UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS E INGENIERIE

FACULTAD DE MEDICINA Y PSICOLOGIA

PROGRAMA:

DOCTORADO EN CIENCIAS (MYDCI)

TESIS:

"Evaluación *in vivo* del efecto de los ácidos decosahexaenoico (DHA) y eicosapentaenoico (EPA) sobre el sistema nervioso central de ratas con déficit de memoria y su influencia en la mejora de la cognición a través de α7nAChRs"

ALUMNO: CARLOS DELGADO HERNANEZ

TUTOR: DRA. ARACELY SERRANO MEDINA

Universidad Autónoma de Baja California
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA

FOLIO No. 301

Tijuana, B. C., a 13 de Octubre del 2020

C. Carlos Delgado Hernández
Pasante de: Doctor en Ciencias
Presente

POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL HOMBRE

El tema de trabajo y/o tesis para su examen profesional, en la Opción TESIS

Es propuesto, por la C. Dra. Aracely Serrano Medina

Quien será el responsable de la calidad de trabajo que usted presente, referido al tema "Evaluación *in vivo* del efecto de los ácidos decosahexaenoico (DHA) y eicosapentaenoico (EPA) sobre el sistema nervioso central de ratas con déficit de memoria y su influencia en la mejora de la cognición a través de α7nAChRs"

El cual deberá usted desarrollar, de acuerdo con el siguiente orden:

I.- INTRODUCCIÓN
II.- TEORÍA GENERAL
III.- PARTE EXPERIMENTAL
IV.- RESULTADOS
V.- CONCLUSIONES
VI.- BIBLIOGRAFÍA

.Q. Noemí Hernández Hernández
Sub-Directora

Dra. Aracely Serrano Medina
Directora de Tesis

Dr. José Luis González Vázquez
Director

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

Dedicatoria

Le dedico este trabajo a mi Madre María del Rosario, la cual es un constante ejemplo de trabajo y perseverancia.

A mis hijos Natalia y Leonardo que a sus pocos años me han enseñado muchas lecciones de vida.

Agradecimientos

Agradezco a mi tutora de tesis, Dra. Aracely Serrano por la oportunidad y paciencia, mostrándome que aun en lugares con carencias se puede hacer investigación de calidad.

A la Facultad de Medicina y Psicología de la Universidad Autónoma de Baja California.

INDICE

I. INTRODUCCION……12

1.1 Antecedentes

1.2 Justificación

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

1.3.2 Objetivos específicos

II.TEORIA GENERAL ……19

2.1 Sistema nervioso

2.1.1 Fundamentos del Sistema Nervioso

2.1.2 Células de Sistema Nervioso

2.1.3 Anatomía Macroscópica del Sistema Nervioso

2.1.4 Sistema Límbico

2.2 Ácidos Grasos Poliinsaturados de Cadena Larga en la cognición

2.3 Composición de la membrana neuronal

2.4 Acido docosahexaenoico (DHA) y eiocosapentaenoido (EPA) el desarrollo del sistema nervioso.

2.5 Sistema nervioso colinérgico y receptores de Acetilcolina

2.6 Ácidos Grasos Poliinsaturados de Cadena Larga (AGPCL) y las Demencias

2.7 AGPCL y las enfermedades extrapiramidales

2.8 AGPCL y otras enfermedades neurológicas

2.9 Suplementación de Omega 3

2.10 Modelos experimentales para la memoria y cognición

III. PARTE EXPERIMENTAL……..84

3.1 Metodología

3.1.1 Modelo animal

3.1.2 Dieta experimental y composición

3.1.3 Suplementación con Omega 3

3.1.4 Preparación y administración de los compuestos

3.1.5 Determinación de mejora en el déficit cognitivo inducido por escopolamina

3.1.6 Prueba del laberinto Y modificado

3.1.7 Prueba de reconocimiento a objetos nuevos (ORT)

3.1.8 Establecer la mejora cognitiva mediada a través de α7-nAChR

3.1.9 Determinación de la densidad neuronal

3.1.10 Análisis bioquímico para los marcadores de estrés oxidativo y la actividad enzimática antioxidante

3.1.11 Análisis estadístico

IV. RESULTADOS……93

V. CONCLUSIONES……..113

VI. BIBLIOGRAFIA……..…119

Símbolos y Abreviaturas

AA	Acido araquidónico
AGPCL	Ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga
DHA	Ácido docosahexaenoico
DI	Índice de discriminación
EPA	Ácido eicosapentaenoico
EUA	Estados Unidos de América
HM	Henry Molaison
i.p.	Intraperitoneal
IND8/QND8	Receptores alfa 7
LNA	Alfa linolénico
MAO	Monoaminooxidasa
MDA	Malonaldehído
MLA	Metilcaconitina
n-3	Omega-3
ORT	Prueba de reconocimiento de objetos
PUFA	Ácidos grasos poliinsaturados
SC	Escopalamina
SD	Desviación estándar
SOD	Superóxido dismutasas
SS	Solución salina
TBA	Acido tiobarbiturico
TBHQ	Terbutil hidroquinona
TN	Nuevos objetos
TNF-α	Factor de necrosis tumoral alfa
α7nAChR´s	Receptor nicotínico de acetilcolina alfa 7

Tablas y Figuras

Pagina

1. Figura 1: Muestra la división del Sistema Nervioso Central…… 22
2. Figura 2: Una neurona con sus organelos y sus prolongaciones……..…...24
3. Figura 3: Tres tipos de neuronas, unipolar, bipolar y multipolar……..……...25
4. Figura 4: Neuronas con la tinción de Camilo Golgi……..……..26
5. Figura 5: Los compuestos de la sinapsis……..…….28
6. Figura 6: La diferencia entre el encéfalo humano y algunos animales……..……...29
7. Figura 7: Se muestra la sustancia gris y la sustancia blanca……..……..……...31
8. Figura 8: Lóbulos cerebrales……..……...……..……..33
9. Figura 9: Mapa de la citoarquitectura de Korbinian Broadmann……..……..34
10. Figura 10: Estructuras que conforman el Sistema Límbico……35
11. Figura 11: Las principales conexiones del sistema límbico……36
12. Figura 12: Sistema Límbico-Hipocampo-Hipotálamo……37
13. Figura 13: Localización del Núcleo Amigdalino……38
14. Figura 14: Hipocampo……...……40
15. Figura 15: Factores asociados a nutrición y función cerebral……..…..42
16. Figura 16: Molécula del ácido docosahexaenoico (DHA)……44
17. Figura 17: La membrana neuronal……..……46
18. Figura 18: Un ejemplo de los Canals iónicos……..……47
19. Figura 19: Diferentes polipéptidos unidos formando una proteína grande……..……48
20. Figura 20: Esquema simplificado de cómo se puede proporcionar DHA al organismo…52
21. Figura 21: Estructura química de la acetilcolina……..……..……..….53
22. Figura 22: Distribucion de los receptores muscarinicos y nicotinicos……..……54
23. Figura 23: Principales complejos detectados de actividad colinérgica……..…55
24. Figura 24: Clasificación de las Demencias……..58
25. Figura 25: Clasificación molecular de las Demencias……59
26. Figura 26: Los núcleos basales en un corte axial a nivel del tercer ventrículo……..……..62
27. Figura 27: Síntomas de la enfermedad de Parkinson……64
28. Figura 28: Tipos de memoria y las estructuras cerebrales relacionadas……..…80
29. Figura 29: Prueba de Reconocimiento de Objetos……82
30. Figura 30: Prueba de Laberinto en Y Modificada……..……83
31. Tabla 1. Prueba de la actividad locomotora……95

32. Tabla 2. Mejoramiento de la cognición en la amnesia inducida por escopalamina……...96
33. Tabla 3. Mejoramiento de la Cognición en la Amnesia inducida por Escopalamina…....99
34. Tabla 4. Índice de Discriminación del vehículo, escopalamina, tacrina y EPA/DHA…...101
35. Tabla 5. ORT fue usado para establecer el mecanismo de acción mediado por los receptores α7-nAChRs……102
36. Tabla 6. ORT y mecanismo de acción mediado por los receptores α7-nAChRs……....103
37. Tabla 7. Índice de Discriminación (TN− TF/TN + TF) de cada compuesto en la fase de prueba del ORT para establecer el mecanismo de acción……..…..……104
38. Tabla 8. Mejora de la cognición en la pérdida de memoria después de un periodo de retraso de 7 días……..……106
39. Tabla 9. Índice de Discriminación (TN− TF/TN + TF) de cada compuesto en la fase de prueba del ORT con protocolo de retraso de tiempo……107
40. Figura 31. Se muestra los cortes del encéfalo de una de las ratas justo en la región del hipocampo y en la región frontal……..……108
41. Tabla 10. Conteo neuronal del hipocampo de los diferentes grupos estudiados, con conteo en tres cortes por grupo……..……109
42. Tabla 11. Conteo neuronal del lóbulo frontal de los diferentes grupos estudiados, con conteo en tres cortes por grupo……..……110
43. Tabla 12. Superoxido Dismutasa……..……..……111
44. Tabla 13. Prueba del ácido tiobarbiturico……..……...112

Resumen

Los receptores α7-nicotinicos de acetilcolina (α7-nAChR) son blancos reconocidos en el tratamiento de demencias asociadas a el envejecimiento y ciertos desordenes del desarrollo. Este trabajo evalúa el mejoramiento de la memoria en un modelo de rata con los efectos de los ácidos poliinsaturados EPA y DHA mediante α7-nAChR, así como identificar la dosis mínima efectiva de EPA/DHA requerida para generar un efecto en el mejoramiento de la cognición mediante α7-nAChR en ratas. El laberinto en Y modificado y la Prueba de reconocimiento de objetos fueron aplicados en un modelo de amnesia en ratas inducida por escopalamina, para posteriormente evaluar el efecto a largo plazo de la suplementación (10, 15, 30, and 60 mg/kg) de los dos ácidos grasos poliinsaturados en el mejoramiento en el retraso inducido de la cognición. El mejoramiento de la cognición inducido por EPA y DHA mediado a través de receptores α7-nAChR el cual fue evidenciado por la recuperación de la memoria después del tratamiento con un antagonista α7-nAChR, la metilcaconitina (MLA). La Tacrina, un inhibidor colinérgico central, y el PNU282987, un agonista α7-nAChR fueron utilizados como controles estándar. Este trabajo evidencia que la dosis de 15mg/kg de EPA/DHA afecta de manera positiva la función colinérgica a través de un efecto en la cognición, mejorando así la memoria y los efectos del deterioro cognitivo.

Abstract

The α7-nicotinic acetylcholine receptor (α7-nAChR) is a recognized target for the treatment of dementia associated with aging and certain developmental disorders. This study evaluates memory improvement in a rat model by the effects of polyunsaturated fatty acids EPA and DHA mediated by α7-nAChR, as well as identifying the minimum dose of EPA/DHA required to generate an effect in the improvement of cognition through α7-nAChR in rats. The modified Y maze and object recognition behavioral tests were performed in scopolamine-induced amnesic rats, in order to study the effects of long-term supplementation (10, 15, 30, and 60 mg/kg) of the two polyunsaturated fatty acids in improving cognitive impairment. Cognitive enhancement by EPA and DHA is mediated through α7-nAChRs, as evidenced by memory recovery after treatment with a selective

α7-nAChR antagonist, methyllycaconitine (MLA). Tacrine, a centrally active acetylcholinesterase inhibitor, and PNU282987, and α7-nAChR agonist, are employed as reference standards. Our data demonstrate that 15 mg/kg EPA and DHA can affect cholinergic neurotransmission positively through memory and cognition and, thus, can exert a beneficial action on learning and memory deficits.

CAPITULO I

INTRODUCCION

El cerebro es una estructura compleja, con múltiples subestructuras todas ellas formadas por neuronas, células especializadas, que su función es el procesamiento de la información captada por los órganos del sentido, almacenándola y compartiéndola en las diferentes áreas corticales, realizando así el proceso cognitivo. El receptor nicotínico de acetilcolina α7 (α7nAChR´s) es una diana farmacológica reconocida por demencias de la vejez, adicciones a la nicotina y otras enfermedades neurodegenerativas. (Arunrungvichian et al. 2015).

Los ácidos grasos omega-3 [alfa linolénico (LNA), ácido eicosapentaenoico (EPA) y Ácido docosahexaenoico (DHA)] son ácidos grasos esenciales con varios beneficios para la salud, forman un componente estructural de las membranas celulares afectando así su fluidez, desarrollo de las funciones cognitivas y visuales. El ácido docosahexaenoico (DHA), un importante ácido graso omega-3 desempeña un papel importante en el desarrollo y la función del cerebro. (Ramaiyan et al, 2016).

El ácido docosahexaenoico (DHA) es el ácido graso poliinsaturado omega-3 (n-3) predominante en el cerebro y puede afectar la función neurológica modulando las vías de transducción de señal, neurotransmisión, neurogénesis, mielinización, función de los receptores de membrana, neuroinflamación, integridad de la membrana y organización de la membrana. El consumo de DHA conduce a muchos efectos positivos fisiológicos y de comportamiento, incluyendo aquellos sobre la cognición., la dieta moderna típicamente carece de cantidades apreciables de DHA. Por lo tanto, en las poblaciones modernas, mantener niveles óptimos de DHA en el cerebro durante toda la vida probablemente

requiere obtener DHA preformado a través de fuentes dietéticas o suplementarias. (Weiser et al. 2016). La deficiencia de ácidos grasos omega-3 conduce a varios trastornos neurocognitivos, lo que sugiere una necesidad de estudios para la suplementación y sus efectos en la cognición (Rathod et al., 2016).

En esta investigación se evaluó la suplementación con DHA: EPA 1:1 a diferentes dosis, se determinó y analizo la dosis recomendable para una mejora cognitiva en memoria a corto y mediano plazo. Se determinó el conteo neuronal y parámetros bioquímicos antioxidantes. Tacrina, un inhibidor central de la acetilcolinesterasa activa y PNU-282.987 un agonista de α7nAChR, fueron empleados como estándares de referencia. Dos pruebas de comportamiento; laberinto Y modificado, y prueba de reconocimiento de objetos (ORT), fueron realizados en ratas amnésicas inducidas con escopolamina. Se determinó la mejora cognitiva mediada por α7hAChR´s mediante su desaparición después del pretratamiento con metilcaconitina (MLA) un antagonista selectivo de α7hAChR´s.

1.1 Antecedentes

El sistema colinérgico del cerebro está implicado en procesos cognitivos; la escopolamina, un antagonista de los receptores colinérgicos muscarínicos, perjudica el aprendizaje y la memoria en roedores y humanos. Se han reportado estudios diseñados para comparar el efecto del pre-tratamiento a corto (2 semanas) y largo plazo (8 semanas) con 60 mg/kg dosis única de ácidos grasos omega-3 (DHA + EPA) sobre la amnesia inducida por escopolamina y la posible implicación de vías oxidativas y apoptóticas;

determinando que la exposición a largo plazo a ácidos grasos omega-3 tiene la capacidad de inhibir el estrés oxidativo inducido por escopolamina, la apoptosis y la amnesia, mientras que el efecto del tratamiento a corto plazo se restringió a la memoria mejorada sin efecto significativo sobre la apoptosis o el estrés oxidativo. Por lo tanto, el tratamiento a largo plazo con 60mg/kg de ácidos grasos omega-3 sugiere un tratamiento adecuado para la amnesia. (Ajamía et al., 2012).

Arunrungvichian K. et al., evaluaron dos compuestos agonistas de los receptores alfa-7 (IND8 y QND8) usando como control estándar dos compuestos; Tacrina un inhibidor de la acetilcolinesterasa y el PNU-282987 un agonista alfa-7. Las evaluaciones se realizaron con tres pruebas cognitivas; Laberinto en Y modificado, Prueba de reconocimientos de objetos y el Laberinto de agua. En este modelo se utilizó otro compuesto, la escopalamina para producir amnesia reversible en los modelos. Los modelos que se utilizaron son ratones jóvenes. Como resultado encontraron una mejora con los compuestos evaluados en las pruebas cognitivas, sugiriendo como posibles candidatos para manejo de enfermedades que involucren la cognición (Arunrungvichian et al. 2015).

Los modelos utilizados para evaluar la memoria en el trabajo de Arunrungvichian et al 2015, son modelos que evalúan memoria a corto plazo, esto debido a que los animales por su sistema nervioso rudimentario en comparación con el humano, solo se le puede evaluar este tipo de memoria. Existen pocos estudios de este tipo, y la mayoría evalúan la memoria de manera similar, como veremos en los estudios posteriormente, en los clínicos

existe una gran disparidad en las pruebas para evaluar cognición, lo que dificulta la evaluación de resultados.

Cutuli et al., asociaron a la cognición, la neurogénesis del hipocampo, el volumen del encéfalo y el decremento de la neurodegeneración con el efecto neuroprotector de omega-3 en el envejecimiento. Probaron las funciones amnésicas dependientes del hipocampo suplementando a largo plazo ratones envejecidos de 19 meses con omega-3. Los ratones envejecidos exhibieron mejora en la memoria de reconocimiento de objetos, memoria espacial, localizadora y retención de respuesta aversiva, sin modificaciones en los niveles de ansiedad en comparación con los controles. (Cutuli et al., 2014).

Existen estudios que ponen de manifiesto que una dieta deficiente de omega-3 puede afectar la neurotransmisión colinérgica, probablemente vía cambios en la composición de PUFA (Polyunsaturated Fatty Acid) en los fosfolípidos. Aid et al., 2003 se enfocaron en varios parámetros neuroquímicos colinérgicos en la corteza frontal y el hipocampo, utilizaron un grupo control de ratas sin suplementación de PUFA y otro grupo de ratas alimentadas con PUFA demostrando una dramática perdida de DHA hasta del 77% en ambas regiones del cerebro además de modificaciones en la composición de los fosfolípidos de membrana. Sin embargo la vía colinérgica solo fue modificada en el hipocampo y no en la corteza frontal. La liberación del neurotransmisor colinérgica acetilcolina en el hipocampo fue mayor con las ratas alimentadas de omega 3 en comparación con el grupo no suplementado. (Aid et al., 2003).

1.2 Justificación

La alimentación en la población a nivel mundial típicamente carece cantidades apreciables de omega-3, por lo tanto, se requiere obtener este nutriente preformado a través de suplementos, sin embargo, no ha sido determinada la dosis adecuada para la fuente dietética de omega-3. La falta de suplementación de omega-3 aunado a una ingesta elevada de omega-6, está causando una serie de cambios que están acentuando múltiples enfermedades crónico degenerativas como el Alzheimer. Actualmente existen evidencias clínicas de bienestar cerebral con la suplementación de omega 3, sin embargo, estudios experimentales hay muy pocos, la mayoría enfocados a estados con lesión cerebral; así como datos experimentales en cuanto la dosis, no existe consenso sobre la ingesta diaria que beneficie la función cognitiva. La calidad científica de los estudios clínicos y experimentales es muy pobre, lo que hace difícil hacer una recomendación en la ingesta diaria recomendada de omega 3 como suplemento. La deficiencia de ácidos grasos omega-3 conduce a varios trastornos neurocognitivos, lo que sugiere una necesidad de estudios para la suplementación y sus efectos en la cognición.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Evaluar el efecto *in vivo* de los ácidos DHA:EPA a diferentes dosis, sobre el sistema nervioso de las ratas con déficit de memoria y su influencia en el mejoramiento de la cognición a través de α7nAChRs.

1.3.2 Objetivos específicos

1. Determinar la dosis mínima efectiva de DHA: EPA, evaluando la mejoría del déficit cognitivo inducido por escopalamina obteniendo el índice de discriminación a nuevos objetos mediante la prueba de reconocimiento a objetos nuevos (OTR).
2. Determinar la dosis mínima efectiva de DHA: EPA, evaluando la mejoría del déficit cognitivo inducido por escopalamina mediante la prueba de actividad locomotora con laberinto Y modificado.
3. Determinar la dosis mínima efectiva evaluando la mejoría cognitiva a través de receptores nicotínicos α7 (compuesto PNU 282,987) y mediante su desaparición con metilcaconitina (MLA) y la prueba OTR.
4. Analizar la densidad neuronal de los encéfalos de ratas suplementadas con diferentes dosis de DHA: EPA.
5. Determinar el análisis bioquímico para los marcadores de estrés oxidativo, SOD y la actividad enzimática antioxidante de catalasa, glutatión peroxidasa y glutatión transferasa.
6. Determinar los datos estadísticos para cada estudio.

CAPITULO II

TEORIA GENERA

2.1 SISTEMA NERVIOSO

El cuerpo humano está formado por billones/trillones de células, estas agrupadas en tejidos, órganos y sistemas. Pero hay un sistema que sobresale, el sistema nervioso. El sistema nervioso es el sistema más avanzado que tenemos, con un peso menor a la mayoría de las computadoras de escritorio, es una computadora biológica muy sofisticada y mucho más avanzada que las computadoras que tenemos actualmente. Es un sistema que aprende, y en base a experiencias y estímulos toma decisiones, haciéndonos seres humanos. La complejidad de las funciones del sistema nervioso refleja la complejidad de sus partes anatómicas, por lo cual conocer la anatomía neurológica es de vital importancia para todas las neurociencias, incluyendo todas las disciplinas del sistema de salud, incluyendo nutrición que guarda una relación muy importante con el sistema nervioso central. (Agustine R. James, 2008 / Waxman Stephen, 2010 / Jacobson Stanley, Marcus Elliott 2011 / Crossman, Neary, 2015).

2.1.1 Fundamentos del Sistema Nervioso

El sistema nervioso está dividido en dos regiones, el sistema nervioso central y periférico. El sistema nervioso central es donde se encuentra los cuerpos celulares de las neuronas, las estructuras son; corteza cerebral también llamada sustancia gris, sustancia blanca, núcleos basales, tálamo, hipotálamo, su tálamo, epitalamio, mesencéfalo, puente, bulbo raquídeo y todas las porciones de la medula espinal. El sistema nervioso periférico está formado por los nervios que emergen del tallo encefálico y de la medula espinal.

Fisiológicamente podemos también subdividirlo en una porción somática que es la encargada de inervar estructuras como los músculos, piel y las membranas mucosas y la otra porción, la porción autonómica, la cual controla estructuras que funcionan en su mayor parte de manera automática como las vísceras, vasos sanguíneos, glándulas y otros tejidos similares. El cerebro corresponde aproximadamente 2% del peso de un encéfalo de un adulto, contiene trillones de neuronas, interpuestas por otras células llamadas Células Gliales; astrocitos, oligodendrocitos, microglia y células ependimarias.

Las neuronas están conectadas entre sí por medio de sinapsis, donde utilizan neurotransmisores para pasar la señal de una neurona a otra, y esas múltiples conexiones que forman una red muy compleja es lo que nos da las funciones mentales superiores característica de los humanos y lo que nos diferencia de otras especies de la tierra (Agustine R. James, 2008 / Waxman Stephen, 2010 / Jacobson Stanley, Marcus Elliott 2011 / Crossman, Neary, 2015).

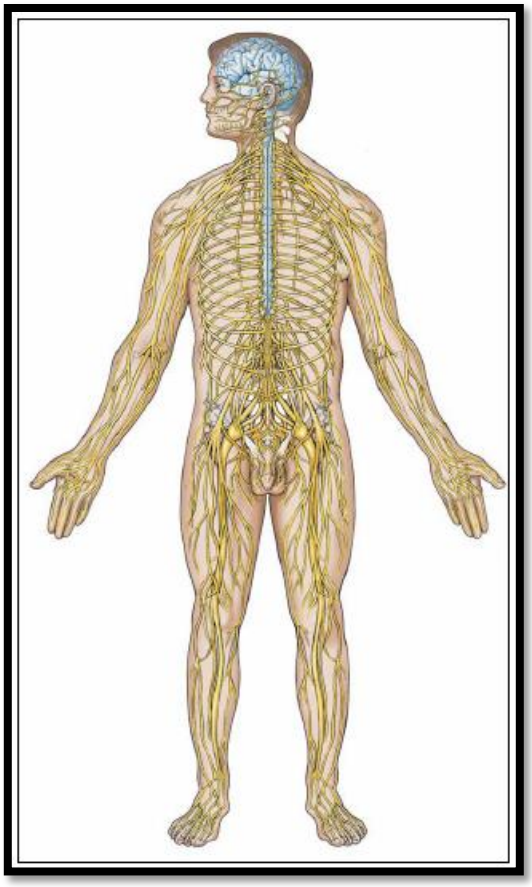

Figura 1: Muestra la división del Sistema Nervioso Central; Central (azul) y Periférico (amarillo).

Fuente: Bear Mark, 2016.

2.1.2 Células de Sistema Nervioso

La unidad funcional del sistema nervioso es la neurona. Una célula especializada en conducir, transmitir y almacenar información captada por los órganos de los sentidos. La estructura de esta célula es muy varia, morfológicamente hay muchos tipos de neuronas, todas ellas compuestas por tres estructuras básicas; con cuerpo neuronal, unas prolongaciones cortas llamadas dendritas y una prolongación más gruesa y larga llamada axón. Hay algunas neuronas en especial las relacionadas con los sentidos especiales, las

cuales cuentan con dos axones o un axón y una dendrita larga, por lo cual se les llaman neuronas bipolares o ganglionares (Waxman Stephen, 2010 / Crossman, Neary, 2015).

Se han clasificado las neuronas en tres grupos; neuronas multipolares que son las más frecuentes, poseen un axón y múltiples dendritas que surgen del cuerpo neuronal. Un segundo tipo de neuronas las bipolares que son la neurona que poseen un axón y una dendrita larga parecida a un axón. Y la neurona monopolares o unipolares, las cuales tienen la característica que tener una única prolongación que le sale desde su cuerpo. Las neuronas poseen las mismas características que el resto de las células de todo nuestro cuerpo, un núcleo con material genético, un citoplasma con organelos, una característica es la presencia de numerosas agrupaciones microscópicas de gránulos llamados gránulos de Nissl. Este gránulo no expresa el metabolismo activo que tienen las neuronas, por lo tanto, son células metabólicamente muy activas. Las neuronas tienen una compleja red de cadenas de proteínas estructurales denominadas microfilamentos, neurofibrillas y neurotubulos, que sirven de soporte y de transporte de sustancias dentro de la célula neuronal. Algunas neuronas especializadas poseen otros gránulos, por ejemplo, la neuromelanina, característica de neuronas productoras de catecolaminas, y otras neuronas pueden acumular pigmentos que son propios del desgaste por la edad con la lipofiscina un pigmento color pardo amarillento (Waxman Stephen, 2010 / Crossman, Neary, 2015).

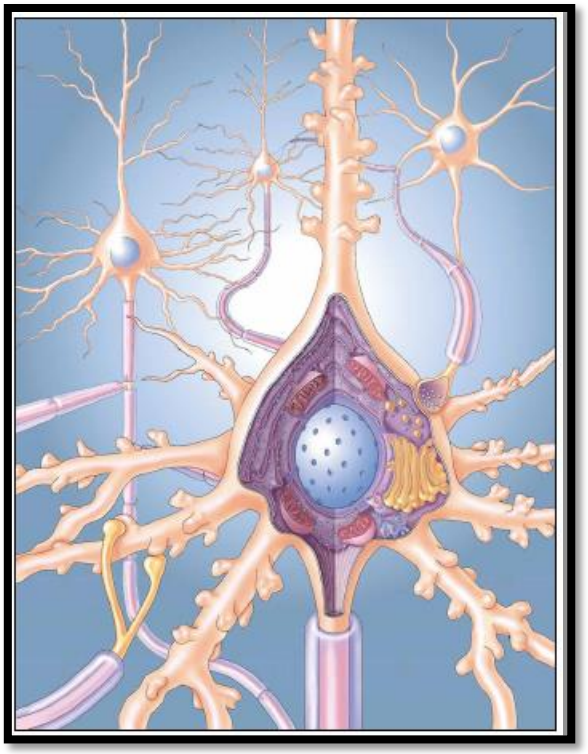

Figura 2: Una neurona con sus organelos y sus prolongaciones, las dendritas y el axón por abajo, con su capa de mielina.

Fuente: Bear Mark, 2016.

Las neuronas forman una red muy extensa, formada por trillones de interconexiones llamadas sinapsis, estas sinapsis están formadas por partes de las membranas neuronales de dos neuronas, en una membrana presinaptica, la hendidura sináptica y la membrana postsinaptica. Las localizaciones más frecuentes de estas sinapsis son del axón con una dendrita (axodendritica), de un axón al cuerpo neuronal (axosomaticas), de un axón a otro axón (de axón a otro axón) y finalmente de dendrita a dendrita (dendrodendriticas). Esta comunicación se lleva a través de unas sustancias proteicas, los neurotransmisores. Estas sustancias químicas se almacenan dentro de vesículas en las terminaciones sinápticas en la región presinaptica. Existen diversos neurotransmisores que se utilizan en las diferentes

y múltiples vías sinápticas. Un ejemplo es la acetilcolina un neurotransmisor muy utilizado en el sistema nervioso periférico, pero también está en el sistema nervioso central. Una patología relacionada con una disminución de la efectividad de la acetilcolina es la Enfermedad de Alzheimer, en especial en regiones frontales y parietales, así como porciones de la región temporal, y por lo tanto una parte fundamental en el tratamiento de esta enfermedad son fármacos que favorezcan la comunicación colinérgica.

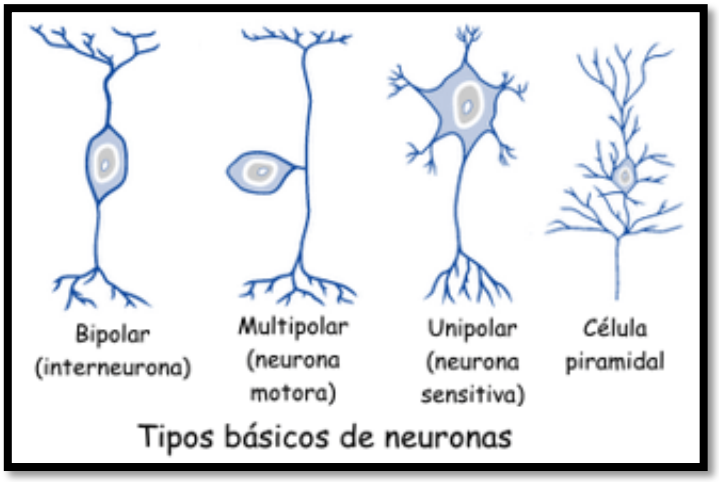

Figura 3: Tres tipos de neuronas, unipolar, bipolar y multipolar.

Fuente: Jacobson Stanley, Marcus Elliott, 2011.

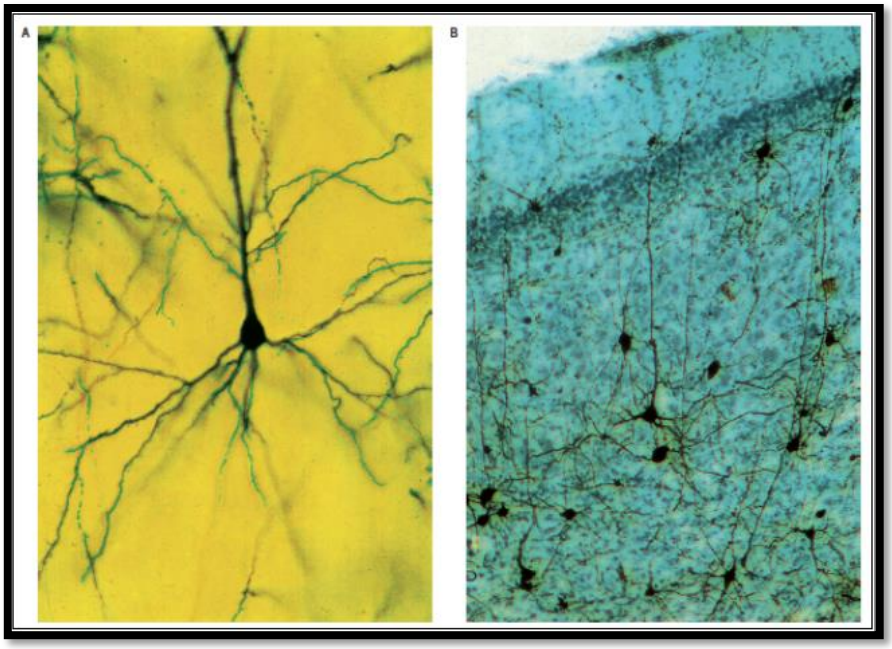

Figura 4: Neuronas con la tinción de Camilo Golgi, el científico que descubrió las neuronas y ganador del premio Nobel junto con Ramon y Cajal en 1906. a) Neurona solitaria, b) Neuronas teñidas con tinción de Golgi sobre una cama de estructuras cerebrales teñidas con tinción Nissl. Fuente: Jacobson Stanley, 2011 / Crossman, Neary, 2015 / Waxman Stephen, 2010.

Otro neurotransmisor es el ácido glutámico utilizado en varias regiones del sistema nervioso, y es una transmisora excitadora por excelencia. El ácido gammaaminobutirico es el transmisor inhibitorio por excelencia y también está distribuido en todo el encéfalo y medula espinal. En la medula espinal por ejemplo la glicina es un transmisor muy utilizado.

Existen otros neurotransmisores, que también actúan fuera del Sistema nervioso, en otro sistema, como, por ejemplo; noradrenalina, adrenalina y dopamina. Estas aminas están presentes en neuronas localizadas en el tallo encefálico, así como estructuras diencefalicas, y regiones en la medula espinal. Y en otros órganos fuera del sistema

nervioso como las glándulas suprarrenales las cuales producen adrenalina y noradrenalina. Estos neurotransmisores también se puede catalogar por su rapidez de acción en transmisores rápidos y lentos, dentro de los rápidos nos encontramos con la acetilcolina, por ejemplo, estos transmisores rápidos realizan cambios rápidos en la membrana debido a cambios en su potencial de acción a través de ciertas bombas anionicas. Los lentos como por ejemplo la dopamina realiza su efecto utilizando un segundo mensajero como el monofosfato de adenosina cíclico (Waxman Stephen, 2010 / Crossman, Neary, 2015).

También existen unos transmisores, que son generalmente péptidos o neuropetidos como; las encefalinas, sustancia P, colecistocinina, somatostatina y dinorfina, entre otros. Este se encuentra junto con los neurotransmisores típicos en la sinapsis. Esos neuropetidos también se los conoce como neuromoduladores. Finalmente, cuando el transmisor hace su efecto es eliminado vía enzimática o recaptado por las neuronas efectoras, para así cesar su efecto sobre la otra neurona Las neuronas forman una red muy compleja, esta red esta entremezclada con otra red muy extensa, la red de Neuroglia. La neuroglia está formada por diferentes tipos de células; astrocitos, alogodendrocitos y microglia. Los astrocitos tiene forma de estrella, parecida a una neurona con puras dendritas, estas son más abundantes que las neuronas, sirven de soporte y proporcionan una muy pequeña reserva de glucógeno, así como ayuda a la eliminación de ciertas sustancias de desecho. También son parte fundamental de la Barrera hematoencefalica, que es una barrera formada por prolongaciones astrociticas sobre los capilares, haciendo una capa extra muy selectiva única en todo nuestro organismo. Los oligodendrocitos son células con pocas prolongaciones, que se encuentra en los axones y son responsables de producir una

sustancia que recubre a los axones y sirve para acentuar la velocidad de transmisión axonica, la mielina. En el sistema nervioso periférico encontramos a su equivalente, las células de Schwann. La microglia, son células con muy pocas prolongaciones, estas son los macrófagos del sistema nervioso, su función es proteger ante agentes extraños y para eliminar ciertas sustancias Existen un quinto tipo de célula en el encéfalo o un cuarto de célula glial, los ependimocitos, que son células que recubre los ventrículos y plexos coroides (Waxman Stephen, 2010 / Crossman, Neary, 2015).

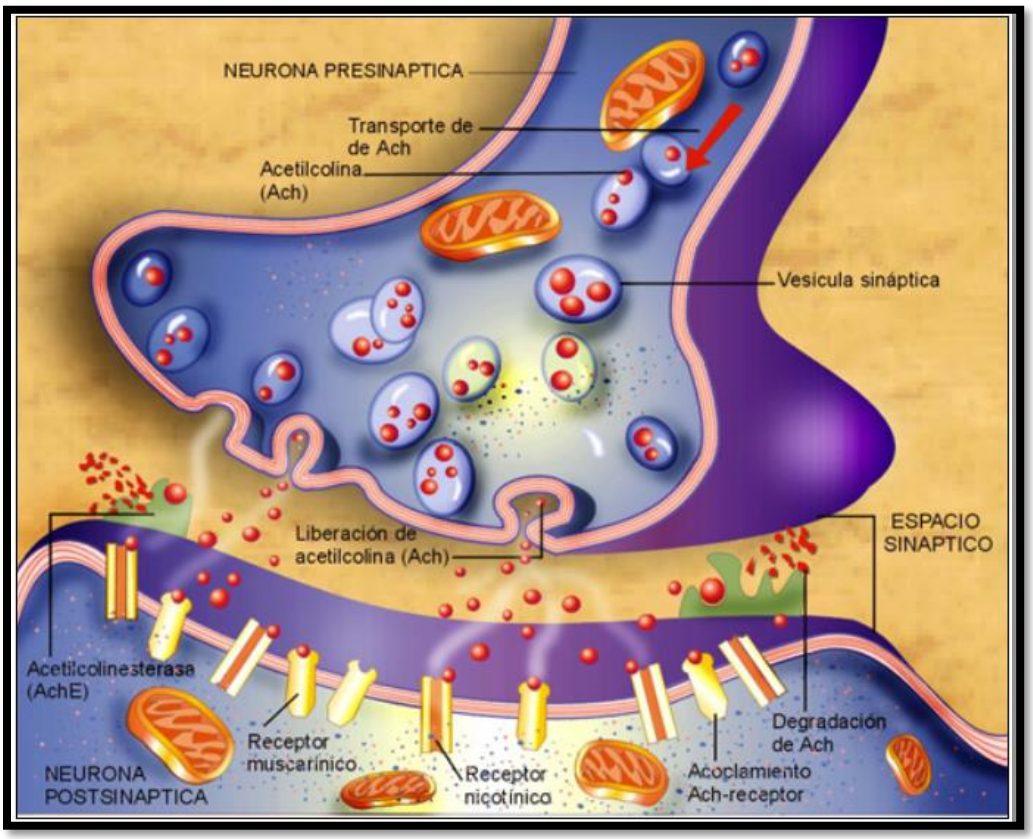

Figura 5: Los compuestos de la sinapsis; neurona presinaptica, hendidura sináptica y la neurona postsinaptica, utilizando acetilcolina como neurotransmisor.

Fuente: Waxman Stephen, 2010 / Crossman, Neary, 2015 / Jacobson Stanley, 2011.

2.1.3 Anatomía Macroscópica del Sistema Nervioso

La parte más evolucionada y con mayor volumen en nuestro encéfalo es la corteza cerebral o también llamada sustancia gris. En este sitio se encuentran todos los cuerpos neuronales, y está divida en seis capas, y en esas seis capas se encuentras diferentes tipos de neuronas morfológicamente hablando. Los hemisferios cerebrales además de estar compuestos de sustancia gris o corteza cerebral están compuestos por sustancia blanca, que corresponde a todos los axones que emergen de cada una de las neuronas de la sustancia gris. Entre mesclados en la sustancia blanca se encuentra un acumulo de neuronas, son cinco estructuras principalmente llamadas núcleos basales; caudado, putamen, globo pálido, núcleo subtalamico y sustancia negra. Estas tres regiones; corteza, sustancia blanca y núcleos basales corresponden al telencéfalo, una vesícula secundaria.

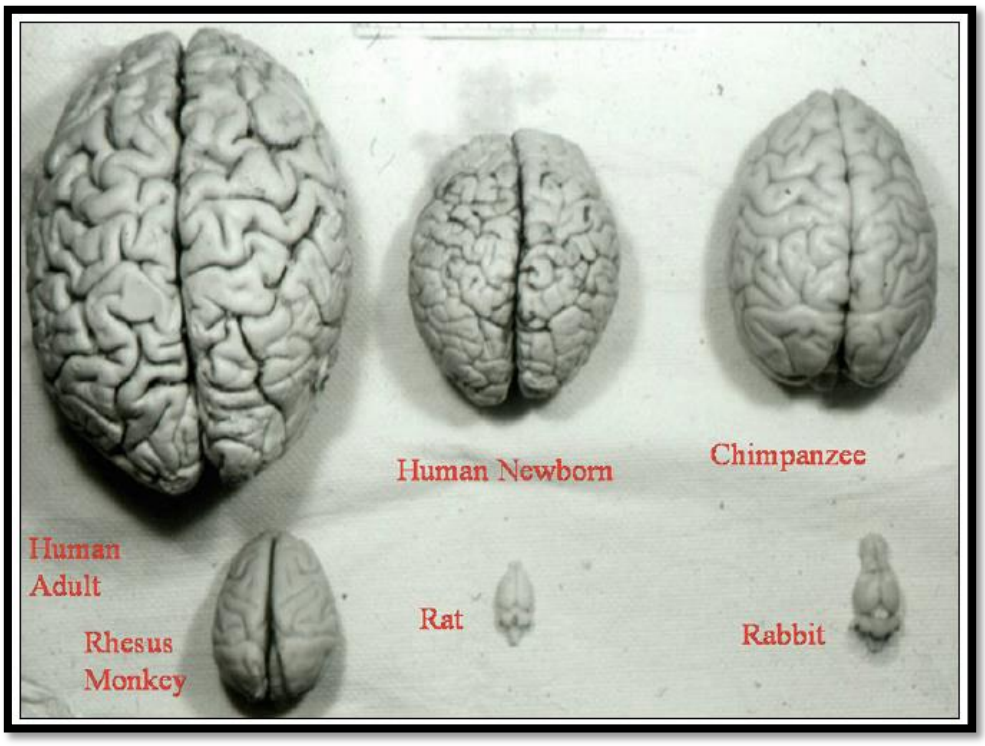

Figura 6: La diferencia entre el encéfalo humano y algunos animales; la corteza cerebral donde se encuentran con cuerpos neuronales es la porción predominantemente mayor en el humano.

Fuente: Jacobson Stanley, 2011 / Crossman, Neary, 2015 / Waxman Stephen, 2010.

Situadas medialmente y profundos en la sustancia blanca se encuentra unas estructuras que corresponden al Diencefalo, compuesto por cuatro regiones; tálamo, hipotálamo, epitalamio y subtalamo. Estas estructuras tienen la característica de ser estructuras de interconexión, y forman parte de sistemas neuronales más especializados. El tálamo es un centro de relevo, el más importante, donde casi todas las áreas del sistema nervioso convergen. El hipotálamo es una estructura relacionada de manera íntima con la hipófisis, formando un eje, es el sitio hormonal más importante del sistema nervioso, aproximadamente 8 circuitos hormonales están bajo su control. El epitalamio la estructura central es otra glándula, l glándula pineal, relacionada con el ciclo sueno y vigilia y más importante con la madurez sexual, la cual se calcifica después de la pubertad. Y por último el subtalamo es una estructura de transición hacia el tallo encefálico. El diencefalo y telencéfalo provienen de una vesícula primaria, el proscencefalo (Kandel Erick, 2013 / Crossman, Neary, 2015 / Waxman Stephen, 2010).

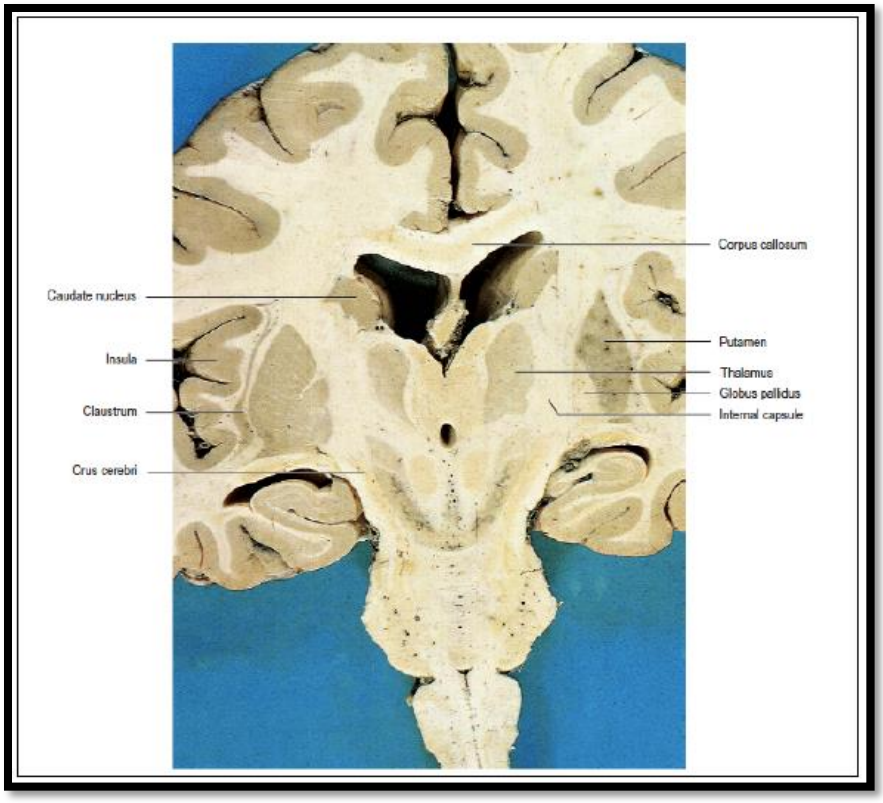

Figura 7: Se muestra las dos estructuras más externas; la sustancia gris y la sustancia blanca, así como estructuras profundas como los núcleos basales y tálamo, en conjunto el proscencefalo.

Fuente: Crossman, Neary, 2015 / Waxman Stephen, 2010.

En su porción inferior y central en la fosa posterior del cráneo se encuentra el tallo encefálico, compuesto por tres estructuras; el mesencéfalo, puente y bulbo raquídeo. El mesencéfalo al igual que las otras estructuras del tallo encefálico, tiene fibras de proyección de paso, así como núcleo que van a dar origen a algunos nervios craneales para realizar todas las funciones principalmente ubicadas en la cabeza, que van desde la visión, movimiento ocular, entre algunas funciones. El puente también tiene núcleos que dan origen a algunos nervios craneanos como el trigémino, encargado de la sensibilidad de toda la

cabeza, tanto en su región externa como interna. El bulbo raquídeo, presenta núcleos neuronales de vital importancia, como por ejemplo el núcleo que controla la función autonómica del sistema cardiovascular y respiratorio que son vitales, así como sistema digestivo a través del nervio vago o decimo nervio craneal. Y finalmente se encuentra la medula espinal, dividida en cuatro regiones, protegida por la columna vertebral, una estructura ósea, compuesta por múltiples huesos cortos. Las cuatro divisiones de la medula son: cervical, dorsal, lumbar y sacrococcigea, teniendo en cuenta que la medula espinal es más corta que la columna vertebral. De esta estructura emergen múltiples raíces nerviosas dirigidas a todas las estructuras de nuestro cuerpo, así como la entrada de múltiples fibras provenientes de todo nuestro cuerpo, de tipo sensorial. Estos nervios en conjunto son el sistema nervioso periférico (Kandel Erick, 2013 / Crossman, Neary, 2015 / Waxman Stephen, 2010).

Si se observa el encéfalo por fuera, se observaría la corteza cerebral o sustancia gris la porción más extensa de todo nuestro sistema nervioso, se observarían surcos y fisuras presentes, la cuales la fisura interhemisferica, lateral o de Silvio, central o de Rolando, la parietooccipital y la calcaría son las más constantes. Estas dividen la corteza en 4 lóbulos; lóbulo frontal, parietal, temporal y occipital. Cada uno de estos lóbulos presentan fisuras y entre cada fisura se encuentran unos pliegues llamados circunvoluciones. Ninguna persona tenemos igual la corteza cerebral, solo una pequeña proporción de los humanos se parece. Cada región, cada parte de esa corteza tiene una función. En el ano de 1909 Korbinian Broadmann realizo la primaria división citoarquitectonica de la corteza enumerándola y colocando función a cada número. Actualmente se han hecho modificaciones, pero gran

parte su clasificación permanece sin cambios. (Kandel Erick, 2013 / Crossman, Neary, 2015 / Waxman Stephen, 2010).

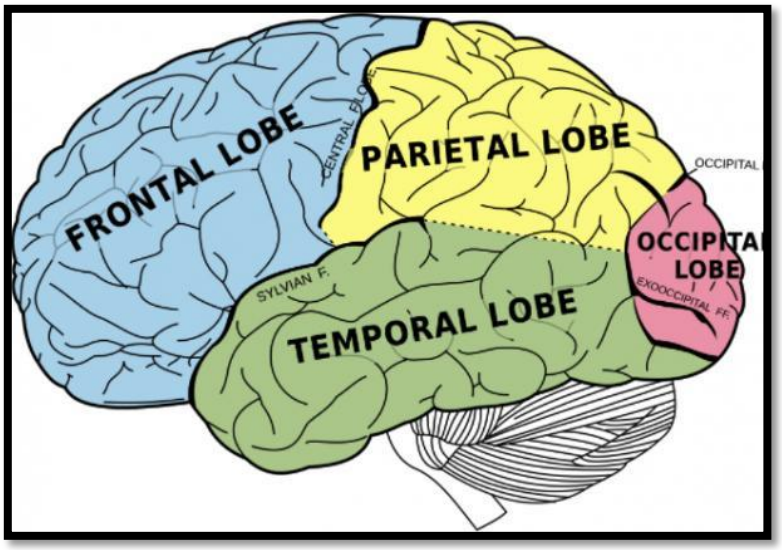

Figura 8: Lóbulos cerebrales, divididos por la fisura lateral o de Silvio, central o de Rolando y la parietoccipital.

Fuente: Crossman, Neary, 2015 / Waxman Stephen, 2010.

El termino áreas primarias o áreas elocuentes, son agrupaciones de neuronas en sitios establecidos que corresponden a un 15% aproximadamente de la corteza, que tienen relación con órganos de los sentidos y funciones motoras y sensitivas. El resto del encéfalo son zonas de interconexión, de intercambio informático, formando redes, lo que nos da las funciones mentales, propias de los seres humanos (Kandel Erick, 2013)

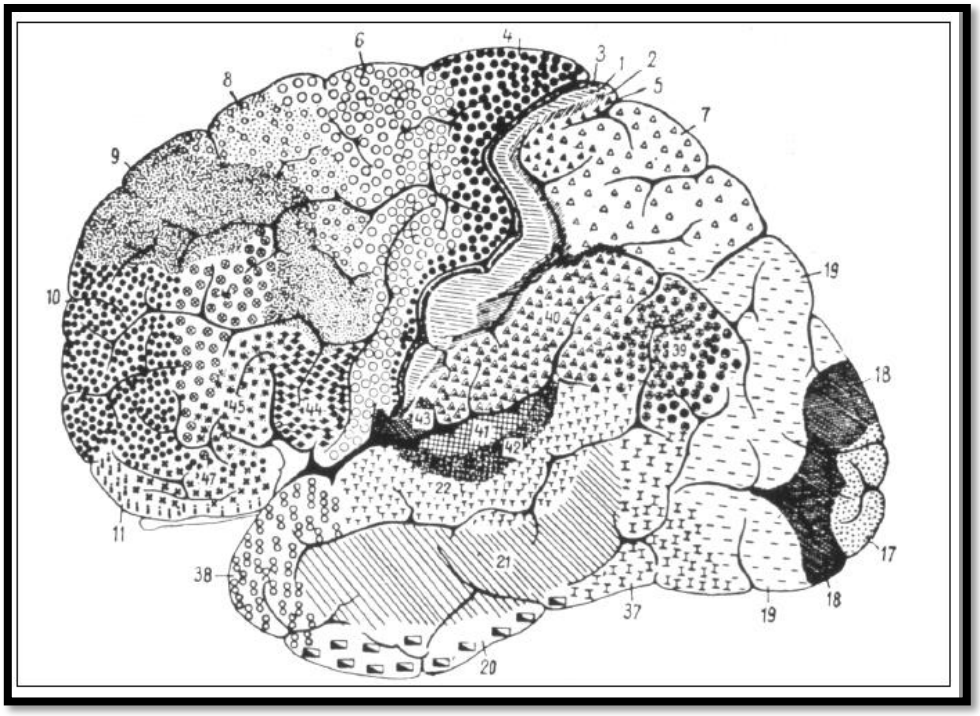

Figura 9: Mapa de la citoarquitectura de Korbinian Broadmann 1909, primeras clasificaciones científicas de la corteza cerebral, vista lateral.

Fuente: Kandel Erick, 2013.

2.1.4 Sistema Límbico

El sistema límbico consta de una serie de estructuras corticales y subcorticales parecidas o contiguas de manera filogenética, antiguas, con conexiones complejas y extensas. Proporcionan las bases para los mecanismos instintivos y emocionales de la conducta y para la memoria. Tiene múltiples interconexiones y conexiones con otros sistemas como la región de hipotálamo, por la cual se integran respuestas fisiológicas y bioquímicas con cambios en el estado del ánimo y la memoria. El nombre Sistema Límbico se refiere a estructuras en forma de C, localizadas lateralmente en los hemisferios, que son una serie

de regiones anatómicas que llegan finalmente al hipotálamo, de donde parte hacia el tálamo y del tálamo a la corteza.

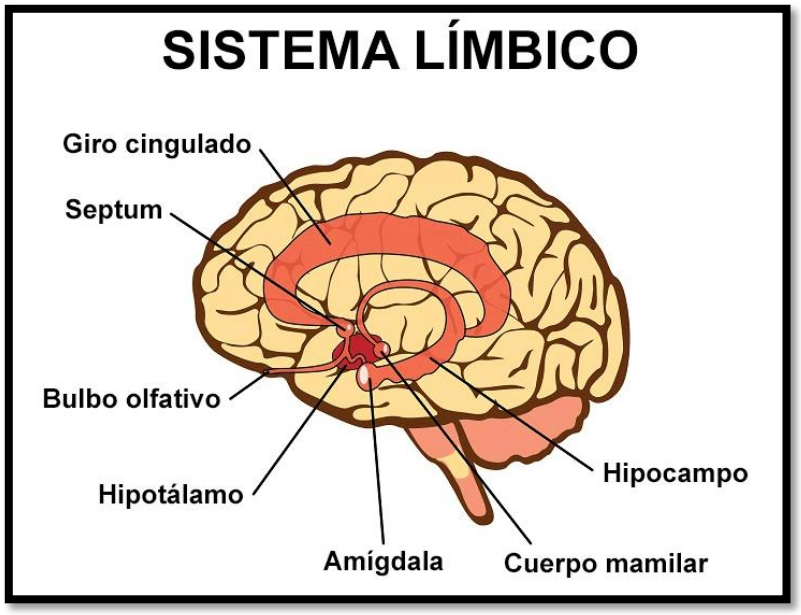

Figura 10: Estructuras que conforman el Sistema Límbico.

Fuente: Crossman Alan, Neary David, 2015.

Las múltiples e intensas aferencias del sistema límbico desde regiones corticales en especial áreas de asociación, denotan la compleja relación y función que es la conducta humana, una relación en conducta instintiva y conducta cortical o superior. De forma simplificada podemos decir que la información del mundo exterior se recoge de formas específicas para cada modalidad sensitiva como la visión, audición y tacto. Estas Funciones se refinan en áreas de asociación en el lóbulo parietal y temporal. Posteriormente se transmiten hacia regiones inferiores.

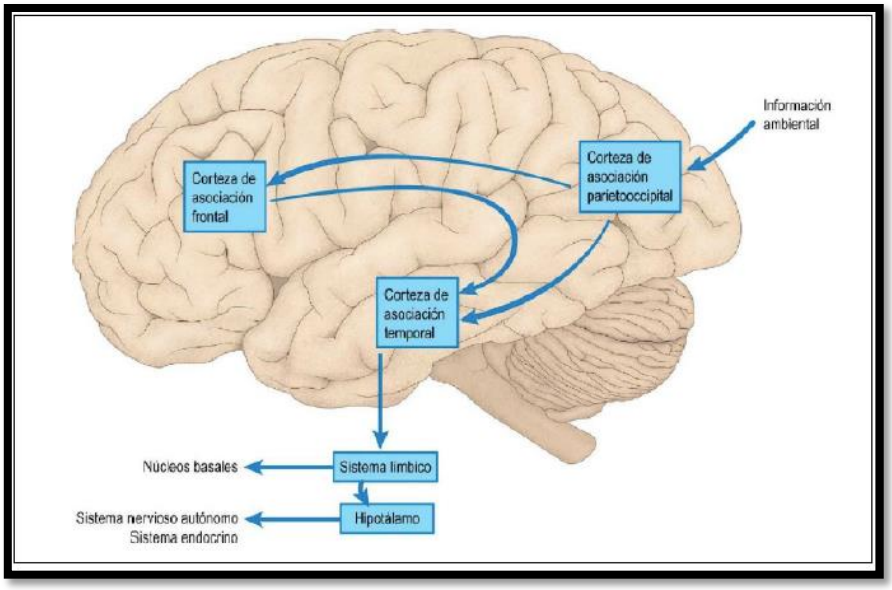

Figura 11: Las principales conexiones del sistema límbico.

Fuente: Crossman Alan, Neary David, 2015.

La entrada de la información en el sistema límbico se produce directamente al cuerpo amigdalino o indirectamente a la formación hipocampal a través del área entorrinal, el cuerpo amigdalino es muy importante para el tono emocional y motivacionales de las experiencias, en especial el tono emocional y motivación de la memoria de trabajo, la cual se ingresa por el hipocampo. A través del hipocampo también se acceso a memoria de largo plazo para cruzar dicha información u crear nueva, formando así el proceso de aprendizaje o cognitivo. El sistema límbico también influye en respuestas motoras, interviniendo en su análisis informativo a través de las proyecciones con una serie de núcleo localizados en la región septal, principalmente el núcleo accumbens septi, que forma parte de los núcleos basales y está conectado con el hipotálamo.

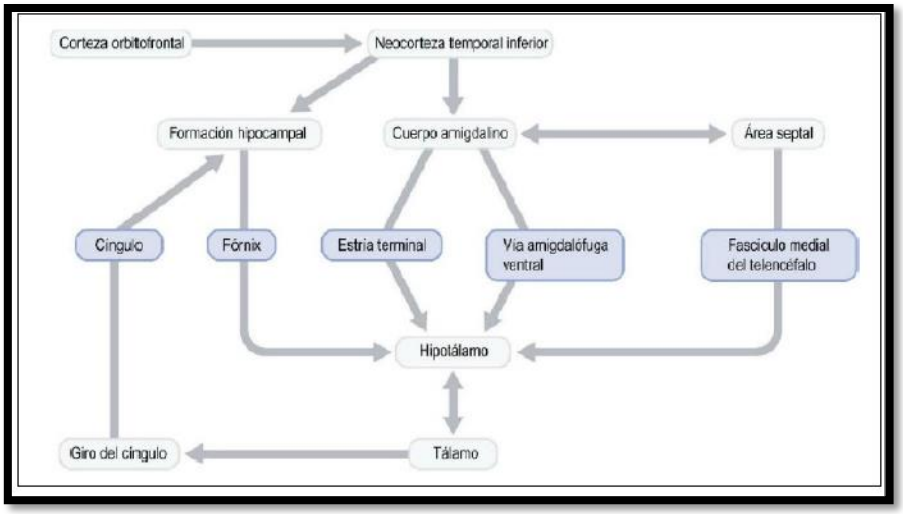

Figura 12: Sistema Límbico-Hipocampo-Hipotálamo.

Fuente: Crossman Alan, Neary David, 2015.

Los sistemas límbicos entre sus funciones básicas son: la memoria y las emociones y motivación. La conducta orientada a un objetico depende en gran parte de los estados motivacionales que la inician y de los resultados de dichas respuestas. Este tipo d estructuras tienen que ver con el desarrollo de la relación con la recompense, castigo y la evitación del castigo en base experiencias del pasado. En animales inferiores los repertorios conductuales son relativamente sencillo innato y responden rápidamente a los estímulos ambientales. En el hombre a diferencia de los animales, los estados motivacionales y emociones también permiten respuestas rápidas a estímulos ambientales, como los peligros, y aprender a largo plazo dichas experiencias. Debido al gran desarrollo cortical humano en especial áreas de asociación de la neocorteza permite conseguir y establecer una conducta adaptada por periodos prolongados como por ejemplo anos. Los Estados motivacionales pueden ser instintivos en el hombre y en los animales, por ejemplo, las conductas de miedo, huida, alimentación y la respuesta sexual que son funciones que

permiten la auto preservación en el medio. Las emociones primarias aparecen en humanos en las respuestas individuales al entorno y se evidencias en las mismas expresiones faciales de gozo y malestar sorpresa y disgusto, temor e ira que existen en todas las culturas humanas. En los seres humanos las emociones sociales se experimentan y expresan entre individuos, por ejemplo, el amor y el odio, los celos, y la envidia, el orgullo y la culpa, la empatía la simpatía. El ánimo representa estados afectivos prolongados que pueden reflejar respuestas adecuadas al ambiente o ser patológicas por ejemplo depresión, ansiedad y euforia. El cuerpo amigdalino es una estructura situada cerca del polo del lóbulo temporal, recibe aferencias de la corteza de asociación del temporal inferior, tálamo, área septal y tractos olfatorios, además recibe proyecciones catecolaminergicas y serototinergicas desde el tronco encefálico. La principal proyección eferente del cuerpo amigdalino es la estría terminal que discurre por la pared del ventrículo lateral, siguiendo la curvatura del núcleo caudado para acabar en el hipotálamo.

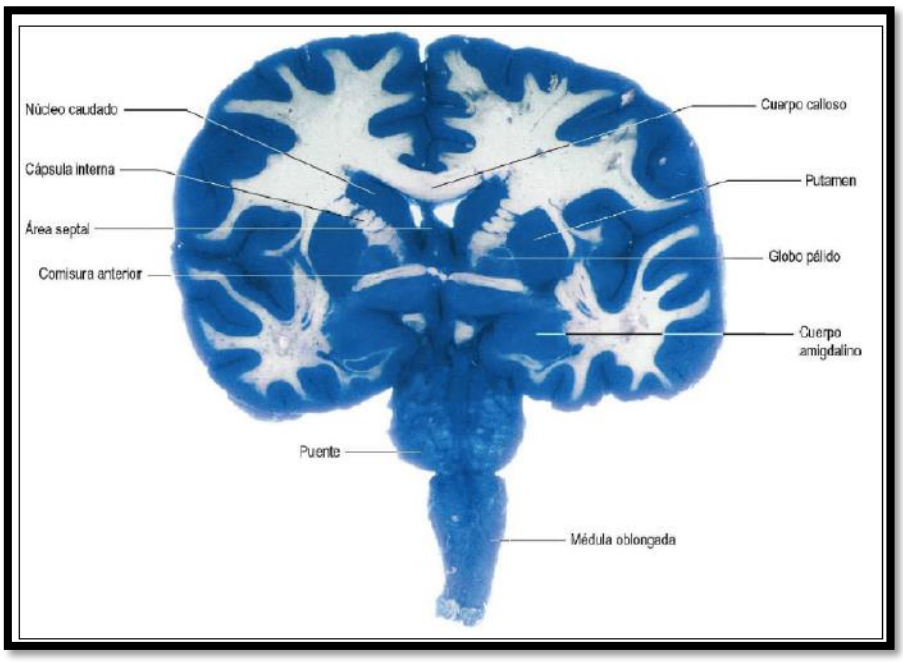

Figura 13: Localización del Núcleo Amigdalino, Área septal y Núcleos basales en un corte coronal a nivel de la capsula interna.

Fuente: Crossman Alan, Neary David, 2015.

Una estructura central y pudiéndose considerar la estructura central del sistema límbico es el hipocampo. El hipocampo está formado por un pliegue hacia adentro de la parte inferomedial del lóbulo temporal, hacia el interior del ventrículo lateral a lo largo de la línea de las fisuras coroideas. Le giro dentado una región del hipocampo, se encuentra entre el giro hipocampico y el hipocampo propiamente dicho. La formación hipocampica recibe aferencias de la corteza temporal inferior a través del área entorrinal, también fibras del fornix contralateral y comisura hipocampo. La principal vía eferente es el fornix. El fornix es un fascículo de fibras en forma de C, de lateral a medial que terminan en el núcleo mamilar del hipotálamo. Del cuerpo mamilar a su vez se proyecta hacia el grupo nuclear anterior del tálamo a través del fascículo mamilotalamico. Después de llegar al tálamo, se dirigen al giro del cíngulo que es neocorteza.

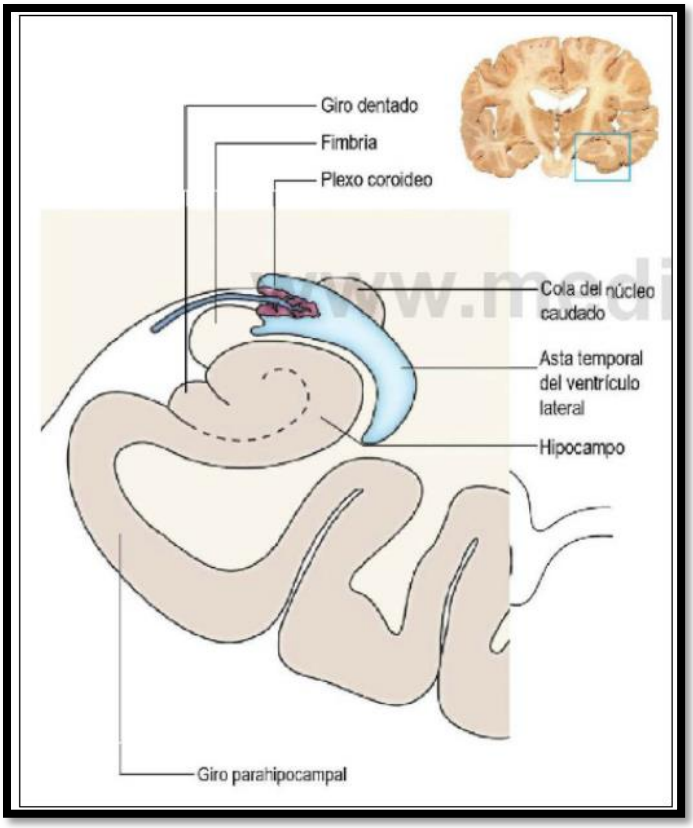

Figura 14: Hipocampo, estructura central del sistema límbico, vital para la cognición y aprendizaje.

Fuente: Crossman Alan, Neary David, 2015.

2.2 Ácidos Grasos Poliinsaturados de cadena larga en la cognición.

El papel que juega la alimentación en las neurociencias es muy complejo, debido a sencillamente a que todavía no se termina de entender ambas ciencias por completo, pero desde hace varios siglos se está relacionando la nutrición con la función cerebral. El interés no solo es por el efecto de un solo nutrimento sobre el cerebro si no por los múltiples nutrimentos en conjunto y su efecto en el cerebro. Cognición se refiere al proceso mental que involucra adquisición de conocimiento y la interacción de estos procesos en el

aprendizaje, atención, memoria, inteligencia y la conciencia. En la última década se han reportado múltiples estudios que involucran nutrición y función cerebral, la mayoría sugiere una relación clara, entre buena nutrición y una mejor función cerebral.

Los factores en general relacionados con la función cerebral a parte de los aspectos nutricionales son; la actividad física, edad, sexo, factores genéticos, estrés, factores epigeneticos, ambiente y las interacciones sociales. Por lo tanto, el descifrar si la nutrición por si sola es un factor único involucrado en el mejoramiento de la función cognitiva está en investigación, con más estudios a favor en ciertos nutrimentos. (Carlson Susan, 2009 **/** Dauncey M.J. 2009 / Gómez Pinilla, 2008).

Existen dos factores de mayor importancia; la variabilidad genética y la nutrición en edades tempranas, la cual afecta de manera profunda la salud mental de edades posteriores. Existen desde hace 10 años un aumento considerable en información relacionada con el entendimiento de los mecanismos moleculares sobre el efecto de la nutrición y la salud mental, en especial estudios relacionados con hormonas, factores de crecimiento y los aspectos genéticos. La dieta balanceada es un punto muy estudiado, tanto el balance energético como el balance de ciertos ácidos grasos en especial los omega-3 y omega-6, donde la dieta mediterránea es las más apegada a lo que hoy se considera un balance beneficioso que es por cada cuatro omega-6 un omega-3, aproximadamente (Dauncey M.J., 2009).

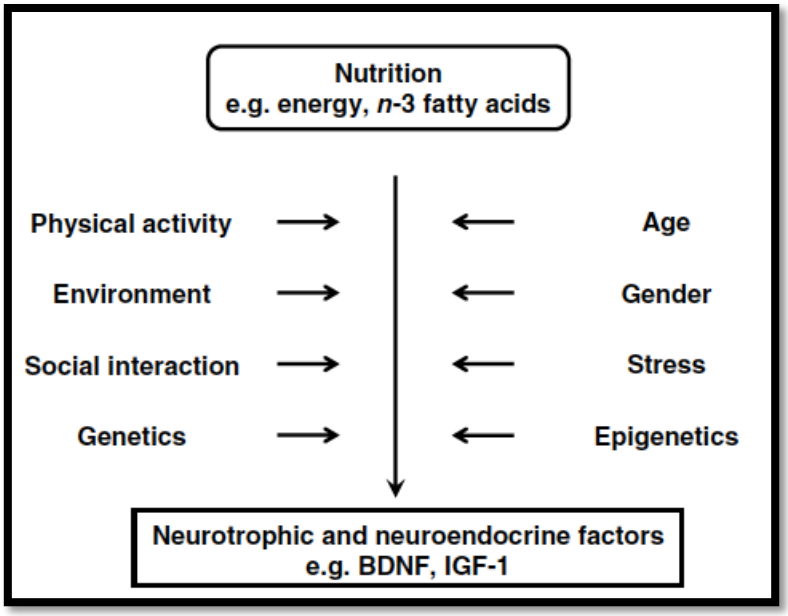

Figura 15: Factores asociados a nutrición y función cerebral

Fuente: Dauncey M.J., 2009.

La dieta mediterránea involucra el consumo de cantidades mayores de vegetales, frutas, cereales, pescado, grasas insaturadas, y consumo menor de vino, de carnes rojas y procesadas, lácteos y grasas saturadas. Esta dieta en especial está relacionada en estudios con prevención de algunos procesos patológicos que deterioran la función mental como la enfermedad de Alzheimer una tipo de demencia progresiva, considerada la más frecuente a nivel mundial, antes de que aparezca esta enfermedad se encuentra un estadio previo que puede durar hasta 10 años, que es el deterioro cognitivo leve, y la dieta mediterránea reduce el riesgo tanto para la enfermedad de Alzheimer y prevenir que de un estado de deterioro cognitivo leve evoluciones a una demencia, y en algunos estudios se encuentra que cura el deterioro cognitivo leve. Sin embargo, en las investigaciones también se encuentro que la actividad física juega un papel muy importante. Otro factor muy importante es el aporte calórico, el cerebro juega un papel fundamental en la regulación de la ingesta,

esto debido algunas estructuras como el hipotálamo el cual se le reconoce tener centros de saciedad de alimentos y de ingesta de líquidos, por lo tanto, el encéfalo controla de manera directa el consumo energético. Pero también el aporte energético diario influye en el cerebro. Está demostrado que la sobre nutrición aumenta el daño por estrés oxidativo, reduce la plasticidad neuronal, reduce la función cognitiva y produce un estado pro inflamatorio, en contraparte una ligera malnutrición tiene el efecto contrario. Una dieta sobre calórica y el sedentarismo aunado produce un riesgo considerable de demencias tipo Alzheimer en adultos. Pacientes con trastornos psiquiátricos o psicológicos, como la esquizofrenia, desorden bipolar, así como algunos trastornos de conducta en niños tienen un riesgo más elevado de presentar síndrome metabólico o algunas de sus enfermedades (Dauncey M.J. 2009 / Gómez Pinilla, 2008 / Gómez Pinilla 2011 / Zarranz J.J. 2013).

Actualmente existe evidencia aparte del ejercicio y de un aporte energético balanceado, que no solo en estados de deficiencia la suplementación con ciertos nutrimentos pueden ser favorables sino también en un paciente sano, una explicación es que la dieta en las ciudades no es de la mejor calidad, muchas veces sufriendo procesos de preparación que retiran ciertos nutrimentos por lo tanto vivimos en un estado de malnutrición y generalmente con sobrecarga del aporte energético, en estos casos se observa un efecto claro sobre la cognición y el bienestar general con la suplementación. Está en discusión si la suplementación de algún nutrimento en un sujeto que cuenta con una dieta balanceada y suficiente tenga algo de mejoría. Los siguientes nutrimentos cuentan con abundante literatura tanto científica como no científica de su efecto beneficioso sobre la salud mental

y son; omega- 3, los Gangliosidos, Polifenoles, Ácido fólico, y algunos oligoelementos como el zinc, hierro y cobre (Dauncey M.J. 2009 / Gómez Pinilla, 2008 / Zarranz J.J. 2013).

Se a demostraron la importancia de los lípidos en el crecimiento y desarrollo de ratas; continuando con las investigaciones de Hansen, respecto de la esencialidad de los ácidos grasos linoleico y alfa linolenico a mediados de 1960; posteriormente los reportes de Dyerberg y Bang que demostraron el rol cardioprotector de los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 de cadena larga y más recientemente los trabajos de Bazán, quienes identificaron a los ácidos docosahexaenoico (DHA) y araquidónico (AA) en cantidades importantes en el tejido cerebral. Solidas evidencias experimentales, clínicas y epidemiológicas han establecido la importancia para el ser humano de los ácidos grasos poliinsaturados, especialmente aquellos de cadena larga (de 20 o más átomos de carbono). El DHA es un ácido graso particularmente interesante debido a su estructura altamente insaturada y ubicación celular, ya que se encuentra mayoritariamente concentrado en la posición sn-2 de los fosfolípidos de las membranas celulares a las que aporta una gran fluidez (Valenzuela R., 2013 / Gómez Pinilla, 2008).

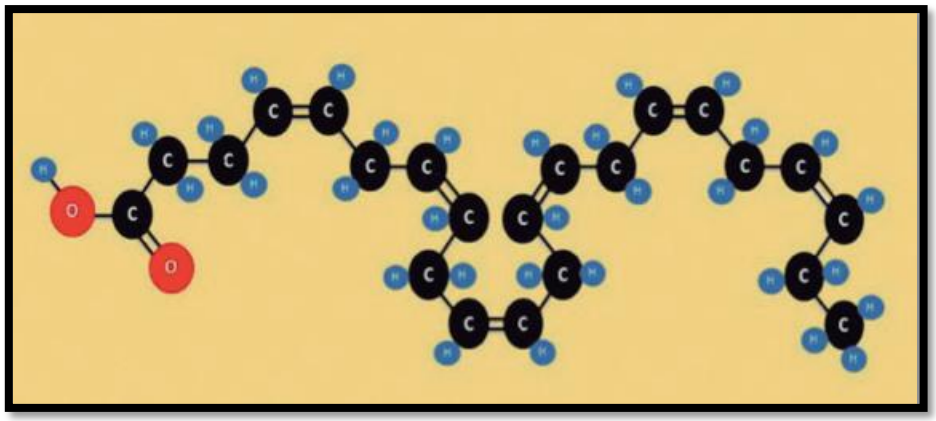

Figura 16: Molécula del ácido docsahexaenoico (DHA)

Fuente: Valenzuela R., 2013.

El DHA está presente en cantidades significativas casi exclusivamente en los alimentos de origen marino (pescados, mariscos, algunas algas y alguno mamíferos) y fue precisamente la incorporación de estos alimentos lo que marco de forma significativa un punto de inflexión en la evolución humana proceso que se caracterizó por un incremento en la masa encefálica y en el desarrollo de las habilidad motrices con un fuerte componente cognitivo (Newman M., 2001 / Richards MP, 2001 / Valenzuela R. 2013)

EL DHA tiene una importancia en el embarazo y los primeros años de vida, etapa en la cual este ácido graso cumple un papel trascendental en el desarrollo cerebral, repercutiendo directamente en la capacidad de aprendizaje, memorización. Junto con los beneficios para el desarrollo cerebral que otorga el DHA, fundamentales en la etapa perinatal. Se han observado un papel como neuroprotector ya que se observa un efecto preventivo para algunas enfermedades cerebrales cronicodegenerativas (Valenzuela R., 2013 / Gómez Pinilla, 2008).

2.3 Composición de la membrana neuronal

La neurona presenta los mismos componentes que el resto de las células de todo nuestro cuerpo, una estructura muy importante es la membrana neuronal. Esta es una estructura que sirve para aislar o delimitar dos espacios; uno intracelular y otro extracelular. Es una estructura muy especializada y altamente selectiva, controlando que entra o sale de la

célula. Mantiene una concentración de iones de manera equilibrada en el espacio extra e intracelular. Actualmente el modelo manejado de la membrana celular es un modelo llamado de mosaico fluido, donde esta estructura es flexible y muy dinámica, compuesta por una bicapa del lípido, así como proteínas y azucares que la atraviesan, con una característica de ser permeable a ciertas sustancias. Esta es una estructura de suma importancia para la neurona ya que es la base fisiológica para la transmisión nerviosa.

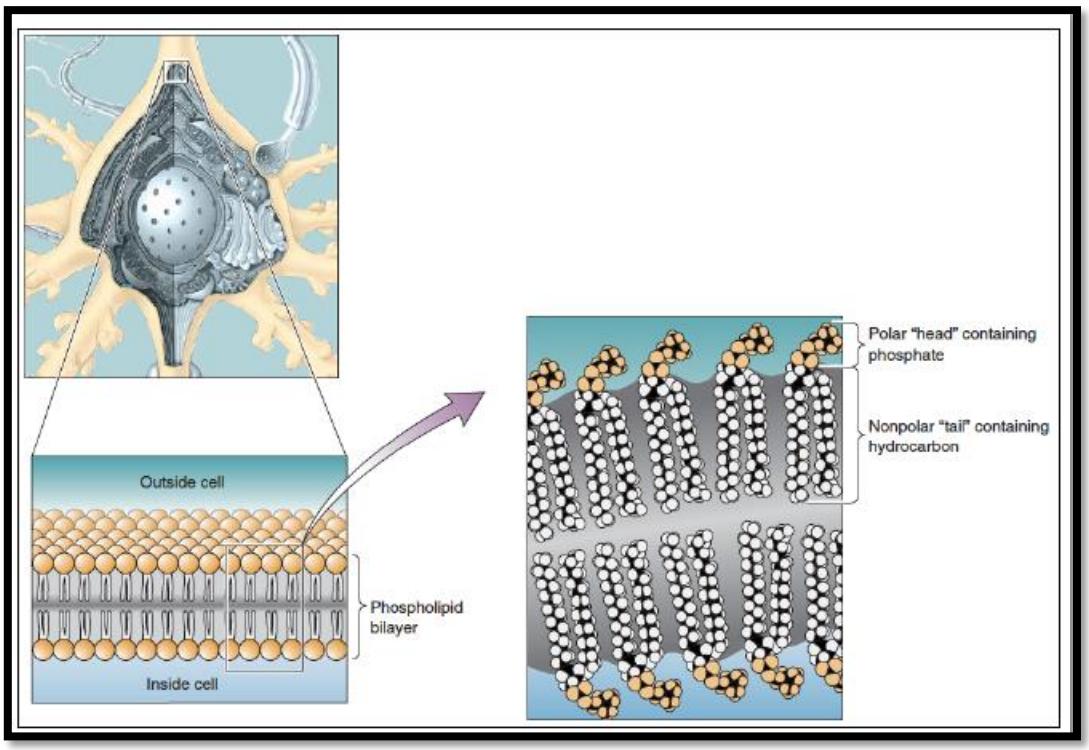

Figura 17: La membrana neuronal, compuesta por una capa doble de lípidos con un extremo polar de fosfato y una cola con hidrocarbono.

Fuente: Bear Mark, 2016.

Los elementos constituyentes de la membrana son lípidos, proteínas y carbohidratos, así como iones metálicos. La proporción en que estos componentes están en la membrana es

diferente en todas las células, incluso en cada segmento de una misma célula puede variar. Por ejemplo; la membrana de la mielina puede contener tres cuartas partes de su peso en forma de lípidos, mientras que la membrana interna de la mitocondria puede tener esta misma proporción de proteínas. También difieren en los tipos de lípidos de cada membrana celular. Los lípidos más frecuentemente encontrados son; fosfolípidos, glucolipidos y esteroles (Bear Mark, 2016 / Gimenez C. 1998).

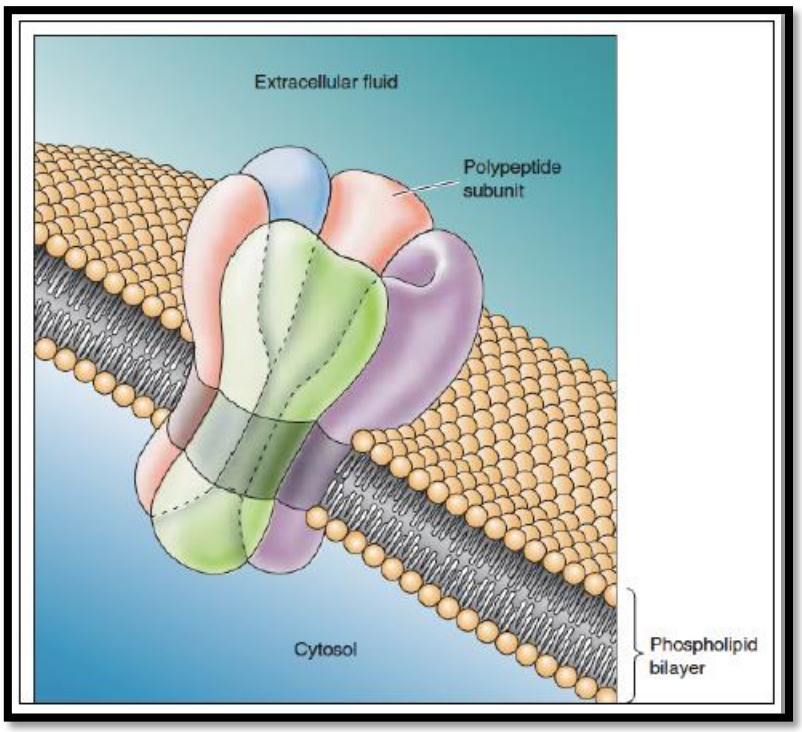

Figura 18: Un ejemplo de los Canals iónicos compuestos por polipéptidos con un segmento altamente hidrofóbico; zona sombreada.

Fuente: Bear Mark, 2016.

Las propiedades estructurales y funcionales de cada membrana dependen principalmente de la proporción en que cada clase de lípido. Recordando que está formada por una bicapa

de lípidos. Las diferentes estructuras de la membrana se mantienen unidas por enlaces tipo iónico-salino, enlaces por puentes de hidrogeno y por fuerzas de Van der Waals. Los fosfolípidos constituyen la mayoría de los lípidos en todas las membranas celulares. En los medios acuosos la cabeza polar de los fosfolípidos interacciona con las moléculas de agua circundante o con otros componentes de la fase acuosa, mientras que las colas no polares interaccionan con ellas mismas formando así una fase separada. Los componentes principales de ácidos grasos de la membrana son; el palmítico, palmitoleico, esteárico, oleico, linoleico, linolenico, docosahexaenoico, eicosapantaenoico y araquidónico. Esta composición tan peculiar, donde ciertos ácidos grasos forman parte muy importante de la estructura celular ha impulsado numerosos estudios relacionándolos con un mejor funcionamiento neuronal, en especial el docosahexaenoico, eicosapantaenoico, linoleico y araquidónico (Bear Mark, 2016 / Gimenez C. 1998).

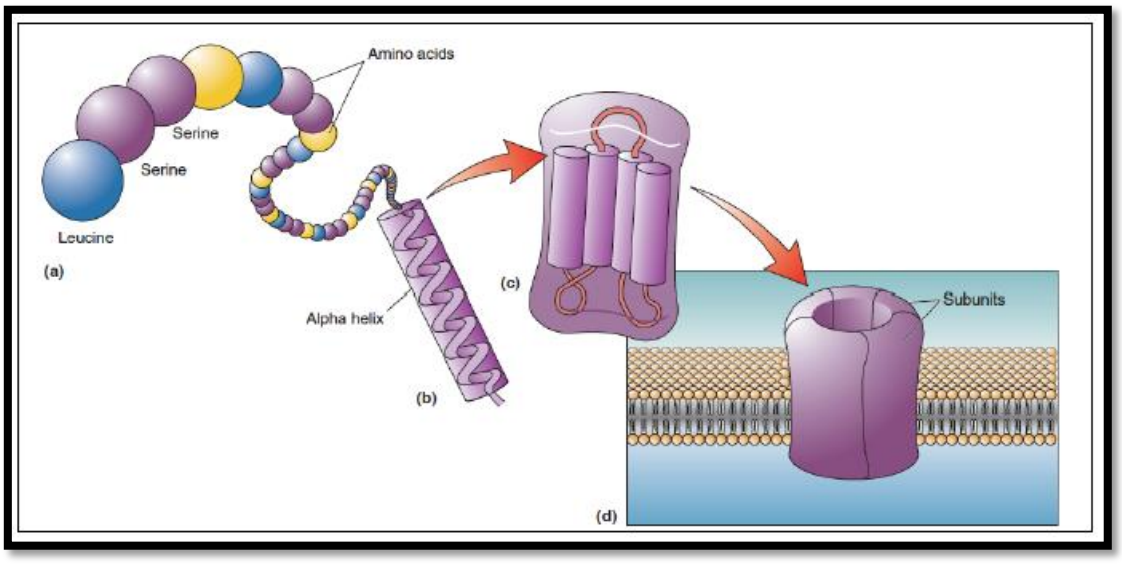

Figura 19: a) Estructura primaria: la secuencia de amino ácidos en el polipéptido. b) Estructura secundaria; formación del alfa hélix. c) Estructura terciaria: como de los polipéptidos. d) Estructura cuaternaria; diferentes polipéptidos unidos formando una proteína grande.

Fuente: Bear Mark, 2016.

Existen dos clases de proteínas en las membranas neuronales, las proteínas integrales y las periféricas. Las integrales los las más abundantes, son proteínas que se encuentran fusionadas con la bicapa lipídica, de la cual solo se pueden extraer destruyendo la membrana, son proteínas hidrofóbicas, pueden penetrar la membrana de manera total o parcial. La variedad de proteínas en la membrana de la neurona es muy extensa, así como el resto de células de nuestro cuerpo, pero cada una de las células tiene su patrón característico, tanto en la composición de lípidos como de proteínas. Otra subdivisión es con las proteínas que se encuentran en la superficie, las cuales se pueden clasificar en 3 grupos. El primer grupo y el que son mayoría, son el grupo que pertenecen a las inmunoglobulinas ya que incluyen en su estructura una serie de dominios o motivos de secuencia repetitivos y que se corresponden con pliegues de Ir formados por puentes de disulfuro. En este grupo se incluyen a las moleculares de adhesión celular de neuronas que intervienen en los procesos de interacción celula-celula. Un segundo grupo de proteínas de superficie son las glucoproteínas de membrana, estas están constituidas por la cadherinas proteínas que intervienen en el crecimiento y ramificación de las dendritas. Y el tercer grupo son proteínas que se encuentran formadas por integrinas una familia de proteínas encargadas de mediar en la interacción entre las celular y la matriz extracelular (Bear Mark, 2016 / Gimenez C. 1998).

Una parte considerable de la masa total de la membrana plasmática aproximadamente 2-10%, corresponde a carbohidratos, de los cuales la mayoría están formando parte de glucoproteínas, y el resto a glucolipidos. Las glucoproteínas de membrana contienen cadenas de azucares unidos a restos de serina, treonina o asparragina. El papel fisiológico de estas cadenas de carbohidratos es, en la mayoría de los casos, desconocido, pero se sabe que en ocasiones sirven como señal indicadora del destino final de la proteína. Esto significa que la proteína, una vez sintetizada de Novo, necesita una señal especifica que la dirija a parte de la membrana donde tiene que ser insertada, lo cual tiene especial relevancia en células, como las neuronas, que son polares, es decir, que poseen zonas muy diferenciadas estructural y funcionalmente de la membrana. Otro papel de las glucoproteínas se centra en procesos de reconocimiento celula-celula en el sistema nervioso, así como en procesos de adhesión. (Bear Mark, 2016 / Gimenez C. 1998)

2.4 Acido docosahexaenoico y eiocosapentaenoico en desarrollo del sistema nervioso

El ácido docosahexaenoico (DHA) es el omega-3 más abundante en el sistema nervioso central y periférico, ubicándose principalmente en los fosfolípidos de las membranas neuronales y gliales, constituyendo 25-35% del total de ácidos grasos presentes en la corteza cerebral, y en un tercio de las neuronas del sistema visual. El DHA tiene un efecto directo sobre la neurogenesis y sinaptogenesis, en especial en estadios iniciales del neurodesarrollo (periodo fetal) y durante los primeros 24 meses de vida extrauterina. Por este motivo es que el estado nutricional de DHA de la madre pre gestacional, gestacional y

durante la lactancia representa una etapa crítica para el desarrollo cerebral y visual de su hijo. Algunos estudios establecen que los altos niveles plasmáticos de DHA en la madre y particularmente en la leche materna, se correlacionan directamente con mayor desarrollo cerebral de sus hijos. Un análisis multivariado demostró que a menor ingesta de DHA durante el embarazo aumenta el riesgo de una menor agudeza visual en los niños, con lo cual se ha propuesto que la ingesta de DHA durante el embarazo sería un predictor de un mejor desarrollo visual en los infantes. Otro estudio refiere un mayor coeficiente intelectual de los niños a 8 años en madres suplementadas con omega-3. Estos hallazgos han corroborado que la suplementación de la dieta de la madre con DHA durante el embarazo y la lactancia, o el consumo de una de una formula adicionada de DHA, permite incrementar los niveles de DHA en el lactante y la obtención de un mejor desarrollo neurológico (OBriens JS, Fillerup, 1964 / Campoy C, Escolano-Margarit MV, 2012 / Valenzuela R., Morales J., 2013).

Por el contrario, una dieta pobre en DHA durante el embarazo y/o lactancia tendría implicaciones directas en el desarrollo visual y neurológico del niño. Un ejemplo de este efecto es que recién nacidos alimentados con leche materna pobre en DHA presentaron menores niveles de DHA con un retraso en el desarrollo del lenguaje a los 14 meses postparto. Existen muchas investigaciones que relacionan el DHA con un mejor desarrollo neuronal, que se refleja a largo plazo en beneficios en el desarrollo de habilidades cognitivas y motoras de los niños. La suplementación perinatal con DHA ha permitido la disminución del riesgo de presentar una menor puntuación en el coeficiente intelectual en

niños provenientes de familias de muy bajos recursos (Campoy C, Escolano-Margarit MV, 2012 / Valenzuela R., Morales J., 2013).

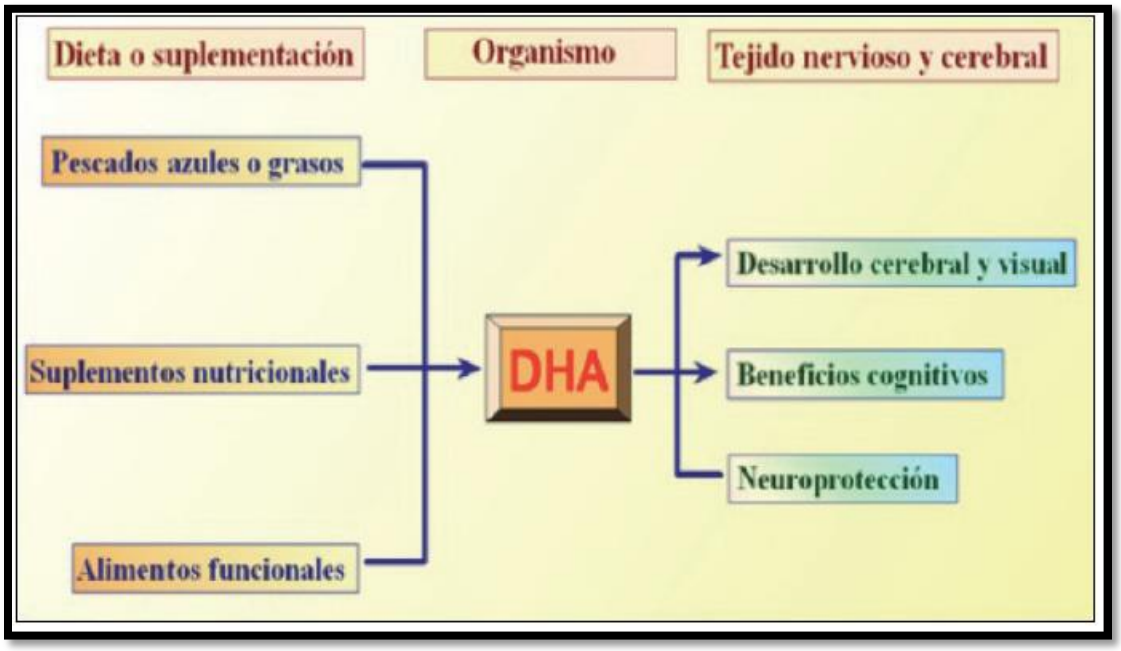

Figura 20; Esquema simplificado de cómo se puede proporcionar DHA al organismo y sus efectos en el sistema nervioso.

Fuente: Valenzuela R., Morales J., Sanhueza., Valenzuela A., 2013.

2.5 Sistema Nervioso Colinérgico y Receptores de Acetilcolina

Desde el principio del Siglo XX se postularon las bases de la neurotransmisión química por Langley y Dale, pero fue hasta 1921 cuando Otto Loewi demostró la presencia de la Acetilcolina. La Acetilcolina es el neurotransmisor más estudiado, el cual se había identificado en el sistema nervioso periférico y es hasta la década de los noventa cuando se identifican dos subtipos de receptores; los receptores nicotínicos y muscarinicos, así

como la localización de estructuras del sistema nervioso central que utilizan primordialmente este neurotransmisor.

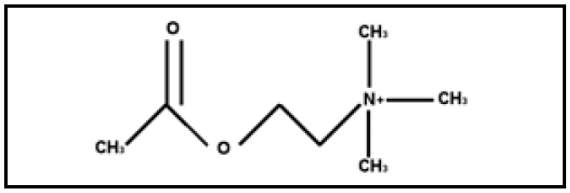

Figura 21: Estructura química de la acetilcolina

La acetilcolina es el neurotransmisor más importante del sistema nervioso central, con actividad en la corteza cerebral, en especial en regiones frontales y temporales, en áreas subcorticales como los ganglios basales y regiones diencefalicas, así como regiones en el tallo cerebral. La acetilcolina se usa como un neurotransmisor del tipo exitatorio y del tipo inhibitorio en el sistema nervioso central y en neuronas somáticas motoras, en el sistema nervioso central predomina el efecto exitatorio.

La respuesta de la acetilcolina en las células postsinapticas varia al efecto de la acetilcolina debido a una variedad de receptores postsinapticos. Estos receptores con sus subtipos pueden ser estimulados por ciertas toxinas, por lo que se les ha nombrado de acuerdo a esa sustancia que los puede estimular. Por lo que tenemos los receptores nicotínicos y los receptores muscarinicos. Los receptores nicotínicos se encuentran en regiones específicas del cerebro en especial en regiones frontales y temporales, en ganglios autonómicos y en el musculo esquelético. Los receptores muscarinicos se encuentran en el musculo liso, células del musculo cardiaco y células de algunas glándulas, por lo que se encuentran muy distribuidas en el sistema cardiovascular, digestivo y respiratorio, pero también son

encontrados en regiones encefálicas, con una distribución parecida a los receptores nicotínicos (Bear 2016, Kandel 2013).

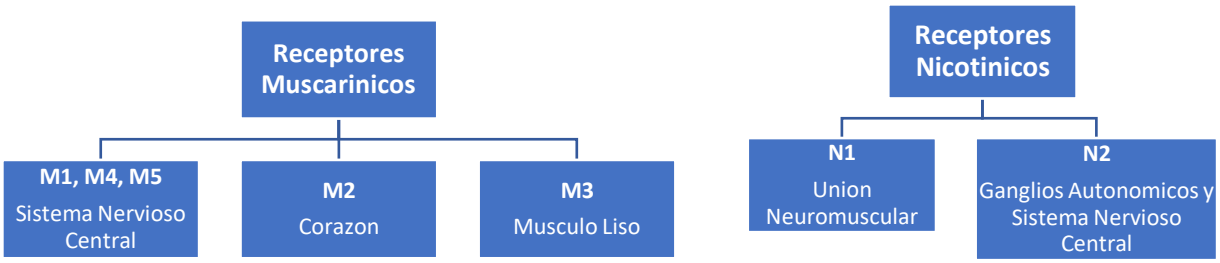

Figura 22: Distribucion de los receptores muscarinicos y nicotinicos.

Fuente: Kandel, 2013.

Las neuronas colinérgicas presentes en el cerebro se pueden subdividir de acuerdo a su predominio en localización; en el Complejo Basal Cerebral Anterior (Prefrontal Basal) y el Complejo del Tallo Encefálico. El complejo basal cerebral anterior está ubicado principalmente en una serie de núcleos esparcidos en el telencéfalo y las regiones mediales y ventrales de los ganglios de la base, en estos están las acumulaciones neuronales que se han reconocido, sin embargo existen áreas menos especificas no bien identificadas en la corteza. Los núcleos de esta zona con; Núcleo Septal Medial que le proporciona inervación al hipocampo y el Núcleo Basal de Meyer que le da la inervación colinérgica a la neo corteza o regiones ventrales de cerebro. El segundo complejo es el Complejo Pontomesencefalicotegmental, el cual brinda la actividad colinérgica localizada en los tres segmentos del tallo encefálico, estos proporcionan la inervación colinérgica a núcleos de relevo localizados en la región dorsal del tálamo, que a su vez se proyecta hacia regiones cerebrales anteriores incluyendo regiones temporales donde se encuentra el hipocampo (Figura XXX).

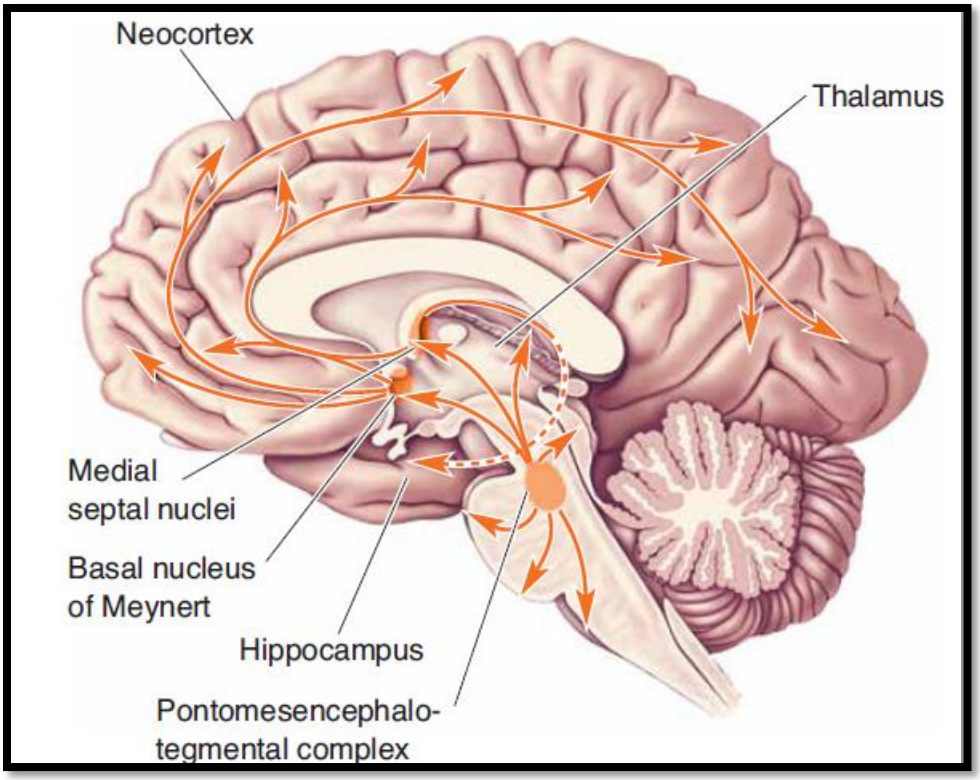

Figura 23: Se observa los dos principales complejos detectados de actividad colinérgica, el complejo cerebral anterior y complejo pontomesencefalicotegmental.

Fuente: Bear, 2013.

Se tiene que mencionar que los complejos colinérgicos mencionados en el párrafo anterior, son los sitios que se han identificado, pero no son los únicos, existen otros más dispersos localizados en las zonas cerebrales anteriores que incluyen corteza prefrontal y corteza frontal, corteza hipocampica y corteza temporal, así como regiones del tallo encefálico. Las vías cerebrales colinérgicas se han podido identificar gracias a los avances en la histoquímica donde se han utilizados anticuerpos específicos para identificar diversas zonas con actividad colinérgica, encontrando que la distribución de las neuronas

colinérgicas es muy variada, son neuronas morfológicamente muy heterogéneas, y las vías en algunas zonas están mezcladas con otro tipo de neuronas (Bear 2016, Kandel 2013).

2.6 AGPCL y las Demencias

La demencia es definida como una alteración de la memoria y la perdida de una o más habilidades que con anterioridad se conocían. La memoria debe de ser memoria de vital importancia, tipo de memoria que si falta afectaría la vida personal, social y laboral, por lo cual se buscara atención especializada.

La demencia tiene que afectar a las labores personales, sociales y laborales como parte de la definición. Las demencias son muy frecuentes en estadísticas de EUA afectan a más de 4 millones de personas, con un alto impacto económico. El déficit memoria es la afección cognitiva más frecuente en la población adulta y la forma más frecuente de demencia es la progresiva idiopática llamada Enfermedad de Alzheimer.

Las demencias son el resultado de un daño en redes neuronales, redes que utilizan ciertos neurotransmisores como; noradrenalina, serotonina, dopamina y acetilcolina. La función colinérgica está relacionada de manera íntima con la atención y la memoria, pero dependiendo de que vías se afecten primero y que neurotransmisor se afecte será las características clínicas iniciales de un síndrome demencial. Tradicionalmente el patrón de afección anatómica de la enfermedad de Alzheimer es con inicio en regiones entorrinales, es decir regiones inferior y medial de lóbulo temporal, que posteriormente se expande al

hipocampo, a la corteza parietal y después a toda la sustancia gris. En cambio, existen diferentes patrones, como la demencia frontotemporal, un tipo de demencia progresiva donde su patrón de daño inicia en lóbulo frontal, por lo cual en estos casos no inicia con síndrome demencial clásico con afección de la memoria, si no con afección conductual como; alteraciones en el juicio, raciocinio y alteraciones de la personalidad (Hauser SL, 2013 / Zarranz Juan José, 2013 / Lakritzen L, Brambilla P, Mazzocchi A, Harsof L, 2016).

Las causas de demencia son múltiples, una de ellas y tal vez la más importante es la edad, la cual se muestra que después de los 50 años se asocia a cambios microscópicos presentes en la enfermedad de Alzheimer. Otra causa es la enfermedad multiinfarto que se asocia directamente con el proceso de ateroesclerosis, que se relaciona con el síndrome metabólico; resistencia a la insulina, hipertensión, obesidad, dislipidemia y proteinuria. El alcoholismo es otra patología que se asocia a demencia, el alcoholismo crónico principalmente. La demencia secundaria a cualquier trastorno que dañe el encéfalo, como traumatismos repetitivos, lesiones tumorales, otras enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson y la Esclerosis Múltiple. Consumo crónico de ciertos fármacos y drogas ilícitas.

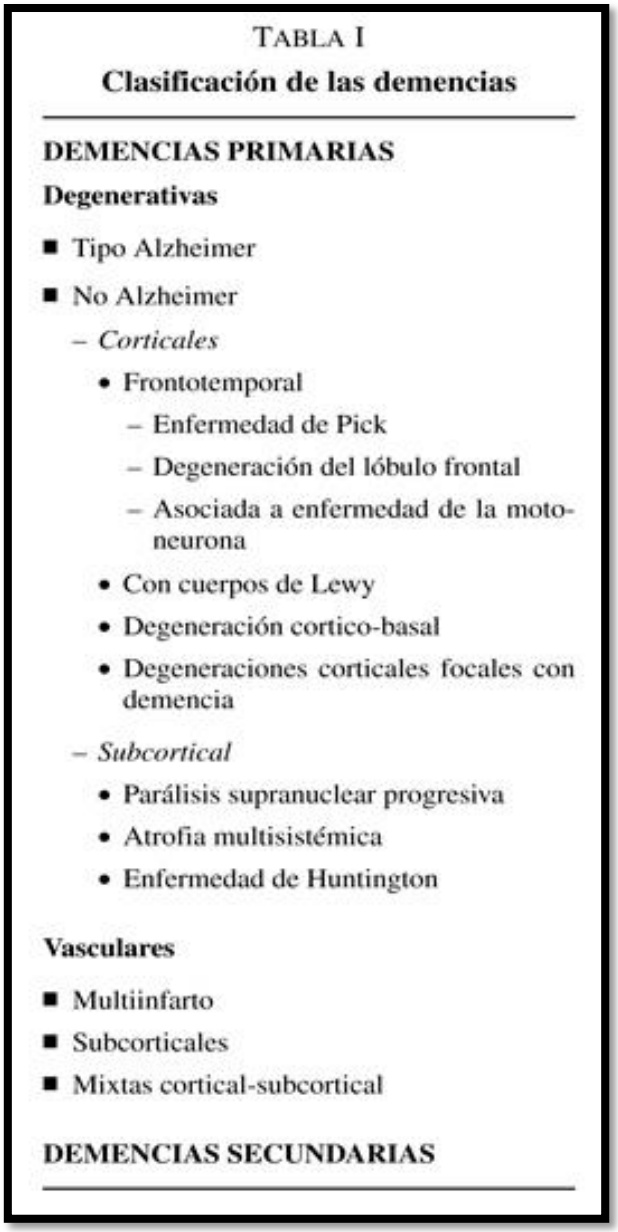

TABLA I

Clasificación de las demencias

DEMENCIAS PRIMARIAS

Degenerativas

- Tipo Alzheimer
- No Alzheimer
  - *Corticales*
    - Frontotemporal
      - Enfermedad de Pick
      - Degeneración del lóbulo frontal
      - Asociada a enfermedad de la motoneurona
    - Con cuerpos de Lewy
    - Degeneración cortico-basal
    - Degeneraciones corticales focales con demencia
  - *Subcortical*
    - Parálisis supranuclear progresiva
    - Atrofia multisistémica
    - Enfermedad de Huntington

Vasculares

- Multiinfarto
- Subcorticales
- Mixtas cortical-subcortical

DEMENCIAS SECUNDARIAS

Figura 24: Clasificación de las Demencias.

Fuente: Zarranz Juan José, 2013.

Un deterioro cognitivo por la edad es algo que estadísticamente 50% de las personas tendrán, sin embargo, solo un porcentaje menor será lo suficiente para interferir en sus actividades. Sin embargo, no se debe considerar como normal un deterioro cognitivo por la

edad, generalmente el deterioro por la edad está más relacionado con patología concomitantes más que por la edad. Existe una fase previa a que se instaure la demencia, que el deterioro cognitivo leve, en el cual existe perdida mínima de la cognición y memoria, pero no lo suficiente para interferir en actividades cotidianas y laborales. Inclusive se le puede asociar a estados chuscos, con pérdida de la memoria repetitiva a situaciones no tan importantes, como perder continuamente las llaves del automóvil.

TABLA II

Clasificación molecular de las demencias

Clasificación	Lesión	Proteína	Demencia
Amiloidopatías	Placas seniles	Péptido β-amiloide	• Enfermedad de Alzheimer
Sinucleinopatías	Cuerpos de Lewy	α-sinucleína	• Demencia con cuerpos de Lewy • Enfermedad de Parkinson • Enfermedad de Alzheimer
Taupatías	Nódulos neurofibrilares	Proteína Tau	• Demencia frontotemporal con Parkinsonismo • Enfermedad de Alzheimer

Figura 25: Clasificación molecular de las Demencias.

Fuente: Zarranz juan José, 2013.

La enfermedad de Alzheimer es la demencia más frecuente, es de tipo degenerativo y con un componente genético muy importante. Es de comienzo insidioso, caracterizado por su defecto en la memoria acompañado de trastornos cognitivos diversos. Patológicamente presenta atrofia cerebral en estudios de imagen como tomografía computada o resonancia magnética, en especial de los lóbulos temporales, así como lóbulos parietales seguidos por el frontal. A nivel microscópico la presencia de lesiones inflamatorias y cicatrización como;

placas neuróticas que contienen proteína B amiloidea, marañas neurofibrilares y la acumulación de proteína beta amiloidea extracelular, en vasos sanguíneos y leptomeninges (Hauser SL, 2013 / Zarranz Juan José, 2013 / Lakritzen L, Brambilla P, Mazzocchi A, Harsof L, 2016 / Ibáñez Menajes E. (2009).

Clínicamente la enfermedad de Alzheimer se caracteriza por la presencia de demencia, con predominio del defecto de la memoria, seguido por alteraciones en el lenguaje y alteraciones visuespaciales. Un 20% de los pacientes inician con deterioro cognitivo leve, que posteriormente evoluciona a una demencia franca. Cuando inicia con deterioro cognitivo leve se calcula que en 4tro anos se establecerá una demencia franca en la mayor parte de las personas, iniciando así la dependencia hacia un cuidador. Generalmente los pacientes no están totalmente conscientes de lo que les está pasando, pudiendo fluctuar de estados de ansiedad, depresión, así como agresividad, así como episodios de confusión y hasta delirio. En estadios más avanzados requieren ayuda en funciones de cuidados personales, otros se levantan de cama y deambulación sin propósito. Igualmente, el ciclo sueno y vigilia se ve alterado de manera significativa y esto aparece generalmente desde el inicio de la enfermedad. El curso típico va desde 1 a 8 años, pero puede ser más lento el proceso y durar hasta 25 años.

El diagnóstico y diagnósticos diferenciales del paciente que se sospecha enfermedad de Alzheimer es primero que cuente con un cuadro clínico de demencia progresiva, además que se descarte una causa secundaria, por lo tanto, requerirá estudios de imagen, exámenes de laboratorio, así como antecedentes de importancia. Si se descarta cualquier

otra causa, entonces se diagnosticará enfermedad de Alzheimer. Además de la característica progresiva. Los aspectos genéticos son muy importantes debido a que este padecimiento cuenta con una carga genética importante, se han descrito varios genes afectados; gen de la proteína precursora amiloidea en el cromosoma 21, preselina 1 preselelina 2 y el gen Apo E en el cromosoma 19 (Daroff R, Jankovic J, Mazzotta J, Pomeroy S, 2016 / Zarranz Juan José, 2013).

El tratamiento de la enfermedad de Alzheimer involucra aspectos de cuidados generales, así como rehabilitación en sus diferentes modalidades. Medicamento las opciones del manejo se encuentran limitadas a; dopenezilo, rivastigmina, galantamina y tacrina, que son inhibidores de la acetilcolinesterasa, perpetuando así función colinérgica. Otro medicamento que muestra mejoría es la memantina y el Ginkgo biloba. Igualmente, la vacuna contra la proteína beta amiloidea se reporta como beneficiosa. Por lo tanto, debido a el limitado arsenal de medicamentos, se empezó a buscar alternativas o apoyos terapéuticos, es donde la dieta y el ejercicio entran. Con respecto al ejercicio muestra un claro beneficio. En la alimentación uno de los alimentos más estudiados y relacionados son los omega-3, los cuales forman parta cada vez más del tratamiento de las demencias, con evidencia de una mejoría cuando se suplementan y se modifica la dieta, algunos autores refieren el consumo acumulado de dieta y suplementación de 4000mg de omega-3 muestra un claro beneficio en los pacientes con demencia y los pacientes con deterior cognitivo leve (Daroff R, Jankovic J, Mazzotta J, Pomeroy S, 2016).

2.7 AGPCL y las enfermedades extrapiramidales

Las enfermedades extrapiramidales también llamadas enfermedades de los núcleos basales, o enfermedades caracterizadas por movimientos anormales, son patológicas que ocurren por disfunción de los núcleos basales. Los núcleos basales están formados por; núcleo caudado, putamen, globo pálido, sustancia negra y núcleo subtalamico. Por definición un núcleo basal es un agrupamiento de neuronas fuera de la corteza cerebral, se han dejado estos cinco debido a que participan en la misma función. Su función es ayudar a la corteza motora primaria, suplementaria y promotora, corteza piramidal. Esta ayuda consiste en corregir errores del movimiento y guardar secuencias de los muchos programas motores que utilizamos.

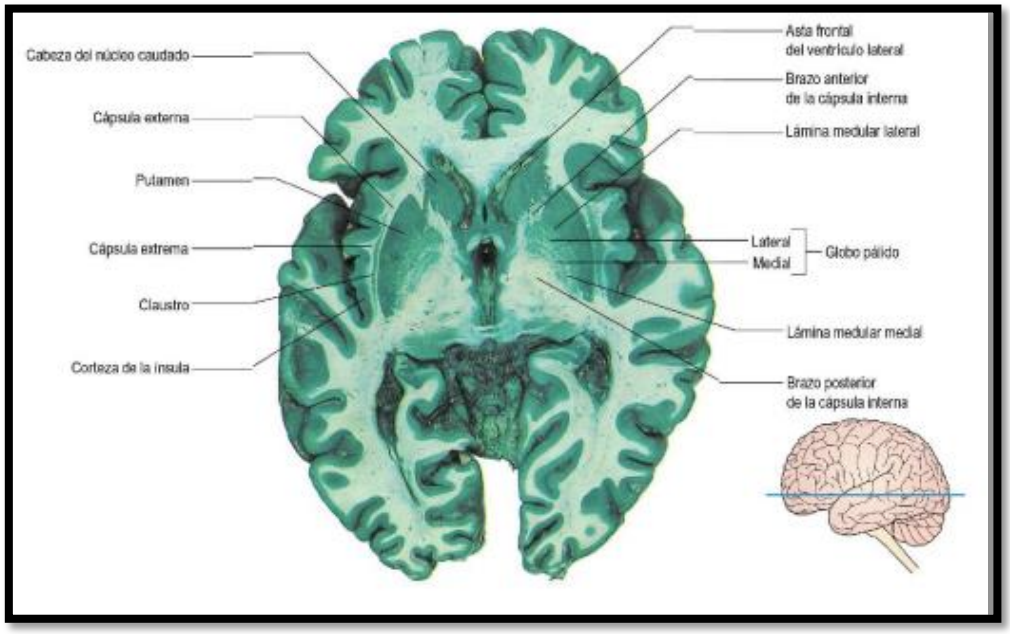

Figura 26: Los núcleos basales en un corte axial a nivel del tercer ventrículo.

Fuente: Crossman Alan, Neary David, 2015.

La enfermedad de Parkinson, es la segunda enfermedad neurodegenerativa más frecuente, precedida de la enfermedad de Alzheimer, se estima que existen 5 millones de personas en todo el mundo que sufren este padecimiento, afecta a hombres y mujeres, de todas las edades, de todas las razas, todas la ocupaciones y todos los países. La edad media promedio es de 60 años, pero puede aparecer tan joven como a los 20 años.

Clínicamente se caracteriza por temblor en reposo, rigidez, bradicinecia y alteraciones en la marcha, a estos síntomas se les llama síntomas cardinales. Otros síntomas asociados son; periodos de adinamia, inestabilidad postural, dificultad para el habla, disturbios autonómicos, deterioro cognitivo y demencia. En fases avanzadas puede presentar cualquier sintomatología. (Hauser SL,2013 / Zarranz Juan José, 2013 / Bousquet M, 2011)

El desorden histopatológico inicial en la enfermedad de Parkinson es la degeneración de neuronas dopaminergicas localizadas en la pars compacta de la sustancia negra en el mesencéfalo, reduciendo la función dopaminergica al sistema extrapiramidal. También se observan depósitos anormales de cuerpos de Lewy. Algo muy importante es que la lesión en la sustancia negra es la primera característica clínica de la enfermedad, sin embargo, otras regiones del sistema nervioso también se ven afectadas como; núcleo de Meynert productor de acetil colina, locus cerúleos productor de norepinefrina, núcleos del rafe productores de serotonina y neuronas del sistema olfatorio, hemisferios cerebolosos, medula espinal y sistema nervioso autónomo. Algunos estudios reportan que el defecto dopaminergico causado por la destrucción de las neuronas de la sustancia negra se

encuentra a la mitad de la historia natural del Parkinson, por lo que existe evidencia de datos clínicos incipientes, antes de que se manifieste los trastornos motores.

Figura 27: Síntomas de la enfermedad de Parkinson.

Fuente: Zarranz Juan José, 2013.

Parkinsonismo se refiere al complejo de síntomas motores clásicos en la enfermedad de Parkinson, pero que tienen un origen definido, una causa secundaria. Las causas secundarias pueden ser: medicamentos, tumores cerebrales, infecciones, de origen vascular, hidrocefalia normotensa, traumatismos, falla hepática y asociada a otras enfermedades neurodegenerativas (Daroff R, Jankovic J, Mazzotta J, Pomeroy S, 2016 / Zarranz Juan José, 2013).

La etiología de la enfermedad de Parkinson en un 90% de los casos es esporádica y de causa desconocida. Hay factores de riesgo como el factor ambiental, el factor genético, exposición a pesticidas, en regiones rurales, el consumo de aguas de pozo y factores que al parecer reducen su riesgo como el tabaquismo y el consumo de cafeína. Hay factores asociados a la patología como; el estrés oxidativo, acumulación de calcio intracelular, inflamación, disfunción mitocondrial y estrés proteolítico.

El tratamiento de la enfermedad de Parkinson es a base de levodopa, la cual fue introducida en 1960 y ha continuado siendo la piedra angular del tratamiento. Otras opciones son los agonistas dopaminergicos como bromocriptina, pergolida y cabergolida. Otro grupo son los inhibidores de la MAO como la selegilina y rasagilina. Al igual que otros trastornos neurodegenerativos, el ejercicio y la modificación de la dieta son parte del tratamiento. En los últimos años se han hecho estudios en relación a la suplementación de omega-3 y el mejoramiento de los pacientes con Parkinson, los cuales encuentran una mejoría significativa (Daroff R, Jankovic J, Mazzotta J, Pomeroy S, 2016 / Zarranz Juan José, 2013 / Hauser SL, Josephson SA. (2013).

El trastorno del movimiento hiperkinetico esta otra enfermedad del sistema extrapiramidal, la cual se caracteriza por presentar movimientos involuntarios ocurriendo aisladamente o en combinación con otros. El temblor, el cual consiste en una alteración en la contracción de músculos agonistas y antagonistas, en una manera rítmica. Hay tres tipos; temblor en reposo, temblor postural y temblor kinetico. Por ejemplo, en la enfermedad de Parkinson hay dos tipos de temblor; temblor en reposo y postural. En las afecciones cerebelosas se caracterizan por un temblor de intención o kinetico. Afecta a 5-10 millones de personas a próximamente, con predominio en la edad adulta. La etiología del temblor esencial no se conoce, aproximadamente 50% tienen presente algún familiar por lo que se sospecha algún patrón autosómico dominante. Está ligado a defectos en el cromosoma 3q13, 2p22-25 y 6p23. El tratamiento cuando son casos leves o moderados no lo amerita, cuando interfiere en alguna actividad importante como comer se puede administrar b-bloqueadores o primidona, que son los medicamentos más utilizados. El propanolol es otro medicamento que se puede utilizar. Así como el Parkinson, la dieta puede ayudar, en especial con ingestas elevadas de omega-3 y complejo B como suplementación, acompañada de actividad física aeróbica.

Las distonias son trastornos caracterizados por contracciones involuntarias, repetitivas asociadas posturas de flexión y posturas repetitivas. Estas pueden variar desde contracturas aisladas a contracturas que involucran varios músculos o grupos musculares. La frecuencia estimada es de 300 mil casos en estados unidos. Las disfonías se pueden

clasificar de acuerdo a la edad como se presenten, su distribución y su etiología (Zarranz Juan José, 2013 / Hauser SL, Josephson SA, 2013).

2.8 AGPCL y otras enfermedades neurológicas

Otros aspectos relacionados con la reducción de la capacidad cognitiva han sido explorados recientemente. La depresión y sus síntomas pueden aumentar el riesgo y la progresión del deterioro cognitivo leve a la demencia. La ingesta de ácidos grasos omega-3 puede aliviar los síntomas de la depresión. En este sentido, un estudio clínico aleatorizado, doble ciego, ha investigado los efectos de diferentes dosis de omega-3 en los síntomas de depresión, deterioro cognitivo leve y en la calidad de vida de 50 personas mayores de 65 años de edad durante el periodo de seis meses. El omega-3 se complementó en una formulación rica de ácido eiocosapentaenoico, rica en ácido docosahexaenoico y el control, rico en ácido linoleico. La suplementación de formulación rica en ácido docosahexaenoico mostro una mejora de la salud física autoreportada por los pacientes. La suplementación de las dos formulaciones, ricas en ácido eiocosapentaenoico y ácido docosahexaenoico, se asoció con beneficios sobre la salud mental en los adultos mayores con deterioro cognitivo leve y reducción de los síntomas depresivos (Sinn N, Katherine M, Steven J, 2012).

La relación en el consumo de ácidos grasos omega-3/omega-6 era 5:1 a 10:1 en promedio, mientras que en la actualidad esta relación ha aumentado a razones cercanas a 20:1 en muchos países de occidente. En las últimas décadas el consumo de omega-3 a través de la dieta, ha disminuido considerablemente, especialmente en los países occidentales.

Situación que ha sido generada, en gran parte, por un aumento considerable en el consumo de aceites vegetales ricos en ácidos grasos omega-6 y carne las que aportan cantidades importantes de ácido araquidónico. Ninguno de estos alimentos aporta ácido docosahexaenoico y ácido eiocosapentaenoico. A lo anterior se agrega que la fuente mayoritaria de ácidos grasos omega-3 aportada por la dieta es el ácido linoleico, cuya conversión a ácido eiocosapentaenoico y ácido docosahexaenoico en los mamíferos, particularmente en el hombre, es muy baja. Diferentes estudios demuestran que una baja ingesta de omega-3 puede tener consecuencias nocivas en el tratamiento de la depresión, mientras que una alta ingesta de estos ácidos grasos es beneficiosa en el tratamiento de la enfermedad. Una posible explicación para estos hallazgos se relaciona con alteraciones en la composición de las membranas plasmáticas neuronales, causadas específicamente por un déficit de ácido docosahexaenoico en sus fosfolípidos. Estas alteraciones podrían estar involucradas tanto en la génesis de la depresión como en otros trastornos de esta índole. En general, las actuales líneas de investigación hacen hincapié en las relaciones entre los bajos niveles titulares de ácido docosahexaenoico y el riesgo de presentar diversos trastornos neurológicos incluyendo, el deterioro cognitivo, la demencia cognitiva la depresión y depresión post parto (Valenzuela A, 2009).

Una investigación realizada por Lombard de manera laboral que se tenía una mejor percepción de su salud tanto física como mental cuando incluía en su alimentación pescados ricos en omega-3. La mayoría de los estudios han demostrado una asociación directa entre la disminución de la ingesta de omega-3, especialmente de ácido docosahexaenoico y un mayor riesgo de presentar depresión. Aun mas, la mayor incidencia

de depresión en algunos países esta en directa relación con el bajo consumo de pescado en su población (Lombard Cb, 2000 / Tanskanen A, Hibbeln JR, Tuomilehto J, Uutela A, 2001)

En las ultimas decadas, la edad de aparición de la depresión ha disminuido, y su incidencia, en el mundo occidental ha aumentado hasta 20 veces más. Sin embargo, no se puede dejar de lado que una explicación para este aumento en los niveles de depresión de la población pueda deberse, en parte, a una mejor aplicación de criterios de diagnóstico o al mejoramiento de la organización sanitaria que comenzó a recibir esta patología. No obstante, las investigaciones más recientes sugieren que los omega-3, en particular el ácido eicosapentanoico y ácido docosahexaenoico, podrían tener una aplicación terapéutica en el tratamiento de la depresión. Diversos antecedentes epidemiológicos apoyan una relación entre un aumento en la ingesta de pescados o mariscos y una menor incidencia y/o prevalencia de depresión. En cuanto a las demencias, el estudio de Rotterdam informo que el riesgo de presentar demencia vascular se correlaciono negativamente con el consumo de pescados ricos en omega-3 (Nemets B, Stahl Z, Belmaker RH, 2006 / Valenzuela R, Bascuna K, Valenzuela A, Chamorro R, 2009).

Un grupo de investigadores liderados por Morris y cols. examinaron adultos, con una edad mayor o igual a 60 años, en los cuales se estudió la relación entre los síntomas propios de la depresión y su relación con los omega-3, determinándose que existía una mayor incidencia de sintomatología depresiva a menor ingesta de estos ácidos grasos. Estudios epidemiológicos han descrito una conexión entre la ingesta de pescado y mariscos y la

protección al desarrollo de trastornos bipolares y afectivos. Un estudio doble ciego, placebo control, demostró que la suplementación dietaría con omega-3, mejoro a corto plazo el curso clínico del trastorno bipolar. En primer lugar, el ácido docosahexaenoica y en menor grado el ácido eiocosapentanoico es un componente estructural normal de la estructura de los fosfolípidos que forman parte de las membranas plasmáticas neuronales por lo cual resultan claves en diversos mecanismos de transporte ubicados en estas estructuras, por ejemplo, modulando el funcionamiento de proteínas transportadoras (Carlson SE, 2002 / Valenzuela R, Vascona K, Valenzuela A, Chamorro R, 2009).

El ácido docosahexaenoica y el ácido eiocosapentanoico les otorgan una mayor fluidez a las membranas plasmáticas neuronales participando en la regulación de la actividad de algunos receptores de membrana. Por otra parte, estos ácidos grasos pueden bloquear el flujo de calcio intracelular interfiriendo en la actividad de los canales de calcio, efecto similar al que producen bloqueadores de estos canales como el verapamil o la nimodipina.

Una investigación realizada por Lombard que utilizo muestras aleatorias, confirmo que el consumo frecuente de pescado en la población general está asociado a un menor riesgo de intención suicida. Los intentos de suicidio también se han relacionado con una disminución en las reservas de omega-3. En otros estudios se demostró una asociación directa entre un mayor riesgo de intento de suicidio y una menor concentración de ácido eiocosapentaenoico en membranas de glóbulos rojos. Por otra parte, la relación temporal entre la época del año y la incidencia de depresión y el intento de suicidio, ha sido descrita por los investigadores hace bastante tiempo, indicando que en primavera se producen más

suicidios que en verano, otoño o invierno. Recientes investigaciones han demostrado que los niveles de omega-3 también varían según la estacionalidad, con niveles más altos de ácido docosahexaenoico durante la temporada de otoño-invierno. La variación estacional en los niveles de omega-3 podría contribuir, al menos en parte, a explicar la estacionalidad de los suicidios. Algunos autores han llegado a la conclusión, a partir de los antecedentes obtenidos tras la suplementación con omega-3 en pacientes que presentan las enfermedades anteriormente mencionadas, que esta puede ser necesaria y que incluso debería ser considerada como parte del tratamiento. Sugieren, además, que se debería trabajar en la búsqueda de la dosis y el tiempo efectivo de suplementación (Valenzuela R, Bascuna K, Valenzuela A, Chamorro R, 2009 / Morris MC, Evans DA, Bienias JL, Tangney CC, Bennett DA, Wilson RS, 2003 / Lombard C, 2000).

Con estudios de imagen como la resonancia magnética nuclear se ha demostrado que el ácido eiocosapentaenoico estaría involucrado en cambios estructurales en el tejido cerebral, probablemente debido al aumento en la biosíntesis de fosfolípidos y una reducción en la degradación de estos. En un estudio que incluyo una suplementación de 1 gramo de ácido eiocosapentaenoico al día, se observó una reducción de los síntomas depresivos e incluso del comportamiento agresivo. En otro estudio se observó un marcado efecto clínico positivo del ácido eiocosapentaenoico cuando se utilizó como coadyuvante en la terapia de la depresión refractaria. Se cree que los efectos del ácido eiocosapentaenoico en esta patología, podrían relacionarse con un efecto general a nivel de inmunosupresión, y/o a una resistencia a la dexametasona y a la supresión parcial de la actividad del eje hipotalámico-

pituitaria-adrenal, causada por eicosanoides derivados del metabolismo del ácido eiocosapentaenoico.

Además de los efectos favorables frente a la depresión observados tras consumir ácido eiocosapentaenoico, igualmente se reporta que las dietas bajas en omega-3 en mujeres embarazadas se asocia a un mayor riesgo de depresión postparto (Rapport SI, Bosetti F, 2002 / Munck H, Song C, Uhr M, 2004 / Valenzuela R, Bascuna K, Valenzuela A, Chamorro R, 2009).

2.9 Suplementación de Omega 3

La suplementación con omega-3 en los procesos cognitivos encefálicos del ser humano ha sido un tema de discusión durante ya hace más de una década, existiendo varios ensayos clínicos, en diferentes condiciones, incluyendo enfermedades neurodegenerativas como las demencias, Enfermedad de Parkinson y el estado previo a demencia el deterioro cognitivo leve y también en el envejecimiento saludable. El estudio realizado por Boston evaluó el efecto de la suplementación de un derivado sintético del ácido eicosapentaenoico, para verificar las alteraciones de aprendizaje en pacientes mayores de 65 años con el diagnóstico de la demencia tipo Alzheimer, evaluados mediante el test de cognición. Cada paciente fue visto, al principio del estudio, durante 12 semanas sin tratamiento, seguido por 12 semanas de tratamiento con el derivado de EPA en una dosis de 1000 mg al día. Se recogieron muestras de sangre antes y después del periodo de tratamiento para medir la

concentración de ácidos grasos en la membrana de los eritrocitos y los test de memoria, y de evaluación visual analógica fueron aplicados por el cuidador del paciente. Los pacientes suplementados con el derivado de EPA mostraron una mejoría significativa en la calificación visual analógica. Las otras variables y pruebas evaluadas no mostraron resultados significativos con la administración de suplementos. Los autores llegaron a la conclusión de que tal vez sea necesario un periodo de suplementación más largo para encontrar resultados más consistentes y de mayor eficacia, en especial en enfermedades demenciales (Boston P, Bennett A, Horrobin D, Bennett C, 2006).

En otro estudio se probó la suplementación con cantidades más altas de ácido docosahexaenoido. En el estudio de Freud-Levi, un estudio doble ciego, controlado se evaluaron 174 pacientes con demencia tipo Alzheimer tratados con inhibidor de la acetilcolinesterasa. En el primer paso, los enfermos fueron aleatorizados para recibir suplementos diarios de ácido docosahexaenoico de 1.7 gramos y ácido eiocosapentaenoico 0.6 gramos y un grupo placebo por un periodo de seis meses. Después de este periodo, en la segunda fase, todos los pacientes recibieron ácidos grasos omega-3 durante seis meses. Los principales resultados evaluados fueron la incorporación plasmática domega-3, los test de escala clínica de demencia y la función cognitiva para la enfermedad de Alzheimer que fueron aplicados en las dos fases del estudio. En el primer paso, la administración de omega-3 se asoció con un aumento de los niveles plasmáticos de ácido eiocosapentaenoico y ácido docosahexaenoico, pero no se encontró un efecto significativo en la reducción del deterioro cognitivo. Llama la atención, en la segunda etapa del estudio, que el subgrupo de 32 pacientes con estadio leve de la demencia mostro un efecto significativo y positivo de la

suplementación de omega-3 en el retraso del deterioro cognitivo evaluado. Esta observación pone de relieve la importancia de los ácidos grasos omega-3 en diferentes etapas de las enfermedades demenciales degenerativas. Antes de la aparición de la demencia, hay un periodo de 2 años o más llamad deterioro cognitivo leve, en que mediadores inflamatorios cerebrales son de leve a moderadamente elevados en posibles candidatos para desarrollar Alzheimer. Poco se sabe acerca de la progresión de la situación de riesgo de la enfermedad de Alzheimer para la enfermedad clínicamente expresada. La respuesta inflamatoria descrita puede causar daño a las neuronas y exacerbar el progreso patológico de la enfermedad. El uso de fármacos con efecto antiinflamatorio puede influir beneficiosamente en esta etapa de la enfermedad por inhibición de la producción de COX-1 y 2 y por la activación del factor de transcripción (Freud-Levi Y, Eriksdotter M, Cederholm T, 2006).

Igualmente, los omega-3 pueden modificar la respuesta inflamatoria al disminuir la producción de citoquinas pro inflamatorias y aumentar las antiinflamatorias a través de la alteración de la actividad de los factores de transcripción de genes como el NF-KB. En este sentido, se hizo de interés más estudios en pacientes con deterioro cognitivo leve, incluyendo los pacientes con estatus de riesgo de Alzheimer, para demostrar los beneficios de omega-3 en la progresión inicial de la enfermedad (Caterina R, 2011).

Como se comentó la concentración de los omega-3 y el equilibrio principalmente entre omega-3 y omega-6 es de muy importante, aproximadamente por cada cuadro omega-6 tiene que haber un omega-3, esto para mantener un efecto beneficioso en nuestro

organismo. La concentración de ácidos grasos omega-6, particularmente el ácido araquidónico, puede reducirse en la membrana neuronal con el envejecimiento. Experimentalmente, en ratas de edad avanzada, la suplementación de ácido araquidónico en la dieta oral ha mejorado el rendimiento de la plasticidad sináptica (Kotani S, Nakazawa H, Tokimasa T, Akimoto K, 2003).

Un estudio de Kotani en el 2006 abrió un nuevo camino mediante la exploración de la asociación de ácido araquidónico de la familia omega-6 y el ácido docosahexaenoico en 39 pacientes con amnesia, deterioro cognitivo leve, lesión cerebral orgánica y pacientes con Alzheimer. Se evaluaron las funciones cognitivas en dos etapas: antes y 90 días después de la administración de suplementos de 240 mg / día de ácido docosahexaenoidco y acido araquidónico o placebo. Los pacientes con amnesia y deterioro cognitivo leve, suplementados con ácido araquidónico y ácido docosahexaenoico, mostraron una mejoría significativa en la memoria inmediata y en la atención. Por otra parte, el grupo de pacientes con lesión cerebral orgánica mostro una mejoría significativa en las puntuaciones de la memoria inmediata y remota. Sin embargo, no se han encontrado resultados similares en la enfermedad de Alzheimer. Los autores sugieren que la suplementación de ácido docosahexaenoico y acido araquidónico puede mejorar la disfunción cognitiva relacionada con daño cerebral orgánico o de envejecimiento (Kotani S, Sakaguchi E, Aarashina S, 2006).

En el estudio aleatorio doble ciego de Chiu C, fue investigada la capacidad terapéutica aislada de ácido eicosapentaenoico y ácido docosahexaenoico en la función cognitiva y en

el estado clínico general. Los pacientes con enfermedad de Alzheimer y con deterioro cognitivo leve fueron, respectivamente, asignados aleatoriamente para recibir suplementos de ácido eicosapentaenoico 1,080 mg/día y ácido docosahexaenoico 720 mg/día o placebo 1,8 g/día de aceite de oliva durante 24 semanas. Se encontró, en el grupo tratado con ácidos grasos omega-3, tasas más altas de ácido eicosapentaenoico en las membranas de hemáticas que fueron asociadas con una mejora general en el resultado cognitivo. El grupo de tratamiento mostro una mejoría en la puntuación de la escala de comportamiento en comparación con el grupo placebo. El grupo tratado con omega-3 también mostro una mejoría significativa en la escala cognitivas en comparación con el grupo placebo en los participantes con deterioro cognitivo leve, pero este resultado no se observó en los pacientes con enfermedad de Alzheimer establecida (Chiu C, Cheng T, Chang C, Dewey M, 2008).

Otro estudio realizado por Quinn JF, valoro el efecto aislado de los suplementos de omega-3 específicamente el ácido docosahexaenoico en la progresión de la enfermedad de Alzheimer mediante la aplicación de la escala cognitivas. Este es un estudio evaluó la oferta de 2g de ácido docosahexaenoico en comparación con placebo en 295 pacientes con enfermedad de Alzheimer durante 18 meses consecutivos. Los resultados no mostraron una mejoría significativa en la escala de deterioro cognitivo en estos pacientes (Quinn Jf, Raman R, Thomas RG, Yurok-Mauro K, Nelson EB, 2010). Se han estudiado los ácidos grasos omega-3 en pacientes ancianos sin la enfermedad de Alzheimer, pero quejándose de la falta de memoria subjetiva. Dos estudios mostraron efectos clínicos positivos de la

suplementación con omega-3 en las funciones cognitivas. Un estudio piloto evaluó la administración de suplementos de ácido eicosapentaenoico y ácido docosahexaenoico en combinación con fosfatidilserina. Este fosfolípido está implicado en la señalización transmembrana en las neuronas del sistema nervioso central y puede mejorar el metabolismo cerebral alterado durante el proceso de envejecimiento. Se administró la fosfatidilserina 300 mg y 37,5 mg de ácido eicosapentaenoico y ácido docosahexaenoico al día durante seis semanas a ocho voluntarios de edad avanzada. Los resultados fueron evaluados mediante el programa informático específico para evaluar los trastornos cognitivos del lenguaje y de la atención. Después de 3 semanas de suplementación, se observó una mejora significativa en la capacidad de recordar palabras y una disminución en el test de la perdida de la memoria inmediata (Richter Y, Herzog Y, Cohen T, Steinhart Y, 2010).

Un estudio por Yurro-Mauro de 485 participantes en EUA, que se trató de suplementar a las personas sanas con una media de 55 años y quejándose de la pérdida de memoria subjetiva. La falta de memoria se evaluó mediante los criterios del test de deterioro cognitivo relacionado con la edad, que evalúa objetivamente la disminución fisiológica en el funcionamiento cognitivo como consecuencia del envejecimiento. Los resultados secundarios fueron evaluados por medio de la Batería Automatizada de Test Neuropsicológicos de Cambridge. El grupo experimental se complementó con ácido docosahexaenoico 900 mg/día y el grupo placebo. El grupo suplementado con ácido docosahexaenoico mostro un efecto positivo sobre la capacidad de reducir la pérdida

gradual de la memoria. Los resultados mostraron una mejora en la memoria visual inmediata y en el aprendizaje de palabras (Yurok-Mauro K, McCarthy D, Rom D, 2010).

Existe mucha evidencia de estudios observacionales sugiere que la ingesta de dietas ricas en ácido eicosapentaenoico y ácido docosahexaenoico puede proteger los adultos mayores del deterioro cognitivo y de la demencia; sin embargo, los resultados de los estudios de intervención, cuando considerados aisladamente, no permiten extraer conclusiones definitivas. En este sentido, un reciente metaanalisis busco evaluar, a partir de tres ensayos aleatorizados, doble ciegos y controlados, el uso de omega-3, durante un mínimo de seis meses, por los participantes de 60 o más años de edad, libres de demencia o disfunción cognitiva al inicio del estudio. En dos estudios, los participantes recibieron capsulas conteniendo omega-3 o placebo conteniendo aceite de oliva o de girasol durante seis o 24 meses. Ninguno de los estudios examino el efecto de omega-3 sobre la incidencia de la demencia. Los autores no encontraron alteraciones sustanciales en las pruebas de la función cognitiva en ancianos sanos y sugieren que sean necesarios estudios de mayor duración para aumentar la capacidad de detectar los efectos de los suplementos de omega-3 en la prevención del deterioro cognitivo en los adultos mayores (Sydenham E, Danguor AD, Lim WS, 2012).

El uso combinado de ácidos grasos omega-3 y otros nutrientes con poder antioxidante y antiinflamatorio puede ser una terapia alternativa. Recientemente, un estudio piloto aleatorizado, doble ciego, controlado por placebo evaluó la eficacia de la combinación de omega-3 con ácido alfa lipídico.

Este acido se encuentra en forma natural en la mitocondria y es un potente antioxidante. Tiene propiedades antiinflamatorias y se ha demostrado que el reduce la actividad de NFK in vitro en células estimuladas con TNF-α en una manera dependiente de la dosis. En 39 pacientes con enfermedad de Alzheimer, se ha administrado, por sorteo, una formulación aislada de 675 mg de ácido docosahexaenoico y 975 mg de ácido eiocosapentanoico; una formulación combinada de omega-3 con 600 mg de ácido alfa lipoico y el placebo. Cada paciente recibió instrucciones de tomar 3 capsulas al día durante 12 meses. La formulación combinada de omega-3 + acido alfa lipoico mostro una mejoría significativa respuesta y de las actividades instrumentales de la vida diaria en comparación con placebo. El grupo suplementado con la formulación aislada de omega-3 también mostro un menor deterioro en comparación con el placebo. Los autores sugieren que, si bien los resultados fueron representados por el pequeño tamaño de la muestra, la suplementación combinada e omega-3 y ácido lipoico en el tratamiento de Alzheimer es prometedora (Shinto L, Quinna J, Montie T, 2013).

2.10 Modelos experimentales para la memoria y cognición

La memoria se puede definir como el proceso cognitivo por el cual nuestro cerebro es capaz de codificar, almacenar y recuperar información del pasado. Por mucho tiempo no se habían identificado estructuras cerebrales relacionadas con este proceso. En 1957 de manera incidental en un estudio de investigación neuroquirurgica donde una serie de pacientes se sometieron a resección de la corteza medial de los lóbulos temporales, incluyendo los

hipocampos, esto como parte del tratamiento de la enfermedad epilepsia. El caso que resalta es el caso del paciente H.M. (Henry Molaison), al cual le extirparon ambos lóbulos mediales temporales incluyendo hipocampos, y como consecuencia observaron que los pacientes presentaban perdida de la memoria a largo plazo y solo presentaban retención de información de minutos. A partir de esos hallazgos los modelos ya tenían una región anatómica cerebral relacionada directamente con la memoria.

A partir de estos hallazgos se propone un modelo/hipótesis para entender la memoria, la cual se divide en: Memoria a largo plazo y Memoria a corto plazo/memoria de trabajo (Figura 28).

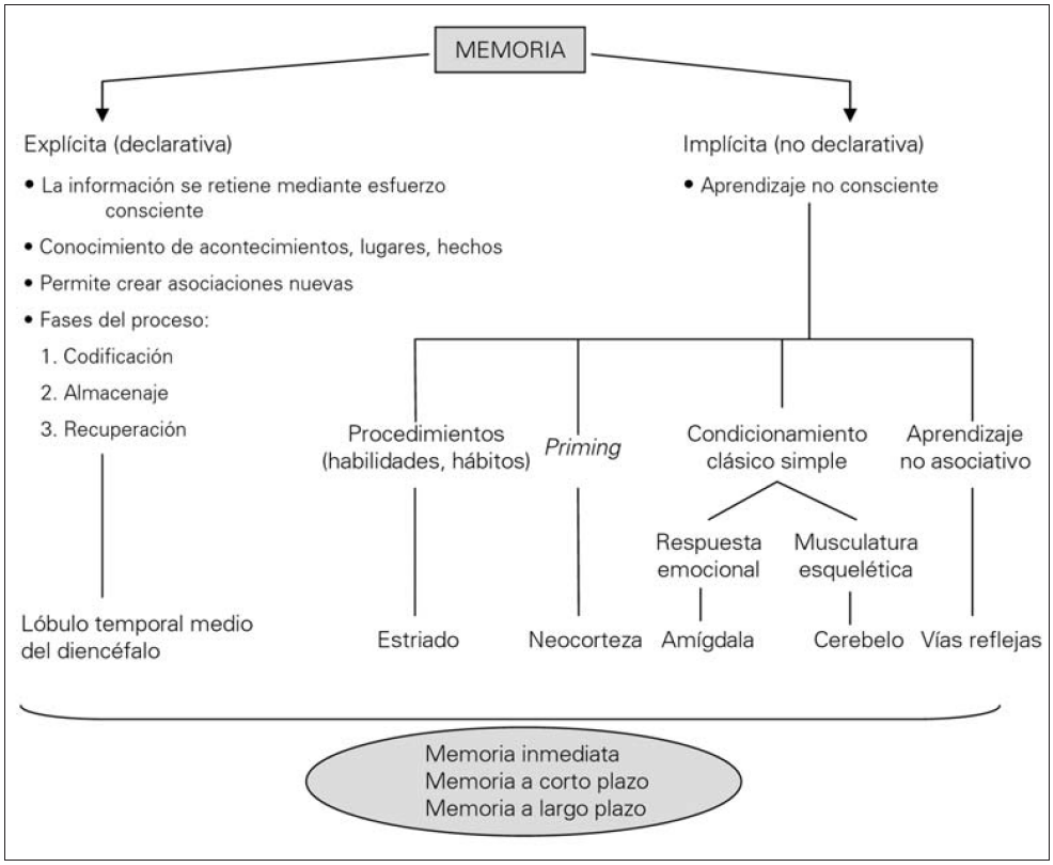

Figura 28: Tipos de memoria y las estructuras cerebrales relacionadas.

Fuente: Navarrete F. 2008.

Los modelos animales de trastornos cognitivos desempeñan un papel muy importante en la comprensión de la función cognitiva. Con su utilización podemos profundizar en las bases fisiopatológicas del deterioro que se produce por el simple hecho de envejecer o el que aparece asociado a diferentes situaciones patológicas, como la enfermedad de Alzheimer y otras enfermedades neurodegenerativas. Además, los modelos animales nos permiten comprobar la eficacia de nuevos fármacos e identificar posibles dianas terapéuticas.

En la evaluación de la memoria en animales las pruebas utilizadas con más frecuencia las podemos subdividir en cuatro grupos: pruebas para la memoria no espacial, la memoria espacial, el aprendizaje asociativo y la memoria emocional.

En las pruebas que evalúan la memoria no espacial se encuentra la Prueba de reconocimiento de objetos y la Prueba de reconocimiento social. Para la memoria espacial encontramos la Prueba de Laberinto acuático de Morris, Prueba de Laberinto de Barnes y Prueba de Laberinto en Y. En el aprendizaje asociativo tenemos la Prueba de evitación pasiva y la Prueba de evitación activa y finalmente en la Memoria emocional se utilizan dos pruebas la Prueba de condicionamiento aversivo al sabor y la Prueba de Sobresalto potenciado por el miedo. Existen pruebas que se utilizan en algunos centros que son variantes o adaptaciones de las pruebas mencionadas.

Un punto muy importante es tomar en cuenta que en los animales solo se puede evaluar la memoria a corto plazo, las pruebas mencionadas solo evalúan memoria a corto plazo, se pueden encontrar en algunos estudios algunos modelos para intentar evaluar la memoria a largo plazo sin embargo debido a múltiples variables no hay un modelo aceptado que se utilice para la investigación de dicha memoria.

En esta investigación se utilizaron dos pruebas: la Prueba de Reconocimiento de Objetos y la Prueba de Laberinto en Y. La Prueba de Reconocimiento de Objetos consta de tres fases; una fase de habituación donde se expone al animal a la caja donde se colocarán los objetos, 24 horas después inicia la fase de muestra, donde se administran los compuestos a estudiar y se colocan en la caja con dos objetos iguales por 5 minutos y la fase de Prueba, que se realiza en el día tres, donde se cambia un objeto por uno nuevo y se permite explorar. Se cuantifica el tiempo que permaneció en los dos objetos y se obtiene un índice de discriminación.

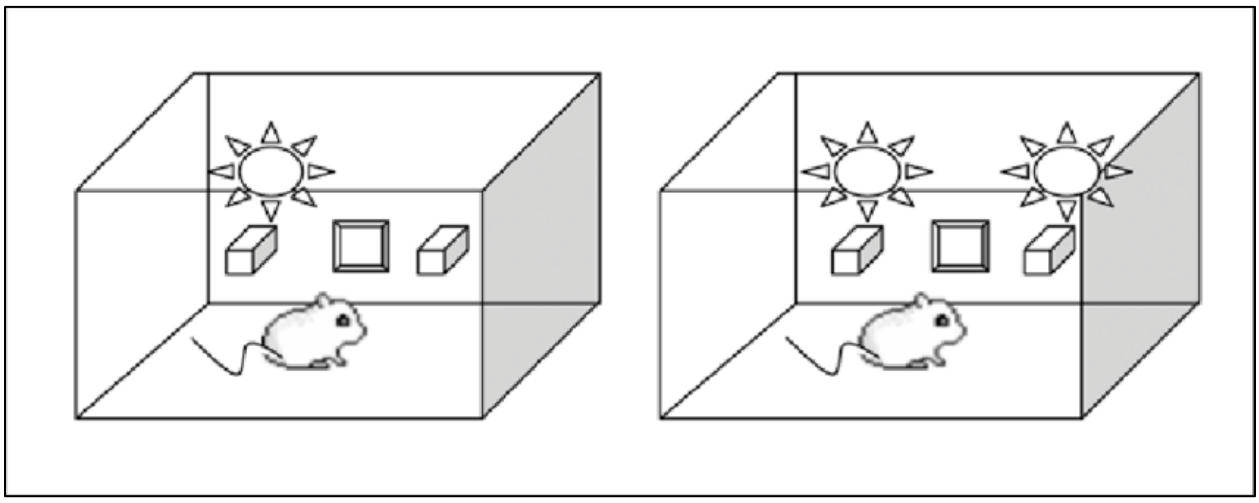

Figura 29: Prueba de Reconocimiento de Objetos (ORT).

Fuente: Arunrungvichian, K 2015.

La segunda prueba utilizada es la Prueba de Laberinto en Y modificado, la cual consta de dos fases; la fase de muestra donde se administra el compuesto a estudiar y se permite explorar el laberinto en Y con los dos de los tres brazos por 5 minutos, cuantificando las entradas a cada brazo y la segunda fase la cual se realiza treinta minutos después, donde se le permite explorar los tres brazos por 5 minutos, cuantificando las entradas a cada uno, posteriormente se obtiene un índice de discriminación.

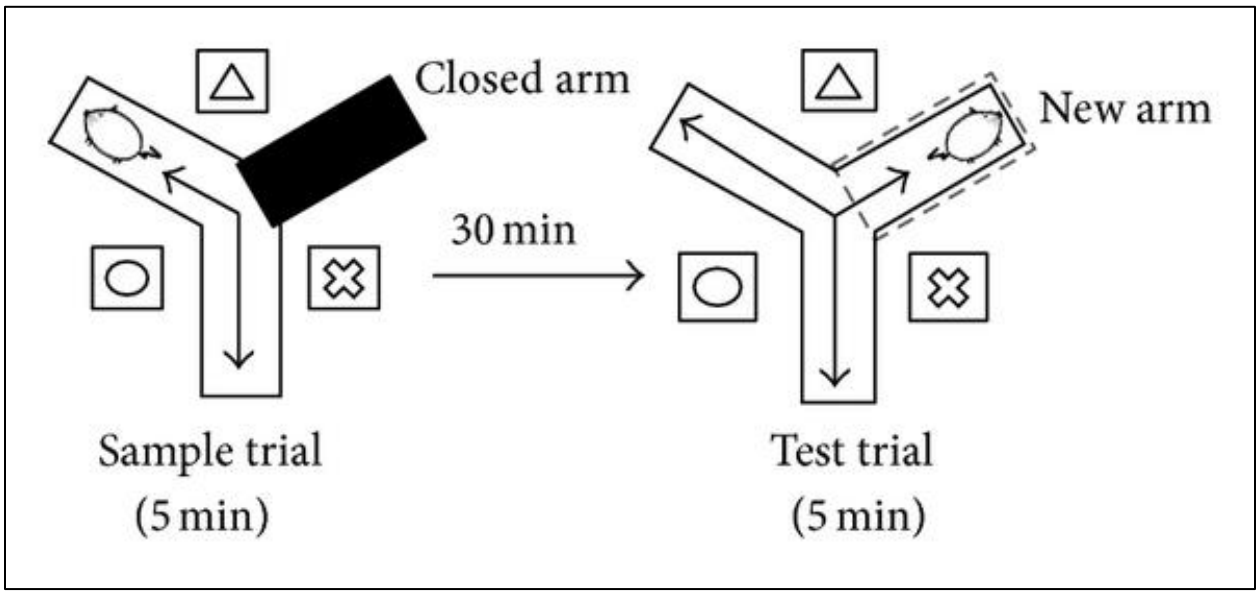

Figura 30: Prueba de Laberinto en Y Modificada.

Fuente: Arunrungvichian, K 2015.

CAPITULO III

PARTE EXPERIMENTA

3.1 METODOLOGIA

3.1.1 Modelo animal. Se utilizaron ratas Wistor género indistinto de 4-6 semanas de edad al inicio del estudio, suministradas por el bioterio de la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería de la Universidad Autónoma de Baja California. Se agrupo 1 rata por jaula bajo ciclos de iluminación por periodos de 12 horas y con temperatura y húmedad controlada.

3.1.2. Dieta experimental y composición. Se alimentó a las ratas después de 4-6 semanas de nacidas con Rodent laboratorio chow 5001, (México) 15 g por día por un periodo de 6 semanas. Cada porción de alimento presenta el siguiente contenido nutrimental (Tomando en cuenta el 10% de humedad):

Ingrediente	***Porción 100 g***	***Porción 15 g***
Proteínas	21.5%	3.22%
Carbohidratos	43.8%	6.57%
Minerales	6.3%	0.945%
Grasas		
Colesterol	180 ppm	27 ppm
Ácido linoleico	1.09 %	0.16 %
Ácido araquidónico	0.009%	0.001 %
Ácidos grasos Omega-3	**0.17%**	**0.025 %**
DHA (40%)	0.068%	0.010 % - 0.15 g

EPA (60%)	0.102%	0.015 % - 0.225 g
Ácidos grasos monoinsaturados	1.34%	0.20 %

3.1.3 Suplementación con omega-3. El alimento se suplemento con cápsulas de aceite de pescado (DHA 700 y EPA 850 fish oil, Madre Labs, pharmaceutical grade, Alemania) formuladas con 1g de aceite de pescado omega-3. El aceite se dreno de las cápsulas y se mezcló a la porción de alimento diario DHA: EPA 1:1. Las dietas se prepararon de acuerdo a las dosis experimentales y se almacenarán a 4ºC evitando la oxidación mezclando al alimento Terbutil hidroquinona (TBHQ), (200 mg/kg de grasa) según directrices del AIN-93 para roedores de laboratorio. Las dietas se prepararon con una proporción DHA: EPA 1:1, el grupo experimental de 6 a 8 ratas de acuerdo a cuatro dosis experimentales de Omega-3 PUFA: grupo (a) 10 mg/kg, grupo (b) 30 mg/kg, grupo (c) 60 mg/kg y grupo (d) 90 mg/kg.

3.1.4 Preparación y administración de los compuestos. Se utilizó Tacrina, PNU-282987, los cuales se prepararon como una suspensión utilizando Tween 80 al 15% con agua destilada como vehículo. Los compuestos escopolamina y la metilcaconitina (MLA) se prepararon como una solución disolviéndolos con solución salina al 0.9% (SS). Todos los compuestos se administraron por vía intraperitoneal (i.p.) en volúmenes de 5ml/Kg. La tacrina 1mg/kg se administró 1h antes del experimento. El PNU 3mg/Kg se administró 1 h antes del experimento. La escopolamina 1mg/kg se administró 30 min antes del experimento. El MLA 3mg/kg se administró 1 h antes de comenzar el experimento. El

omega 3 se suplemento seis semanas antes de comenzar el experimento con las dosis previamente preparadas.

***3.1.5 Determinación de mejora en el déficit cognitivo inducido por escopolamina*.**

La amnesia será indujo farmacológicamente en las ratas vía administración de escopolamina como dosis única 30 min antes de comenzar el experimento. Las ratas se dividieron en cuatro grupos: (i) grupo vehículo, las cuales recibieron SS al 0.9%, (ii) grupo amnesia, recibieron escopolamina; (iii) grupo control positivo estándar, recibieron tacrina, grupo (iv) PNU-282987 y (v) grupo de prueba, recibió omega 3 a cuatro dosis diferentes durante 6 semanas.

Grupo experimental	**Fármaco**	**Dosis (mg/kg)**
Vehículo (i)	Solución salina al 0.9%	5
Amnesia (ii)	Escopolamina	1
Control positivo estándar	Tacrina	1
Control positivo $\alpha 7$ (iv)	PNU-282987	3
Grupo de prueba (**V**)	DHA y EPA	Variable

Grupo de prueba	**DOSIS (mg/kg)**	
V	**DHA**	**EPA**
a	10	10
b	30	30
c	60	60

d	90	90

Todos los ratones se aclimataron en el laboratorio al menos 30 min antes de los experimentos. Para realizar los experimentos de cognición, se utilizó el método realizado por Arunrungvichian et al., 2015.

3.1.6 Prueba del laberinto Y modificado. El laberinto en este experimento fue en Y, que se utilizó en la prueba de actividad locomotora excepto por el tabique negro utilizado para cerrar uno de los tres brazos de la Y (Laberinto Y modificado). Fase de muestreo: en esta fase donde un brazo del laberinto Y se cerró por el tabique negro, cada rata se colocó al final de un brazo y se le permitió moverse a través de dos brazos durante 5 minutos para familiarizarse con los dos brazos abiertos. Después de 30 min de descanso, todos los brazos fueron abiertos y a la rata se le permitió moverse libremente a través de los tres brazos. El área del laberinto y el tabique se limpiaron con etanol al 70% entre cada experimento para remover señales olfativas. El número de entradas en cada brazo se contó visualmente siempre y cuando la rata acceda a cada brazo al menos 10 cm. El porcentaje de exploración al brazo desconocido se calculó con la siguiente ecuación:

$$\text{Porcentaje de exploración al brazo desconocido} = \frac{\text{Número de entradas al brazo desconocido}}{\text{Número de entradas a todos los brazos}} \times 100$$

3.1.7 Prueba de reconocimiento a objetos nuevos (ORT). Para realizar esta prueba se utilizó una caja (60 × 60 × 48 cm3) y diferentes objetos. Los objetos que se utilizaron tienen diferentes formas y colores visuales para ser discriminados. Dentro de una caja negra, se colocó un objeto familiar y un objeto nuevo. Se colocó 10 cm desde la pared lateral de la caja de manera equilibrada. El área de la caja y de los objetos se limpiaron con etanol al 70% entre cada experimento para eliminar señales de olor. En el día 1 al inicio del experimento, se les permitió a las ratas explorar libremente la caja de campo abierto durante 5 min para que se habitúen con el área. En el día 2 se administró la escopolamina 30 min antes de la fase de muestra respectivamente (prueba de adquisición). Las ratas se colocaron en la caja para explorar dos objetos idénticos. Después de 10 min de la aclimatación en sus cajas, un objeto se cambió por un objeto nuevo, y las ratas se les permitió que explorara esos objetos por 5 min en la fase de prueba (prueba de retención). El tiempo de exploración de cada objeto fue registrado siempre y cuando la nariz de las ratas se aproxime a los objetos dentro de 3 cm o si logran tocar a los objetos. El índice de discriminación (DI) fue calculado con el tiempo de exploración de los nuevos objetos (TN) más el tiempo de exploración de los objetos familiares (TF); DI = (TN - TF) / (TN + TF).

3.1.8 Establecer la mejora cognitiva mediada a través de α7-nAChR. El protocolo fue el mismo como se ha mencionado anteriormente para ORT con la dosis mínima efectiva determinada posteriormente, excepto por la administración de MLA, un antagonista selectivo α7-nAChR, se inyecto a los ratones 60 min antes de la prueba para bloquear la mejora de la cognición de los ácidos DHA y EPA. El tiempo de exploración de cada objeto

se registró si la nariz del ratón llega a 3 cm o tocar los objetos. El índice de discriminación (DI) se calculó mediante el uso de la ecuación (TN - TF) / (TN + TF); TN y TF representados como tiempo de exploración de objetos nuevos y conocidos, respectivamente.

3.1.9 Determinación de la densidad neuronal. La determinación de la densidad neuronal se determinó para cada dosis experimental mediante la técnica del disector óptico (Zeizz Primo Star). Después de alimentar a las ratas con suplemento de DHA y EPA por 6 semanas, se anestesio las ratas con tiopental sódico (35 mg/kg, i.p) y se obtuvo una muestra de sangre venosa; posteriormente se decapitaron y extrajeron los encéfalos. Para los estudios histopatológicos se cortó secciones de tejido del hipocampo, de la corteza cerebral y del lóbulo frontal, fijados en 10% de formalina tamponada con fosfatos, posteriormente fueron lavados con abundante agua durante 12 horas para luego ser incluidos en celoidina. Se realizó el conteo de las neuronas con un aumento de 100x, un volumen tisular de 64 mm^2 y la densidad se expresará en neuronas /mm^2. La muestra de sangre venosa, el resto del hipocampo, la corteza y de los lóbulos, se criopreservaran a -80°C para el posterior análisis bioquímico.

3.1.10 Análisis bioquímico para los marcadores de estrés oxidativo y la actividad enzimática antioxidante. Para determinar el análisis bioquímico se utilizó la metodología utilizada por Ramaiyan et al. 2016. 100 mg de tejido se homogenizaron con buffer de KCl posterior centrifugación, se utilizaron alícuotas de sobrenadantes y de plasma para cada dosis suplementada de DHA:EPA para la medición del nivel de

peroxidación de lípidos producto de la oxidación de los ácidos grasos. El nivel de peróxidos lipídicos en plasma y tejido se determinó midiendo la reactividad del ácido tiobarbutírico, mediante el ensayo MDA (Malonaldehído) (Lípido per oxidación Assay kit). Se homogenizo los tejidos (100 mg) en 1 ml de buffer de fosfatos, pH 7 y se centrifugaron a 600 g por 15 min. Los sobrenadantes y el suero se utilizaron para el análisis de la actividad de la enzima de defensa antioxidante SOD (Superóxido dismutasa) por métodos espectrofotométricos (Ramaiyan et al, 2016).

3.1.11 Análisis estadístico. Todos los resultados se representaron como promedios ± desviación estándar (SD) para cada grupo de datos. Para realizar el análisis estadístico se utilizó SigmaStat32. Las diferencias de $p < 0,05$ se considerarán significativas. Los diferentes resultados número de entradas para las pruebas de la actividad locomotora entre los grupos de compuestos de prueba y del vehículo se analizaron con ANOVA de una vía, seguido de la diferencia menos significativa con el test LSD de Fisher. Para la determinación de la mejora del déficit cognitivo inducido por escopolamina en la prueba de laberinto-Y modificado y ORT, los resultados entre los grupos de prueba y el grupo de amnesia se analizaron con ANOVA de una vía, seguido del test LSD de Fisher., excepto para el tiempo de exploración entre la muestra y la fase de prueba en ORT, estos datos se analizaron mediante la prueba t-Student. Para la determinación de la mejora cognitiva a través de α7-nAChR, se utilizó ANOVA, seguido del test LSD de Fisher para comparar el DI entre grupos de ensayo y del vehículo en el protocolo para la búsqueda de la dosis mínima efectiva y se compararon con y sin la administración de MLA para

establecer un mecanismo de acción. Los tiempos de exploración entre la muestra y la fase de prueba se analizaron mediante la prueba t-Student para datos apareados.

CAPITULO IV

RESULTADOS

Prueba de la Actividad Locomotora

DHA/EPA fue utilizada para determinar los efectos en la actividad locomotora de todas las dosis. Un ligero aumento en la actividad locomotora fue observado con el aumento de la dosis de DHA/EPA (Figura 32), siendo similar como el control y la Tacrina. ANOVA de una vía con comparación con LSD Fisher post/hoc fue utilizado para evaluar la diferencia entre los grupos de prueba y el grupo vehículo ($F_{7,42}$ = 1.24, *P* = 0.308, n = 7 ratas/grupo). Sin embargo, entre las dosis de 10 y 15mg/Kg, no existieron diferencias significativas (*P* = 0.714), tampoco existió diferencia significativa entre las dosis de 30 y de 60 mg/kg (*P* = 0.947). El efecto mínimo de la dieta en la actividad locomotora fue significativo a la dosis de 10mg/kg (27.29 ± 5 entradas), mientras que el efecto máximo de la suplementación fue a los 30mg/kg (30.86 ± 4.8 entradas), respectivamente, comparado con el control (29.57 ± 2.6 entradas; *P* > 0.05). No se observaron diferencia significativa en las dosis de 10 y 15mg/kg (*P* = 0.106, *P* > 0.05, respectivamente), comparado con tacrina.

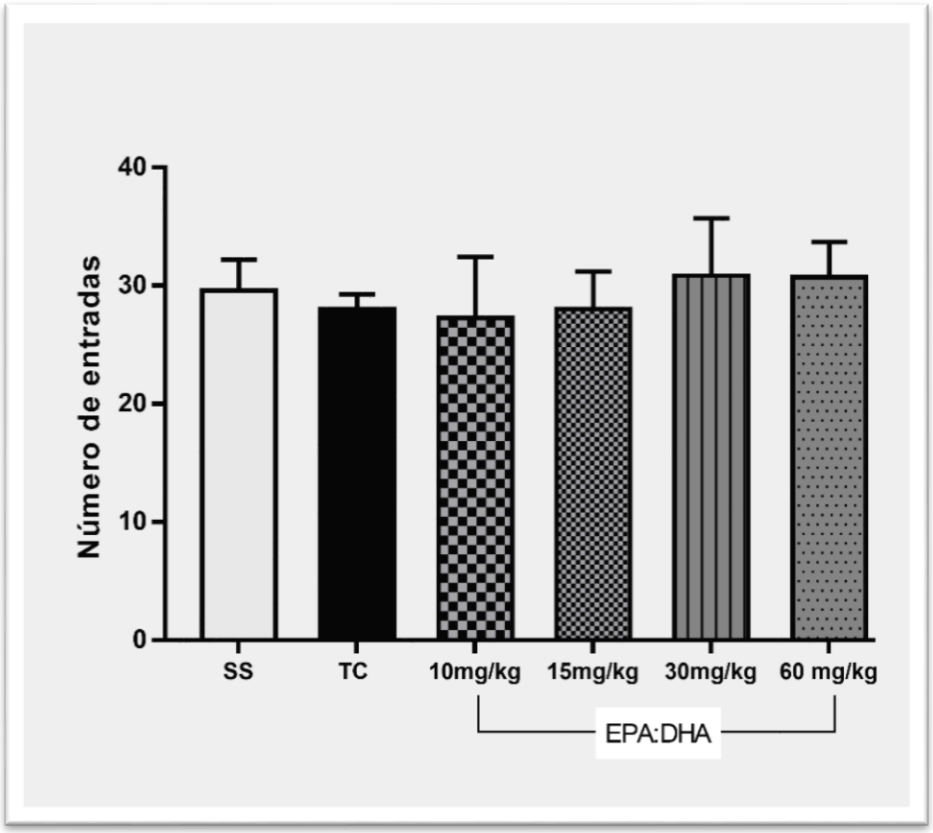

Tabla 1. Prueba de la actividad locomotora. Ratas suplementadas con EPA/DHA a diferentes dosis moviéndose libremente en el Laberinto en Y por 8 minutos. Las ratas fueron inyectadas con vehículo y tacrina 1 hora antes. El número de entradas en los tres brazos fueron registradas. Se utilizó la prueba ANOVA una vía para evaluar los diferentes resultados. Existió una diferencia significativa para 10 mg/kg (F = 6.10, P <0.001) 15 mg/kg (F=6.43, P <0.001), 30 mg/kg (F=7.74, P <0.001) y también 60m mg/kg (F=7.74, P <0.001) comparado con el grupo vehículo, n=10 rata/grupo.

Prueba del Laberinto en Y Modificado

La prueba del Laberinto en Y modificado fue realizado para evaluar memoria espacial y de trabajo. Los resultados se observan en la Figura 33. El experimento fue dividido en ocho sesiones: (i) vehículo; (ii) grupo de amnesia, recibiendo escopalamina

1mg/kg; (iii) tacrina a 1mg/kg dosis; (iv) PNU-282987 a 3mg/kg dosis; (a) EPA/DHA, 10mg/kg; (b) EPA/DHA, 15mg/kg; (c) EPA/DHA, 30 mg/kg; y (d) EPA/DHA, 60 mg/kg dosis.

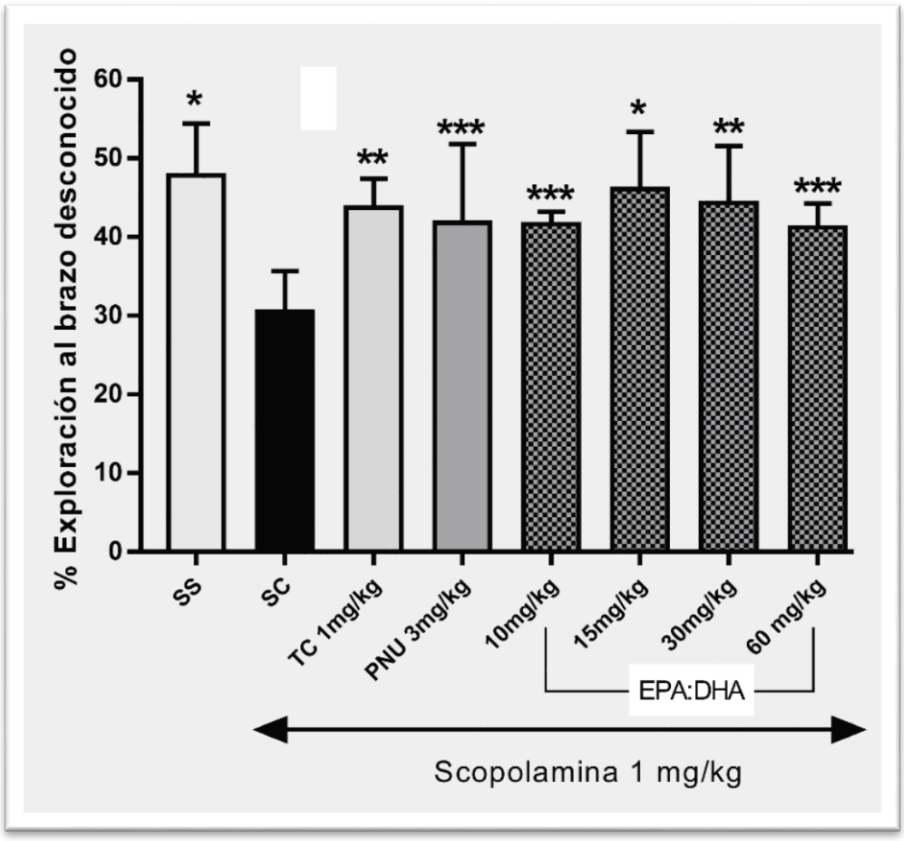

Tabla 2. Mejoramiento de la cognición en la amnesia inducida por escopalamina (Laberinto en Y modificado). Porcentaje de la exploración del brazo no familiar en el Laberinto en Y modificado para el grupo vehículo (SS), escopalamina (SC), tacrina (TC), PNU-282987 y EPA/DHA en diferentes dosis. La información está representada en medias ± error estándar (SE); n=7 ratas/grupo. **P* < 0.05, ***P* < 0.01, ****P* < 0.001 vs el grupo tratado con escopalamina (SC), ANOVA una vía con la comparación de Fisher LSD post hoc.

En las diferencias de los valores de la media de los grupos estudiados, existió diferencia estadísticamente significativa ($F_{7,49} = 2.249$, $P < 0.05$, n = 7 rata/grupo) para los grupos

suplementados vs. los grupos tratados con escopalamina (SC). Un aumento en la exploración del brazo no familiar (novedad), cuando se comparó con escopalamina y los grupos suplementados, indica que tacrina, PNU-282987, y EPA/DHA compensaron déficits colinérgicos y mejoraron memoria de trabajo espacial. En todas las sesiones, la exploración del brazo no familiar en el grupo de control fue significativamente mayor que el grupo de escopalamina, las cuales estaban en un estado amnésico. El déficit cognitivo inducido por la escopalamina aparentemente fue revertido en los grupos que utilizaron tacrina y el PNU-282987, como indica el mayor porcentaje de exploración del brazo no familiar comparado con el grupo con amnesia ($P < 0.01$, $P < 0.05$, respectivamente), donde DHA/EPA mejoro de manera significativa la función cognitiva a la dosis de 10 mg/kg ($P < 0.001$). Los resultados mostraron que 10 mg/kg de DHA/EPA tenían el mismo efecto de mejora sobre los déficits cognitivos que el compuesto PNU-282987 ($P = 0.968$) y tacrina ($P=0.651$). Entre las dosis de DHA/EPA de 10 y 30 mg/kg, no hubo diferencia estadísticamente significativa ($P = 0.558$ and $P = 0.926$, respectivamente); sin embargo, la diferencia entre valores de la media entre el grupo de 10 y el 15 mg/kg tampoco mostro diferencia estadísticamente significativa ($F_{7,7} = 8.67$, $P = 0.304$). El efecto mínimo de la suplementación en la memoria especial de trabajo fue significativo para 10 mg/kg (41.64 ± 1.5 %), mientras que el efecto máximo de la suplementación de 15mg/kg fue significativo (46.07 ± 7.3 %), esto comparado con el grupo de escopalamina (30.49 ± 5.2 %; $P < 0.05$ and $P < 0.001$, respectivamente). No se observaron diferencias significativas con la dosis de 10 mg/kg comparado con la tacrina y el PNU ($P = 0.651$ and $P = 0.968$, respectivamente) y 15 mg/kg comparado con tacrina y PNU ($P = 0.555$ and $P = 0.292$,

respectivamente). Por lo tanto, EPA/DHA (proporción 1:1) de 10 a 15 mg/kg aumenta la memorita espacial de trabajo en ratas.

Prueba de reconocimiento de objetos (OTR)

Los efectos de EPA/DHA en el mejoramiento de la memoria episódica a corto plazo (no espacial), la cual está afectada usualmente en pacientes con demencia Alzheimer, fueron evaluadas con la prueba de OTR basados en la preferencia innata de las ratas para explorar el objeto nuevo, en vez del objeto conocido. Una prueba de preferencia se realizó inicialmente para indicar que las ratas no preferían alguno de los objetos (ejemplo; objeto familiar cilíndrico azul) de otros (ejemplo; nuevo objeto triangular color café). El tiempo de exploración de los dos objetos fueron diferentes significativamente entre cada grupo (Figura 34); sin embargo, existió una preferencia entre el objeto familiar del nuevo objeto. Por lo tanto, la diferencia en los tiempos de exploración de los dos objetos (familiar vs nuevo) después del tratamiento, indica la habilidad de las ratas para memorizar el objeto explorado.

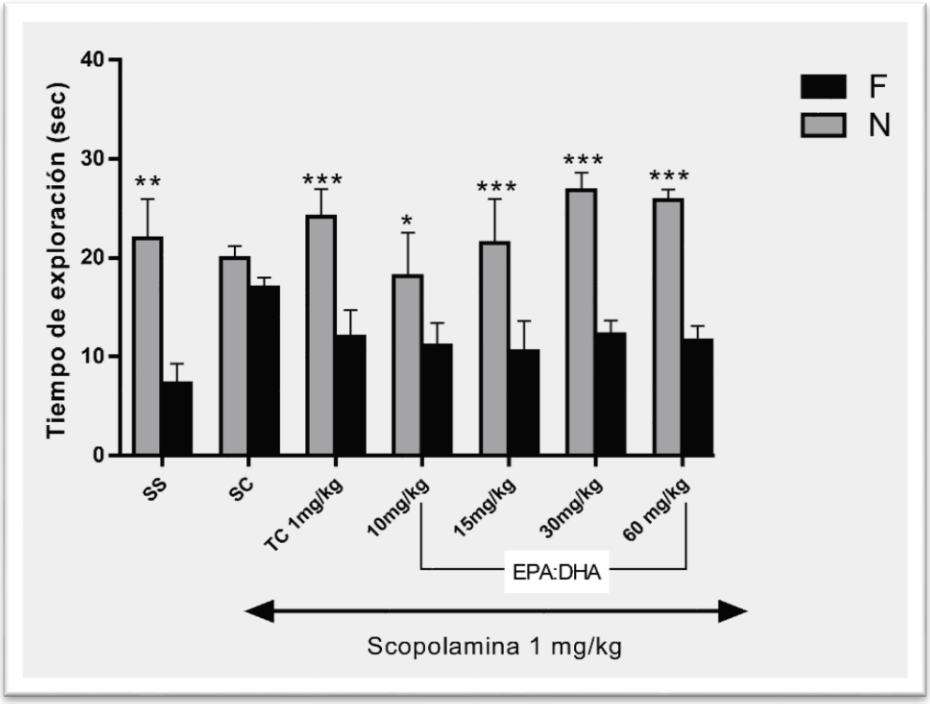

Tabla 3. Mejoramiento de la Cognición en la Amnesia inducida por Escopalamina (OTR). Los tiempos de exploración para el objeto familiar (F) y nuevo (N) del vehículo (SS), escopalamina (SC), tacrina (TC) y EPA/DHA en diferentes dosis en la fase de prueba en el OTR. La información se presenta como una media ± SE; n= 7 ratas/grupo *$P < 0.001$, **$P < 0.005$, ***P<0.05 vs el tiempo de exploración del objeto familiar, prueba T Student.

Las ratas con amnesia inducida por escopalamina utilizaron el mismo tiempo para explorar el objeto nuevo y el objeto familiar ($P > 0.05$; Prueba T-Student), donde las ratas en el grupo vehículo y el grupo amnésico tratadas con Tacrina mostraron una diferencia significativa en los tiempos de exploración entre los objetos, reflejando un mejoramiento significativo al estado amnésico ($P < 0.005$ y $P < 0.001$, respectivamente; Prueba T-Student), reflejando un mejoramiento significativo del estado amnésico ($P < 0.005$ y $P < 0.001$, respectivamente; Prueba T-Student). En la información obtenida, se calculó en índice de discriminación (DI) y usado para evaluar la habilidad de las ratas para discriminar entre el objeto familiar y el objeto nuevo; la información es presentada en la

Figura 35. Existió una diferencia significativa del DI entre los grupos ($F_{6,42}$ = 4.675; *P* = 0.001; n = 7 ratas/grupo) vs el grupo tratado con escopalamina (SC). El alto índice de discriminación presentado en el grupo tratado con escopalamina refleja la compensación de los déficits colinérgicos y el mejoramiento en la memoria de corto tiempo. El índice de discriminación del grupo control (0.488 ± 0.17) fue significativamente mayor que el del grupo tratado con escopalamina (DI = 0.212 ± 0.009), reflejando su habilidad para discriminar entre el objeto familiar y objeto nuevo ($F_{7,7}$ = 0.108; P < 0.001). Tacrina a 1mg/kg y EPA/DHA a dosis de 10, 15, 30 y 60 mg/kg mejora significativamente la memoria episódica a corto plazo, como se monitorizo con un aumento en el índice de discriminación comparado con el grupo amnésico ($F_{6,42}$ = 4.678; P = 0.001). El efecto mínimo de la dieta en la mejora de la memoria episódica de corto tiempo (no espacial) fue a 10 mg/kg (DI = 0.340 ± 0.10), mientras que el efecto máximo de la dieta fue a 60 mg/kg (DI = 0.384 ± 0.058), comparado con el grupo de escopalamina (DI = 0.212 ± 0.009; *P* = 0.017 and *P* = 0.005, respectivamente). Sin embargo, entre las dosis de 10 y 15mg/kg de EPA/DHA no existieron diferencias significativas (*P* = 0.893), tampoco existió diferencias significativas entre las dosis de 10 y 30 mg/kg de EPA/DHA y tacrina (*P* = 0.533 and *P* = 0.968, respectivamente). Por lo tanto, el EPA/DHA a dosis de 10 a 15 mg/kg (proporción 1:1) mejoro la memoria de corto tiempo episódica (no espacial).

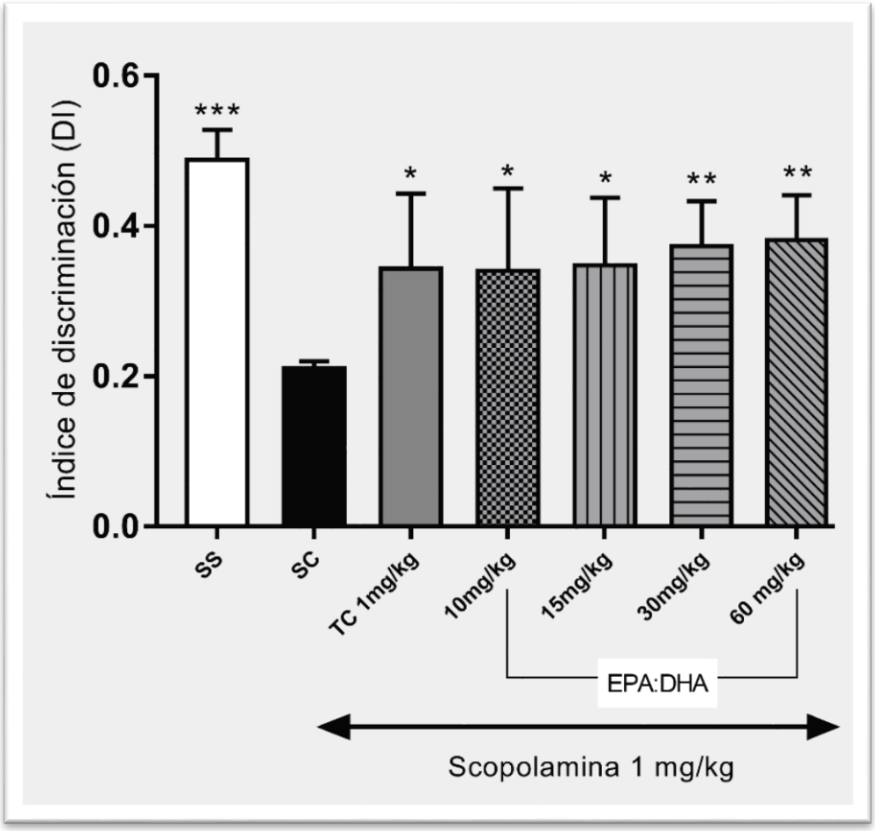

Tabla 4. Índice de Discriminación (TN− TF/TN + TF) del vehículo (SS), escopalamina (SC), tacrina (TC) y EPA/DHA en diferentes dosis en la prueba ORT. La información se presenta como una media ± SE; n = 7 ratas/grupo *P < 0.001, **P < 0.005, ***P < 0.05 vs grupo tratado con escopalamina (SC), ANOVA una vía con prueba Fisher's LSD post hoc.

Mejora en la cognición a través de los receptores *α7-nAChRs*

Para verificar que el mecanismo de acción del EPA/DHA en la mejora cognitiva es mediana a través de los receptores α7-nAChRs, PNU-282987 (3mg/kg) y EPA/DHA a dosis de 10 y 15 mg/kg fueron evaluados usando un antagonista selectivo de los receptores α7-nAChRs. Meticaconitina (MLA) fue inyectada para bloquear la respuesta agonista α7-nAChRs. La prueba de OTR en ratas con pérdida de la memoria, como se

describió anteriormente, fue usado como modelo de estudio. Los tiempos de exploración entre los dos objetos en las dos fases de exposición y la fase de prueba en ratas recibiendo MLA no fueron diferentes significativamente, obteniendo un patrón similar al del grupo vehículo. Esto indica que el MLA no mejora la memoria episódica, como se muestra en la Figura 36.

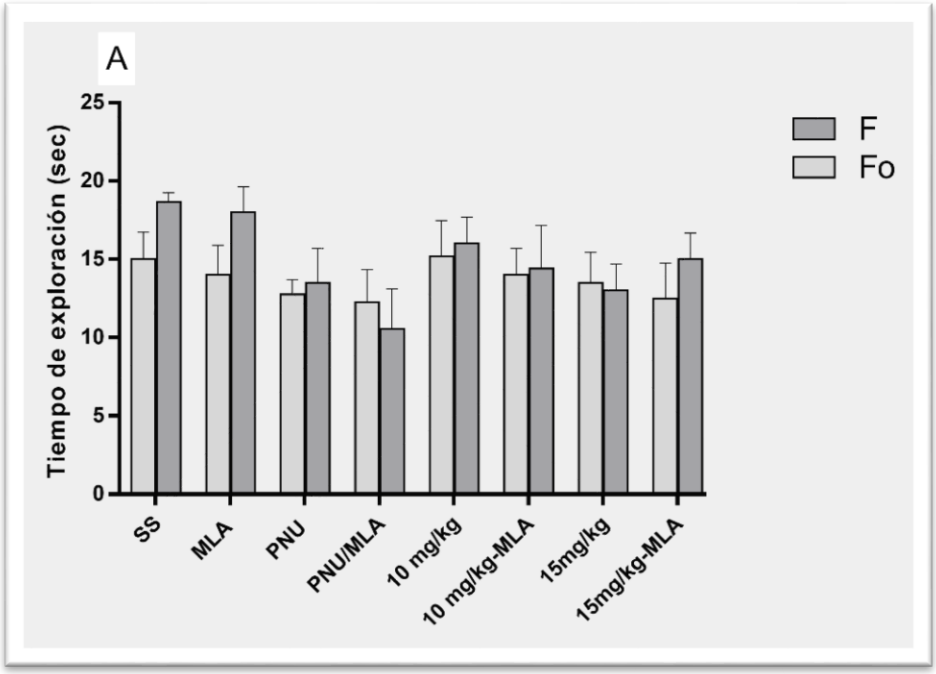

Tabla 5. Tiempos de exploración con objetos idénticos (F0 y F) en la fase simple (A), y objeto familiar (F) y objeto nuevo (N) en la fase de prueba (B), prueba de T-Student. ORT fue usado para establecer el mecanismo de acción mediado por los receptors α7-nAChRs. El tiempo de exploración de los objetos fue registrado. Se presenta la información como media ± SE, n = 7−10 rata/grupo. **P*<0.05, ***P* < 0.01, ****P* < 0.001 vs el tiempo de exploración del objeto familiar, Mann-Whitney U static.

La exploración de los dos objetos idénticos en la fase de prueba no mostro una diferencia significativa entre todos los grupos (*t*-test*, P* = 0.354; Figura 36A), donde el tiempo de

exploración entre el objeto nuevo y el familiar mostro una diferencia significativa (P < 0.001) en todos los grupos tratados (La prueba de variable iguales fallo para T-test; observe figura 37). Como se esperaba, los tiempos de exploración entre el objeto nuevo y el familiar de los grupos control y del MLA no mostraron diferencias significativas. La suplementación de EPA/DHA mejora la cognición con el mismo patrón que el PNU-282987, con un aumento en el índice de discriminación. Ratas que recibieron EPA/DHA a dosis de 15 mg/kg exhibieron una mejora en la cognición (P < 0.05 vs. grupo control; comparación de ANOVA una vía con Fisher's LSD post-hoc).

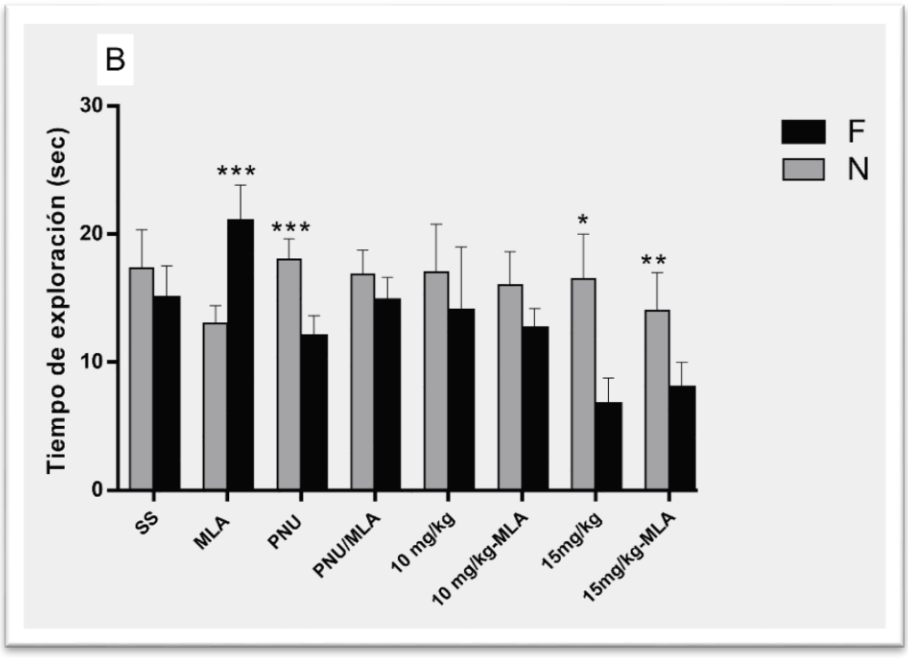

Tabla 6. Tiempos de exploración con objetos idénticos (F0 y F) en la fase simple (A), y objeto familiar (F) y objeto nuevo (N) en la fase de prueba (B), prueba de T-Student. ORT fue usado para establecer el mecanismo de acción mediado por los receptores α7-nAChRs. El tiempo de exploración de los objetos fue registrado. Se presenta la información como media ± SE, n = 7−10 rata/grupo. *P<0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001 vs el tiempo de exploración del objeto familiar, Mann-Whitney U static.

Los resultados indican que EPA/DHA a 15 mg/kg produce una mejoría en la memoria episódica mediada por los receptores α7-nAChRs. Evaluando el índice de discriminación, las ratas del grupo de vehículo no reconocieron el objeto que exploraron en la fase de reconocimiento y el MLA no llevo a una mejora en la cognición; por lo tanto, el índice de discriminación en ambos grupos era cerca de cero (Figura 38).

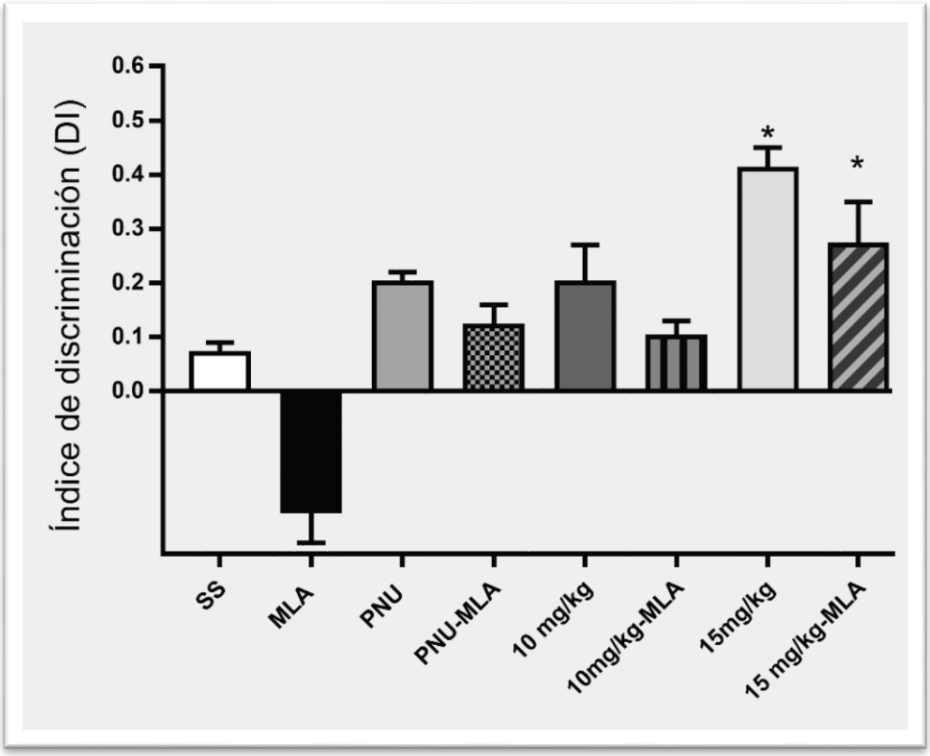

Tabla 7. Índice de Discriminación (TN− TF/TN + TF) de cada compuesto en la fase de prueba del ORT para establecer el mecanismo de acción, *P < 0.05 vs grupo vehículo, ANOVA una vía con Comparación de Fisher's LSD post hoc.

Nuestros resultados confirman lo que anteriormente se ha reportado sobre el efecto del MLA, que no mejora la cognición; de echo puede interferir en la memoria. Para el EPA/DHA de 10 mg/kg y el PNU-282987, los índices de discriminación de estos dos

grupos fueron significativamente mayores que el grupo control, indicando una mejora en la memoria del grupo tratado, como se muestra en la Figura 38.

Esta mejora en la cognición es abolida por el MLA, donde el índice de discriminación del grupo tratado con MLA regresaba al mismo valor que el grupo vehículo. Las bases de esta acción del MLA puede ser debido a un efecto negativo cognitivo directo resultado de su propio antagonismo.

Efecto de la suplementación en la cognición del déficit de memoria a largo plazo

La dosis de 15 mg/kg de EPA/DHA se siguió evaluando, ahora en un modelo de amnesia fisiológica usando el OTR con una pérdida de la memoria de 24 horas de evolución. El tiempo (intervalo de tiempo de 7 días) apropiado de amnesia fue seleccionado entre los tiempos de las ambas fases, fase de exposición y la de prueba utilizando objetos familiares y nuevos respectivamente. El tiempo explorado entre ambos objetos fue significativamente diferente en la fase de prueba después de 7, 14 y 21 días de la primera exploración ($P > 0.001$, Prueba pariada de Student) excepto el día 28 como lo muestra la Figura 39. Basado en estos resultados, las ratas si retenían memoria del objeto por 7 días posteriores a la primera exploración. Por lo tanto, 7 días fue utilizado como tiempo entre las fases de exposición y la fase de prueba.

El tiempo de exploración entre los dos objetos idénticos (F0 vs F) de cada grupo no fue diferente significativamente (Figura 7A, $P > 0.05$ abalizada con Student's t test). En la

fase prueba, el tiempo de exploración entre en objeto nuevo y el familiar fue significativamente diferente en todos los grupos tratados ($P < 0.05$) excepto para el grupo de ratas control que recibieron 0.9% de solución salina (Figura 7B).

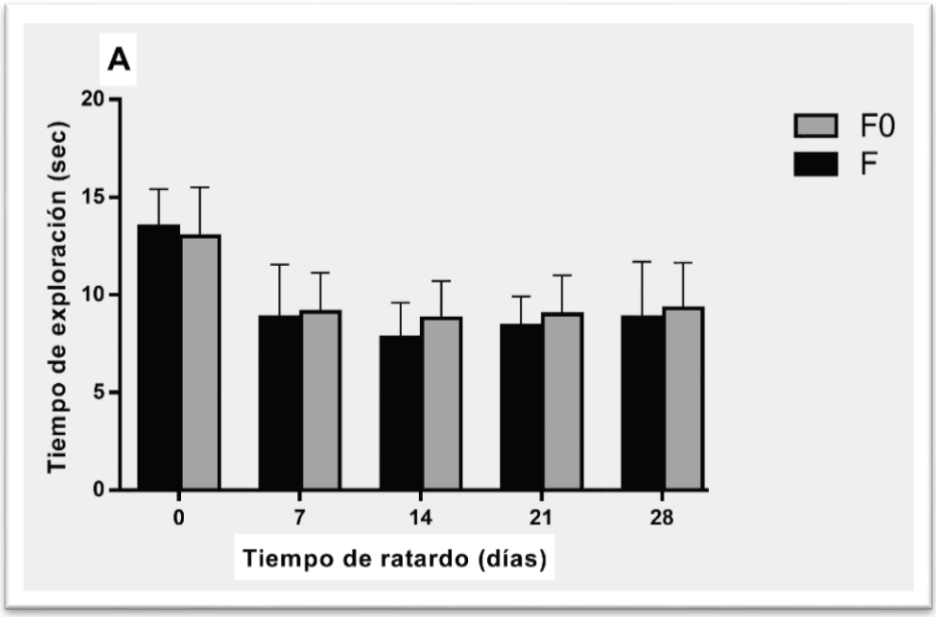

Tabla 8. Mejora de la cognición en la pérdida de memoria después de un periodo de retraso de 7 días. Tiempo de exploración de objetos idénticos (F0 y F) en la fase simple (A), y objetos familiares (F) y nuevo (N) en la fase de prueba (B) de el OTR después de un retraso de tiempo fueron registrados. Datos presentados en media ± SE, n = 7−10 ratas/grupo. *$P < 0.05$ vs tiempo explorado de objeto familiar, prueba T Student.

El índice de discriminación fue calculado y comparado con el grupo control para evaluar la dosis de 15 mg/kg de EPA/DHA en la mejora de la función cognitiva. La información se muestra en la Figura 40. Existió una diferencia significativa de ID entre los grupos ($H_{5,40} = 34.87$, $P < 0.001$, n = 7-10 ratas/grupo, Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks). Aquí se observa que la mejora de la cognición se disminuye con

respecto al paso del tiempo. Al día 28, el ID se observa casi a cero, lo que significa que el efecto sobre la función cognitiva de la dosis de 15 mg/kg de EPA/DHA disminuye al día 21 aproximadamente.

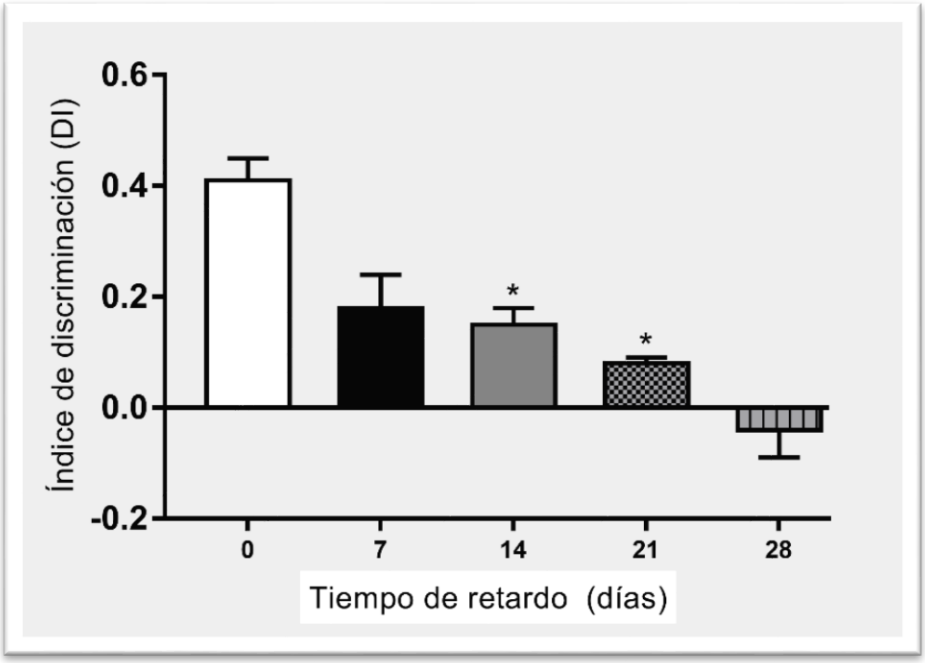

Tabla 9. Índice de Discriminación (TN− TF/TN + TF) de cada compuesto en la fase de prueba del ORT con protocolo de retraso de tiempo. n = 7-10 ratas/grupo; *$P < 0.05$ vs grupo vehículo (SH), ANOVA una vía con comparación con Fisher's LSD post.

Determinación de la densidad neuronal

Posterior a la suplementación con EPA/DHA por 6 semanas a dosis de 15, 30, 60 y 90 mg/kg, así como grupo control, se realizó obtención de corteza cerebral de la región frontal y la región del hipocampo, en dos ratas por cada grupo, Figura 41. Se realizó Tinción de Hematoxilina-Eosina. Se realizó el conteo de las neuronas con un aumento

de 100x, un volumen tisular de 64 mm^2 y la densidad se expresará en neuronas /mm^2. Se revisaron tres cortes de la región frontal y de la región del hipocampo en cada rata.

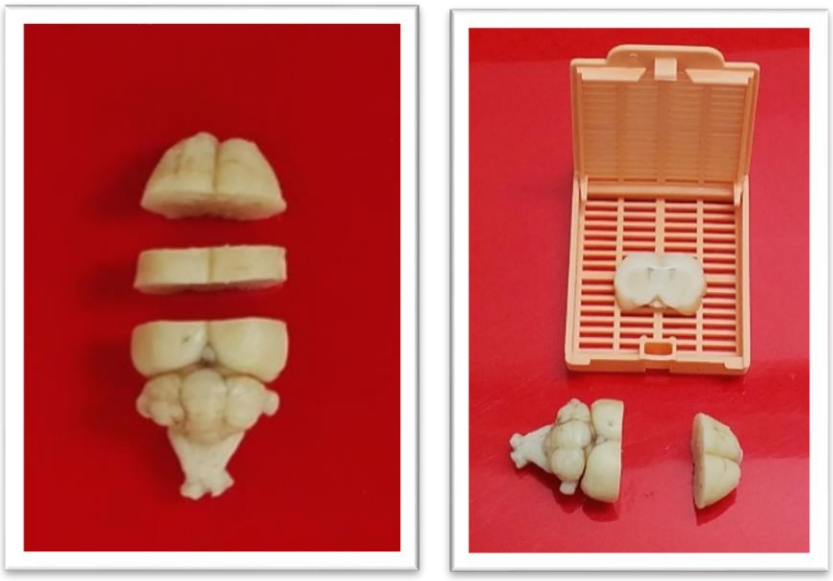

Figura 31. Se muestra los cortes del encéfalo de una de las ratas justo en la región del hipocampo (corte inferior) y en la región frontal (corte superior).

Conteo Neuronal del Hipocampo

Se realizaron conteo neuronal de tres cortes de hipocampo de cada encéfalo de rata, donde se encontró diferencia estadísticamente significativa de los grupos 15, 30, 60 y 90 mg/kg comparado con el grupo control ($P < 0.01$ prueba T Student) Figura 42.

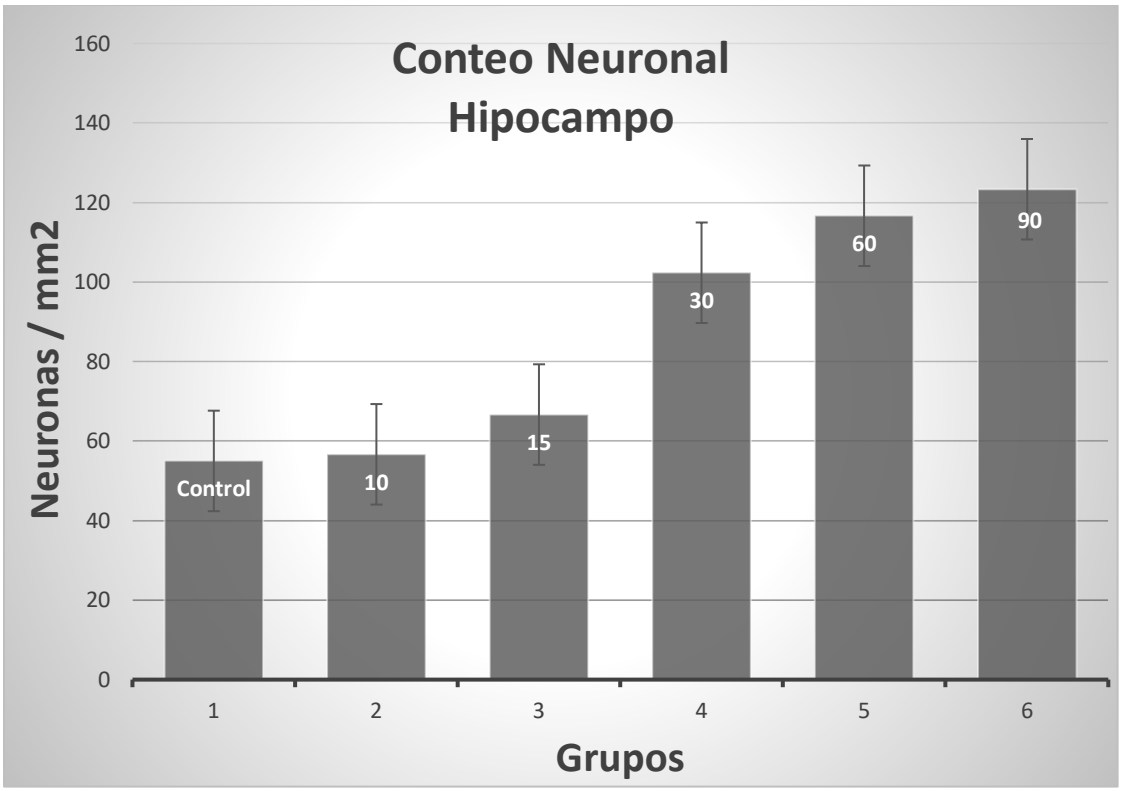

Tabla 10. Conteo neuronal del hipocampo de los diferentes grupos estudiados, con conteo en tres cortes por grupo. Se encontró diferencia significativa a partir del grupo de 15 mg/kg $P < 0.01$ comparado con el control en la prueba T Student.

Conteo Neuronal del Lóbulo Frontal

Se realizaron conteo neuronal de tres cortes de la región frontal de cada encéfalo de rata, donde se encontró diferencia estadísticamente significativa de los grupos 30 y 90 mg/kg comparado con el grupo control ($P < 0.01$ prueba T Student) Figura 43.

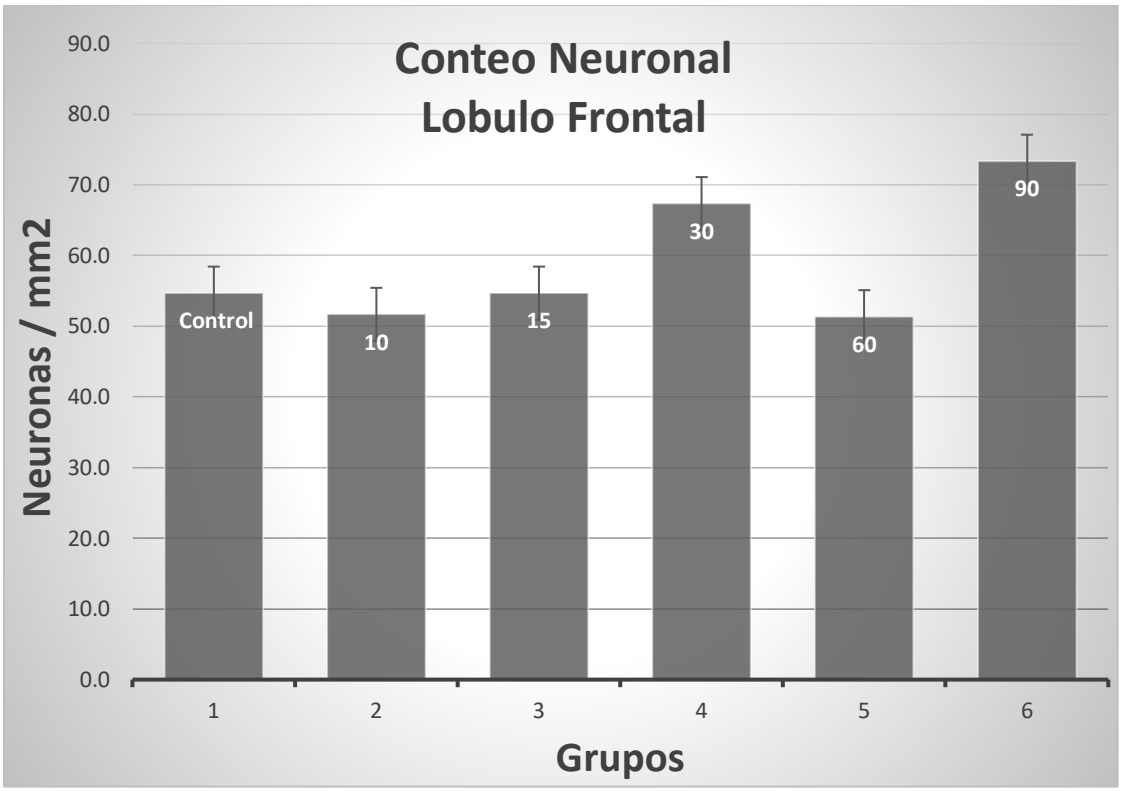

Tabla 11. Conteo neuronal del lóbulo frontal de los diferentes grupos estudiados, con conteo en tres cortes por grupo. Se encontró diferencia significativa de los grupos de 30 y 90 mg/kg $P < 0.01$ comparado con el control en la prueba T Student.

Análisis bioquímico para los marcadores de estrés oxidativo y la actividad enzimática antioxidante

Las superóxido dismutasas (SOD) son un grupo de metaloproteínas Proporcionan protección contra reacciones dañinas con el anión radical superóxido(O2-) al catalizar su desproporción en oxígeno y peróxido de hidrógeno. El ácido tiobarbiturico (TBA) se utiliza para valorar la oxidación de los lípidos, reaccionando ante la presencia de molanaldehido que es uno de los productos formados durante la oxidación de los lípidos.

En la determinación de la SOD en plasma mostro una diferencia significativa entre los grupos control y 10 mg/kg comparado con el resto de los grupos, evidenciando que a

partir de la dosis de 15 mg/kg hay un aumento de la determinación de la superoxido dismutasa, como lo muestra la Figura 44. Por lo que su aumento se relaciona con un efecto antioxidante y neuroprotector.

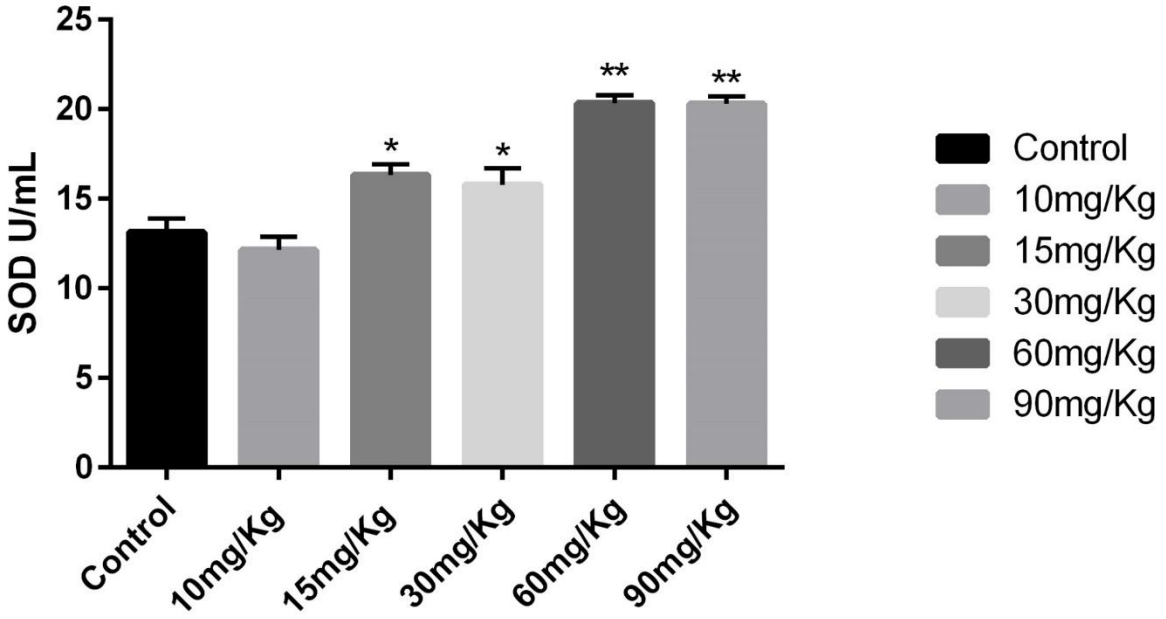

Tabla 12. Superoxido Dismutasa. Se muestra un aumento estadísticamente significativo a partir del grupo de 15 mg/kg, en comparación con grupo control y el grupo de 10 mg/kg.

En los grupos estudiados se encontró diferencia significativa en la prueba del ácido tiobarbiturico entre los grupos de 15, 30, 60 y 90 mg/kg en comparación con el grupo control y el grupo de 10 mg/kg, lo que indica una menor oxidación lipídica, un aumento de la oxidación lipídica está relacionado con deterioro cognitivo y diversas enfermedades neurodegenerativas, Figura 45.

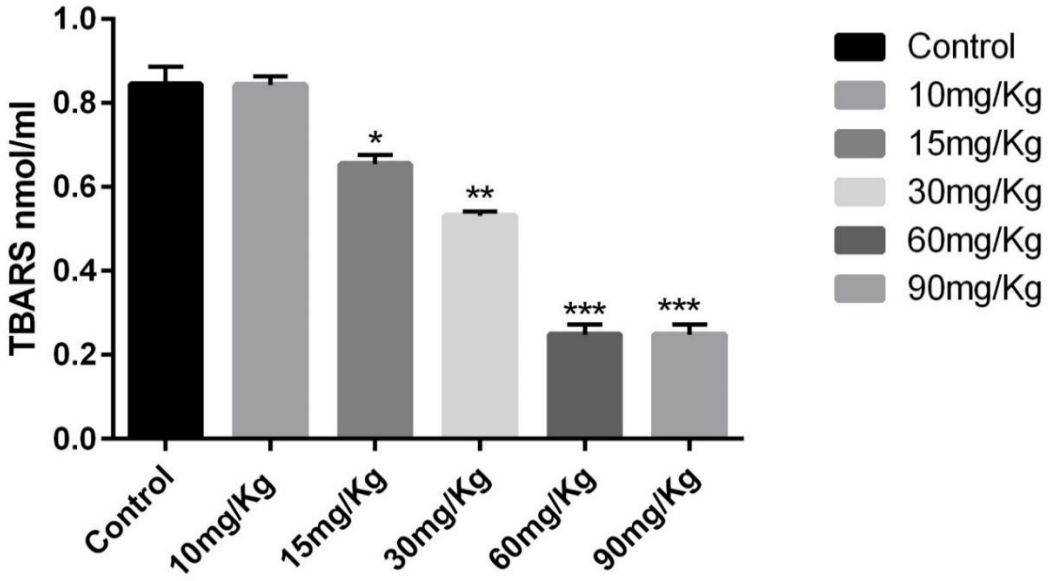

Tabla 13. Prueba del ácido tiobarbiturico. Se muestra una disminución estadísticamente significativa a partir del grupo de 15 mg/kg, en comparación con grupo control y el grupo de 10 mg/kg.

CAPITULO V

CONCLUSIONES

La dosis mínima efectiva obtenida en la prueba de reconocimiento a objetos nuevos (ORT) que es una prueba que evalúa la memoria a corto plazo episódica fue de 10 a 15 mg/kg, con diferencia estadísticamente significativa al grupo amnésico y vehículo. La memoria a corto plazo episódica es un tipo de memoria encontrada tempranamente en la evolución de las demencias, como se esperaba el uso de Tacrina que es un anticolinesterasa de acción central y agonista colinérgico parasimpaticomimetico. Así mismo se realizó una prueba para valorar la duración del efecto en la mejora cognitiva, realizando la prueba de ORT a las 24 horas y posteriormente cada 7 días, donde se encontró que la dosis de 15 mg/kg perdió su efecto sobre la cognición para el día 21.

El laberinto en Y modificado es una prueba que se centra en evaluar la memoria espacial y de trabajo, encontrando como dosis mínima efectiva con la suplementación de 10 mg/kg y máxima de 15 mg/kg, con diferencia significativa con el grupo control y amnésico, sin diferencia significativa con la tacrina y el compuesto PNU-282987 que este último es un agonista selectivo de un subtipo de nicotínicos de acetilcolina alfa 7.

Los receptores α7-nAChRs es un tipo de receptor nicotínico pentamerico relacionado con la memoria a largo plazo, memoria de trabajo y la atención, están localizados principalmente en cerebro en zonas como el tallo encefálico, lóbulo temporal y frontal, así como retina, relacionado con efecto antinflamatorio o neuroprotector. Se encontró por medio de la prueba ORT y la utilización de PNU-

282987, así como un antagonista α7-nAChRs, la Metilcaconitina (MLA) que la dosis mínima efectiva de la suplementación con EPA/DHA que mejora la cognición mediada por receptores α7-nAChRs fue de 15 mg/kg, mientras que el índice de discriminación fue desde los 10 mg/kg. Sugiriendo un papel de la suplementación con EPA/DHA en la mejora cognitiva a través de los receptores α7-nAChRs.

Se analizaron los encéfalos de los grupos control y grupos suplementados (10, 15, 30, 60 y 90) con énfasis en corteza hipocampica y corteza frontal, encontrando diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.01$) con mayor densidad neuronal en los grupos EPA/DHA, con un aumento paralelo a la dosis a partir de 15mg en el Hipocampo. En la corteza frontal se mostró una diferencia significativa en los grupos de 30 y 90 mg/kg con un aumento en la densidad neuronal ($P < 0.01$).

Se determinó el análisis bioquímico para los marcadores de estrés oxidativo de superóxido dismutasa, encontrando un aumento paralelo a la dosis de EPA/DHA de la Superoxido Dismutasa, lo que podría indicar una protección a estrés oxidativo, así mismo se obtuvo una menor reacción del Ácido Tiobarbiturico con Malonaldehido indicando una reducción de la oxidación de ácidos grasos, estas con diferencia significativa a partir de la dosis de 15 mg/kg.

Los modelos de memoria en los seres vivos todavía es un proceso cognitivo que necesita mayor estudio para lograr entender su alcance en la capacidad cerebral global, por lo que existen modelos de memoria, de los cuales se arrojan

clasificaciones y formas de medirla, como todo proceso cognitivo cerebral está ligado a múltiples otros procesos encefálicos, lo que hace en la actualidad una función compleja de estandarizar en lo que se refiere a su medición.

Se han publicado desde hace aproximadamente 3 décadas trabajos relacionados con suplementación de diferentes productos en los que se incluyen; oligoelementos, folatos, polifenoles, gangliosidos y ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPCL). Los AGPCL son principalmente el EPA y DHA, de los cuales existen múltiples estudios clínicos relacionados con patológicas que afectan la cognición y problemas relacionados con ateroesclerosis. De las patologías neurológicas con las que se relacionan más frecuentemente el uso de suplementación con EPA/DHA encontramos las Demencias, así como otras enfermedades neurocronicodegenerativas como enfermedad de Parkinson y estados prepatologicos como el deterioro cognitivo leve o moderado.

El uso de la suplementación de EPA/DHA es muy variado en los estudios, con dosis que van desde 5 hasta 90 mg/kg, con una heterogeneidad en la forma como se evalúan los procesos cognitivos como la memoria, por lo cual no existe un consenso sobre la dosis requerida para un beneficio en el sistema nervioso central. Los estudios en animales son mucho más escasos, y también con las mismas desventajas de la dosis utilizada, tiempo suplementado, población y forma de evaluar la cognición.

Por lo tanto, en este estudio de investigación se abordó como principal objetivo detectar la dosis mínima efectiva requerida para el beneficio de la suplementación de EPA/DHA sobre la cognición en ratas. Se observó que la dosis de 10 a 15 mg/kg es la dosis mínima efectiva, el mecanismo molecular no se explica completamente, pero pareciera un efecto protector del EPA/DHA sobre las regiones corticales de la memoria (Hipocampo y regiones frontales). Así mismo se realizó específicamente la evaluación un tipo de receptor que está relacionado con la cognición, es receptor α7-nAChRs, con similar resultado a la suplementación. En el conteo neuronal fue similar, en las regiones de hipocampo, con un aumento significativo a la dosis de 15 mg/kg, pero no en las regiones frontales las cuales fue a la dosis de 30 mg/kg.

Debemos recordar que los encéfalos de los animales son diferentes debido a la corteza cerebral, donde los humanos tenemos muchas más neuronas. Una región que compartimos en cierta medida con los animales es el hipocampo, que es una estructura antigua filogenéticamente hablando, de tres capas con cierto parecido a la de los animales terrestres, donde sus neuronas presentan una concentración elevada de EPA/DHA, una estructura que en 1953 fue corroborado su relación estrecha con la memoria a corto plazo y la zona con mayor neurogenesis. El hipocampo es la parte central hasta ahora del sistema límbico, sistema relacionado con la memoria, pero hay otras estructuras relacionadas, una de ellas en la región frontal.

Por lo tanto, en este estudio se mostró un efecto de la suplementación de EPA/DHA como efecto neuroprotector ante un daño anticolinérgico producido por la escopalamina y la metilcaconitina (antagonista especifico α7-nAChRs), con un aumento en el número de neuronas en el hipocampo y un efecto positivo en los marcadores de estrés oxidativo en ratas. El mecanismo molecular no es bien comprendido y sería una línea de estudio interesante a futuro. Así como estandarizar la dosis de suplementación del EPA/DHA y las formas de medir la cognición para implementar estudios clínicos de investigación y verificar la utilidad en humanos.

CAPITULO VI

BIBLIOGRAFIA

1. Aïd, S., Vancassel, S. y Chalon, S. (2003). Effect of a diet-induced n-3 PUFA depletion on cholinergic parameters in the rat hippocampus. *Journal of Lipid Research*, *44*, (), 1545-1551.
2. Ajami, M., Eghtesadia, S., Habibeyb, R. y Jalaledin mirzay razazd, Peyrovid, H. (2012). Effect of Short and Long-Term Treatment with Omega-3 Fatty Acids on Scopolamine-Induced Amnesia. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, *11*, (2), 533-540.
3. Arunrungvichian, K., Boonyarat, C., Fokin, V. y Taylor, P. (2015). Cognitive Improvements in a Mouse Model with Substituted 1,2,3-Triazole Agonists for Nicotinic Acetylcholine Receptors. *ACS Chemical Neuroscience*, *6*, (1), 1331-1340.
4. Augustine James. (2008). Human Neuroanatomy. University of South Carolina: Elsevier.
5. Bear Mark, Connors Barry, Paradiso Michael. (2016). Neuroscience; exploring the brain. Cambridge, Massachusetts: Wolters Kluwer Health.
6. Boston P, Bennett A, Horrobin D, Bennett C. (2006). EPA in Alzheimers disease a pilot study. Fatty Acids, 71, 341-346.
7. Bousquet M, Calon F, Ciccotti F. (2011). Impact of omega-3 fatty acids in Parkinson's disease. Ageing Research Review, 10, 453-463.
8. Campoy C, Escolano-Margarit MV, Anjos T, Szajewska H, Uaua R. (2012). Omega 3 fatty acids on child growth, visual acuity and neurodevelopment.. British Journal of Nutrition, 107, 85-106.
9. Carlson SE. (2002). Docosahexaenoic acid and arachidonic acid in infant development. Seminars in Neonatology . Seminars in Neonatology, 6, 437-449.
10. Carlson Susan. (2009). Early determinants of development: a lipid perspective. American Journal of Clinical Nutrition, 89, 1523-1529.
11. Caterina R. (2011). N-3 Fatty Acids in Cardiovascular Disease. New England Journal Of Medicine, 364, 2439-2450.
12. Chiu C, Cheng T, Chang C, Dewey M. (2008). The effects of omega-3 fatty acids mono therapy in Alzheimer disease and mil cognitive impairment; a preliminary

randomised double-bonded placebo-controlled study. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 32, 1538-1544.

13. Crossman Alan, Neary David. (2015). Neuroanatomia Texto y Atlas en Color. University of Manchester: Elsevier Masson.
14. Cutuli, D., De Bartolo, P., Caporali, P. y Laricchiuta, D. (2014). N-3 polyunsaturated fatty acids supplementation enhances hippocampal functionality in aged mice. *Frontiers in Aging Neuroscience*, *6*, (1), 1-17.
15. Daroff R, Jankovic J, Mazzotta J, Pomeroy S. (2016). Neurology in Clinica Practice. Cleveland OH, USA: Elsevier.
16. Dauncey M.J. (2009). New insights into nutrition and cognitive neuroscience. Proceeding of the Nutrition Society, 68, 408-415.
17. Freud-Levi Y, Eriksdotter M, Cederholm T. (2006). Omega-3 fatty acid treatment in 174 patients with mild to moderated Alzheimer disease; omega AD study a randomised double-blind trial. Archives of Neurology, 63, 1402-1417.
18. Gazi Irene, Liberopoulos Evangelos, Saougos Vasilios, Elisaf Moses. (2006). Beneficial Effects of Omega-3 Fatty Acids: The Current Evidence. Hekkenic Journal of Cardiology, 47, 223-231.
19. Gimenez C. (1998). Composicion y estructura de la membrana neuronal: bases moleculares de su fisiologia y su patologia. Revista de Neurologia, 26 (150), 232-239.
20. Gomez Pinilla, (2008). Brain foods: the effects of nutrients on brain function.Nature Reviews Neuroscience, 9(7), 568-578.
21. Gomez Pinilla, (2011). The combined effects of exercise and foods in preventingneurological and cognitive disorders. Preventive Medicine, 52, 575-580.
22. Gomez Pinilla, Tyagi Ethika. (2013). Diet and cognition: interplay between cellmetabolism and neuronal plasticity. Current Opinion Clinical Metabolism Care,16 (6), 726-733.
23. Hauser SL, Josephson SA. (2013). Harrisons Neurology in Clinical Medicine. Boston, Massachusetts: McGraw Hill Education.
24. Ibanez Menajes E. (2009). Nutrientes y funciona cognitiva. Nutricion Hospitalaria, 2, 3-12.

25. Jacobson Stanley, Marcus Elliott. (2011). Neuroanatomy for the neuroscientist. Tuff University Health Science School: Springer.
26. Kandel Eric, Schwartz James, Jessel Thomas, Siegelbaum Steven. (2013). Principles of Neural Science. Columbia University: McGraw Hill Medicall.
27. Kotani S, Nakazawa H, Tokimasa T, Akimoto K. (2003). Synaptic plasticity preserved with arachidonic acid diet in aged rats. Neurocience Research, 46, 453-461.
28. Kotani S, Sakaguchi E, Aarashina S. (2006). Dietary supplementation of arachidonic and docosahexaenoic acids improves cognitive dysfunction. Neurocience Research, 56, 159-164.
29. Lakritzen L, Brambilla P, Mazzocchi A, Harsof L. (2016). DHA Effects in Brai Development and Function. Nutrients, 8, 1-17.
30. Lombard Cb. (2000). What is the role of food in prevention depression and improving mood, performance and cognitive function?. Med J Aust, 173, 104- 107.
31. Morris MC, Evans DA, Bienias JL, Tangney CC, Bennett DA, Wilson RS. (2003). Consumption od fish and omega-3 fatty acids and risk of incident Alzheimer disease. Archives of Neurology, 60, 940-960.
32. Nemets B, Stahl Z, Belmaker RH. (2006). Addition of omega-3 fatty acid to maintenance medication treatment for recurrent unipolar depressive disorder. American Journal of Psychiatry, 159, 477-487.
33. Newman M. (2001). A new picture of life history on Earth. PNAS, 98, 5955-5956.
34. OBriens JS, Fillerup, Mead JF.(1964). Quantification and fatty acid and fatty aldehyde composition of ethanolamina, choline and serine glycerophosphatides in human cerebral grey and withe matter. Journal of Lipid Research, 5, 329-338.
35. Rapport SI, Bosetti F. (2002). Do lithium and anticonvulsants target the brain arachidonic acid cascade in bipolar disorder?. Arch Gen Psychiatry, 59, 592-
36. Richards MP, Pettit PB, Stiner MC, Trinkaus E. (2001). Stable isotope mid-upper palaeolithic. PNAS, 98, 6528-6532.
37. Richter Y, Herzog Y, Cohen T, Steinhart Y. (2010). The effect of phosphatidylserine containing omega-3 fatty acids on memory abilities in subjects with memory complaints. Clin Interv Aging, 5, 313-316.

38. Shinto L, Quinna J, Montie T. (2013). A randomised placebo-controlled pilot trialof omega 3 fatty acids and alpha lipoid acid in Alzheimer disease. Journal ofAlzheimer Disease, 20, 203-220.
39. Sinn N, Katherine M, Steven J. (2012). Effects of omega-3 fatty acids, EPA v. DHA, on depressive symptoms, quality of life, memory and executive function in older adults with mild cognitive impairment. British Journal of Nutrition, 107,1682-1693.
40. Sydenham E, Danguor AD, Lim WS. (2012). omega 3 fatty acids for the prevention of cognitive decline and dementia. the Cochrane Library, 6, 101-115.
41. Tanskanen A, Hibbeln JR, Tuomilehto J, Uutela A. (2001). Fish consumption and depressive symptoms in the general population in Finland. Psychiatr Serv, 52, 529-531.
42. Valenzuela A. (2009). Docosahezaenoic acid an essential fatty acid for the proper function of neuronal cells; the role in mood disorders. Grasas y Aceites,60, 203-222.
43. Valenzuela R., Morales J., Sanhueza C., Valenzuela A. (2013). Acido docosahexaenoico, un acido graso esencial a nivel cerebral. Revista Chilena de Nutricion, 40, 383-390.
44. Waxman Stephen. (2010). Clinical Neuroanatomy. New Haven Connecticut: McGrawHill Medical.
45. Yurok-Mauro K, McCarthy D, Rom D. (2010). Beneficial effects of docosahexaenoic acid on cognition in age-related cognitive decline. Alzheimer and Dementias, 6, 456-464.
46. Zarranz Juan Jose. (2013). Neurologia. Espana: Elsevier Masson.