



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA UNIDAD XOCHIMILCO
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS

MAESTRÍA EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:
FARMACIA CLÍNICA Y SERVICIOS FARMACÉUTICOS

**“ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD DEL RECEPTOR N-METIL-D-ASPARTATO (NMDA)
EN EL MODELO EXPERIMENTAL DE DIABETES TIPO 2 (DM2) Y SU RELACIÓN CON
LA PÉRDIDA DE MEMORIA”**

IDÓNEA COMUNICACIÓN DE RESULTADOS PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS

PRESENTA
QFB. MITZI DANIELA BECERRIL CAVAZOS
2221800542

COMITÉ TUTORIAL
COTUTOR: DRA. NORMA ANGÉLICA NOGUEZ MÉNDEZ
COTUTOR: DRA. COPYTZY CRUZ CRUZ
ASESOR: DRA. EDITH GONZÁLEZ GUEVARA

ABRIL 2025

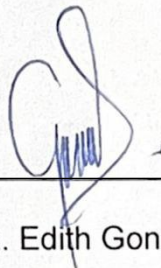
“ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD DEL RECEPTOR N-METIL-D-ASPARTATO (NMDA) EN EL MODELO EXPERIMENTAL DE DIABETES TIPO 2 (DM2) Y SU RELACIÓN CON LA PÉRDIDA DE MEMORIA”



Vo. Bo. Dra. Norma Angélica Noguez Méndez



Vo. Bo. Dra. Copytzy Cruz Cruz



Vo. Bo. Dra. Edith González Guevara



QFB. Mitzi Daniela Becerril Cavazos

2221800542

“ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD DEL RECEPTOR N-METIL-D-ASPARTATO (NMDA) EN EL MODELO EXPERIMENTAL DE DIABETES TIPO 2 (DM2) Y SU RELACIÓN CON LA PÉRDIDA DE MEMORIA”

Jurado



Presidenta: Dra. Luz Graciela Cervantes Pérez



Vocal: Dr. Carlos Alfredo Silva Islas



Secretaria: Dra. Norma Angélica Noguez Méndez

Resumen

La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es una enfermedad crónica que se asocia con un mayor riesgo de desarrollar deterioro cognitivo. En el presente estudio se evaluó la relación entre la DM2 y la alteración en la función cognitiva, a través de la vía de receptores N-Metil-D-Aspartato (NMDA) ubicados en el hipocampo y corteza cerebral.

Lo anterior fue evaluado con un modelo experimental de DM2 en ratas, en donde se evaluaron sus habilidades cognitivas mediante pruebas de memoria y aprendizaje. Asimismo, se cuantificó la expresión de los receptores NMDA en el hipocampo y corteza en regiones cerebrales cruciales para la formación de la memoria.

Los resultados obtenidos evidenciaron un deterioro significativo en las funciones cognitivas de las ratas diabéticas en comparación con el grupo control. Además, se observó una disminución en la expresión de los receptores NMDA en las estructuras cerebrales de ratas con diabetes inducida. Los hallazgos identificados sugieren que la DM2 induce alteraciones en la plasticidad sináptica a través de la disminución de la expresión de los receptores NMDA, lo que podría explicar el desarrollo de déficits cognitivos en personas que cursan con esta enfermedad.

En conclusión, este estudio suma evidencia experimental a la hipótesis que señala la asociación entre la presencia de DM2 y el deterioro cognitivo, cuya relación biológica se explicaría por cambios en la función de los receptores NMDA del hipocampo. Los resultados identificados tienen implicaciones importantes para la comprensión de los mecanismos subyacentes al deterioro cognitivo asociado a la DM2 y agrega evidencia para el desarrollo de nuevas estrategias de tratamiento.

Palabras clave: diabetes mellitus tipo 2, deterioro cognitivo, receptores NMDA, hipocampo, plasticidad sináptica.

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Expreso mi más sincero agradecimiento a la Dra. Norma Angélica Noguez Méndez, mi tutora desde el servicio social, quien me guio en la realización de mi proyecto y cuyo apoyo me inspiró a seguir en esta etapa.

A la Dra. Copytzy Cruz Cruz, quien me brindó comentarios y herramientas estadísticas cruciales para el análisis de los datos del proyecto, y cuya perspicacia me permitió interpretar los resultados de manera más profunda.

A la Dra. Edith González, mi guía y mentora, cuya infinita paciencia y sabiduría me han enseñado a enfrentar los desafíos con resiliencia y a nunca rendirme, con quien me he reído cuando leemos los avances de resultado que hago, con quien aprendí que escribir no es fácil y con quien me ha motivado a continuar cada vez más lejos en este proyecto. A la Dra. Francis por su apoyo para la realización de este proyecto.

Y a la Dra. Alicia y la Dra. Luz Graciela, quienes me adoptaron en su laboratorio y me transmitieron sus conocimientos con tanta generosidad, permitiéndome crecer como investigadora, quien no solo me ha dado consejos de investigación, sino que también me ha hecho ver posibles caminos en mi futuro como investigadora.

Gracias a todas ustedes, he descubierto una pasión por la investigación que me acompañará toda la vida. Su apoyo incondicional ha sido fundamental para la culminación de este trabajo.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Agradezco infinitamente a toda mi familia, quienes, a pesar de no comprender los entresijos de mi investigación, siempre han estado a mi lado, ofreciéndome su apoyo incondicional.

Gracias papá por tus consejos, aunque no siempre he estado de acuerdo con ellos te escucho y aprendo de lo que me dices. Gracias hermano, por seguirme en mis locuras y apoyarme cuando no sé con quien hablar. Gracias a mis dos tías por ser unas madres para mí. Gracias a mi abuelo por seguirme instando a buscar cosas mejores en mi vida.

Gracias a mi novio por estar a mi lado en los momentos en los cuales no encuentro formas de relajarme, fue gracias a ti que pude reírme cuando no podía y fue gracias a ti que encontré algo de calma en toda la tormenta de cosas que me rodeaban. Muchas gracias Cristian.

En especial, quiero agradecer a mi madre, cuyo amor y paciencia han sido mi refugio en los momentos más difíciles, y a mi abuela, cuya sabiduría y fortaleza me han inspirado a alcanzar mis metas. Son las mujeres más fuertes que conozco y es gracias a ustedes que sigo en pie.

Ustedes siempre han estado ahí para levantarme el ánimo y darme fuerzas para seguir adelante. Son como faros que iluminan mi camino y me muestran el rumbo a seguir. Gracias a ustedes, he aprendido que, con amor y esfuerzo, todo es posible. Son mis mayores tesoros y sin ustedes probablemente no se en que camino me encontraría en estos momentos.

Tabla de contenido

Resumen	4
1. Introducción	10
2. Antecedentes	11
3. Marco teórico	13
3.1 Diabetes Mellitus (DM)	13
3.2 Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2)	14
3.2.1 Fisiopatología	14
3.2.2 Complicaciones	15
3.3 La insulina en el cerebro y diabetes	17
3.4 El efecto de la diabetes sobre las funciones cognitivas	19
3.5 La memoria en diabetes	21
3.6 Receptores de N-Metil-D-Aspartato (NMDA).....	22
3.7 Modelo experimental de Diabetes mellitus tipo 2 (DM2)	24
4. Planteamiento del problema	26
5. Pregunta de investigación	26
6. Hipótesis	27
7. Objetivos	27
7.1 Objetivo principal.....	27
7.2 Objetivos específicos	27
8. Materiales y métodos	28
8.1 Reactivos	28
8.2 Animales	29
8.3 Diseño experimental.....	30
8.3.1 Modelo de Diabetes mellitus tipo 2 (DM2).....	30

8.4 Seguimiento de los modelos animales	31
8.4.1 Evaluación Basal	31
8.4.2 Evaluación del aprendizaje y memoria con la prueba de objeto novedoso	31
8.4.3 Evaluación de marcadores biológicos de deterioro cognitivo	33
8.4.4 Evaluación del daño oxidante	35
8.5 Análisis estadístico.....	37
9. Resultados	38
9.1 Tolerancia a glucosa	38
9.2 Prueba de objeto novedoso	39
9.3 Evaluación del daño oxidante	41
9.3.1 Especies reactivas de oxígeno (ERO).....	41
9.3.2 Peroxidación de lípidos (PL)	42
9.4 Expresión de las subunidades NR1 y NR2A del receptor NMDA.....	43
10. Discusión.....	45
11. Conclusión	49
12. Perspectivas.....	50
13. Índice de figuras	51
14. Lista de abreviaturas	52
15. Referencias.....	53
16. Anexos.....	62
16.1 Cartas de aceptación del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, Manuel Velazco Suárez	62
16.2 Constancia del LXVI Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A.C., Septiembre 2023	66

16.3 Constancia del LVI Congreso Nacional, X Internacional y IV Virtual de Ciencias Farmacéuticas, Noviembre 2023.....	67
16.4 Constancia seminario, enero 2024.....	68
16.5 Constancia de la semana del cerebro, marzo 2024	69
16.6 Constancia de XXXVIII Reunión Anual de Investigación, Julio 2024.....	70
16.7 Constancia del Congreso de Neurociencias, Octubre 2024	71

1. Introducción

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad crónica que afecta el metabolismo de la glucosa. Las personas con DM deben adoptar estrategias para reducir el riesgo de complicaciones a largo plazo, más allá del control glucémico, el autocontrol es fundamental en este proceso (ADA, 2022; Biessels *et al.*, 2006).

La insulina es una hormona clave en el metabolismo de la glucosa, su función principal es facilitar la utilización de la glucosa como fuente de energía por las células del cuerpo. Si bien no almacena glucosa directamente, la insulina promueve su almacenamiento en forma de glucógeno en el hígado y los músculos, y como triglicéridos en el tejido adiposo. Este proceso es fundamental para mantener los niveles de glucosa en sangre dentro de rangos saludables y asegurar un suministro constante de energía a las células (Tyagi A & Pugazhenti S., 2021). La insulina también desempeña funciones relevantes en el sistema nervioso central (SNC), tiene un papel neuro-modulador importante. En distintas regiones del cerebro, existen receptores de insulina y diversas vías de señalización, las cuales, regulan efectos fisiológicos el metabolismo de la glucosa, el desarrollo neuronal, el peso corporal y las conductas de alimentación; también participa en procesos cognitivos como la atención, el aprendizaje y la memoria (Kleinridders A. *et al.*, 2014; Šterk M. *et al.*, 2021).

La insulina reduce la expresión de la subunidad 2B del receptor de N-metil-D-aspartato (NR2B), un receptor de glutamato, en la corteza e hipocampo. Lo anterior sugiere una conexión entre la señalización de la insulina y los receptores de N-metil-D-aspartato (NMDA) durante la pérdida de memoria observada en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 (DM2) (Di Luca M. *et al.*, 1999). Comprender los cambios relacionados con la edad en la función de los receptores NMDA, incluyendo su posible disminución, es crucial para el desarrollo de estrategias terapéuticas dirigidas a prevenir o tratar los déficits de memoria y otras alteraciones cognitivas asociadas al envejecimiento. Newcomer y cols. revisaron la evidencia sobre la relación entre los receptores NMDA, la memoria y el envejecimiento cerebral, destacando la importancia de esta área (Newcomer J. *et al.*, 2000). Esta

investigación podría ser relevante para comprender mejor los mecanismos subyacentes a la disfunción de la memoria en pacientes con DM2, donde la resistencia a la insulina podría estar implicada en la modulación de la función de los receptores NMDA.

La diversidad de órganos y sistemas que son afectados por la diabetes hace necesaria la búsqueda de nuevas estrategias que permitan generar tratamientos que reduzcan los efectos sobre la salud a corto y mediano plazo. En ese sentido, es útil, el uso de varios modelos y abordajes experimentales que permitan comprender los mecanismos y vías de acción involucradas en esta patología (Biessels *et al.*, 2006).

Uno de los modelos animales que permite identificar los cambios fisiológicos generados por la DM2 es aquel que utiliza la acción diabética de la estreptozotocina (STZ). En el presente estudio se utilizó dicho modelo para investigar si la hiperglucemia inducida a través de dicho compuesto químico, puede generar cambios en los niveles de las subunidades NR1 y NR2A del receptor NMDA, los cuales pueden estar directamente relacionados con la disfunción de la memoria.

2. Antecedentes

La DM es una enfermedad con una alta incidencia en el mundo (OMS, 2023), la cual se caracteriza por la presencia de niveles altos de glucosa en sangre (hiperglucemia) (Harreiter J. & Roden M., 2023). Una persona libre de diabetes presenta niveles de glucosa en ayuno de 70 a 100 mg/dL, mientras que, cuando los valores se encuentran entre 100 a 125 mg/dL se diagnostica como *prediabetes* y cuando se encuentran por encima de 126 mg/dL la diabetes mellitus está establecida (ADA, 2024b).

En México, la DM representa un importante problema de salud pública. Según la Organización Panamericana de la Salud (OPS, 2021), México ocupa el segundo lugar en la tasa de mortalidad por diabetes en la región, superado solo por Guyana.

En 2021, se estimaba que 12.4 millones de personas (9.8% de la población nacional) vivían con DM en México (ENSANUT, 2021). Ese mismo año, la tasa de mortalidad por diabetes varió entre 5.1 y 15.7 por cada 100,000 habitantes en los diferentes estados del país, con una ligera mayor proporción de muertes en hombres (51%) Fig. 1 (ENSANUT, 2021).

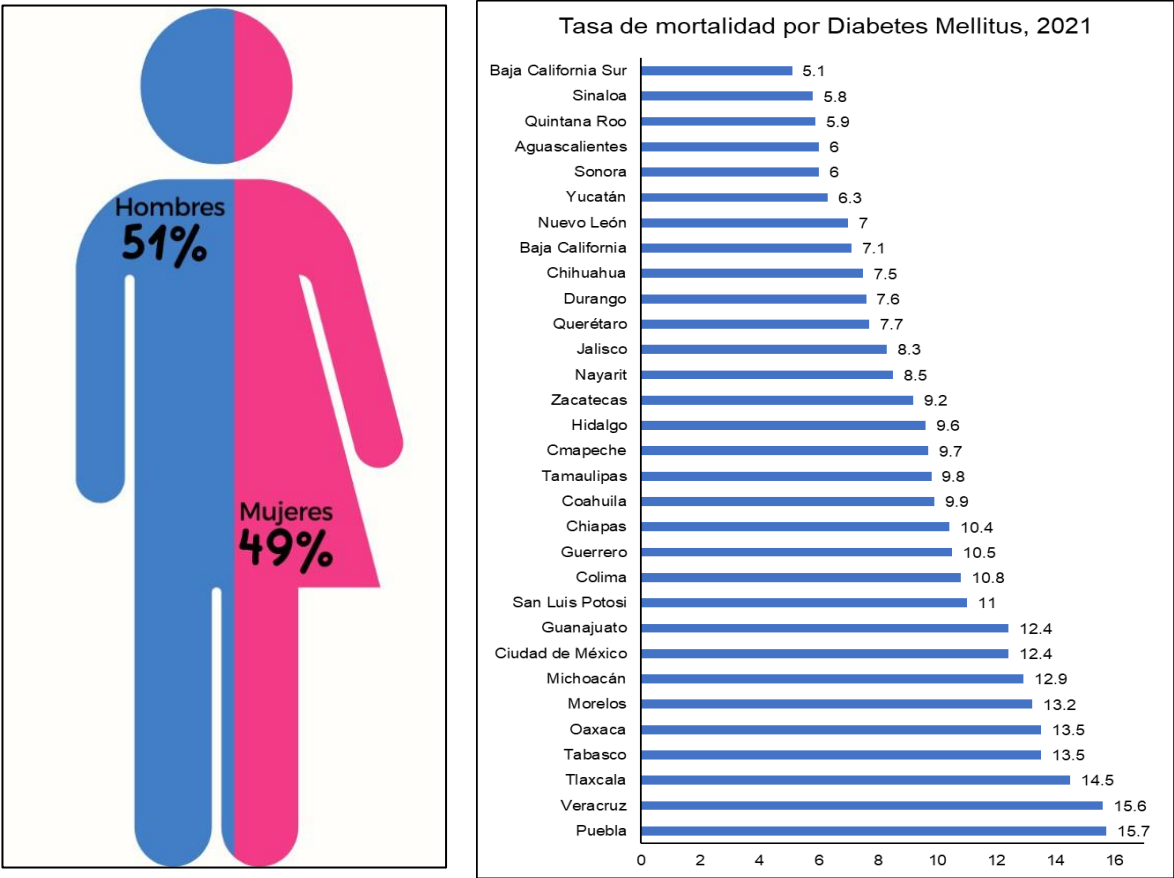


Figura 1. Defunciones por diabetes mellitus en 2021. INEGI. Estadística de defunciones registradas (INEGI, 2021).

A pesar de los avances en el tratamiento, las complicaciones crónicas de la diabetes siguen siendo una causa importante de morbilidad y mortalidad. Si bien se ha establecido una asociación entre la diabetes y el deterioro cognitivo, los mecanismos moleculares subyacentes aún no se comprenden completamente.

3. Marco teórico

3.1 Diabetes Mellitus (DM)

Cuando el organismo metaboliza azúcares simples, los convierte en glucosa, un componente esencial para la producción de energía. Además de obtener glucosa de los azúcares simples, el cuerpo también tiene la capacidad de sintetizarla a partir de grasas y proteínas (Navale A. & Paranjape A., 2016). El páncreas secreta insulina, una hormona que se encarga de regular la cantidad de glucosa presente en la sangre. Cuando existe una afectación en este órgano o en la producción de insulina, se genera hiperglucemia (Rahman M. *et al.*, 2021). Los síntomas iniciales incluyen poliuria, polifagia, polidipsia, fatiga, pérdida de peso, alteraciones en la visión y cetoacidosis (Harreiter J. & Roden M., 2023). La hiperglucemia crónica se asocia con daño y disfunción de distintos órganos, como: ojos, riñones, sistema nervioso, cerebro, corazón y vasos sanguíneos (ADA, 2011).

La DM se clasifica en cuatro tipos: diabetes mellitus tipo 1 (DM1), diabetes mellitus tipo 2 (DM2), diabetes mellitus gestacional (DMG) y diabetes de tipos específicos derivados de otras causas (Idiopática) (ADA, 2024a).

1. **Diabetes mellitus tipo 1 (DM1):** esta condición se caracteriza por la destrucción autoinmune de las células β del páncreas, lo que genera la deficiencia absoluta de insulina en el cuerpo.
2. **Diabetes mellitus tipo 2 (DM2):** se caracteriza por una combinación de dos factores principales: la resistencia a la insulina, donde las células del cuerpo no responden adecuadamente a la insulina, y una pérdida progresiva, no autoinmune, de la secreción de insulina por las células β del páncreas.
3. **Diabetes mellitus gestacional (DMG):** este tipo de diabetes se diagnostica durante el segundo o tercer trimestre del embarazo, se presenta en mujeres que no tenían diagnóstico de diabetes.
4. **Otros tipos específicos (Idiopática):** entre los tipos de diabetes menos comunes se encuentran los síndromes de diabetes monogénica, como la diabetes neonatal y la diabetes de inicio en la madurez de los jóvenes. Además, ciertas enfermedades del páncreas exocrino, como la fibrosis

quística y la pancreatitis, pueden causar diabetes. También existen casos de diabetes inducida por fármacos o sustancias químicas, como el uso prolongado de glucocorticoides o después de un trasplante de órganos.

La DM2 es un área de investigación extremadamente relevante debido a su alta prevalencia, las graves consecuencias para la salud y el potencial para desarrollar nuevas terapias. Al centrarnos en la DM2, esta investigación contribuye a un campo de estudio dinámico y con un impacto significativo en la salud pública.

3.2 Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2)

3.2.1 Fisiopatología

La DM2 es un trastorno metabólico complejo caracterizado por una combinación de resistencia a la insulina, donde las células del cuerpo no responden adecuadamente a la insulina, y una disminución progresiva de la secreción de insulina por las células β del páncreas. Si hay resistencia a la insulina, las células no pueden captar a la glucosa, lo que causa un nivel excesivo de ésta en la sangre. Con el tiempo, el páncreas sigue tratando de regular el nivel de glucosa en la sangre, generando más insulina hasta que se agota, como resultado, los niveles de glucosa aumentan (Picke A. *et al.*, 2019).

Como se muestra en la Fig. 2, en la diabetes mellitus tipo 1 (DM1), se produce una destrucción casi total de las células beta (β) del páncreas, lo que impide la producción de insulina y requiere la administración de insulina externa para mantener los niveles de glucosa en sangre bajo control. En contraste, la DM2 es una enfermedad más compleja que involucra tanto defectos en la secreción de insulina como resistencia a la insulina en los tejidos periféricos. Si bien en la DM2 puede haber una disminución parcial de la función de las células β , la resistencia a la insulina juega un papel central en el desarrollo de la enfermedad. A diferencia de la DM1, la DM2 es una enfermedad de desarrollo lento y progresivo, a menudo asociada con el síndrome metabólico (Wilcox G., 2005).

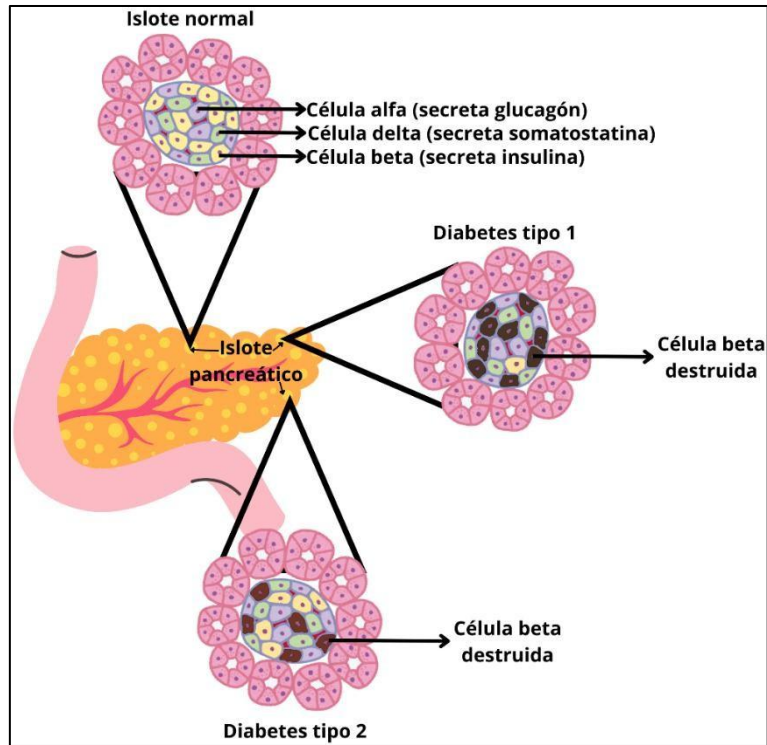


Figura 2. Esquema simplificado de los islotes de Langerhans en el páncreas (Wilcox G., 2005).

3.2.2 Complicaciones

La DM2 se caracteriza por la resistencia a la insulina, un factor clave que se relaciona con diversas complicaciones a largo plazo. Esta resistencia, junto con otros factores como la predisposición genética, los cambios epigenéticos, la inflamación y el estrés metabólico (Skyler J. *et al.*, 2017; Williams D. *et al.*, 2022), contribuye al desarrollo de complicaciones que afectan significativamente la calidad de vida y la esperanza de vida de las personas con DM2. La DM2 representa aproximadamente el 90% de los casos (Fig. 3) con algún tipo de diabetes (ADA, 2024a).

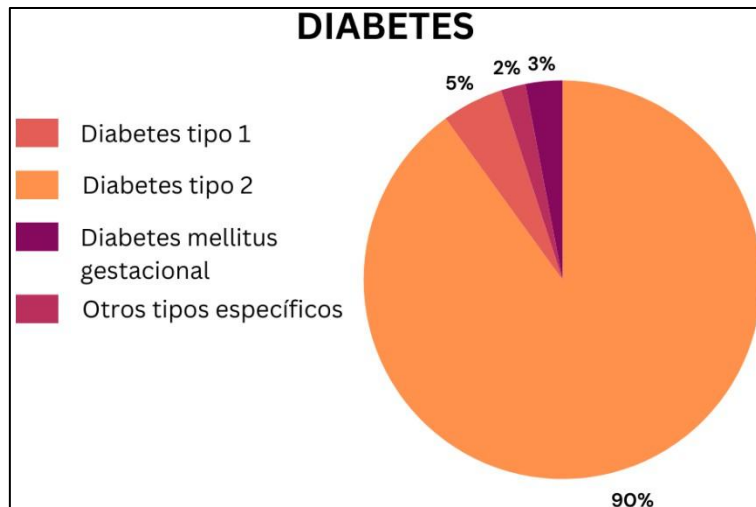


Figura 3. Diabetes: Panorama de Tipos y Proporciones (ADA, 2024a).

3.2.2.1 Complicaciones microvasculares

Las complicaciones microvasculares se deben al daño de los pequeños vasos sanguíneos y son características de la DM2. Entre las más destacadas se encuentran (Zheng Y. *et al.*, 2018):

- Retinopatía diabética: El daño a los vasos sanguíneos de la retina puede llevar a la pérdida de visión. La retinopatía diabética es una de las principales causas de ceguera en adultos.
- Nefropatía diabética: El daño a los riñones puede progresar a insuficiencia renal. La nefropatía diabética es una de las principales causas de enfermedad renal crónica.
- Neuropatía diabética: El daño a los nervios puede causar dolor, entumecimiento y otros problemas en diferentes partes del cuerpo. La neuropatía diabética puede afectar los nervios periféricos, los nervios autónomos y otros.

3.2.2.2 Complicaciones macrovasculares

Las complicaciones macrovasculares se deben al daño de los grandes vasos sanguíneos y son también muy relevantes en la DM2 (Zheng Y. *et al.*, 2018):

- Enfermedad cardiovascular: Aumento del riesgo de sufrir infartos de miocardio, accidentes cerebrovasculares y otras enfermedades del corazón

y los vasos sanguíneos. La enfermedad cardiovascular es la principal causa de muerte en personas con DM2.

- **Enfermedad arterial periférica:** Reducción del flujo sanguíneo a las extremidades, lo que puede causar dolor, úlceras y, en casos graves, amputación. La enfermedad arterial periférica es una complicación grave de la DM2 que puede afectar la calidad de vida.

3.2.2.3 Otras complicaciones

Además de las complicaciones micro y macrovasculares, la DM2 se asocia con otras complicaciones que también requieren atención (Zheng Y. *et al.*, 2018):

- **Pie diabético:** Problemas en los pies, como úlceras, infecciones y deformidades, que pueden requerir amputación. El pie diabético es una complicación frecuente y grave de la DM2.
- **Infecciones:** Las personas con DM2 tienen mayor riesgo de sufrir infecciones, ya que la enfermedad debilita el sistema inmunológico. Las infecciones pueden ser más graves y difíciles de tratar en personas con DM2.
- **Problemas de salud mental:** La DM2 puede afectar la salud mental de las personas, aumentando el riesgo de depresión, ansiedad y otros trastornos. Es importante abordar la salud mental de las personas con DM2 de manera integral.

3.3 La insulina en el cerebro y diabetes

La insulina, secretada por las células beta (β) pancreáticas, llega al cerebro atravesando la barrera hematoencefálica (BHE) mediante transcitosis mediada por el receptor de insulina, que se encuentra en las células endoteliales de la BHE (Haddad-Tovoli R. *et al.*, 2017). La insulina se une a su receptor, desencadenando la internalización del complejo insulina-receptor y su transporte a través de la célula endotelial en vesículas. Estas vesículas se fusionan con la membrana en el lado cerebral de la BHE, liberando la insulina en el espacio perivascular, desde donde puede unirse a sus receptores en las células cerebrales (Hölscher C., 2019).

La integridad de la BHE, crucial para regular el paso de sustancias como la insulina, está determinada por proteínas de unión estrecha como las ocludinas, claudinas y moléculas de adhesión. Este transporte regulado puede alterarse en condiciones como la obesidad, la DM2, el ayuno y la enfermedad de Alzheimer (EA) (Hölscher C., 2019).

En la DM2, la alteración de la BHE puede ser mediada por proteínas de transporte de insulina alteradas, pérdida de pericitos y expresión alterada de proteínas de unión estrecha en los microvasos cerebrales (Kleinridders A. *et al.*, 2015).

Los sitios de mayor expresión del receptor de insulina en el SNC se localizan dentro del bulbo olfatorio, el hipotálamo, el hipocampo, la corteza cerebral (corteza prefrontal) y el cerebelo (Soto M. *et al.*, 2019), véase la Fig. 4.

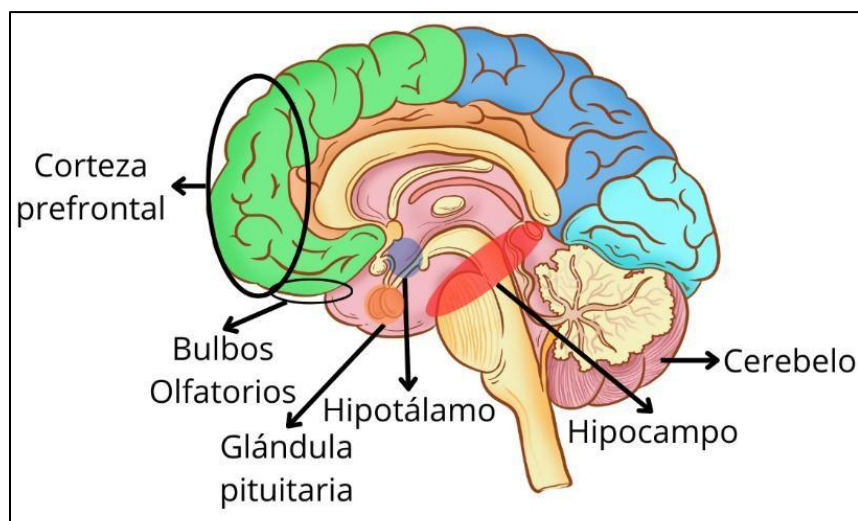


Figura 4. Sitios de mayor expresión del receptor de insulina en el SNC (Soto M. *et al.*, 2019).

La insulina ejerce sus efectos en el cerebro uniéndose a receptores de insulina presentes en diversas regiones, como el hipotálamo, el hipocampo y la corteza cerebral. La señalización de la insulina en el cerebro interactúa con el sistema glutamatérgico, modulando la actividad de los receptores NMDA a través de vías como la PI3K/Akt y la MAPK (Petersmann A. *et al.*, 2019). Esta modulación puede influir en la plasticidad sináptica y la función cognitiva. La insulina en el cerebro participa en el desarrollo y la supervivencia neuronal, además, es neuroprotectora,

previene el daño inducido por la isquemia, la toxicidad del β -amiloide ($A\beta$), el estrés oxidativo y la apoptosis (Hölscher C., 2019).

La resistencia cerebral a la insulina está vinculada con la disfunción cognitiva y la depresión. Además, existe evidencia de que la administración intranasal de insulina posee beneficios cognitivos en pacientes con DM2 y EA (Benedict C. *et al.*, 2007).

3.4 El efecto de la diabetes sobre las funciones cognitivas

El SNC, centro de control del cuerpo, está compuesto por el cerebro y la médula espinal. El cerebro, dividido en regiones como la corteza cerebral (funciones cognitivas), el hipotálamo (funciones básicas), el hipocampo (memoria y aprendizaje) y el cerebelo (movimiento y equilibrio), requiere un suministro constante de oxígeno y nutrientes a través de la circulación cerebral. La plasticidad sináptica, capacidad del cerebro para cambiar y adaptarse, es fundamental para el aprendizaje y la memoria, e implica cambios en la fuerza de las conexiones entre las neuronas (Stiles J & Jernigan TL, 2010).

En el SNC, la DM2 produce alteraciones como deterioro visual, enfermedad cerebrovascular, edema cerebral, infarto, atrofia cortical y subcortical, anomalías en la sustancia blanca y alteraciones en la función linfática, así como una desregulación general del metabolismo cerebral (Toth C., 2014). También, modifica la circulación cerebral y altera la plasticidad sináptica del hipocampo, lo que contribuye a una disminución en la velocidad de conducción de los impulsos eléctricos en las fibras presinápticas y a la atrofia cerebral (Chen Z. *et al.*, 2012). La DM2 acelera el envejecimiento cerebral y ocasiona desequilibrios en los niveles de calcio (Ca^{2+}). El Ca^{2+} es esencial para la función neuronal, participando en la liberación de neurotransmisores, la plasticidad sináptica y la excitabilidad neuronal. Las interrupciones en la señalización del Ca^{2+} , como las causadas por la hiperglucemia diabética, pueden tener efectos negativos en la función cognitiva (Thibault O. *et al.*, 2013; Chandran R. *et al.*, 2019).

Los adultos de mediana edad con DM2 muestran alteraciones en la función neuronal. En estudios de imagenología funcional se han observado una reducción en la activación neuronal, sugiriendo que los cambios cerebrales preceden a la aparición de la diabetes en individuos de alto riesgo (Song H. *et al.*, 2020). Aunque un nivel constante de glucosa es fundamental para el metabolismo cerebral y la actividad neuronal, períodos prolongados de niveles altos o bajos de glucosa, así como cambios rápidos en estos niveles, pueden ocasionar daños a las neuronas (Ergula A. *et al.*, 2015). Análisis recientes han revelado lesiones en la materia blanca y atrofia de la materia gris atribuibles a hiperglucemia, pueden estar asociadas con una disminución del rendimiento cognitivo (Macpherson H. *et al.*, 2017).

La BHE es una estructura altamente selectiva que protege el cerebro. Está formada por células endoteliales unidas estrechamente, lo que restringe el paso de muchas sustancias, pero permite el paso de sustancias esenciales como el oxígeno y la glucosa a través de transportadores específicos. Las uniones estrechas entre las células endoteliales son cruciales para la selectividad de la BHE. La integridad de la BHE es fundamental en la homeostasis cerebral (Gray S., 2018), y su disfunción está asociada con un deterioro cognitivo acelerado (Jiang X. *et al.*, 2018). La disfunción de la BHE, asociada con un deterioro cognitivo acelerado, implica la alteración de proteínas de unión estrecha como las ocludinas, claudinas y moléculas de adhesión. El aumento del estrés oxidativo crónico, en pacientes con DM2 es común, esto induce directamente la alteración de las proteínas de uniones estrechas en la BHE (Gelb J. *et al.*, 2018). La alteración de las uniones estrechas en la BHE permite la entrada de sustancias dañinas al cerebro, lo que desencadena una respuesta inflamatoria y aumenta la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO), contribuyendo al estrés oxidativo (Zhang S. *et al.*, 2016). Esta alteración incrementa la permeabilidad de la BHE, provocando un mayor daño oxidativo y el paso directo de la glucosa de sangre al tejido cerebral.

El daño microvascular cerebral relacionado con la DM2 también puede comprometer la función de la BHE, contribuyendo al deterioro cognitivo observado en los trastornos neurodegenerativos (Gray S., 2018; Kunze R. *et al.*, 2019). Además, la DM2 puede provocar un aumento en la producción de ERO y especies

reactivas de nitrógeno (RNS) y una disminución en la actividad de las enzimas antioxidantes, lo cual, puede agravar el daño cerebral y cognitivo asociado con la enfermedad (Zhang S. et al., 2016).

3.5 La memoria en diabetes

La memoria es un proceso cerebral que permite codificar, organizar y almacenar sucesos pasados de tal manera que a veces se pueden recordar eventos previos de manera consciente, como si se estuvieran experimentando nuevamente (Rains G., 2004). La memoria no puede considerarse como una función cerebral estática, única o aislada; es el conjunto de funciones cerebrales responsables de la clasificación, codificación, almacenamiento y recuperación de una amplia variedad de tipos de información crucial para el organismo (Rains G., 2004; Squire L., 2004).

La memoria se clasifica como:

- La memoria sensorial (MS) se encarga de registrar las sensaciones y reconocer las características físicas de los estímulos.
- La memoria a corto plazo (MCP) retiene la información en el momento presente.
- La memoria a largo plazo (MLP) conserva los conocimientos o recuerdos para su uso posterior, constituyendo la base de datos de nuestra mente (Rains G., 2004).

Es importante distinguir entre deterioro cognitivo y déficit cognitivo. El deterioro cognitivo se refiere a cualquier disminución de las funciones cognitivas en comparación con el nivel previo de funcionamiento de una persona, mientras que el déficit cognitivo se refiere a una deficiencia específica en una o más funciones cognitivas.

La hiperglucemia se asocia con un deterioro de la memoria y de la función ejecutiva, así como con alteraciones en la expresión de la potenciación a largo plazo (LTP) y en la depresión a largo plazo (LTD) en el hipocampo (Willette A. et al., 2015). La transmisión excitatoria en el cerebro está mediada por glutamato, que actúa a través

de receptores ionotrópicos (AMPA y NMDA) y metabotrópicos (mGluRs) (Flores-Soto M. *et al.*, 2012).

Las conexiones cerebrales (sinapsis) que utilizan glutamato cambian en condiciones de hiperglucemia, afectando la función de los receptores NMDA (Schmitt W. *et al.*, 2005; Sanderson D. *et al.*, 2007). Estas alteraciones en la función de los receptores NMDA pueden afectar la plasticidad sináptica, incluyendo la LTP y la LTD (Córdoba D. *et al.*, 2010), lo que a su vez puede contribuir al deterioro de la memoria y de la función ejecutiva observados en la hiperglucemia. Ambos procesos (plasticidad y LTP), son el soporte neuroquímico de la memoria.

La memoria es una de las funciones cognitivas más comúnmente afectadas en la hiperglucemia. Los receptores NMDA juegan un papel crucial en la plasticidad sináptica y en los procesos de aprendizaje y memoria. Las alteraciones en la función de los receptores NMDA causadas por la hiperglucemia pueden, por lo tanto, tener un impacto significativo en la memoria.

3.6 Receptores de N-Metil-D-Aspartato (NMDA)

Los receptores para NMDA participan de manera importante en la regulación de la plasticidad sináptica, el aprendizaje, la psicosis, la depresión, la esquizofrenia, la muerte celular y en diversas enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Huntington (EH) y la EA (Fitzjohn S. *et al.*, 2016). Los receptores NMDA son heterotetrámeros (Fig. 5) que funcionan como canales de calcio, compuestos por monómeros pertenecientes a dos familias de subunidades: NR1 y NR2A-D, las cuales se expresan de manera diferencial (Vyklícky V. *et al.*, 2014).

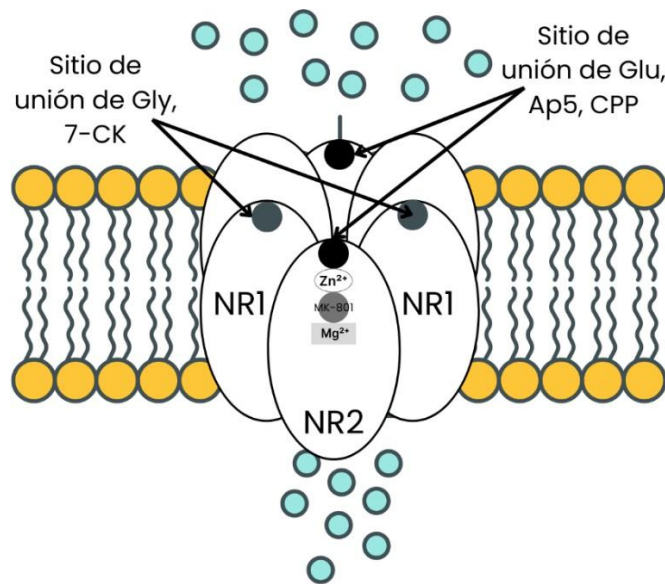


Figura 5. Estructura del receptor N-Metil-D-Aspartato (NMDA) (Rivera I. & Colomé A., 2005)

La subunidad NR1 del receptor NMDA se encuentra distribuida en el SNC. La combinación más común para la formación del receptor es la NR1/NR2A (Receptor de NMDA tipo 1/Receptor de NMDA tipo 2A) y ha sido identificada en tejido cerebral y medular (Vyklícky V. *et al.*, 2014). Cambios moleculares en las subunidades del receptor NMDA tienen repercusiones en procesos fisiológicos y patológicos en el hipocampo (Hovelsø N *et al.*, 2012; Vyklícky V. *et al.*, 2014). Las subunidades NR2A y NR2B del receptor NMDA son indispensables para la plasticidad sináptica en el hipocampo y la inducción y mantenimiento del LTP (Kopp C. *et al.*, 2007; Sanderson D. *et al.*, 2008). El proceso de LTP dependiente del receptor NMDA es un mecanismo celular que subyace al aprendizaje espacial y la memoria en el hipocampo (Coultrap S. *et al.*, 2008). Ambos procesos (plasticidad y LTP), son el soporte neuroquímico de la memoria. Diversas formas de manipulación del comportamiento, como la experiencia sensorial, el aprendizaje y la privación del sueño, pueden alterar la proporción de receptores NMDA NR2A/NR2B en el hipocampo (Kopp C. *et al.*, 2007).

3.7 Modelo experimental de Diabetes mellitus tipo 2 (DM2)

Los modelos animales han desempeñado un papel fundamental en la comprensión de los efectos de la DM2 sobre los receptores NMDA y otros mecanismos moleculares del SNC. En ese sentido se han aplicado diferentes estrategias para replicar los aspectos clave de la DM2 e investigar sus consecuencias en el SNC (Gispen W. & Biessels G., 2000).

Dicho conocimiento permite identificar posibles objetivos terapéuticos y estrategias que permitan prevenir o tratar los efectos de la diabetes en la función cerebral y la memoria (Arias-Díaz J. & Balibrea J., 2007).

Existen diversos modelos animales que representan la presencia de diabetes y sus efectos (Arias-Díaz J. & Balibrea J., 2007). En este proyecto de investigación se utilizó el modelo de DM2 inducido con estreptozotocina (STZ), el cual es un antibiótico utilizado como quimioterapia para tratar el cáncer.

La STZ es un derivado de la nitroso-urea que se obtiene del *Streptomyces achromogenes*, posee un amplio espectro de actividad antibiótica y antineoplásica; actúa como un potente agente alquilante que interfiere con el transporte de glucosa y la función de la glucocinasa; además causa múltiples roturas en el DNA (Furman L., 2021). La STZ está compuesta por glucosa unida a un fragmento reactivo de nitroso-urea. Esta estructura permite que la STZ sea internalizada a través de los transportadores celulares de glucosa (Arias-Díaz J. & Balibrea J., 2007). Una vez dentro de la célula, el fragmento de nitroso-urea se libera y ejerce su toxicidad. Considerando que las células β pancreáticas captan de manera activa la glucosa, debido a la necesidad de monitorear continuamente sus niveles plasmáticos, son más susceptibles al efecto tóxico de la STZ (Ghasemi A. & Jeddi S., 2023). La vía y la frecuencia de administración de la STZ influye en el efecto que genera, en roedores recién nacidos, la STZ puede inducir DM2 al destruir las células β del páncreas, véase la Fig. 6 (Arias-Díaz J. & Balibrea J., 2007). Esta selectividad se debe a que las células β expresan el transportador GLUT2, lo que facilita la entrada de la STZ, y tienen una alta actividad metabólica y una capacidad antioxidante limitada, lo que las hace más susceptibles al daño.

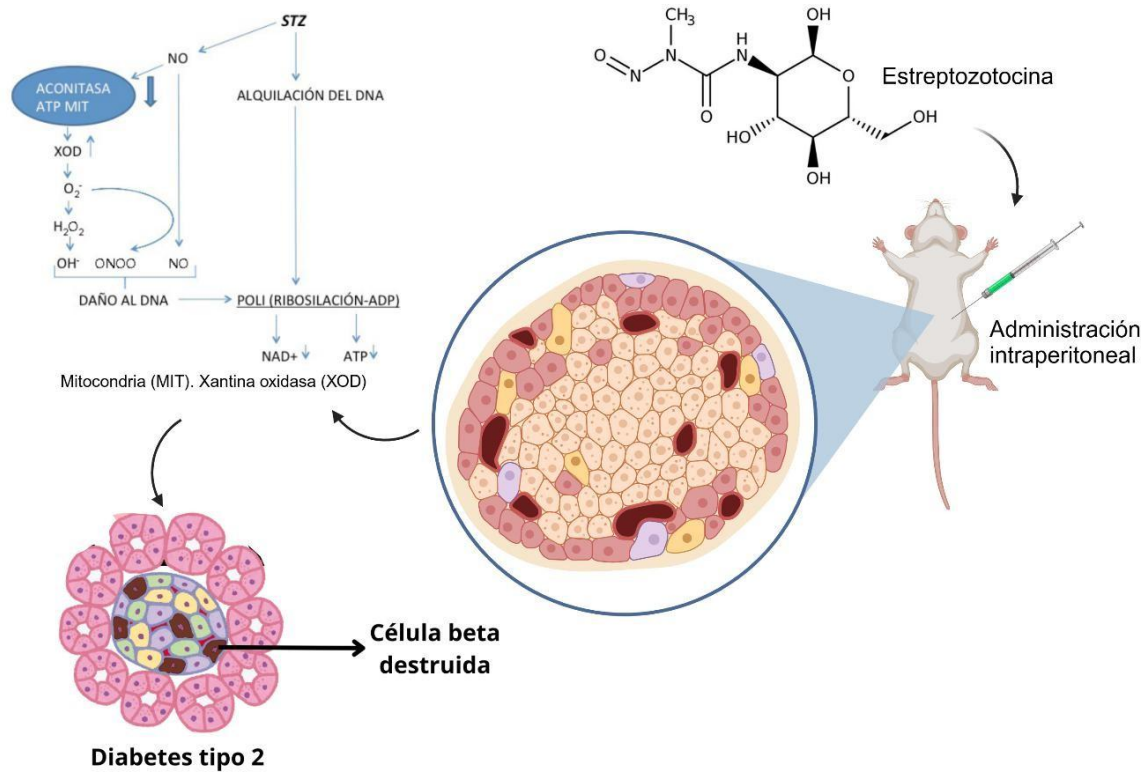


Figura 6. Mecanismo de acción de la estreptozotocina (STZ) (Aguilera K. *et al.*, 2017)

4. Planteamiento del problema

La DM2 se asocia con un mayor riesgo de deterioro cognitivo. Aunque se ha propuesto que la hiperglucemia crónica altera la plasticidad sináptica a través de los receptores NMDA, la evidencia experimental es limitada. Este estudio tiene como objetivo determinar si la inducción de hiperglucemia en un modelo animal de rata con STZ induce déficit cognitivo (pérdida de memoria) y si estos déficits se correlacionan con cambios en la expresión de los receptores NMDA en el hipocampo y la corteza cerebral. Los resultados de esta investigación contribuirán a elucidar los mecanismos moleculares subyacentes al deterioro cognitivo asociado a la DM2 y abrirán nuevas perspectivas para el desarrollo de estrategias terapéuticas.

5. Pregunta de investigación

¿La hiperglicemia generada en la DM2 produce daño cognitivo en las ratas y este daño puede deberse a la disminución en la expresión de los receptores NMDA (NR1 y NR2A) en el hipocampo y la corteza cerebral?

6. Hipótesis

La generación de un estado hiperglucémico inducido por STZ alterará la memoria a corto y largo plazo en un modelo animal. Lo cual correlacionará con la disminución en la expresión del receptor NMDA (NR1 y NR2A) en el hipocampo y la corteza cerebral de ratas.

7. Objetivos

7.1 Objetivo principal

Evaluar los cambios producidos en ratas en diferentes etapas de la diabetes (DM2) determinando si se produce déficit cognitivo y daño neuronal.

7.2 Objetivos específicos

- Evaluar la susceptibilidad al deterioro en el aprendizaje y la memoria en ratas con DM2 y control después de 8, 14 y 20 semanas.
- Estimar la presencia del daño oxidante (peroxidación de lípidos, especies reactivas de oxígeno) en ratas con DM2 y control después de 8, 14 y 20 semanas.
- Evaluar la expresión de las subunidades NR1 y NR2A del receptor a NMDA en la corteza cerebral y el hipocampo en ratas con DM2 y control después de 8, 14 y 20 semanas.

8. Materiales y métodos

8.1 Reactivos

Reactivo	No. de catálogo	Reactivo	No. de catálogo
Estreptozotocina	SC-200719, Santa Cruz	SDS	28312, ThermoFischer
Isoflurano	C17E227, Pisa	Cloruro de sodio	S5886, Sigma- Aldrich
DCFH-DA	F7378, Sigma	Tris	77-86-1, Merck
DCF	46995, Fluka	EDTA	E6758, Sigma- Aldrich
Metanol	153849, Fischer Chemical	Ácido clorhídrico 0.1 N	258148, Sigma- Aldrich
Cloroformo	H6242, Fermont	Mercaptoetanol	M6250, Sigma- Aldrich
Anti NR1	AB17345, Abcam	EGTA	E0396, Sigma- Aldrich
Anti NR2A	08161904, Enzo	Fluoruro de calcio	1354, J. T. Baker
Anti Actina	SC-47778, Santa Cruz	Pirofosfato de sodio	3850, J. T. Baker
Inhibidor de proteasa	126M4015V, Thermo Scientific™	Ortovanadato de sodio	S6508, Sigma- Aldrich
BCA	RG236763, Thermo Scientific™	Tween20	1706531, Bio- Rad
Luminol	SC-2048, Santa Cruz	Leche descremada	Svelty, Nestle
Membrana de nitrocelulosa de 0.45 µm	1620115, BioRad	Acrilamida	1610100, Bio- Rad

Marcador de peso molecular	161-0374, BioRad	Bisacrilamida	1610201, Bio-Rad
Persulfato de amonio (PSA)	1610700, Bio-Rad	Glicerol	911046, Sigma-Aldrich
Azul de bromofenol	1610404, Bio-Rad	TEMED	1610800, Bio-Rad
Ácido cítrico	100244, Sigma-Aldrich	Citrato de sodio	22902, Fermont
Cloruro de potasio	26265, Golden Bell	Fosfato de sodio monobásico	S0751, Sigma-Aldrich
Bicarbonato de sodio	S6014, Sigma-Aldrich	Cloruro de magnesio	2444, J. T. Baker
Glucosa	108337, Millipore	Cloruro de calcio	24911, Fermont
HEPES	4018-01, J. T. Baker		

8.2 Animales

Se solicitaron 4 pies de crías, cada uno incluyó 8 ratas hembra y 4 ratas macho de la cepa Wistar con peso de 200 a 250 g en el Departamento de Bioterio del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez (MVS). Los animales de experimentación se distribuyeron en grupos, de acuerdo con el diseño experimental mostrado en la sección “Modelo de diabetes mellitus tipo 2”

Las ratas fueron mantenidas en el Bioterio del Instituto Nacional de Neurología, bajo condiciones de temperatura, aire y humedad controlados y con ciclos de luz y oscuridad de 12-12 horas. Las cajas de acrílico sirvieron como albergue de las ratas, en donde se colocaron no más de 6 ratas por caja y con encamado de aserrín previamente esterilizado. Las ratas tuvieron acceso libre a alimento y agua durante su albergue.

Las ratas que se utilizaron en la realización de este proyecto fueron manipuladas de acuerdo con el reglamento para el uso y cuidado de animales, establecida por el comité del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía y la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-2001 “Especificaciones Técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio”. Todos los consumibles fueron proporcionados por el Departamento de Bioterio.

8.3 Diseño experimental

8.3.1 Modelo de Diabetes mellitus tipo 2 (DM2)

El modelo de DM2 fue establecido en ratas neonatas repartidas en dos grupos: control y diabético.

La inducción de DM2 se realizó con la administración intraperitoneal (i.p.) de STZ o vehículo a ratas Wistar macho neonatas (2-3 días de edad). Las ratas se asignaron de manera aleatoria en 2 grupos experimentales:

- Grupo 1: ratas control, formado por ratas a las cuales se les administró i.p. vehículo buffer de citrato 0.1 M (pH 4.5).
- Grupo 2: ratas diabéticas, a las cuales se les administró una dosis única de STZ (70 mg/kg) por vía i.p. utilizando como vehículo buffer de citrato 0.1 M (pH 4.5).
 - Buffer de citrato 0.1 M (pH 4.5): Se mezclaron citrato de sodio ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) y ácido cítrico monohidratado ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$)

Se muestra en la Fig. 7, el diagrama utilizado en todos los grupos anteriormente mencionados:

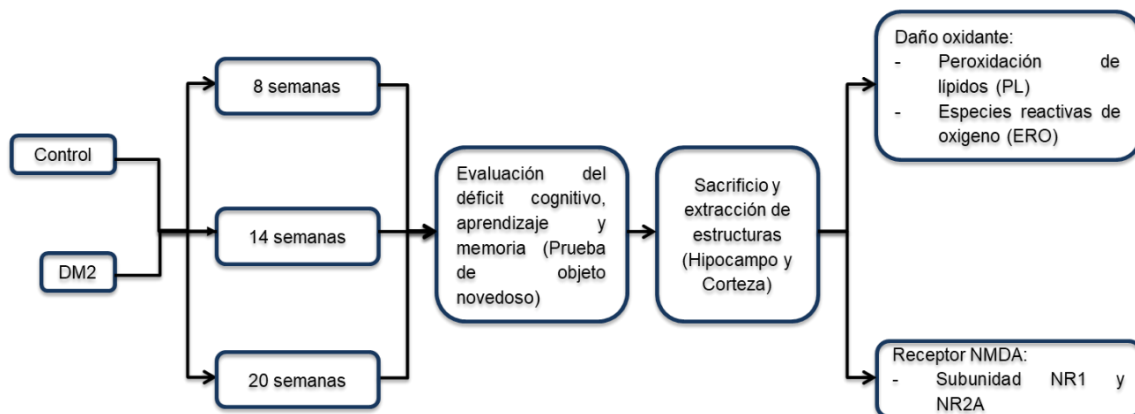


Figura 7. Diagrama de flujo general del modelo de diabetes mellitus tipo 2 (DM2) para la evaluación cognitiva y molecular

8.4 Seguimiento de los modelos animales

8.4.1 Evaluación Basal

8.4.1.1 Curva de tolerancia a glucosa (CTG)

La demostración del establecimiento de la DM2 en las ratas se realizó a través de la CTG a las 8 semanas de edad. El procedimiento de la CTG se muestra en la Fig. 8 de forma resumida. El procedimiento consistió en lo siguiente: posterior al ayuno de 8h, se obtuvo la toma de glucosa basal (tiempo 0) por punción en la cola y con ayuda de un glucómetro (Accu check Active, Glucotrend, Roche®) se determinó la concentración de glucosa capilar.

Posteriormente, a los animales se les administró por vía oral un bolo de glucosa con una dosis de 2 g/kg de peso. La glucosa capilar se midió en lapsos de 30 min (30, 60, 90 y 120 min). Las ratas que mantuvieron valores superiores a 150 mg/dL fueron clasificadas como diabéticas. Asimismo, a las ratas se les registró el peso corporal y la glucemia durante las 8, 14 y 20 semanas de edad.

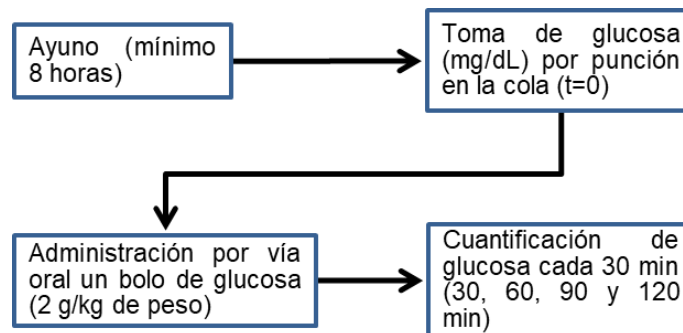


Figura 8. Diagrama de flujo de Curva de tolerancia a glucosa (CTG) en el modelo animal de rata diabética y control

8.4.2 Evaluación del aprendizaje y memoria con la prueba de objeto novedoso

El paradigma de reconocimiento de objetos está basado en la tendencia natural de los roedores por explorar objetos novedosos en mayor medida que los objetos familiares. Esta prueba está basada en el comportamiento espontáneo de los roedores por explorar aditamentos novedosos, lo cual permite estudiar la memoria de trabajo (Ennaceur A. & Delacour J., 1988). La prueba de objeto novedoso consiste en la presentación de dos objetos denominados objeto familiar y objeto

novedoso, y se comparan las respuestas del roedor hacia ambos objetos, permitiendo evaluar memoria a corto y a largo plazo (Lueptow L., 2017).

A diferencia de las pruebas con alimentos o descargas eléctricas, este tipo de prueba no implica un refuerzo primario como lo hacen.

Cuando la familiarización tiene lugar en una fase en la cual el ambiente contextual es relativamente novedoso, el hipocampo juega un papel inhibitorio en la consolidación de la memoria de reconocimiento de objetos. De esta manera, la memoria de reconocimiento de objetos permanece inalterada por la inactivación del hipocampo, cuando la exploración inicial de los objetos ocurre en un ambiente familiar (Clarke J. *et al.*, 2010). El procedimiento utilizado se muestra en la Fig. 9.

A continuación, se describen las etapas clave de esta prueba:

1. **Habitación:** el objetivo de esta etapa es familiarizar al animal con el entorno y reducir el estrés causado por la manipulación.
2. **Entrenamiento:** esta etapa sirve para que el roedor se familiarice con la naturaleza de los objetos y el comportamiento de exploración.
3. **Prueba de Memoria a Corto Plazo:** si el animal recuerda el objeto familiar, debería explorar más el objeto nuevo, demostrando así su capacidad de reconocer lo nuevo.
4. **Prueba de Memoria a Largo Plazo:** esta etapa permite evaluar la capacidad del animal para recordar el objeto familiar a largo plazo.

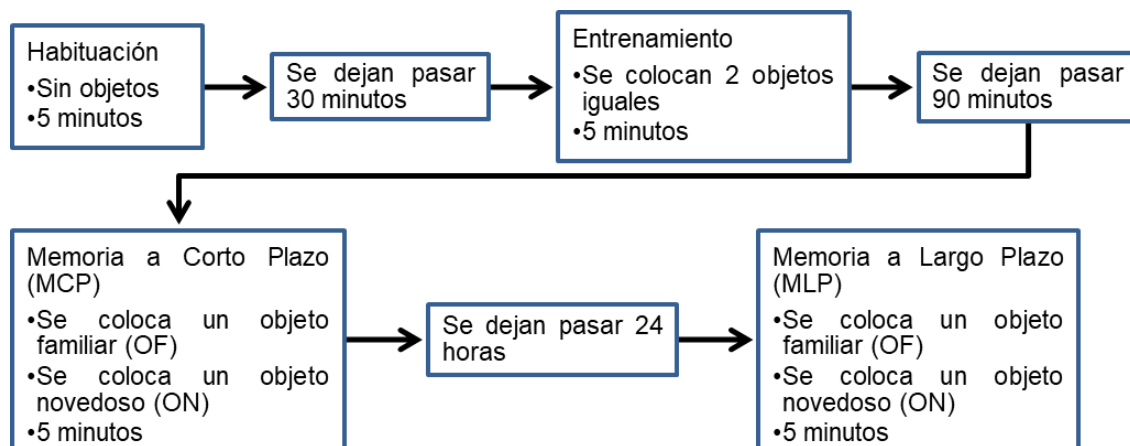


Figura 9. Diagrama de flujo de la prueba de objeto novedoso en el modelo de ratas diabéticas y control

8.4.3 Evaluación de marcadores biológicos de deterioro cognitivo

8.4.3.1 Obtención de muestras para la evaluación bioquímica en estructuras cerebrales

Al término de la evaluación conductual y de memoria, los animales fueron colocados en una cámara de isoflurano para su sedación profunda. Posteriormente, fueron sacrificados por punción cardíaca para extraer la muestra de sangre y de cerebro, para su futura evaluación.

Se diseccionó el cerebro en corteza e hipocampo en condiciones de baja temperatura. Inmediatamente a la extracción, el tejido se mantuvo a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su uso. Los cadáveres fueron desechados de acuerdo con la NOM-087-ECOL- SSA1-2002 para residuos peligrosos biológico-infecciosos (RPBI) de Protección ambiental, Salud ambiental, Residuos biológico-infecciosos de acuerdo con las normas establecidas por el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía.

8.4.3.2 Detección de la expresión de las subunidades NR1 y NR2A del receptor NMDA

La inmuno-detección de las proteínas de interés en el hipocampo y la corteza de las ratas se realizó con la técnica de Western blot, de acuerdo con la técnica descrita por W. Neal Burnnette en la Universidad de Stanford (1981). Brevemente, el Western blot consta de diferentes pasos (Burnette W., 1981):

1. Preparación de la muestra: el hipocampo y la corteza, por separado, se homogenizaron con un buffer de lisis y un inhibidor de proteasa (126M4015V, Thermo Scientific™) (1mL:1 μ L).

- Buffer de lisis, pH 7.5: Para 100 mL se pesó 150 mM (0.8766 g) de cloruro de sodio (NaCl), 25 mM (0.3028 g) de Tris base, 50 mM (0.2095 g) Fluoruro de Calcio (CaF), 10 mM (0.1969 g) Pirofosfato de sodio ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$) y 1 mM (0.0121 g) Ortovanadato de sodio (Na_3VO_4).

Cada sección del cerebro se homogenizó en 1 mL (hipocampo) y 1.2 mL (corteza) de la mezcla del buffer de lisis e inhibidor de proteasa.

2. Medición de proteínas por el método de ácido bicinonínico (BCA): en una placa transparente de 96 pozos se colocó agua destilada (195 μ L), BCA con sulfato cúprico (CuSO_4) (1 mL:20 μ L) (100 μ L) y las muestras homogenizadas (5 μ L). La placa fue leída a 562 nm y los resultados obtenidos permitieron calcular la cantidad de muestra que fue colocada en los pozos de los geles al 10%, en donde cada carga fue equivalente a 50 μ g de proteína.
3. Desnaturalización de proteínas: se realizó mediante baño maría, se colocó en un tubo Eppendorf 50 μ L de muestra (hipocampo o corteza) y 50 μ L de buffer muestra. Se dejaron 5 min en el baño maría.
 - Buffer muestra: Se mezcló 1 mL de Tris HCl 0.5M pH 6.8, 0.8 mL de glicerol, 1.6 mL de SDS 10%, 0.4 mL de azul de Bromofenol al 1%, 0.4 mL 2-mercaptoetanol (1 g de 2-mercaptoetanol en 100 mL de agua destilada) y 3 mL de agua destilada.
Nota: Debe de prepararse inmediatamente antes de usar. Alternativamente se puede preparar y mantener a temperatura ambiente sin el 2-mercaptoetanol, y añadir éste antes de su uso. Manipular en la campana el 2-mercaptoetanol (es tóxico).
4. Electroforesis: se prepararon geles al 10% SDS-PAGE.
 - Gel separador al 10% de acrilamida en buffer de Tris-H-HCl 0.375 M, pH 8,8: Se mezclaron 2.5 mL de Tris HCl 1.5M pH 8.8, 0.1 mL de SDS 10%, 4.3 mL Acrilamida/bisacrilamida 30%, 0.05 mL de persulfato de amonio (PSA) 10 %, 0.005 mL de TEMED y 3 mL agua destilada.
Se dejó correr el gel a 70V por 15 min y luego a 150V por 60 min.
Transferencia: En el proceso de transferencia de proteínas desde el gel hacia una membrana, se utilizó una membrana de nitrocelulosa (0.45 μ m). Se dejó transferir durante 60 min a 0.2 A. Cuando se obtuvieron las membranas, se les realizó un bloqueo con leche descremada al 5% por 60 min.
 - Leche descremada al 5%: Se pesaron 2.5 g de leche descremada y se adicionaron 50 mL de T-BST.

- TBS 10X: Se mezclaron 24.3 g de Tris y 80.06 g de NaCl en 800 mL de agua desionizada, luego se ajustó su pH con HCl hasta 7.6. Se aforó hasta 1 L.
- TBS-T: Se tomaron 100 mL de TBS 10X y se le adicionaron 1 mL de Tween20 para aforarse hasta 1 L.

Posteriormente, las membranas fueron colocadas por separado a incubación, de acuerdo con los anticuerpos primarios NR1 (dilución 1:50) y NR2A (dilución 1:50). La incubación se realizó por 12 horas a 4°C con agitación constante. Las imágenes generadas en esta prueba fueron capturadas usando un fotodocumentador (Vilber Lourmat). Los resultados fueron expresados como unidades relativas de densidad óptica (D.O).

8.4.4 Evaluación del daño oxidante

8.4.4.1 Cuantificación de las especies reactivas de oxígeno (ERO)

La formación de ERO fue evaluada de acuerdo a la técnica descrita por Pérez-Severiano y col. brevemente, se utilizó di-acetato de 2',7'-diclorofluoresceína (DCFH-DA) es oxidada por acción de las ERO para formar 2',7'-diclorofluoresceína (DCF), la cual es capaz de generar fluorescencia (Pérez Severiano F. *et al.*, 2000).

- Preparación DCF:

DCF 1: Se pesó 4.5 mg de DCF en un tubo eppendorf negro, se le adicionó 1 mL de metanol.

DCF 2: En un matraz aforado de 50 mL se colocó 500 µL de metanol, 5 µL de DCF 1 y se aforó con buffer 9:1.

- Buffer 9:1. Se preparó Tris-HCl (40 mM, pH 7.4) y se mezcló con buffer HEPES. Para el buffer HEPES se necesitó cloruro de sodio (NaCl), cloruro de potasio (KCl), cloruro de magnesio (MgCl₂), cloruro de calcio (CaCl₂), fosfato de sodio monobásico (NaH₂PO₄), bicarbonato de sodio (NaHCO₃), glucosa (C₆H₁₂O₆) y HEPES.

DCF 3: En un tubo eppendorf se colocó 900 µL de buffer 9:1 y se adicionaron 100 µL de DCF 2.

- Preparación DCF-DA:

DCF-DA 1: Se pesaron 4.9 mg de DCF-DA en un tubo eppendorf negro y se le adicionaron 1 mL de metanol.

DCF-DA 2: En un tubo negro eppendorf se colocaron 950 μ L de metanol y se le adicionaron 50 μ L de DCF-DA 1.

DCF-DA 3: En un tubo de ensayo forrado con aluminio se colocan 2.7 mL de buffer 18:1 (Tris-HCl 40 mM, pH 7.4 : buffer HEPES) y se adicionaron 300 μ L de DCF-DA 2.

- ❖ Para la curva de calibración de DCF se utilizó buffer 9:1.
- ❖ Para las muestras se tomaron 5 μ L del homogenizado de las estructuras previamente realizado con solución salina (1.5 mL de solución salina) y se colocaron en una placa oscura, luego se adicionaron 145 μ L de buffer 18:1 y 50 μ L de DCF-DA 3.
- ❖ Se debe de evitar que las muestras y la placa se encuentren expuestas a la luz.

Se realizó la determinación de la fluorescencia de cada muestra en un multi-lector de placa FLx800 (Biotek Instruments, Inc.), a una longitud de onda de 488nm de excitación y 525nm de emisión.

Los valores obtenidos fueron calculados a partir de la interpolación en una curva de calibración de DCF 100nM. Los valores de proteínas de cada muestra se utilizaron para expresar los resultados como pico moles de DCF/mg proteína/60 min.

8.4.4.2 Cuantificación de la peroxidación de lípidos (PL)

En esta técnica, las muestras (hipocampo y corteza) fueron homogenizadas con solución salina. A 1 mL del homogeneizado se agregó una mezcla de cloroformo-metanol (2:1 v:v). Posteriormente la mezcla fue refrigerada por 30 minutos para permitir la separación de las fases, siempre protegida de la luz.

La fase acuosa (fase superior) se aspiró con una bomba de vacío. Se transfirió 2 mL de la fase orgánica (clorofórmica) a una celda de cuarzo y se agregaron 200 μ L de metanol. La muestra se analizó usando un espectrofotómetro de fluorescencia a longitudes de onda de 370 nm de excitación y 430 nm de emisión. Los resultados

fueron reportados como unidades relativas de fluorescencia por mg de proteína (Jeremy J. *et al.*, 1991).

8.5 Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de los datos, se empleó el software SPSS Statistics versión 20 para los grupos control y diabéticos en las diferentes edades estudiadas (8, 14 y 20 semanas). Se realizaron pruebas *t de Student* para comparar las medias de los grupos en la curva de tolerancia de glucosa y la prueba de objeto novedoso en la memoria a corto y largo plazo; la prueba *Fisher-Snedecor* se utilizó para evaluar la homogeneidad de varianzas en el índice de discriminación (ID), especies reactivas de oxígeno (ERO) y peroxidación de lípidos (PL), se están comparando el grupo diabético contra el control, los cuales son independientes entre sí; se realizó un comparativo de medias para el análisis de los datos obtenidos en la detección de las subunidades NR1 y NR2A del receptor NMDA en el hipocampo y la corteza.

9. Resultados

9.1 Tolerancia a glucosa

La CTG se realizó a las 8 semanas de edad de las ratas. Se evaluaron a las ratas de los grupos control y las ratas diabéticas. De acuerdo a los resultados obtenidos, en la Fig. 10 puede verse la diferencia en los niveles de glucosa en las ratas diabéticas y control después de la administración del bolo de glucosa, en ella, se puede ver que las ratas control mantuvieron niveles de glucosa por debajo de 150 mg/dL durante los 120 minutos del curso de la CTG. Mientras que las ratas diabéticas, presentaron un aumento significativo en la glucosa desde tiempo 0 ($F_{(1, 46)} 14.71, p \leq 0.001$); a los 30 minutos ($F_{(1, 46)} 63.84, p \leq 0.001$), a los 60 ($F_{(1, 46)} 41.98, p \leq 0.001$), a los 90 minutos ($F_{(1, 46)} 42.91, p \leq 0.001$) y a los 120 minutos ($F_{(1, 46)} 24.43, p \leq 0.001$). La distribución *F de Fisher-Snedecor* (F) se utiliza para determinar si hay diferencias significativas entre las varianzas de dos grupos, respectivamente los valores 1 y 14 corresponden a: 2 grupos – 1; y 8 ratas – 1 por duplicado. Los valores obtenidos en la prueba F corresponden a la diferencia entre los grupos con respecto a su media. Las ratas diabéticas mostraron niveles de glucosa significativamente más altos que las ratas control desde la primera medición y no igualaron los valores de las ratas control después de las dos horas en las que se realizó la cuantificación de glucosa.

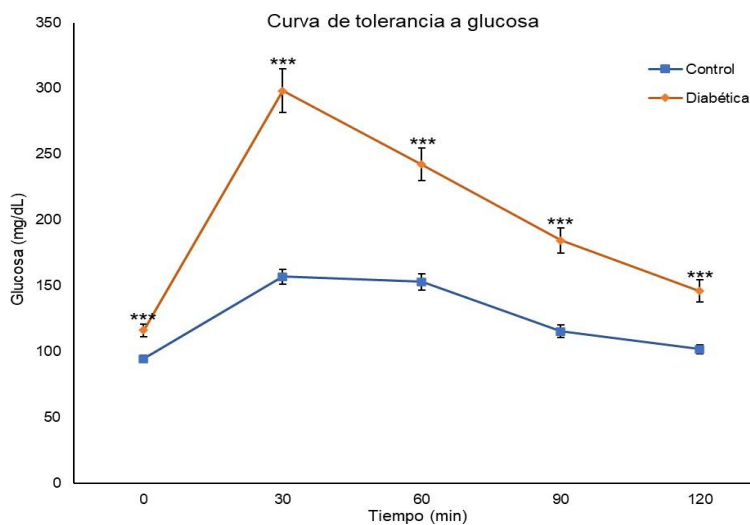


Figura 10. Curva de tolerancia a la glucosa. Concentración de glucosa en sangre (mg/dL) de ratas de 8 semanas después de la administración de un bolo de 200 mg/kg de glucosa determinado después de 0, 30, 60, 90 y 120

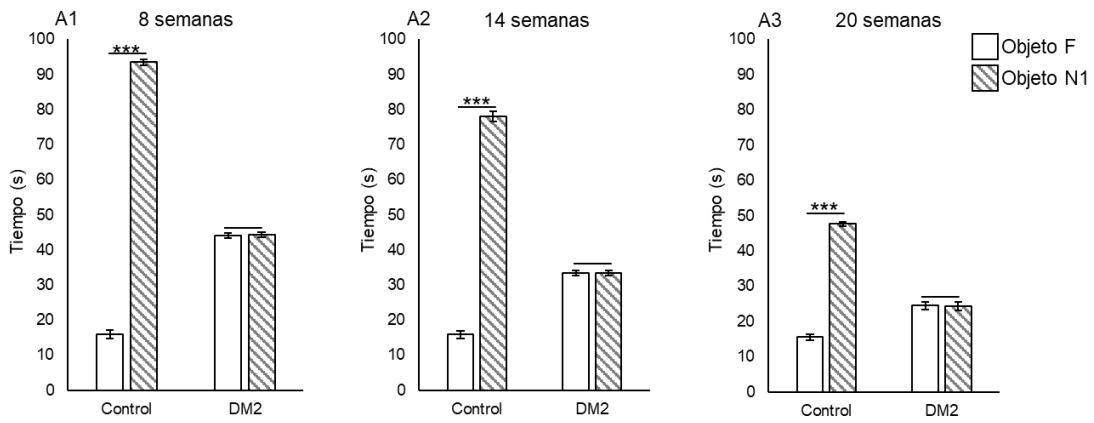
minutos. Ratas control (n=24) comparado con ratas diabéticas (n=24). *** $p \leq 0.001$ *t de student* en la distribución *F de Fisher-Snedecor* para muestras independientes.

9.2 Prueba de objeto novedoso

La Fig. 11 muestra el tiempo de exploración que utilizaron las ratas en la prueba de objeto novedoso. En esta prueba se evidenció que las ratas diabéticas, no mostraron un tiempo significativamente diferente en la prueba de objeto novedoso, a través de los diferentes lapsos de evaluación. Se realizó una prueba *t de student* (*t*), en donde el parámetro de significancia fue del 5% (0.05). El grupo control desde las 8 semanas mostraron diferencias en la prueba de corto plazo ($t_{(0.05, 7)} -52.12$, $p \leq 0.001$) y la prueba de largo plazo ($t_{(0.05, 7)} -65.01$, $p \leq 0.001$). El valor negativo de la diferencia de tiempo está dado por la comparativa entre el tiempo invertido en el objeto novedoso contra el objeto familiar. Asimismo, las ratas control a las 14 semanas mostraron cambios significativos en la prueba de corto plazo ($t_{(0.05, 7)} -29.75$, $p \leq 0.001$) y la prueba de largo plazo ($t_{(0.05, 7)} -25.86$, $p \leq 0.001$). Finalmente a las 20 semanas en la prueba de corto plazo ($t_{(0.05, 7)} -30.12$, $p \leq 0.001$) y la prueba de largo plazo ($t_{(0.05, 7)} -18.55$, $p \leq 0.001$) también se encontraron diferencias significativas.

La Fig. 12 muestra el análisis del índice de discriminación (ID) en donde, las ratas control tienen un ID del 70-75%, mientras que las ratas diabéticas tienen un ID entre 5-10%. Los valores obtenidos en la prueba F corresponden a la diferencia entre los grupos con respecto a su media, la cual está dada en segundos. Las ratas control, presentaron un ID alto desde las 8 semanas tanto en la memoria a corto y largo plazo ($F_{(1, 14)} 16.92$, $p \leq 0.001$; $F_{(1, 14)} 14.59$, $p \leq 0.01$); a las 14 semanas ($F_{(1, 14)} 11.19$, $p \leq 0.01$; $F_{(1, 14)} 17.41$, $p \leq 0.001$) y a las 20 ($F_{(1, 14)} 11.37$, $p \leq 0.01$; $F_{(1, 14)} 22.68$, $p \leq 0.001$).

Prueba de objeto novedoso de memoria a corto plazo



Prueba de objeto novedoso de memoria a largo plazo

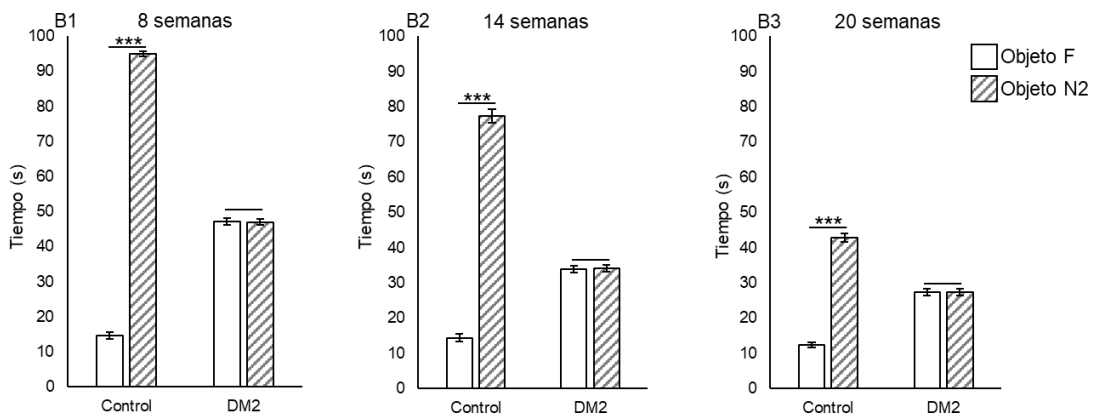


Figura 11. Prueba de Objeto Novedoso en ratas de 8, 14, 20 semanas. Ratas control comparado con ratas diabéticas n= 24 en cada grupo (8 por cada tiempo). Análisis realizado por la prueba *t de student* en muestras emparejadas (***) $p \leq 0.001$. Objeto familiar (F); Objeto novedoso 1 (N1); Objeto novedoso 2 (N2).

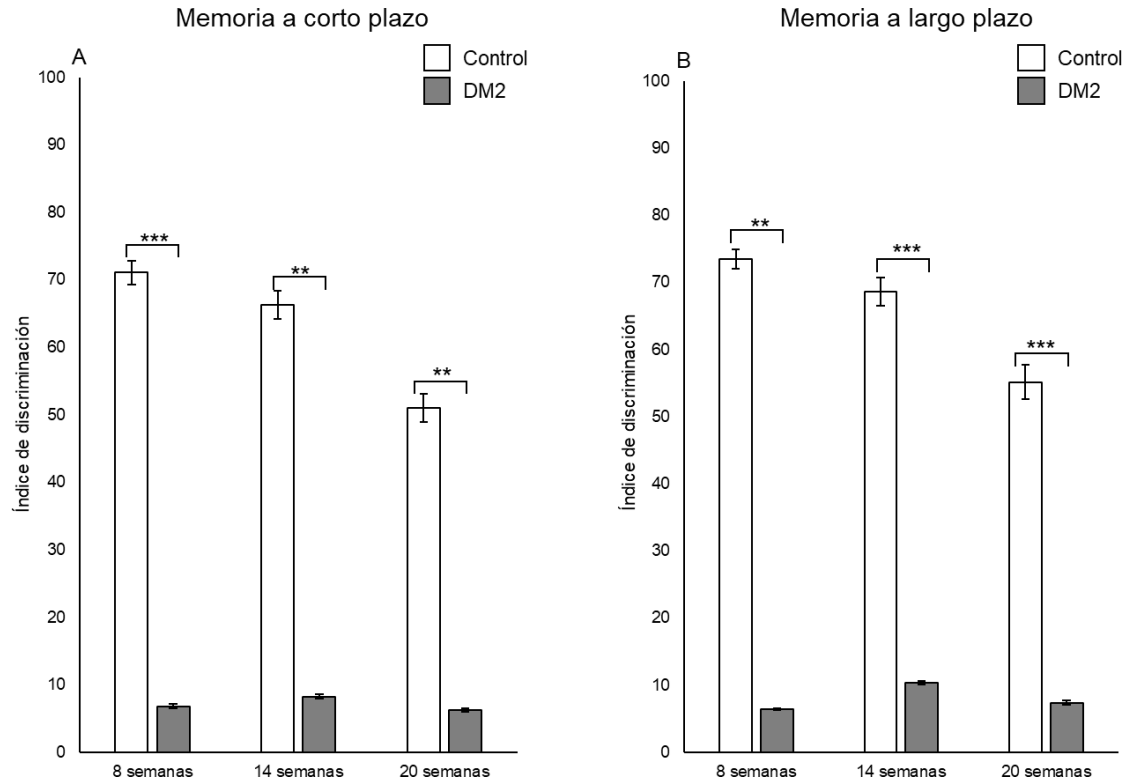


Figura 12. Índice de discriminación (ID) derivado de la fórmula: $ID = (ON - OF / TTE) * 100$ (ID = Índice de discriminación; OF = Objeto familiar; ON = Objeto novedoso; TTE = Tiempo total de exploración (Objeto familiar + Objeto novedoso)). Ratas control comparado con ratas diabéticas n= 8 en cada grupo. Análisis realizado por la prueba *t de student* en la distribución *F de Fisher-Snedecor* de muestras independientes (** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$). Las barras de error indican el SEM.

9.3 Evaluación del daño oxidante

9.3.1 Especies reactivas de oxígeno (ERO)

Los valores obtenidos en la prueba F corresponden a la diferencia entre los grupos con respecto a su media y las unidades utilizadas son Pmol DCF/ μ g proteína/60 min. Las ratas diabéticas, presentaron un aumento significativo en ROS desde las 8 semanas en el caso de la corteza ($F_{(1, 12)} 5.81, p \leq 0.01$); en el grupo de 14 semanas se mostraron diferencias tanto en el hipocampo como en la corteza ($F_{(1, 12)} 21.11, p \leq 0.001$; $F_{(1, 12)} 4.77, p \leq 0.05$). Adicionalmente, en el grupo de 20 semanas se presentaron diferencias en ambas estructuras ($F_{(1, 12)} 13.04, p \leq 0.01$; $F_{(1, 12)} 26.31, p \leq 0.001$) (Fig. 13).

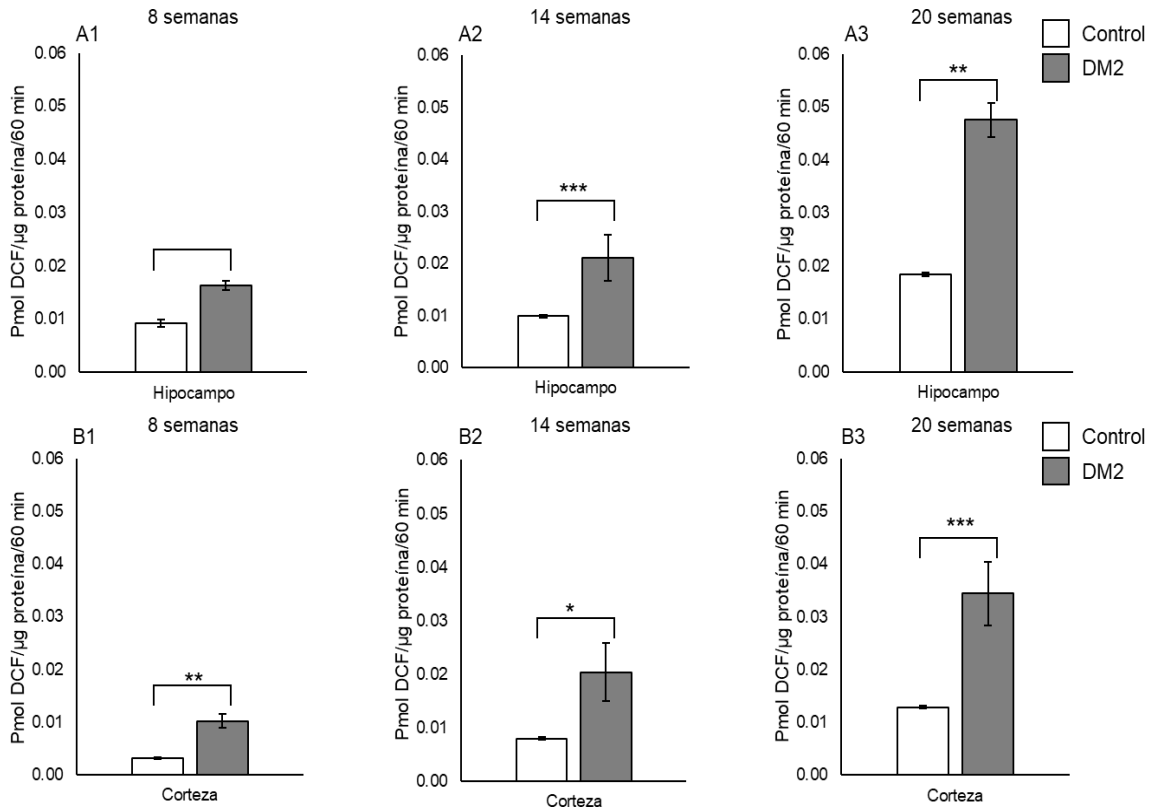


Figura 13. Determinación de especies reactivas al oxígeno (Pmol DCF/ μg proteína/ 60 min) en A1-3 hipocampo y B1-3 corteza. n total= 7 por cada grupo. Análisis realizado por la prueba *t de student* en la distribución *F de Fisher-Snedecor* de muestras independientes (* $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$). Las barras de error indican el SEM.

9.3.2 Peroxidación de lípidos (PL)

Los niveles de peroxidación en el hipocampo y la corteza de las ratas diabéticas a las 8, 14 y 20 semanas presentaron incrementos significativos. Los valores obtenidos en la prueba F corresponden a la diferencia entre los grupos con respecto a su media y las unidades utilizadas son URF/mg proteína. Las ratas diabéticas, presentaron un aumento significativo en PL en hipocampo y corteza cerebral, a las 8 semanas ($F_{(1, 12)} 20.87, p \leq 0.001$; $F_{(1, 12)} 20.04, p \leq 0.001$); a las 14 semanas ($F_{(1, 12)} 5.22, p \leq 0.01$; $F_{(1, 12)} 12.65, p \leq 0.01$) y a las 20 semanas ($F_{(1, 12)} 13.17, p \leq 0.01$; $F_{(1, 12)} 45.98, p \leq 0.001$) (Fig. 14).

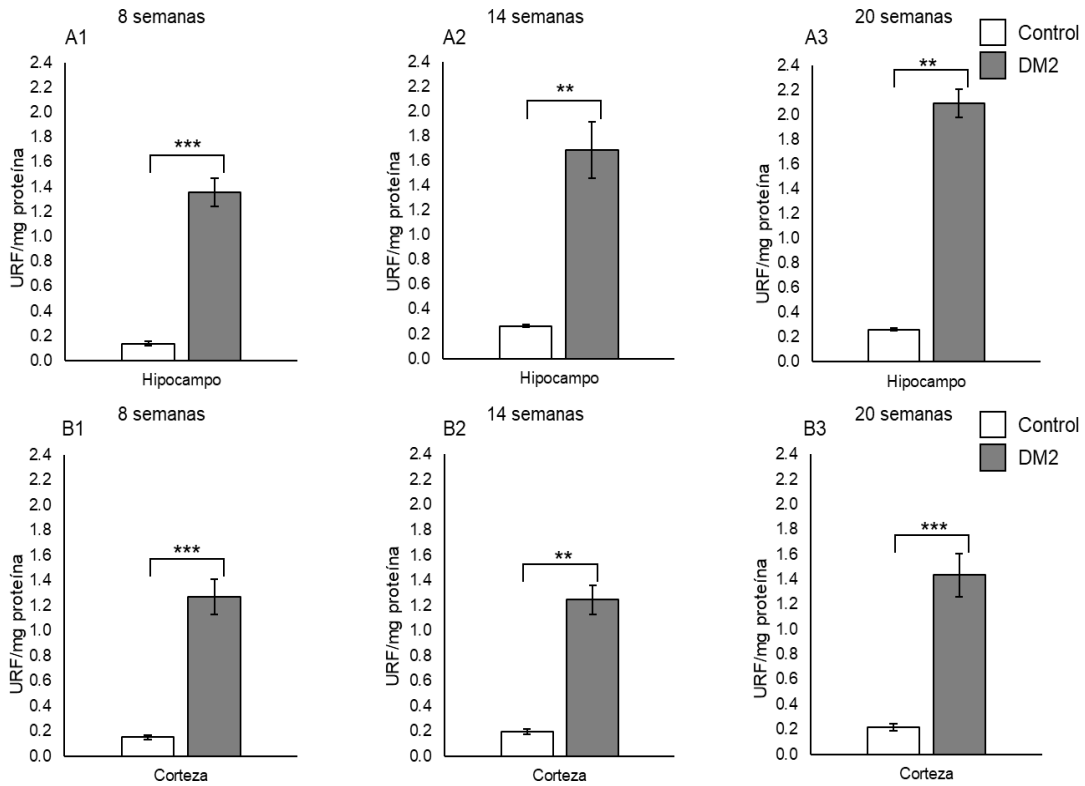


Figura 14. Prueba de Peroxidación de los lípidos (URF/mg de proteína) en A1-3) hipocampo y B1-3) corteza $n = 7$ por grupo. Análisis realizado por la prueba *t de student* en la distribución *F de Fisher-Snedecor* de muestras independientes (** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$). Las barras de error indican el SEM

9.4 Expresión de las subunidades NR1 y NR2A del receptor NMDA

Se observó la disminución en la expresión de la subunidad NR1 en el hipocampo de las ratas diabéticas (Fig. 15A). Asimismo, en la corteza de las ratas diabéticas a las 8, 14 y 20 semanas se encontró el mismo patrón (Fig. 15B). Finalmente, de acuerdo con lo mostrado en la Fig. 15C, la subunidad NR2A disminuyó en el hipocampo de ratas diabéticas en todos los tiempos evaluados.

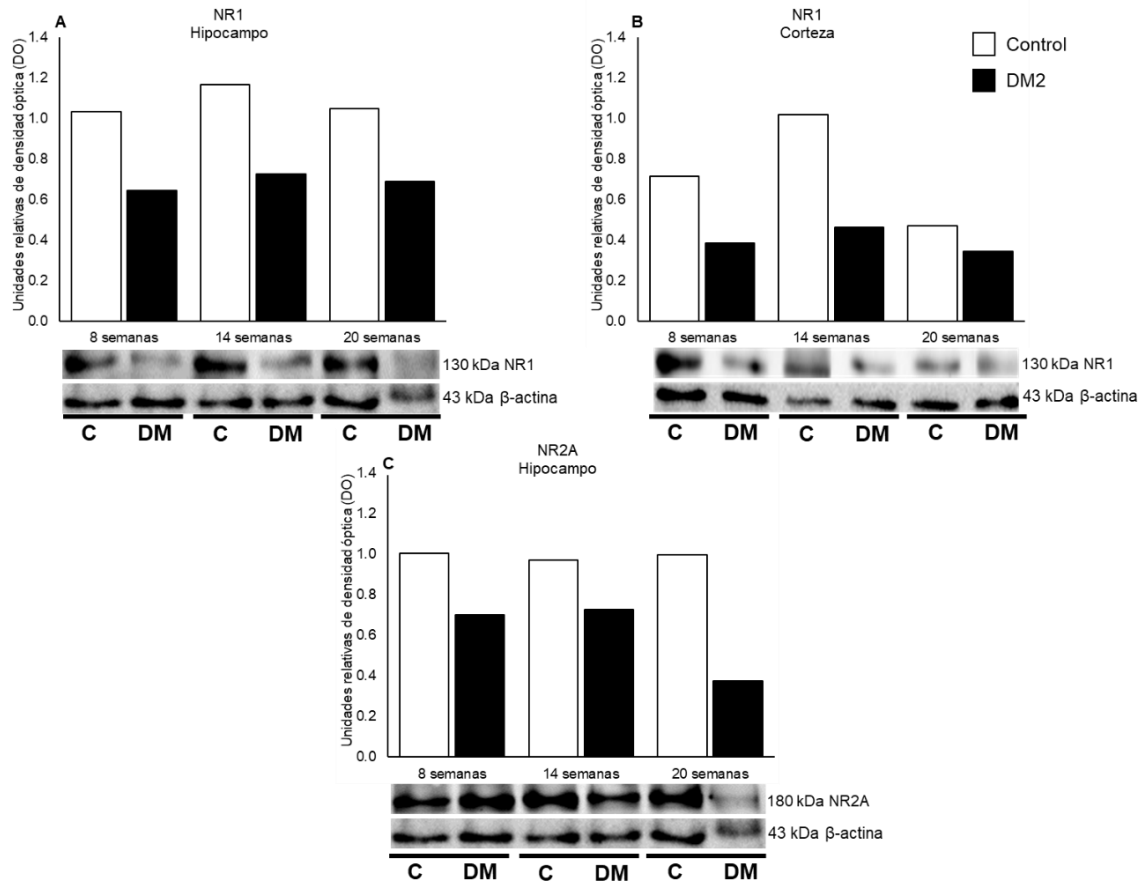


Figura 15. Medias de la expresión de las subunidades NR1 y NR2A del receptor NMDA en hipocampo (A y C) y corteza (B) en ratas de 8, 14 y 20 semanas. Ratas control n total= 18 (2 por cada tiempo en cada estructura y subunidad) comparado con ratas diabéticas n total= 18 (2 por cada tiempo en cada estructura y subunidad).

10. Discusión

La DM2, el deterioro cognitivo y la demencia son trastornos crónicos que a menudo coexisten, especialmente en adultos mayores. El deterioro cognitivo se presenta como una alteración en algunas funciones cognitivas como el lenguaje o la memoria. Su identificación se realiza respecto a un nivel de funcionamiento previo, y cobra relevancia cuando la disminución de las funciones cognitivas repercute en las actividades sociales, ocupacionales o físicas de la vida diaria, muy conocida como demencia (Shaik *et al.*, 2016).

La prueba del objeto novedoso es una herramienta valiosa para evaluar la memoria de trabajo en roedores (Ennaceur A. & Delacour J., 1988)

Los resultados obtenidos en la prueba de objeto novedoso revelaron un deterioro significativo en la capacidad de discriminación entre objetos nuevos y familiares en las ratas diabéticas. El ID, mide la habilidad del animal para formar y recuperar representaciones mentales de los objetos y discriminar entre ellos (Mathiasen J. & DiCamillo A., 2010).

El bajo ID observado en las ratas diabéticas sugiere una alteración profunda en sus procesos cognitivos. Esta disminución en la capacidad para discriminar entre objetos novedosos y familiares podría estar relacionada con una deficiencia en la formación de representaciones mentales estables y en la consolidación de la memoria. La disminución en la expresión de los receptores NMDA, fundamentales para la plasticidad sináptica, podría subyacer a estos déficits cognitivos al comprometer la capacidad del cerebro para formar y fortalecer las conexiones sinápticas necesarias para el aprendizaje y la memoria (Gardoni F. *et al.*, 2002).

El déficit cognitivo observado, podría atribuirse a una combinación de mecanismos bioquímicos asociados con la diabetes como lo son: el estrés oxidativo, la inflamación y la resistencia a la insulina (Ma WX *et al.*, 2020). De acuerdo con una investigación realizada por Ahmed y cols., la regulación negativa de los receptores NMDA, junto con estos procesos patológicos, puede contribuir sinérgicamente al deterioro cognitivo observado (Ahmed A. *et al.*, 2019).

Otro estudio sugiere una interacción compleja entre los receptores NMDA y AMPA en los déficits cognitivos asociados con la diabetes. Si bien la prueba de objeto novedoso nos permite ver una disminución en la identificación de objetos, el estudio realizado por Wang y cols., destaca que la existencia de un problema en la memoria se debe a un aumento en las subunidades de los receptores NMDA y AMPA, lo cual, es contrario a lo observado en nuestros resultados. Esta discrepancia podría atribuirse a la etapa de la diabetes, diferencias regionales, al modelo de estudio o mecanismos compensatorios (Wang X. *et al.*, 2019). La expresión alterada de estos receptores podría modificar el delicado equilibrio entre la neurotransmisión excitatoria e inhibitoria, lo que conduce a una plasticidad sináptica deteriorada y disfunción cognitiva. Se necesitan más investigaciones para dilucidar los mecanismos que subyacen a estos cambios.

Los hallazgos de este estudio concuerdan con investigaciones previas que han demostrado un deterioro de la memoria en animales con hiperglicemia (Ennaceur A. & Delacour J., 1988; Ahmed A. *et al.*, 2019).

La evaluación del daño oxidante en las ratas diabéticas mostró un incremento significativo de ERO y de PL en todas las edades. Estudios previos como el realizado por Bequer y cols., han revelado que el aumento significativo en la formación de ERO está estrechamente relacionado con los cambios realizados por el estado hiperglucémico (Bequer L. *et al.*, 2021).

El incremento en los niveles de glucosa, muestra una relación con el estrés oxidativo, y este desequilibrio en la formación excesiva de radicales libres que afectaría de forma directa a las neuronas, entre ellos, la funcionalidad del hipocampo. La PL y los ERO son dos procesos patológicos que se han relacionado con el daño neuronal, la disfunción mitocondrial, la activación de vías oxidantes y la inflamación crónica, los cuales, son otros factores que contribuyen al estrés oxidativo observado en etapas más avanzadas de la DM2.

Estos mecanismos patológicos podrían conducir a una neuro-degeneración progresiva y al deterioro cognitivo asociado con la diabetes, como lo menciona Wang y cols., existen mecanismos por los cuales ERO contribuyen al daño

neuronal, mostrando el papel que tienen en la muerte celular, la neuro-inflamación y la disfunción cognitiva (Wang J. *et al.*, 2022).

Los resultados obtenidos en este estudio concuerdan con la evidencia mostrada en la investigación realizada por Ighodaro y cols., en donde se habla sobre el papel central del estrés oxidativo en la diabetes inducida por STZ (Ighodaro OM., 2018). La administración temprana de STZ en ratas conduce a una generación excesiva de radicales libres, lo cual desencadena una cascada de eventos que dañan las células beta pancreáticas y contribuyen al desarrollo de hiperglucemia. La hiperglucemia crónica, a su vez, exacerba el estrés oxidativo a través de múltiples mecanismos, incluyendo la activación de vías metabólicas como la glucólisis y la vía del sorbitol. Estos hallazgos sugieren que la interrupción de las vías de estrés oxidativo podría representar una estrategia terapéutica prometedora para el tratamiento de la diabetes.

La detección de la expresión de las subunidades NR1 y NR2A del receptor NMDA reveló que la hiperglicemia induce una disminución en la expresión de estas proteínas, esta observación es consistente con estudios previos en modelos animales, como lo fue el estudio realizado por He y cols en 2017, que demostró una reducción significativa en la expresión de la subunidad NR2B del receptor NMDA en el hipocampo (He A. *et al.*, 2017).

En un estudio realizado por Marshard y cols en 2018, la DM inducida por STZ en ratas, generó una reducción significativa en la expresión de receptores NMDA, especialmente del subtipo NR2A (Marshard R. *et al.*, 2018). De igual forma, Delibas y cols en 2004 tuvieron resultados similares al analizar la cantidad de NR2A y NR2B que había en el hipocampo después de inducir DM1, observando disminución en la concentración de ambas subunidades (Delibas N. *et al.*, 2004). Otro estudio realizado por Gardoni y cols en 2002, demuestra que un mal funcionamiento de los componentes postsinápticos en el hipocampo de ratas inducidas con STZ añade otro elemento a la compleja patogénesis de los trastornos cerebrales asociados con la diabetes. Las alteraciones en el complejo del receptor NMDA desempeñan un

papel clave en la comprensión de las modificaciones de la plasticidad sináptica en este modelo experimental (Gardoni F. *et al.*, 2002).

El incremento en el daño oxidante de las ratas diabéticas y la disminución en el índice de discriminación en la prueba de objeto novedoso observados en este estudio, se relacionan con la disminución en la expresión de las subunidades NR1 y NR2A del receptor NMDA. Asimismo, la disminución en la expresión de estos receptores podría afectar la plasticidad sináptica y la memoria, lo que explicaría los déficits cognitivos observados en las pruebas de comportamiento del presente estudio. El daño al receptor NMDA puede tener graves consecuencias para la función cerebral, ya que es crucial para la plasticidad sináptica, que es la base del aprendizaje y la memoria (Mony L & Paoletti P., 2023).

Los resultados identificados en el presente subrayan la compleja relación entre los hallazgos conductuales y bioquímicos, los cuales proporcionan una visión integral de cómo la DM2 puede impactar la plasticidad neuronal y la memoria.

11. Conclusión

Los resultados de este estudio revelan una estrecha relación entre la DM2 y el deterioro cognitivo. Al inducir un modelo experimental de DM2 en ratas, se observó una disminución significativa en las funciones cognitivas, acompañada de una reducción en la expresión de los receptores NMDA en el hipocampo. Estos hallazgos respaldan la hipótesis de que la alteración en la función de los receptores NMDA podría ser un mecanismo subyacente al deterioro cognitivo asociado a la DM2.

La disminución en la expresión de los receptores NMDA en el hipocampo y corteza de las ratas diabéticas, sugiere una alteración en la plasticidad sináptica, la cual es fundamental para los procesos de aprendizaje y memoria. Los resultados encontrados son consistentes con estudios previos que han demostrado el papel crucial de los receptores NMDA en la cognición.

Por lo tanto, este estudio aporta evidencia experimental que vincula la DM2 con el deterioro cognitivo y sugiere que la modulación de la función de los receptores NMDA podría ser una estrategia terapéutica prometedora para prevenir o tratar las alteraciones cognitivas en pacientes con diabetes. Sin embargo, se requieren estudios adicionales para elucidar completamente los mecanismos moleculares involucrados y para evaluar el potencial terapéutico de esta estrategia en modelos animales y en humanos.

12. Perspectivas

Los resultados de este estudio abren nuevas vías para la investigación sobre el deterioro cognitivo asociado a la DM2. Si bien hemos identificado una posible relación entre las alteraciones en los receptores NMDA y el deterioro cognitivo, es fundamental profundizar en la comprensión de los mecanismos subyacentes.

Una perspectiva prometedora es explorar el papel de la microbiota intestinal en la modulación de la función cerebral y su posible interacción con los receptores NMDA. La manipulación de la microbiota a través de probióticos o prebióticos podría representar una estrategia terapéutica no farmacológica para mejorar la cognición en pacientes con DM2.

Además, sería interesante investigar el impacto de intervenciones dietéticas específicas en la función cognitiva de estos pacientes. Dado que la dieta puede modular la composición de la microbiota intestinal y afectar la respuesta glicémica, es posible que ciertas dietas puedan mejorar la función cognitiva al reducir el estrés oxidativo y la inflamación.

13. Índice de figuras

Figura 1	Estudio de defunciones y mortalidad en la Ciudad de México	12
Figura 2	Esquema simplificado de los islotes de Langerhans en el páncreas	15
Figura 3	Porcentaje de casos de diabetes	16
Figura 4	Sitios de expresión del receptor de insulina en el SNC	18
Figura 5	Estructura del receptor N-Metil-D-Aspartato (NMDA)	23
Figura 6	Mecanismo de acción de la estreptozotocina (STZ)	25
Figura 7	Diagrama de flujo general del modelo de diabetes mellitus tipo 2 para la evaluación cognitiva y molecular	30
Figura 8	Diagrama de flujo de la curva de tolerancia a glucosa en el modelo animal de rata diabética y control	31
Figura 9	Diagrama de flujo de la prueba de objeto novedoso en el modelo de ratas diabéticas y control	32
Figura 10	Curva de tolerancia a glucosa	38
Figura 11	Prueba de objeto novedoso en ratas de 8, 14 y 20 semanas	40
Figura 12	Índice de discriminación de la prueba de objeto novedoso	41
Figura 13	Determinación de especies reactivas de oxígeno en hipocampo y corteza en ratas de 8, 14 y 20 semanas	42
Figura 14	Prueba de peroxidación de lípidos en hipocampo y corteza en ratas de 8, 14 y 20 semanas	43
Figura 15	Medias de la expresión de las subunidades NR1 y NR2A del receptor NMDA en hipocampo y corteza	44

14. Lista de abreviaturas

BCA	Ácido bicinconínico
BHE	Barrera hematoencefálica
CTG	Curva de tolerancia a glucosa
DCF	2,7-Diclorofluoresceína
DCFH-DA	2',7'-Diclorodihidrofluoresceína diacetato
DM	Diabetes mellitus
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
D.O.	Densidad óptica
EA	Enfermedad de Alzheimer
ID	Índice de discriminación
i.p.	Intraperitoneal
LTD	Depresión a largo plazo
LTP	Potenciación a largo plazo
MCP	Memoria a corto plazo
MLP	Memoria a largo plazo
NMDA	N-Metil-D-Aspartato
NR1	Subunidad 1 del receptor NMDA
NR2A	Subunidad épsilon-1 del receptor NMDA
NR2B	Subunidad épsilon-2 del receptor NMDA
OF	Objeto familiar
ON	Objeto novedoso
PL	Peroxidación de lípidos
ERO	Especies reactivas de oxígeno
SNC	Sistema nervioso central
STZ	Estreptozotocina
URF	Unidades relativas de fluorescencia

15. Referencias

Aguilera KG, Castillo LC, Farfán BV y Ávila MA. Modelos animales con síndrome metabólico y diabetes. *Temas Selectos en Neurobiología Molecular e Integrativa*. Universidad del Mayab S.C. Capitulo 4, 2017. ISBN: 978-607-8083-25-1

Ahmed A, Zeng G, Jiang D, Lin H, Azhar M, Farooq AD, Choudhary MI, Liu X, Wang Q. Time-dependent impairments in learning and memory in Streptozotocin-induced hyperglycemic rats. *Metab Brain Dis*. 2019 Oct;34(5):1431-1446. doi: 10.1007/s11011-019-00448-7. Epub 2019 Jul 8. PMID: 31286327.

American Diabetes Association (ADA). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2011 Jan;34 Suppl 1(Suppl 1): S62-9. doi: 10.2337/dc11-S062. PMID: 21193628; PMCID: PMC3006051.

American Diabetes Association (ADA). Introduction: Standards of Medical Care in Diabetes—2022. *Diabetes care*, 45(1), S1–S2. <https://doi.org/10.2337/dc22-SINT>

American Diabetes Association (ADA). Diagnosis and Classification of Diabetes: Standards of Care in Diabetes—2024. *Diabetes Care* 2024;47(Suppl. 1): S20–S42. <https://doi.org/10.2337/dc24-S002>

American Diabetes Association (ADA). BLOOD GLUCOSE & A1C. Diagnosis. *Diabetes Care* 2024; <https://diabetes.org/about-diabetes/diagnosis>

Arias-Díaz, J., & Balibrea, J. Modelos animales de intolerancia a la glucosa y diabetes tipo 2. *Nutrición Hospitalaria*, 2007, 22(2), 160-168. Recuperado en 03 de abril de 2024, de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112007000200005&lng=es&tlng=es.

Benedict C, Hallschmid M, Schmitz K, Schultes B, Ratter F, Fehm HL, Born J, Kern W. Intranasal insulin improves memory in humans: superiority of insulin aspart. *Neuropsychopharmacology* 32: 239–243, 2007. doi: 10.1038/sj.npp.1301193.

Bequer, Leticia, Quintero, Maryoil, Gómez, Tahiry, Guerra, Isbey, Molina, José L., Freire, Cindy, & Clapés, Sonia. Efectos de la inyección neonatal de estreptozotocina sobre indicadores bioquímicos y de estrés oxidativo en ratas. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 40(3), e804. Epub 01 de septiembre de 2021.

Recuperado en 22 de abril de 2024, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002021000400002&lng=es&tlng=es.

Biessels GJ, Staekenborg S, Brunner E, Brayne C, Scheltens P. Risk of dementia in diabetes mellitus: a systematic review. *Lancet Neu*, 2006, 5, 64–74

Burnette WN. "Western blotting": electrophoretic transfer of proteins from sodium dodecyl sulfate--polyacrylamide gels to unmodified nitrocellulose and radiographic detection with antibody and radioiodinated protein A. *Anal Biochem*. 1981 Apr;112(2):195-203. doi: 10.1016/0003-2697(81)90281-5. PMID: 6266278.

Chandran R, Kumar M, Kesavan L, Jacob RS, Gunasekaran S, Lakshmi S, et al. Cellular calcium signaling in the aging brain. *J Chem Neuroanat*, 2019, 95:95-114.

Chen Z, Li L, Sun J, Ma L. Mapping the brain in type II diabetes: Voxel-based morphometry using DARTEL. *Eur J Radiol*, 2012, 81:1870-1876.

Clarke JR, Cammarota M, Gruart A, Izquierdo I, Delgado-García JM. Plastic modifications induced by object recognition memory processing. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 6(107), 2652–2657. <https://doi.org/10.1073/pnas.0915059107>

Córdoba-Montoya DA, Albert J, López-Martín S. Potenciación a largo plazo en la corteza humana. *Rev Neurol* 2010;51 (06):367-374. doi: 10.33588/rn.5106.2009616

Coultrap SJ, Bickford PC, Browning MD. Blueberry-enriched diet ameliorates age-related declines in NMDA receptor-dependent LTP. *Age (Dordr)*, 2008, 4(30), 263–272. <https://doi.org/10.1007/s11357-008-9067-y>

Delibas, N., Kilinc, I., Yonden, Z., Sutcu, R., Gultekin, F., & Koylu, H. NMDA Receptor subunits 2A and 2B decrease and lipid peroxidation increase in the hippocampus of streptozotocin-diabetic rats: Effects of insulin and gliclazide treatments. *International Journal of Neuroscience*, 2004; 114(3), 391–401. <https://doi.org/10.1080/00207450490270893>

Di Luca M, Ruts L, Gardoni F, Cattabeni F, Biessels GJ, Gispen WH. NMDA receptor subunits are modified transcriptionally and post-translationally in the brain of

streptozotocin-diabetic rats. *Diabetologia*, 1999; 42(6), 693–701.
<https://doi.org/10.1007/s001250051217>

Ennaceur A, Delacour J. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. *Behav Brain Res*, 1988. 1(31), 47–59.
[https://doi.org/10.1016/0166-4328\(88\)90157-x](https://doi.org/10.1016/0166-4328(88)90157-x)

Encuesta Nacional de Exámenes de Salud y Nutrición (ENSANUT). Datos de la Oficina del Censo de los Estados Unidos, 2021.

Ergula A, Valenzuela JP, Fouda AY, Fagan SC. Cellular connections, microenvironment and brain angiogenesis in diabetes: Lost communication signals in the post-stroke period. *Brain Res*, 2015, 1623:81-96.

Fitzjohn S, Bashir Z, Farrow P. Group I mGluR Induced LTD of NMDAR-synaptic Transmission at the Schaffer Collateral but not Temporoammonic Input to CA1. *Curr Neuropharmacol*, 2016. <https://doi.org/10.2174/1570159x13666150615221502>

Flores-Soto M. E., Chaparro-Huerta V., Escoto-Delgadillo M., Vazquez-Valls E., González-Castañeda R. E., Beas-Zarate C. Estructura y función de las subunidades del receptor a glutamato tipo NMDA. *Neurología*, 2012, 27(5), 301–310.
<https://doi.org/10.1016/j.nrl.2011.10.014>

Furman, B. L. Streptozotocin-induced diabetic models in mice and rats. *Current Protocols*, 2021, 1, e78. doi: 10.1002/cpz1.78

Gardoni, F., Kamal, A., Bellone, C., Biessels, G.J., Ramakers, G.M.J., Cattabeni, F., Gispen, W.H. and Di Luca, M. Effects of streptozotocin-diabetes on the hippocampal NMDA receptor complex in rats. *Journal of Neurochemistry*, 2002; 80: 438-447.
<https://doi.org/10.1046/j.0022-3042.2001.00713.x>

Gelb S, Stock AD, Anzi S, Putterman C, Ben-Zvi A. Mechanisms of neuropsychiatric lupus: The relative roles of the blood-cerebrospinal fluid barrier versus blood-brain barrier. *J Autoimmun*, 2018, 91:34-44.

Ghasemi A, Jeddi S. Streptozotocin as a tool for induction of rat models of diabetes: a practical guide. *EXCLI J*. 2023 Feb 21; 22:274-294. doi: 10.17179/excli2022-5720. PMID: 36998708; PMCID: PMC10043433.

Gispen, W. H., & Biessels, G.-J. Cognition and synaptic plasticity in diabetes mellitus. *Trends in Neurosciences*, 2000; 23(11), 542–549.

Gray S, J. Barrett E. Chapter 11 - The Blood–Brain Barrier in Diabetes Mellitus. *Type 2 Diabetes and Dementia*, 2018:211-229.

Haddad-Tovolli R, Dragano NRV, Ramalho AFS, Velloso LA. Development and function of the blood-brain barrier in the context of metabolic control. *Front Neurosci* 11: 224, 2017. doi:10.3389/fnins.2017.00224.

Harreiter J, Roden M. Diabetes mellitus – Definition, Klassifikation, Diagnose, Screening und Prävention (Update 2023) [Diabetes mellitus: definition, classification, diagnosis, screening and prevention (Update 2023)]. *Wien Klin Wochenschr.* 2023 Jan;135(Suppl 1):7-17. German. doi: 10.1007/s00508-022-02122-y. Epub 2023 Apr 20. PMID: 37101021; PMCID: PMC10133036.

He A, Zhang Y, Yang Y, Li L, Feng X, Wei B, Zhu D, Liu Y, Wu L, Zhang L, Xu Z, Sun M. Prenatal high sucrose intake affected learning and memory of aged rat offspring with abnormal oxidative stress and NMDARs/Wnt signaling in the hippocampus. *Brain Res.* 2017 Aug 15; 1669:114-121. doi: 10.1016/j.brainres.2017.05.022. Epub 2017 May 19. PMID: 28532855; PMCID: PMC5639946.

Hölscher C. Insulin signaling impairment in the brain as a risk factor in Alzheimer's disease. *Front Aging Neurosci* 11: 88, 2019. doi:10.3389/fnagi.2019.00088.

Hovelsø N, Sotty F, Montezinho LP, Pinheiro PS, Herrik KF, Mørk A. Therapeutic potential of metabotropic glutamate receptor modulators. *Curr Neuropharmacol*, 2012, 1(10), 12–48. <https://doi.org/10.2174/157015912799362805>

Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). Defunciones por diabetes mellitus, 2021.

Ighodaro OM. Molecular pathways associated with oxidative stress in diabetes mellitus. *Biomedicine & Pharmacotherapy.* 2018; 108:656-62. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.09.05

Jeremy JY, Breimer LH, Thompson CS, Mikhailidis DP. Elevated lipid peroxidation levels in red blood cells of streptozotocin-treated diabetic rats. *Metabolism* [Internet]. abril de 1991;40(4):442–3. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2011086/>

Jiang X, Andjelkovic AV, Zhu L, Yang T, Bennett MVL, Chen J, et al. Blood-brain barrier dysfunction and recovery after ischemic stroke. *Prog Neurobiol*, 2018, 163-164:144-171.

Kleinridders A, Cai W, Cappellucci L, Ghazarian A, Collins WR, Vienberg SG, Pothos EN, Kahn CR. Insulin resistance in brain alters dopamine turnover and causes behavioral disorders. *Proc Natl Acad Sci USA* 112: 3463–3468, 2015. doi:10.1073/pnas.1500877112.

Kleinridders A, Ferris HA, Cai W, Kahn CR. Insulin action in brain regulates systemic metabolism and brain function. *Diabetes*, 2014; 63(7), 2232–2243. <https://doi.org/10.2337/db14-0568>

Kopp C, Longordo F, Lüthi A. Experience-dependent changes in NMDA receptor composition at mature central synapses. *Neuropharmacology*, 2007, 1(53), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2007.03.014>

Kunze R, H. Marti H. Angioneurins – Key regulators of blood–brain barrier integrity during hypoxic and ischemic brain injury. *Prog Neurobiol*, 2019, 178:1-29.

Lueptow LM. Novel Object Recognition Test for the Investigation of Learning and Memory in Mice. *J Vis Exp*. 2017 Aug 30;(126):55718. doi: 10.3791/55718. PMID: 28892027; PMCID: PMC5614391.

Ma WX, Tang J, Lei ZW, Li CY, Zhao LQ, Lin C, Sun T, Li ZY, Jiang YH, Jia JT, Liang CZ, Liu JH, Yan LJ. Potential Biochemical Mechanisms of Brain Injury in Diabetes Mellitus. *Aging Dis*. 2020 Jul 23;11(4):978-987. doi: 10.14336/AD.2019.0910. PMID: 32765958; PMCID: PMC7390528.

Macpherson H, Formica M, Harris E, Daly RM. Brain functional alterations in Type 2 Diabetes – A systematic review of fMRI studies. *Front Neuroendocrinol*, 2017, 47:34-46.

Marshad RA, Khatib RA, Amer H, Shammari MA, Otaibi AA, Otaibi FA, Behbehani N, Sayed AA, Hoty NA, Hassan Z, Kamal A. Streptozotocin-induced diabetes mellitus affects the NMDA receptors: Role of caffeine administration in enhancing learning, memory and locomotor deficits. *Int J Health Sci (Qassim)*. 2018 May-Jun;12(3):10-17. PMID: 29896066; PMCID: PMC5969783.

Mathiasen JR, DiCamillo A. Novel object recognition in the rat: a facile assay for cognitive function. *Curr Protoc Pharmacol*. 2010 Jun;Chapter 5:Unit 5.59. doi: 10.1002/0471141755.ph0559s49. PMID: 22294372.

Mony L, Paoletti P. Mechanisms of NMDA receptor regulation. *Curr Opin Neurobiol*. 2023 Dec; 83:102815. doi: 10.1016/j.conb.2023.102815. Epub 2023 Nov 20. PMID: 37988826.

Navale AM, Paranjape AN. Glucose transporters: physiological and pathological roles. *Biophys Rev*. 2016 Mar;8(1):5-9. doi: 10.1007/s12551-015-0186-2. Epub 2016 Jan 19. PMID: 28510148; PMCID: PMC5425736.

Newcomer JW, Farber NB, Olney JW. NMDA receptor function, memory, and brain aging. *Dialogues Clin Neurosci*. 2000 Sep;2(3):219-32. doi: 10.31887/DCNS.2000.2.3/jnewcomer. PMID: 22034391; PMCID: PMC3181613.

Organización Mundial de la Salud (OMS). Definición publicada: 5 de abril 2023. Consulta: 21 de febrero de 2024. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>

OPS. La carga de la diabetes mellitus en la Region of the Americas, 2000-2019. Organización Panamericana de la Salud; 2021.

Pérez-Severiano F, Ríos C, Segovia J. Striatal oxidative damage parallels the expression of a neurological phenotype in mice transgenic for the mutation of Huntington's disease. *Brain Res [Internet]*. el 17 de abril de 2000;862(1–2):234–7. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10799690/>

Petersmann A, Müller-Wieland D, Müller UA, Landgraf R, Nauck M, Freckmann G, Heinemann L, Schleicher E. Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2019 Dec;127(S 01):S1-S7.

Picke AK, Campbell G, Napoli N, Hofbauer LC, Rauner M. Update on the impact of type 2 diabetes mellitus on bone metabolism and material properties. *Endocr Connect.* 2019 Mar 01;8(3): R55-R70.

Rahman MS, Hossain KS, Das S, Kundu S, Adegoke EO, Rahman MA, Hannan MA, Uddin MJ, Pang MG. Role of Insulin in Health and Disease: An Update. *Int J Mol Sci.* 2021 Jun 15;22(12):6403. doi: 10.3390/ijms22126403. PMID: 34203830; PMCID: PMC8232639.

Rains, Dennis G. Sistemas de memoria. En: *Principios de neuropsicología humana*. Primera edición. México: Mc Graw Hill; 2004; pp: 241-286.

Rivera IL, López-Colomé AM. Relación de la estructura de los receptores NMDA con su función en la retina. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 8(2):71-81, 2005

Sanderson DJ, Good MA, Seeburg PH, Sprengel R, Rawlins JN, Bannerman DM. The role of the GluR-A (GluR1) AMPA receptor subunit in learning and memory. *Prog Brain Res*, 2008, 1(169), 159–178. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(07\)00009-X](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(07)00009-X)

Sanderson DJ, Gray A, Simon A, Taylor AM, Deacon RM, Seeburg PH, Sprengel R, Good MA, Rawlins JN, Bannerman DM. Deletion of glutamate receptor-A (GluR-A) AMPA receptor subunits impairs one-trial spatial memory. *Behav Neurosci*, 2007, 3(121), 559–569. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.121.3.559>

Schmitt WB, Sprengel R, Mack V, Draft RW, Seeburg PH, Deacon RM, Rawlins JN, Bannerman DM. Restoration of spatial working memory by genetic rescue of GluR-A-deficient mice. *Nat Neurosci*, 2005; 3(8), 270–272. <https://doi.org/10.1038/nn1412>

Shaik MA, Chan QL, Xu J, et al. Risk factors of cognitive impairment and brief cognitive tests to predict cognitive performance determined by a formal neuropsychological evaluation of primary health care patients. *J Am Med Dir Assoc* 2016; 17:343–347.

Skyler JS, Bakris GL, Bonifacio E, et al. Differentiation of diabetes by pathophysiology, natural history, and prognosis. *Diabetes* 2017; 66:241–255.

Song H-D, Kim SN, Saha A, Ahn S-Y, Akindehin S, Son Y, et al. Aging-Induced Brain-Derived Neurotrophic Factor in Adipocyte Progenitors Contributes to Adipose Tissue Dysfunction. *Aging Dis*, 2020, 11:1-13.

Soto M, Cai W, Konishi M, Kahn CR. Insulin signaling in the hippocampus and amygdala regulates metabolism and neurobehavior. *Proc Natl Acad Sci USA* 116: 6379–6384, 2019. doi:10.1073/pnas.1817391116.

Squire LR. Memory systems of the brain: A brief history and current perspective. *Neurobiol Learn Mem* 2004; 82:171–177.

Šterk M, Križančić Bombek L, Skelin Klemen M, Slak Rupnik M, Marhl M, Stožer A, Gosak M. NMDA receptor inhibition increases, synchronizes, and stabilizes the collective pancreatic beta cell activity: Insights through multilayer network analysis. *PLoS Comput Biol*, 2021, 17(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1009002>

Stiles J, Jernigan TL. The basics of brain development. *Neuropsychol Rev*. 2010 Dec;20(4):327-48.

Thibault O, Anderson KL, DeMoll C, Brewer LD, Landfield PW, Porter NM. Hippocampal calcium dysregulation at the nexus of diabetes and brain aging. *Eur J Pharmacol*, 2013, 719:34-43.

Toth C. Chapter 32-Diabetes and neurodegeneration in the brain. *Handbook of Clinical Neurology*, 2014, 126:489-511.

Tyagi A., Pugazhenth S. Targeting Insulin Resistance to Treat Cognitive Dysfunction. *Mol Neurobiol*, 2021, 58(6), 2672–2691. <https://doi.org/10.1007/s12035-021-02283-3>

Vyklicky V, Korinek M, Smejkalova T, Balik A, Krausova B, Kaniakova M, Lichnerova K, Cerny J, Krusek J, Dittert I, Horak M, Vyklicky L. Structure, function, and pharmacology of NMDA receptor channels. *Physiol Res*. 2014;63(Suppl 1): S191-203. doi: 10.33549/physiolres.932678. PMID: 24564659.

Wang JW, Ye XY, Wei N, Wu SS, Zhang ZH, Luo GH, Li X, Li J, Cao H. Reactive Oxygen Species Contributes to Type 2 Diabetic Neuropathic Pain via the Thioredoxin-Interacting Protein-NOD-Like Receptor Protein 3- N -Methyl-D-Aspartic

Acid Receptor 2B Pathway. *Anesth Analg*. 2022 Oct 1;135(4):865-876. doi: 10.1213/ANE.0000000000006117. Epub 2022 Jul 11. PMID: 35819160; PMCID: PMC9444295.

Wang XP, Ye P, Lv J, Zhou L, Qian ZY, Huang YJ, Mu ZH, Wang X, Liu XJ, Wan Q, Yang ZH, Wang F, Zou YY. Expression Changes of NMDA and AMPA Receptor Subunits in the Hippocampus in rats with Diabetes Induced by Streptozotocin Coupled with Memory Impairment. *Neurochem Res*. 2019 Apr;44(4):978-993. doi: 10.1007/s11064-019-02733-4. Epub 2019 Feb 12. PMID: 30747310.

Wilcox G. Insulin and insulin resistance. *Clin Biochem Rev*. 2005 May;26(2):19-39. PMID: 16278749; PMCID: PMC1204764.

Willette AA, Bendlin BB, Starks EJ, Birdsill AC, Johnson SC, Christian BT, Okonkwo OC, La Rue A, Hermann BP, Kosciak RL, Jonaitis EM, Sager MA, Asthana S. Association of Insulin Resistance with Cerebral Glucose Uptake in Late Middle-Aged Adults at Risk for Alzheimer Disease. *JAMA NEurol*, 2015, 72(9), 1013–1020. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2015.0613>

Williams DM, Jones H, Stephens JW. Personalized type 2 diabetes management: an update on recent advances and recommendations. *Diabetes Metab Syndr Obes* 2022; 15:281–295.

Zhang S, Dong H, Zhang X, Li N, Sun J, Qian Y. Cerebral mast cells contribute to postoperative cognitive dysfunction by promoting blood brain barrier disruption. *Behav Brain Res*, 2016, 298:158-166

Zheng Y, Ley SH, Hu FB. Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nat Rev Endocrinol*. 2018 Feb;14(2):88-98.

16. Anexos

16.1 Cartas de aceptación del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, Manuel Velasco Suárez



SALUD
SECRETARÍA DE SALUD



INSTITUTO NACIONAL DE
NEUROLOGÍA Y NEUROCIROLOGÍA
MANUEL VELASCO SUÁREZ

DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN

Comité de Investigación

Dra. Iris Enriqueta Martínez Juárez
Presidente

Dra. Dinora Fabiola González Esquivel
Secretario

VOCALES

Titular

Dr. Pablo León Ortiz

Suplente

Dr. Daniel Crail Meléndez

Titular

Dra. Verónica Pérez de la Cruz

Suplente

Dr. Aurelio Jara Prado

Titular

Dra. Sonia Iliana Mejía Pérez

Suplente

Dra. Karina Carrillo Loza

Titular

Dr. Edgar Rangel López

Suplente

Dra. Fabiola Eunice Serrano Arias

Ciudad de México, 19 de abril de 2022

DRA. EDITH GONZÁLEZ GUEVARA
INVESTIGADOR PRINCIPAL
PRESENTE

La presente es para informarle que su enmienda del protocolo de investigación No. 140/21 titulado: **"Estudio de la sensibilidad del receptor a N-metil-D-Aspartato (NMDA) en modelos experimentales de diabetes tipo 1 y 2 (DMT1 y DMT2) y su relación con mecanismos de daño"**, ha sido evaluado por el Comité de Investigación y dictaminado el día 13 abril 2022 como:

"APROBADO"

No obstante, y en caso de que el protocolo de investigación involucre seres humanos, el desarrollo del protocolo queda sujeto a la aprobación por el Comité de Ética en Investigación, así como del Comité de Bioseguridad en caso de así requerirse.

Cabe recordar que, al realizar este protocolo de investigación, adquiere el compromiso ineludible de informar a los Comités y a la Dirección de Investigación semestralmente, los avances de su protocolo, eventos adversos, publicaciones y presentaciones en congresos que este genere, así como la terminación del mismo.

Esta aprobación, tiene vigencia hasta diciembre 2023 según manifiesta el cronograma del protocolo. En caso de requerir una prórroga, deberá enviar su solicitud al menos 30 días naturales antes de la fecha de término de vigencia para evitar la suspensión del protocolo.

ATENTAMENTE

DRA. IRIS ENRIQUETA MARTÍNEZ JUÁREZ
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE
INVESTIGACIÓN

DRA. DINORA FABIOLA GONZÁLEZ ESQUIVEL
SECRETARIO

Comité de Investigación de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez





SALUD
SECRETARÍA DE SALUD



**INSTITUTO NACIONAL DE
NEUROLOGÍA Y NEUROCIRUGÍA**
MANUEL VELASCO SUÁREZ

Ciudad de México a 13 de marzo de 2023

Dra. Edith González Guevara
Laboratorio de Neurofarmacología Molecular y Nanotecnología
P R E S E N T E

Por medio de la presente, hago de su conocimiento que el Comité Interno para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (CICUAL-INNN), ha revisado el protocolo 140-21 titulado: "Estudio de la sensibilidad del receptor a N-metil-D-Aspartato (NMDA) en modelos experimentales de diabetes tipo 1 y 2 (DM1 y DM2) y su relación con mecanismos de daño." Se le solicita resolver las observaciones enlistadas a continuación:

- o Justificar el uso de 128 animales indicados en el Anexo 1, considerando la mortalidad, pie de cría y los tratamientos a utilizar, ya que no concuerda con lo descrito en el procedimiento experimental: 92 animales + 30% de mortalidad = 120 animales.
- o Indicar en el Anexo 1 el grado de invasión a los animales de acuerdo al Apéndice A (Informativo) Clasificación de actividades experimentales de acuerdo al grado de invasión, molestia o daño producido sobre los animales de laboratorio de la NOM-062-ZOO-1999.
- o Indicar en el Anexo 1, el manejo de residuos conforme a la norma NOM-087-ECOL-SSA1-2002.

ATENTAMENTE

M. en C. Verónica Custodio Ramírez
Presidente CICUAL-INNN 2020-2023

Dra. Aleli Janet Salazar Ramiro
Secretario CICUAL-INNN 2020-2023

Dra. Nelly Norma Castro Torres
Vocal CICUAL-INNN 2020-2023

M.V.Z. Jesús Miguel Osorio Camacho
Vocal CICUAL-INNN 2020-2023

M. en A.P. Diana Hernández Loranca
Vocal CICUAL-INNN 2020-2023



Ciudad de México, a 04 de marzo del 2024

DRA. FABIOLA EUNICE SERRANO ARIAS
DIRECTORA DE ENSEÑANZA
INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIROLOGÍA MANUEL VELASCO SUÁREZ

PRESENTE

A través de esta misiva, me dirijo a usted para formalizar la aceptación de alumnado para iniciar actividades de estancia de maestría.

A continuación, detallamos la información específica sobre la aceptación:

Datos de la persona prestataria:

- **Nombre:** Mitzi Daniela Becerril Cavazos
- **Carrera/área de estudio:** Maestría en Ciencias Farmacéuticas
- **Universidad de procedencia:** Universidad Autónoma Metropolitana
- **Número de cuenta /matrícula:** 2221800542

Datos de la persona tutora responsable:

- **Nombre:** Edith González Guevara
- **Cargo:** Investigador en Ciencias Médicas C
- **Área de Desempeño:** Laboratorio de Neurofarmacología Molecular y Nanotecnología
- **Dirección de adscripción:** Dirección de Investigación

Programa de trabajo:

- **Nombre del programa:** La neuroinflamación y la búsqueda de alternativas terapéuticas en las enfermedades neurodegenerativas
- **Fechas:** 06/02/2024 inicio - 15/07/2024 término
- **Horarios:** Lunes a viernes
 - o Entrada: 9:00
 - o Salida: 17:00
- **Área principal de desarrollo de actividades:** Laboratorio de Neurofarmacología Molecular y Nanotecnología.



SALUD
SECRETARÍA DE SALUD



INSTITUTO NACIONAL DE
NEUROLOGÍA Y NEUROCIROGÍA
MANUEL VELASCO SUÁREZ

2 de 2

Agradecemos de antemano su apoyo y la atención prestada, quedando al pendiente para cualquier duda o aclaración.

ATENTAMENTE

Dra. Edith González Guevara
Laboratorio de Neurofarmacología Molecular y Nanotecnología
Dirección de Investigación

Insurgentes Sur No. 3877, Col, La Fama, C.P.14269, Alcaldía Tlalpan, CDMX
Tel. (55) 5606 3822 www.gob.mx/salud/innn



16.2 Constancia del LXVI Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A.C., Septiembre 2023



La Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas A. C.

Otorga la siguiente

CONSTANCIA

a:

Mitzi Daniela Becerril Cavazos

por su asistencia al LXVI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas.

17 al 21 de septiembre, 2023
Puebla, Pue.



Dra. Carmen Cortés
Presidenta

16.3 Constancia del LVI Congreso Nacional, X Internacional y IV Virtual de Ciencias Farmacéuticas, Noviembre 2023



**LVI Congreso Nacional, X Internacional
y IV Virtual de Ciencias Farmacéuticas**

06 al 08 de
noviembre **2023**
Centro de Convenciones Puebla

La Asociación Farmacéutica Mexicana A.C.,
otorga la presente
CONSTANCIA
a
MITZI DANIELA BECERRIL CAVAZOS

Por su asistencia al LVI Congreso Nacional, X Internacional y IV Virtual de Ciencias Farmacéuticas, celebrado del 6 al 8 de noviembre 2023 en Puebla, Puebla

"Por la superación técnica y científica de los profesionales farmacéuticos"


Dra. Angélica Meneses Acosta
Presidente de la AFM


Dr. Cairo David Toledano Jaimes
Director de Ciencia y Tecnología, AFM

Las ciencias farmacéuticas fortaleciendo el sistema de salud



Constancia



División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Departamento de Sistemas Biológicos
Maestría y Doctorado en Ciencias Farmacéuticas

Otorgan la Presente a:

QFB. Mitzi Daniela Becerril Cavazos

Maestría en Ciencias Farmacéuticas

Por haber impartido el seminario de formación: **"Estudio de la sensibilidad del receptor N-Metil-D-Aspartato (NMDA) en el modelo experimental de diabetes tipo 2 (DM2) y su relación con la pérdida de memoria"**, celebrado el día miércoles 10 de enero de 2024, dentro del trimestre 23-Otoño en el módulo II "Evaluación y Preformulación Farmacéutica" de la Maestría en Ciencias Farmacéuticas.



Dr. Juan Manuel Martínez Núñez
Coordinador

16.5 Constancia de la semana del cerebro, marzo 2024



SALUD
SECRETARÍA DE SALUD



INSTITUTO NACIONAL DE
NEUROLOGÍA Y NEUROCIROGÍA
MANUEL VELASCO SUÁREZ

LA SECRETARÍA DE SALUD Y
EL INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA
Y NEUROCIROGÍA MANUEL VELASCO SUÁREZ

OTORGAN LA PRESENTE

CONSTANCIA

A

MITZI DANIELA BECERRIL CAVAZOS

POR SU PARTICIPACIÓN EN LA
SEMANA DEL CEREBRO 2024

Por realizar actividades operativas en la Semana del Cerebro, evento de Divulgación de la Ciencia realizado del 11 al 15 de marzo del 2024

Horas Curriculares: 20 hrs.

DR. RAMIRO G. RUÍZ GARCÍA

Subdirector de Formación, Actualización y
Capacitación de Recursos Humanos



DRA. FABIOLA E. SERRANO ARIAS

Directora de Enseñanza

Ciudad de México, 15 de julio de 2024



2024
FELIPE CARRILLO
PUERTO
GOBIERNO DEL ESTADO DE YUCATAN

16.6 Constancia de XXXVIII Reunión Anual de Investigación, Julio 2024



**OTORGAN EL PRESENTE
Reconocimiento**

Becerril Cavazos Mitzi Daniela, Pérez Severiano Francisca, Sánchez Mendoza Alicia, Cervantes Pérez Luz Graciela, González Guevara Edith

Por la PRESENTACIÓN EN CARTEL del trabajo titulado:
Evaluación del deterioro cognitivo en el modelo de diabetes tipo 2 (DM2)

En la XXXVIII REUNIÓN ANUAL DE INVESTIGACIÓN celebrada del 03 al 05 de julio 2024


DR. ÁNGEL ANTONIO ARAUZ GÓNGORA
DIRECTOR GENERAL


DR. BENJAMÍN PINEDA OLVERA
DIRECTOR DE INVESTIGACIONES

16.7 Constancia del Congreso de Neurociencias, Octubre 2024



OCTOBER 5-9 CHICAGO

*Neuroscience 2024
October 5-9, 2024
Chicago*

Please let this serve to certify that

Mitzi Daniela Becerril Cavazos

has attended Neuroscience 2024 at McCormick Place in Chicago.

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

Sincerely,

A handwritten signature in black ink that reads "Kyle Hayden".

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

