



**Universidad Autónoma de Tlaxcala**

---

**Posgrado en Ciencias Biológicas**

**El extracto metanólico del alga marrón *Egregia menziesii* disminuye  
el daño oxidativo causado por la hiperglicemia en ratones con  
deterioro cognitivo**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE  
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

P r e s e n t a

**Q.C. Ana Estefanía Hernández Cano**

**Directora: Dra. Rossana Citlali Zepeda Hernández**

**Co-directora: Dra. Leticia Nicolás Toledo**





**Universidad Autónoma de Tlaxcala**

---

**Posgrado en Ciencias Biológicas**

**El extracto metanólico del alga marrón *Egrecia menziesii*  
disminuye el daño oxidativo causado por la hiperglicemia en  
ratones con deterioro cognitivo**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE  
**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

P r e s e n t a

Q.C Ana Estefanía Hernández Cano

**Comité Tutorial**

Directora:

Dra. Rossana Citlali Zepeda Hernández

Co-directora:

Dra. Leticia Nicolás Toledo

Tutores:

Dra. Claudia Janeth Juárez Portilla

Dra. Estela Cuevas Romero

El presente trabajo de tesis se realizó en el Centro de Investigaciones Biomédicas y en el Laboratorio de Investigación en Medicina Traslacional de la Universidad Veracruzana en la ciudad de Xalapa, Veracruz. El proyecto se desarrolló dentro del programa del Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Tlaxcala, el cual se encuentra dentro del Padrón Nacional de Posgrados de Calidad (PNCP). Su financiamiento fue otorgado por el Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) con número de beca 800607.



**COORDINACIÓN MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA  
P R E S E N T E**

Los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del proyecto de tesis que **Ana Estefanía Hernández Cano** realiza para la obtención del grado de **Maestra en Ciencias Biológicas**, expresamos que, habiendo revisado la versión final del documento de tesis, damos la aprobación para que ésta sea impresa y defendida en el examen correspondiente. El título que llevará es **“El extracto metanólico de alga marrón *Egregia Menziesii* disminuye el daño oxidativo causado por la hiperglicemia en ratones con deterioro cognitivo”**.

Sin otro particular, aprovechamos para enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E  
TLAXCALA, TLAX., A 15 DE AGOSTO DEL 2023

DRA. CLAUDIA JANETH JUÁREZ PORTILLA

DRA. ROSSANA CITLALI ZEPEDA HERNÁNDEZ

DRA. ESTELA CUEVAS ROMERO

DR. JULIO CÉSAR MORALES MEDINA

DR. RENÉ ZEMPOALTECA RAMÍREZ

**COMITÉ ACADÉMICO  
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

Sirva este medio para describir el proceso de revisión de la tesis titulada “**El extracto metanólico del alga marrón *Egria menziiesii* disminuye el daño oxidativo causado por la hiperglicemia en ratones con deterioro cognitivo**” realizada por la estudiante **Ana Estefanía Hernández Cano** para optar por su grado de **Maestra en Ciencias Biológicas**.

El documento de la tesis de **Ana Estefanía Hernández Cano** fue revisado por mí como directora de tesis antes de presentarse en cada examen tutorial y, posteriormente a los exámenes tutorales, los miembros de su comité tutorial realizaron también sus respectivas observaciones. De manera que el documento, llevó un proceso de revisión por varios profesores expertos en el tema. En el mes de agosto, el documento final de la tesis fue procesado con el programa del Turnitin marcando poco texto con similitudes (18%). Los textos detectados con similitud están marcados en palabras técnica comúnmente utilizadas, redacción de resultados y la metodología, correspondiendo a lenguaje común por lo que esta similitud no podría ser considerada como plagio.

Por lo anterior, confirmo que **la estudiante no incurrió en ninguna práctica no deseable** en la escritura de la tesis.

Sin más por el momento, reciban atentos saludos.

**CORDIALMENTE**

**Tlaxcala, Tlax., a 11 de agosto de 2023**

  
**Dra. Rossana Cruzan Zepeda Hernández**  
**Directora de tesis**

## AGRADECIMIENTOS

Al posgrado del Centro Tlaxcala Biología de la Conducta y la Universidad Autónoma de Tlaxcala por brindarme la oportunidad de realizar una maestría.

Al CONAHCYT por brindarme el apoyo con beca y número 800607.

A la Dra. Rossana Citlali Zepeda Hernandez por haberme aceptado y darme la confianza de pertenecer a su grupo de trabajo sin conocerme. Por su apoyo y guía durante la maestría y, sobre todo por su calidad humana.

A la Dra. Leticia Nicolás Toledo por aceptarme en el posgrado, dejarme crecer e inclinarme por lo que me gusta. Por siempre estar al pendiente de mis avances, por su disposición y por su apoyo incondicional.

A la Dra. Claudia Janeth Juárez Portilla y la Dra. Estela Cuevas Romero que formaron parte de comité tutorial, gracias por siempre aportar críticas constructivas con respecto al trabajo lo cuál me permitieron crecer y seguir mejorando.

Al Dra. Mónica Flores y el Dr. Óscar Franco por permitirme trabajar en su laboratorio.

A mi amigo el QFB. Christian Gidonni Carrión Hernandez por ser un gran soporte en esta etapa de mi vida, porque sin ti este camino no hubiera sido igual. Al M.C César Amador Calles por apoyarme siempre que podía y por transmitirme muchos conocimientos, al M.C José Carlos Alarcón por ayudarme incondicionalmente y explicarme pacientemente, a la Dra. Heidy Martínez Pacheco por sus críticas constructivas y apoyo tanto dentro como fuera del laboratorio, a la M. C Jimena Patricia Susan por ser una cómplice en esta aventura y por ayudarme a crecer en este entorno, al Biól. Alejandro Lara Aguilar, Biól. Zenaida Marbello Rosas, M. Jairo Lumpuy, QFB Ángeles González y Q.C Omar Arroyo, por los buenos momentos que tuvimos y por apoyarme en este proceso.

A mi mamá, mi tía, mi hermana y sobrinos, por apoyarme en este proceso y en todas las decisiones que he tomado. Por siempre impulsarme y alentarme a cumplir mis metas. Los amo inmensamente.

## DEDICATORIA

A mi mamá, que es mi mayor motor en la vida y más grande orgullo. Te amo.



## RESUMEN

La diabetes es una enfermedad crónica no transmisible con alta prevalencia en todo el mundo que se caracteriza por niveles elevados de glucosa en sangre (hiperglicemia crónica). La hiperglicemia crónica se caracteriza con un aumento en los niveles de estrés oxidativo en áreas cerebrales como hipocampo, corteza prefrontal y amígdala, lo cual está involucrado con disfunción en los procesos cognitivos. Los pacientes diabéticos suelen ser suplementados con vitaminas que pueden ayudar a disminuir el estrés oxidativo. Las algas marinas han llamado la atención en la investigación biomédica debido a sus propiedades antioxidantes. En particular, *Egrecia menziesii* es un alga parda que ha mostrado actividad antioxidante *in vitro*, por lo cual probar su actividad en un modelo *in vivo* resulta de gran interés. Es por ello, que el objetivo de este trabajo fue determinar el efecto en la disminución de los niveles de estrés oxidativo en sistema nervioso central y su relación con una mejora en los procesos cognitivos. Se utilizaron ratones de la cepa CD-1, los que fueron divididos aleatoriamente en cinco grupos: CTL-AGUA, CTL-ALGA, STZ-ALGA, STZ-AGUA y STZ-MET. A tres grupos se les administró estreptozotocina (STZ, única dosis, 100mg/kg, i.p) para generar hiperglicemia subcrónica. Posteriormente, los ratones recibieron los siguientes tratamientos: Agua (CTL-AGUA y STZ-AGUA), extracto metanólico de *E. menziesii* 50 mg/kg (CTL-ALGA, STZ-ALGA), o Metformina 250 mg/kg (STZ-MET) durante quince días. En el día 16, se evaluaron: la actividad locomotora con la prueba de campo abierto y los procesos cognitivos con la prueba de laberinto radial de ocho brazos. Al término de las pruebas, los animales fueron eutanizados y se determinaron los niveles de enzimas antioxidantes superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT), así como los niveles de malonaldehído (MDA) en áreas cerebrales de hipocampo, corteza cerebral y amígdala. Los resultados muestran que la actividad locomotora fue similar entre los grupos experimentales y los grupos controles. El análisis de la prueba de laberinto de ocho brazos muestra una disminución en la latencia para terminar la prueba y en los errores en la memoria de trabajo en el grupo de STZ-ALGA, lo cual indica una mejora en la memoria espacial. Además, la administración del extracto metanólico de *E. menziesii* mejoró la actividad de las enzimas antioxidantes CAT y SOD. En conclusión, el alga parda *Egrecia menziesii* podría ser considerado un antioxidante con mucho campo por estudiar.

# INDICE

I.	INTRODUCCIÓN	1
1.1	DIABETES	1
1.2	ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO	3
1.3	HIPERGLICEMIA Y ESTRÉS OXIDATIVO	5
1.4	ESTRÉS OXIDATIVO Y CEREBRO	8
1.5	APRENDIZAJE Y MEMORIA	9
1.6	ESTRUCTURAS CEREBRALES RELACIONADAS CON EL APRENDIZAJE Y LA MEMORIA	10
1.7	ALGAS MARINAS	11
II.	ANTECEDENTES	12
2.1	HIPERGLICEMIA Y SU RELACIÓN CON EL DETERIORO COGNITIVO	12
2.2	MODELOS DE HIPERGLICEMIA	13
2.3	LABERINTO DE OCHO BRAZOS	15
2.4	ANTIOXIDANTES	15
2.5	ALGAS PARDAS	16
2.6	METABOLITOS DE ALGAS PARDAS Y SU ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE	17
2.6.1	POLISACÁRIDOS	17
2.6.2	CAROTENOIDES	18
2.6.3	POLIFENOLES	18
2.7	MECANISMOS ANTIOXIDANTES DE ALGAS PARDAS	19
2.7	CARACTERÍSTICAS DE <i>EGREGIA MENZIESII</i>	21
III.	JUSTIFICACIÓN	23
IV.	PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	24
V.	HIPÓTESIS	24
VI.	OBJETIVOS	24
6.1	OBJETIVO GENERAL	24
6.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
VII.	METODOLOGÍA	25
7.1	MANEJO DE RATONES	25
7.2	INDUCCIÓN DE HIPERGLICEMIA	25
7.3	PRUEBA DE CAMPO ABIERTO	26
7.4	LABERINTO DE OCHO BRAZOS	27
7.5	OBTENCIÓN DE TEJIDO	28

7.6 OBTENCION DE PROTEÍNAS TOTALES	28
7.7 DETERMINACIÓN DE LA LIPOPEROXIDACIÓN	28
7.8 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE CAT	29
7.9 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE SOD	29
7.10 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	29
VIII. RESULTADOS	31
8.1 EFECTO DEL EXTRACTO METANÓLICO DE <i>E.MENZIESII</i> SOBRE LOS NIVELES DE GLUCOSA EN SANGRE EN RATONES DIABÉTICOS INDUCIDOS POR STZ.	31
8.2 EFECTO DEL EXTRACTO METANÓLICO DE <i>E. MENZIESII</i> SOBRE EL PESO CORPORAL DE RATONES DIABÉTICOS INDUCIDOS POR STZ.	32
8.3 EFECTO DEL EXTRACTO METANÓLICO DE <i>E. MENZIESII</i> SOBRE LA ACTIVIDAD LOCOMOTORA.	33
8.4 EFECTOS DEL EXTRACTO METANÓLICO DE <i>E. MENZIESII</i> SOBRE LA MEMORIA DE TRABAJO EVALUADA MEDIANTE EL LABERINTO DE OCHO BRAZOS EN LA ETAPA DE ADQUISICIÓN.	34
8.5 EFECTO DEL EXTRACTO METANÓLICO DE <i>E.MENZIESII</i> SOBRE LA MEMORIA DE REFERENCIA EVALUADA MEDIANTE EL LABERINTO DE OCHO BRAZOS EN LA ETAPA DE ADQUISICIÓN.	35
8.6 EFECTO DEL EXTRACTO METANÓLICO DE <i>E.MENZIESII</i> SOBRE EL PARÁMETRO DE LATENCIA EVALUADA MEDIANTE EL LABERINTO DE OCHO BRAZOS EN LA ETAPA DE ADQUISICIÓN.	36
8.7 EFECTO DEL EXTRACTO METANÓLICO DE <i>E.MENZIESII</i> SOBRE LA LATENCIA EVALUADA MEDIANTE EL LABERINTO DE OCHO BRAZOS EN LA ETAPA DE RETENCIÓN.	37
8.8 EFECTO DEL EXTRACTO METANÓLICO DE <i>E.MENZIESII</i> SOBRE LA MEMORIA DE TRABAJO EVALUADA MEDIANTE EL LABERINTO DE OCHO BRAZOS EN LA ETAPA DE RETENCIÓN.	38
8.9 EFECTOS DEL EXTRACTO METANÓLICO DE <i>E.MENZIESII</i> SOBRE LA MEMORIA DE REFERENCIA EVALUADA MEDIANTE EL LABERINTO DE OCHO BRAZOS EN LA ETAPA DE RETENCIÓN.	39
8.10 EFECTO DEL EXTRACTO METANÓLICO DE <i>E.MENZIESII</i> SOBRE LOS NIVELES DE MDA EN HIPOCAMPO, CORTEZA PREFRONTAL Y AMÍGDALA.	40
8.11 EFECTO DEL EXTRACTO METANÓLICO DE <i>E.MENZIESII</i> SOBRE LOS NIVELES DE CATALASA EN HIPOCAMPO, AMÍGDALA Y CORTEZA PREFRONTAL.	41
8.12 EFECTO DEL EXTRACTO METANÓLICO DE <i>E.MENZIESII</i> SOBRE LOS NIVELES DE SOD EN HIPOCAMPO, AMÍGDALA Y CORTEZA PREFRONTAL.	42
IX. DISCUSIÓN	43
X. CONCLUSIÓN	49
XI. PERSPECTIVAS	49
XII. REFERENCIAS	51
XIII. GLOSARIO DE TÉRMINOS	59

# I. INTRODUCCIÓN

## 1.1 DIABETES

La diabetes mellitus (DM) se define como un desorden metabólico, caracterizado por la presencia de hiperglicemia debido al daño de las células  $\beta$  y la secreción deficiente de insulina (Punthakee y cols. 2018).

De acuerdo con la Asociación Americana de Diabetes, esta se clasifica en:

1) Diabetes tipo 1: anteriormente conocida como “diabetes infantil” y se caracteriza por la deficiencia del sistema inmune para reconocerse a sí mismo, lo cual generalmente conduce a la destrucción de las células  $\beta$  del páncreas causando una deficiencia en la producción de insulina. Alrededor del mundo este tipo de diabetes aumenta año con año en promedio del 3 al 4% (Seaquist 2015; Norris y cols. 2020; ADA. 2022)

2) Diabetes tipo 2: es la forma más común de DM, se caracteriza por una resistencia predominante a la insulina y una deficiencia. Se encuentra relacionada con otras enfermedades (comorbilidades) como obesidad e hipertensión (Seaquist 2015; Pugazhenti y cols. 2017; ADA 2022). Más del 8.8% de la población mundial se encuentra diagnosticada con DM. De seguir con esta tendencia, se pronostica que para el año 2040 cerca de 693 millones de individuos tendrán esta enfermedad (Sadanand y cols. 2016; Lovic y cols. 2020).

3) Diabetes gestacional: sucede en mujeres embarazadas que carecen de antecedentes de niveles elevados de glucosa, por lo que en la etapa de embarazo se genera un estado de intolerancia a la misma. Se diagnostica del segundo al tercer trimestre de embarazo. La prevalencia de diabetes gestacional puede variar de acuerdo a los criterios de clasificación y el tipo de población, de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud la prevalencia es entre 3.6% y 38% (Punthakee y cols. 2018; Sweeting y cols. 2022; ADA. 2022).

4) Diabetes relacionadas con otras causas, entre las que se encuentran la diabetes monogénica, las enfermedades del páncreas exocrino, la diabetes generada por la administración de productos químicos o medicamentos (ADA. 2022), su prevalencia puede variar dependiendo del tipo.

La DM tipo 2 se caracteriza por un estado de hiperglicemia crónica que, cuando no se controla de manera adecuada se relaciona con la aparición de complicaciones macro y microvasculares, (Pfeiffer y Klein 2014) (figura 2). Las complicaciones macrovasculares incluyen enfermedades coronarias y accidentes cerebrovasculares que pueden conducir a la muerte, mientras que las lesiones microvasculares causan nefropatía, retinopatía y neuropatías (Pfeiffer y Klein 2014). El tratamiento de la DM incluye un cambio en los hábitos alimenticios, disminución en la ingesta de calorías, ejercicio físico y tratamiento farmacológico. La terapia no farmacológica se utiliza en la etapa inicial de la enfermedad, ya que reduce los niveles de glucosa, activa el mecanismo celular que beneficia al organismo mejorando la función mitocondrial, disminuye la generación de radicales libres y aumenta la eficacia de insulina (Glovaci y cols. 2019). Por su parte, el tratamiento farmacológico previene micro y macroangiopatías, aumenta el control sobre las enfermedades subyacentes y, mejora la calidad de vida del paciente (Glovaci y cols. 2019).

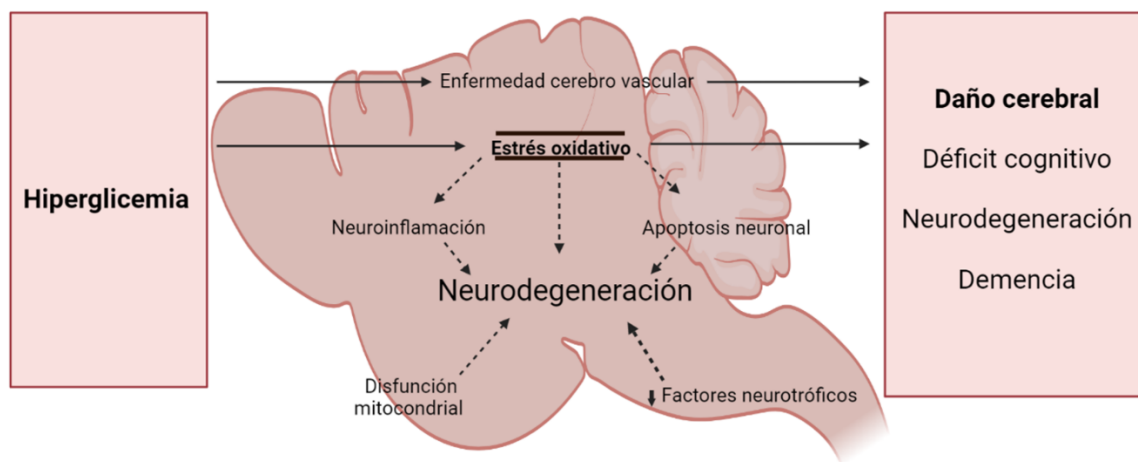


Figura 1. La hiperglicemia se ha relacionado con distintos mecanismos que pueden causar daño al cerebro y generar una disfunción cognitiva dentro de los cuales se encuentra el daño en la vasculatura y el aumento de estrés oxidativo el cual se relaciona con neuroinflamación y apoptosis neuronal. Modificado de Hamed (2017).

## 1.2 ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO

Las especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) son generadas como productos del metabolismo. El radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) se clasifica como radical primario, su dismutación genera peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y radical hidroxilo ( $OH^{\cdot}$ ), considerados “ROS secundarios” (Figura 2).

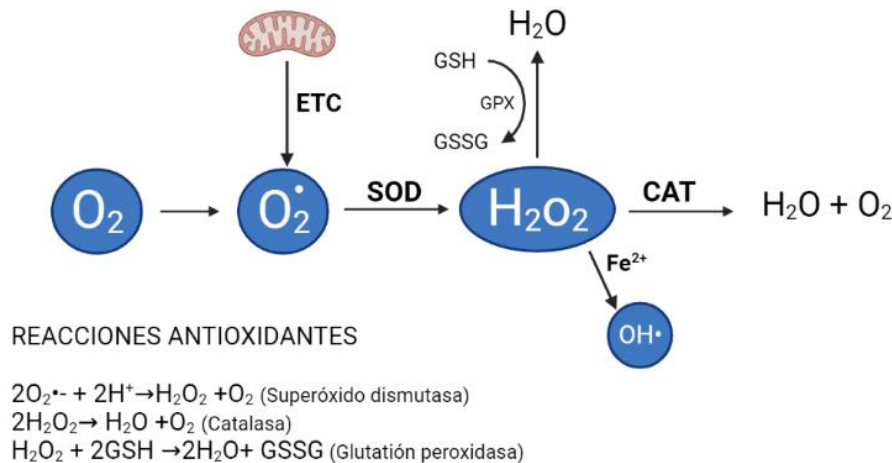


Figura 2. El  $O_2$  es la especie reactiva de oxígeno más abundante. La enzima SOD dismuta el  $O_2$  en  $H_2O_2$  otra especie reactiva de oxígeno que con ayuda de CAT y GPx se degradan en  $H_2O$  y oxígeno. Imagen tomada y modificada de (Mittal y cols. 2014).

Procesos como la apoptosis, la activación de los factores de transcripción, la fosforilación de proteínas, los procesos inmunes y la diferenciación celular, dependen en cierta medida de la producción de ROS, pero éstas deben encontrarse en ciertos niveles dentro de la célula para mantener una homeostasis en el organismo (Pizzino y cols. 2017). Cuando aumenta la producción de ROS se presentan efectos dañinos en todos los componentes celulares como: proteínas, lípidos, ácidos nucleicos, etc. (Pizzino y cols. 2017). Al haber un aumento excesivo de ROS se promueve la respuesta de procesos como: autofagia, apoptosis y necrosis, lo cual generará daño en las funciones celulares (He y cols. 2017). El estrés oxidativo es el responsable, al menos en parte, de daños subyacentes en enfermedades crónico-degenerativas como el cáncer, la enfermedad de Alzheimer, la diabetes y las enfermedades cardiovasculares (Pizzino y cols. 2017). Las reacciones espontáneas y reguladas enzimáticamente pueden dar lugar a  $O_2^{\cdot-}$ , dentro de las cuales se pueden encontrar a la cadena

transportadora de electrones (ETC, por sus siglas en inglés), el complejo NADPH oxidasa, la xantina oxidasa citosólica y las monooxigenasas del citocromo p450 (Wang y cols. 2018). Se ha señalado a la ETC como la mayor fuente de  $O_2$ , ya que poseen diversos centros redox. El complejo I (NADH-Coenzima Q oxidoreductasa) y el complejo II (succinato- Coenzima Q oxidoreductasa) transfieren electrones en favor del gradiente de potencial redox a un transportador soluble en lípidos, la ubiquinona (Coenzima Q), para la formación de Ubiquinol. A partir de allí, los electrones pasan a través del complejo III (Coenzima Q-citocromo c oxidoreductasa) a otro transportador móvil, el Citocromo c y mediante el complejo IV (Citocromo c oxidasa), al aceptor final, el  $O_2$ , para producir agua. El descenso de la energía potencial de los electrones se utiliza para bombear protones fuera de la matriz mitocondrial. La fuerza motriz hace que los protones regresen a la matriz mediante un V complejo (ATP sintasa), lo que genera la síntesis de ATP, la cual se identifica como fosforilación oxidativa (Venditti y cols. 2013). Se han señalado a los complejos I y III como las mayores fuentes de superóxido en las mitocondrias (Figura 3). El complejo I genera superóxido por transporte de electrones directos ligados a NADH y transporte de electrones inverso-ligados a succinato. El complejo III se considera el principal generador de ROS dentro de la ETC, que da como resultado la autooxidación de ubisemiquinona, que es un intermediario producido en este complejo (Tirichen y cols. 2021).

Por otro lado, el organismo cuenta con un sistema de defensa oxidante, el cual está conformado por moléculas enzimáticas y no enzimáticas. Este sistema también está constituido por proteínas y moléculas de bajo peso molecular. Las enzimas que más destacan son la superóxido dismutasa (SOD) y la catalasa (CAT) (Nandi y cols. 2019), las cuales se han reportado como los mejores antioxidantes *in vivo* (He y cols. 2017). SOD ha sido establecida como primera línea de defensa ante los radicales libres. Las SOD se categorizan en: CuZn-SOD citosólica, SOD extracelular y Mn-SOD mitocondrial (He y cols. 2017). Esta enzima cataliza la reacción del anión superóxido para dar lugar al  $H_2O_2$  y  $O_2$ . SOD no puede atravesar membranas celulares con facilidad y su vida media es corta, por lo que va a actuar en el lugar donde se produce. Contrariamente, el  $H_2O_2$  puede atravesar membrana celular. En todos los organismos, se ha asociado a la pérdida en la actividad de SOD con un aumento en el daño causado por el estrés oxidativo como lesiones en el ADN y peroxidación lipídica (Wang y cols. 2018). La CAT es la enzima responsable de neutralizar al  $H_2O_2$  a través de su

descomposición, manteniendo así un adecuado equilibrio de la molécula, ya que ésta es vital para procesos de señalización celular. Esta enzima va a degradar al  $H_2O_2$  en una molécula de  $O_2$  y dos moléculas de agua (Nandi y cols. 2019).

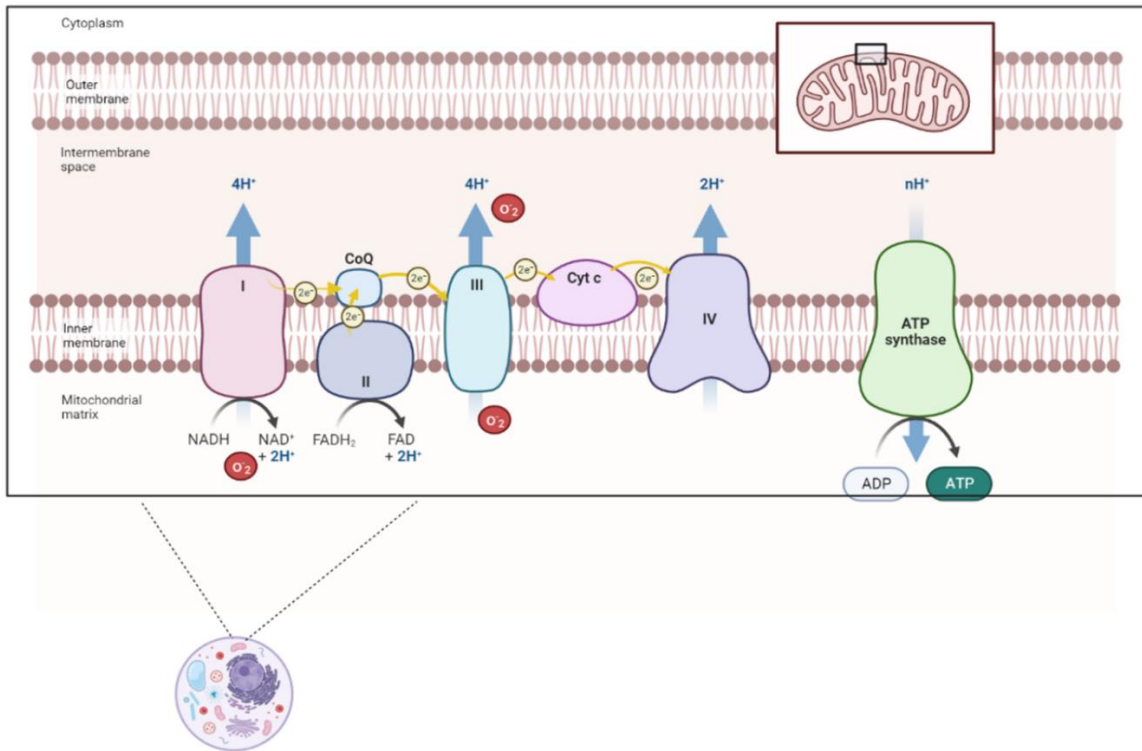


Figura 3. En condiciones normoglucémicas la cadena transportadora de electrones genera energía en forma de ATP. En condiciones hiperglucémicas se ha señalado a la cadena transportadora de electrones como uno de los principales precursores de  $O_2$ . Los Complejos I y III son los mayores generadores de electrones.

### 1.3 HIPERGLICEMIA Y ESTRÉS OXIDATIVO

Las altas concentraciones de glucosa en sangre activan diversas vías metabólicas. La más estudiada es el ciclo del ácido tricarboxílico (TCA, por sus siglas en inglés), esto como resultado de una cantidad abundante de sustrato que sucesivamente alimenta a la ETC. Este exceso de energía favorece un desequilibrio sobre las ROS (Papachristoforou y cols. 2020) (Figura 3). Se han señalado cuatro mecanismos que relacionan la hiperglicemia y el estrés oxidativo, así como las complicaciones que se deriva de esta interacción, las cuales se explican a continuación.(figura 4)



- a) Aumento del flujo de la ruta del polirol (sorbitol). Esta vía es un proceso que consta de dos pasos donde se convierte la glucosa a fructuosa. La glucosa se reduce a sorbitol, que posteriormente se oxida a fructuosa. en condiciones de hiperglicemia, la enzima hexoquinasa (HK), se satura y el exceso de glucosa entra a la vía del polirol, donde la aldosa reductasa (AR) lo reduce a sorbitol. Esta reacción oxida NADPH a NADP<sup>+</sup>. La sorbitol deshidrogenasa (SDH) puede oxidar el sorbitol a fructuosa la cual genera NADH a partir de su forma oxidada NAD<sup>+</sup>. Una concentración aumentada de NADH/NAD<sup>+</sup> se vincula con un proceso de oxidación acelerado de sorbitol a fructuosa por SDH. La fructuosa producida puede fosforilarse en fructuosa 3 – fosfato que a su vez puede descomponerse en 3 desoxiglucosa y 3 desoxigluocosa. Dichos compuestos se han señalado como agentes glicadores de proteínas, dando como resultado en AGE (Papachristoforou y cols. 2020).
- b) Formación de productos finales de la glicación avanzada. Los productos finales de glicación avanzada (AGE, por sus siglas en inglés) son proteínas que se glican como consecuencia de la exposición a azúcares. Estos se forman tras la reacción entre grupos aminos libres de proteínas y los grupos carbonilos de azúcares reductores, que posterior a varias reacciones se forman compuestos irreversibles. Durante el estado de hiperglucemia crónica los AGE se producen de forma activa y se acumulan en la sangre circulante y en varios tejidos lo que conlleva a complicaciones vasculares de la diabetes. Además, la interacción con su receptor de productos finales de glicación avanzada (RAGE, por sus siglas en inglés) desencadena diversas vías de señalización mediadas por quinasas y factores de transcripción como el NF-κB. Esta cascada activa la expresión de citocinas, enzimas y factores de transcripción, el cual generará un ambiente proinflamatorio general que conlleva al estrés oxidativo (Papachristoforou y cols. 2020). Así, la hiperglicemia reduce los niveles antioxidantes y aumenta la producción de radicales libres.
- c) Activación de isoformas de proteína cinasa C (PKC). PKC genera diversos resultados dañinos, afecta la expresión del factor de crecimiento endotelial vascular (VEFG), endotelina 1 (ET-1) y óxido nítrico sintasa endotelial (e-NOS), los cuales se

relacionan con problemas vasculares. También se ha relacionado con la activación de NF- $\kappa$ B (debido a la conexión que existe con el estrés oxidativo, la hiperglicemia y NAD(P)H oxidasa). Estas alteraciones pueden resultar en apoptosis y activación e inhibición de citoquinas.

- d) Aumento de flujo de la vía de la hexosamina. La vía de la hexosamina se relaciona con el metabolismo de la glucólisis derivada de la fructuosa- 6 fosfato (F-6-P). En este proceso participa una enzima limitante de la velocidad, glucosamina-fructuosa amidotransferasa (GFAT). En condiciones hiperglicémicas, se genera una gran cantidad de F-6-P que se va a conducir a la vía de la hexosamina y, en consecuencia, la actividad de GFAT esta regulada hacia arriba. El efecto de la elevación de esta enzima se encuentra relacionado con modificaciones en la expresión de factores de transcripción como TGF- $\alpha$  y TGF- $\beta$  que inhibe la mitogénesis de las células (Ighodaro 2018).

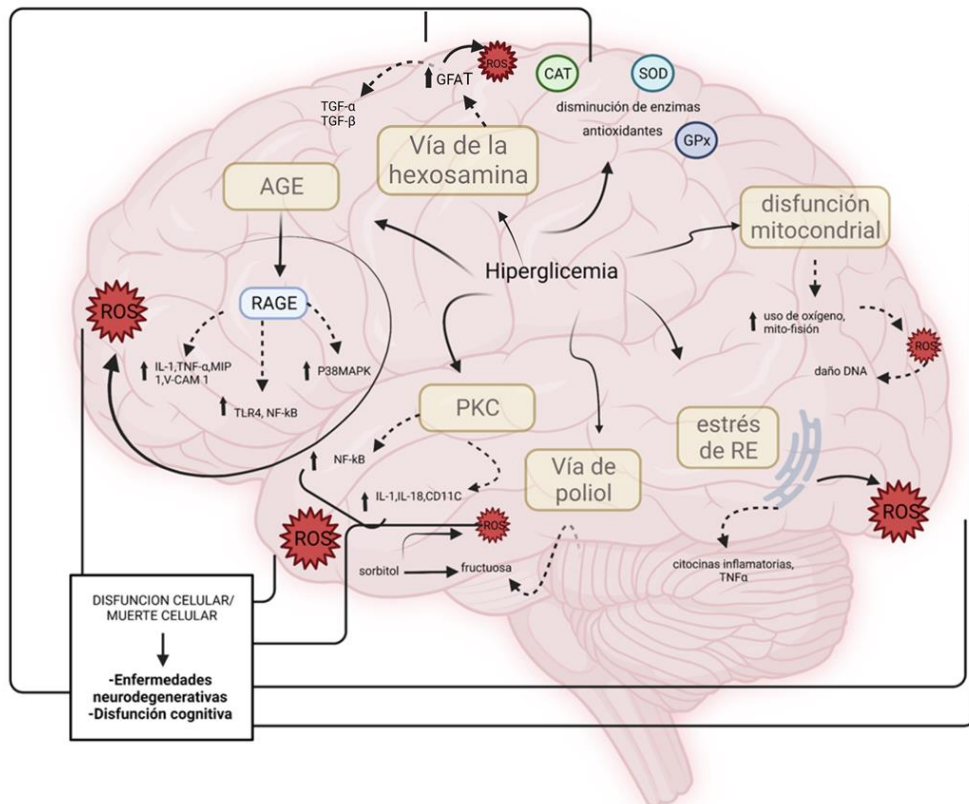


Figura 4. La hiperglicemia se ha relacionado con el aumento del estrés oxidativo, este a su vez activa diferentes vías que se relacionan con la producción de ROS y que causan daño celular que se puede traducir a un deterioro cognitivo.

#### 1 4 ESTRÉS OXIDATIVO Y CEREBRO

La hiperglicemia crónica está relacionada con muchos efectos negativos asociados con la activación excesiva de ROS. En el cerebro estos daños se ven reflejados cuando la concentración de ROS supera la capacidad de los mecanismos antioxidantes de las neuronas (Popa-Wagner y cols. 2013). Este órgano es especialmente susceptible al ataque de las ROS. El cerebro metaboliza 20% del consumo corporal de oxígeno y cuenta con mecanismos protectores relativamente débiles, el cual es blanco fácil para el ataque de ROS. Éste se encuentra constituido por una gran cantidad de ácidos grasos poliinsaturados que al ser peroxidados producen compuestos tóxicos, como aldehídos o dienales, que dan como resultado apoptosis neuronal. Una de las consecuencias más importantes se produce por la oxidación de lípidos o proteínas, ya que generará la producción de enzimas proinflamatorias lo que puede resultar en neuroinflamación. Además, se encuentran niveles elevados de hierro que pueden actuar como prooxidantes y, en ciertos casos, generar la muerte celular (Popa-Wagner y cols. 2013).

Existen diversas condiciones patológicas que generan un estado de inflamación periférica crónica, dentro de estas se encuentra la DM. Esta condición puede generarse de forma directa o como resultado de estados patológicos. La inflamación sistémica se encuentra relacionada con daño en el sistema nervioso central, lo que conlleva a alteraciones en el comportamiento tales como deterioro cognitivo y una disminución en los procesos de aprendizaje y memoria (Chesnokova y cols. 2016). Las citocinas proinflamatorias alteran la barrera hematoencefálica, lo que permite el paso de linfocitos y citocinas activadas, dando como resultado la circulación entre el sistema inmunológico periférico y el cerebro. La microglía residente en reposo se encuentra relacionada con la neurogénesis (proceso que da lugar a células neuronales nuevas a partir de células madre neuronales tanto en la etapa embrionaria como en la adultez) y se activa en respuesta de señales inflamatorias periféricas y centrales, liberando múltiples moléculas proinflamatorias dentro de las que se encuentran las citocinas, ROS y óxido nítrico. La activación de la microglía suprime la neurogénesis del hipocampo la mayoría de las veces. Esta disminución se asocia con déficits de aprendizaje y memoria

(Chesnokova y cols. 2016) (Zoungrana y cols. 2022). Muchas de las complicaciones se derivan como consecuencia del estrés oxidativo, por lo que estudiar nuevas vertientes de antioxidantes resulta prometedor.

## 1.5 APRENDIZAJE Y MEMORIA

El aprendizaje y la memoria son procesos relacionados, que de acuerdo con Kandel y cols. (2000) se define como “El aprendizaje es el proceso por el cual adquirimos conocimiento sobre el mundo” y la memoria se define como “Proceso por el cual el conocimiento se codifica, almacena y luego se recupera”. La memoria se divide en declarativa (explícita) y no declarativa (implícita). La memoria implícita se relaciona con la adquisición de habilidades donde no es necesario el contenido de memoria consciente. Como, por ejemplo: andar en bicicleta, escribir y caminar. Algunas de las áreas que se relacionan con este tipo de memoria son el cerebelo, el cuerpo estriado y la amígdala. La memoria explícita involucra conocimiento de hechos, lugares y personas y se encuentra regulada por el hipocampo y corteza adyacente (Figura 5) (Sharma y cols. 2010; Kandel y cols. 2014; Squire y Dede, 2015).

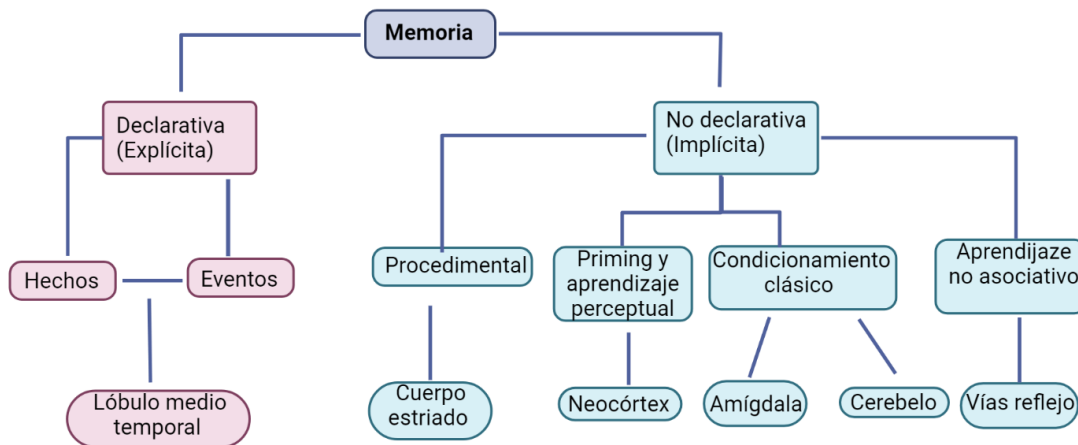


Figura 5. La memoria se puede clasificar en declarativa y esta a su vez se divide en memorias de eventos y hechos que se encuentran reguladas por el lóbulo medio temporal y la memoria no declarativa que se divide en procedimental, priming y aprendizaje, condicionamiento clásico y aprendizaje no asociativo, cada uno se encuentran regulados por diferentes áreas cerebrales. Modificado de Squire y Dede 2015.

La memoria episódica es un tipo de memoria explícita, dentro de la cual se encuentra la memoria espacial. Tanto el hipocampo como la corteza prefrontal se encuentran relacionados con la memoria y aprendizaje espacial tanto en humanos como en roedores. Este tipo de memoria se asocia con la memoria de trabajo y de referencia las cuales se interconectan entre si mediante diferentes redes neuronales. La corteza premotora y prefrontal se vinculan con la correcta ejecución de la memoria de trabajo, mientras que el hipocampo se relaciona con la memoria de referencia espacial. Por otra parte, la cognición se denomina como el conjunto de procesos y los sistemas relacionados con la adquisición de conocimientos, almacenamiento y recuperación de la memoria para el desempeño de las actividades diarias (Hamed 2017).

## 1 6. ESTRUCTURAS CEREBRALES RELACIONADAS CON EL APRENDIZAJE Y LA MEMORIA

Los recuerdos son componentes básicos de la memoria y se rigen por detalles espaciales y temporales. Los estudios actuales respaldan sólidamente la participación del hipocampo en el almacenamiento y recuperación de la memoria. Sin embargo, la corteza prefrontal, regiones neocorticales y parietales y otras áreas corticales también se ha relacionado con la memoria (Schedlbauer y cols.2014). Con frecuencia, se cree que el aprendizaje es un proceso que se encuentra regulado por regiones cerebrales independientes. A pesar de esto, para desarrollarse en un entorno complejo y cambiante, se debe aprender sobre estímulos complejos y las relaciones entre estos, por lo que son necesarias las interacciones de estructuras corticales y subcorticales. Después del aprendizaje, la memoria va a depender del hipocampo, de la misma forma sucede en el proceso de recuperación de esta. No obstante, tiempo después de adquirir el aprendizaje, la corteza prefrontal es responsable de los procesos de almacenamiento. El conjunto de una ejecución adecuada de la memoria contextual va a regularse a través de entradas en la corteza entorrinal, el hipocampo y la amígdala basolateral durante el proceso de aprender (Yavas y cols. 2019), por lo cual estas estructuras son de gran interés para su estudio (Tabla 1).

Tabla 1. Anatomía y función de estructuras cerebrales relacionados con el aprendizaje.

Estructura	Anatomía	Función
------------	----------	---------

Hipocampo	El hipocampo es una estructura que se relaciona con la memoria espacial y no espacial, se puede dividir funcionalmente en tres partes: dorsal, intermedia y ventral. En el hipocampo se pueden identificar regiones como: CA1, CA3 y giro dentado (DG) a lo largo del eje transversal. Existe un bucle canónico trisináptico dentro del hipocampo (Yang y Wang 2017).	La participación de la neurogénesis del hipocampo en la memoria y el aprendizaje del adulto se encuentra muy bien establecida. Es bien sabido que el hipocampo juega un papel vital en el proceso de la memoria y el aprendizaje y se sugiere que es la estructura con mayor susceptibilidad a sufrir cambios severos frente a niveles elevados de glucosa (Bednařík y cols. 2020).
Amígdala	La amígdala es una estructura localizada en el lóbulo temporal de los mamíferos que está formada por diferentes núcleos. El núcleo de la amígdala se encuentra dividido en tres: la amígdala basolateral (BLA), el cual se conforma por núcleo lateral (L o LA), núcleo basal y basomedial (BM) (Yang y Wang 2017). El grupo cortical, el cual involucra el tracto lateral olfatorio, el núcleo cortical y el grupo centromedial el cual incluye el núcleo medial y central (Yang y Wang 2017). Las neuronas que se encuentran distribuidas en estos núcleos son principalmente glutamatérgicas piramidales o piramidales con dendritas espinosas (McDonald y Mott 2017).	Esta área regula la consolidación de múltiples recuerdos que se encuentran mediados por otras regiones del cerebro (Roesler y cols. 2021).
Corteza prefrontal	La corteza prefrontal (PFC por sus siglas en inglés) se encuentra situada en el polo anterior del encéfalo. Anatómicamente esta estructura es compleja debido a que contiene un número extenso de subregiones, estas se conectan con otras áreas corticales o subcorticales. Se divide en: corteza prefrontal dorsal; corteza orbitofrontal, corteza prefrontal ventromedial, corteza cingulada anterior, la corteza prefrontal ventrolateral y el polo frontal (Chafee y Heilbronner, 2022)	La PFC cumple funciones como: planificación, atención sensorial, control motor, memoria de trabajo y abstracción (Chafee y Heilbronner, 2022).

## 1.7 ALGAS MARINAS

Las algas son consideradas un grupo amplio de organismos fotosintéticos, con distribución amplia, encontrándose en estanques, ríos, océanos y lagos (Behera y cols. 2020). Generalmente, se clasifican en dos tipos: microalgas y macroalgas. Las primeras se pueden encontrar en hábitats litorales y en el océano en forma de fitoplancton (Makkar y cols. 2016). Las macroalgas se encuentran en todos los tipos de agua y en México se encuentran en las costas del océano Pacífico de Baja California. Se clasifican principalmente en tres grupos: algas rojas (Rhodophyceae), algas marrones o pardas (Phaeophyceae) y las algas verdes (Chlorophyceae), cada grupo posee características químicas y biológicas específicas (Pradhan y cols. 2022). De acuerdo con el informe de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), la producción de algas alrededor del mundo fue de 30.4 millones de toneladas en 2018. El cultivo de estos organismos predomina en China, Corea, Filipinas e Indonesia (Michalak y cols. 2022). Las algas son organismos que producen abundantes metabolitos primarios y secundarios. Los primeros se relacionan con el crecimiento, desarrollo y reproducción, estos se pueden clasificar en carbohidratos, lípidos y proteínas. El segundo tipo de metabolitos no se consideran esenciales para el crecimiento del

tejido, pero suelen ser importantes para su supervivencia y la interacción . Ejemplos de estos son los fenoles a los cuales se les atribuyen propiedad antioxidante (Michalak y cols. 2022). Las algas pueden contener moléculas antioxidantes como ácido ascórbico, polifenoles, flavonoides, carotenoides, fibras dietéticas, polisacáridos, vitaminas y minerales a los cuales se les atribuye su propiedad antioxidante. La evaluación de esta actividad en algas ha sido evaluada por diferentes procedimientos como: 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), poder antioxidante reductor férrico (FRAP), radical superóxido y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. En la actualidad, diversas especies de algas pardas han mostrado evidencias sólidas de propiedades antidiabéticas y antioxidantes, entre ellas *Ecklonia cava* (Pradhan y cols. 2022).

## II. ANTECEDENTES

### 2.1 HIPERGLICEMIA Y SU RELACIÓN CON EL DETERIORO COGNITIVO

El deterioro cognitivo se puede definir como una deficiencia en la atención, aprendizaje verbal y no verbal, velocidad de procesamiento de información, funcionamiento motor, memoria de trabajo y de corto plazo (Lam y cols. 2014). Este deterioro se ha relacionado con una plasticidad neuronal comprometida, muerte neuronal y disminución en la neurogénesis (Poulose y cols. 2017).

El cerebro es un órgano complejo de gran requerimiento energético, durante la hiperglicemia se relaciona con el deterioro cognitivo, aunque su etiología aún no es clara e involucra diversos mecanismos. Los modelos animales que simulan la hiperglicemia generan estrés oxidativo, disminución de las enzimas antioxidantes, aumento de la peroxidación lipídica y muerte celular mediante procesos de necrosis o apoptosis. Aunado a esto, se ha señalado que el cerebro, en condiciones de hiperglicemia, es un órgano con poca actividad de las enzimas antioxidantes. Además del estrés oxidativo, hay múltiples factores que pueden conducir a la neurodegeneración, dentro de los cuales se encuentran: aumento en los niveles de diferentes citocinas inflamatorias y factores apoptóticos, disminución de neurotransmisores y factores neurotróficos (Figura 1) (Hamed 2017).

Una gran cantidad de estudios han demostrado que la hiperglicemia está estrechamente asociada con el desarrollo de problemas cognitivos, tanto en humanos como en modelos animales (Zilliox y cols. 2016). La DM tipo 1 y 2 se han relacionado con una disminución en el rendimiento de diversos dominios de la función cognitiva y con anomalías cerebrales en las personas que padecen esta enfermedad. La hiperglicemia crónica y las complicaciones microvasculares se dan como resultado de la DM (Moheet y cols. 2015). Al respecto, Chatterjee y cols. (2015) han reportado 14 estudios con datos de 2.3 millones de individuos entre los que había 100,000 casos de demencia de cohortes provenientes de varios países en Asia, Europa y América, demostrando que la diabetes se asocia con un aumento del 60% en el riesgo de padecer demencia. También se ha demostrado la relación que existe entre la DM y las deficiencias cognitivas, y se menciona una relación entre la duración de la enfermedad y el surgimiento del deterioro cognitivo (Areosa y cols.2017).

En modelos murinos de diabetes tipo 1 y 2 se observa una disminución de las ramificaciones dendríticas de las neuronas y de la potenciación a largo plazo del hipocampo, un tipo de plasticidad celular relacionado con el aprendizaje y la memoria. Tanto la disminución de la neurogénesis hipocampal como las manifestaciones conductuales a causa de ésta pueden revertirse con el tratamiento adecuado de insulina (Chesnokova y cols. 2016). El daño cerebral que se ocasiona como consecuencia de una hiperglicemia crónica es multifactorial y aún no se determinan los mecanismos claros y precisos que puedan explicar este evento. Diversos estudios han probado que en dicho daño hay aumento de lesiones neuronales, de astrocitos, necrosis, apoptosis, neuroinflamación, disminución en los procesos de reparación, así como en la neurogénesis en diferentes áreas del cerebro, dentro de las cuales destacan la corteza prefrontal y el hipocampo (Hamed 2017).

## 2.2 MODELOS DE HIPERGLICEMIA

Los roedores se han utilizado como modelo para las enfermedades de diabetes y deterioro cognitivo debido a su similitud genética con los humanos. Las intervenciones adecuadas pueden inducir las condiciones deseadas como: diabetes, deterioro cognitivo o ambas. Utilizando un modelo murino de hiperglicemia, inducida con estreptozotocina, Biessels y Despa (2018) observaron neuroinflamación y lesiones neurovasculares, lo cual reflejó un



gran daño en los procesos de memoria y aprendizaje en comparación con roedores no diabéticos. Por otro lado, el estudio realizado en 2021 en un modelo en rata nos permite evidenciar este mismo efecto. Además, sugiere que este daño cognitivo puede ser a través de un aumento en los niveles de estrés oxidativo y apoptosis (Rahmati y cols. 2021).

Para realizar un modelo preclínico de forma adecuada se deben de tomar en cuenta aspectos como: validez de apariencia, validez de constructo y validez predictiva. La primera consiste en la similitud entre los síntomas y signos que muestran los animales de experimentación y los humanos. La segunda hace referencia al parecido entre los mecanismos fisiopatológicos y etiología de la enfermedad en los animales de experimentación y humanos. La última contempla el parecido de los fármacos utilizados en el modelo, así como su capacidad para predecir la actividad con respecto al síntoma principal. Los modelos animales, rara vez cumplen con todas las validaciones antes mencionadas (Furman y cols. 2020; Rojas y cols. 2020). Sin embargo, son de mucha utilidad para simular una enfermedad en modelos preclínicos.

En el presente trabajo se analiza el efecto que tiene el alga parda *E. menziesii*, sobre la memoria y el aprendizaje, así como parámetros bioquímicos relacionados al estrés oxidativo en el área de hipocampo, amígdala y corteza prefrontal en un modelo de hiperglicemia inducido químicamente con el fármaco STZ. La STZ tiene la capacidad de destruir selectivamente las células  $\beta$  del páncreas a través de su actividad alquilante sobre el ADN. Además, esta toxina se ha utilizado ampliamente para probar la capacidad hipoglucemiante de diversos fármacos y extractos naturales (Deeds y cols. 2011; Gao y cols. 2018; Rahmati y cols. 2021). Los experimentos que inducen diabetes química utilizando STZ en dosis única generan una “validez de apariencia” a la DM tipo 1 en humanos, ya que se asemejan todas las complicaciones metabólicas de la enfermedad y sus principales síntomas. Con respecto a la “validez de constructo”, ésta puede ser deficiente, ya que los mecanismos por los cuales se genera la lesión a las células  $\beta$  en humanos es mediante un proceso de autoinmunidad que se relaciona con la DM tipo 1 y la interacción de factores ambientales y genéticos. La “validez predictiva” puede resultar útil para determinar los niveles de glucosa periférica que se observan en todos los tipos de DM (Furman y cols. 2020).

En la actualidad, existe discrepancia sobre los modelos que se utilizan para representar a la diabetes. Furman y cols. (2020), mediante el análisis de varios artículos, señalan escasa evidencia que sustente la capacidad de estos modelos para predecir los efectos de los extractos de plantas y los niveles glicémicos en humanos que padecen esta enfermedad. Otros trabajos señalan que, si bien no son aptos para una representación de la DM, sí resultan útiles para evidenciar la eficacia de anti hiperglucémicos, compuestos naturales y sobre todo para evaluar los cambios que se generan en el cerebro como consecuencia de la hiperglicemia (Islam y Wilson, 2012; Oliveira y cols. 2016).

### 2.3 LABERINTO DE OCHO BRAZOS

Para la evaluación de la memoria y el aprendizaje espacial en roedores se ha usado con amplia frecuencia el laberinto de ocho brazos, el cual tiene como objetivo evaluar la memoria de trabajo y de referencia espacial utilizando un área central de donde irradian ocho brazos, algunos, los cuales se encuentran cebados con comida que el roedor debe encontrar (Kim y cols. 2018). La memoria de trabajo en el laberinto de ocho brazos se define como los mecanismos mnemotécnicos para ejecutar la tarea de encontrar el alimento en el laberinto, en un solo intento, por lo que se debe evitar que los roedores reingresen en brazos previamente visitados durante el mismo ensayo. La memoria de referencia se entiende como los mecanismos mnemotécnicos utilizados para el desempeño en los ensayos, como recordar la ubicación de los brazos no cebados (Goodrich-Hunsaker y Hopkins, 2010; Kim y cols. 2018).

### 2.4 ANTIOXIDANTES

Los antioxidantes son moléculas que reducen, minimizan o se oponen a la actividad de las ROS o radicales libres en las células (Poulose y cols. 2017; Singh y cols. 2017). Estos compuestos actúan bajo el mecanismo de reducción de moléculas oxidantes altamente activas a moléculas neutras para posteriormente oxidarse en sustancias no tóxicas. Se clasifican en dos grupos, los antioxidantes endógenos y los exógenos. El primer grupo está conformado por un sistema enzimático y no enzimático. El sistema enzimático defiende a las células atacando directamente a las ROS y radicales libres mediante enzimas como la SOD, CAT y

glutación peroxidasa. El sistema no enzimático se conforma por vitaminas como la C y E, carotenoides, antioxidantes tioles, melatonina y otros compuestos. Por otra parte, el sistema antioxidante exógeno está conformado por moléculas que provienen de la alimentación principalmente de frutas, verduras y plantas. Estas pueden ser vitaminas A, E, C y polifenoles (Poulouse y cols. 2017; Singh y cols. 2017). Se ha señalado a los antioxidantes naturales como seguros, efectivos y de fácil absorción. Estas moléculas tienen la capacidad de defender a la célula a través de diferentes niveles como: donación de un electrón, quelación de metal iónico, eliminación de un radical libre, regular la expresión génica y prevenir la lipoperoxidación (Begum y cols. 2021).

## 2.5 ALGAS PARDAS

Las algas pardas forman parte de la medicina tradicional asiática y se han utilizado durante siglos como terapia para diversos padecimientos. Se han identificado y clasificado alrededor de 1500-2000 especies. Las algas pardas producen polifenoles, carotenoides y polisacáridos, entre otros compuestos, como parte de su metabolismo primario y secundario. Los compuestos antes mencionados tienen actividad biológica antioxidante, hipoglucemiante, anticancerígena, antibacteriana, antiviral, etc. por lo que se han señalado como agentes nutraceuticos (Gabbia y De Martin, 2020; Gutiérrez 2020). Las algas pardas se encuentran clasificadas en 250 géneros y forman parte fundamental de las dietas occidentales ya que proporcionan diversos nutrientes que ejercen beneficios para la salud. Las más estudiadas se dividen en dos órdenes, las Fucales y las Laminariales. Dentro de las fucales destacan especies como: *Hizikia fusiforme*, *Sargassum horneri*, *Laminaria cichorioides* y *Costaria costata*. El orden de las Laminariales es el de mayor utilidad y el que ha sido explotado alrededor del mundo. Algunas especies importantes son: *Ecklonia arborea*, *Ecklonia cava*, *Ecklonia kurome*, *Ecklonia stolonifera*, *Eisenia bicyclis* y *Egregia menziesii*. En la tabla 2 se encuentran algunas de las especies más representativas de estos organismos (Gabbia y De Martin, 2020).

Aún cuando *E. menziesii* no es parte de la dieta en humanos, ni se ha utilizado en medicina tradicional, ha despertado interés ya que pertenece a la familia *Lessoniaceae*, de la cual

existen numerosos estudios que han demostrado su importancia biomédica (Murray y cols. 2018).

Especie	Nombres comunes
Fucales	
<i>Ascophyllum nodosum</i> (Linnaeus)	Yellow Tang
<i>Fucus serratus</i> Linnaeus	Serrado wrack
<i>Fucus spiralis</i> Linneo	Bolsas de gelatina
<i>Sargassum fluitans</i> (Borgesen)	Akamoku
<i>Sargassum horneri</i> (Turner)	
Laminariales	
<i>Ecklonia arborea</i>	Kajime
<i>Ecklonia cava</i>	
<i>Ecklonia stolonifera</i>	
<i>Egregia menziesii</i>	Boa de plumas
<i>Laminaria japónica</i> Areschoug	Hai Dai

Tabla 2. Principales especies de algas pardas.

De acuerdo a Begum y colaboradores. (2021) existe variedad de estudios que señalan a las algas marinas como una fuente de compuestos bioactivos, dentro de los cuales se encuentran polifenoles, polisacáridos y carotenoides, los cuales han demostrado gran eficacia antioxidante.

## 2.6 METABOLITOS DE ALGAS PARDAS Y SU ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

### 2.6.1 POLISACÁRIDOS

El fucoidan se encuentra en invertebrados marinos y algas pardas. Su componente principal es la fucosa la cual se combina con otras moléculas como galactosa y xilosa. Se ha reportado el peso molecular de este compuesto entre 40kDa y 1600kDa. La cantidad de este metabolito que se va a encontrar en las algas puede variar de acuerdo con la especie, estación del año y la etapa de desarrollo (Zhiwei Liu y Sun, 2020). Los polisacáridos han mostrado mejorar los sistemas antioxidantes endógenos en humanos y animales a través de la evaluación indirecta de la medición de productos enzimáticos (CAT y SOD) y de oxidación como el MDA (Zhiwei Liu y Sun, 2020).

Los alginatos se extraen principalmente de: *Ecklonia maxima*, *Sargassum spp*, *Laminaria spp*. entre otras. Generalmente se distribuyen en las paredes celulares como sales de magnesio y sodio, además mejora la flexibilidad del tejido de las algas (Liu Z. y Sun, 2020).

La *laminaria* se considera una reversa valiosa de carbohidratos y su actividad depende de su estructura molecular y el contenido de monosacáridos que contenga. En la tabla Tabla 3 se observan estudios en modelos animales que han utilizado polisacáridos obtenidos de algas marrones para comprobar su actividad antioxidante (Zhiwei Liu y Sun, 2020).

Alga	Compuesto	Fuente	Marcadores	Téjido
Marrón	Fucoïdan	Sigma Aldrich	↑GPx y ↑SOD	Hígado
	Oligosacárido de ácido alginico	Biotechnology/ <i>Sargassum horneri</i> del laboratorio de la universidad de Ningbo	↑CAT y ↑SOD ↓ MDA	Sangre

Tabla 3. Polisacáridos descritos en algas marrones y su efecto.

## 2.6.2 CAROTENOIDES

Los carotenoides (CRT) son pigmentos que se sintetizan naturalmente por plantas y algas. Las propiedades antioxidantes de estos compuestos son mediante la inhibición del oxígeno singulete y la capacidad de atrapar radicales libres. Estos metabolitos, tienen la capacidad de penetrar la membrana celular y también atraviesan barrera hematoencefálica (Begum y cols. 2021). Los CRT se han reportado como reguladores de vías de supervivencia en las células, como: NF-K $\beta$ , MAPK y PI3/Akt. La fucoxantina es uno de los CRT más reconocidos. Es de los metabolitos mejor identificados con propiedad antioxidante dentro de esta categoría. Actúa inhibiendo la formación de ROS, daño al ADN y apoptosis. Estudios respaldan que la fucoxantina regula a la alza la actividad de enzimas antioxidantes como CAT y SOD y la expresión de factor 2 relacionado con el factor nuclear eritroide 2 (Nrf2) (Begum y cols. 2021).

## 2.6.3 POLIFENOLES

Los polifenoles son considerados como los antioxidantes exógenos más eficaces, debido a eso han llamado la atención en años recientes. Estos poseen propiedades antiinflamatoria y antioxidante, además se ha comprobado que pueden aumentar la neurogénesis (Poulose y cols. 2017; Singh y cols. 2017). Dentro de este grupo destaca una clase denominada florataninos. Este compuesto ya ha sido ampliamente estudiado en distintos extractos que poseen abundante contenido de este metabolito y que han comprobado su eficacia como antioxidante. Los florataninos han mostrado actividad para la quelación de metales y eliminación de radicales libres. Compuestos puros extraídos de este grupo, como el phlorofucofuroeckol A 6-6'-bieckol, dieckol y phloroglucinol aislados de *E.cava* tuvieron reportes en la disminución de ROS. Aunado a esto, los florataninos aislados de algas como *F. vesiculosus* y *F. serratus* han actuado indirectamente como antioxidante mediante la potenciación de las enzimas como CAT Y SOD, además de la regulación a la alza de Nrf2. En la tabla (Tabla 4) se observan algunos ejemplos de florataninos, el modelo en el cual se aplicaron y los efectos antioxidantes (Catarino y cols. 2021).

Compuesto	Modelo	Efecto
Dieckol	C57BL/KsJ-db/db ratón	↓lipoperoxidación, ↑SOD y ↑CAT.
	Daño hepático inducido por CCl <sub>4</sub> en ratón ICR	↓lipoperoxidación, ↑SOD y ↑CAT.
Eckol	Pez cebra inducido con EtOH	↓ROS, lipoperoxidación y muerte celular
Phloroglucinol	Pez cebra inducido con AAPH	↓ROS, lipoperoxidación y muerte celular
	Pez cebra inducido con EtOH	↓ROS, lipoperoxidación y muerte celular

Tabla 4. Florotaninos de importancia en *E. cava* (Catarino y cols. 2021).

## 2.7 MECANISMOS ANTIOXIDANTES DE ALGAS PARDAS

Se ha reportado que los polifenoles, carotenoides y polisacáridos sulfatados que producen diversas especies de algas pardas, actúan a diferentes niveles para contrarrestar los efectos del estrés oxidativo, a través de la regulación de la actividad enzimática y la eliminación de radicales libres. Por ejemplo, estos compuestos pueden activar Nrf2, por diversas vías, como ERK y KEAP1, con el objetivo de activar elementos de respuesta antioxidante (ARE, por sus siglas en inglés). Uno de los mecanismos sugeridos es la inhibición de la vía NF-κB a consecuencia del estrés oxidativo con la adición de sus grupos electrofílicos en las subunidades IKK de la quinasa IκB y NF-κB. También se ha señalado que algunas algas previenen el cambio en el potencial de membrana mitocondrial, lo que permite a la célula

mantener la función fisiológica para la producción de ATP. En ausencia de cambios en el potencial de membrana mitocondrial, no se activará el citocromo C ni la pro-caspasa 9. Por lo tanto, tampoco caspasa 3. También se ha mencionado que inhiben la apoptosis inducida a través de la reducción de Bcl-2 (Juárez-Portilla y cols. 2019; Begum y cols. 2021) (Figura 6).

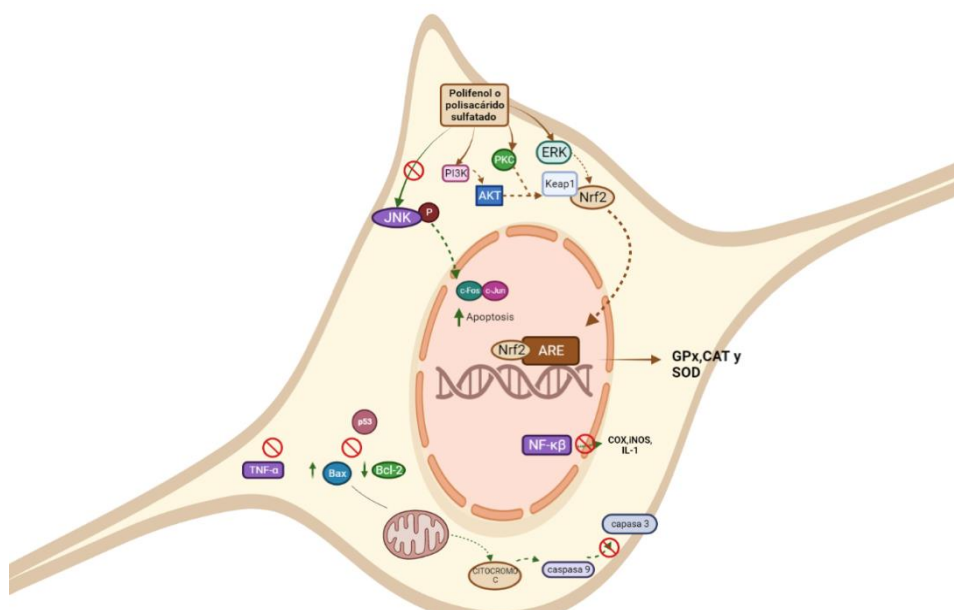


Figura 6. Las algas pardas se han señalado como antioxidantes y dentro de los mecanismos señalados destaca la activación de la vía Nrf2. También se ha señalado la inhibición de citocinas inflamatorias y factores proapoptóticos. Modificado de Juárez- Portilla y cols. 2019; Begum y cols. 2021)

En la tabla 5, se mencionan las vías que utilizan las algas pardas para sintetizar los metabolitos antes mencionados.

Componentes de algas	Compuesto bioactivo	Vía de señalización
Polifenoles	Ácido 2,5-dihidroxibenzoico, floroglucinol	Inhibición de $\alpha$ glucosidasa, $\alpha$ amilasa y lipasa.
	Fucols	Activación de la vía de señalización Akt y AMPK $\alpha$
Florotaninos	Eckols y carmaloles Dieckol, 6,6'-Bieckol, 8,8'-Bieckol, 6,6'-bieckol, Phloroglucinol-6,6-Bieckol, 2,7"-Phloroglucinol-6,6'-bieckol, Pyrogallol.	Aumenta la secreción de glicerol, y la fosforilación de eNOS
Polisacáridos		
Fucoidans		Regulación positiva de SOD y CAT,
Laminarinas		Regulación a la alza de c-Jun, c-Fos, y COX
Terpenoides		Reducción de la formación de AGEs

Tabla 5. Vías de señalización de algas pardas (Gabbia y De Martin 2020).

## 2.7 CARACTERISTICAS DE *EGREGIA MENZIESII*

El alga *Egregia menziesii* es un alga parda que se encuentra distribuida en las costas del Pacífico desde Alaska hasta Baja California, México (Sánchez 2021). Esta especie posee un alto contenido de compuestos antioxidantes polifenólicos. Cerca del 1 al 10% del peso de algas marrones corresponden a compuestos polifenólicos. El extracto metanólico de *E.menziesii* equivale a 3.16%. Con respecto a otras especies que ya han sido estudiadas, el extracto metanólico de *E.menziesii* indica un mayor rendimiento y una mayor concentración de polifenoles, debido a esta característica, esta alga representa una opción muy interesantes para ser utilizada como antioxidante (Sánchez 2021).

Los estudios realizados a *E. menziesii* evidencian que el extracto metanólico posee actividad hipoglucemiante, en un modelo de diabetes química en ratón. Además, el tratamiento de células de hepatocarcinoma humano HepG2 con dicho extracto aumenta el transporte de glucosa (Gutiérrez 2020). Por otro lado, el extracto acuoso de *E. Menziesii* tiene baja actividad antioxidante *in vitro*, probado como la capacidad atrapadora de DPPH y una concentración inhibidora media (IC<sub>50</sub>) <1200 ug/ml para inhibir la actividad de las enzimas  $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa (Múzquiz de la Garza y cols 2019). También se ha analizado el efecto que tiene la administración del extracto metanólico de *E. menziesii* en ratones de la cepa CD-1 durante 15 días sobre el desempeño cognitivo de ratones hiperglucémico, donde se evidenció una mejora significativa en la prueba de laberinto de ocho brazos en el grupo que recibió el extracto metanólico en comparación del grupo que no recibió este tratamiento (Sánchez 2021).

La DM aumenta el estrés oxidativo y causa desbalance en el sistema antioxidante, dando como resultado un aumento en la peroxidación lipídica del hipocampo y disminución en la función cognitiva (Pandey y cols. 2015). Por ello, el presente proyecto de investigación tiene



el interés en probar el efecto del extracto metanólico del alga marrón *E. menziesii* en ratones con deterioro cognitivo causado por la hiperglicemia, con la intención de mejorar las capacidades cognitivas y reducir los niveles de estrés oxidativo.

### III. JUSTIFICACIÓN

La DM es una enfermedad con alta prevalencia en todo el mundo, que puede presentar diversas complicaciones derivadas de su característica principal: la hiperglicemia crónica. Estas complicaciones se encuentran íntimamente relacionadas con los niveles elevados de radicales libres, los cuales generan un aumento en los niveles de estrés oxidativo. A nivel de sistema nervioso central, el estrés oxidativo puede generar daño celular y alteración de la función cognitiva, que se traduce en la disminución de niveles de aprendizaje y memoria. Esto se ve reflejado en una calidad de vida deficiente para los pacientes que presentan dichas comorbilidades. Es por eso, la importancia de estudiar y encontrar un nuevo coadyuvante en el tratamiento de la diabetes; ya que este podría disminuir los niveles de estrés oxidativo, mejorando así las múltiples complicaciones que se derivan como resultado de esta enfermedad. El extracto del alga *E. menziesii* ha demostrado tener actividad antioxidante *in vitro*, por lo cual es importante comprobar su efectividad un modelo *in vivo* utilizando ratón CD-1. De acuerdo con los antecedentes, esta alga posee propiedades hipoglucemiantes y mejora la función cognitiva. De mostrar efectos positivos sobre los niveles de estrés oxidativo podría representar una ventana de estudio para identificar las moléculas del extracto que generan estos efectos benéficos y de esta forma mejorar el estilo de vida de las personas que desarrollan estas complicaciones como consecuencia de la DM.

## IV. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

Previamente, en nuestro grupo de trabajo se determinó que: 1) la hiperglucemia causa deterioro cognitivo posiblemente mediado, por el aumento de estrés oxidativo en amígdala, hipocampo y corteza prefrontal; 2) el extracto metanólico de *E. menziesii* disminuye los niveles de glucosa en sangre en ratones hiperglicémicos, pero no en normoglicémicos y 3) tiene capacidad antioxidante *in vitro*. Lo anterior, nos hace formular la siguiente pregunta: ¿Cuál es el efecto del extracto metanólico de *E. menziesii* sobre el daño oxidativo en el hipocampo, la amígdala y la corteza prefrontal de ratones hiperglicémicos con deterioro cognitivo? De tal forma que, si el tratamiento puede controlar los niveles de glucosa y disminuir el estrés oxidativo, podría también mejorar el desempeño de los ratones en la prueba conductual.

## V. HIPÓTESIS

La administración del extracto metanólico del alga *Egregia menziesii* durante quince días disminuye el daño oxidativo en hipocampo, amígdala y corteza prefrontal en ratones CD-1 hiperglicémicos con deterioro cognitivo.

## VI. OBJETIVOS

### 6.1 OBJETIVO GENERAL

- Evaluar el efecto del extracto metanólico del alga *Egregia menziesii* sobre el daño oxidativo en hipocampo, amígdala y corteza prefrontal en ratones hiperglicémicos con deterioro cognitivo.

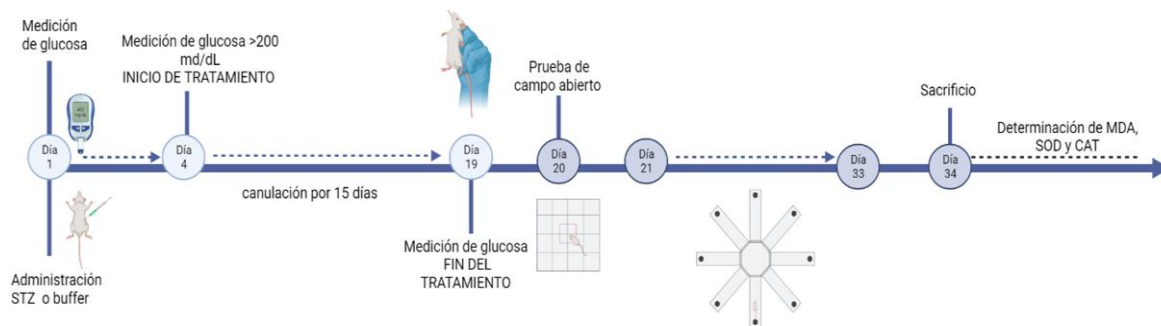
### 6.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar si la administración durante quince días con extracto metanólico de *E. menziesii* afecta los parámetros bioquímicos de glucosa y peso corporal en ratones hiperglicémicos.
- Estudiar los efectos sobre la memoria espacial en respuesta al tratamiento con *E. menziesii*.
- Analizar la actividad antioxidante del extracto metanólico de *E. menziesii* en el hipocampo, corteza prefrontal y amígdala en un modelo de hiperglicemia.

## VII. METODOLOGÍA

### 7.1 MANEJO DE RATONES

Se utilizaron 18 ratones macho de la cepa CD-1, de ocho semanas de edad, de peso corporal entre 25-30 g. Los animales fueron mantenidos por grupos (cuatro en cada jaula) en cajas de policarbonato (19,2 x 39,8 x 18,1cm) en condiciones estándar de luz/oscuridad 12/12 h (encendido de la luz 08:00), temperatura controlada de 25°C, con alimento estándar (pellet para roedores nutricubos marca purina) y agua *ad libitum*. En todo momento los animales fueron manejados bajo las indicaciones de la NOM-062-ZOO-1999 y con la finalidad de causar el mínimo sufrimiento de estos. El diseño experimental se aprecia en la siguiente figura.



**Figura 7.** Diseño experimental. Cada grupo recibió el tratamiento correspondiente (ver 7.2 Manejo y tratamiento de los ratones) durante 15 días y los 15 días posteriores se realizaron las pruebas conductuales. Se realizaron cuatro mediciones de glucosa, en el transcurso del experimento. La primera medición, se llevó a cabo antes de ser administrados con la solución vehículo (buffer de fosfatos) o Estreptozotocina, para mantener un control previo de los niveles glucémicos. La segunda se realizó tres días posteriores a la administración, para verificar los niveles adecuados de glucosa de acuerdo con el grupo correspondiente y empezar la administración del tratamiento correspondiente. Después de 15 días de administración, cuando es el término del tratamiento se realiza la tercera medición. Se inicia la prueba de campo abierto y posteriormente laberinto de ocho brazos. Al finalizar las pruebas conductuales y antes del sacrificio se realiza la medición de glucosa final.

### 7.2 INDUCCIÓN DE HIPERGLICEMIA

La inducción de hiperglucemia se llevó a cabo mediante la administración de una dosis de estreptozotocina (STZ, 100mg/kg, i.p.)(Rebolledo-Solleiro y cols. 2013). Antes de la inducción, se midieron los niveles de glucosa en sangre a través de la punción en la cola de los sujetos, posterior a la administración del fármaco los ratones se dejaron reposar y 72 h después se realizó otra medición (Kang y cols. 2010). Aquellos animales que presentaron

niveles de glucosa plasmática mayores a los 200 mg/dL, se consideraron hiperglicémicos y fueron seleccionados para las pruebas conductuales (Kang y cols. 2010). Además, se utilizó un grupo de ratones normoglicémicos a los cuales se les administró vehículo (solución amortiguadora de citratos), en las mismas condiciones descritas para el fármaco.

Los ratones con hiperglicemia adquirida fueron divididos al azar en grupos de 3 y 4 a los cuales se le administró por vía oral: 1) control negativo, vehículo, agua; 2) extracto metanólico de *Egregia menziesii* 50 mg/kg; 3) control positivo, Metformina 250mg/kg, equivalente a la dosis clínica usada en humanos (Han y cols. 2017). Los ratones normoglicémicos fueron administrados con: 1) vehículo, agua y 2) extracto metanólico de *Egregia menziesii* 50 mg/kg vía oral. Los tratamientos se realizaron por 15 días continuos, en los cuales se midió la concentración de glucosa en la sangre mediante punción en la cola en los días 1 y 15 (Figura 5) (Gutiérrez, 2018).

### 7.3 PRUEBA DE CAMPO ABIERTO

Previo a las evaluaciones cognitivas, los animales se transfirieron a cajas plexiglás con paredes opacas de medidas  $42 \times 32 \times 20$  cm, con el suelo dividido en 12 cuadrados de  $10 \times 10$  cm cada uno. La sesión de campo abierto dura 5 minutos por individuo y se graba, para posteriormente analizar el número de cuadros cruzados, así como la conducta vertical. El primero se considera cuando el ratón cruza la línea del cuadro con sus cuatro patas y el segundo parámetro cuando toma una posición vertical apoyado por sus patas traseras en el piso de la caja (Swiergiel y Dunn 2007).(Figura 8)

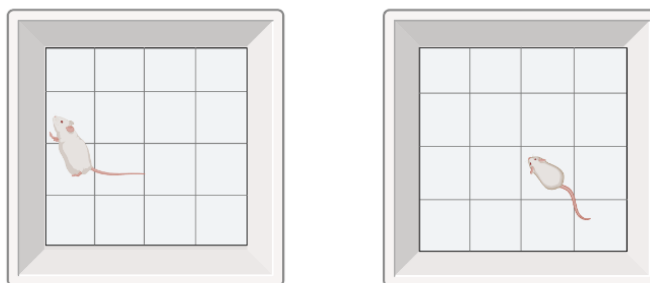


Figura 8. Caja de plexiglás con el suelo dividido en cuadros para la evaluación de parámetros: movimiento vertical y numero de cuadros cruzados.

#### 7.4 LABERINTO DE OCHO BRAZOS

Los individuos inician la prueba con la fase de habituación, con el fin de que exploren (individualmente) el laberinto de ocho brazos. En este periodo se dejaron durante 10 min en el laberinto y se agregaron migajas de galleta en los inicios y extremos de cada brazo para motivar la entrada a estos. Completada esta etapa, se pasó a la fase de adquisición, donde los animales recibieron dos sesiones diarias de prueba durante ocho días consecutivos (con un descanso de 5 min. entre cada una). La última etapa es la de retención, donde se realizó la prueba a las 24 y 72 horas correspondientemente. Los individuos se colocaron en el centro del laberinto y se les permitió moverse libremente hasta que consumieran todos los gránulos de comida o finalizaran los cinco minutos de prueba. Se determinó como la entrada a un brazo, cuando las cuatro patas del animal cruzaron el inicio de este. Se consideró el término de la prueba cuando: 1) el ratón consumió las cuatro recompensas 2) se cumplieron 5 min desde el comienzo de la sesión. Esto nos ayudó a poder evaluar los errores en la memoria de referencia (MR) los cuales se cuentan cuando el ratón entro a los brazos sin alimento, los errores en la memoria de trabajo (MT) cuando los ratones reingresaron a aquellos brazos que ya habían visitado y la latencia en segundos para encontrar todas las recompensas (Figura 9) (Valladolid-Acebes y cols.2011).

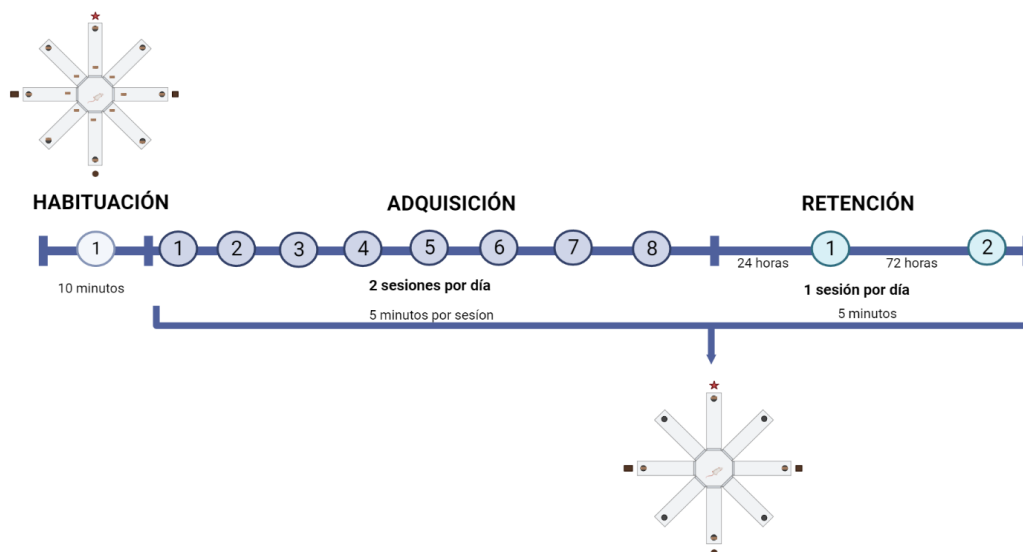


Figura 9. Línea del tiempo que representa la prueba de laberinto de ocho brazos en cada etapa.

## 7.5 OBTENCIÓN DE TEJIDO

Posteriormente de las pruebas conductuales, los ratones fueron eutanizados con una sobredosis de pentobarbital vía intraperitoneal calculada de acuerdo con el peso de cada ratón, y fueron perfundidos por punción cardiaca con solución salina al 0.9%. Inmediatamente después se disecaron diferentes áreas del cerebro, dentro de las cuales se encuentran hipocampo, amígdala y corteza prefrontal, que son el objetivo por estudiar en este trabajo. Los tejidos se almacenaron en un ultra congelador a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su utilización (Del moral. 2021)

## 7.6 OBTENCIÓN DE PROTEÍNAS TOTALES

A cada estructura (contenida en tubos de  $0.6\mu\text{l}$ ) se les agregó una solución que contiene buffer de lisis RIPA 1X e inhibidores de proteasas (leupeptina 2mM, pepstatina 1mM y PMSF 1mM). Seguido de esto, se utilizó la aguja de una jeringa para disgregar el tejido a un menor tamaño, dicho procedimiento se realizó sobre hielo para mantener una temperatura de  $4^{\circ}\text{C}$ . Para conseguir una mejor homogenización del tejido se utilizó un sonicador (Watt Ultrasonic Procesos VC505 SONICS, CT, EE.UU) durante 10 segundos, posteriormente se centrifugó a 14000 rpm durante 15 minutos a  $4^{\circ}\text{C}$ , se recuperó el sobrenadante y se trasladó a tubos previamente etiquetados. Se almacenaron las muestras a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta la determinación de los parámetros oxidativos. La cuantificación de proteína se realizó utilizando el método de Bradford.

## 7.7 DETERMINACIÓN DE LA LIPOPEROXIDACIÓN

Las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) (MP Biomedicals, Illkirch, Francia) se midieron como se describió anteriormente (Navarro-Meza y cols. 2017). Brevemente, se mezclaron cantidades iguales de proteínas totales de cada estructura cerebral ( $1000\mu\text{g}$ ) con  $300\mu\text{l}$  de ácido tiobarbitúrico al 4 % (TBARS, diluido en ácido acético al 20%) y se incubaron durante 60 minutos a  $95^{\circ}\text{C}$ . Posteriormente, las muestras se incubaron en hielo, se agregaron  $200\mu\text{L}$  de KCl al 1.2 % y se centrifugaron a 7000 rpm durante 10 min ( $4^{\circ}\text{C}$ ). A continuación,  $180\mu\text{L}$  de la fase superior se transfirieron a una microplaca y se midieron a  $\lambda = 532\text{ nm}$  en el espectrofotómetro Epoch (Biotek IV-Vis VT, EE. UU), controlado por el software Gen5.

## 7.8 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE CAT

La actividad de CAT se determinó mediante un ensayo colorimétrico utilizando el método de Sinha (1972). Brevemente, a 50  $\mu\text{L}$  del lisado de las proteínas se agregaron: 500  $\mu\text{L}$  de amortiguador de fosfatos 0.01 M (pH 7.0), 2500  $\mu\text{L}$  de peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) 0.2 M, 200  $\mu\text{L}$  de agua. Posteriormente se incubó durante 1 min a  $37^\circ\text{C}$ .

Para detener la reacción se agregó dicromato de potasio en ácido acético 2 M (5% de dicromato de potasio y ácido acético glacial 1:3). Enseguida se incubó la muestra a  $100^\circ\text{C}$  durante 10 min y se dejó enfriar a temperatura ambiente. Finalmente, se colocaron 250  $\mu\text{L}$  de cada muestra en una microplaca estéril de 96 pozos y se cuantificó a una absorbancia de 620 nm en el espectrofotómetro Epoch (Biotek IV-Vis VT, EE. UU), controlado por el software Gen5. Para calcular la actividad de CAT, primero se estableció una curva de calibración con un intervalo de concentración de 0 a 0.075  $\mu\text{mol}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . (Navarro-Meza 2015).

## 7.9 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE SOD

La evaluación de la actividad de SOD se realizó empleando el método descrito por Balasubramanian (2016). Para llevar a cabo la reacción, se adicionaron 100  $\mu\text{L}$  de amortiguador TRIS (hidroximetil) aminometano 10 mM, posteriormente se agregó pirogalol 2 mM (con la finalidad de generar aniones superóxido) y bromuro de 3-(4,5- dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol (MTT) 12 mM. Finalmente se agregaron 10  $\mu\text{g}$  de la muestra. La microplaca se incubó por 10 min y posteriormente el contenido se disolvió con 100  $\mu\text{L}$  de DMSO. Se cuantificó la absorbancia a una longitud de onda de 570 nm, en el espectrofotómetro Epoch (Biotek IV-Vis VT, EE.UU), controlado por el software Gen5.

## 7.10 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los resultados obtenidos se sometieron a un análisis de normalidad mediante la prueba de Shapiro Wilk. Para el análisis de la glucosa y peso corporal , se utilizó la prueba de ANOVA de medidas repetidas. Con respecto a la prueba de campo abierto, los datos se analizaron mediante ANOVA de una vía.

Para los datos obtenidos en la prueba de laberinto de ocho brazos en la fase de adquisición se utilizó el programa JMP, donde las variables de respuesta corresponden al número de



errores en la memoria y la latencia de exploración. Se evaluó mediante un diseño de factores fijos y anidados con un ajuste de modelo lineal generalizados (MLG), esto debido a que la estructura del registro incluye pseudorepeticiones, como el número de sesiones y los ocho días de prueba que implican medidas repetidas de los animales de estudio. Para la parte de retención se aplicó la prueba de ANOVA de una vía.

Posteriormente, las diferencias en el efecto del extracto sobre los parámetros de MDA y enzimas antioxidantes fueron comparados utilizando un ANOVA de una vía donde la variable categórica (factor) fue la administración con extracto metanólico de *Egregia menziesii*. Se analizaron diferencias entre grupos mediante pruebas *post hoc*.

Los datos que se graficaron fueron el Error Estándar de la Media (SEM por sus siglas en inglés) en el programa Graph Pad Prims versión 8.

## VIII. RESULTADOS

### 8.1 EFECTO DEL EXTRACTO METANÓLICO DE *E.MENZIESII* SOBRE LOS NIVELES DE GLUCOSA EN SANGRE EN RATONES DIABÉTICOS INDUCIDOS POR STZ.

Antes del inicio del tratamiento, el nivel de glucosa sanguínea es similar en todos los grupos experimentales. El tratamiento con STZ aumentó los niveles de glucosa sanguínea en los ratones en comparación con los grupos CTL/AGUA Y CTL/ALGA. No hubo diferencias en los niveles de glucosa entre los grupos de diabéticos inducidos por STZ. Los grupos CTL no muestra alteraciones en el nivel de glucosa sanguínea durante el periodo experimental (Figura 10).

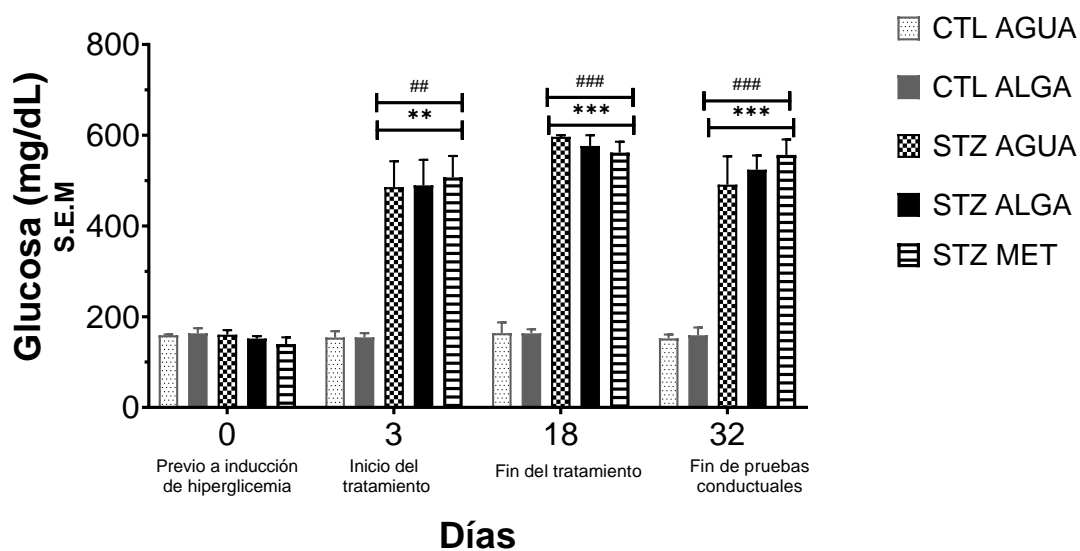


Figura 10. Niveles glucémicos sanguíneos en ratones macho de la cepa CD-1 con diferentes tratamientos. Control con agua simple (CTL AGUA), control con extracto de alga (CTL ALGA), hiperglicémico con agua simple (STZ AGUA), hiperglicémico con extracto de alga (STZ ALGA), hiperglicémico con metformina (STZ MET). En cuatro medidas realizadas: día 0 (cuando los ratones tienen ocho semanas de edad), día 3 (después de la administración de STZ se dejaron transcurrir tres días y se inició el tratamiento), día 18 (final del tratamiento) y día 32 (antes del sacrificio). Datos presentados como S.E.M.  $P < 0.05$ . \*\*,\*\*\* CTL AGUA vs STZ AGUA, STZ ALGA Y STZ MET. ##, ### CTL ALGA vs STZ AGUA, STZ ALGA Y STZ MET.  $n = 3-4$ . ANOVA. Post hoc de Tukey.

## 8.2 EFECTO DEL EXTRACTO METANÓLICO DE *E. MENZIESII* SOBRE EL PESO CORPORAL DE RATONES DIABÉTICOS INDUCIDOS POR STZ.

Al inicio del experimento el peso corporal es similar entre todos los grupos. Para el final del experimento el peso disminuyó en los grupos STZ AGUA, STZ ALGA Y STZ MET en comparación al grupo CTL AGUA. No hubo diferencias en los niveles de peso corporal entre los grupos de diabéticos inducidos por STZ. Los grupos controles no muestran alteraciones en el nivel de peso corporal durante el periodo experimental.

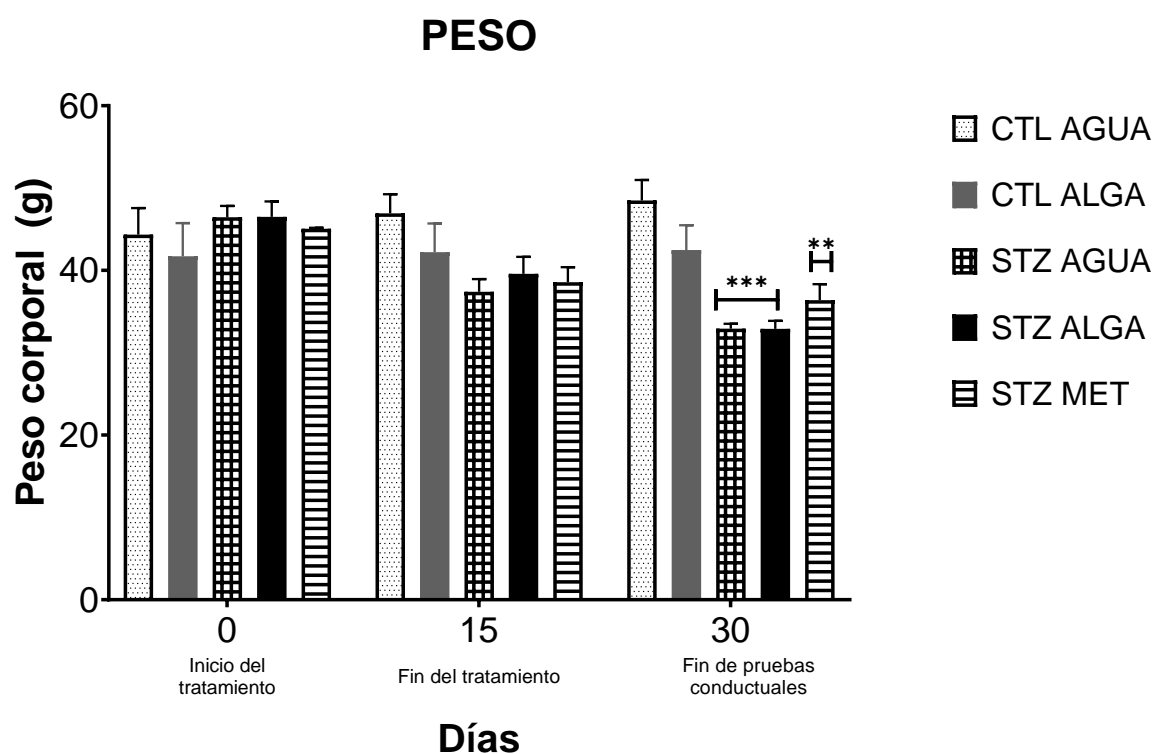


Figura 11. Peso corporal de ratones machos de la cepa CD-1 al recibir diferentes tratamientos. Datos presentados como S.E.M. Control con agua simple (CTL AGUA), control con extracto de alga (CTL ALGA), hiperglicémico con agua simple (STZ AGUA), hiperglicémico con extracto de alga (STZ ALGA), hiperglicémico con metformina (STZ MET). Datos presentados como S.E.M.  $P < 0.05$ . \*\*, \*\*\* CTL AGUA vs STZ AGUA, STZ ALGA Y STZ MET  $n = 3-4$ . ANOVA.

### 8.3 EFECTO DEL EXTRACTO METANÓLICO DE *E. MENZIESII* SOBRE LA ACTIVIDAD LOCOMOTORA.

En la figura 12 A se puede observar que la STZ y el extracto metanólico no modificaron la actividad locomotora en la prueba de campo abierto comparado contra los grupos controles. Resultados similares se puede observar en la locomoción evaluado con el número de movimientos verticales (figura 12 B).

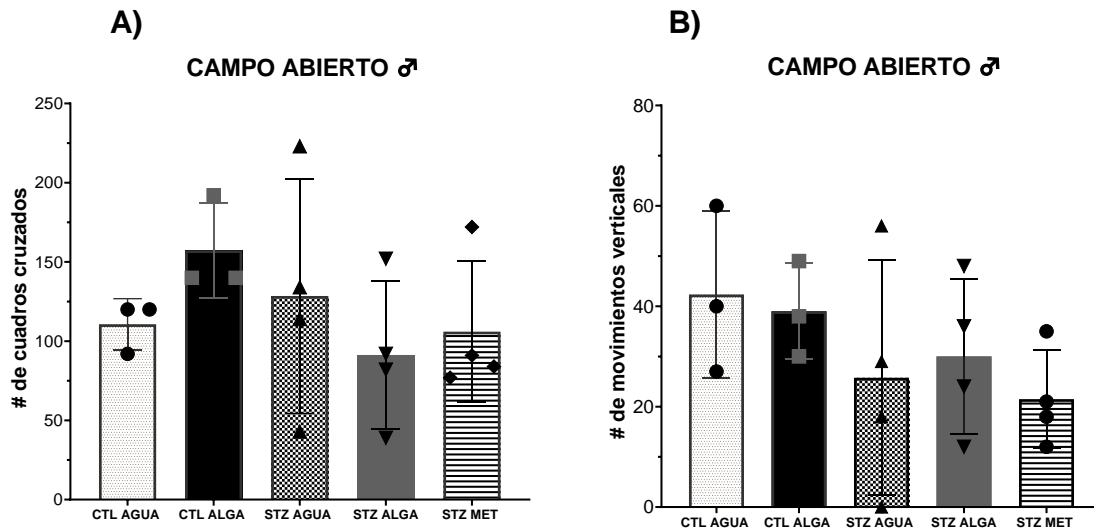


Figura 12. (A) Número de cuadros cruzados en prueba de campo abierto. (B) Número de movimientos verticales en ratones macho de la cepa CD-1 al recibir diferentes tratamientos. Control con agua simple (CTL AGUA), control con extracto de alga (CTL ALGA), hiperglicémico con agua simple (STZ AGUA), hiperglicémico con extracto de alga (STZ ALGA), hiperglicémico con metformina (STZ MET). Datos presentados como S.E.M.  $P < 0.05$ .  $n = 3-4$ . ANOVA.

#### 8.4 EFECTOS DEL EXTRACTO METANÓLICO DE *E. MENZIESII* SOBRE LA MEMORIA DE TRABAJO EVALUADA MEDIANTE EL LABERINTO DE OCHO BRAZOS EN LA ETAPA DE ADQUISICIÓN.

El extracto metanólico de *E. menziesii* no aumentó el número de errores en la memoria de trabajo, por el contrario, disminuyó el número de dichos errores ( $P < 0.05$ ) en los ratones diabéticos (STZ ALGA) en comparación al grupo diabético no tratado (CTL AGUA) (Figura 13 A). En la gráfica que representa los días por grupo, el número de errores en la memoria de trabajo no fue afectada a lo largo de ocho días entre los grupos (Figura 13 B).

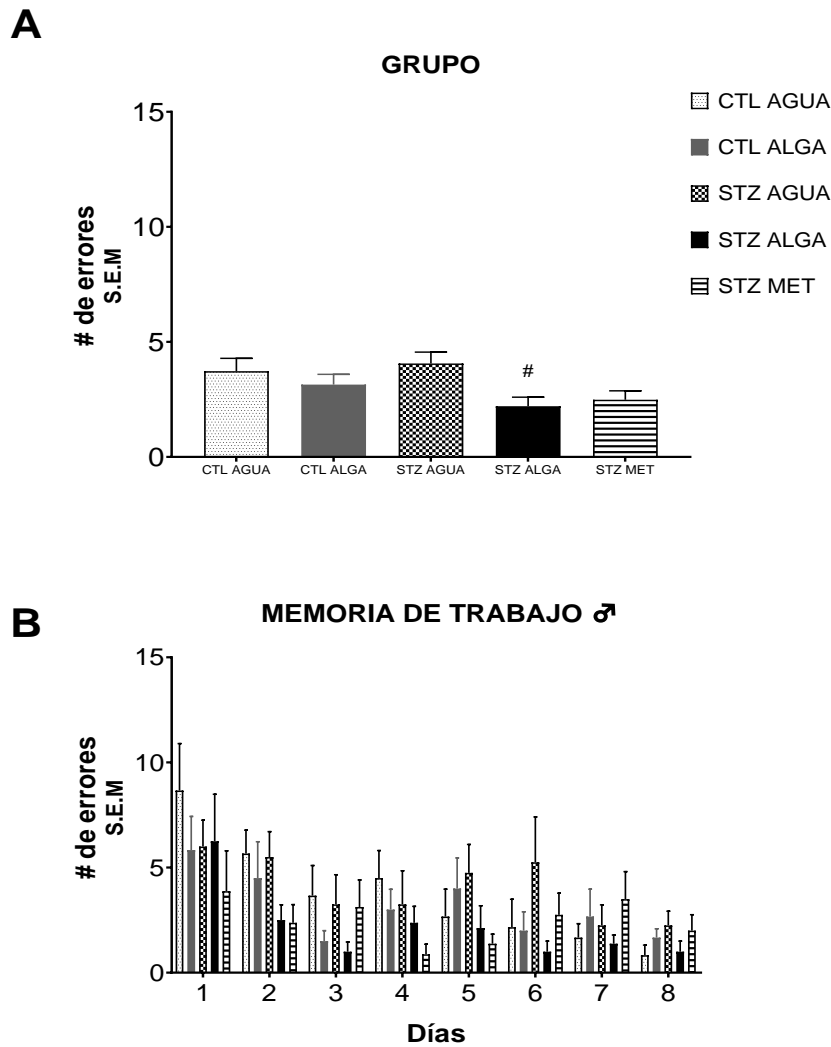


Figura 13. (A) Número de errores de memoria de trabajo representada por grupos. # $p < 0.05$  vs. STZ AGUA. (B) Número de errores de memoria de trabajo por día. Ratones de la cepa CD-1 con diferentes tratamientos. Datos presentados como S.E.M.  $P < 0.05$ .  $n = 3-4$ . MLG. Modelo de factores fijos y anidados. Post hoc de Tukey

## 8.5 EFECTO DEL EXTRACTO METANÓLICO DE *E.MENZIESII* SOBRE LA MEMORIA DE REFERENCIA EVALUADA MEDIANTE EL LABERINTO DE OCHO BRAZOS EN LA ETAPA DE ADQUISICIÓN.

El extracto metanólico no tuvo efecto sobre el número de errores en la memoria de referencia (STZ ALGA) comparados con los controles (CTL AGUA y CTL ALGA) y los grupos diabéticos (STZ AGUA y STZ MET) (Figura 14 A, B)

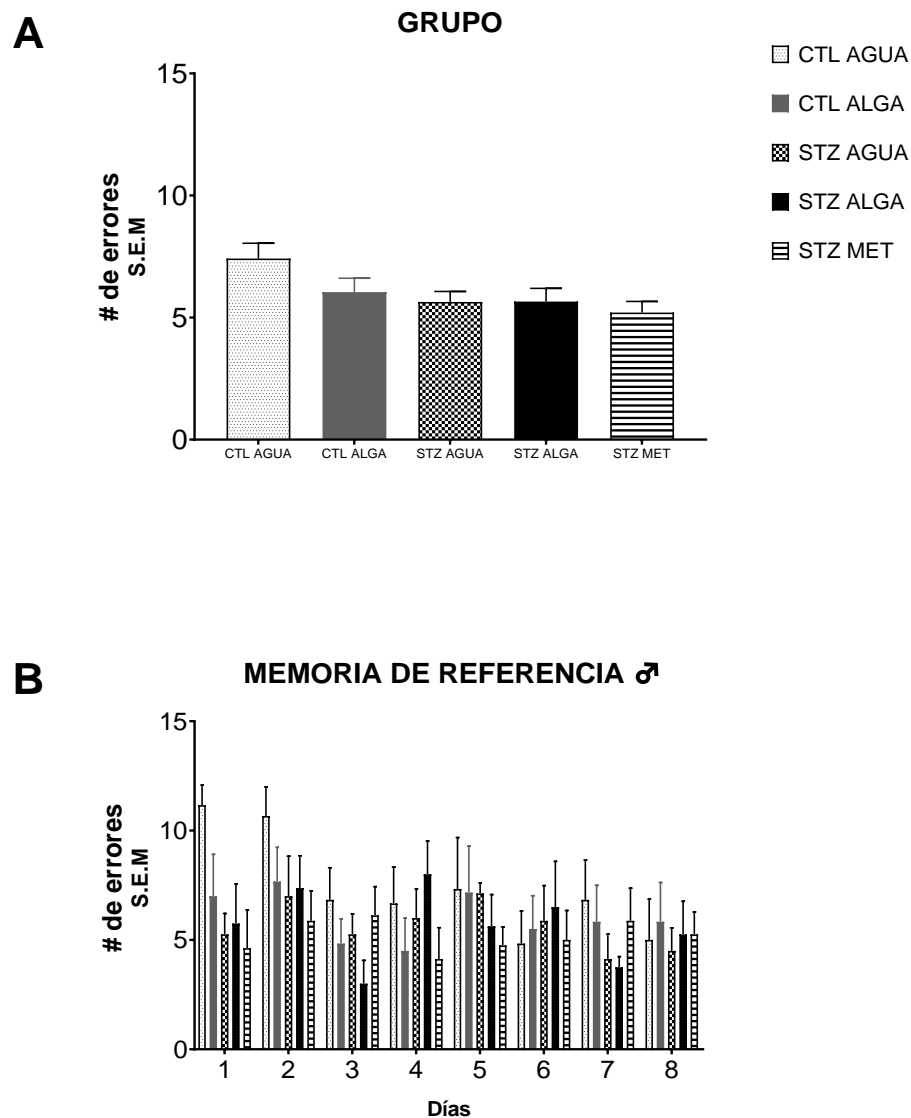


Figura 14. (A) Número de errores de memoria de referencia representada por grupos. \*p <0.05 vs. STZ AGUA. (B) Número de errores de memoria de referencia por día. R ratones de la cepa CD-1 con diferentes tratamientos. Datos presentados como S.E.M. P < 0.05. n= 3-4. MLG. Modelo de factores fijos y anidados. Post hoc de Tukey

## 8.6 EFECTO DEL EXTRACTO METANÓLICO DE *E.MENZIESII* SOBRE EL PARÁMETRO DE LATENCIA EVALUADA MEDIANTE EL LABERINTO DE OCHO BRAZOS EN LA ETAPA DE ADQUISICIÓN.

El extracto metanólico de *E.menziesii* (STZ ALGA) y la metformina (STZ MET) disminuyeron significativamente ( $P < 0.05$ ) la latencia para terminar la prueba de laberinto de ocho brazos en ratones diabéticos comparado con el grupo CTL AGUA y STZ AGUA (Figura 15 A). Los ratones STZ ALGA y STZ MET presentan una disminución significativa en la latencia para terminar la prueba de laberinto de ocho brazos ( $P < 0.05$ ) en el día ocho comparado al día uno y al grupo control (CTL AGUA) (Figura 15 B).

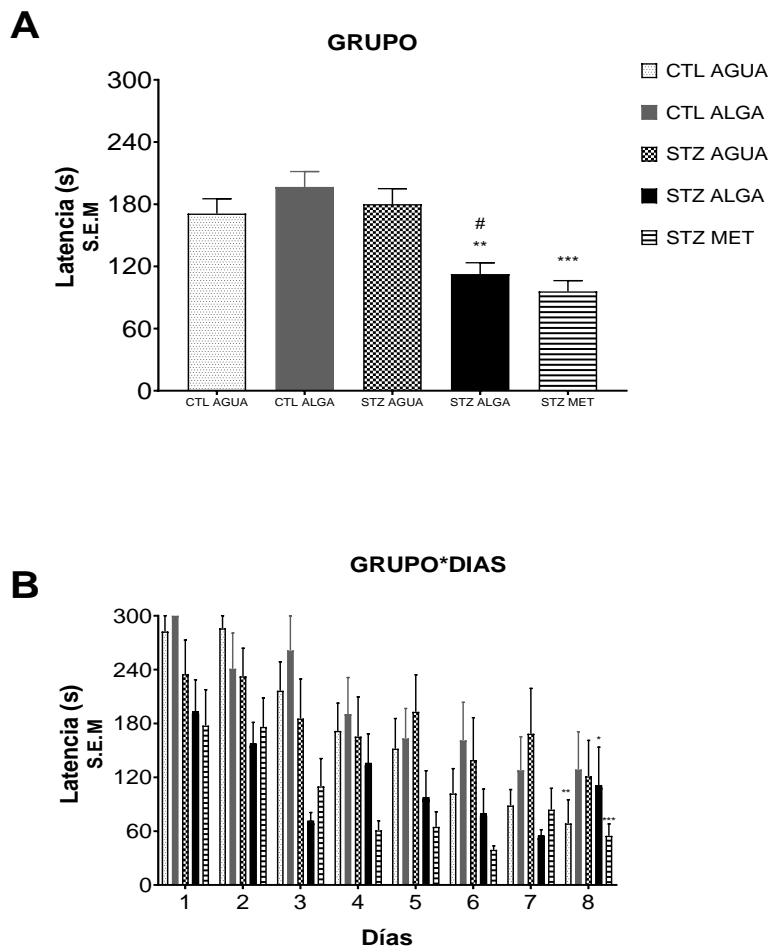


Figura 15. (A) Latencia en terminar la prueba de laberinto de ocho brazos representada por grupos. \*\* $p < 0.01$  vs. CTL AGUA, \*\*\*  $p < 0.001$  vs. CTL AGUA, #  $p < 0.05$  vs STZ AGUA (B) Latencia de los grupos por día. \* $p < 0.05$  vs. DIA 1- CTL AGUA, \*\*\*  $p < 0.001$  vs. DIA 1-CTL AGUA, ##  $p < 0.01$  vs CTL AGUA en ratones de la cepa CD-1 con diferentes tratamientos. Datos presentados como S.E.M.  $P < 0.05$ .  $n = 3-4$ . MLG. Modelo de factores fijos y anidados. Post hoc de Tukey.

### 8.7 EFECTO DEL EXTRACTO METANÓLICO DE *E.MENZIESII* SOBRE LA LATENCIA EVALUADA MEDIANTE EL LABERINTO DE OCHO BRAZOS EN LA ETAPA DE RETENCIÓN.

El extracto metanólico de *E. menziesii*, la STZ y la metformina en los grupos hiperglicémicos (STZ ALAGA, STZ AGUA y STZ MET) no tuvo efecto sobre la latencia para terminar la prueba del laberinto de ocho brazos en la etapa de retención que consta de las sesiones de 24 y 72 horas comparados al grupo control normal (CTL AGUA) (figura 16).

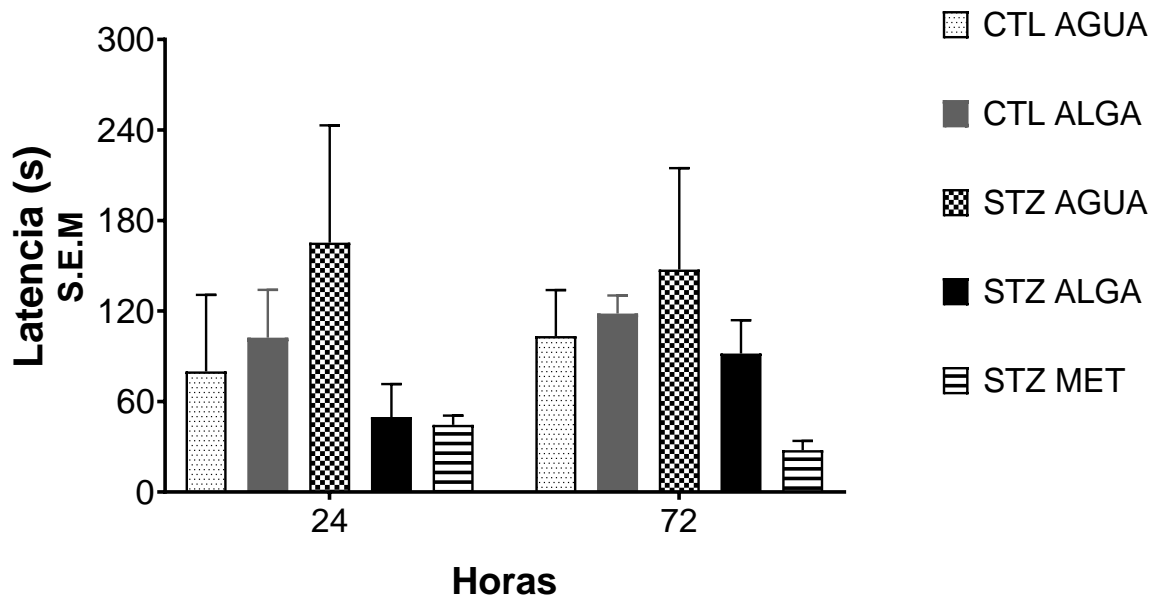


Figura 16. Latencia para terminar la prueba de laberinto de ocho brazos en etapa de retención representada por sesión. Ratones de la cepa CD-1 con diferentes tratamientos. Datos presentados como S.E.M.  $P < 0.05$ .  $n = 3-4$ . ANOVA.



### 8.8 EFECTO DEL EXTRACTO METANÓLICO DE *E.MENZIESII* SOBRE LA MEMORIA DE TRABAJO EVALUADA MEDIANTE EL LABERINTO DE OCHO BRAZOS EN LA ETAPA DE RETENCIÓN.

El extracto metanólico de *E. menziesii*, la STZ y la metformina en los grupos hiperglicémicos (STZ ALAGA, STZ AGUA y STZ MET) no tuvo efecto sobre los errores en la memoria de trabajo en la etapa de retención que consta de las sesiones de 24 y 72 horas comparados contra el control normal (CTL AGUA)(Figura 17).

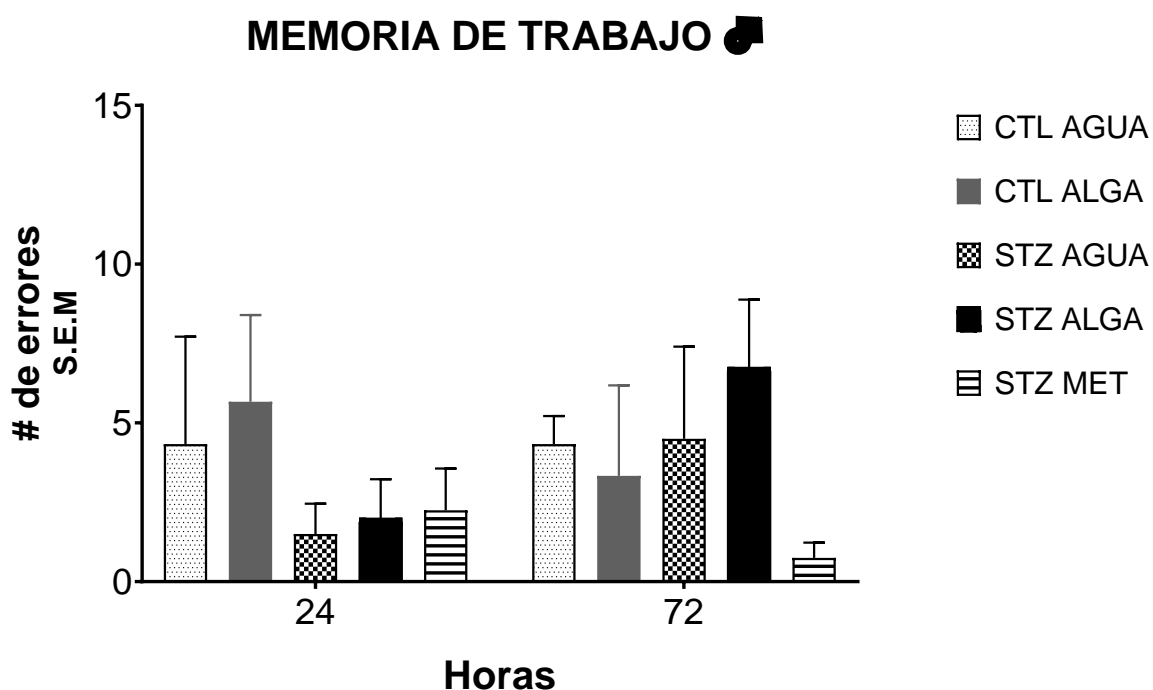


Figura 17. Número de errores de la memoria de trabajo en etapa de retención representada por sesión. Ratones de la cepa CD-1 con diferentes tratamientos. Datos presentados como S.E.M. < 0.05. n= 3-4. ANOVA.

### 8.9 EFECTOS DEL EXTRACTO METANÓLICO DE *E.MENZIESII* SOBRE LA MEMORIA DE REFERENCIA EVALUADA MEDIANTE EL LABERINTO DE OCHO BRAZOS EN LA ETAPA DE RETENCIÓN.

El extracto metanólico de *E. menziesii*, la STZ y la metformina en los grupos hiperglicémicos (STZ ALAGA, STZ AGUA y STZ MET) no tuvo efecto sobre los errores en la memoria de referencia en la etapa de retención que consta de las sesiones de 24 y 72 horas comparados contra el control normal (CTL AGUA) (Figura 18).

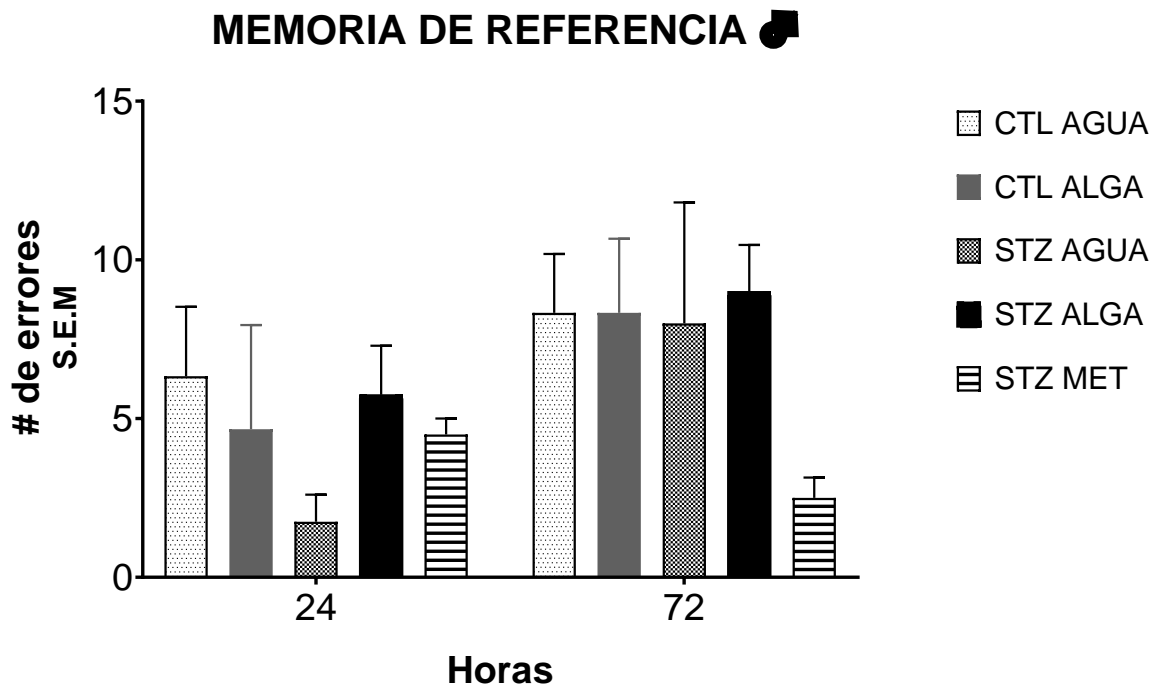


Figura 18. Número de errores de la memoria de referencia en la etapa de retención representada por sesión. Ratones de la cepa CD-1 con diferentes tratamientos. Datos presentados como S.E.M. < 0.05. n= 3-4. ANOVA.

## 8.10 EFECTO DEL EXTRACTO METANÓLICO DE *E.MENZIESII* SOBRE LOS NIVELES DE MDA EN HIPOCAMPO, CORTEZA PREFRONTAL Y AMÍGDALA.

El extracto metanólico de *E. menziesii*, el tratamiento con STZ y la Metformina no afectó el estrés oxidativo (MDA) en el hipocampo, corteza prefrontal y amígdala entre los grupos (Figura 19).

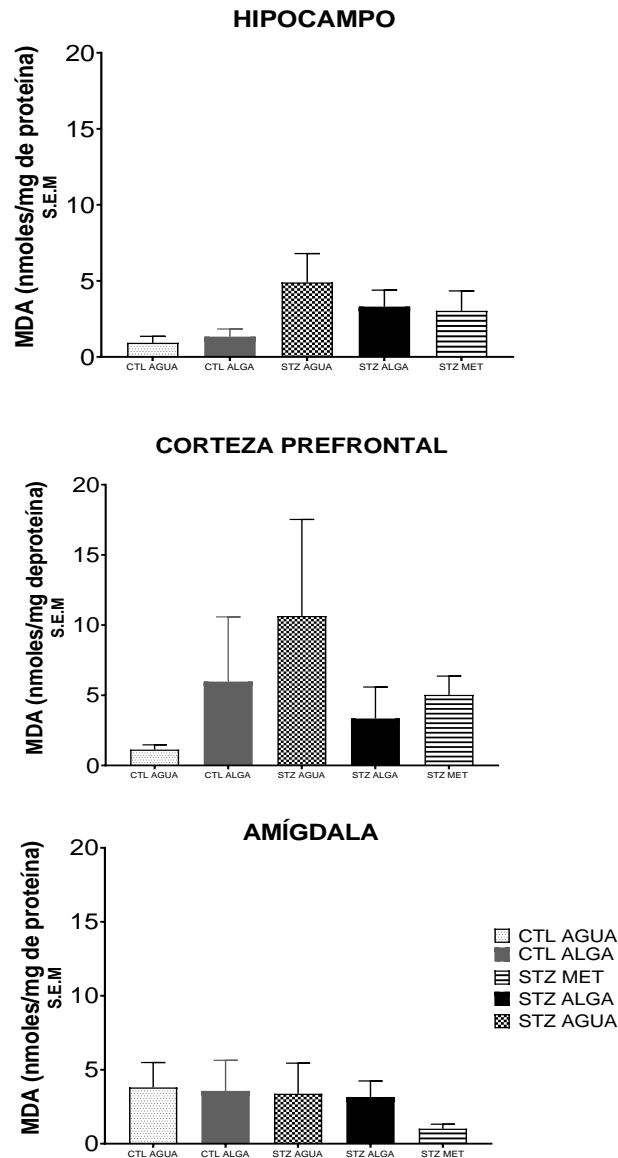


Figura 19. Niveles de MDA en hipocampo, corteza prefrontal y amígdala. Resultados expresados en Nanomoles por mg de proteína. Datos presentados como S.E.M.  $P < 0.05$ .  $n = 3-4$ . ANOVA

### 8.11 EFECTO DEL EXTRACTO METANÓLICO DE *E.MENZIESII* SOBRE LOS NIVELES DE CATALASA EN HIPOCAMPO, AMÍGDALA Y CORTEZA PREFRONTAL.

La actividad de catalasa en el hipocampo fue similar entre los grupos CTL AGUA y CTL ALGA. El grupo STZ MET, disminuyó significativamente la actividad de catalasa en el hipocampo comparado con los grupos CTL AGUA ( $P < 0.05$ ) y STZ ALGA ( $P < 0.01$ ) (Figura 18). En el área de corteza prefrontal la actividad de la catalasa fue similar entre los grupos CTL AGUA, CTL ALGA y STZ ALGA. Sin embargo, la actividad de catalasa disminuyó en los grupos de STZ AGUA y STZ MET en comparación al grupo CTL AGUA (Figura 18,  $P < 0.05$ ). La actividad de la catalasa fue similar entre los grupos (Figura 20).

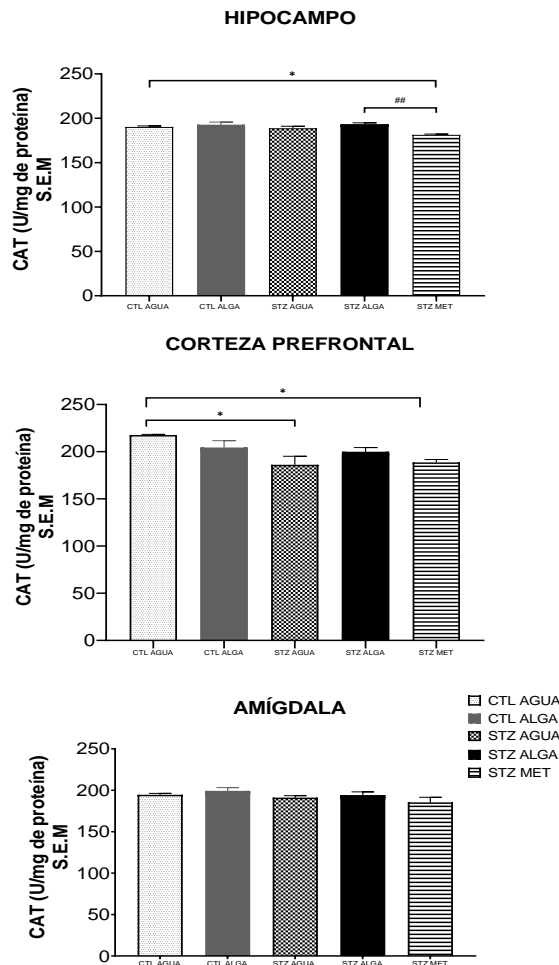


Figura 20. Niveles de CAT en hipocampo, corteza prefrontal y amígdala. \* $p < 0.05$  vs CTL AGUA, ##  $p < 0.01$  vs STZ ALGA. Resultados expresados en Unidades de actividad enzimática por miligramo de proteína. S.E.M.  $P < 0.05$ .  $n = 3-4$ . ANOVA. Post hoc de Tukey

## 8.12 EFECTO DEL EXTRACTO METANÓLICO DE *E.MENZIESII* SOBRE LOS NIVELES DE SOD EN HIPOCAMPO, AMÍGDALA Y CORTEZA PREFRONTAL.

En el hipocampo la actividad de SOD fue similar entre los grupos CTL AGUA y CTL ALGA. Sin embargo el extracto metanólico de *E. menziesii* aumentó la actividad de SOD en el grupo de STZ ALGA comparado con el grupo STZ MET y STZ AGUA ( $P < 0.05$ ). En la corteza prefrontal, la actividad de SOD fue similar entre grupos. En la amígdala la actividad de SOD disminuyó en los grupos STZ AGUA ( $P < 0.05$ ) STZ ALGA y STZ MET ( $P < 0.01$ ) en comparación al grupo CTL AGUA (Figura 21).

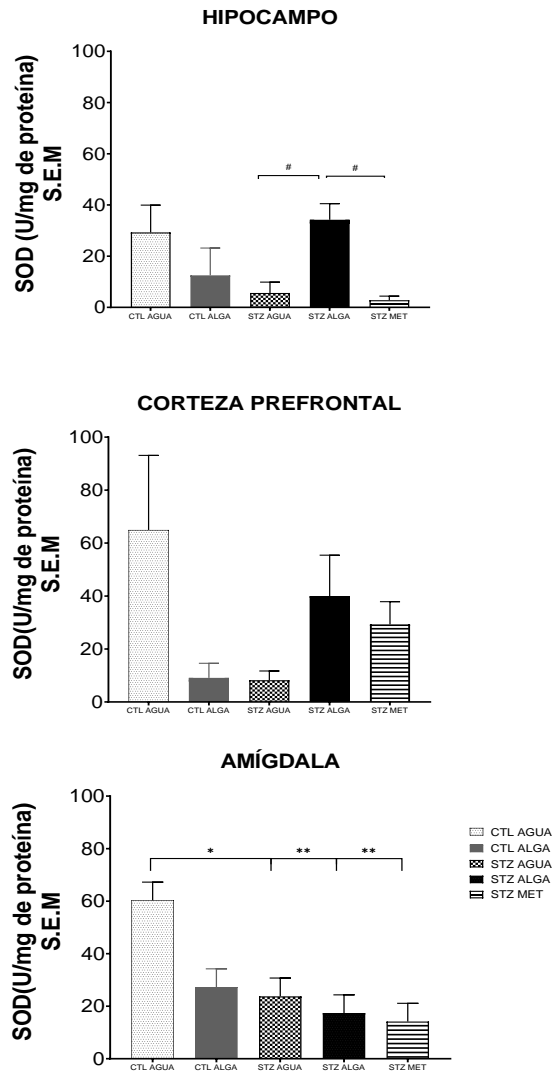


Figura 21. Niveles de SOD en hipocampo, corteza prefrontal y amígdala. #  $p < 0.05$  vs STZ ALGA, \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  vs CTL AGUA. Resultados expresados en Unidades de actividad enzimática por miligramo de proteína. Datos presentados como S.E.M.  $P < 0.05$ .  $n = 3-4$ . ANOVA. Post hoc de Tukey.

## IX. DISCUSIÓN

La diabetes se caracteriza por un estado de hiperglicemia, el cual se ha señalado como un factor importante para el aumento de estrés oxidativo, a través del incremento de los radicales libres o por una disminución en los sistemas antioxidantes (Papachristoforou y cols. 2020). El estrés oxidativo ha sido señalado como posible agente causal para las complicaciones diabéticas, dentro de las cuales se encuentra la disfunción cognitiva. El cerebro, se ha identificado como un órgano altamente susceptible al daño por las ROS, debido a su alto consumo de oxígeno y alto contenido de lípidos (Muriach y cols. 2014).

En el presente trabajo, los ratones administrados con STZ presentaron niveles elevados de glucosa, como se reporta actualmente en la literatura (Mousavi y cols. 2015; Njan y cols. 2020). El grupo experimental STZ-Alga, no evidenció mejoría con respecto a los niveles de glucosa. Esto difiere de lo observado en ratas con DM1 y que recibieron como tratamiento extracto metanólico del alga marrón *Ecklonia cava*, donde los niveles de glucosa disminuyeron considerablemente en comparación con su control negativo (Kang y cols. 2010). Esta discrepancia podría deberse a las variaciones que existe entre trabajos, dentro de las cuales se encuentran la dosis de STZ, la duración del tratamiento y la administración del mismo. Además, es importante recalcar que en dicho trabajo se carece de un grupo control positivo, por lo cual no se puede evidenciar por completo la eficacia de *E. cava* (Kang y cols. 2010). De la misma forma, algunos estudios que utilizan extractos naturales como tratamiento, no mostraron una mejora con respecto a los niveles de glucosa al término del experimento (Mousavi y cols. 2015; Njan y cols. 2020).

Por otro lado, los ratones hiperglicémicos tratados con metformina no mostraron una mejoría en los niveles elevados de glucosa a lo largo del tratamiento, esto coincide con los resultados obtenidos por Oliveira y cols. (2016), donde reportaron que en ratones hiperglicémicos tratados con metformina a diferentes dosis no disminuyeron los niveles de glucosa. Los autores sugieren que la falta de insulina esté relacionada a la muerte de las células  $\beta$  del páncreas. La administración de STZ se encuentra relacionada con la disminución de peso (Gao y cols. 2018; Rahmati y cols. 2021), por lo que nuestros resultados concuerdan con los estudios actuales. Esta variable en futuros trabajos podría estudiarse más a fondo, ya que la disminución en el peso corporal representa un gran beneficio para la relación tan estrecha

que mantiene la diabetes con la obesidad, siendo esta última causante de muchas complicaciones subyacentes (Gutiérrez 2020).

Es probable que la condición de hiperglicemia crónica afecte la actividad locomotora (Gao y cols. 2018). Por lo cual, la prueba de campo abierto es de gran relevancia para esclarecer la actividad locomotora de los sujetos de experimentación antes de su exposición a otros laberintos que evalúan el comportamiento. Al examinar el efecto de diversos tratamientos, la actividad ambulatoria del ratón es importante. Si dicha capacidad locomotora se ve afectada como resultado del tratamiento, entonces podría surgir una confusión en las actividades posteriores que dependen de las capacidades del sujeto para moverse (Seibenhener y Wooten, 2015). Esto concuerda con los resultados de Gao, y cols. (2018) donde los animales que recibieron STZ mostraron una disminución en la locomoción en comparación con el control normoglicémico. En nuestros resultados en la prueba de campo abierto no se encontraron diferencias entre los grupos normoglicémicos e hiperglicémicos, lo cual nos indica que las posibles diferencias que encontraríamos en la prueba de laberinto de ocho brazos no estarían relacionadas con un déficit en la capacidad locomotora.

En este trabajo se utilizó el laberinto radial de ocho brazos para evaluar aprendizaje y memoria espacial. A través de la privación de comida, el animal recolecta alimento en brazos cebados alternadamente, con la finalidad de obtener comida en el menor tiempo posible, así como número de errores. Se consideraron errores de memoria de trabajo (WME, por sus siglas en inglés) el reingreso a un brazo previamente cebado y las entradas a brazos no cebados se denominaron errores de memoria de referencia (RME, por sus siglas en inglés) espacial (Sharma y cols. 2010). Respecto a la etapa de adquisición el grupo STZ alga mejoró el tiempo para terminar la prueba comparado al grupo STZ agua. Ocurre algo similar con el número de WME donde el grupo de interés disminuye los errores comparados con el grupo STZ agua. Con respecto a los RME no hay diferencia entre los grupos y tiende a existir mayor número de estos en comparación con los WME. Esto coincide con estudios donde después de la administración de tratamientos los RME son superiores a los WME (Sahak y cols. 2013; Inoue y cols. 2019). Se sugiere que el aumento en este tipo de errores se debe a que los animales tienden a entrar al brazo adyacente y no al brazo cebado, por lo tanto no desarrollan estrategias de respuesta (Seo y cols. 2000). Los mecanismos por lo que este fenómeno ocurre

aún se desconocen y los estudios realizados en este ámbito no mencionan nada con respecto a esto. Por lo que es necesario realizar otros estudios sobre el análisis de estos errores y su relación con la hiperglicemia.

Con respecto a la parte de retención, la prueba de laberinto de ocho brazos no muestra una mejora en ninguno de los parámetros evaluados. Se ha señalado que el hipocampo se encarga de regular procesos como procesamiento de memoria espacial y episódica que son utilizados por la corteza prefrontal en tareas de memoria de trabajo espacial. Además de las interacciones anatómicas directas e indirectas de dichas áreas. El daño en hipocampo o corteza prefrontal afecta la correcta ejecución de tareas de alternancia diferida dentro de las cuales se encuentra el laberinto radial de ocho brazos (Yoon y cols. 2008).

Un nivel elevado de glucosa favorece la generación de radicales libres mediante la fosforilación oxidativa y la generación de productos finales de glicación avanzada. Por otra parte, el sistema de defensa antioxidante es insuficiente para regular la generación de ROS , lo que provoca una desregulación entre este sistema y el aumento de ROS (Ceretta y cols. 2012).El aumento de estrés oxidativo genera la peroxidación de lípidos, esto da como resultado el aumento de MDA, que es un parámetro representativo para evaluar el daño que provoca dicho estrés (Njan y cols. 2020). Estudios previos han demostrado que la inducción química con STZ genera niveles elevados de MDA en animales hiperglicémicos no tratados,(Zhong-he Liu y cols. 2015; Mousavi y cols. 2015; Njan y cols. 2020; Rahmati y cols. 2021) por lo que nuestro trabajo coincide con estos resultados, ya que se observa una tendencia al aumento en dichos animales. Además, los niveles de MDA disminuyeron en el grupo hiperglicémico administrado con alga tanto en las áreas de hipocampo como en la corteza prefrontal, y aunque no se aprecia una diferencia significativa, si muestran una tendencia a la reducción enfrentado contra los hiperglicémicos administrados con agua. Con respecto a estos resultados, se sugiere que la administración de un tratamiento más prolongado, como lo reportan( Sahak y cols. 2013; (Mousavi y cols. 2015; (Njan y cols. 2020; Rahmati y cols. 2021) sí muestre disminución significativa favorable a la administración de un extracto natural. Es de importancia recalcar que en la actualidad no existen suficientes estudios que analicen la afectación con respecto al parámetro de lipoperoxidación en la



corteza prefrontal y amígdala y la relación con el desempeño cognitivo como consecuencia de la hiperglicemia.

Fisiológicamente, los antioxidantes enzimáticos como SOD y CAT regulan las ROS mediante la absorción de prooxidantes en el organismo. Condiciones como la hiperglicemia conducen a una disminución gradual de estas enzimas, lo cual genera una desregulación en el sistema antioxidante (Njan y cols. 2020).

Con respecto a los resultados de CAT en hipocampo, no hay diferencias entre grupos hiperglicémicos enfrentados al control, sin embargo, el grupo hiperglicémico tratado con el alga demostró un aumento comparado con la metformina. Por otra parte, en el área de corteza prefrontal los grupos hiperglicémicos que recibieron agua y metformina enfrentados al control normal mostraron una disminución significativa. Los resultados obtenidos en este trabajo concuerdan con los estudios actuales, donde los grupos hiperglicémicos no tratados disminuyen la actividad de esta enzima (Zhong-he Liu y cols. 2015; Mousavi y cols. 2015; Njan y cols. 2020; Rahmati y cols. 2021). Además estos resultados, nos estaría indicando que el efecto que tiene el extracto de *E.menziesii* sobre CAT tiene una tendencia a mejorarla, ya que se muestra superior comparado al grupo que recibió metformina.

El grupo administrado con *E.menziesii* muestra una notable mejora en la actividad de SOD en el área de hipocampo en comparación de los grupos hiperglicémicos con otros tratamientos. En corteza prefrontal no se observa la disminución significativa entre grupos controles ni hiperglicémicos, aunque se aprecia una tendencia a mejorar la actividad de esta enzima en el grupo experimental de interés. Por parte de la amígdala, los grupos hiperglicémicos mostraron una disminución significativa comparados al grupo control.

El hipocampo es una estructura fundamental para el proceso de adquisición, consolidación y recuperación de los recuerdos. Además, juega un papel primordial en la formación de la memoria espacial. Las lesiones en el hipocampo se relacionan con anomalías en la formación de recuerdos. En esta estructura se lleva a cabo la neurogénesis, que es altamente susceptible a los cambios en el microambiente, lo que conlleva a una reducción en la producción de nuevas neuronas (Huang y cols. 2015). En relación con el proceso de aprendizaje, la corteza prefrontal regula el procesamiento de recuerdos remotos, asociaciones entre contextos y almacenamiento a largo plazo. Además, áreas corticales adyacentes, también se relacionan

con la memoria asociativa a largo plazo (Sheynikhovich y cols. 2023). Las interacciones que existen entre ambas áreas generan una ejecución correcta de las funciones cognitivas, incluyendo también a la amígdala basolateral (Flores-Gómez y cols.2019).

De acuerdo con lo anteriormente descrito y relacionando nuestros resultados de las pruebas cognitivas con los del estrés oxidativo, podríamos atribuir un mayor daño en la corteza prefrontal que en el hipocampo, debido al deficiente desempeño del grupo hiperglicémico administrado con alga en la parte de retención en la prueba de laberinto de ocho brazos. Sin embargo, el hipocampo muestra una mejora importante en los parámetros oxidativos evaluados, por lo cual, en la parte de adquisición se nota una mejora. Hasta el momento se carecen de estudios que debatan los resultados de la parte bioquímica y las pruebas cognitivas, por eso la importancia de profundizar en este tipo de trabajos. Aunque el estrés oxidativo es uno de los agentes causales más señalados para el daño cognitivo, los mecanismos por lo cual sucede dicho daño son controversiales, ya que también se ha señalado a la inflamación, la apoptosis, disfunción en neurotransmisores, disminución de factores neurotróficos entre otros, los cuales pueden generar neurodegeneración. Aunado a esto, algunos estudios que utilizan modelos animales de DM utilizando STZ han demostrado una reducción de BDNF en hipocampo (Flores-Gómez y cols. 2019).La unión del elemento de respuesta cAMP (CREB) conforma y es parte de los genes del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF). La activación de CREB y BDNF son fundamentales para la plasticidad neuronal y la potenciación a largo plazo (Ahmed y cols. 2019).

*Egregia menziesii* es un alga parda poco estudiada por lo que aún se desconocen los metabolitos que podrían estar participando en actividades biológicas, así como los mecanismos de acción que pudieran estar llevándose a cabo. Sin embargo, de acuerdo con ciertos trabajos realizados con algas pardas, esta clase se caracteriza por poseer altos niveles de polifenoles. Gutiérrez. (2020) reporta que el extracto metanólico de *E. menziesii* ha mostrado un rendimiento superior al extracto clorofórmico y hexánico. Este aumento en el rendimiento se relaciona con una mayor polaridad y un mayor número de compuestos solubles en él, lo cual nos estaría indicando que existe gran posibilidad de que albergue diversos metabolitos con actividad antioxidante. En relación a esto, el extracto metanólico de *Egregia menziesii* posee un 3.16% de porcentaje total de polifenoles con respecto al

extracto clorofórmico con 1.25%. Comparadas con otras especies, esta alga posee un alto contenido de polifenoles totales, principalmente el extracto metanólico. Dentro de estos polifenoles se encuentran catequinas, flavonoles y principalmente florotaninos. El extracto de *Ecklonia cava* contiene florotaninos como: eckol, dieckol y 6'6 bieckol floroglucinol los cuales han demostrado efecto antioxidante (Murugan y cols. 2015), por lo que se esperaría que *E.menziesii* pudiera tener dicha propiedad mediante alguno de estos metabolitos.

Además, se ha reportado que los polifenoles funcionan como neuro protectores al regular las vías celulares relacionadas con procesos neuronales y de plasticidad (Murphy y cols. 2014). La administración de polifenoles mejora la cognición al actuar sobre la vía ERK/CREB/BNDF, además del aumento en la expresión del receptor TrkB en corteza cerebral e hipocampo (Murphy y cols. 2014 ;Um y cols.2018). Esto representa una ventana de estudio para *E.menziesii*, donde identificar si la vía antes mencionada se activa en respuesta al tratamiento con esta alga.

Hasta el momento no existen trabajos que relacionen la administración del alga parda *E.menziesii* con las estructuras cerebrales, pruebas conductuales y la relación que tienen con el estrés oxidativo. Por lo que este trabajo sería el primero en este ámbito y las proyecciones a futuro son bastante amplias.

## X. CONCLUSIÓN

La administración durante quince días del extracto metanólico de *Egregia menziesii* a una dosis de 50 mg/kg disminuye el daño oxidativo. Por lo que los metabolitos contenidos en este extracto podrían actuar como coadyuvante en el tratamiento de enfermedades que aumentan los niveles de estrés oxidativo y aunque no disminuye los niveles de glucosa, tiene efecto sobre uno de los parámetros que tiene mayor daño en el organismo como lo es el daño oxidativo.

## XI. PERSPECTIVAS

- Identificar los metabolitos con posible actividad antioxidante que contiene *Egregia menziesii*. Esto nos permitirá esclarecer nuestros resultados y ampliar nuestra discusión con respecto a metabolitos previamente reportados.
- Agregar un grupo el cual se le administre tratamiento farmacológico y extracto de *Egregia menziesii*, con la finalidad de evaluar la actividad de *E. menziesii* como coadyuvante en el tratamiento de enfermedades relacionadas con el aumento de estrés oxidativo.
- Inducir un modelo que se asemeje a la diabetes tipo 2, ya que el modelo utilizado en este trabajo imita la principal característica de la diabetes que es la hiperglicemia crónica.
- Administrar el tratamiento por un tiempo más prolongado. Esto nos permitirá evaluar la actividad de *E.menziesii* por un mayor tiempo y comparar con estudios similares con respecto a la longevidad.
- Disminuir la dosis de STZ. Con el propósito de analizar si esta reducción, refleja una mejora en los niveles de glucosa .
- Utilizar otras pruebas conductuales. Con el objetivo de ampliar la discusión de nuestros resultados referente a la parte de aprendizaje y memoria.

- Comparar el efecto de *E. menziesii* entre hembras y machos. Los resultados obtenidos en este trabajo resultan interesantes y prometedores, por lo que abordar una comparación podría aportar grandes beneficios a este tipo de estudios.
- Aumentar la n. Esto nos permitirá ampliar nuestros grupos y ampliar los análisis estadísticos.
- Indicar el mecanismo de la actividad antioxidante y de mejora cognitiva. Lo que permitiría ser el primero estudio en realizar este tipo de abordaje.

## XII. REFERENCIAS

Ahmed, A., Zeng, G., Jiang, D., Lin, H., Azhar, M., Farooq, A. D., Choudhary, M. I., Liu, X., & Wang, Q. (2019). Time-dependent impairments in learning and memory in Streptozotocin-induced hyperglycemic rats. *Metabolic Brain Disease*, 34(5), 1431–1446.

Areosa Sastre, A., Vernooij, R. W., González-Colaço Harmand, M., & Martínez, G. (2017). Effect of the treatment of Type 2 diabetes mellitus on the development of cognitive impairment and dementia. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2017(6).

Balasubramanian, K. (2016). Microtiter plate assay for superoxide dismutase using MTT reduction by superoxide, (July 1998)

Bednařík, P., Henry, P.-G., Khowaja, A., Rubin, N., Kumar, A., Deelchand, D., Eberly, L. E., Seaquist, E., Öz, G., & Moheet, A. (2020). Hippocampal Neurochemical Profile and Glucose Transport Kinetics in Patients With Type 1 Diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 105(2), 479–491.

Begum, R., Howlader, S., Mamun-Or-Rashid, A. N. M., Rafiquzzaman, S. M., Ashraf, G. M., Albadrani, G. M., Sayed, A. A., Peluso, I., Abdel-Daim, M. M., & Uddin, M. S. (2021). Antioxidant and Signal-Modulating Effects of Brown Seaweed-Derived Compounds against Oxidative Stress-Associated Pathology. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021, 1–22.

Behera, C., Dash, S. R., Pradhan, B., Jena, M., & Adhikary, S. P. (2020). Algal Diversity of Ansupa Lake, Odisha, India. *Nelumbo*, 62(2), 207.

Biessels, G. J., & Despa, F. (2018). Cognitive decline and dementia in diabetes mellitus: mechanisms and clinical implications. *Nature Reviews Endocrinology*, 14(10), 591–604.

Catarino, M. D., Amarante, S. J., Mateus, N., Silva, A. M. S. y Cardoso, S. M. (2021). Brown Algae Phlorotannins: A Marine Alternative to Break the Oxidative Stress, Inflammation and Cancer Network. *Foods*, 10(7), 1478.

Ceretta, L. B., Réus, G. Z., Abelaira, H. M., Ribeiro, K. F., Zappellini, G., Felisbino, F. F., Steckert, A. V., Dal-Pizzol, F. y Quevedo, J. (2012). Increased Oxidative Stress and Imbalance in Antioxidant Enzymes in the Brains of Alloxan-Induced Diabetic Rats. *Experimental Diabetes Research*, 2012, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2012/302682>

Chafee, M. V. y Heilbronner, S. R. (2022). Prefrontal cortex. *Current Biology*, 32(8), R346–R351.

Chatterjee, S., Peters, S. A. E., Woodward, M., Arango, S. M., Batty, G. D., Beckett, N., Beiser, A., Borenstein, A. R., Crane, P. K., Haan, M., Hassing, L. B., Hayden, K. M., Kiyohara, Y., Larson, E. B., Li, C.-Y., Ninomiya, T., Ohara, T., Peters, R., Russ, T.

C., Huxley, R. R. (2015). Type 2 Diabetes as a Risk Factor for Dementia in Women Compared With Men: A Pooled Analysis of 2.3 Million People Comprising More Than 100,000 Cases of Dementia. *Diabetes Care*, dc151588.

Chesnokova, V., Pechnick, R. N., & Wawrowsky, K. (2016). Chronic peripheral inflammation, hippocampal neurogenesis, and behavior. *Brain, Behavior, and Immunity*, 58, 1–8.

Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2022. (2022). *Diabetes Care*, 45(Supplement\_1),

Deeds, M. C., Anderson, J. M., Armstrong, A. S., Gastineau, D. A., Hiddinga, H. J., Jahangir, A., Eberhardt, N. L., & Kudva, Y. C. (2011). Single dose streptozotocin-induced diabetes: considerations for study design in islet transplantation models. *Laboratory Animals*, 45(3), 131–140.

Del Moral Huerta D. (2021). El estrés oxidativo inducido por la hiperglucemia subcrónica y crónica disminuye la memoria espacial y la actividad enzimática antioxidante en el ratón CD-1. Universidad Veracruzana. Tesis de doctorado.

Erickson, K. I., Hillman, C., Stillman, C. M., Ballard, R. M., Bloodgood, B., Conroy, D. E., Macko, R., Marquez, D. X., Petruzzello, S. J., & Powell, K. E. (2019). Physical Activity, Cognition, and Brain Outcomes: A Review of the 2018 Physical Activity Guidelines. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 51(6), 1242–1251.

Flores-Gómez, A. A., de Jesús Gomez-Villalobos, M., & Flores, G. (2019). Consequences of diabetes mellitus on neuronal connectivity in limbic regions. *Synapse*, 73(3), e22082.

Furman, B. L., Candasamy, M., Bhattamisra, S. K., & Veettil, S. K. (2020). Reduction of blood glucose by plant extracts and their use in the treatment of diabetes mellitus; discrepancies in effectiveness between animal and human studies. *Journal of Ethnopharmacology*, 247, 112264.

Gabbia, D., & De Martin, S. (2020). Brown Seaweeds for the Management of Metabolic Syndrome and Associated Diseases. *Molecules*, 25(18), 4182.

Gao, L., Wang, X., Lin, Z., Song, N., Liu, X., Chi, X., & Shao, T. (2018). Antidiabetic and Neuroprotective Effect of the N-Butanol Extract of *Fragaria nilgerrensis* Schlecht. in STZ-Induced Diabetic Mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018, 1–12.

Glovaci, D., Fan, W., & Wong, N. D. (2019). Epidemiology of Diabetes Mellitus and Cardiovascular Disease. *Current Cardiology Reports*, 21(4), 21.

Goodrich-Hunsaker, N. J., & Hopkins, R. O. (2010). Spatial memory deficits in a virtual radial arm maze in amnesic participants with hippocampal damage. *Behavioral Neuroscience*, 124(3), 405–413.

Gutierrez Rodriguez, A. G. (2020). Caracterización de las propiedades anti-hiperglicémicas de los extractos derivados del alga marina *Egria menziesii*. Universidad Veracruzana. Tesis de doctorado.

Hamed, S. A. (2017). Brain injury with diabetes mellitus: evidence, mechanisms and treatment implications. *Expert Review of Clinical Pharmacology*, 10(4), 409–428.

He, L., He, T., Farrar, S., Ji, L., Liu, T., & Ma, X. (2017). Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 44(2), 532–553.

Huang, T.-T., Leu, D., & Zou, Y. (2015). Oxidative stress and redox regulation on hippocampal-dependent cognitive functions. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 576, 2–7.

Ighodaro, O. M. (2018). Molecular pathways associated with oxidative stress in diabetes mellitus. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 108, 656–662. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.09.058>

Inoue, T., Hashimoto, M., Katakura, M., Hossain, S., Matsuzaki, K., & Shido, O. (2019). Effect of chronic administration of arachidonic acid on the performance of learning and memory in aged rats. *Food & Nutrition Research*, 63.

Islam, M. S., & Wilson, R. D. (2012). Experimentally Induced Rodent Models of Type 2 Diabetes (pp. 161–174).

Juárez-Portilla, C., Olivares-Bañuelos, T., Molina-Jiménez, T., Sánchez-Salcedo, J. A., Moral, D. I. Del, Meza-Menchaca, T., Flores-Muñoz, M., López-Franco, Ó., Roldán-Roldán, G., Ortega, A., & Zepeda, R. C. (2019). Seaweeds-derived compounds modulating effects on signal transduction pathways: A systematic review. *Phytomedicine*, 63, 153016.

Jurkowski, M. P., Bettio, L., K. Woo, E., Patten, A., Yau, S.-Y., & Gil-Mohapel, J. (2020). Beyond the Hippocampus and the SVZ: Adult Neurogenesis Throughout the Brain. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 14

Kandel E, Schwartz J, Jessel TM. Los principios de la ciencia neuronal, 4 Ed. McGraw-Hill Companies, Nuevo York, 2000.

Kandel, E. R., Dudai, Y., & Mayford, M. R. (2014). The Molecular and Systems Biology of Memory. *Cell*, 157(1), 163–186.

Kang, C., Jin, Y. B., Lee, H., Cha, M., Sohn, E., Moon, J., Park, C., Chun, S., Jung, E.-S., Hong, J.-S., Kim, S. B., Kim, J.-S., & Kim, E. (2010). Brown alga *Ecklonia cava* attenuates type 1 diabetes by activating AMPK and Akt signaling pathways. *Food and Chemical Toxicology*, 48(2), 509–516.

Keleszade, E., Patterson, M., Trangmar, S., Guinan, K. J., & Costabile, A. (2021). Clinical Efficacy of Brown Seaweeds *Ascophyllum nodosum* and *Fucus vesiculosus* in the Prevention



or Delay Progression of the Metabolic Syndrome: A Review of Clinical Trials. *Molecules*, 26(3), 714.

Kim, H., Park, J. Y., & Kim, K. K. (2018). Spatial Learning and Memory Using a Radial Arm Maze with a Head-Mounted Display. *Psychiatry Investigation*, 15(10), 935–944.

Lam, R. W., Kennedy, S. H., McIntyre, R. S., & Khullar, A. (2014). Cognitive Dysfunction in Major Depressive Disorder: Effects on Psychosocial Functioning and Implications for Treatment. *The Canadian Journal of Psychiatry*, 59(12), 649–654.

Liu, Z., & Sun, X. (2020). A Critical Review of the Abilities, Determinants, and Possible Molecular Mechanisms of Seaweed Polysaccharides Antioxidants. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(20), 7774.

Liu, Z., Chen, H., Wu, P., Yao, Q., Cheng, H., Yu, W. y Liu, C. (2015). Flos Puerariae Extract Ameliorates Cognitive Impairment in Streptozotocin-Induced Diabetic Mice. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2015, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2015/873243>

Lovic, D., Piperidou, A., Zografou, I., Grassos, H., Pittaras, A., & Manolis, A. (2020). The Growing Epidemic of Diabetes Mellitus. *Current Vascular Pharmacology*, 18(2), 104–109.

Makkar, H. P. S., Tran, G., Heuzé, V., Giger-Reverdin, S., Lessire, M., Lebas, F., & Ankers, P. (2016). Seaweeds for livestock diets: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 212, 1–17.

McDonald, A. J., & Mott, D. D. (2017). Functional neuroanatomy of amygdalohippocampal interconnections and their role in learning and memory. *Journal of Neuroscience Research*, 95(3), 797–820.

Michalak, I., Tiwari, R., Dhawan, M., Alagawany, M., Farag, M. R., Sharun, K., Emran, T. Bin, & Dhama, K. (2022). Antioxidant effects of seaweeds and their active compounds on animal health and production – a review. *Veterinary Quarterly*, 42(1), 48–67.

Mittal, M., Siddiqui, M. R., Tran, K., Reddy, S. P. y Malik, A. B. (2014). Reactive Oxygen Species in Inflammation and Tissue Injury. *Antioxidants & Redox Signaling*, 20(7), 1126–1167.

Moheet, A., Mangia, S., & Seaquist, E. R. (2015). Impact of diabetes on cognitive function and brain structure. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1353(1), 60–71.

Mousavi, S. M., Niazmand, S., Hosseini, M., Hassanzadeh, Z., Sadeghnia, H. R., Vafae, F., & Keshavarzi, Z. (2015). Beneficial Effects of Teucrium polium and Metformin on Diabetes-Induced Memory Impairments and Brain Tissue Oxidative Damage in Rats. *International Journal of Alzheimer's Disease*, 2015, 1–8.

- Muriach, M., Flores-Bellver, M., Romero, F. J., & Barcia, J. M. (2014). Diabetes and the Brain: Oxidative Stress, Inflammation, and Autophagy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, 1–9.
- Murphy, T., Dias, G. P., & Thuret, S. (2014). Effects of Diet on Brain Plasticity in Animal and Human Studies: Mind the Gap. *Neural Plasticity*, 2014, 1–32.
- Murray, M., Dordevic, A. L., Bonham, M. P., & Ryan, L. (2018). Do marine algal polyphenols have antidiabetic, antihyperlipidemic or anti-inflammatory effects in humans? A systematic review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(12), 2039–2054.
- Murugan, A. C., Karim, M. R., Yusoff, M. B. M., Tan, S. H., Asras, M. F. B. F. y Rashid, S. S. (2015). New insights into seaweed polyphenols on glucose homeostasis. *Pharmaceutical Biology*, 53(8), 1087–1097.
- Nandi, A., Yan, L.-J., Jana, C. K., & Das, N. (2019). Role of Catalase in Oxidative Stress- and Age-Associated Degenerative Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 1–19.
- Nathan, D. M., Buse, J. B., Davidson, M. B., Ferrannini, E., Holman, R. R., Sherwin, R., & Zinman, B. (2009). Medical Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes: A Consensus Algorithm for the Initiation and Adjustment of Therapy. *Diabetes Care*, 32(1), 193–203.
- Njan, A. A., Adenuga, F. O., Ajayi, A. M., Sotunde, O., Ologe, M. O., Olaoye, S. O., Erdogan, O. N., & Iwalewa, O. E. (2020). Neuroprotective and memory-enhancing effects of methanolic leaf extract of *Peristrophe bicalyculata* in rat model of type 2 diabetes mellitus. *Heliyon*, 6(5), e04011.
- Norris, J. M., Johnson, R. K. y Stene, L. C. (2020). Type 1 diabetes—early life origins and changing epidemiology. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 8(3), 226–238. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(19\)30412-7](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(19)30412-7)
- Oliveira, W. H., Nunes, A. K., França, M. E. R., Santos, L. A., Lós, D. B., Rocha, S. W., Barbosa, K. P., Rodrigues, G. B., & Peixoto, C. A. (2016). Effects of metformin on inflammation and short-term memory in streptozotocin-induced diabetic mice. *Brain Research*, 1644, 149–160.
- Pandey, S. P., Singh, H. K., & Prasad, S. (2015). Alterations in Hippocampal Oxidative Stress, Expression of AMPA Receptor GluR2 Subunit and Associated Spatial Memory Loss by Bacopa monnieri Extract (CDRI-08) in Streptozotocin-Induced Diabetes Mellitus Type 2 Mice. *PLOS ONE*, 10(7), e0131862.
- Papachristoforou, E., Lambadiari, V., Maratou, E., & Makrilakis, K. (2020). Association of Glycemic Indices (Hyperglycemia, Glucose Variability, and Hypoglycemia) with Oxidative Stress and Diabetic Complications. *Journal of Diabetes Research*, 2020, 1–17.

- Pfeiffer, A. F. H., & Klein, H. H. (2014). The Treatment of Type 2 Diabetes. *Deutsches Ärzteblatt International*.
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., & Bitto, A. (2017). Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 1–13.
- Popa-Wagner, A., Mitran, S., Sivanesan, S., Chang, E., & Buga, A.-M. (2013). ROS and Brain Diseases: The Good, the Bad, and the Ugly. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013, 1–14.
- Poulose, S. M., Miller, M. G., Scott, T., & Shukitt-Hale, B. (2017). Nutritional Factors Affecting Adult Neurogenesis and Cognitive Function. *Advances in Nutrition: An International Review Journal*, 8(6), 804–811.
- Pradhan, B., Bhuyan, P. P., Patra, S., Nayak, R., Behera, P. K., Behera, C., Behera, A. K., Ki, J.-S., & Jena, M. (2022). Beneficial effects of seaweeds and seaweed-derived bioactive compounds: Current evidence and future prospective. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 39, 102242.
- Pugazhenthii, S., Qin, L., & Reddy, P. H. (2017). Common neurodegenerative pathways in obesity, diabetes, and Alzheimer's disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1863(5), 1037–1045.
- Punthakee, Z., Goldenberg, R., & Katz, P. (2018). Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes, Prediabetes and Metabolic Syndrome. *Canadian Journal of Diabetes*, 42, S10–S15.
- Rahmati, M., Keshvari, M., Mirnasouri, R., & Chehelcheraghi, F. (2021). Exercise and *Urtica dioica* extract ameliorate hippocampal insulin signaling, oxidative stress, neuroinflammation, and cognitive function in STZ-induced diabetic rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 139, 111577.
- Rebolledo-Solleiro, D., Crespo-Ramírez, M., Roldán-Roldán, G., Hiriart, M., & Pérez de la Mora, M. (2013). Role of thirst and visual barriers in the differential behavior displayed by streptozotocin-treated rats in the elevated plus-maze and the open field test. *Physiology & Behavior*, 120, 130–135.
- Roesler, R., Parent, M. B., LaLumiere, R. T. y McIntyre, C. K. (2021). Amygdala-hippocampal interactions in synaptic plasticity and memory formation. *Neurobiology of Learning and Memory*, 184, 107490. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2021.107490>
- Sadanand, S., Balachandar, R., & Bharath, S. (2016). Memory and executive functions in persons with type 2 diabetes: a meta-analysis. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 32(2), 132–142.

Sahak, M. K. A., Mohamed, A. M., Hashim, N. H., & Hasan Adli, D. S. (2013). Nigella sativa Oil Enhances the Spatial Working Memory Performance of Rats on a Radial Arm Maze. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 1–5.

Sanchez García, C. J. (2021). Efecto del extracto metanólico del alga egregia menziesii sobre el desempeño de memoria en ratones hiperglucémicos. Tesis de licenciatura.

Schedlbauer, A. M., Copara, M. S., Watrous, A. J. y Ekstrom, A. D. (2014). Multiple interacting brain areas underlie successful spatiotemporal memory retrieval in humans. *Scientific Reports*, 4(1), 6431.

Sequist, E. R. (2015). The Impact of Diabetes on Cerebral Structure and Function. *Psychosomatic Medicine*, 77(6), 616–621.

Seibenhener, M. L., & Wooten, M. C. (2015). Use of the Open Field Maze to Measure Locomotor and Anxiety-like Behavior in Mice. *Journal of Visualized Experiments*, 96.

Seo, B.-W., Powers, B. E., Widholm, J. J., & Schantz, S. L. (2000). Radial arm maze performance in rats following gestational and lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). *Neurotoxicology and Teratology*, 22(4), 511–519.

Sharma, S., Rakoczy, S., & Brown-Borg, H. (2010). Assessment of spatial memory in mice. *Life Sciences*, 87(17–18), 521–536.

Sheynikhovich, D., Otani, S., Bai, J., & Arleo, A. (2023). Long-term memory, synaptic plasticity and dopamine in rodent medial prefrontal cortex: Role in executive functions. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 16.

Singh, P., Kesharwani, R. K., & Keservani, R. K. (2017). Antioxidants and Vitamins. In *Sustained Energy for Enhanced Human Functions and Activity* (pp. 385–407). Elsevier.

Sinha, A. K. (1972). Colorimetric assay of catalase. *Analytical Biochemistry*, 47(2), 389–394. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(72\)90132-7](https://doi.org/10.1016/0003-2697(72)90132-7)

Squire, L. R., & Dede, A. J. O. (2015). Conscious and Unconscious Memory Systems. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 7(3), a021667.

Sweeting, A., Wong, J., Murphy, H. R. y Ross, G. P. (2022). A Clinical Update on Gestational Diabetes Mellitus. *Endocrine Reviews*, 43(5), 763–793.

Swiergiel, A. H. y Dunn, A. J. (2007). Effects of interleukin-1 $\beta$  and lipopolysaccharide on behavior of mice in the elevated plus-maze and open field tests. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 86(4), 651–659.

Tirichen, H., Yaigoub, H., Xu, W., Wu, C., Li, R., & Li, Y. (2021). Mitochondrial Reactive Oxygen Species and Their Contribution in Chronic Kidney Disease Progression Through Oxidative Stress. *Frontiers in Physiology*, 12.

- Um, M. Y., Lim, D. W., Son, H. J., Cho, S., & Lee, C. (2018). Phlorotannin-rich fraction from *Ishige foliacea* brown seaweed prevents the scopolamine-induced memory impairment via regulation of ERK-CREB-BDNF pathway. *Journal of Functional Foods*, 40, 110–116.
- Valladolid-Acebes, I., Stucchi, P., Cano, V., Fernández-Alfonso, M. S., Merino, B., Gil-Ortega, M., Fole, A., Morales, L., Ruiz-Gayo, M., & Olmo, N. Del. (2011). High-fat diets impair spatial learning in the radial-arm maze in mice. *Neurobiology of Learning and Memory*, 95(1), 80–85.
- Venditti, P., Di Stefano, L. y Di Meo, S. (2013). Mitochondrial metabolism of reactive oxygen species. *Mitochondrion*, 13(2), 71–82.
- Wang, Y., Branicky, R., Noë, A., & Hekimi, S. (2018). Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. *Journal of Cell Biology*, 217(6), 1915–1928.
- Yang, Y., & Wang, J.-Z. (2017). From Structure to Behavior in Basolateral Amygdala-Hippocampus Circuits. *Frontiers in Neural Circuits*, 11.
- Yavas, E., Gonzalez, S., & Fanselow, M. S. (2019). Interactions between the hippocampus, prefrontal cortex, and amygdala support complex learning and memory. *F1000Research*, 8, 1292.
- Yoon, T., Okada, J., Jung, M. W., & Kim, J. J. (2008). Prefrontal cortex and hippocampus subserve different components of working memory in rats. *Learning & Memory*, 15(3), 97–105.
- Zilliox, L. A., Chadrsekaran, K., Kwan, J. Y., & Russell, J. W. (2016). Diabetes and Cognitive Impairment. *Current Diabetes Reports*, 16(9), 87.
- Zoungrana, L. I., Krause-Hauch, M., Wang, H., Fatmi, M. K., Bates, L., Li, Z., Kulkarni, P., Ren, D. y Li, J. (2022). The Interaction of mTOR and Nrf2 in Neurogenesis and Its Implication in Neurodegenerative Diseases. *Cells*, 11(13), 2048.

### XIII. GLOSARIO DE TÉRMINOS

<b>AGE</b>	(Por sus siglas en inglés) Productos finales de glicación avanzada
<b>ARE</b>	Elemento de respuesta antioxidante
<b>CAT</b>	Catalasa
<b>CRT</b>	Carotenoides
<b>DG</b>	Giro dentado
<b>DM</b>	Diabetes Mellitus
<b>ETC</b>	(Por sus siglas en inglés) Cadena transportadora de electrones
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peróxido de hidrogeno
<b>MDA</b>	Malonaldehído
<b>NADH</b>	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
<b>O<sub>2</sub></b>	Radical superóxido
<b>PFC</b>	Corteza prefrontal
<b>RME</b>	(Por sus siglas en inglés) Errores en la memoria de referencia
<b>ROS</b>	(Por sus siglas en inglés) Especies reactivas de Oxígeno
<b>SOD</b>	Superóxido dismutasa
<b>STZ</b>	Estreptozotocina
<b>TBARS</b>	Ácido tiobarbitúrico
<b>WME</b>	(Por sus siglas en inglés) Errores en la memoria de trabajo