Liu, Y., Huang, H., Leng, X., Chen, Y., Feng, Y., Ma, X., Tan, X., Liang, Y., & Qiu, S. (2021). Altered Hippocampal Subfields Volumes Is Associated With Memory Function in Type 2 Diabetes Mellitus. *Frontiers in neurology*, 12, 756500. <https://doi.org/10.3389/fneur.2021.756500>
- Lissner, L. J., Rodrigues, L., Wartchow, K. M., Borba, E., Bobermin, L. D., Fontella, F. U., Hansen, F., Quincozes-Santos, A., Souza, D. O. G., & Gonçalves, C. A. (2021). Short-Term Alterations in Behavior and Astroglial Function After Intracerebroventricular Infusion of Methylglyoxal in Rats. *Neurochemical research*, 46(2), 183–196. <https://doi.org/10.1007/s11064-020-03154-4>
- Liu, T., Zhang, L., Joo, D., & Sun, S. C. (2017). NF- κ B signaling in inflammation. *Signal transduction and targeted therapy*, 2, 17023–. <https://doi.org/10.1038/sigtrans.2017.23>
- Luchsinger, J. A., Reitz, C., Patel, B., Tang, M.-X., Manly, J. J., & Mayeux, R. (2007). Relation of Diabetes to Mild Cognitive Impairment. *Archives of Neurology*, 64(4), 570. <https://doi.org/10.1001/archneur.64.4.570>
- Maciejczyk, M., Żebrowska, E., & Chabowski, A. (2019). Insulin Resistance and Oxidative Stress in the Brain: What's New? In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 20, Issue 4, p. 874). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms20040874>
- Masharani U, & German M.S. (2019). Hormonas pancreáticas y diabetes mellitus. Gardner D.G., & Shoback D(Eds.), Greenspan. *Endocrinología básica y clínica* 10e. McGraw Hill. <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=2745§ionid=232232796>
- Matsuoka, T., Kajimoto, Y., Watada, H., Kaneto, H., Kishimoto, M., Umayahara, Y., Fujitani, Y., Kamada, T., Kawamori, R., & Yamasaki, Y. (1997). Glycation-dependent, reactive oxygen species-mediated suppression of the insulin gene promoter activity in HIT cells. *The Journal of clinical investigation*, 99(1), 144–150. <https://doi.org/10.1172/JCI119126>
- Milanski, M., Degasperi, G., Coope, A., Morari, J., Denis, R., Cintra, D. E., Tsukumo, D. M., Anhe, G., Amaral, M. E., Takahashi, H. K., Curi, R., Oliveira, H. C., Carvalheira, J. B., Bordin, S., Saad, M. J., & Velloso, L. A. (2009). Saturated fatty acids produce an inflammatory response predominantly through the activation of TLR4 signaling in hypothalamus: implications for the pathogenesis of obesity. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 29(2), 359–370. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2760-08.2009>

- Momeni, Z., Neapetung, J., Pacholko, A., Kiir, T. A. B., Yamamoto, Y., Bekar, L. K., & Campanucci, V. A., Dr. (2021). Hyperglycemia induces RAGE-dependent hippocampal spatial memory impairments. In *Physiology & Behavior* (Vol. 229, p. 113287). Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2020.113287>
- Moreno-Castilla, P., Guzman-Ramos, K., & Bermudez-Rattoni, F. (2018). Object Recognition and Object Location Recognition Memory – The Role of Dopamine and Noradrenaline. *Handbook of Object Novelty Recognition*, 27, 403–413. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-812012-5.00028-8>
- Morici, J. F., Bekinschtein, P., & Weisstaub, N. V. (2015). Medial prefrontal cortex role in recognition memory in rodents. *Behavioural Brain Research*, 292, 241–251. doi:10.1016/j.bbr.2015.06.030
- Muramatsu, K. (2020). Diabetes Mellitus-Related Dysfunction of the Motor System. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 21, Issue 20, p. 7485). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms21207485>
- Murphy, K., & Park, J. (2017). Can Co-Activation of Nrf2 and Neurotrophic Signaling Pathway Slow Alzheimer's Disease? In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 18, Issue 6, p. 1168). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms18061168>
- Narayanan, S.N., Bairy, L.K. & Srinivasamurthy, S.K. Determining factors for optimal neuronal and glial Golgi-Cox staining. *Histochem Cell Biol* 154, 431–448 (2020). <https://doi.org/10.1007/s00418-020-01891-9>
- Nianogo, R. A., & Arah, O. A. (2022). Forecasting Obesity and Type 2 Diabetes Incidence and Burden: The ViLA-Obesity Simulation Model. In *Frontiers in Public Health* (Vol. 10). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2022.818816>
- Nicholas, D. A., Proctor, E. A., Agrawal, M., Belkina, A. C., Van Nostrand, S. C., Panneerseeelan-Bharath, L., Jones, A. R., IV, Raval, F., Ip, B. C., Zhu, M., Cacicedo, J. M., Habib, C., Sainz-Rueda, N., Persky, L., Sullivan, P. G., Corkey, B. E., Apovian, C. M., Kern, P. A., Lauffenburger, D. A., & Nikolajczyk, B. S. (2019). Fatty Acid Metabolites Combine with Reduced β Oxidation to Activate Th17 Inflammation in Human Type 2 Diabetes. In *Cell Metabolism* (Vol. 30, Issue 3, pp. 447-461.e5). Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2019.07.004>
- Nieto-Vazquez, I., Fernández-Veledo, S., Krämer, D. K., Vila-Bedmar, R., Garcia-Guerra, L., & Lorenzo, M. (2008). Insulin resistance associated to obesity: the link TNF-alpha. *Archives of physiology and biochemistry*, 114(3), 183–194. <https://doi.org/10.1080/13813450802181047>
- Oguntibeju O. O. (2019). Type 2 diabetes mellitus, oxidative stress and inflammation: examining the links. *International journal of physiology, pathophysiology and pharmacology*, 11(3), 45–63.

Ogurtsova, K., Guariguata, L., Barengo, N. C., Ruiz, P. L., Sacre, J. W., Karuranga, S., Sun, H., Boyko, E. J., & Magliano, D. J. (2022). IDF diabetes Atlas: Global estimates of undiagnosed diabetes in adults for 2021. *Diabetes research and clinical practice*, 183, 109118. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2021.109118>

Oh, D. J., Jung, J. J., Shin, S. A., Kim, H., Park, S., Sohn, B. K., Koo, B. K., Moon, M. K., Kim, Y. K., & Lee, J. Y. (2021). Brain Structural Alterations, Diabetes Biomarkers, and Cognitive Performance in Older Adults With Dysglycemia. *Frontiers in neurology*, 12, 766216. <https://doi.org/10.3389/fneur.2021.766216>

Otani, K., Funada, H., Teranishi, R., Okada, M., & Yamawaki, H. (2022). Cardiovascular Characteristics of Zucker Fatty Diabetes Mellitus Rats, an Animal Model for Obesity and Type 2 Diabetes. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 23, Issue 8, p. 4228). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms23084228>

Pan, X., Wu, X., Yan, D., Peng, C., Rao, C., & Yan, H. (2018). Acrylamide-induced oxidative stress and inflammatory response are alleviated by N-acetylcysteine in PC12 cells: Involvement of the crosstalk between Nrf2 and NF- κ B pathways regulated by MAPKs. *Toxicology letters*, 288, 55–64. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2018.02.002>

Panoz-Brown, D., Corbin, H. E., Dalecki, S. J., Gentry, M., Brotheridge, S., Sluka, C. M., Wu, J. E., & Crystal, J. D. (2016). Rats Remember Items in Context Using Episodic Memory. *Current biology: CB*, 26(20), 2821–2826. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.08.023>

Park, S. W., Goodpaster, B. H., Strotmeyer, E. S., Kuller, L. H., Broudeau, R., Kammerer, C., de Rekeneire, N., Harris, T. B., Schwartz, A. V., Tylavsky, F. A., Cho, Y. W., Newman, A. B., & Health, Aging, and Body Composition Study (2007). Accelerated loss of skeletal muscle strength in older adults with type 2 diabetes: the health, aging, and body composition study. *Diabetes care*, 30(6), 1507–1512. <https://doi.org/10.2337/dc06-2537>

Pasquier, A., Vivot, K., Erbs, E., Spiegelhalter, C., Zhang, Z., Aubert, V., Liu, Z., Senkara, M., Maillard, E., Pinget, M., Kerr-Conte, J., Pattou, F., Marciniak, G., Ganzhorn, A., Ronchi, P., Schieber, N. L., Schwab, Y., Saftig, P., Goginashvili, A., & Ricci, R. (2019). Lysosomal degradation of newly formed insulin granules contributes to β cell failure in diabetes. In *Nature Communications* (Vol. 10, Issue 1). Springer Science and Business Media LLC. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-11170-4>

Paxinos, G., & Watson, C. (2007). *The rat brain in stereotaxic coordinates* (6th ed.). London, United Kingdom; San Diego, Ca: Elsevier Academic Press.

Pérez-Taboada, I., Alberquilla, S., Martín, E. D., Anand, R., Vietti-Michelina, S., Tebeka, N. N., Cantley, J., Cragg, S. J., Moratalla, R., & Vallejo, M. (2020). Diabetes Causes Dysfunctional Dopamine Neurotransmission Favoring Nigrostriatal Degeneration in Mice. In *Movement Disorders* (Vol. 35, Issue 9, pp. 1636–1648). Wiley. <https://doi.org/10.1002/mds.28124>

Pezze, M. A., Marshall, H. J., Fone, K. C., & Cassaday, H. J. (2017). Role of the anterior cingulate cortex in the retrieval of novel object recognition memory after a long delay. *Learning & memory* (Cold Spring Harbor, N.Y.), 24(7), 310–317. <https://doi.org/10.1101/lm.044784.116>

Piatkowska-Chmiel, I., Herbet, M., Gawronska-Grzywacz, M., Ostrowska-Lesko, M., & Dudka, J. (2021). The Role of Molecular and Inflammatory Indicators in the Assessment of Cognitive Dysfunction in a Mouse Model of Diabetes. *International journal of molecular sciences*, 22(8), 3878. <https://doi.org/10.3390/ijms22083878>

Pignalosa, F. C., Desiderio, A., Mirra, P., Nigro, C., Perruolo, G., Ulianich, L., Formisano, P., Beguinot, F., Miele, C., Napoli, R., & Fiory, F. (2021). Diabetes and Cognitive Impairment: A Role for Glucotoxicity and Dopaminergic Dysfunction. *International journal of molecular sciences*, 22(22), 12366. <https://doi.org/10.3390/ijms222212366>

Porter, G. A., & O'Connor, J. C. (2022). Brain-derived neurotrophic factor and inflammation in depression: Pathogenic partners in crime? *World journal of psychiatry*, 12(1), 77–97. <https://doi.org/10.5498/wjp.v12.i1.77>

Powers, A. C., Niswender, K. D., & Evans-Molina, C. (2018). Capítulo 403: Diabetes mellitus: diagnóstico, clasificación y fisiopatología. In *Harrison principios de medicina interna* (20th ed.). Ciudad De México: Mcgraw-Hill Education.

Pradhan, A. D., Manson, J. E., Rifai, N., Buring, J. E., & Ridker, P. M. (2001). C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA*, 286(3), 327–334. <https://doi.org/10.1001/jama.286.3.327>

Pugsley, M. K., Brooks, M. B., Fishman, C. E., Katavolos, P., Chiang, A. Y., Parish, S. T., Pierson, J. B., & Schultze, A. E. (2021). Use of the ZDF rat to model dietary fat induced hypercoagulability is limited by progressive and fatal nephropathy. In *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods* (Vol. 107, p. 106933). Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2020.106933>

Rababa'h, A. M., Mardini, A. N., Alzoubi, K. H., Ababneh, M. A., & Athamneh, R. Y. (2019). The effect of cilostazol on hippocampal memory and oxidative stress biomarkers in rat model of diabetes mellitus. *Brain research*, 1715, 182–187. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2019.03.025>

Rajasethupathy, P., Sankaran, S., Marshel, J. H., Kim, C. K., Ferenczi, E., Lee, S. Y., Berndt, A., Ramakrishnan, C., Jaffe, A., Lo, M., Liston, C., & Deisseroth, K. (2015). Projections from neocortex mediate top-down control of memory retrieval. *Nature*, 526(7575), 653–659. <https://doi.org/10.1038/nature15389>

Randeria, S. N., Thomson, G. J. A., Nell, T. A., Roberts, T., & Pretorius, E. (2019). Inflammatory cytokines in type 2 diabetes mellitus as facilitators of hypercoagulation and abnormal clot formation. In *Cardiovascular Diabetology* (Vol. 18, Issue 1). Springer Science and Business Media LLC. <https://doi.org/10.1186/s12933-019-0870-9>

- Rapoport S. I. (2001). In vivo fatty acid incorporation into brain phospholipids in relation to plasma availability, signal transduction and membrane remodeling. *Journal of molecular neuroscience: MN*, 16(2-3), 243–284. <https://doi.org/10.1385/JMN:16:2-3:243>
- Rebolledo-Solleiro, D., Roldán-Roldán, G., Díaz, D., Velasco, M., Larqué, C., Rico-Rosillo, G., Vega-Robledo, G. B., Zambrano, E., Hiriart, M., & Pérez de la Mora, M. (2017). Increased anxiety-like behavior is associated with the metabolic syndrome in non-stressed rats. *PLoS one*, 12(5), e0176554. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176554>
- Reed, J., Bain, S., & Kanamarlapudi, V. (2021). A Review of Current Trends with Type 2 Diabetes Epidemiology, Aetiology, Pathogenesis, Treatments and Future Perspectives. In *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy: Vol. Volume 14* (pp. 3567–3602). Informa UK Limited. <https://doi.org/10.2147/dms0.s319895>
- Reed, J., Bain, S., & Kanamarlapudi, V. (2021). A Review of Current Trends with Type 2 Diabetes Epidemiology, Aetiology, Pathogenesis, Treatments and Future Perspectives. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy*, 14, 3567–3602. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S319895>
- Rehman, K., & Akash, M. S. H. (2016). Mechanisms of inflammatory responses and development of insulin resistance: how are they interlinked? In *Journal of Biomedical Science* (Vol. 23, Issue 1). Springer Science and Business Media LLC. <https://doi.org/10.1186/s12929-016-0303-y>
- Rehman, K., Akash, M. S. H., Liaqat, A., Kamal, S., Qadir, M. I., & Rasul, A. (2017). Role of Interleukin-6 in Development of Insulin Resistance and Type 2 Diabetes Mellitus. *Critical reviews in eukaryotic gene expression*, 27(3), 229–236. <https://doi.org/10.1615/CritRevEukaryotGeneExpr.2017019712>
- Rena, G., Hardie, D. G., & Pearson, E. R. (2017). The mechanisms of action of metformin. *Diabetologia*, 60(9), 1577–1585. <https://doi.org/10.1007/s00125-017-4342-z>
- Rhea, E. M., Banks, W. A., & Raber, J. (2022). Insulin Resistance in Peripheral Tissues and the Brain: A Tale of Two Sites. *Biomedicines*, 10(7), 1582. MDPI AG. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.3390/biomedicines10071582>
- Rohm, T. V., Meier, D. T., Olefsky, J. M., & Donath, M. Y. (2022). Inflammation in obesity, diabetes, and related disorders. In *Immunity* (Vol. 55, Issue 1, pp. 31–55). Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2021.12.013>
- Rojas, L. B. A., & Gomes, M. B. (2013). Metformin: an old but still the best treatment for type 2 diabetes. In *Diabetology & Metabolic Syndrome* (Vol. 5, Issue 1). Springer Science and Business Media LLC. <https://doi.org/10.1186/1758-5996-5-6>
- Rorsman, P., & Ashcroft, F. M. (2018). Pancreatic β -Cell Electrical Activity and Insulin Secretion: Of Mice and Men. *Physiological reviews*, 98(1), 117–214. <https://doi.org/10.1152/physrev.00008.2017>

Rossato, J. I., Radiske, A., Kohler, C. A., Gonzalez, C., Bevilaqua, L. R., Medina, J. H., & Cammarota, M. (2013). Consolidation of object recognition memory requires simultaneous activation of dopamine D1/D5 receptors in the amygdala and medial prefrontal cortex but not in the hippocampus. *Neurobiology of Learning and Memory*, 106, 66–70. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2013.07.012>

Roux, C. M., Leger, M., & Freret, T. (2021). Memory Disorders Related to Hippocampal Function: The Interest of 5-HT4Rs Targeting. *International journal of molecular sciences*, 22(21), 12082. <https://doi.org/10.3390/ijms222112082>

Roy, B., Ehler, L., Mullur, R., Freeby, M. J., Woo, M. A., Kumar, R., & Choi, S. (2020). Regional Brain Gray Matter Changes in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Scientific Reports*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67022-5>

Rudy, J. W. (2014). *The neurobiology of learning and memory* (2nd Edition). U.S.A.: Sinauer Associates, Inc.

Ryle, G. (1949). *The concept of mind*. Barnes & Noble.

Sadeghi, A., Hami, J., Razavi, S., Esfandiary, E., & Hejazi, Z. (2016). The Effect of Diabetes Mellitus on Apoptosis in Hippocampus: Cellular and Molecular Aspects. *International journal of preventive medicine*, 7, 57. <https://doi.org/10.4103/2008-7802.178531>

Saisho Y. (2015). β -cell dysfunction: Its critical role in prevention and management of type 2 diabetes. *World journal of diabetes*, 6(1), 109–124. <https://doi.org/10.4239/wjd.v6.i1.109>

Sasaki, H., Saisho, Y., Inaishi, J., Watanabe, Y., Tsuchiya, T., Makio, M., Sato, M., Nishikawa, M., Kitago, M., Yamada, T., & Itoh, H. (2021). Reduced beta cell number rather than size is a major contributor to beta cell loss in type 2 diabetes. In *Diabetologia* (Vol. 64, Issue 8, pp. 1816–1821). Springer Science and Business Media LLC. <https://doi.org/10.1007/s00125-021-05467-7>

Secretaría de Salud. (2021). Manual de procedimientos estandarizados para la vigilancia epidemiológica hospitalaria de Diabetes Mellitus tipo 2. Recuperado de: https://epidemiologia.salud.gob.mx/gobmx/salud/documentos/manuales/10_Manual_DT_2.pdf

Shabalala, S. C., Johnson, R., Basson, A. K., Ziqubu, K., Hlengwa, N., Mthembu, S. X. H., ... Dlodla, P. V. (2022). Detrimental Effects of Lipid Peroxidation in Type 2 Diabetes: Exploring the Neutralizing Influence of Antioxidants. *Antioxidants*, 11(10), 2071. <https://doi.org/10.3390/antiox11102071>

Shawki, H. A., Elzebery, R., Shahin, M., Abo-Hashem, E. M., & Youssef, M. M. (2020). Evaluation of some oxidative markers in diabetes and diabetic retinopathy. *Diabetology international*, 12(1), 108–117. <https://doi.org/10.1007/s13340-020-00450-w>

- Shekarchian, M., Peeri, M., & Azarbayjani, M. A. (2023). Physical activity in a swimming pool attenuates memory impairment by reducing glutamate and inflammatory cytokines and increasing BDNF in the brain of mice with type 2 diabetes. In *Brain Research Bulletin* (Vol. 201, p. 110725). Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2023.110725>
- Shimizu, H., Shimomura, Y., Takahashi, M., Kobayashi, I., & Kobayashi, S. (1990). Dopamine receptor in the streptozotocin-induced diabetic rats. *Experimental and clinical endocrinology*, 95(2), 263–266. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1210962>
- Shiota, M., & Printz, R. L. (2012). Diabetes in Zucker Diabetic Fatty Rat. *Animal Models in Diabetes Research*, 103–123. doi:10.1007/978-1-62703-068-7_8
- Sluiman, A. J., McLachlan, S., Forster, R. B., Strachan, M. W. J., Deary, I. J., & Price, J. F. (2022). Higher baseline inflammatory marker levels predict greater cognitive decline in older people with type 2 diabetes: year 10 follow-up of the Edinburgh Type 2 Diabetes Study. *Diabetologia*, 65(3), 467–476. <https://doi.org/10.1007/s00125-021-05634-w>
- Smythe, G. A., Grunstein, H. S., Bradshaw, J. E., Nicholson, M. V., & Compton, P. J. (1984). Relationships between brain noradrenergic activity and blood glucose. *Nature*, 308(5954), 65–67. <https://doi.org/10.1038/308065a0>
- Squire, L. R. (1987). *Memory and brain*. New York: Oxford University Press.
- Stark, C. (2017). Declarative Memory. In *Reference Module in Neuroscience and Biobehavioral Psychology*. Elsevier eBooks. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-809324-5.00298-4>
- Stranahan, A. M., Hao, S., Dey, A., Yu, X., & Baban, B. (2016). Blood–brain barrier breakdown promotes macrophage infiltration and cognitive impairment in leptin receptor-deficient mice. In *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* (Vol. 36, Issue 12, pp. 2108–2121). SAGE Publications. <https://doi.org/10.1177/0271678x16642233>
- Suarez, A. N., Noble, E. E., & Kanoski, S. E. (2019). Regulation of Memory Function by Feeding-Relevant Biological Systems: Following the Breadcrumbs to the Hippocampus. *Frontiers in molecular neuroscience*, 12, 101. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2019.00101>
- Tomiga, Y., Higaki, Y., Anzai, K., & Takahashi, H. (2022). Behavioral defects and downregulation of hippocampal BDNF and nNOS expression in db/db mice did not improved by chronic TGF- β 2 treatment. *Frontiers in Physiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.969480>
- Tornero-Aguilera, J. F., Jimenez-Morcillo, J., Rubio-Zarapuz, A., & Clemente-Suárez, V. J. (2022). Central and Peripheral Fatigue in Physical Exercise Explained: A Narrative Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(7), 3909. <https://doi.org/10.3390/ijerph19073909>
- Tortora, G. J., & Derrickson, B. H. (2017). *Principles of Anatomy & Physiology* (15th ed.). United States of America: John Wiley & Sons, Inc.

Treviño, S., Cortezano-Esteban, S., Hernández-Fragoso, H., Díaz, A., Vázquez-Roque, R., Enrique Sarmiento-Ortega, V., Moroni-González, D., Pelayo, R., & Brambila, E. (2022). Clinical monitored in subjects metabolically healthy and unhealthy before and during a SARS-CoV-2 infection- A cross-sectional study in Mexican population. *Cytokine*, 153, 155868. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2022.155868>

Treviño, S., Vázquez-Roque, R. A., López-López, G., Perez-Cruz, C., Moran, C., Handal-Silva, A., González-Vergara, E., Flores, G., Guevara, J., & Díaz, A. (2017). Metabolic syndrome causes recognition impairments and reduced hippocampal neuronal plasticity in rats. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 82, 65–75. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2017.02.007>

Trexler, A. J., & Taraska, J. W. (2017). Regulation of insulin exocytosis by calcium-dependent protein kinase C in beta cells. *Cell calcium*, 67, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2017.07.008>

Tsalamandris, S., Antonopoulos, A. S., Oikonomou, E., Papamikroulis, G. A., Vogiatzi, G., Papaioannou, S., Deftereos, S., & Tousoulis, D. (2019). The Role of Inflammation in Diabetes: Current Concepts and Future Perspectives. *European cardiology*, 14(1), 50–59. <https://doi.org/10.15420/ecr.2018.33.1>

Tulving, E. (2007). Are There 256 Different Kinds of Memory? In J. S. Nairne (Ed.), *The foundations of remembering: Essays in honor of Henry L. Roediger, III* (pp. 39–52). Psychology Press.

Vallar, G. (2017). Short-Term Memory☆. In *Reference Module in Neuroscience and Biobehavioral Psychology*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-809324-5.03170-9>

Van Goethem, N., Blokland, A., & Prickaerts, J. (2018). Theories and Concepts. *Handbook of Behavioral Neuroscience*, 23–38. doi:10.1016/b978-0-12-812012-5.00002-1

Vázquez-Silva, Y., Piña-Nepal, J., Lozano-Casanova, J., Mederos-Pérez, I. M., & Savín-Machado, K. (2019). Relationship between lipid peroxidation and glycemic parameters in type 2 diabetes mellitus patients. *Revista Mexicana de Patología Clínica Y Medicina de Laboratorio*, 66(2), 61–67. Retrieved from <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumenI.cgi?IDARTICULO=89319>

Vogel, H., Kraemer, M., Rabasa, C., Askevik, K., Adan, R. A. H., & Dickson, S. L. (2017). Genetic predisposition to obesity affects behavioural traits including food reward and anxiety-like behaviour in rats. In *Behavioural Brain Research* (Vol. 328, pp. 95–104). Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.02.037>

Wang, C. S., Kavalali, E. T., & Monteggia, L. M. (2022). BDNF signaling in context: From synaptic regulation to psychiatric disorders. *Cell*, 185(1), 62–76. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.12.003>

- Wang, C., Furlong, T. M., Stratton, P. G., Lee, C. C. Y., Xu, L., Merlin, S., Nolan, C., Arabzadeh, E., Marek, R., & Sah, P. (2021). Hippocampus-Prefrontal Coupling Regulates Recognition Memory for Novelty Discrimination. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 41(46), 9617–9632. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1202-21.2021>
- Wang, X., DuBois, D. C., Sukumaran, S., Ayyar, V., Jusko, W. J., & Almon, R. R. (2014). Variability in Zucker diabetic fatty rats: differences in disease progression in hyperglycemic and normoglycemic animals. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity : targets and therapy*, 7, 531–541. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S69891>
- Wang, X., Fang, H., Xu, G., Yang, Y., Xu, R., Liu, Q., Xue, X., Liu, J., & Wang, H. (2020). Resveratrol Prevents Cognitive Impairment in Type 2 Diabetic Mice by Upregulating Nrf2 Expression and Transcriptional Level. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity : targets and therapy*, 13, 1061–1075. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S243560>
- Weible, A. P., Rowland, D. C., Monaghan, C. K., Wolfgang, N. T., & Kentros, C. G. (2012). Neural correlates of long-term object memory in the mouse anterior cingulate cortex. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 32(16), 5598–5608. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5265-11.2012>
- White, M. G., Shaw, J. A. M., & Taylor, R. (2016). Type 2 Diabetes: The Pathologic Basis of Reversible β -Cell Dysfunction. In *Diabetes Care* (Vol. 39, Issue 11, pp. 2080–2088). American Diabetes Association. <https://doi.org/10.2337/dc16-0619>
- Williams, R., Karuranga, S., Malanda, B., Saeedi, P., Basit, A., Besançon, S., Bommer, C., Esteghamati, A., Ogurtsova, K., Zhang, P., & Colagiuri, S. (2020). Global and regional estimates and projections of diabetes-related health expenditure: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition. *Diabetes research and clinical practice*, 162, 108072. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2020.108072>
- World Health Organization. (2020). HEARTS D: diagnosis and management of type 2 diabetes. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331710>. Licencia: CC BY-NC-SA 3.0 IGO
- Wu, J., Cai, Y., Wu, X., Ying, Y., Tai, Y., & He, M. (2021). Transcardiac Perfusion of the Mouse for Brain Tissue Dissection and Fixation. *Bio-protocol*, 11(5), e3988. <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.3988>
- Xia F, Richards BA, Tran MM, Josselyn SA, Takehara-Nishiuchi K, Frankland PW (2017) Parvalbumin-positive interneurons mediate neocortical-hippocampal interactions that are necessary for memory consolidation. *Elife* 6:e27868. 10.7554/eLife.27868
- Xu, P., Chen, A., Li, Y., Xing, X., & Lu, H. (2019). Medial prefrontal cortex in neurological diseases. In *Physiological Genomics* (Vol. 51, Issue 9, pp. 432–442). American Physiological Society. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00006.2019>

- Yagishita, Y., Fukutomi, T., Sugawara, A., Kawamura, H., Takahashi, T., Pi, J., Uruno, A., & Yamamoto, M. (2014). Nrf2 protects pancreatic β -cells from oxidative and nitrosative stress in diabetic model mice. *Diabetes*, 63(2), 605–618. <https://doi.org/10.2337/db13-0909>
- Yap, N. Y., Toh, Y. L., Tan, C. J., Acharya, M. M., & Chan, A. (2021). Relationship between cytokines and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in trajectories of cancer-related cognitive impairment. In *Cytokine* (Vol. 144, p. 155556). Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2021.155556>
- Yokoi, N., Hoshino, M., Hidaka, S., Yoshida, E., Beppu, M., Hoshikawa, R., Sudo, K., Kawada, A., Takagi, S., & Seino, S. (2013). A Novel Rat Model of Type 2 Diabetes: The Zucker Fatty Diabetes Mellitus ZFDM Rat. In *Journal of Diabetes Research* (Vol. 2013, pp. 1–9). Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2013/103731>
- Zhang, Y.-W., Zhang, J.-Q., Liu, C., Wei, P., Zhang, X., Yuan, Q.-Y., Yin, X.-T., Wei, L.-Q., Cui, J.-G., & Wang, J. (2015). Memory Dysfunction in Type 2 Diabetes Mellitus Correlates with Reduced Hippocampal CA1 and Subiculum Volumes. In *Chinese Medical Journal* (Vol. 128, Issue 4, pp. 465–471). Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <https://doi.org/10.4103/0366-6999.151082>
- Zhao, J., Liu, L., Li, X., Zhang, L., Jing Lv, Guo, X., ... Zhao, T. (2019). Neuroprotective effects of an Nrf2 agonist on high glucose-induced damage in HT22 cells. *Biological Research*, 52(1). <https://doi.org/10.1186/s40659-019-0258-z>
- Zhao, X., An, X., Yang, C., Sun, W., Ji, H., & Lian, F. (2023). The crucial role and mechanism of insulin resistance in metabolic disease. In *Frontiers in Endocrinology* (Vol. 14). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1149239>
- Zhen, Y. F., Zhang, J., Liu, X. Y., Fang, H., Tian, L. B., Zhou, D. H., Kosten, T. R., & Zhang, X. Y. (2013). Low BDNF is associated with cognitive deficits in patients with type 2 diabetes. *Psychopharmacology*, 227(1), 93–100. <https://doi.org/10.1007/s00213-012-2942-3>
- Zheng, Y., Ley, S. H., & Hu, F. B. (2018). Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nature reviews. Endocrinology*, 14(2), 88–98. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2017.151>
- Zhu, X. O., Brown, M. W., McCabe, B. J., & Aggleton, J. P. (1995). Effects of the novelty or familiarity of visual stimuli on the expression of the immediate early gene c-fos in rat brain. *Neuroscience*, 69(3), 821–829. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(95\)00320-i](https://doi.org/10.1016/0306-4522(95)00320-i)