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

ESTUDIO DE LAS SUBPOBLACIONES DE LA GLÍA EN EL HIPOCAMPO DE RATA CON SÍNDROME METABÓLICO

TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE MAESTRA EN CIENCIAS QUÍMCAS
PRESENTA:

QFB. GETSEMANÍ GONZÁLEZ LÓPEZ

DIRECTOR DE TESIS:
D.C. SAMUEL TREVIÑO MORA

CO-DIRECTOR:
D.C. ALFONSO DANIEL DÍAZ FONSECA

NOVIEMBRE 2023

Índice

Abreviaturas 3
Índice de ilustraciones 5
Introducción 6
Sobre consumo calórico 6
Síndrome metabólico 8
Síndrome metabólico e inflamación 10
Barrera hematoencefálica 12
Hipocampo 14
Glía 17
Microglía 17
Astrocitos 20
Oligodendrocitos 22
Enfermedades asociadas a la neuroinflamación 24
Planteamiento del problema 27
Justificación 29
Hipótesis nula 31
Hipótesis alternativa 31
Objetivo 32
Objetivos específicos 32
Esquema de trabajo 33
Metodología 34
Resultados 39
Discusión de resultados 56
Conclusiones 81
Perspectivas 82
Bibliografía 83
Anexos 100

Abreviaturas

1M	1 mes
3M	3 meses
BDNF	Factor neurotrófico derivado del cerebro
BHE	Barrera hematoencefálica
C1INH	Inhibidor del complejo 1
CA1	Cuerno de Ammón 1
CA3	Cuerno de Ammón 2
CD16	Receptor de baja afinidad de IgG
CD206	Receptor de manosa C, tipo I
CETP	Proteína transferidora de colesterol esterificado
ChREBP	Proteína de unión a elementos sensible a los carbohidratos
CICUAL	Comité institucional para el cuidado y uso de animales de laboratorio
DAMP	Patrones moleculares asociados a daño
EEM	Error estándar de la media
FGF	Factor de crecimiento de fibroblastos
GABA	Ácido gamma-aminobutírico
GD	Giro dentado
GFAP	Proteína ácida fibrilar glial
HC	Hipercalórica
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
Iba-1	Molécula adaptadora de unión al calcio ionizado
IGF-1	Factor de crecimiento similar a insulina tipo 1
IL-	Interleucina
IRCV	Índice de resistencia cardiovascular
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
MBP	Proteína básica de mielina
MCP-1	Proteína quimiotáctica de monocitos 1
NC	Normocalórica
NF-κB	Factor nuclear kappa B
NG2	Antígeno neuroglial 2
NGF	Factor de crecimiento nervioso
NLRP3	Dominio de pirina de la familia NLR
NT-3	Neurotrofina 3
Olig2	Factor de transcripción de oligodendrocitos 2
OPC	Célula precursora de oligodendrocitos
PAMP	Patrones moleculares asociados a patógenos
PDGF	Factor de crecimiento derivado de plaquetas
RI	Resistencia a la insulina
ROS	Especies reactivas de oxígeno
S100A10	Proteína fijadora de calcio
SASP	Fenotipo secretor asociado a senescencia
sdLDL	LDL cortas y densas

SNC	Sistema nervioso central
SREBP	Proteínas de unión a elementos reguladores de esteroles
TG	Triglicéridos
TLR4	Receptor tipo toll 4
TNF-α	Factor de necrosis tumoral alfa
VEGF	Factor de crecimiento del endotelio vascular
VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad

Índice de ilustraciones

Ilustración 1. Componentes celulares de la BHE. 13
Ilustración 2. Conexión trisináptica del hipocampo. 15
Ilustración 3. Células de la glía. 17
Ilustración 4. Factores externos que favorecen o inhiben la maduración de OPC 22
Ilustración 5 Papel de las proteínas de choque térmico en las enfermedades neurodegenerativas causadas por el síndrome metabólico y la diabetes. Tomado de Treviño y Díaz 2023. 63
Ilustración 6. Efectos del consumo de dieta hipercalórica durante 1 mes sobre las subpoblaciones de la glía en el hipocampo. 73
Ilustración 7 Efecto del Síndrome Metabólico sobre las subpoblaciones de la glía en el hipocampo 75

Introducción

Sobre consumo calórico

Los patrones dietéticos han experimentado cambios drásticos durante las últimas décadas (Berthoud H., 2012). Incremento en el tamaño de las porciones, alto contenido de grasas y azucares refinados, son característicos del perfil nutricional moderno que, asociado con una disminución en la actividad física, han llevado a la adopción de un estilo de vida altamente obesogénico, que contribuye a la actual epidemia de trastornos metabólicos (Hill J., 1998). Las enfermedades crónicas no transmisibles relacionadas con patrones dietéticos poco saludables y el aumento de peso se han expandido en paralelo, siendo la principal causa de morbilidad y mortalidad tanto en países desarrollados como en subdesarrollados (Mozaffarian D., 2016)

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha definido a la nutrición como la ingesta de alimentos de acuerdo con la necesidad de un organismo, la mal nutrición puede reducir la inmunidad, aumentar la vulnerabilidad a las enfermedades, alterar el desarrollo físico y mental, y reducir la productividad, además el consumo de dieta subóptima se ha asociado como uno de los principales factores de mortalidad (Mozaffarian D., 2016). La nutrición es el reflejo de costumbres y tradiciones de una sociedad, la cultura alimentaria es transmitida a través de generaciones, lo cual influye en el estado nutricional y, por ende, en la salud de la población (Rodríguez, Leandro., 2011). La cultura alimentaria en México se ha ido modificando y adaptando de acuerdo a los cambios socio-económicos por los que ha atravesado el país a lo largo de su historia (Gómez & Velázquez, 2019). El incremento en la urbanización, la industrialización y las extensas jornadas laborales ha tenido consecuencias significativas en la distribución de alimentos a lo largo del día. Esto, a su vez, ha afectado tanto la calidad como la cantidad de nutrientes disponibles. Como resultado, la calidad nutricional se ha visto disminuida, y la proporción de macronutrientes, así como el requerimiento calórico, no son adecuados.

Las principales incorporaciones hipercalóricas en la dieta mexicana corresponden a grasas saturadas, sodio, cereales refinados o azúcar agregada en alimentos

altamente procesados y bebidas, el marketing masivo alusivo a la alta disponibilidad y accesibilidad de comida rápida (López-Olmedo N., 2020; Gómez-Dantés H., 2016); los factores que impiden la alimentación saludable son: la falta de conocimiento, tiempo y/o dinero para comprar, preparar y/o consumir alimentos saludables, la preferencia por consumir bebidas azucaradas y comida de alto aporte energético, la falta de motivación y el poco palatable sabor de las verduras (ENSANUT, 2016). Estos hábitos afectan negativamente a la salud de las personas, puesto que si son consumidos frecuentemente existe el riesgo de padecer enfermedades crónico-degenerativas.

El consumo ocasional de alimentos procesados no tiene un impacto desfavorable, siempre y cuando el 80% de la dieta provenga de fuentes naturales y cumpla con los requisitos de una alimentación equilibrada y saludable. Sin embargo, cuando el consumo de estos alimentos se vuelve frecuente, el cuerpo inicia procesos de adaptación y compensación, ya que los ingredientes con los que se elaboran ejercen un fuerte impacto en los aspectos energéticos, neuronales, metabólicos y hormonales (Hall K., 2019; Small, D. 2019). Sin embargo, varios atributos de los alimentos ultra procesados hacen que sea difícil reemplazarlos: son económicos, tienen vida de anaquel larga, son relativamente seguros desde la perspectiva microbiológica y son muy convenientes pues generalmente están listos para comer. (Weaver C., 2014). Varios estudios han destacado que la ingesta regular de alimentos procesados se relaciona con una alta incidencia de obesidad y diabetes, ya que las personas tienden a consumir un mayor número de calorías cuando siguen una dieta basada en este tipo de alimentos, que son ricos en calorías, azúcar, grasa, así como en sales y conservadores (Hall K., 2019).

A nivel mundial, la obesidad afecta a 2 000 millones de personas, 107.7 millones de niños en todo el mundo fueron clasificados con obesidad. Desde 1980 la prevalencia de la obesidad se ha duplicado en al menos 70 países, en un panorama general de obesidad en niños y adultos la incidencia incremento en 5.0% y 12.0%, respectivamente. El exceso de peso corporal es un factor de riesgo importante de mortalidad y morbilidad (Obesity Collaborators, 2015), en México, el 81% de los

adultos mayores de 20 años presentan sobrepeso u obesidad, cifra que incrementó en comparación con el mostrado en 2018, del 75.2% (ENSANUT, 2022). Existe evidencia en la que se demuestra que el sobrepeso y la obesidad son signos invariables del desarrollo de síndrome metabólico (SMet), se estima que entre el 25 y el 30% de los adultos en todo el mundo tienen SMet, además se ha registrado que el aumento más rápido en su incidencia se observa en la población urbana de países en desarrollo (Alkhulaifi F., 2022).

Síndrome metabólico

El SMet ha sido definido por diversas organizaciones, sin embargo, no hay una definición universal. Las tres definiciones más aceptadas son las establecidas por la OMS, el Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol y la Federación Internacional de Diabetes (Saklayen M., 2018; Alberti, K., 2009) y se ha definido como una condición patológica que presenta un conjunto de desregulaciones metabólicas entre ellas: estados hiperglicémicos, resistencia a la insulina, obesidad, dislipidemia e hipertensión (Huang P., 2009). Se considera que la resistencia a la insulina (RI) es fundamental para la fisiopatología y ha sido propuesto por distintas organizaciones como requisito absoluto para el desarrollo de SMet (Balkau, B., 1999) (Huang P., 2009).

Los mecanismos patogénicos del SMet son sumamente complejos y todavía no han sido completamente elucidados. Existe un debate sobre sí los componentes individuales del SMet representan enfermedades separadas o son manifestaciones de un mecanismo patogénico común (Rochlani Y., 2017). La amplia variabilidad en la distribución geográfica destaca la relevancia de los factores ambientales y el estilo de vida. Dentro de las teorías más aceptadas sobre el origen del SMet, se ha propuesto al desequilibrio de la ingesta calórica y el gasto energético, que a su vez es afectado por la genética del individuo cuya expresión es mediada por factores externos (Saklayen M., 2018; Matsuzawa Y., 2011). Se sabe que los elementos fisiopatológicos presentes en el SMet están interrelacionados y comparten mediadores, vías y mecanismos fisiopatológicos (Huang P., 2009).

La RI es un estado patológico que consiste en una respuesta biológica alterada de la acción de la insulina en células dependientes a la hormona, como los adipocitos, miocitos y células musculares (Martins F., 2022; Yaribeygi, 2018). Previo al desarrollo de RI con carácter patológico, la hiperinsulinemia puede identificarse en la etapa temprana del SMet, incluso antes de que se desarrolle intolerancia a la glucosa.

En individuos con alteraciones en el metabolismo de la glucosa, se observa aumento en la concentración de insulina, incluso en estado de ayuno. Este incremento gradual es parte de una respuesta adaptativa del páncreas para contrarrestar la sobrecarga glicémica dada por los alimentos. Sin embargo, cuando la concentración de glucosa en ayuno supera los 140 mg/dL (en seres humanos) por periodos prolongados, incluso por décadas, las células beta pancreáticas no pueden mantener la secreción elevada de insulina, lo que lleva a su disminución y con ello el desarrollo de diabetes (DeFronzo, R. 2004; Huang P., 2009).

En el músculo esquelético, la insulina promueve la utilización y el almacenamiento de glucosa al aumentar el transporte de glucosa y la síntesis neta de glucógeno, en el hígado, activa las vías de síntesis de glucógeno e inhibe la gluconeogénesis y en el tejido adiposo, aumenta el transporte de glucosa, la adipogénesis e inhibe la lipólisis (Park S., 2021; Færch K., 2016). La aparición de RI en el tejido adiposo incrementa la lipólisis y la liberación de ácidos grasos que merman la capacidad de la insulina para reprimir la producción hepática de glucosa (Ahima R., 2008). Esta desregulación del metabolismo de carbohidratos y lípidos contribuye a acelerar la progresión de RI, además, es característica de desórdenes metabólicos como obesidad, dislipidemia, hipertensión, arterioesclerosis, hígado graso no alcohólico, SMet y diabetes (Kashyap S., 2007).

Se presume que las dietas ricas en carbohidratos generan desregulaciones en la homeostasis de la glucosa que propicia el desarrollo de RI. Este proceso favorece la expresión de enzimas clave en la síntesis de lípidos de *novo,* que asociado con gran cantidad de sustratos proporcionados por la dieta alta en carbohidratos (Schwarz J., 2003; Hellerstein M., 1999), benefician la aparición de dislipidemia que

se caracteriza principalmente por niveles plasmáticos elevados de ácidos grasos libres y triglicéridos (TG), composición anormal de lipoproteínas de alta densidad (HDL) y de lipoproteínas de baja densidad (LDL) (Jung U., 2014; Treviño S., 2022; Frühbeck G., 2018). Otro factor que contribuye a la dislipidemia es la liberación incontrolada de ácidos grasos al hígado y la síntesis de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) (Clemente-Postigo M., 2011; Klop B., 2012). En conjunto estas condiciones dan paso al establecimiento de dislipidemia metabólica característica del SMet, por lo que se ha convertido en un elemento central de estudio y evolución de las patologías crónico-degenerativas. Además, el exceso de ácidos grasos saturados de cadena larga es el principal desencadenante de prostaglandinas que activan poblaciones de macrófagos y linfocitos generadores de citocinas inflamatorias.

Síndrome metabólico e inflamación

La inflamación es una respuesta del sistema inmunológico a una lesión, infección, irritación o enfermedad, es una parte fundamental del proceso de defensa del organismo contra amenazas y daños (Singh N., 2019). La inflamación es una reacción compleja que involucra una serie de cambios bioquímicos y celulares diseñados para afrontar lesiones. Algunos de los signos y síntomas comunes de la inflamación aguda incluyen: hinchazón, rubor, dolor y calor (Ohsuzu F., 2004). Sin embargo, los signos y síntomas de una inflamación prolongada no suelen ser percibidos por el individuo, lo que conlleva a un estado de salud comprometido. Este parece ser el caso de las enfermedades metabólicas, en las que las características tradicionales de la inflamación no se aplican del todo, pues se establece una forma distinta de respuesta, denominada “crónica” o “de bajo grado”, ya que la expresión de citoquinas y la infiltración de células inmunes aparecen gradualmente, y permanecen sin resolverse con el tiempo (Gregor M., 2011).

En 2006, se propuso por primera vez el concepto de metainflamación y se definió como un proceso de inflamación crónica de bajo grado causada por factores metabólicos como el sobre flujo de nutrientes, mantenido en temporalmente en condiciones subcrónicas a crónicas (Hotamisligil G., 2006). El cual se asocia con

infiltración de células inmunes en los sitios inflamatorios, mayor expresión o actividad de moléculas inflamatorias y vías de transducción de señales similares a las de la inflamación convencional. Sin embargo, la respuesta inflamatoria convencional cesa después de eliminar el agente externo, mientras que la presencia prolongada de metainflamación puede causar graves daños a las funciones fisiológicas de los tejidos correspondientes y desencadenar diversas enfermedades (Xiong P., 2023).

Previamente, se ha puesto en evidencia que en el SMet existe sobrecarga crónica de nutrientes, que genera desregulaciones en la homeostasis glucolítica y lipídica, favoreciendo el depósito de lípidos y el incremento del tamaño de los adipocitos (Xu H., 2001). Paralelamente los adipocitos experimentan un cambio global y profundo en su secretoma, con una mayor liberación de la proteína quimioatrayente de monocitos-1 (MCP-1), mayor expresión y secreción de citocinas inflamatorias (Winkler G., 2003) y alteraciones en el nivel de varias adipocinas (Ouchi N., 1999). Del mismo modo, se ha relacionado a la dislipidemia con la metainflamación (Gregor M. 2011), pues concentraciones elevadas de TG, así como la presencia de lipoproteínas de baja densidad cortas y densas, tienen una correlación positiva con los marcadores inflamatorios (interleucina 6) IL-6, factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α) y MCP-1 (Xiong P., 2023; Pan X., 2022), estableciendo una relación causal entre altas concentraciones de lipoproteínas ricas en triglicéridos y la inflamación de bajo grado. Además, el incremento en la concentración de ácidos grasos libres sirve como ligando para el complejo del receptor tipo peaje 4 (TLR4) y estimulan la producción de citoquinas de los macrófagos, modulando así la inflamación del tejido, lo que contribuye a las complicaciones metabólicas (Shi H., 2006).

La metainflamación se ha asociado con la activación de varias vías de señalización inflamatoria; el exceso de ATP, glucosa y especies reactivas de oxígeno (ROS) favorecen la activación del inflamasoma y la vía de receptores tipo dominio de oligomerización y unión de nucleótidos (NLRP3), seguido de la producción y secreción de IL-1β, IL-18 y otros factores inflamatorios relacionados, sin embargo, el mecanismo de activación no está del todo determinado (Paik S., 2021; Mastrocola

R., 2018). Otro mediador clave en la metainflamación es el factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NF-κB), pues se ha asociado con la apoptosis, la inflamación y la regulación de las funciones inmunes intrínsecas y adaptativas (Barnabei L., 2021).

Todos estos efectos favorecen el reclutamiento al tejido inflamado de células inmunitarias intrínsecas y adaptativas, incluidos macrófagos (Xu X., 2013; Bourlier V., 2008), que desempeñan un papel importante en el desarrollo de la inflamación crónica, algunos estudios han demostrado que los procesos inflamatorios inducen la reprogramación de los macrófagos en los fenotipos M1 y M2 (Jiao P., 2009). El fenotipo M1 se ha asociado a la respuesta inflamatoria clásica y el incremento de citocinas proinflamatorias, mientras que el fenotipo M2 se asocia a la activación alternativa, pues participan en la remodelación del tejido y la liberación de citocinas antinflamatorias (Jung U., 2014).

Los sistemas metabólico e inmunológico se encuentran altamente relacionados, muchas vías de respuesta metabólica e inmune o sistemas de detección de nutrientes y patógenos se han conservado en todas las especies. Como resultado, la respuesta inmune y la regulación metabólica están altamente integradas y el funcionamiento adecuado de cada una depende de la otra. Esta interfaz puede verse como un mecanismo homeostático central, cuya disfunción puede conducir a un conjunto de trastornos metabólicos crónicos, en particular obesidad, SMet, diabetes y enfermedades cardiovasculares (Hotamisligil G., 2006). Además, la metainflamación es única porque involucra múltiples órganos, incluidos el tejido adiposo, el páncreas, el hígado, el músculo esquelético, el corazón y el cerebro (Caputo T., 2017).

Barrera hematoencefálica

Los vasos sanguíneos transportan sangre desde el corazón a cada tejido y órgano del cuerpo, lo cual es esencial para llevar oxígeno y nutrientes a los tejidos, eliminar el dióxido de carbono y los desechos metabólicos de los tejidos, transmitir señales hormonales entre los tejidos y mediar en la interacción del sistema inmunológico periférico con cada tejido (Daneman R., 2015). El árbol vascular está compuesto

por arterias y venas, que transportan sangre a los tejidos y permiten el intercambio de gases y nutrientes dentro de los tejidos y capilares con diferentes propiedades para satisfacer los requisitos únicos del tejido que vascularizan.

El sistema nervioso central (SNC) está resguardado por una barrera que lo aísla del ambiente periférico, pero permite una selección rigurosa en la entrada y salida de componentes que circulan en el torrente sanguíneo (Engelhardt B., 2011). La barrera hematoencefálica (BHE) controla la homeostasis del SNC mediante la regulación del transporte de moléculas dentro y fuera, además evita que las células sanguíneas, los componentes plasmáticos y los patógenos ingresen al tejido cerebral (Zhao Z., 2015).

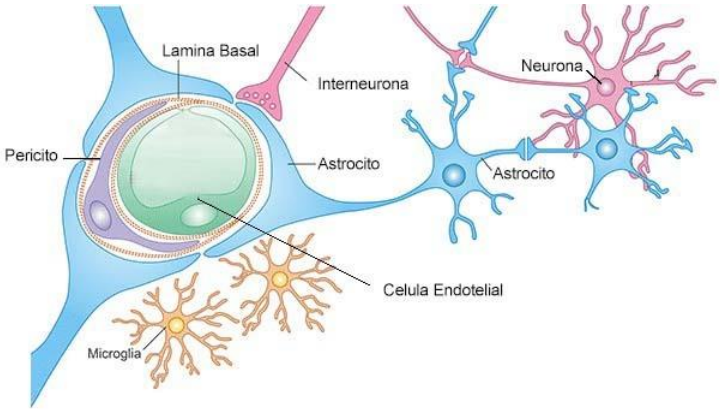


Ilustración 1. *Componentes celulares de la BHE.*
Tomada y modificada de Abbott N., 2006

La BHE es una estructura compleja, compuesta por células endoteliales especializadas, acompañadas de pericitos, proyecciones de astrocitos y matriz extracelular (Abbott, N., 2006). Las células endoteliales pertenecientes a la BHE tienen propiedades únicas que las diferencian de las células endoteliales de otros tejidos, pues se mantienen unidas por uniones estrechas que limitan en gran medida el flujo paracelular de solutos, por lo que, la mayoría de las moléculas que son transportadas desde la periferia hacia el SNC son transportadas por transportadores especializados y/ por receptores que facilitan su transporte (Sweeney M., 2016). La estructura y organización de la BHE son cruciales para mantener un ambiente constante y óptimo que respalda la función neuronal. Esto se logra mediante una combinación de barreras y sistemas de transporte selectivo que regulan

cuidadosamente el paso de moléculas esenciales y no deseadas. Además de controlar el flujo de moléculas hacia y desde el SNC, también sirve como una barrera que controla el equilibrio metabólico e inmunológico. Cualquier alteración en la integridad o función de la BHE puede conducir a la desregulación iónica y metabólica, así como la entrada de células y moléculas inmunitarias, esos procesos conducen al inicio de estados fisiopatológicos relacionados con la neuroinflamación y la neurodegeneración (Alahmari A. 2021; Liebner S., 2018).

El aumento en la incidencia del SMet ha generado interés en el estudio de las consecuencias patológicas y su progresión, que se desarrolla a partir de una inflamación crónica que aumenta el riesgo de deterioro cognitivo, accidente cerebrovascular y afecciones neurodegenerativas (Yaffe, K., 2004). Recientemente, se ha establecido un vínculo entre la alimentación y la salud mental, pues la desregulación de carbohidratos y hormonas producidas por órganos periféricos tienen acción en el SNC al atravesar la BHE (Banks, W., 2012). La insulina y la leptina atraviesan la BHE a través de un mecanismo de transporte saturable e independiente de las hormonas, que regula el apetito y el equilibrio energético (Banks, W., 1996).

Hipocampo

El hipocampo es una estructura cerebral que forma parte del sistema límbico, se encuentra en el lóbulo temporal medial de cada hemisferio cerebral (Kong Q., 2023). El hipocampo es una estructura altamente organizada y compleja, está compuesto por varias subregiones definidas citoarquitectónicamente, que tienen funciones específicas en el procesamiento de la memoria y las emociones, entre ellas el giro dentado (GD) el cuerno de Ammon 1 (CA1) y el cuerno de Ammon 3 (CA3) (Knierim J., 2015).

Un corte transversal del hipocampo revela la conexión clásica trisináptica, esta conexión involucra tres sinapsis o etapas en las que la información es procesada y transferida a lo largo de diferentes regiones del hipocampo. Primero la corteza entorrinal proporciona la principal entrada cortical al hipocampo, con sus proyecciones través de la vía perforante hacia la región del GD (sinapsis 1), después

el GD se proyecta a la región CA3 a través de la vía de fibras musgosas (sinapsis 2), seguido de la proyección de CA3 a la región CA1 a través de la vía colateral de Schaffer (sinapsis 3), finalmente, CA1 se proyecta de regreso a la corteza entorrinal, completando el circuito (Ding S.2013; Amaral D., 2007) (Ilustración 1). Estás proyecciones neuronales están involucradas en el proceso de adquisición y almacenamiento de información (Treviño, S., 2017).

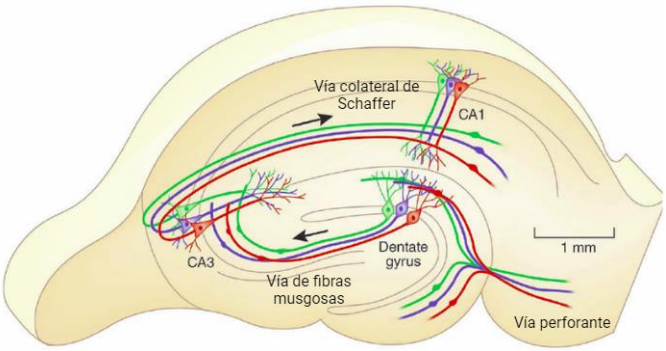


***Ilustración 2**. Conexión trisináptica del hipocampo.*
Tomado y modificado de Edvard Moser.

Se cree que diferentes regiones del hipocampo contribuyen, en distintos grados, a diversas funciones como la memoria episódica, el aprendizaje espacial, el aprendizaje contextual y la memoria de trabajo (Kenney J., 2008).

La corteza entorrinal es la fuente de gran parte de la información sensorial cortical que llega al hipocampo, y dado que la GD es la terminación principal de las proyecciones de la corteza entorrinal, se considera al GD como el primer paso en el procesamiento de la información que finalmente conduce a la producción de recuerdos episódicos (Amaral D., 2007). El GD se subdivide en capas y desempeña un papel fundamental en la formación de nuevos recuerdos, particularmente en la diferenciación de eventos y en la separación de patrones de entrada. Las neuronas del hipocampo se clasifican como células principales glutamatérgicas o interneuronas GABAérgicas (Scharfman H., 2016). Las neuronas granulares son el tipo de neurona más abundante en GD y tienen cuerpos celulares pequeños y dendritas ramificadas, generalmente los cuerpos celulares granulares están muy juntos y en la mayoría de los casos, no hay una vaina glial interpuesta entre las células. Sin embargo, la zona subgranular y el hilus del GD contienen células gliales,

como astrocitos y microglía que desempeñan un papel en el mantenimiento del entorno extracelular, el suministro de nutrientes a las neuronas y la regulación de la homeostasis neuronal (Siquiera-Mendes F., 2022).

Las salidas del GD provienen de las fibras musgosas de las células granulares que se proyectan a la subregión CA3. Se ha postulado que en CA3, se permite el almacenamiento de recuerdos a largo plazo, debido a la abundancia de conectividad sináptica excitadora recurrente entre las células piramidales (Sheintuch L., 2023). Las células piramidales son el principal tipo de células nerviosas en esta subregión, estas neuronas tienen cuerpos celulares grandes y dendritas ramificadas. Las neuronas piramidales en el CA3 son responsables de procesar y transmitir la información que fluye desde el GD y hacia CA1 del hipocampo (Aery Jones E., 2021).

La subregión CA1, se considera un nodo de salida clave del circuito de memoria del hipocampo. Sin embargo, se han propuesto una serie de funciones adicionales para CA1, incluida la detección de novedades, la comparación de entradas y el enriquecimiento de la salida del hipocampo (Kaifosh P., 2016). Se ha identificado que las células principales de CA1 son las células piramidales y que estas exhiben un grado significativo de heterogeneidad que es cada vez más reconocida e incluye diferencias de desarrollo, moleculares, anatómicas y funcionales. (Soltesz I., 2018).

Se ha puesto en evidencia que las células gliales están presentes en las dos subregiones de CA, brindando soporte metabólico a las neuronas, monitoreando y participando la respuesta inmunológica y participando en la producción de mielina (Sheintuch L., 2023). En CA1, los astrocitos participan activamente en la formación y el mantenimiento de la BHE, regulando el paso de moléculas desde la periferia hacía el SNC. A pesar de que la mayoría de los estudios se ha centrado en la actividad de las neuronas en el hipocampo, se sabe que la presencia y función de las células gliales son fundamentales para la salud y el correcto funcionamiento del hipocampo y, por ende, para las funciones cognitivas y la memoria (Kol A., 2020).

Glía

Las células gliales comparten una característica común, son células no neuronales por lo que son incapaces de producir un impulso eléctrico y constituyen aproximadamente la mitad de las células del SNC (Allen N. 2018), anteriormente se pensaba que las células de la glía únicamente brindaban soporte a las células neuronales, sin embargo, se ha descubierto que las células gliales desempeñan una variedad de funciones fundamentales (Sancho L., 2022), la glía se conforma por astrocitos, microglía y oligodendrocitos (Ilustración 2). Los oligodendrocitos están especializados en la producción de mielina, la microglía son macrófagos residentes en el SNC y los astrocitos se consideraban tradicionalmente células implicadas en el soporte metabólico de las neuronas. Sin embargo, ahora está claro que los astrocitos realizan una amplia gama de funciones, incluida la homeostasis de iones y agua, el reciclaje de neurotransmisores, la formación y mantenimiento de la BHE (Sancho L., 2012).

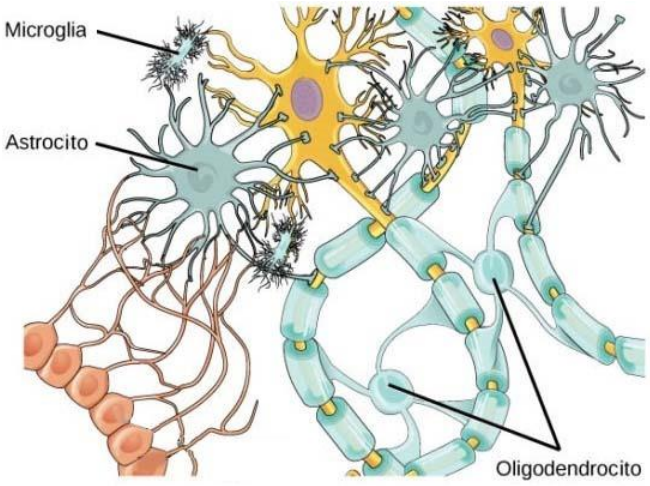


Ilustración 3. *Células de la glía.*
Tomado y modificado de Peppin Raffa.

Microglía

Durante mucho tiempo se ha considerado que el SNC tiene un sistema inmunológico privilegiado, pues su sistema difiere al de los tejidos periféricos, ahora se sabe que cuando es necesario este tejido puede generar respuestas vigorosas que depende de las células innatas especializadas residentes del SNC (Nayak, D.,

2014). Aproximadamente del 10 al 15% de las células gliales son microglía y a menudo se les denomina macrófagos residentes, pues se originan en el saco vitelino y pueblan al SNC (Greter M., 2013).

La microglía en reposo en el hipocampo adulto tiene un cuerpo celular pequeño y múltiples ramas y procesos, que se extienden desde los somas y terminan con terminaciones bulbosas. Como parte de sus funciones homeostáticas, los cuerpos celulares microgliales permanecen estacionarios, pero sus procesos están en constante movimiento sobresaliendo y retrayéndose para explorar continuamente el espacio extracelular circundante, además, se comunican directamente con neuronas, astrocitos y endotelio (Colonna M., 2017).

La microglía es indispensable para el desarrollo del cerebro (Ueno M., 2013), contribuye al entorno celular circundante mediante la liberación de factores tróficos, entre ellos el factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF-1), factor de crecimiento nervioso (NGF), el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) que apoyan la formación de circuitos neuronales y promueven su supervivencia (Borsini A., 2015).

El SNC requiere de un sistema de limpieza activo y eficiente para eliminar desechos, la microglía participa en esta limpieza a través de la fagocitosis y, lo que es más importante, puede activar la maquinaria fagocítica sin iniciar una respuesta inflamatoria. La actividad fagocítica microglial también participa en la poda sináptica neuronal (Wake H., 2009), este papel también se ha asociado con el proceso de neurogénesis adulta, particularmente en la zona subgranular del GD (Sierra A., 2010).

En condiciones fisiológicas, la microglía tiene una gran capacidad para responder a cambios en el microambiente del SNC debido a sus procesos. Estos cambios pueden ser desencadenados por microorganismos como bacterias o virus, pero también por enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson o la isquemia cerebral (Picard, K., 2021).

Ha quedado en evidencia que los cambios generados en el microambiente cerebral son un factor causal de la activación microglial, se sabe que el proceso de activación es gradual, muy complejo y variado (Colonna M.,2017). Pueden existir múltiples subestados de activación, con cambios asociados en la estructura los cuerpos celulares aumentan de tamaño mientras que los procesos se retraen y reducen para transformarse en una forma más ameboidea; y de función con expresión alterada de varios receptores y enzimas, además de producción de moléculas de respuesta inmunitaria y factores de crecimiento (Patterson S., 2015). La morfología ameboide refleja un estado altamente activado asociado con fagocitosis y función inflamatoria.

La microglía responde a distintos estímulos demostrando funciones patógenas como protectoras, la activación clásica presenta un perfil proinflamatorio (fenotipo M1) que reconoce estímulos dañinos utilizando una gama completa de receptores inmunes, (Ransohoff R., 2009 y 2012), este perfil se asocia con la liberación de citocinas proinflamatorias como IL-1β, IL-6, y TNF-α que pueden polarizar a los astrocitos hacia un fenotipo neurotóxico, agravando la respuesta inflamatoria. Dentro del tejido lesionado, la microglía existe en varios estados de activación y conserva la capacidad de cambiar su fenotipo funcional durante la respuesta inflamatoria (Rodríguez-Gómez J., 2020; Orihuela R., 2016).

Si bien la respuesta proinflamatoria ha sido conocida desde hace tiempo, recientemente se han asociado un estado de activación alternativo con acciones positivas y la regeneración del tejido, el fenotipo M2 se caracteriza por la respuesta antinflamatoria, se ha vinculado la resolución de la inflamación a través de la producción de factores antinflamatorios, entre ellos IL-4, IL-10, IL-13 y TGF-β, para desactivar los fenotipos de células proinflamatorias y restablecer la homeostasis (Lim S., 2013; Gordon S., 2010), se han demostrado los efectos, particularmente sobre la neuroprotección y la reparación, pues estimula el crecimiento de neuritas, mantiene la integridad de la BHE y estimula la oligodendrogénesis a través de la diferenciación de las células progenitoras de oligodendrocitos, favoreciendo así la recuperación funcional (Hernández I., 2021).

Astrocitos

Los astrocitos, la población celular más abundante del SNC, desempeñan funciones esenciales para la función neurológica normal (Freeman M., 2010), han sido vistos como una población celular homogénea que tiene una morfología en forma de estrella, extiende numerosos procesos que interactúan probablemente con todos los tipos de células del SNC y rodean a las neuronas y vasos sanguíneos vecinos (Allen N., 2018; Kimelberg H., 2004).

En el cerebro sano los astrocitos son indispensables en la homeostasis del SNC, producen y controlan los niveles extracelulares de GABA y glutamato, también liberan factores de crecimiento, incluido NGF, BDNF, la neurotrofina-3 (NT-3) y el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), estas moléculas controlan la maduración, la supervivencia neuronal (Pehar M., 2005), y median funciones sinápticas pues participan en la formación, maduración y plasticidad de sinapsis, y, por lo tanto, participan en la formación de la memoria. También se ha asociado a los astrocitos con la proliferación de células madre (Song H., 2002), lo que plantea la posibilidad de que existan distintas propiedades de los astrocitos en el hipocampo que promuevan la neurogénesis adulta.

Por otra parte, se ha descrito que son células fundamentales en la formación de la unidad neurovascular y ayudan a mantener la integridad y funcionalidad de la BHE y del sistema linfático pues sintetizan lamina que permite la formación de la interfaz astrocito-célula endotelial, además, se ha puesto en evidencia que los astrocitos envían procesos especializados, llamados pies terminales, que envuelven la vasculatura cerebral sobre la cual forman estructuras en forma de roseta y que regulan, la formación de uniones estrechas y la expresión de sistemas de transporte, lo que permite la integridad y selectividad de la BHE (Abbott N., 2006).

Los astrocitos, detectan y transportan glucosa, lípidos y hormonas que influyen en el metabolismo energético. Son la única fuente de producción de cuerpos cetónicos y casi la única célula que almacena glucógeno en el SNC (Treviño S., 2022). Es importante destacar que los astrocitos apoyan el alto consumo de energía neuronal

mediante el transporte de lactato a las neuronas a través del transportador de lactato astrocito-neurona y son las células típicas del cerebro que procesan la glucosa mediante glucólisis aeróbica. Su característica capacidad glicolítica favorece la conversión del piruvato en lactato en lugar de la ruta convencional a través del ciclo del ácido tricarboxílico. En las neuronas, el lactato puede emplearse como fuente de energía o ser transformado en glutamato, que a su vez tiene la posibilidad de convertirse en GABA a través de una decarboxilación (Xiong X., 2022). La actividad de enzimas como la aspartato aminotransferasa, la alanina aminotransferasa y la lactato deshidrogenasa respalda el proceso de síntesis, almacenamiento y liberación de neurotransmisores (Gonzalez-Vazquez A., 2021), por lo que los astrocitos son considerados como centros reguladores de energía.

En conjunto estas funciones sugieren que los astrocitos son participantes activos en la actividad cerebral más que elementos pasivos en el mantenimiento del espacio extracelular. Aunque ciertas funciones de los astrocitos pueden ser comunes en todo el SNC, otras funciones sirven al circuito neuronal local y pueden ser funciones especializadas basadas en su microambiente (Wang, D., 2008), se ha propuesto que todos los astrocitos recién nacidos podrían ser esencialmente idénticos, y sus fenotipos maduros estarían moldeados por interacciones con su entorno (Freeman M., 2010).

Los astrocitos pueden volverse reactivos en respuesta a una variedad de estímulos y condiciones (lesiones traumáticas, procesos neuroinflamatorios, cambios metabólicos, enfermedades neurodegenerativas), al igual que la microglía activa, los astrocitos reactivos experimentan remodelación morfológica, molecular y funcional (Lana D., 2021). Los astrocitos reactivos exhiben efectos perjudiciales o beneficiosos, dependiendo de su reactividad. Según su perfil, los astrocitos reactivos existen en dos fenotipos principales: A1 (neurotóxicos) y A2 (neuroprotectores), manteniendo la nomenclatura establecida en la microglía activa (Ding Z. B., 2021).

Los astrocitos de tipo A1 son típicamente inducidos por la activación de la microglía en un estado de neuroinflamación. Investigaciones previas han destacado que la microglía reactiva M1 secreta citocinas proinflamatorias, lo que conduce a la transición de los astrocitos hacia un fenotipo A1 (Liddelow S., 2017). Este tipo de astrocitos regulan positivamente muchos genes que aumentan la expresión de citocinas proinflamatorias y otros factores perjudiciales para las sinapsis, además favorecen la inducción de oligodendrocitos y muerte neuronal (Liddelow S., 2017b).

Por el contrario, los astrocitos A2 tienen funciones neuroprotectoras, promueven la reparación sináptica, el crecimiento y la supervivencia de las neuronas, la fagocitosis y se relacionan con la liberación de citocinas antinflamatorias y factores tróficos como BDNF o el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) y tienen efectos similares sobre los oligodendrocitos que los de la microglía M2 (Allen N. 2009).

Oligodendrocitos

Los oligodendrocitos son células gliales mielinizantes dentro SNC, las vainas de mielina que producen envuelven los axones para optimizar la velocidad de conducción y proporcionar a las neuronas numerosos factores metabólicos y tróficos necesarios para su supervivencia (Fünfschilling U., 2012). Se requiere la adición continua de oligodendrocitos y mielina para una variedad de tareas cognitivas (Xin W., 2020) (Ilustración 3).

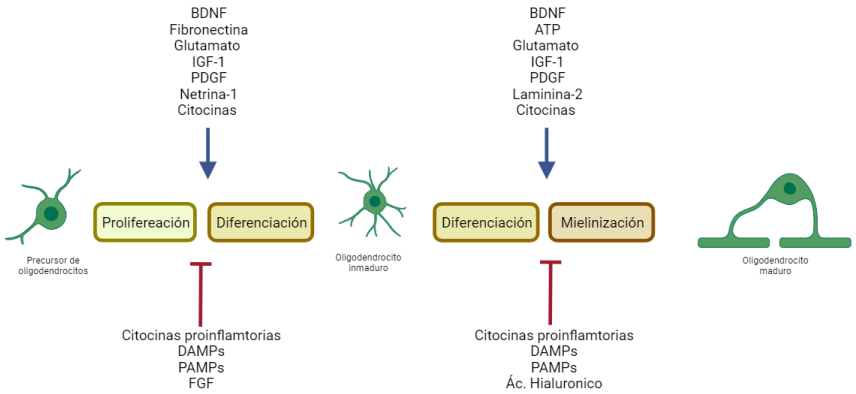


***Ilustración 4**. Factores externos que favorecen o inhiben la maduración de OPC*

Los oligodendrocitos se generan a partir de células precursoras (OPC) que surgen de la zona ventricular durante el desarrollo temprano, proliferan y migran hacia las diferentes áreas en desarrollo del cerebro (incluido el hipocampo), donde se diferencian en oligodendrocitos formadores de mielina. La diferenciación de OPC en oligodendrocitos maduros y productores de mielina es un proceso gradual y bien definido mediante un proceso secuencial que que implica su salida del ciclo celular, maduración y diferenciación (Tiane A., 2019).

Este tipo celular representa aproximadamente el 5% del total de células en el SNC. Se mantienen y renuevan automáticamente, pueden diferenciarse en oligodendrocitos mielinizantes recién formados para mantener la plasticidad de la mielina o en respuesta a señales dañinas. Estos procesos de desarrollo y diferenciación son influenciados tanto por señales moleculares intrínsecas como por señales extracelulares (Bergles D., 2015), que pueden ser factores solubles, como factores de crecimiento y quimiocinas, moléculas de adhesión célula-célula o representar moléculas de la matriz extracelular (Rauch U. 2007). Es necesario mantener un equilibrio homeostático entre estas señales moleculares para permitir una diferenciación adecuada, en consecuencia, las alteraciones en estos estímulos dificultan y alteran el proceso de diferenciación (Wheeler N., 2016).

Se ha identificado que en procesos neuroinflamatorios, la activación de células gliales (astrocitos y microglía) en sus fenotipos proinflamatorios, favorecen la desmielinización neuronal (Xu S., 2020), se ha demostrado que las citocinas proinflamatorias desempeñan un papel fundamental en este proceso, TNF-α induce la apoptosis de oligodendrocitos, retrasa la mielinización e inhibe la proliferación y diferenciación de OPC (Shi H., 2015), generando disfunciones neurológicas. Por el contrario, su diferenciación hacía los fenotipos M2 y A2 y la liberación de citocinas antinflamatorias (Zhang, Q., 2019), se han asociado con el incremento en los procesos de proliferación, diferenciación y migración de los precursores oligodendrociticos, ya que actúan como células protectoras y de reparación, contribuyendo a los procesos de remielinización (Hernández I. 2021).

Enfermedades asociadas a la neuroinflamación

La neuroinflamación es un proceso complejo que implica la activación de células inmunitarias y la liberación de mediadores proinflamatorios dentro del SNC en respuesta a cambios en el microambiente originados por una lesión, infección o la neurodegeneración. La inflamación aguda es fundamental para resolver lesiones o infecciones; sin embargo, la neuroinflamación crónica puede causar daño tisular y pérdida neuronal, lo que contribuye a la patogénesis de diversos trastornos neurológicos (Thompson K., 2017).

Dentro de los mediadores inflamatorios relevantes en este tipo de enfermedades se encuentran las interleucinas, que son proteínas de señalización que facilitan las interacciones con células inmunes y no inmunes, son esenciales para la activación, diferenciación, proliferación, maduración, migración y adhesión de las células. La función principal de las interleucinas es controlar la proliferación, diferenciación y activación celular durante las respuestas inmunológicas e inflamatorias. Realizan funciones tanto paracrinas como autocrinas (Akdis, M., 2011) y desempeñan un papel crucial en la patogénesis de diversos trastornos neurológicos autoinmunes e inflamatorios (Khan A., 2023). Se ha observado que, aunque diferentes enfermedades neurodegenerativas se desarrollan en diversos sitios del cerebro y exhiben etiologías distintas, pueden actuar sobre procesos celulares y moleculares similares (Teleanu D., 2022), sin embargo, no está clara la vía exacta a través de la cual los mecanismos celulares y moleculares intervienen en la modulación de la evolución de estas enfermedades.

Según un informe mundial en 2018 sobre el Alzheimer, alrededor de 50 millones de personas fueron diagnosticadas con demencia (Patterson C., 2018). En el Alzheimer, que es la forma más común de demencia, existe la presencia de dos lesiones distintivas en el cerebro: las placas seniles, compuestas principalmente de amiloide β y los ovillos neurofibrilares, formados por proteína Tau hiperfosforilada. El primer síntoma evidente de esta enfermedad el deterioro gradual de las capacidades cognitivas. La degradación de las sinapsis y la muerte de las neuronas, especialmente en el hipocampo (Mattson M., 2004; Parsons, C. 2007).

Se ha observado que algunas alteraciones relacionadas con la obesidad, la peroxidación de lípidos la resistencia a la insulina o la disfunción mitocondrial, también desempeñan un papel en la progresión patológica del Alzheimer y tienen relación con la neuroinflamación (O'Brien, P., 2017). Diversas investigaciones han concluido que la obesidad en edades tempranas se correlaciona con un aumento en la incidencia de la demencia, aunque este vínculo no es tan evidente en la obesidad desarrollada después de los 65 años (Pedditzi, E., 2016).

Por otra parte, en la enfermedad de Parkinson, un trastorno neurodegenerativo caracterizado por la pérdida selectiva de neuronas dopaminérgicas en la sustancia negra pars compacta (Kim, G., 2015), se reconoce que la neuroinflamación y los mecanismos subyacentes a las subpoblaciones de células gliales son factores clave en el desarrollo de la enfermedad (Araújo B., 2022), sin embargo, su papel en la patogénesis y progresión de la enfermedad aún no se conocen completamente, pero se han asociado con la sobreproducción y acumulación extrema de ROS que puede estar relacionada tanto con disfunciones mitocondriales como con la inflamación en células neuronales y gliales (Liu Z., 2017).

La esclerosis múltiple es una enfermedad neuroinflamatoria crónica caracterizada por lesiones del sistema nervioso que pueden causar un deterioro neurológico, cognitivo o físico sustancial (Ghasemi N., 2017). Aunque aún se desconoce la fisiopatología exacta, los datos existentes muestran que la patogénesis es multifactorial e incluye factores genéticos y ambientales, que pueden desencadenar una serie de reacciones del sistema inmunológico que resultan en neurotoxicidad, neuroinflamación, disfunción neuronal y desmielinización nerviosa (Browning V., 2012), se presume que la desmielinización y el daño pueden ser causados por la alteración de la BHE, la activación de células inmunitarias y el incremento en la concentración de interleucinas proinflamatorias (Khan A., 2023; Kamma E., 2022)

Se ha propuesto que los trastornos metabólicos también están relacionados con el desarrollo de enfermedades neuroinflamatorias y neurodegenerativas. Las enfermedades metabólicas, como la obesidad, el SMet y la diabetes a menudo están asociadas con un estado de inflamación crónica de bajo grado en el cuerpo.

La inflamación sistémica crónica causada por las desregulaciones metabólicas se ha asociado con la diferenciación de macrófagos al fenotipo M1 y el incremento de citocinas proinflamatorias (IL-6, TNF-α, e lL-1β) en tejidos periféricos y aunque el SNC se considera un sitio inmune privilegiado, se ha identificado el incremento en el reclutamiento de células y moléculas inflamatorias en modelos obesos en regiones cerebrales (Lainez N., 2019), además el consumo de dieta alta en grasas en ratones C57BL/6J durante 12 semanas identificó el desarrollo de SMet, así como cambios en la dinámica inflamatoria hipotalámica (Lainez N., 2018), por lo que se ha propuesto que los trastornos metabólicos y neuroinflamatorios comparten una serie de mecanismos y vías de señalización., que afectan no solo a los tejidos periféricos sino también al SNC. La inflamación sistémica, los efectos en la BHE y los cambios en el metabolismo cerebral generan una respuesta inmunológica alterada, que puede activar las células inmunológicas, la microglía y a los astrocitos en el SNC, contribuyendo a la neuroinflamación (Diaz A., 2018; Treviño S., 2015).

Planteamiento del problema

El cambio en los hábitos alimenticios, con exceso en la ingesta calórica debido al aumento en el consumo de azucares refinados, alimentos procesados y disminución en la activada física; condicionan el desarrollo de SMet y enfermedades crónico-degenerativas. A nivel mundial, en 2015, 107.7 millones de niños y 603.7 millones de adultos en todo el mundo fueron clasificados con obesidad. Desde 1980 la prevalencia de la obesidad se ha duplicado en al menos 70 países, en un panorama general de obesidad en niños y adultos fue de 5.0% y 12.0%. En México, el 75.2% de los adultos mayores de 20 años presentan sobrepeso u obesidad y/o algún otro padecimiento crónico degenerativo, cifra que incrementó en comparación con mostrado en 2012, del 71.3% (ENSANUT 2018). Existe evidencia en la que se demuestra que el sobrepeso y la obesidad son signos invariables del desarrollo de SMet.

Por lo que, México enfrenta una pandemia de enfermedades crónicas no transmisibles. El SMet es un padecimiento complejo caracterizado por la presencia de alteraciones metabólicas, fisiológicas y funcionales; con modificaciones metabólicas a nivel celular y molecular que afectan la señalización de carbohidratos y lípidos.

Estudios previos han identificado que el consumo crónico de dietas hipercalóricas se asocia con RI, que a su vez favorece la síntesis de lípidos y la lipolisis, lo que genera hiperplasia en el tejido adiposo

Recientemente, las evidencias establecen que la relación entre las enfermedades metabólicas y el deterioro cognitivo asociado a la aparición de la demencia. Debido a que en su fisiopatología se comparten rutas de señalización. Las patologías comúnmente vinculadas con estos procesos son la enfermedad de Alzheimer y Parkinson. En México más de 350,000 personas están afectadas por la enfermedad de Alzheimer, y mueren por ella anualmente 2,030 pacientes. Sin embargo, aún no está completamente establecida la relación con el desarrollo de SMet y sus consecuencias en totalidad.

Si bien gran parte de la investigación sobre enfermedades neurodegenerativas se ha centrado en las neuronas, las células no neuronales también se ven afectadas (Gleichman A., 2020). La glía contribuye a mantener un medio homeostático para que las neuronas funcionen correctamente en respuesta a una variedad de alteraciones ambientales, en modelos de neurodegeneración como el Alzheimer se ha identificado que el proceso de neuroinflamación induce la regulación a la alza de los fenotipos reactivos de la microglía y los astrocitos, que contribuyen a la muerte neuronal (Hashioka S., 2021); sin embargo, no hay reportes de la conducta que adquiere la glía durante el desarrollo de SMet en etapas tempranas y tardías, razón por la cual se pretende explorar el comportamiento de la glía en este modelo respecto a su comportamiento fisiológico lo que da paso a la siguiente pregunta científica:

¿El origen y evolución del síndrome metabólico en la rata Wistar modifica las poblaciones de la glía del hipocampo?

Justificación

La mal nutrición, con exceso de ingesta calórica, disminución en la actividad física y alteraciones en la expresión génica han incremento los problemas asociados a la RI, obesidad y dislipidemias, que desencadenan en diabetes tipo 2. Los problemas metabólicos se han convertido en un problema de salud mundial en los últimos años, además cada día incrementa la incidencia en personas de menor edad. Estos desordenes nutricionales están asociados no solo a riesgo metabólico, también se asocian a riego coronario, con aumento en la tensión arterial, diferentes tipos de cáncer, inflamación periférica y central, y en recientes fechas se ha asociado con la aparición de la neurodegeneración. Por tal motivo en los últimos años ha cobrado fuerza la relación de las enfermedades metabólicas con la aparición de enfermedades neurodegenerativas (Pugazhenthi, S., 2017).

Uno de los factores que contribuye a la neurodegeneración en la respuesta inflamatoria. En donde el actor principal de este proceso es la glía. Estas células contribuyen a mantener la homeostasis cerebral metabólica, estructural y neuroquímica (Zhou Y., 2018). Sin embargo, en estados patológicos, se ha observado que las células de la glía inducen mayor formación de moléculas proinflamatorias como citocinas. Además de activar procesos de apoptosis, exacerbar el estrés oxidativo, causar neurodegeneración. En modelos con consumo crónico, durante 3 meses, de dieta hipercalórica se ha identificado que existe astrogliosis reactiva, acompañada de alta producción de citocinas proinflamatorias, eventos que se han relacionado con el daño neuronal. Sin embargo, se desconocen las causas y el proceso de transición del estatus antiinflamatorio al estatus proinflamatorio mediado por la glía. Por tal motivo, en el presente estudio se pretende identificar si el desarrollo y evolución del SMet genera cambios en las poblaciones de la glía en el hipocampo, una región cerebral critica en las funciones límbicas (Diaz A., 2020; Treviño S., 2015).

Este proyecto tiene el potencial de identificar tempranamente factores de riesgo para el desarrollo de trastornos neuroinflamatorios y/o neurodegenerativos.

Además, comprender la relación entre el SMet y los procesos neuroinflamatorios podría ser un punto de partida crucial para el desarrollo de tratamientos farmacológicos y terapias que se centren en la neuroinflamación desarrollada en individuos con enfermedades metabólicas. Esto abre la puerta a terapias más específicas y eficaces que podrían mejorar la salud y las perspectivas de las personas afectadas.

Hipótesis nula

- El síndrome metabólico inducido por el consumo crónico de dieta hipercalórica hiperglúcida no genera cambios en las poblaciones de la glía en el hipocampo de rata macho Wistar.

Hipótesis alternativa

- El síndrome metabólico inducido por el consumo crónico de dieta hipercalórica hiperglúcida genera cambios en las poblaciones de la glía en el hipocampo de rata macho Wistar.

Objetivo

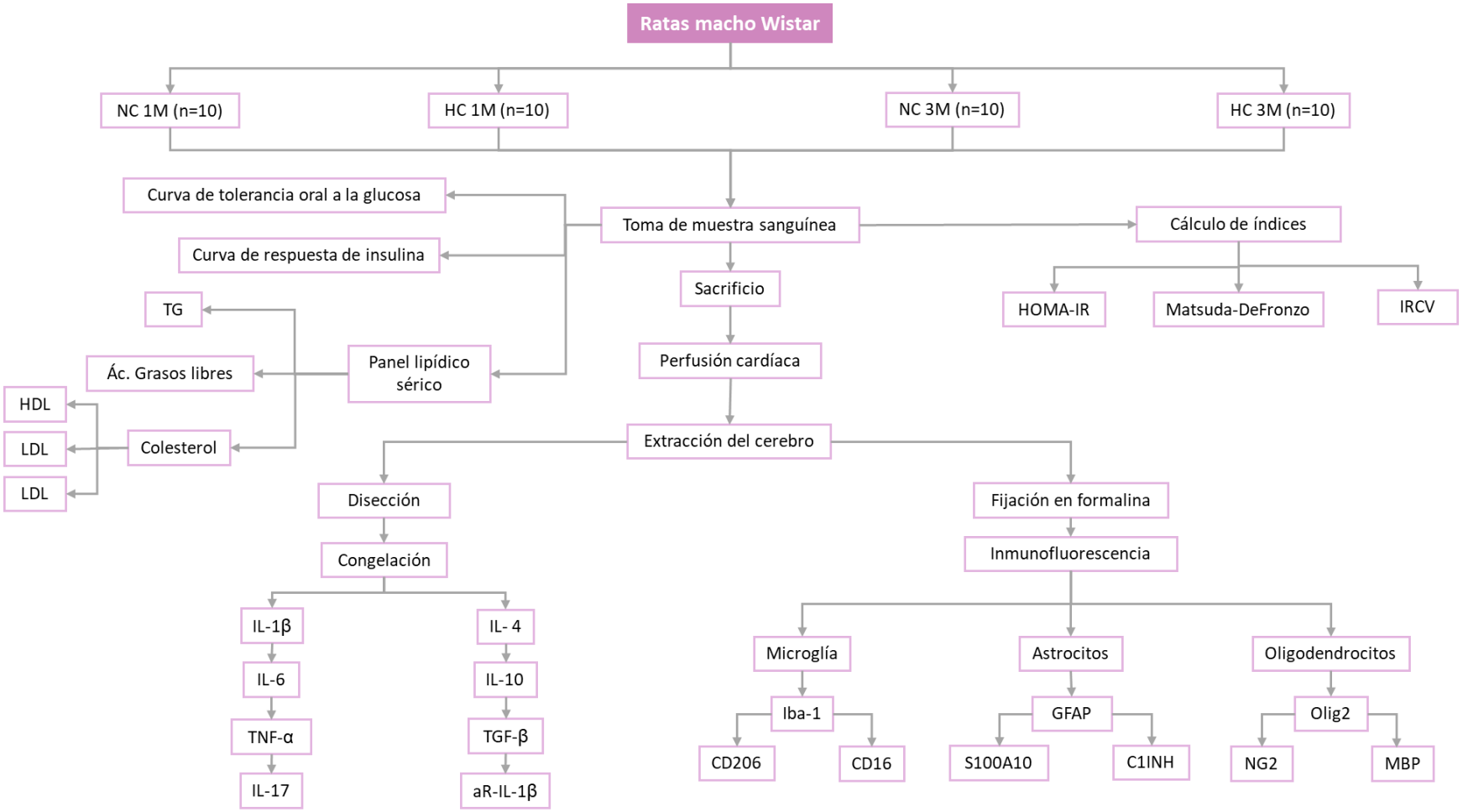
- Evaluar las subpoblaciones de la glía en el hipocampo de rata macho Wistar con síndrome metabólico en etapas tempranas y tardías.

Objetivos específicos

En las subregiones hipocampales de ratas macho Wistar sin y con síndrome metabólico en etapas tempranas y tardías:

- Evaluar el estado proinflamatorio / antinflamatorio del hipocampo.
- Cuantificar las poblaciones de astrocitos y microglía tipo 1 y 2.
- Evidenciar las poblaciones de oligodendrocitos maduros e inmaduros.

Esquema de trabajo



Metodología

Animales.

Se utilizaron 40 ratas macho de la cepa Wistar, con 20 días de edad y peso aproximado de 70-80 gramos, proporcionadas por el Bioterio Claude Bernard de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Los animales se mantuvieron en condiciones controladas, con ciclos de luz oscuridad de 12 horas, temperatura entre 19°C y 26°C, en cajas de policarbonato con una cama de aserrín, manteniendo máximo 4 sujetos de experimentación en cada caja, con acceso a comida y agua "*Ad libitum*". Se monitoreo el peso de cada rata cada tercer día hasta alcanzar 100 gramos, una vez cumplida esta condición se conformaron los grupos experimentales.

Todos los procedimientos se realizaron bajo las condiciones establecidas en la NOM-062-ZOO-1999 que indica las especificaciones para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio y del Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) de la BUAP.

Conformación de grupos

Una vez alcanzados los 100 gramos de peso, los sujetos de experimentación fueron divididos aleatoriamente y se conformaron cuatro grupos:

- Dieta normocalórica 1 mes (NC 1M)
- Dieta hipercalórica 1 mes (HC 1M)
- Dieta normocalórica 3 meses (NC 3M)
- Dieta hipercalórica 3 meses (HC 3M)

Los grupos dieta normocalórica consumieron dieta base pellet balanceada (LabDiet 5001) durante 1 o 3 meses de acuerdo con el grupo que pertenecían, por otra parte, los grupos dieta hipercalórica consumieron dieta hipercalórica hiperglúcida (MX/E/2013/047377) durante 1 o 3 meses, según correspondía. En los cuatro grupos los animales tuvieron acceso al agua *Ad libitum*.

Obtención de muestra sanguínea

Tres días antes de concluir el tiempo de cohorte se obtuvieron muestras sanguíneas de cada uno de los animales, mediante punción cardiaca para la determinación de la curva de tolerancia oral a la glucosa y la respuesta de insulina. Los animales tuvieron como preparación, ayuno por 4 horas previas a la toma de muestra, posteriormente, recibieron carga oral de glucosa con dosis 1.75 g/kg de peso. Después, fueron anestesiados con la administración intraperitoneal de Ketamina + Xilazina con una dosis de 0.2 mL/100 g, durante la anestesia, se realizó la punción cardiaca, y se obtuvieron muestras sanguíneas a los 0, 30, 60 y 90 minutos posterior a la carga oral de glucosa. Las muestras obtenidas se centrifugaron durante 10 minutos a 400 g, después se separó el suero y se almacenó a -70°C.

Sacrificio y obtención de tejidos.

Previo al sacrificio los animales se mantuvieron en ayuno durante 4 horas, una vez cumplido el ayuno, los animales se administraron con pentobarbital sódico, por vía intraperitoneal con dosis de 150 mg/kg. Se obtuvieron 5 mL de muestra sanguínea, mediante punción cardiaca, después se perfundieron con solución salina isotónica.

Posteriormente se realizó la decapitación y se extrajo el cerebro de cada animal. El 50% de los cerebros de cada grupo se disectaron para obtener el hipocampo y se almacenaron a -70°C, el 50% restante se almacenó en formalina bufferada al 10%, para fijar el tejido.

Ensayos bioquímicos séricos.

Las concentraciones de glucosa (Anexo 1), lípidos (Anexos 4-7) y colesterol (Anexo 3) se determinaron mediante kits comerciales, de la marca Spinreact, basadas en reacciones colorimétricas, cuya absorbancia determinada fue proporcional a la concentración del analito de interés.

La determinación de ácidos grasos libres se realizó de acuerdo con el método basado en la formación de sales metálicas.

Las concentraciones de insulina plasmática se determinaron mediante un inmunoensayo ELISA tipo sándwich (Diagnostica Internacional Company) (Anexo 2), con el complejo anticuerpo-antígeno resultante evaluado a 415 nm en un lector de placas Stat fax 2600. Las concentraciones de insulina se obtuvieron a partir de una curva estándar con un rango de 0 a 20 µU/mL.

Cálculo de índices.

Se calcularon los índices HOMA-IR, índice de resistencia cardiovascular (IRCV) y Matsuda-DeFronzo, mediante las siguientes ecuaciones:

$$HOMA - IR = \frac{Glucosa\ basal(\frac{mg}{dL}) \times Insulina\ basal\ (\frac{\mu U}{mL})}{2430}$$

$$Matzuda\ DeFronzo = \frac{10000}{\sqrt{\left[Glucosa\ basal(\frac{mg}{dL}) \times Insulina\ basal\ (\frac{\mu U}{mL}\right][\bar{X}Glucosa\ TOG \times \bar{X}Insulina\ TOG)]}}$$

$$IRCV = HOMA - IR \times \left[\frac{TG(\frac{mg}{dL})}{HDL(\frac{mg}{dL})}\right]$$

Determinación de citocinas.

En los hipocampos obtenidos de la disección, se realizó un homogeneizado en 300µl de PBS frío con pH de 7.4, por centrifugación a 12000 rpm a 4°C se obtuvo el sobrenadante y se determinó IL-1β, TNF-α, antagonista del receptor de IL-1β, IL-10, IL-17, IL-6, IL-4 y TGF-β mediante ELISA directo quimioluminiscente.

Inmunofluorescencia.

En tejidos embebidos en parafina se realizaron cortes coronales de 5 µm de espesor, después se eliminó la parafina y se realizó la rehidratación de los tejidos. Se procedió a la recuperación antigénica y el bloqueo de sitios de unión no específicos con albúmina de suero bovino libre de IgG al 2%.

Se realizó doble inmunomarcaje para identificar a células de la microglía, evidenciando la expresión de la molécula adaptadora de unión al calcio ionizado (Iba-1) en combinación con la expresión del receptor de baja afinidad de IgG (CD16)

e Iba-1 en combinación con el receptor de manosa C, tipo I (CD206). Se colocó el anticuerpo Iba-1 (Cell Signaling #17198, conejo) en concentración 1:400, CD16 (Cell Signaling #88251, ratón) en concentración 1:550 y CD206 (Santa Cruz Biotechnology sc-376108, ratón) en concentración 1:550. Por otra parte, para la identificación de las subpoblaciones de astrocitos se empleó el inmunomarcaje para la proteína ácida fibrilar glial (GFAP) (Cell Signaling #3670, conejo, 1:500), la proteína fijadora de calcio S100A10 (Cell signaling #5529, ratón, 1:250) y el inhibidor del complejo 1 (C1INH) (Santa Cruz Biotechnology sc-377062, ratón, 1:500), en las combinaciones GFAP + C1INNH y GFAP + S100A10. Por último, para el inmunomarcaje de los oligodendrocitos se emplearon los anticuerpos anti-, factor de transcripción de oligodendrocitos 2 (Olig2) (Cell Signaling 659155, conejo) en concentración 1:500, el antígeno neuroglial 2 (NG2) (Santa Cruz Biotechnology, sc-53389, ratón) en concentración 1:500 y proteína básica de mielina (MBP) (Cell Signaling 836835, ratón) en concentración 1:350, en las combinaciones Olig2 + NG2 y Olig2 + MBP. Se emplearon los anticuerpos secundarios acoplados a isotiocianato de fluoresceína (FITC) (Jackson Immuno Research, 115-095-146) y rodamina (Jackson Immuno Research, 111-295-144). Todas las laminillas se montaron con Vecta Shield que contenía 4 ', 6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) para la tinción de los núcleos.

Se tomaron fotomicrografías de las subregiones del hipocampo giro dentado (GD), cuerno de Ammon 1 (CA1), cuerno de Ammon 3 (CA3), en un microscopio de epifluorescencia Leica Microsystems con el objetivo 40X y empleando el software Image-Pro-Premier 9.2. Mediante el software Image J, se realizó la cuantificación células positivas a Iba-1, células positivas a Iba-1 + CD16, positivas a Iba-1 + CD206, células positivas a GFAP, positivas a GFAP + S100A10, positivas a GFAP + C1INH, células positivas a Olig2, positivas a Olig2 + NG2, positivas a Olig2 + MBP, el área analizada en cada subregión del hipocampo fue de 24.95 mm^2.

Análisis estadístico.

Lo resultados fueron expresados como la media ± el error estándar de la media (EEM), además se realizó comparación dietética mediante la prueba t-Student,

considerándose cambios significativos, $p \leq 0.05$. Los resultados de las pruebas histológicas fueron expresados como la media (de 6 fotomicrografías evaluadas) ± EEM, se realizó la comparación entre grupos usando la prueba no paramétrica de Mann-Whitney, considerando un nivel de significancia del 95 % ($P < 0.05$). Para realizar el análisis estadístico se utilizó el programa GraphPad Prism 9.

Resultados

Caracterización metabólica.

En primera instancia, se realizó el análisis y cuantificación de los parámetros biométricos y bioquímicos característicos para establecer SMet en rata Wistar que consumieron dieta HC durante 1 o 3 meses. La aparición de hiperglicemia e hiperinsulinemia son indicadores para el diagnóstico de SMet, por lo que, se sometió a los sujetos de experimentación a una prueba de tolerancia oral a la glucosa, cuantificándose la glicemia generada y su respuesta de insulina.

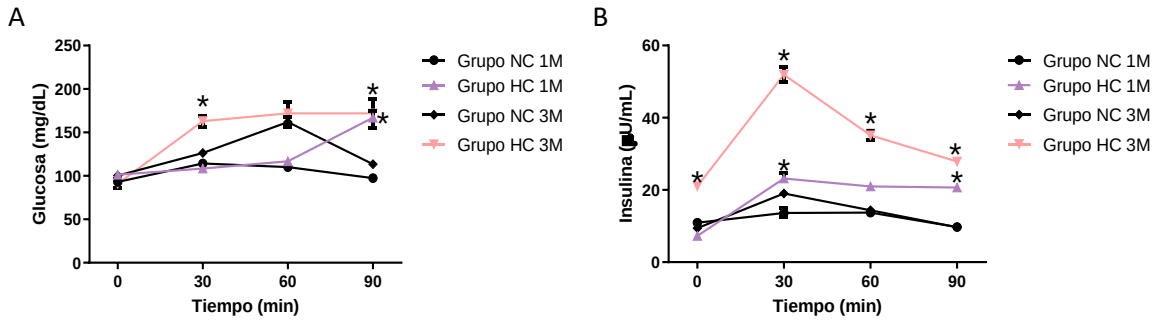


Figura 1. *Curva de tolerancia oral a la glucosa y respuesta de insulina.* **A.** Curva de tolerancia oral a la glucosa. **B.** Curva de respuesta de insulina. Los resultados son el promedio de 10 sujetos experimentales ± el error estándar de la media (EEM). El análisis estadístico se realizó por la prueba ANOVA de una vía (*) indica diferencias significativas P<0.05.

Los resultados mostraron un comportamiento clásico de la curva para el grupo NC de 1 y 3 meses, con pendiente positiva a los 30 minutos (1 mes; 100 mg/dL) y 60 minutos (3 meses; 150 mg/dL). Para los grupos HC de 1 y 3 meses, no se observaron cambios en la concentración de glucosa basal respecto a sus grupos NC. Sin embargo, el grupo HC 1M mostró incremento del 71% en la concentración de glucosa (167 mg/dL) a los 90 minutos postcarga, en comparación con el grupo NC 1M (97.2 mg/dL) (Figura 1A). Mientras que, el grupo HC 3M presentó una mayor glicemia a los 30 (29%) y 90 (51%) minutos, comparado con su grupo control (Figura 1A).

De la misma manera fue evaluada la respuesta insulínica. En los grupos de 1M no se observaron cambios en la concentración de insulina basal, sin embargo, se mostró incremento del 69.9% y 112% en el minuto 30 y 90 postcarga, respectivamente en el grupo HC 1M, respecto al grupo NC 1M (23.16 µU/mL) (Figura 1B). Por otra parte, en grupo HC 3M se observaron incrementos estadísticamente significativos del 118% (21 µU/mL) en la concentración de insulina basal, 173.3% (51.93 µU/mL), 143% (35.13 µU/mL) y 187.21% (27.89 µU/mL) en los minutos 30, 60 y 90 postcarga de glucosa (Figura 1B).

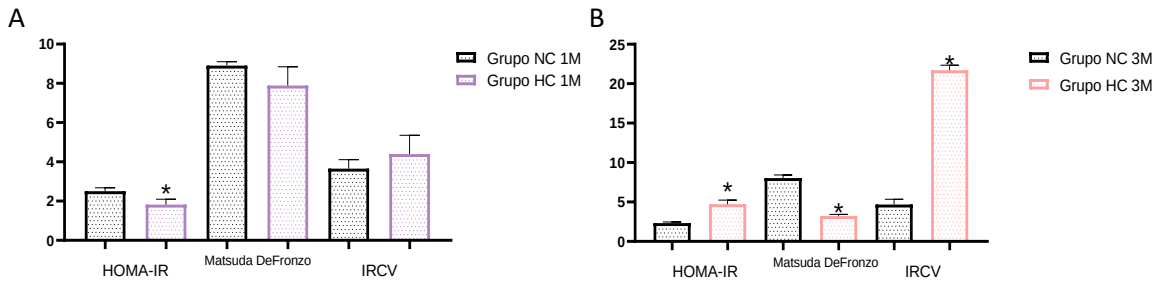


Figura 2 *Índices 1 y 3 meses.* **A** Índices 1M. **B** Índices 3M. Los resultados de los parámetros determinados se representan como el promedio de 10 sujetos experimentales ± el error estándar de la media (EEM). El análisis estadístico se realizó por la prueba T-Student (*) indica diferencias significativas P<0.05.

El desarrollo de hiperinsulinemia y disglucemia se ha vinculado a una resistencia a insulina asociada al SMet. Para evaluar el desarrollo de RI en los grupos HC, se determinaron los índices HOMA-IR, Matsuda-DeFronzo y el IRCV. Los resultados mostraron que el índice HOMA-IR, disminuyó significativamente 28% en el grupo HC 1M respecto a su grupo control, el resto de los índices evaluados no mostraron cambios en esta cohorte de tiempo (Figura 2A). Mientras que, el grupo HC 3M, incrementó 102.6% el índice HOMA-IR y 363% el IRCV, al mismo tiempo que decrementó en 59.9% el índice Matsuda-DeFronzo (Figura 2B).

La RI multitisular provoca dislipidemia característica del SMet. Por lo cual, se evaluó un panel lipídico, cuantificándose TG, ácidos grasos libres, colesterol total y sus fracciones HDL, LDL y VLDL. Los resultados mostraron que en el grupo HC 1M desarrolló hipertrigliceridemia del 14.9%, acompañándose con incremento de colesterol en las fracciones lipoproteínas de baja y muy baja densidad (19.7% y 66.6%), y disminuyendo significativamente la concentración de colesterol HDL

(30.7%; Figura 3A). Este comportamiento se acentuó en el grupo HC 3M (Figura 3B). Por último, la determinación de ácidos grasos mostró incremento del 23.4% y del 38.3%, en los grupos HC de 1 y 3 meses, respectivamente, comparados con sus grupos normocalóricos (Figuras 3A y B).

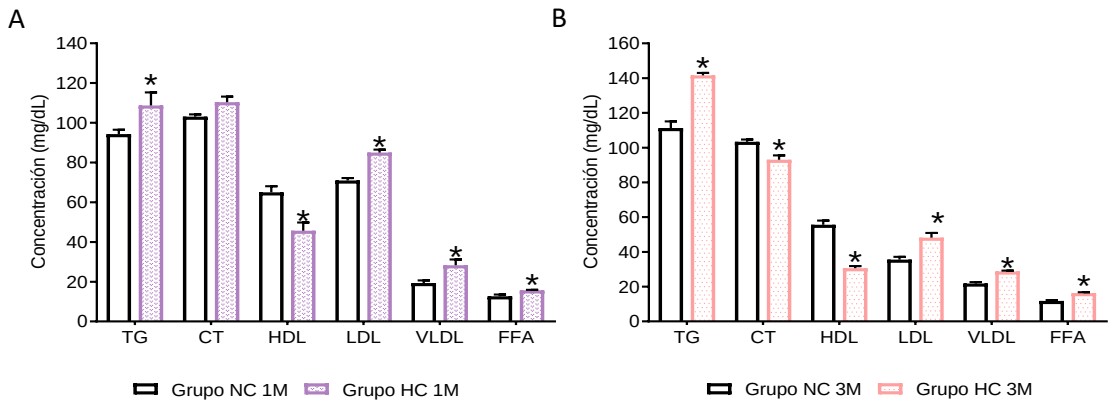


Figura 3 *Panel lipídico sérico*. **A**. Panel lipídico 1M **B**. Panel lipídico 3M. TG Triglicéridos, CT Colesterol Total HDL Colesterol en lipoproteínas de alta densidad, LDL Colesterol en lipoproteínas de baja densidad, VLDL Colesterol en lipoproteínas de muy baja densidad, FFA Ácidos Grasos Libres. Se presentan los resultados como el promedio de 10 mediciones ± EEM. El análisis estadístico se realizó por la prueba T-Student (*) indica diferencias significativas P<0.05.

Valoración del balance inflamatorio hipocampal.

Dado a que se han establecido interconexiones entre la disfunción metabólica y los procesos inflamatorios crónicos de bajo grado, conocido como metaflamación o metainflamación, se ha identificado que las enfermedades metabólicas aumentan el riesgo de neuroinflamación, por lo cual, determinamos la concentración tisular de las citocinas TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-17, TGF-β, IL-10, IL-4 y aR-IL-1β.

En el grupo que consumió dieta hipercalórica durante 1M, disminuyeron significativamente las citocinas antinflamatorias, IL-10 (18.7%), IL-4 (75.3%), TGF-β (21%), aR-IL-1β (61.3%; Figura 4E–H), además de las proinflamatorias IL-1β (46.9%) e IL-17 (24.3%; Figura 4A y D). Por el contrario, TNF-α e IL-6 incrementaron significativamente en 106.9% y 30.9% (Figura 4C y D)

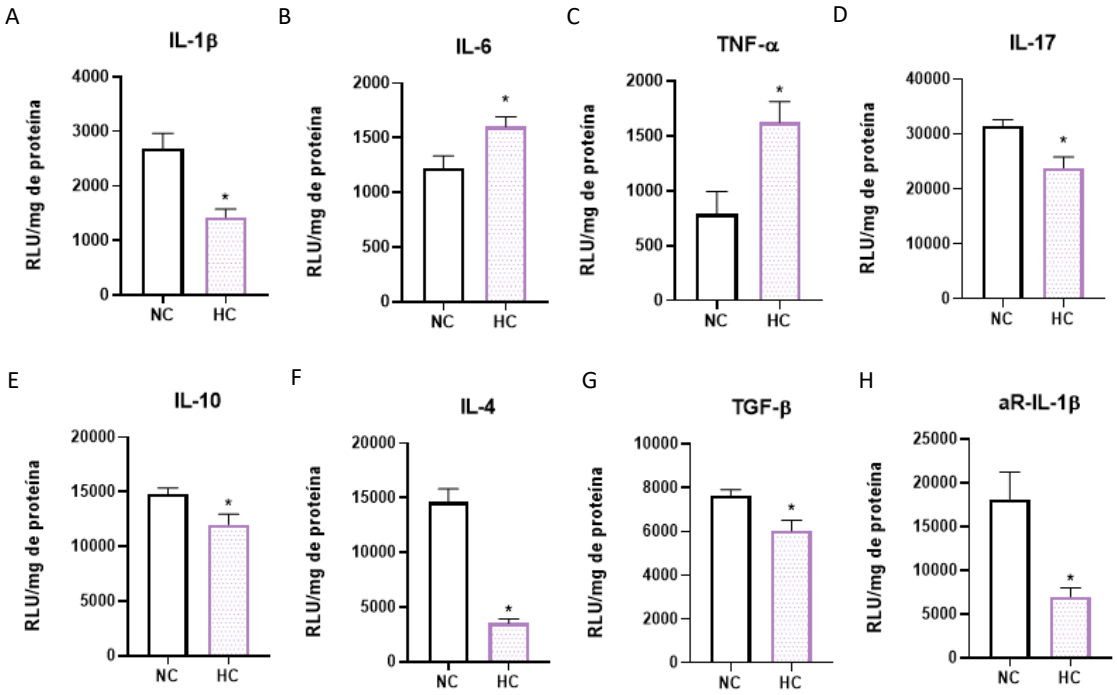


Figura 4. *Balance inflamatorio hipocampal 1M.* **A.** Interleucina 1(IL-1). **B**. Interleucina 6 (IL-6). **C.** Factor de necrosis tumoral α (TNF-α). **D.** Interleucina 17 (IL-17) **E.** Interleucina 10 (IL-10). **F**. Interleucina 4 (IL-4). **G.** Factor de crecimiento transformante β (TGF- β). **H**. Antagonista del receptor de IL-1β. La cuantificación de interleucinas pro y antiinflamatorias se representa como el promedio de 6 mediciones ± EEM. El análisis estadístico se realizó por la prueba T-Student (*) indica diferencias significativas P<0.05.

A los 3M de consumo hipercalórico, se mantuvo el comportamiento de las citocinas pro-inflamatorias (Figura 5A-D). Mientras que, la IL-10 (Figura 5E) incrementó significativamente en 121.4%, el aR-IL-1β (Figura 5H) no presenta cambios respecto de su control, y la IL-4 y TGF-β disminuyeron en 22.6% y 42.1% respecto de su control (Figura 5G y H).

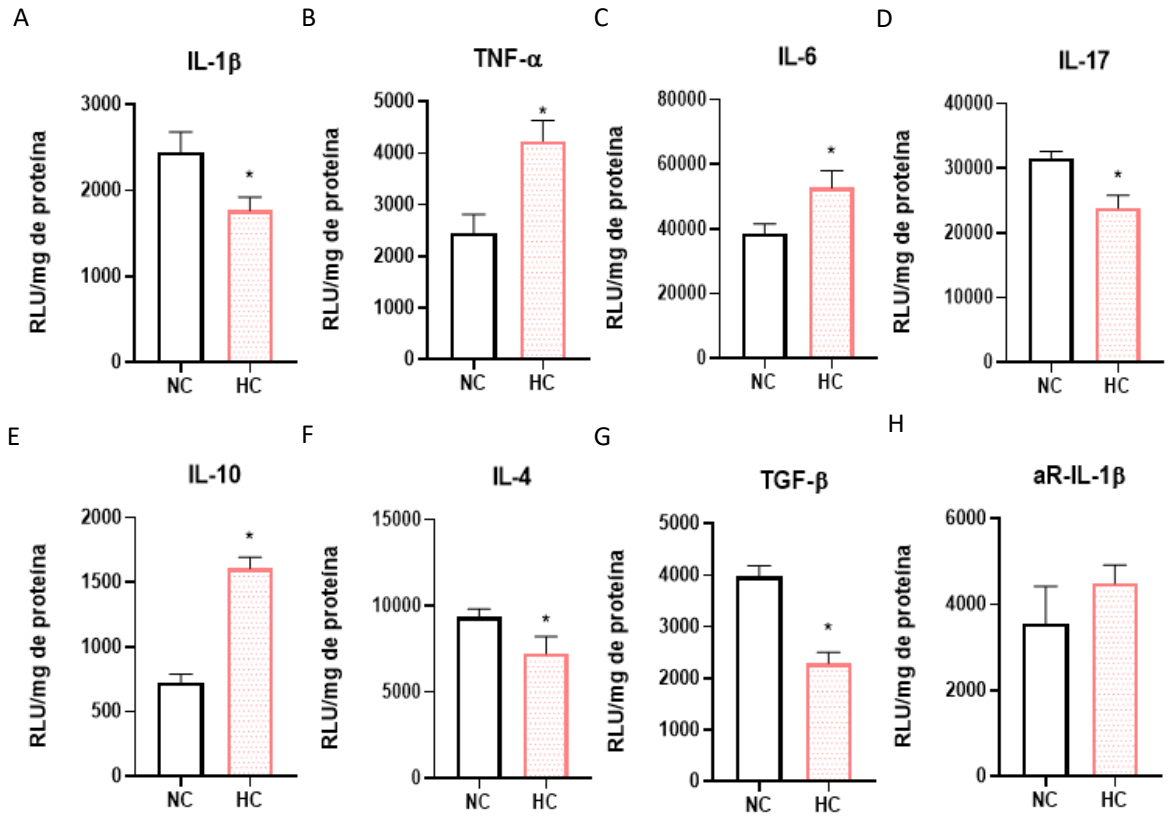


Figura 5 *Balance inflamatorio hipocampal 3M* **A.** Interleucina 1(IL-1). **B**. Interleucina 6 (IL-6). **C.** Factor de necrosis tumoral α (TNF-α). **D.** Interleucina 17 (IL-17) **E.** Interleucina 10 (IL-10). **F**. Interleucina 4 (IL-4). **G.** Factor de crecimiento transformante β (TGF- β). **H**. Antagonista del receptor de IL-1β. La cuantificación de interleucinas pro y antiinflamatorias se representa como el promedio de 5 mediciones ± EEM. El análisis estadístico se realizó por la prueba T-Student (*) indica diferencias significativas P<0.05.

Diferenciación de las subpoblaciones de astrocitos

Para comprender los efectos causados por el SMet sobre la diferenciación de los astrocitos en proinflamatorios o antinflamatorios, realizamos un doble inmuno marcaje en el que se evaluó la inmunorreactividad de las células a GFAP, y células positivas a las combinaciones GFAP + C1INH (proinflamatorio) y GFAP + S100A10 (antinflamatorio), en las subregiones del hipocampo GD, CA1 y CA3.

Los resultados indican, para el grupo HC 1M, incremento el número de células positivas a GFAP (Figura 6, rojo), en el GD (10.6%), y en las subregiones CA1 y CA3 (14.3% y 10.83%, respectivamente) comparados con el grupo NC 1M (Figura 6 y 7). Las células clasificadas como astrocitos no mostraron diferenciación pro o antiinflamatoria en los grupos NC e HC de 1 mes.

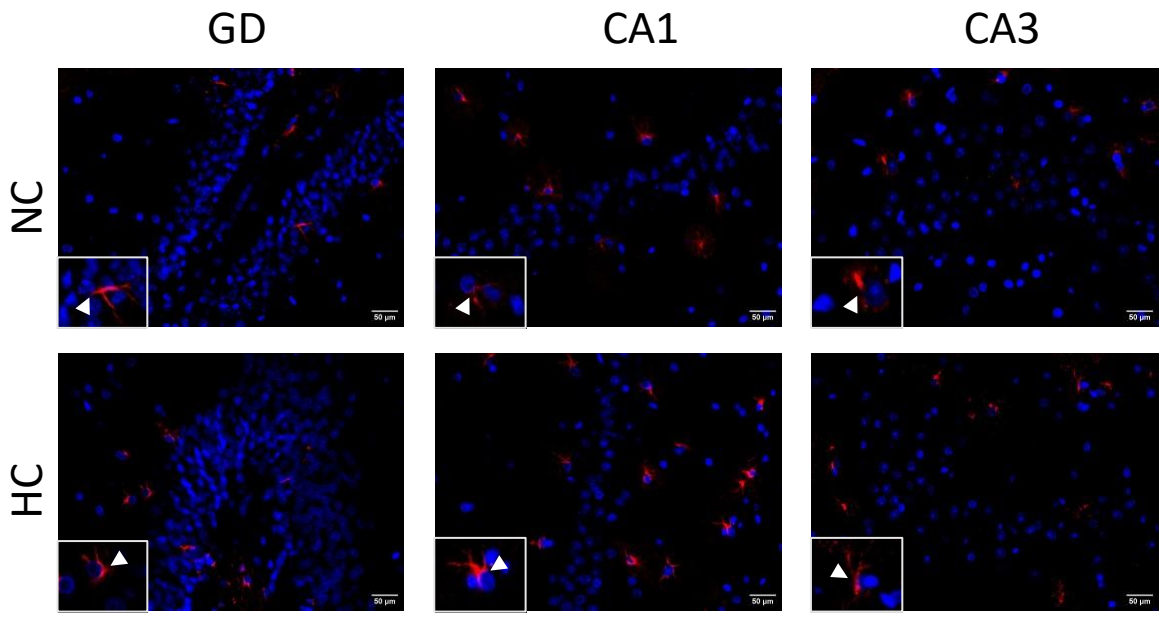


Figura 6. *Efecto del SMet sobre las subpoblaciones de astrocitos en el hipocampo 1M.* Se muestran fotomicrografías tomadas con objetivo 40X, imnunorreactividad a GFAP (**rojo**) **A.** Giro dentado normocalórico 1M **B.** Cuerno de Ammón 1 normocalórico 1M **C.** Cuerno de Ammón 3 normocalórico 1M **D.** Giro dentado hipercalórico 1M **E.** Cuerno de Ammón 1 hipercalórico 1M **F.** Cuerno de Ammón 3 hipercalórico 1M. **Flechas Blancas**, células positivas a GFAP (astrocitos).

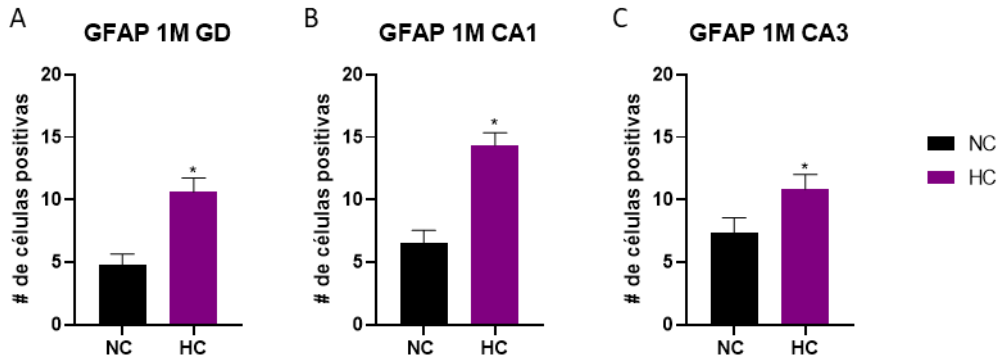


Figura 7. *Efecto del SMet sobre la población de astrocitos 1M.* **A.** Giro dentado 1M. **B.** Cuerno de Ammón 1 1M **C.** Cuerno de Ammón 3 1M**.** Los resultados se representan como el promedio del número de células positivas a GFAP ± EEM. El análisis estadístico se realizó por la prueba no paramétrica de Mann-Whitney. (*) indica diferencias significativas P<0.05.

En los grupos de 3 meses, los resultados revelaron incremento significativo en el número de células positivas a GFAP en GD (41.1%), CA1 (94.4%) y CA3 (32.7%), en el grupo HC 3M respecto al grupo NC 3M. Además, se identificaron a las células positivas a la combinación GFAP + C1INH (astrocitos proinflamatorios), los resultados mostraron decremento en el grupo HC 3M respecto de su grupo control

en el número de células positivas en las tres subregiones del hipocampo evaluadas, GD (84.2%), CA1 (43.8%) y CA3 (88.6%) (Figura 8 y 10A-C).

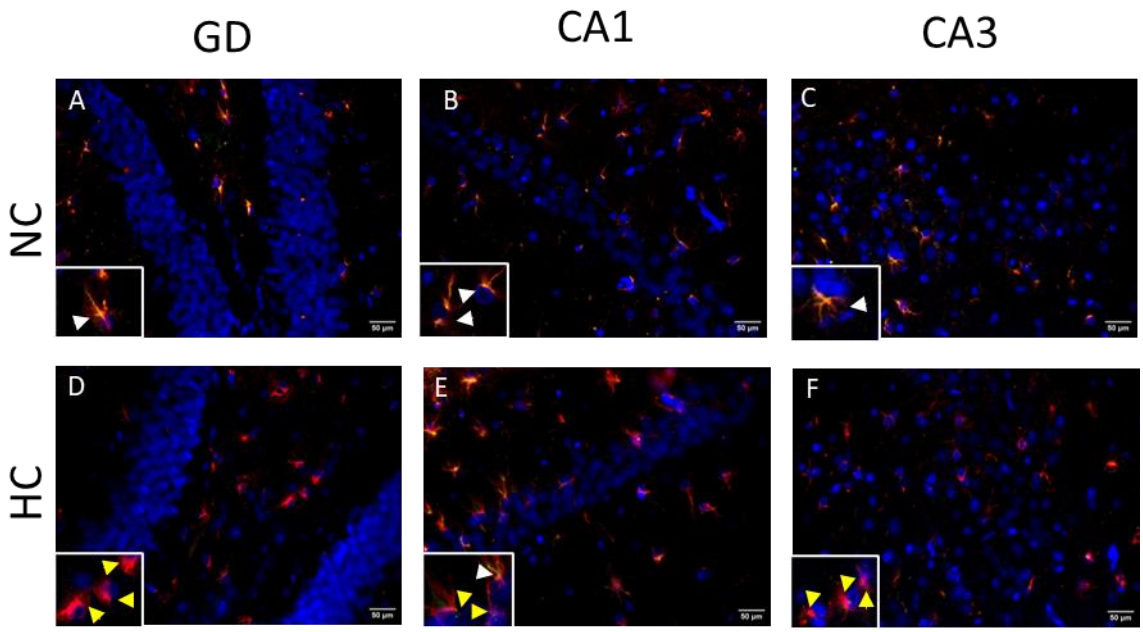


Figura 8. *Efecto del SMet en las subpoblaciones de astrocitos 3M.* Se muestran fotomicrografías tomadas con objetivo 40X, imnunorreactividad a GFAP (**rojo**), C1INH (**verde**), GFAP + C1INH (**amarillo**) **A.** Giro dentado normocalórico 3M. **B.** Cuerno de Ammón 1 normocalórico 3M. **C.** Cuerno de Ammón 3 normocalórico 3M. **D.** Giro dentado hipercalórico 3M. **E.** Cuerno de Ammón 1 hipercalórico 3M. **F.** Cuerno de Ammón 3 hipercalórico 3M. **Flechas amarillas,** células positivas a GFAP (astrocitos). **Flechas Blancas**, células positivas a GFAP + C1INH (astrocitos proinflamatorios).

En cortes de tejido diferentes a los utilizados en el análisis del marcaje anterior, se realizó la evaluación de la combinación de GFAP + S100A10 en la que se realizó un nuevo conteo de células positivas a GFAP, los resultados mostraron incremento significativo en GD (53.5%), CA1 (123.5%) y CA3 (26.8%). También se evaluaron a las células positivas al doble inmunomarcaje GFAP + S100A10 (astrocitos antiinflamatorios), en los resultados obtenidos se observó incremento significativo en el número de células positivas en GD (22.3%), CA1 (360.4%) y CA3 (155.9%), en el grupo HC 3M respecto al grupo NC 3M (Figura 9 y 10D-F).

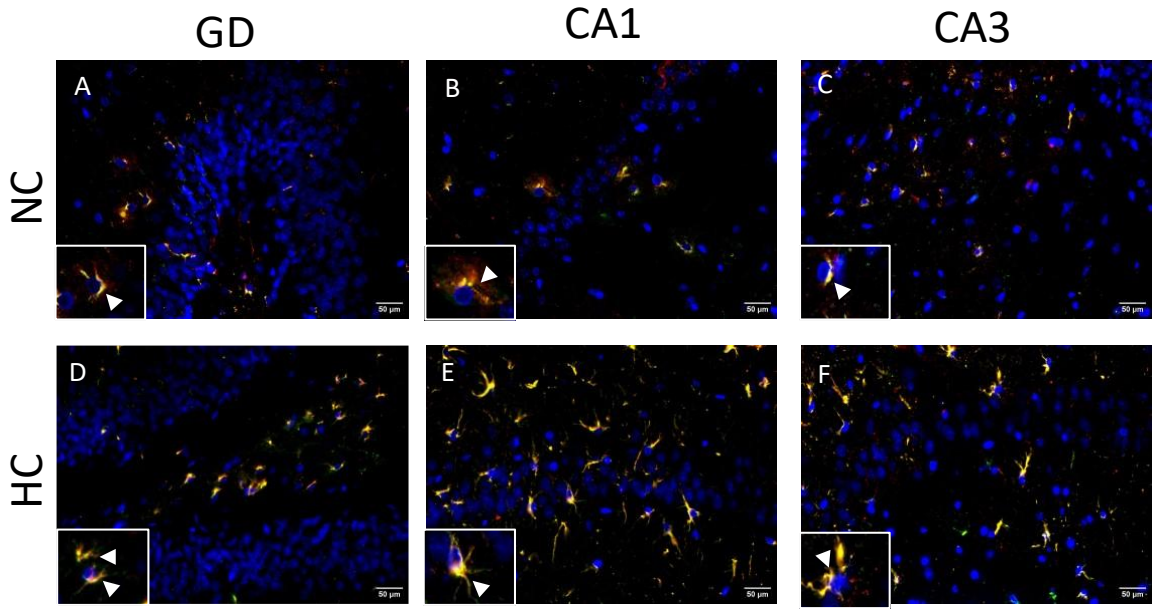


Figura 9. *Efecto del SMet en las poblaciones de astrocitos 3M.* Se muestran fotomicrografías tomadas con objetivo 40X, imnunorreactividad a GFAP (**rojo**), S100A10 (**verde**) y GFAP + S100A10 (**amarillo**) A. Giro dentado normocalórico 3M. **B.** Cuerno de Ammón 1 normocalórico 3M. **C.** Cuerno de Ammón 3 normocalórico 3M. **D.** Giro dentado hipercalórico 3M. **E.** Cuerno de Ammón 1 hipercalórico 3M. **F.** Cuerno de Ammón 3 hipercalórico 3M. **Flechas Blancas**, células positivas a GFAP + S100A10 (astrocitos antiinflamatorios).

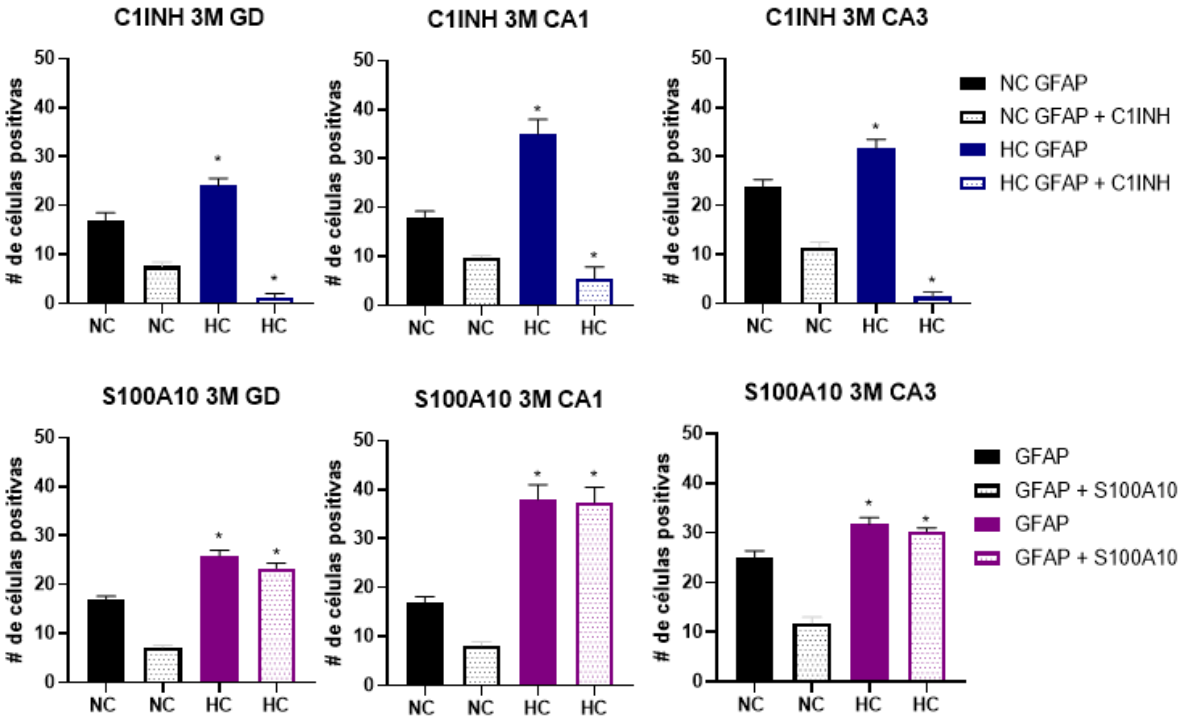


Figura 10. *Efecto del SMet sobre las poblaciones de astrocitos 3M* **A.** Giro dentado 3M. **B.** Cuerno de Ammón 1 3M **C.** Cuerno de Ammón 3 3M**.** Los resultados se representan como el promedio del número de células positivas a GFAP (astrocitos) y GFAP + S100A10 (astrocitos antiinflamatorios). Los resultados se representan

como el promedio del número de células positivas ± EEM. El análisis estadístico se realizó por la prueba no paramétrica de Mann-Whitney. (*) indica diferencias significativas P<0.05.

Diferenciación de las subpoblaciones de la microglía

Con el fin de evaluar la diferenciación de las células microgliales generada por efecto del SMet, realizamos doble inmunomarcaje en el que se cuantificaron el número de células positivas a Iba-1 (microglía) y el número de células positivas a la combinación Iba-1 + CD16 (proinflamatoria). Adicionalmente, en secciones de tejido diferentes se realizó un nuevo conteo en el que se evaluó a las células positivas a Iba-1 y las positivas al doble inmunomarcaje de la combinación Iba-1 + CD206 (antinflamatoria), la evaluación se realizó en las subregiones del hipocampo GD, CA y CA3.

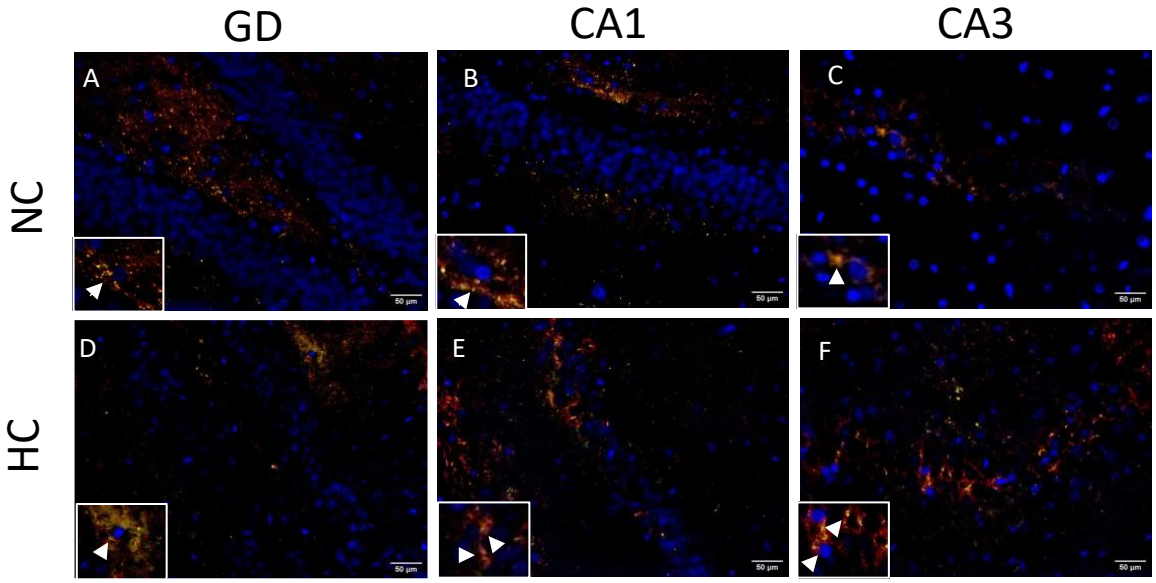


Figura 11. *Efectos de SMet sobre la población proinflamatoria de la microglía 1M.* Se muestran fotomicrografías tomadas con objetivo 40X, imnunorreactividad a Iba-1 (**rojo**), CD16 (**verde**) e Iba-1 + CD16 (**amarillo**). **A.** Giro dentado normocalórico 1M. **B.** Cuerno de Ammón 1 normocalórico 1M. **C.** Cuerno de Ammón 3 normocalórico 1M. **D.** Giro dentado hipercalórico 1M. **E.** Cuerno de Ammón 1 hipercalórico 3M. **F.** Cuerno de Ammón 3 hipercalórico 1M. **Flechas Blancas**, células positivas a Iba-1 + CD16 (microglía proinflamatoria)

En la evaluación a 1 mes de consumo de dieta normo o hipercalórica de la combinación Iba-1 + CD16, los resultados mostraron incremento significativo en el número de células positivas a Iba-1 en las subregiones del hipocampo CA1 (82%) y CA3 (183%). También se cuantificaron a las células positivas al doble marcaje Iba-

1 + CD16, en el que se observaron incrementos en CA1 (95.6%) y CA3 (222.2%), en el grupo HC 1M respecto al grupo NC 1M. (Figura 11 y 13ª-C)

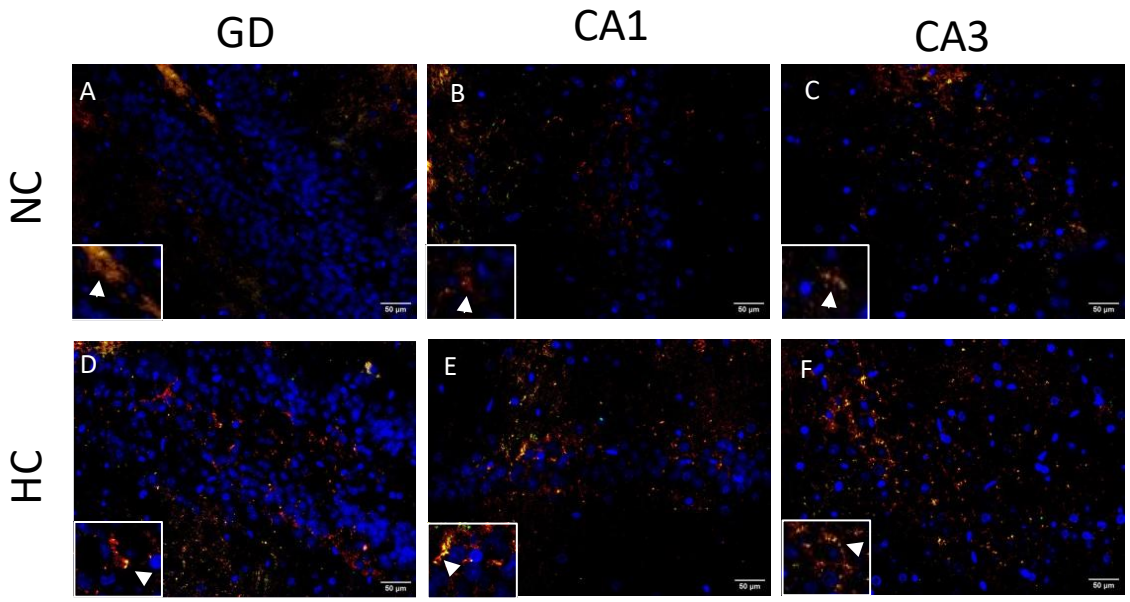


Figura 12*. Efectos del SMet sobre la población antinflamatoria microglía 1M.* Se muestran fotomicrografías tomadas con objetivo 40X, inmunorreactividad a Iba-1 (**rojo**), CD206 (**verde**) Iba-1 (**rojo**), CD16 (**verde**) e Iba-1 + CD206 (**amarillo**). **A.** Giro dentado normocalórico 1M. **B.** Cuerno de Ammón 1 normocalórico 1M. **C.** Cuerno de Ammón 3 normocalórico 1M. **D.** Giro dentado hipercalórico 1M. **E.** Cuerno de Ammón 1 hipercalórico 3M. **F.** Cuerno de Ammón 3 hipercalórico 1M. **Flechas Blancas**, células positivas a Iba-1 + CD206 (microglía antinflamatoria)

Los resultados de la evaluación del doble inmunomarcaje en la combinación Iba-1 + CD206, mostraron incremento en el número de células positivas a Iba-1 en el GD (35.1%) y CA3 (71.4%), además se observó incremento significativo en el número de células positivas a Iba-1 + CD206 en GD (44.9%) y CA3 (66.6%), en el grupo HC 1M respecto al grupo NC 1M (Figura 12 y 13D-F).

En contraste, en el grupo que consumió dieta hipercalórica durante 3 meses los resultados de la evaluación en la combinación Iba-1 + CD16 mostraron incremento significativo en el número de células positivas a Iba-1 en GD (17.6%) y CA3 (51.7%), del mismo modo se observó incremento en el número de células positivas al doble inmunomarcaje Iba-1 + CD16 en GD (60%), CA1 (32%) y CA3 (53.4%) (Figura 14 y 16A-C).

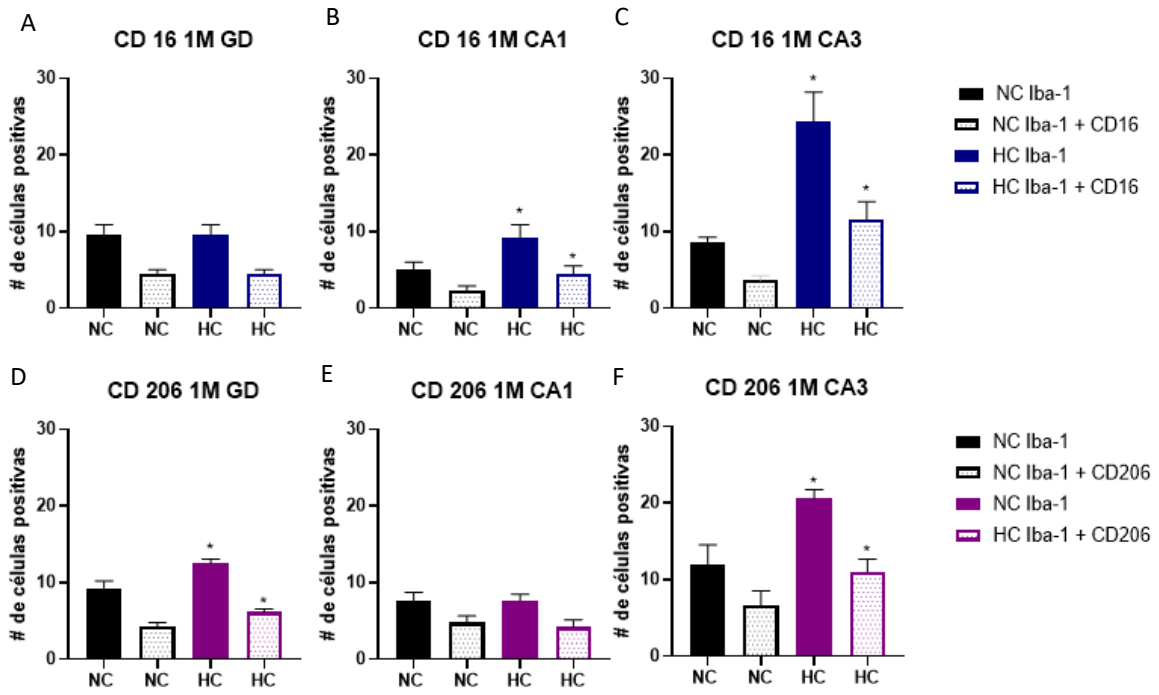


Figura 13. *Efectos SMet sobre las poblaciones de la microglía.1M* **A.** Giro dentado 1M. **B.** Cuerno de Ammón 1 1M **C.** Cuerno de Ammón 3 1M**.** Los resultados se representan como el promedio del número de células positivas a Iba-1 (microglía), Iba-1 + CD 16 (microglía proinflamatoria) e Iba-1 + CD206 (microglía antinflamatoria). Los resultados se representan como el promedio del número de células positivas ± EEM. El análisis estadístico se realizó por la prueba no paramétrica de Mann-Whitney. (*) indica diferencias significativas P<0.05.

En la evaluación de la combinación Iba-1 + CD206, los resultados mostraron incremento en el número de células positivas a Iba-1 en CA1 (32.8%) y CA3 (74.3%). Los resultados también mostraron incremento en el número de células positivas Iba-1 + CD206 en CA1 (34.3%) y en CA3 (74.3%), en el grupo HC 3M respecto al grupo NC 3M (Figura 15 y 16D-F).

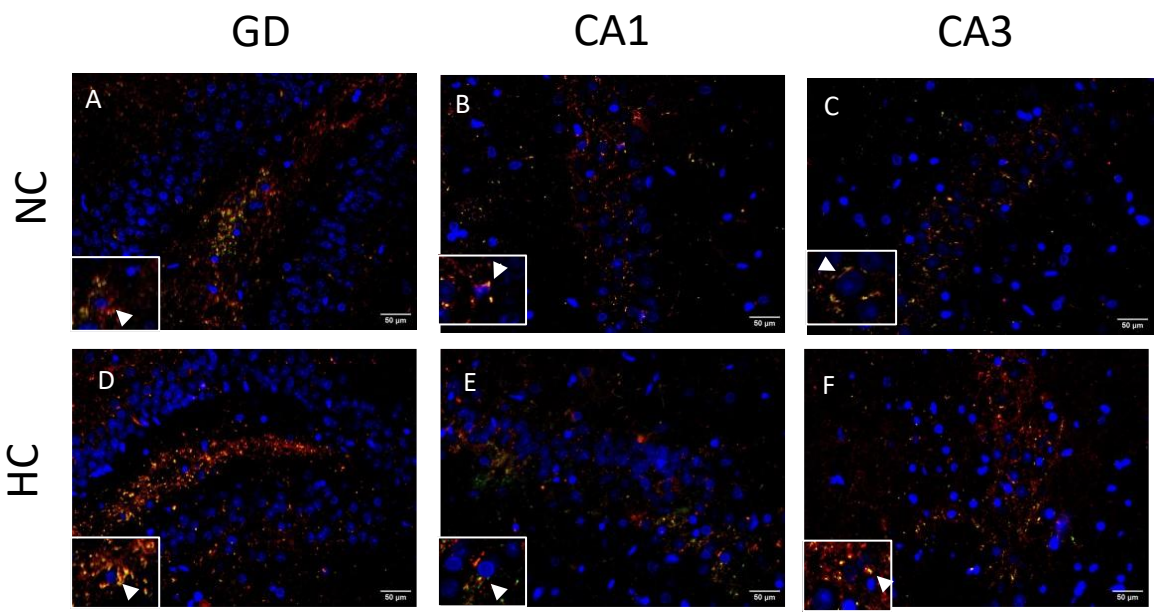


Figura 14. *Efecto del SMet sobre la población proinflamatoria de la microglía 3M.* Se muestran fotomicrografías tomadas con objetivo 40X, imnunorreactividad a Iba-1 (**rojo**), CD16 (**verde**) e Iba-1 + CD16 (**amarillo**). **A.** Giro dentado normocalórico 3M. **B.** Cuerno de Ammón 1 normocalórico 3M. **C.** Cuerno de Ammón 3 normocalórico 3M. **D.** Giro dentado hipercalórico 3M. **E.** Cuerno de Ammón 1 hipercalórico 3M. **F.** Cuerno de Ammón 3 hipercalórico 3M. **Flechas Blancas**, células positivas a Iba-1 + CD16 (microglía proinflamatoria)

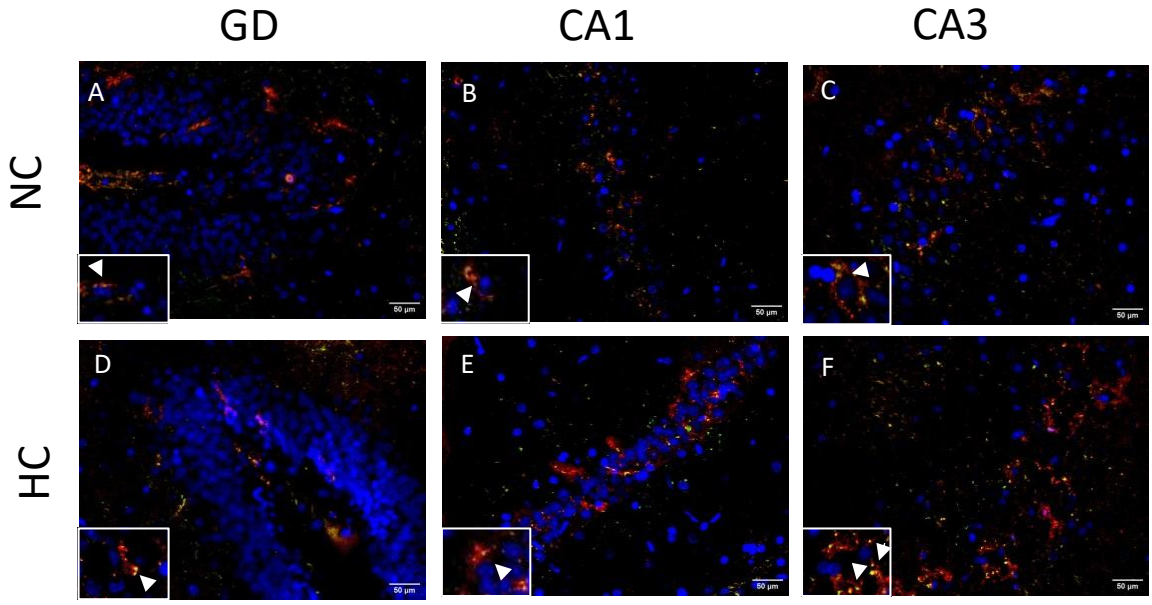


Figura 15. *Efectos del SMet sobre la población antinflamatoria de la microglía 3M.* Se muestran fotomicrografías tomadas con objetivo 40X, imnunorreactividad a Iba-1 (**rojo**), CD206 (**verde**) e Iba-1 + CD206 (**amarillo**). **A.** Giro dentado normocalórico 3M. **B.** Cuerno de Ammón 1 normocalórico 3M. **C.** Cuerno de Ammón 3 normocalórico 3M. **D.** Giro dentado hipercalórico 3M. **E.** Cuerno de Ammón 1 hipercalórico 3M. **F.** Cuerno de Ammón 3 hipercalórico 3M. **Flechas Blancas**, células positivas a Iba-1 + CD206 (microglía antinflamatoria)

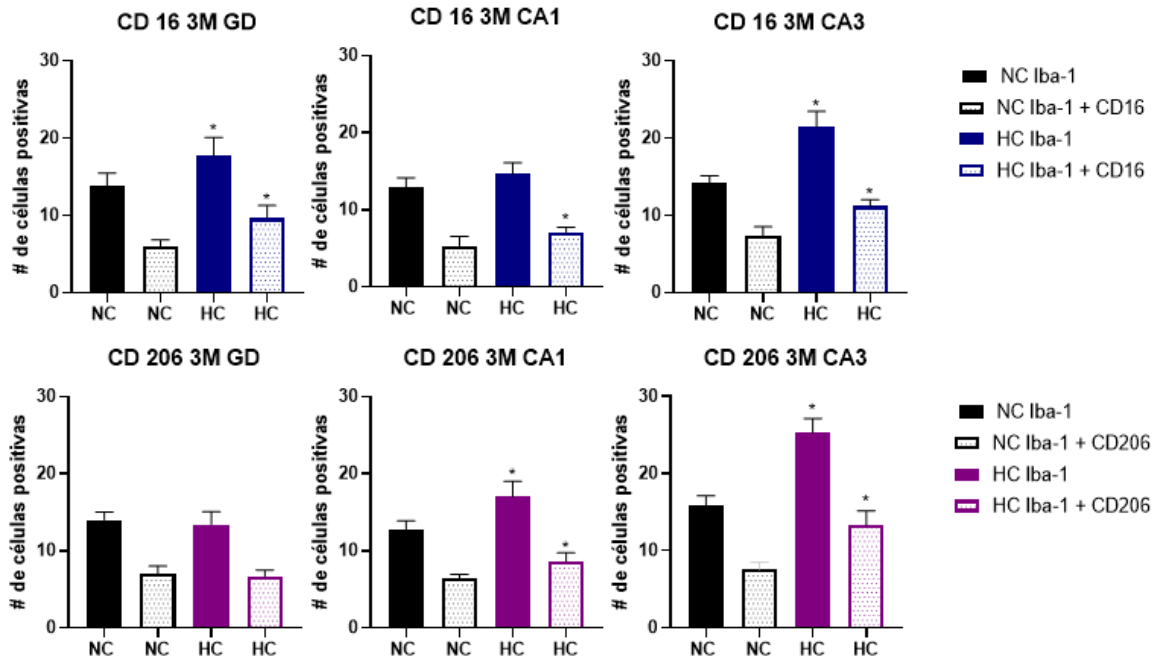


Figura 16. *Efecto del SMet sobre las poblaciones microgliales 3M.* **A.** Giro dentado 3M. **B.** Cuerno de Ammón 1 3M **C.** Cuerno de Ammón 3 3M**.** Los resultados se representan como el promedio del número de células positivas a Iba-1 (microglía), Iba-1 + CD16 (microglía M1) e Iba-1 + CD206 (microglía M2). Los resultados se representan como el promedio del número de células positivas ± EEM. El análisis estadístico se realizó por la prueba no paramétrica de Mann-Whitney. (*) indica diferencias significativas P<0.05.

Oligodendrocitos

Nuestro estudio empleo inmunofluorescencia doble para identificar los efectos del SMet sobre las poblaciones de oligodendrocitos, para identificar a oligodendrocitos inmaduros se empleó la combinación Olig2 + NG2 y para oligodendrocitos maduros Olig2 + MBP, en las subregiones del hipocampo CA1, CA3 y GD.

En el grupo HC 1M, los resultados de la combinación Olig2 + NG2 mostraron incremento significativo en el número de oligodendrocitos (Olig2 positivo) en GD (72.8%) y en CA3 (39.2%), por el contrario, no se mostraron cambios en el número de células positivas a Olig2 + NG2 (inmaduros) en ninguna de las subregiones evaluadas (Figura 17 y 19ª-C).

De un nuevo conteo en la evaluación de la combinación Olig2 + MBP en los grupos NC e HC 1M, la cuantificación del número de oligodendrocitos (Olig2 positivo) mostró incremento en GD (77.3%) y CA3 (29.3%), además de incremento

significativo en el número de células positivas a Olig2 + MBP (maduros) en GD (400%) y CA3 (56.2%) en el grupo HC 1M, respecto a su grupo control (Figura 18-19D-F).

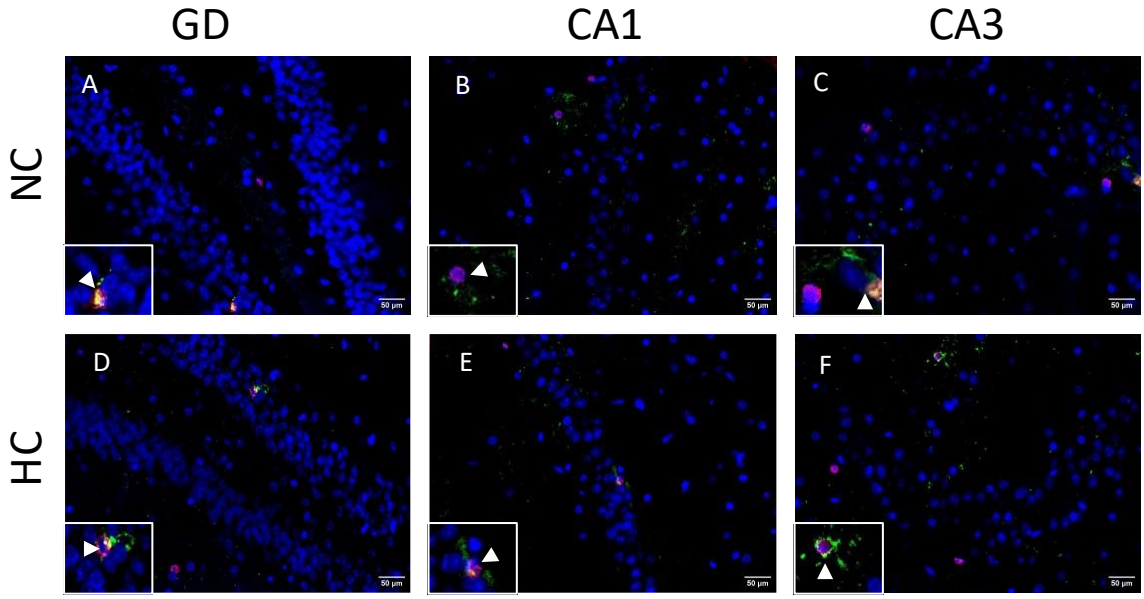


Figura 17. *Evaluación de la población inmadura de oligodendrocitos 1M.* Se muestran fotomicrografías tomadas con objetivo 40X, imnunorreactividad a Olig2 (**rojo**) y NG2 (**verde**). **A.** Giro dentado normocalórico 1M. **B.** Cuerno de Ammón 1 normocalórico 1M. **C.** Cuerno de Ammón 3 normocalórico 1M. **D.** Giro dentado hipercalórico 1M. **E.** Cuerno de Ammón 1 hipercalórico 1M. **F.** Cuerno de Ammón 3 hipercalórico 1M. **Flechas Blancas**, células positivas a Olig2 + NG2 (oligodendrocitos inmaduros).

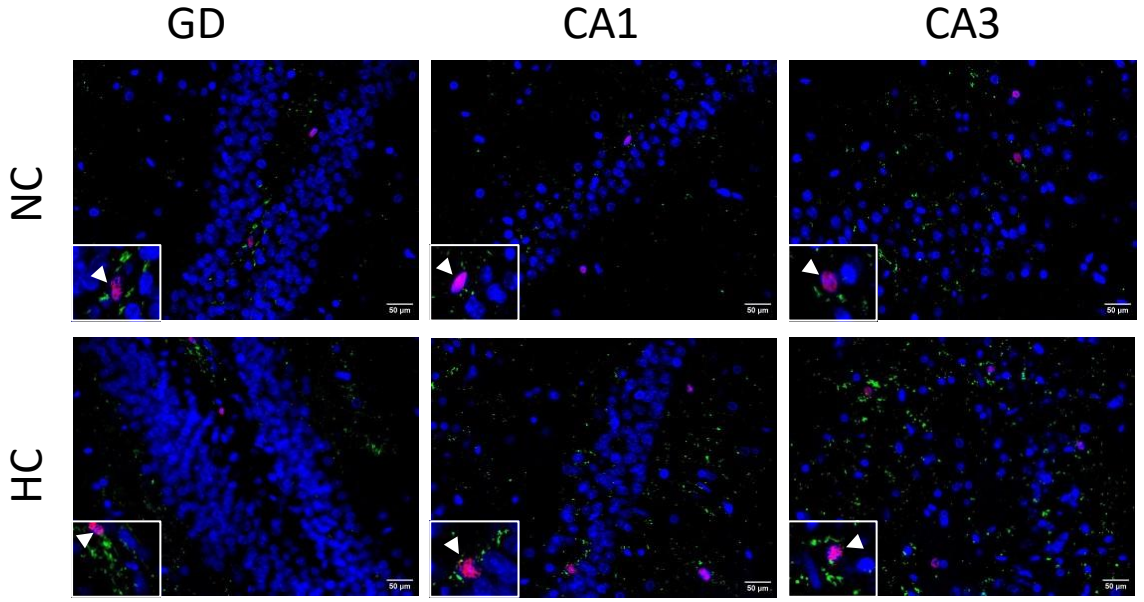


Figura 18. *Evaluación de la población madura de oligodendrocitos 1M.* Se muestran fotomicrografías tomadas con objetivo 40X, imnunorreactividad a Olig2 (**rojo**) y MBP (**verde**). **A.** Giro dentado normocalórico 1M. **B.** Cuerno de Ammón 1 normocalórico 1M. **C.** Cuerno de Ammón 3 normocalórico 1M. **D.** Giro dentado

hipercalórico 1M. **E.** Cuerno de Ammón 1 hipercalórico 1M. **F.** Cuerno de Ammón 3 hipercalórico 1M. **Flechas Blancas**, células positivas a Olig2 + MBP (oligodendrocitos inmaduros).

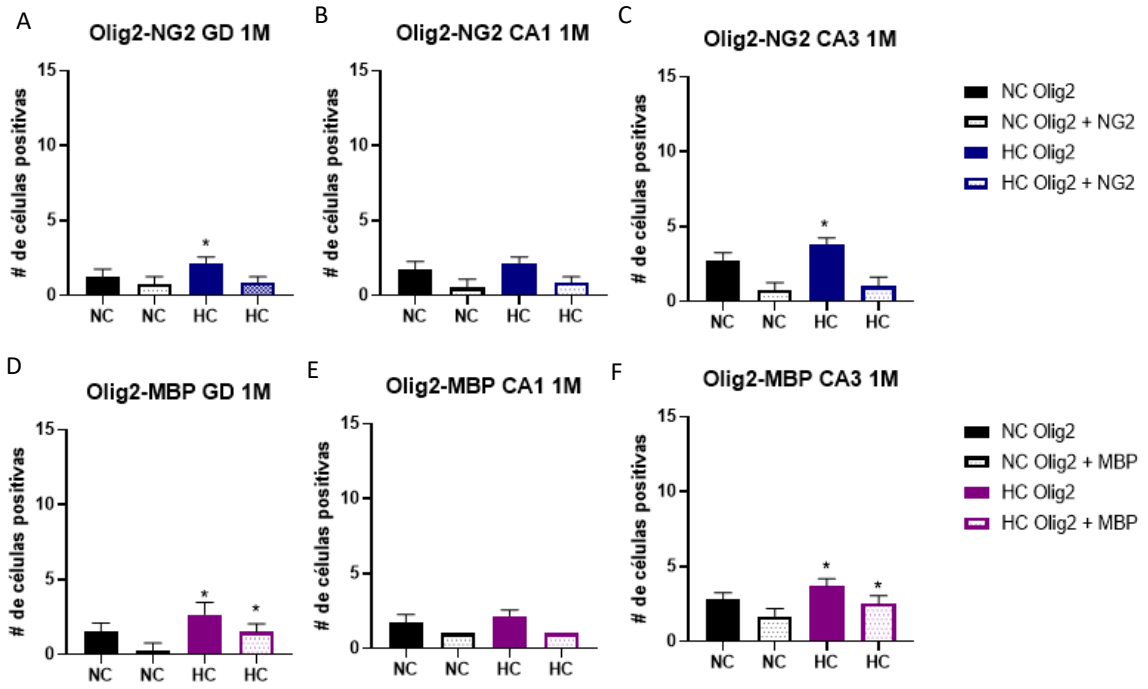


Figura 19. *Efecto del SMet sobre las poblaciones de oligodendrocitos 1M.* **A.** Giro dentado 1M. **B.** Cuerno de Ammón 1 1M **C.** Cuerno de Ammón 3 1M**.** Los resultados se representan como el promedio del número de células positivas a Olig2 (oligodendrocitos), Olig2 + NG2 (oligodendrocitos inmaduros) y Olig2 + MBP (oligodendrocitos maduros). Los resultados se representan como el promedio del número de células positivas ± EEM. El análisis estadístico se realizó por la prueba no paramétrica de Mann-Whitney. (*) indica diferencias significativas P<0.05.

Para el grupo HC 3M, en la evaluación de la combinación Olig2 + NG2 observamos incremento significativo en el número de oligodendrocitos (Olig2 positivo) en todas las subregiones evaluadas, GD (228.9%9), CA1 (148%) y CA3 (186.9%), en contraste solo se observó incremento en significativo en el número de células positivas Olig2 + NG2 en CA3 del 400% y CA1 una célula o menos en cada área de análisis (Figura 20 y 22A-C).

Los resultados obtenidos en el análisis del doble inmunomarcaje Olig2 + MBP, en los grupos de 3 meses de dieta, mostraron incremento en el número de oligodendrocitos en GD (150%), CA1 (102.2%) y CA3 (140%), siguiendo la misma tendencia, se observaron incrementos en el número de células positivas a Olig2 + MBP (maduros) en GD (191.5%), CA1 (140%) y CA3 (137.5%), en el grupo HC 3M respecto del grupo NC 3M (Figura 21 y 22 D-F).

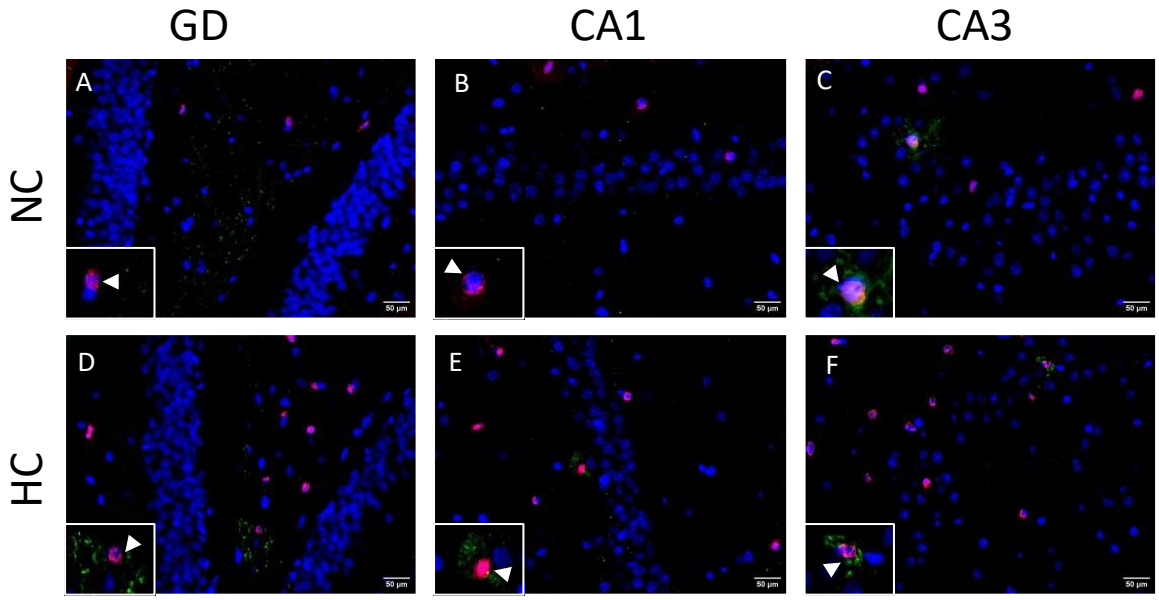


Figura 20. *Evaluación de la población inmadura de oligodendrocitos.* Se muestran fotomicrografías tomadas con objetivo 40X, imnunorreactividad a Olig2 (**rojo**) y NG2 (**verde**). **A.** Giro dentado normocalórico 3M. **B.** Cuerno de Ammón 1 normocalórico 3M. **C.** Cuerno de Ammón 3 normocalórico 3M. **D.** Giro dentado hipercalórico 3M. **E.** Cuerno de Ammón 1 hipercalórico 3M. **F.** Cuerno de Ammón 3 hipercalórico 3M. **Flechas Blancas**, células positivas a Olig2 + NG2 (oligodendrocitos inmaduros).

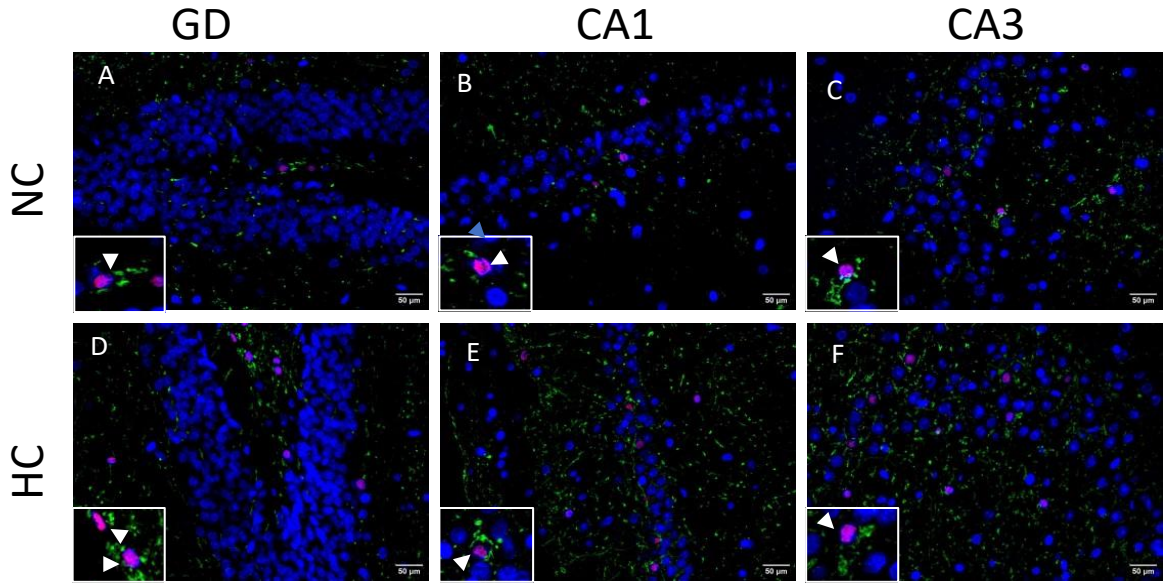


Figura 21. *Evaluación de la población madura de oligodendrocitos.* Se muestran fotomicrografías tomadas con objetivo 40X, imnunorreactividad a Olig2 (**rojo**) y MBP (**verde**). **A.** Giro dentado normocalórico 3M. **B.** Cuerno de Ammón 1 normocalórico 3M. **C.** Cuerno de Ammón 3 normocalórico 3M. **D.** Giro dentado hipercalórico 3M. **E.** Cuerno de Ammón 1 hipercalórico 3M. **F.** Cuerno de Ammón 3 hipercalórico 3M. **Flechas Blancas**, células positivas a Olig2 + MBP (oligodendrocitos maduros).

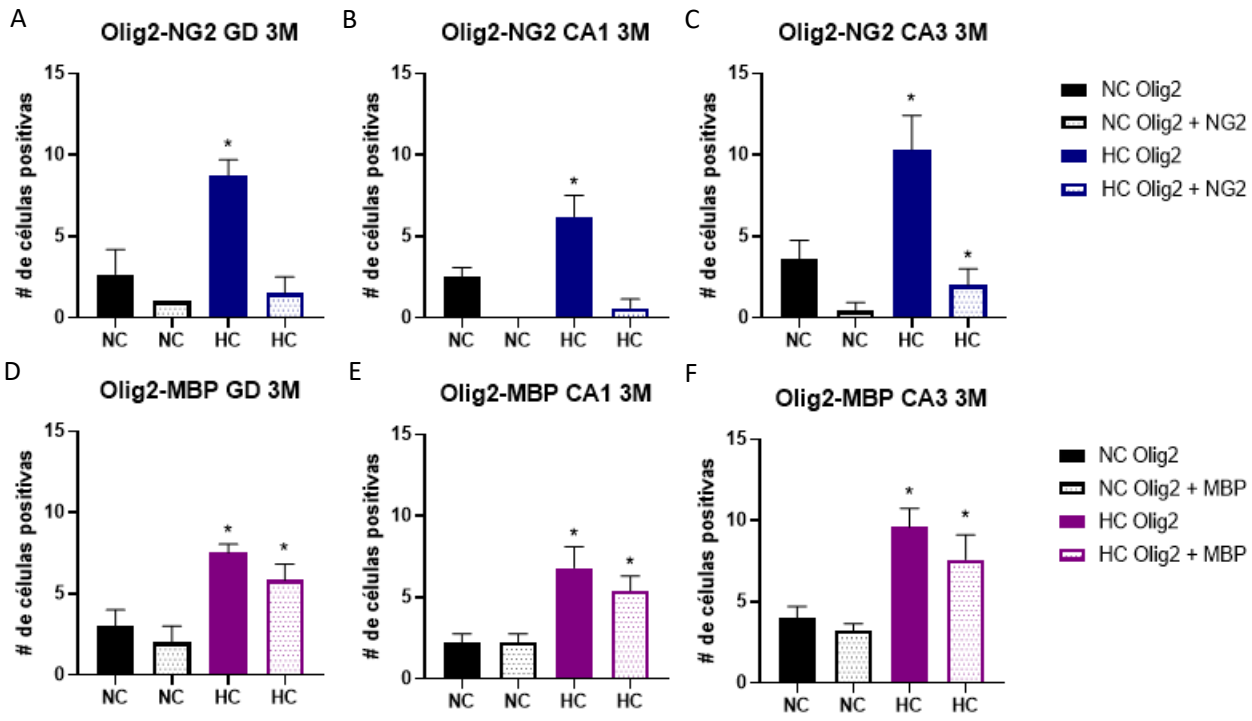


Figura 22. *Efecto del SMet sobre las poblaciones de oligodendrocitos 3M.* **A.** Giro dentado 3M. **B.** Cuerno de Ammón 1 3M **C.** Cuerno de Ammón 3 3M**.** Los resultados se representan como el promedio del número de células positivas a Olig2 (oligodendrocitos), Olig2 + NG2 (oligodendrocitos inmaduros) y Olig2 + MBP (oligodendrocitos maduros). Los resultados se representan como el promedio del número de células positivas ± EEM. El análisis estadístico se realizó por la prueba no paramétrica de Mann-Whitney. (*) indica diferencias significativas $P<0.05$.

Discusión de resultados

En las dietas saludables se consumen alimentos en porciones adecuadas para satisfacer las necesidades energéticas y fisiológicas (Stipanuk M., 2018), los macronutrientes consumidos proporcionan la energía necesaria para llevar a cabo los procesos celulares, al mismo tiempo esta dieta proporciona los micronutrientes adecuados e hidratación, sin ingesta excesiva (Cena H., 2020).

Lo patrones dietéticos están arraigados a las tradiciones y a las fuentes de alimentos locales o regionales (Appel L., 1997), sin embargo, se ha observado un cambio global hacia patrones dietéticos occidentalizados. Los cuales habitualmente llevan a malos hábitos alimenticios están asociados con el desarrollo de anomalías metabólicas como la obesidad, dislipidemia SMet y diabetes (Meléndez-Salcido C., 2022).

El excedente crónico de energía, obtenido por el consumo de dietas ricas en carbohidratos y grasas rebasa la capacidad de consumo y almacenamiento del organismo, generando un desequilibrio metabólico. Distintos autores han señalado que el consumo de dietas hipercalóricas ricas en carbohidratos desempeña un papel fundamental en el desarrollo de SMet. Esto se debe a que los patrones dietéticos están estrechamente relacionados con la aparición de condiciones fisiopatológicas vinculadas a enfermedades crónicas no transmisibles (Esmaillzadeh A., 2007).

A pesar del esfuerzo para comprender los mecanismos fisiopatológicos que desencadenan el desarrollo del SMet, aún no se ha logrado una comprensión completa de como ocurren y se interrelacionan estos procesos. Por esta razón, la experimentación animal se ha convertido en una herramienta valiosa que contribuye significativamente a conocer estos procesos durante la patología. Se han empleado diversos enfoques para inducir el SMet en roedores, que abarcan desde modificaciones genéticas hasta la administración de medicamentos y el uso de dietas hipercalóricas (Wong, 2016). En la actualidad, los estudios dietéticos han adquirido un papel fundamental en la investigación del SMet, pues las dietas con

alto contenido calórico tienen un impacto en el metabolismo de la glucosa y los lípidos (Wong, 2016; Suman R, 2016).

Las dietas hipercalóricas más empleadas para generar enfermedades metabólicas corresponden a dietas altas en fructosa y sacarosa, pues se ha identificado que producen trigliceridemia en cuestión de días (Herman M., 2021). Si bien este tipo de dietas puede generar características dismetabólicas, se requiere que el 50% del aporte calórico provenga únicamente de fructosa, superando excesivamente el consumo típico en humanos (Marriott, B., 2009).

Por otra parte, algunos grupos de investigación utilizan patrones dietéticos altos en lípidos que generan incremento en la concentración de lípidos plasmáticos y están asociados con el estrés oxidativo que favorece la peroxidación lipídica (Lasker S., 2019). También suelen utilizarse dietas hipercalóricas con combinaciones de carbohidratos y lípidos, como un análogo en el contenido de la dieta occidental, y se ha demostrado que favorecen el aumento de peso, la acumulación de grasa y concentraciones elevadas de lípidos plasmáticos (Ishimoto T., 2013).

Nuestro grupo de trabajo utiliza una alternativa a este tipo de dietas hipercalóricas, cuya base es la glucosa. El uso de esta dieta ha demostrado inducir alteraciones metabólicas como RI, SMet y estado diabetogénico (Treviño S., 2015). La dieta hipercalórica utilizada en este proyecto (MX/E/2013/047377) tiene una composición del 71.4% de carbohidratos simples, de los cuales el 80% es glucosa y el 20% restante es fructosa.

Recientemente, las organizaciones alimentarias internacionales han prestado atención en los efectos generados por la sobrenutrición y su contribución a los desórdenes metabólicos, pues su incidencia rebasa la de las enfermedades causadas por desnutrición, en todas las regiones del mundo (García-García F., 2020). Se estima que entre el 20 y 25% de la población mundial adulta tiene SMet, con tasas similares entre ambos géneros (do Vale Moreira N., 2020). El SMet se caracteriza por una agrupación de factores interrelacionados que incluyen obesidad

abdominal, hiperglucemia, hiperinsulinemia, hipertensión y dislipidemia (Bussler S., 2017).

La aparición de hiperglicemia e hiperinsulinemia son de los indicadores más frecuentes para el diagnóstico de SMet. La tolerancia oral a glucosa evidencia la recaptura de glucosa por los tejidos independientes de insulina a los 0 y 30 minutos, y la captación de tejidos dependientes de insulina (músculo y tejido adiposo) a los 60 y 90 minutos post carga. El comportamiento de la curva generada se ve influenciado por la concentración y acción de insulina, por lo que es importante evaluar su respuesta al estímulo de la carga estándar de glucosa (Moroni D., 2019).

El consumo de dietas altas en carbohidratos simples favorece los estados hiperglicémicos (Treviño S., 2015), que estimulan la liberación de insulina en las células β pancreáticas para mantener las concentraciones de glucosa plasmática adecuadas. Sin embargo, la cronicidad de este estimulo lleva a reducción de la sensibilidad de la acción de insulina en los tejidos diana, lo cual favorece el desarrollo de RI.

En condiciones fisiológicas, se observa un comportamiento “clásico” de la curva generada con los resultados de la prueba de tolerancia oral a la glucosa. Al inicio de la prueba se presenta pendiente positiva hasta llegar a un pico máximo de concentración y después se muestra la pendiente negativa con retorno de la concentración de glucosa postprandial a los 90 minutos a concentraciones similares a la glucosa basal (Bervoets L., 2015).

Este comportamiento clásico de la curva se observó en nuestros resultados en los grupos que consumieron dieta normocalórica durante 1 y 3 meses, lo cual se asocia a una correcta homeóstasis en el manejo del carbohidrato en respuesta hormonal (insulina) y tisular del individuo (Figura 1A). Por el contrario, en los grupos HC de 1 y 3 meses se observó intolerancia a la glucosa. El grupo HC 1 mes a los 90 minutos terminó con una concentración 50% mayor al grupo control (Figura 1A), demostrando que el consumo de dieta hipercalórica hiperglúcida genera la recaptura deficiente de glucosa en el musculo. Mientras que, el grupo HC 3 meses

mostró una pendiente positiva mayor sin retorno a los 90 minutos, indicativo de una pobre recaptura hepática y muscular, comparado con el grupo NC 3M (Treviño S., 2015).

Se han realizado diversas evaluaciones que se relacionan con la forma de la curva generada después del reto de tolerancia oral a la glucosa (Kanauchi M., 2005), en las que se ha determinado que el incremento y el cambio del pico máximo de la concentración de glucosa, respecto del tiempo (Vejrazkova D., 2023), se asocian con mayor secreción de insulina y menor sensibilidad a la hormona en células diana, además de un perfil bioquímico desfavorable (Utzschneider K., 2021). Nuestros resultados mostraron en el grupo HC 1M se presentó una hiperisulinemia posprandial, mientras que en el grupo HC 3M se observó hiperinsulinemia en ayuno y en el postprandio (Figura 1B).

Después del consumo de alimentos, la insulina permite la recaptura de glucosa en tejidos diana (músculo esquelético, tejido adiposo, hígado, etc.) y reduce la concentración de glucosa circulante. Sin embargo, el estado hiperinsulinémico crónico se asocia con una pobre recaptura de glucosa, desarrollo de RI, dislipidemia metabólica, afecciones cardiovasculares y recientemente con un estado neuroinflamatorio (Díaz A., 2020).

Para confirmar RI en los grupos HC, se determinaron los índices HOMA-IR, Matsuda-DeFronzo y el IRCV. El índice HOMA-IR, disminuyó significativamente en el grupo HC de 1 mes e incrementó en el grupo HC de 3 meses. Mientras que, el índice Matsuda-DeFronzo decrementó significativamente en el grupo HC 3M (Figura 2). En conjunto ambos índices evidencian pérdida de la sensibilidad a la insulina y desarrollo de RI en el grupo HC 3M.

La RI se define como un estado de respuesta reducida a la acción de la insulina, que se manifiesta con disminución en la captación de glucosa y estados hiperinsulinémicos crónicos (Lee S., 2022). Aunque no se comprende completamente el mecanismo por el cual se conduce el desarrollo de RI, se ha descrito la modificación en la estimulación o represión de varias rutas de

señalización, las cuales están vinculadas con el metabolismo y la bioenergética en tejidos periféricos y el SNC (Czech M., 2020).

Es importante destacar que no existe un método uniforme para la determinación de la RI. Recientemente ha cobrado importancia la determinación de índices “sustitutos” para determinar la sensibilidad/resistencia a la insulina de todo el organismo (Ighbariya A., 2017), en los cuales se emplean datos de la prueba de tolerancia oral a la glucosa, mostrando alta correlación con otras pruebas como el clamp euglucémico-hiperinsulinémico (Matsuda M., 1999; MatthewsD., 1985).

Por lo que, en nuestro estudio, complementariamente se evaluó el IRCV, que establece específicamente resistencia endotelial. El cual evidenció RI únicamente en el grupo HC 3M (Figura 2B). Los efectos adversos del SMet generan disfunción de la barrera hematoencefálica (BHE), derivado de la rigidez e hipertensión arterial, estrés oxidativo e inflamación, aumentando la permeabilidad y favoreciendo un sobre flujo de nutrientes (Rijnsburger M., 2019). Las alteraciones en la BHE pueden modificar el microambiente del SNC.

La hiperinsulinemia y desarrollo de RI periféricamente modifican rutas metabólicas y de obtención energética, en las que una de las principales consecuencias es la pérdida de la homeostasis de los lípidos, lo que se establece como dislipidemia metabólica, en la cual se presenta hipertrigliceridemia con pérdida del contenido de colesterol en las lipoproteínas de alta densidad (HDL).

Estas condiciones son determinantes en el diagnóstico de SMet. Por lo cual, se evaluó un panel lipídico, cuantificándose triglicéridos, ácidos grasos libres, colesterol total y sus fracciones HDL, LDL y VLDL. Nuestros resultados mostraron incremento en los grupos HC de 1 y 3 meses respecto a sus grupos normocalóricos en la concentración de TG y ácidos grasos, así como decremento significativo en la concentración de colesterol en la fracción HDL y mayor concentración de colesterol LDL y VLDL (Figura 3).

En el hígado, la insulina ejerce dos acciones predominantes: controla de manera critica el nivel de carbohidratos plasmáticos postprandiales al suprimir la producción

de glucosa hepática (Lewis G., 2021) y favorece la síntesis de ácidos grasos y TG (lipogénesis); en pacientes con RI, sólo una de estas acciones está bloqueada. La hormona pierde su capacidad para reducir la gluconeogénesis y mantiene el flujo de glucosa plasmática, por lo que es el hígado el principal aportador a la hiperglicemia en el ayuno, pero conserva su capacidad para favorecer la lipogénesis (Matsumoto M., 2006).

El hígado es el órgano responsable de la conversión del exceso de carbohidratos en ácidos grasos para transformarlos en TG, múltiples líneas de investigación sugieren que esta función se realiza por efecto de la insulina o carbohidratos sobre familia de factores de transcripción unidos a la membrana denominados proteínas de unión a elementos reguladores de esteroles (SREBP) y las proteínas de unión a elementos reguladores de carbohidratos (ChREBP), respectivamente (Xu X, 2013). Los SREBP activan directamente la expresión de más de 30 genes dedicados a la síntesis y absorción de colesterol, ácidos grasos, triglicéridos y fosfolípidos (Horton J., 2002), incluidos los de la ATP citrato liasa (que produce acetil-CoA) y la acetil-CoA carboxilasa y la ácido graso sintasa (que juntas producen palmitato), además del complejo de elongasa de ácidos grasos (que convierte el palmitato en estearato), estearoil-CoA desaturasa (que convierte el estearato en oleato), glicerol-3-fosfato aciltransferasa y diacil glicerol acil transferasa, que regula el paso final de la síntesis de TG (Coleman R., 2004). La expresión de estas enzimas de síntesis de lípidos se incrementa en procesos de desregulación metabólica como la RI, SMet y el estado diabetogénico.

Otro de los tejidos sensibles a la insulina es el tejido adiposo, en el que sus efectos estimulan el almacenamiento de TG en los adipocitos mediante múltiples mecanismos, incluida la promoción de la diferenciación de preadipocitos en adipocitos, el aumento de la absorción de glucosa y ácidos grasos derivados de las lipoproteínas circulantes, la lipogénesis en los adipocitos maduros y la inhibición de la lipólisis, sin embargo, la RI aumenta la lipolisis que no solo aumentan la concentración de lípidos extracelulares, sino que también favorecen la acumulación

de lípidos en macrófagos asociados a enfermedades cardiovasculares (Kosteli A., 2010).

En conjunto, el incremento en la lipolisis y la síntesis de lípidos *de novo,* favorecidos por los estados hiperinsulinémicos (HC 1M) y la RI (HC 3M) explicarían el incremento en la concentración de TG y ácidos grasos, (Figura 3), correspondiente al panel lipídico sérico, este efecto dual contribuye a la combinación letal de hiperglicemia e hipertrigliceridemia que caracteriza al SMet.

En lo que respecta a las fracciones de colesterol, en los grupos HC se presentó disminución de colesterol HDL e incrementó de colesterol en LDL y VLDL, estas alteraciones son características de la RI y el SMet. De manera natural, un incremento en el consumo de carbohidratos estimula una mayor síntesis de ácidos grasos, y por ende de TG, estos lípidos requieren ser movilizados a distintos tejidos, lo que conlleva al hígado a sintetizar fracciones más grandes de VLDL que contienen mayor cantidad de fosfolípidos en la superficie y tardan mayor tiempo en ser aclaradas. Las VLDL (ricas en TG) en circulación son hidrolizadas por la lipoprotein lipasa (la cual es inducida por insulina) en diferentes tejidos, lo que provoca la liberación de ácidos grasos hacia los tejidos blanco (Holvoet P., 2008) y genera LDL cortas y densas (sdLDL).

Adicionalmente, las HDL forman parte importante del acondicionamiento de las VLDL por su intercambio lipídico y de apolipoproteínas. En este sentido, se ha informado que la proteína transferidora de colesterol esterificado (CETP) promueve la movilización de TG hacia las HDL, generando HDL ricas en triglicéridos y pobres en contenido de colesterol como se observó en los grupos HC de 1 y 3 meses. Estas HDL se reconocen como subfracciones HDL3b y HDL3c, las cuales en estudios epidemiológicos se ha demostrado que son pro-aterogénicas, y que al poseer una mayor cantidad de ApoE, son inestables y aclaradas por el cerebro, generando depósitos lipídicos con características tóxicas (Boden G., 2003; Tian L., 2011; Katz L., 2010).

En conjunto nuestros resultados sugieren que el consumo de dieta hipercalórica hiperglúcida durante 1 meses desarrolla hiperinsulinemia alterando la tolerancia a

la glucosa y pérdida de la homeostasis de los lípidos. Por otra parte, el consumo de la dieta durante 3 meses genera SMet, al cumplir con distintas características clínicas para su diagnóstico (RI, hiperglicemia, dislipidemia, HDL bajas en colesterol y LDL ricas en TG.

La sobre alimentación calórica en humanos y roedores da como resultado un equilibrio energético positivo que induce rápidamente RI y favorece el desarrollo de SMet, que se manifiesta a través de mecanismos complejos y heterogéneos que pueden implicar un aumento del flujo de ácidos grasos, sobrecarga de nutrientes, el incremento en moléculas de estrés, secreción de citoquinas, deterioro crónico del tejido e inflamación, como se observa en la ilustración 4 (Schenk S., 2008).

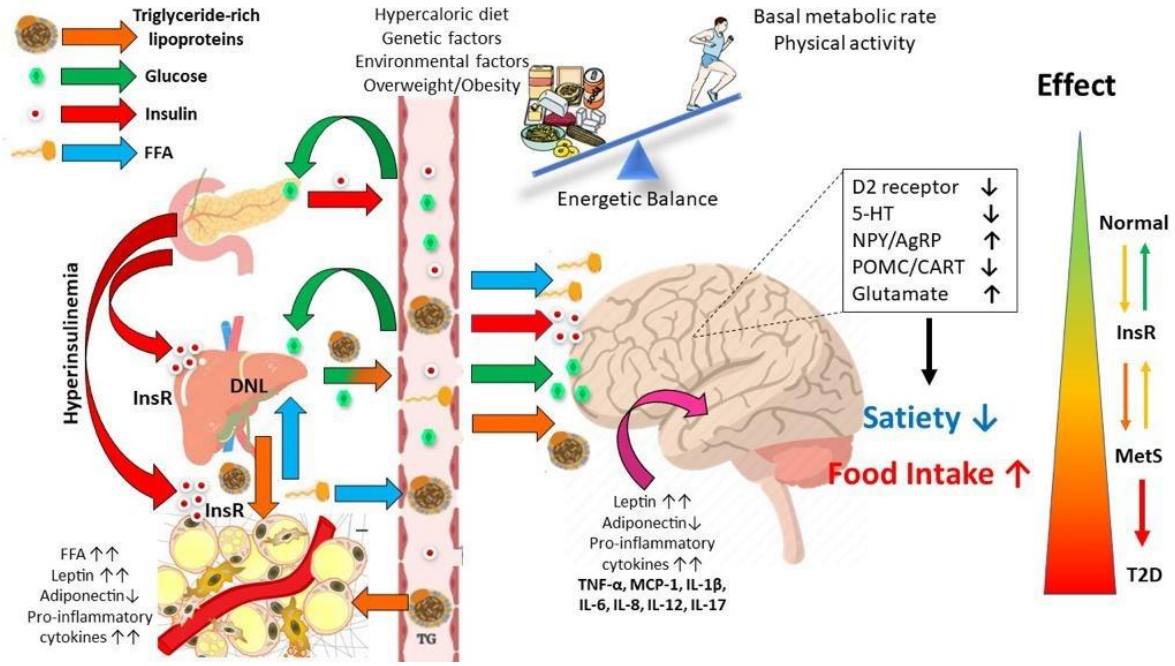


Ilustración 5 *Papel de las proteínas de choque térmico en las enfermedades neurodegenerativas causadas por el síndrome metabólico y la diabetes. Tomado de Treviño y Díaz 2023.*

Las alteraciones metabólicas se asocian con procesos inflamatorios de bajo grado y larga duración, a los que se les conoce como metainflamación. A diferencia de las respuestas inflamatorias agudas y transitorias clásicas del sistema inmunológico innato, la metaflamación o metainflamación es impulsada por una variedad de factores dietéticos adversos, incluidos los ácidos grasos saturados y algunos

azúcares, lo que sugiere la relevancia de la ingesta dietética como desencadenante de estos procesos (Charles-Messance H., 2020).

Lee y colaboradores (2011) identificaron que, el consumo de dieta hipercalórica con alta concentración de grasas, durante tan solo 3 días, es capaz de incrementar la expresión de citocinas y propiciar la infiltración de macrófagos en el tejido adiposo, siendo importante mencionar que estos efectos se mantuvieron en ascenso gradual mientras se consumió la dieta rica en grasas. La RI y el SMet se han asociado con una mayor secreción de citocinas y otras sustancias bioactivas en el tejido adiposo que favorecen el estatus proinflamatorio en este tejido (Kosteli A., 2010).

Por lo que, las enfermedades metabólicas se consideran como un factor de riesgo para la aparición de neuroinflamación, pues en el curso del SMet están presentes reacciones constantes inflamatorias de bajo grado. Se ha identificado que, en personas obesas existe una predisposición a neuroinflamación y enfermedades neurodegenerativas pues el tejido adiposo de una persona obesa libera diversos mediadores proinflamatorios, incluidas las adipocinas (Aguilar-Valles A., 2015; Mendiola-Precoma J., 2016).

Por esta razón determinamos la concentración tisular de citocinas (TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-17, TGF-β, IL-10, IL-4 y aR-IL-1β), para evaluar el balance inflamatorio hipocampal. Los resultados de la evaluación de citocinas proinflamatorias mostraron decremento de la concentración de IL-1β e IL-17, además de incremento de la concentración de IL-6 y TNF- α en los grupos HC de 1 y 3 meses, por el contrario, en los resultados de las citocinas antinflamatorias se observó decrementos en todas las citocinas evaluadas a 1 mes de consumo de dieta HC, este comportamiento se mantuvo en el grupo HC 3M exceptuando a la IL-10 en la que los resultados mostraron incremento respecto del grupo NC 3M (Figura 4 y 5).

Las citocinas son pequeñas proteínas secretadas por las células que tienen un efecto específico en la interacción y comunicación entre las células (de Oliveira C., 2011). Las citocinas pueden actuar sobre las células que las secretan (acción autocrina), sobre células cercanas (acción paracrina) o, en el menor de los casos,

sobre células distantes (acción endocrina), esto último en dependencia de la concentración (Feldmann M., 2008).

Es frecuente que diversas células segreguen la misma citocina o que una sola citocina influya en múltiples tipos celulares. Las citocinas presentan redundancia en sus funciones, lo que implica que distintas citocinas pueden promover funciones similares. A menudo, su producción ocurre de manera secuencial, donde una citocina estimula a las células objetivo para que generen otras citocinas adicionales. Además, las citocinas pueden actuar de manera cooperativa, potenciando efectos mutuos, o de manera contrapuesta, inhibiendo los efectos de otras. Desempeñan un papel fundamental en la regulación de respuestas inmunológicas, la comunicación entre células y células de distintos tipos con el sistema inmunológico. Son fundamentales en la regulación de la respuesta inflamatoria pues permiten la coordinación de acciones del organismo para responder a infecciones o daños. Algunas citocinas también regulan el crecimiento y la supervivencia de las células, lo que puede tener implicaciones en procesos como la regeneración de tejidos y el desarrollo celular. Sin embargo, desequilibrios en la producción o acción de citocinas pueden contribuir a trastornos autoinmunes, enfermedades inflamatorias crónicas y otros problemas de salud (Zhang J., 2007).

Las citocinas se clasifican en dos grupos principales: citocinas proinflamatorias y citocinas antinflamatorias (Dinarello C., 2000). Las citocinas proinflamatorias son producidas predominantemente por células inmunes activas clásicamente y participan en la regulación positiva de las reacciones inflamatorias. Dentro de este grupo se han clasificado a la IL-1β, IL-6 y TNF-α. Mientras que, las citocinas antinflamatorias son una serie de moléculas inmunorreguladoras que controlan la respuesta de las citocinas proinflamatorias. Las citocinas antinflamatorias actúan en conjunto con inhibidores de citocinas específicos y receptores para regular la respuesta inmune. Cada vez se reconoce más su papel fisiológico en el balance inflamación-antiinflamación. Las principales citocinas antinflamatorias incluyen el aRIL-1, IL-4, IL-10, IL-11 y TGF-β. Aunque hay citocinas que se clasifican como pro

o antinflamatorias de acuerdo con la circunstancia o tejido en la que se presenten (Uçeyler N., 2006).

Existe evidencia de que la inflamación periférica causa una respuesta inflamatoria “espejo” en el SNC caracterizada por la síntesis y acción adicional en las regiones cerebrales (Galic M., 2012). La BHE es una interfaz entre el SNC y los tejidos periféricos que puede verse afectada por patologías en la periferia. Por lo que, se le ha considerado como una interfaz reguladora de la respuesta y de transporte selectivo de citocinas y adipocinas que al ser transportadas desempeñan funciones importantes en la respuesta fisiológica, la inflamación y la neurodegeneración. Además, diversas citocinas se producen tanto fuera como dentro del SNC, por lo que, su presencia en las regiones cerebrales no depende totalmente de una u otra, además la distribución de las citocinas entre las regiones y subregiones cerebrales se ve influenciada por su expresión de transportadores y receptores, la actividad metabólica, la composición celular, entre otras (Pan W., 2011).

Se ha descrito que la IL-1β desempeña múltiples funciones en el hipocampo, pues se ha demostrado que está involucrada en la regulación de la plasticidad sináptica y la memoria, además puede desempeñar un papel en la neurogénesis, así como la modulación de la neurotransmisión (Murray C.L., 2013; Phelps C., 2008). Aunque la mayoría de los estudios se ha centrado en los efectos de concentraciones elevadas de IL-1β, se ha sugerido que concentraciones bajas de la citocina pueden estar asociadas la regulación fina de la plasticidad neuronal en el hipocampo, además de promover la viabilidad y el crecimiento de las neuronas, lo que podría ser relevante para el mantenimiento de la función cerebral adecuada (Yirmiya R., 2002).

Previamente nuestro grupo de trabajo ha puesto en evidencia que el consumo de dieta hipercalórica hiperglúcida durante 3 meses disminuye la longitud y el número de ramificaciones neuronales en el hipocampo, también se observó disminución en el número de espinas dendríticas (Treviño S., 2017), estos resultados pueden asociarse con la pérdida de las funciones de IL-1β (plasticidad y neurogénesis) al encontrarse en bajas concentraciones en el hipocampo. Por el contrario, Goshen y

colaboradores identificaron que la administración intraventricular de bajas concentraciones de IL-1β mejora el rendimiento de roedores en las pruebas cognitivas, mientras que la administración de altas concentraciones de esta citocina generaba bajo rendimiento en las pruebas (Goshen I., 207). Estos resultados pueden ser una explicación a la concentración disminuida de IL-1β en los grupos que consumieron dieta HC, pues se ha sugerido que concentraciones bajas de IL-1β estimulan una respuesta adaptativa que permite mantener el funcionamiento cognitivo (Zefferino R., 2021).

Es importante tener en cuenta que los efectos de las concentraciones bajas de IL-1β en el hipocampo aún no se comprenden completamente, y pueden depender de varios factores, como el contexto específico, el tiempo de exposición y las interacciones con otros sistemas de señalización. Se necesitan más investigaciones para elucidar completamente los efectos de las concentraciones bajas de IL-1β en el hipocampo y su implicación en la función cerebral (Kulkarni O., 2016; Russo M., 2016).

Fisiológicamente las citocinas proinflamatorias tienen funciones indispensables para mantener el funcionamiento neuronal y glial, varios estudios han identificado que TNF-α favorece la proliferación celular (Bernardino L., 2008, Montgomery S., 2011) e incrementa el número de neuritas (Keohane A., 2010). Así mismo, Baier y colaboradores evidenciaron que la IL-6 juega un papel importante en los procesos de aprendizaje y memoria, pues en ratones knockout a IL-6 el rendimiento, en el laberinto acuático de Morris y en la prueba de objetos novedosos, disminuyó más del 50% comparado con ratones que sí expresaban la citocina (Baier C., 2009).

El análisis de la respuesta de citocinas proinflamatorias mostró un claro incremento en su concentración, se han realizado numerosos estudios que se enfocan en investigar la acción de las interleucinas proinflamatorias IL-6, IL-1β y TNF-α en el SNC, ya que desempeñan un papel crucial en la respuesta inmunológica innata y en la iniciación de la respuesta inflamatoria (Irwin M., 2008; Miller A., 2009). Sin embargo, un exceso de respuesta inflamatoria puede ser perjudicial e inhibir la regeneración neuronal. Se ha observado aumento en la concentración de las

citocinas proinflamatorias en diferentes condiciones (Fuentes E., 2020), se han asociado con trastornos convulsivos crónicos, citotoxicidad y neurodegeneración.

Nuestros resultados se correlacionan con la literatura reportada donde se evidenció que, el incremento en la concentración de IL-6 y TNF-α pueden fungir como un posible biomarcador del desarrollo de enfermedades neurodegenerativas (Badanjak K., 2021). Además, se sabe que la neuroinflamación crónica desempeña un papel importante en el inicio y la progresión de enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer, Parkinson, esclerosis múltiple y el envejecimiento (Chen W., 2016).

Aunque las enfermedades neuroinflamatorias no han sido investigadas en profundidad en relación con la respuesta de citocinas antinflamatorias, en estudios recientes se ha descrito que el factor de crecimiento transformante beta (TGF-β) puede desempeñar un papel esencial en la supervivencia y diferenciación de las células, formación de vasos sanguíneos, la memoria y capacidad de adaptación neuronal (Diniz L., 2019).

Entre los mecanismos establecidos para evitar respuestas neuroinmunes exacerbadas se encuentra la producción de citocinas antinflamatorias (Shemer A., 2020), como la IL-4 y la IL-10. Estas interleucinas se han asociado con la disminución de la expresión génica de citocinas proinflamatorias. Estudios han demostrado que la IL-10 puede tener efectos neuroprotectores al prevenir la muerte celular y promover la supervivencia neuronal en condiciones de estrés o daño neuronal (Lobo-Silva D., 2016). Ye y colaboradores demostraron que la administración de IL-10 en ratas envejecidas, disminuía la respuesta proinflamatoria mediada por IL-6 y la vía de señalización de NF-κB, después de la administración de lipopolisacárido (2002), estos mismos resultados fueron obtenidos por Heyen y colaboradores, en cultivos celulares (200). Además, la IL-10 puede disminuir el número y tipo de receptores para citocinas proinflamatorias. Por tanto, puede contrarregular la producción y función de citocinas proinflamatorias en múltiples niveles. Por lo que proponemos que el incremento en la concentración de IL-10 mostrada en el grupo HC 3M, se debe a un mecanismo para limitar la respuesta inflamatoria generada por el incremento en la concentración de interleucinas

proinflamatorias, siendo de mayor evidencia el incremento exacerbado de IL-6 (Figura 5E).

Se ha observado también que, en tejidos periféricos, que el cambio en la dinámica inflamatoria puede generar cambios en las poblacionales de macrófagos, sobre todo en estados con aumento de citocinas y quimiocinas proinflamatorias (Wilk A., 2021), que se asocian con enfermedades crónicas, incluidas la obesidad, los trastornos metabólicos y la metainflamación (Treviño S., 2022). Sin embargo, aún no es conocido el efecto de las enfermedades metabólicas sobre los cambios poblacionales en las células de la glía. La respuesta inflamatoria en el SNC involucra la activación de microglía y astrocitos, así como la producción de mediadores inflamatorios clave, que son reguladores de la intensidad y duración del proceso neuroinflamatorio (Vallés S., 2004).

La microglía desempeña un papel dual en la neuroinflamación, y esto depende de los diferentes fenotipos que puede adoptar (Patel A.R., 2013; Varnum M., 2012). La microglía de fenotipo similar al M1 se caracteriza por la expresión de citocinas proinflamatorias, como IL-1β, TNF-α e IL-6. Por otro lado, la microglía de fenotipo similar a M2 se distingue por la secreción de citocinas antinflamatorias, como IL-4 e IL-10. Estas citocinas podrían tener un efecto protector contra la inflamación al reducir los daños y promover la remodelación de los tejidos (Chen Y., 2018).

Para investigar si la dinámica de las citocinas pro y antinflamatorias hipocampales en los grupos de consumo de dieta hipercalórica (HC 1M e HC 3M) está asociada con la diferenciación de la microglía a los fenotipos M1 y M2, realizamos doble inmunomarcaje para evidenciar a células positivas a Iba-1, identificando así a células de la microglía en combinación con CD16 (fenotipo proinflamatorio, M1) o CD206 (fenotipo antinflamatorio, M2). Los resultados mostraron incremento en el número de células de la microglía en el hipocampo en los grupos que consumieron dieta HC durante 1 y 3 meses (Figuras 13 y 16), del mismo modo, se observó incremento en el número de microglía proinflamatoria en CA1 y CA3 (Figura 13B y C) y microglía antinflamatoria en GD y CA3 (Figura 13A y F), en el grupo HC 1M ; por otra parte, en el grupo HC 3M se observó incremento en el número de microglía

proinflamatoria en todas las subregiones del hipocampo (Figura 16A-C) y microglía antinflamatoria en CA1 y CA3 (Figura 16D-F). Los resultados sugieren que el consumo de dieta hipercalórica hiperglúcida genera cambios en las subpoblaciones de la microglía, cambiando su dinámica de diferenciación entre los fenotipos M1 y M2.

La microglía se distribuye de forma ubicua en el cerebro y es la principal célula inmune en el SNC, su proporción es variable según la ubicación y adquiere diferentes morfologías: redonda compacta, ramificada longitudinal y ramificada radial (Heneka M., 2015). Estas células están involucradas en la homeostasis y los mecanismos de defensa del huésped, examinan constantemente las regiones cerebrales asignadas utilizando sus procesos de alta movilidad para detectar la presencia y brindar la protección contra estímulos nocivos, incluidos los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) y los patrones moleculares asociados a daños (DAMP). Simultáneamente participan en la remodelación de las sinapsis y el mantenimiento de la homeostasis de la mielina (Kettenmann H., 2011).

La microglía está dotada de plasticidad fenotípica, influida por su entorno, pues asume una diversidad de fenotipos y conserva la capacidad de cambiar de funciones para mantener la homeostasis del tejido (Orihuela R., 2016). Su activación durante los procesos neuroinflamatorios conlleva a una serie de subestados de activación, en los que suceden cambios asociados no solo a la estructura, si no también cambios relacionados con la expresión de receptores y moléculas inflamatorias, así como cambios en la actividad de sus enzimas (Colonna M.,2017; Patterson S., 2015).

Tras una estimulación causada por una infección, lesión o señalización endógena, la microglía se activa clásicamente al fenotipo proinflamatorio M1, pues actúa como la primera línea de defensa del sistema inmunológico en el SNC. Este fenotipo reconoce estímulos dañinos utilizando una amplia gama de receptores, que al activar su vía de señalización favorecen el proceso inflamatorio y la secreción de citocinas proinflamatorias (IL-1α, IL-1β, IL-6, IL-12, IL-23, TNF-α) y quimiocinas mediante la vía de señalización de NF-κB. Sin embargo, la inflamación sostenida

como consecuencia de la persistencia del estímulo tiene efectos perjudiciales que se han relacionado con el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas (Glass C., 2010).

Los efectos protectores y/o restauradores de la microglía se asocian con la diferenciación al fenotipo M2, mediante la activación de la vía JAK/STAT-3 y STAT-6. La microglía M2 desempeña un papel en la respuesta alérgica, la eliminación de parásitos, la amortiguación inflamatoria, la remodelación de tejidos, angiogénesis y la inmunorregulación. Además de la expresión de citocinas antinflamatorias, el fenotipo M2 incrementa la expresión de factores tróficos, así como arginasa-1 (Arg1), CD206 y quitinasa-3 (Henkel J., 2009). Se han identificado subclases de activación del fenotipo M2, denominados M2a, M2b y M2c y se sabe que su diferenciación depende del estímulo que los active (Martínez F., 2014). Italiani y colaboradores propusieron que el fenotipo M2 proviene de células clasificadas en el fenotipo M1 que han madurado, en respuesta a un estímulo inflamatorio agudo (Italiani P., 2014). Nuestros resultados mostraron la presencia de ambos fenotipos celulares en condiciones fisiológicas y neuroinflamatorias (Figuras 13 y 16), por lo que proponemos la coexistencia de microglía pro y antinflamatoria, en condiciones fisiológicas y patológicas crónicas de bajo grado, aunque se ha puesto en evidencia la posibilidad de reprogramación de un fenotipo a otro (Stout R., 2005).

La microglía de tipo M1, es en un mediador clave de la neuroinflamación (Xiong X., 2016), que pueden agravar la respuesta inmunitaria y la lesión cerebral, pero también con reparación del tejido dañado y neuroprotección mediante la producción de citocinas antinflamatorias, particularmente cuando expresa un fenotipo M2 (Hu X., 2015). De acuerdo con los diferentes tipos y etapas de las condiciones patológicas, las células microgliales activadas también muestran diferentes proporciones entre la microglía M1 y la M2 (Kong L., 2022).

Debido a la capacidad inflamatoria de la microglía, estas células están bajo estricta regulación proporcionada por citocinas, neuropéptidos y hormonas (Rivest S., 2009). Nuestro grupo de trabajo previamente ha informado que el SMet genera diversos cambios en el microambiente, entre ellos hiperinsulinemia, hiperglicemia,

incremento en la producción de ROS, peroxidación de lípidos, disminución de la actividad de las enzimas antioxidantes, pérdida neuronal, y deterioro de los puntos sinápticos (Díaz A., 2018; Treviño S., 2015, 2017), siendo estos posibles inductores y/o consecuencias de la activación microglíal, lo que puede desencadenar y contribuir a un estado neuroinflamatorio crónico en el SNC (Prinz M., 2011).

Hasta ahora no se ha vinculado el desarrollo de enfermedades metabólicas con los cambios poblacionales de la microglía, pero se ha propuesto que el proceso del inicio de la inflamación que deriva en neurodegeneración, causada por las enfermedades metabólicas es similar a los procesos desarrollados en la vejez. La vejez se asocia a la inflamación crónica de bajo grado (Lu Y., 2023); por lo cual, se propone que el desarrollo de SMet produce un fenotipo secretor asociado a senescencia (SASP) en diversas regiones cerebrales. Sin embargo, los procesos de compensación, inmunomodulación y neuroprotección son escasamente descritos en la literatura entorno al SMet, por lo que, al menos en nuestro conocimiento estos resultados proveen de información novedosa que contribuye a explicar los procesos crónicos en el parénquima cerebral.

La inducción en la producción de citocinas y la activación de la microglía da como resultado la propagación de señales neuroinflamatorias al resto de células en el SNC. Los astrocitos también participan en la propagación y regulación de la inflamación y al activarse producen factores reguladores que pueden influir en la inmunidad del SNC y proporcionar retroalimentación negativa a la microglía activada, por lo que se les considera parte de una de inflamación secundaria en la inflamación adaptativa crónica (Voskuhl R., 2009).

Además de su participación inflamatoria, los astrocitos regulan la formación y poda sináptica mediante fagocitosis, permiten el transporte de nutrientes y son la célula reguladora de energía por excelencia en el SNC (Fernandez-Fernandez, S., 2012). También se han asociado con efectos antioxidantes y la desregulación de sus funciones se vincula con enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer (González-Reyes R., 2017), la enfermedad de Parkinson y los accidentes cerebrovasculares.

Se sabe que la microglía puede inducir la diferenciación de astrocitos al fenotipo A1 mediante la liberación de citocinas proinflamatorias y al fenotipo A2 bajo influencia de las moléculas antinflamatorias producidas por la microglía M2 (Liddelow S., 2017). Por lo que evaluamos los cambios poblacionales de los astrocitos generados por el consumo de dieta HC. Los resultados mostraron astrogliosis en el hipocampo de los animales que consumieron dieta hipercalórica, si bien en el grupo HC 1M no se observó diferenciación de los astrocitos en los fenotipos A1 y/o A2, los resultados de la evaluación del grupo HC 3M mostraron evidente polarización de los astrocitos al fenotipo A2 en todas las subregiones del hipocampo.

Los astrocitos son el tipo de célula más abundante en el cerebro de los mamíferos (Freeman M., 2010), durante el desarrollo del SNC, las células precursoras neuronales generan neuronas seguidas de glía, el momento en el que se pasa de célula precursora a neurona o glía es fundamental para determinar cuántas neuronas o glía se forman finalmente en cada región del cerebro. Diversos estudios indican que la regulación de este proceso se rige tanto por señales en el microambiente como por mecanismos intrínsecos de las células precursoras (Miller F., 2007).

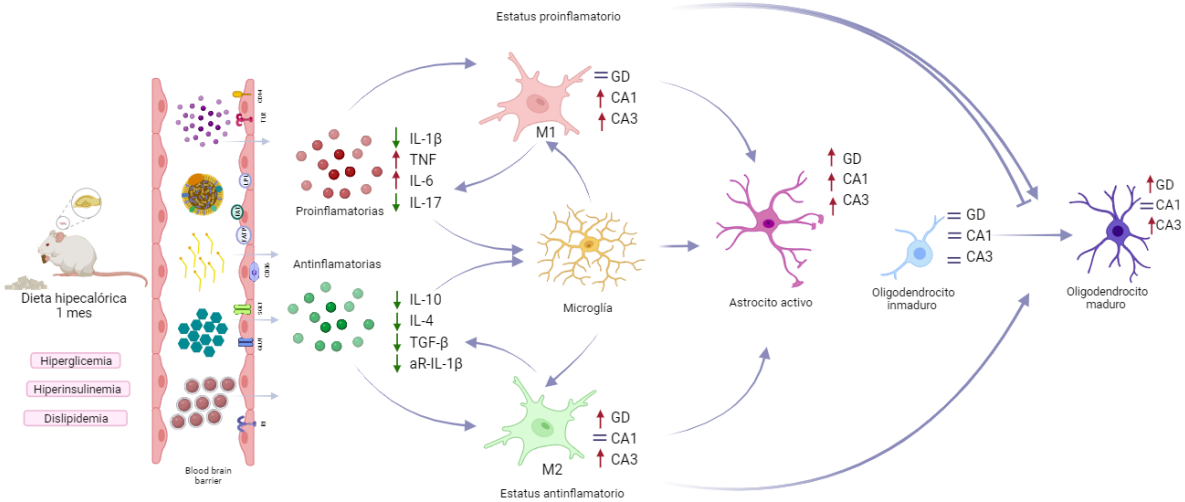


Ilustración 6. *Efectos del consumo de dieta hipercalórica durante 1 mes sobre las subpoblaciones de la glía en el hipocampo.*

Algunos autores proponen que todos los astrocitos inmaduros o en sus etapas tempranas podrían ser esencialmente idénticos, y sus fenotipos maduros estarían moldeados por interacciones con su entorno. Dependiendo de la región particular del cerebro un astrocito maduro puede asociarse con 300 a 600 dendritas (Li J., 2019). Los astrocitos generan procesos celulares desde la primera semana de desarrollo posnatal, en el hipocampo parecen adquirir la morfología madura entre la semana 3 o 4 postnatal (Bushong E., 2004). Los astrocitos inmaduros y maduros difieren, además de su morfología, en la expresión génica, función y respuesta al daño (Zhang Y., 2017). Burnyasheva y colaboradores identificaron que el número de astrocitos presentes en el hipocampo es variable y directamente proporcional con la edad (Burnyasheva A., 2020), observando decremento del número de astrocitos a partir de los 18 meses de edad en roedores (Rudnitskaya E. 2022). Estos resultados coinciden con los resultados obtenidos, pues se mostró incremento en el número de astrocitos en los animales de 3M comparados con los animales de 1M evaluados. Previamente, nuestro grupo de trabajo evidenció que el consumo de dieta HC durante 3 meses incrementa el número de células inmunorreactivas a GFAP (astrocitos) en GD, CA1 y CA3 (Treviño S., 2022), con lo que queda demostrado que el consumo de dieta hipercalórica durante 1 o 3 meses genera astrogliosis en el hipocampo (Figuras 7 y 10). La hipertrofia e hiperplasia de los astrocitos se caracteriza por la inflamación, el agrandamiento y los cambios morfológicos de los astrocitos, y es un fenómeno clave en las enfermedades neuroinflamatorias (Lee H., 2018). Se propone que el consumo de 1 mes de dieta no es suficiente para generar un estímulo inflamatorio que favorezca la diferenciación en los fenotipos A1 y A2.

En condiciones patológicas, los astrocitos responden rápidamente al estrés o lesión cerebral cambiando primero morfológicamente sus procesos largos y delgados a otros más ramificados y grandes con procesos alargados; conocidos como astrocitos reactivos. Esto se acompaña de una mayor expresión de genes y proteínas que suele ser distinta de la de los astrocitos en reposo. La regulación positiva de la proteína GFAP es una característica común de los astrocitos reactivos en diferentes especies en respuesta a una lesión del SNC. Los fenotipos funcionales

de los astrocitos, mantienen la nomenclatura establecida en la microglía, por ello el fenotipo A1 se asocia con la regulación positiva de mediadores proinflamatorios, entre ellos citocinas y genes de la cascada del complemento, en cambio, los astrocitos reactivos del fenotipo A2 regulan positivamente la producción de factores neurotróficos, que promueven la supervivencia y el crecimiento de las neuronas, así como las trombospondinas, que promueven la reparación de las sinapsis (Liddelow S., 2017b).

La diferenciación de los astrocitos al fenotipo A1, se ha ligado con la pérdida de la función, pues pierden casi por completo la actividad fagocítica de los sinaptosomas y de los restos de mielina (Stevens, B., 2007); además son poderosamente neurotóxicos y ralentizan la diferenciación y maduración de oligodendrocitos. En la enfermedad de Alzheimer, casi el 60% de los astrocitos positivos para GFAP fueron clasificados como astrocitos activos A1 y están presentes en las principales enfermedades neurodegenerativas, donde es probable que impulsen la neurodegeneración (Liddelow S., 2017).

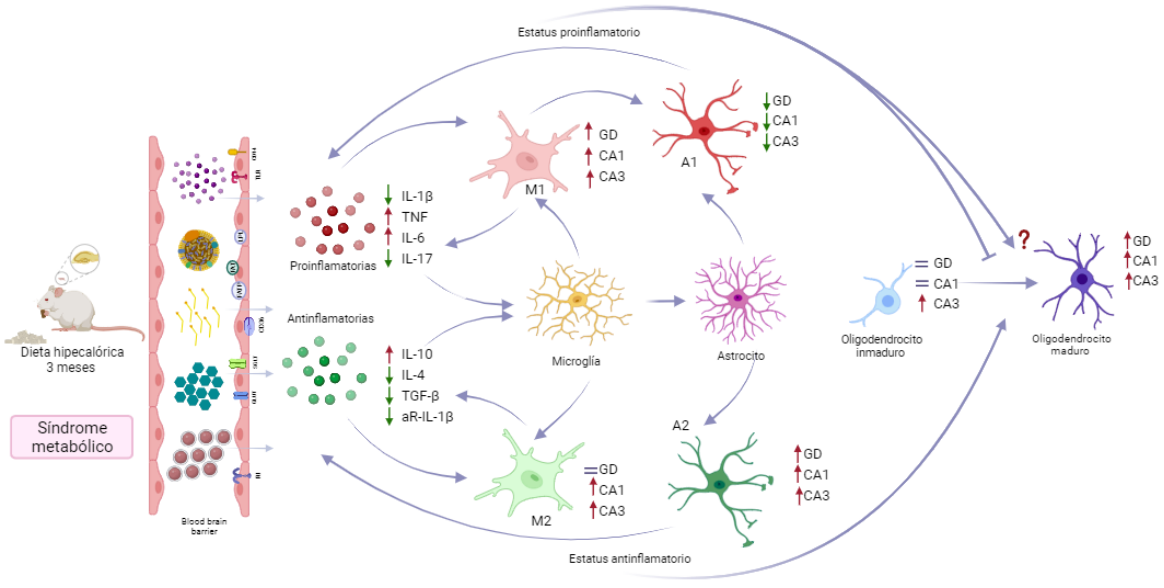


Ilustración 7 *Efecto del Síndrome Metabólico sobre las subpoblaciones de la glía en el hipocampo*

Por el contrario, la diferenciación al fenotipo A2 ha demostrado que existe un beneficio en la recuperación motora, después de una lesión, además de la eliminación de desechos celulares y acumulación de proteínas, por lo que se sugiere

que promueve la recuperación de tejido. Aún no es clara la base celular y molecular de la inducción de los astrocitos al fenotipo A2, pero se han asociado con la recuperación en enfermedades desmielinizantes (Zha Z., 2022), y la resolución de la inflamación en la isquemia (Preman P., 2021).

Aunque los cambios morfológicos o funcionales son las principales formas de respuesta de los astrocitos a una lesión cerebral o estrés, el cambio del metabolismo energético también debería ser una característica común para satisfacer las demandas de energía celular, ya que la activación de los astrocitos requiere una mayor síntesis y tráfico de proteínas.

Cuando los astrocitos se transfieren del estado de "reposo" al estado "reactivo", pueden experimentar o estar acompañados de cambios metabólicos para satisfacer sus demandas de energía y/o alteraciones funcionales en respuesta al daño o estrés (Ghosh, S., 2018). Aunque la mayor parte de la energía en el SNC se produce a partir del catabolismo de la glucosa, en los hallazgos actuales se ha observado una mayor utilización de ácidos grasos libres y cuerpos cetónicos a medida que el cerebro envejece, lo que puede deberse a que el cerebro se vuelve menos eficiente en la utilización de la glucosa con el envejecimiento y con enfermedades neurodegenerativas.

En conjunto, estos resultados sugieren que el metabolismo de los lípidos en los astrocitos es complejo e importante para influir en las condiciones fisiológicas y patológicas al compensar el deterioro del metabolismo energético de la glucosa, y proporcionar sustratos sintéticos para las membranas sinápticas y de mielina. Por tanto, el metabolismo astrocítico de los lípidos está implicado en múltiples enfermedades neurológicas como mecanismo patológico. Aunque sigue siendo en gran parte desconocido, cómo el metabolismo de los lípidos regula con precisión el cambio de fenotipo de los astrocitos reactivos en las enfermedades del SNC (Xiong, X., 2022).

La relación entre las enfermedades metabólicas y la diferenciación al fenotipo A2 no han sido investigadas, proponemos que el incremento en el número de astrocitos A2, posterior al estímulo inflamatorio crónico inducido por la dieta, es justo un

mecanismo neuroprotector y de compensación al proceso inflamatorio, que busca limitar el daño y favorecer mecanismo de regeneración en el tejido, de manera similar a como se realiza en otras afecciones que cursan con neuroinflamación crónica de bajo grado. En conjunto la evidencia sugiere que el consumo de dieta hipercalórica hiperglúcida durante 1M genera astrogliosis (Figura 7) y su consumo durante 3M genera astrogliosis y polariza a los astrocitos a su fenotipo A2 (Figura 10).

La coordinación en la comunicación entre microglía, astrocitos y neuronas vecinas se produce a través de factores secretados, así como de interacciones físicas. Los oligodendrocitos son células gliales mielinizantes, dentro del SNC que aíslan los axones neuronales, lo que permite una conducción rápida del potencial de acción, además proporciona soporte trófico, metabólico y funcional (Kessaris N., 2006; Bradl M., 2010). Estas funciones están coordinadas por la comunicación entre los oligodendrocitos, astrocitos y neuronas vecinas (Simons M., 2006). Por lo que, la actividad neuronal, los cambios en el ambiente inflamatorio y cambios en la polarización microglial y astroglial modifican la diferenciación y maduración de las células precursoras de oligodendrocitos (Marton R., 2019).

Los oligodendrocitos se generan a partir de OPC que surgen en la zona ventricular durante las etapas tempranas de desarrollo, proliferan y migran hacia las diferentes áreas en desarrollo del cerebro, persisten durante toda la vida y ocupan alrededor del 5% al 10% del número total de células del cerebro (Tiane A., 2019). Durante el desarrollo, las OPC se diferencian terminalmente y maduran hasta convertirse en oligodendrocitos mielinizantes (Gonzalez-Perez O., 2011).

Esta diferenciación es un proceso estrictamente controlado en el que las señales extracelulares e intrínsecas regulan los cambios transcripcionales y fisiológicos en las células del linaje de oligodendrocitos (Elbaz B., 2019). Bajo este estimulo las OPC pueden retirarse de su etapa proliferativa y diferenciarse en oligodendrocitos productores de mielina (Bergles D., 2015). En consecuencia, modificaciones en las señales que regulan la diferenciación y maduración de los oligodendrocitos, como el aumento en las moléculas inhibidoras del proceso, mayor producción de citocinas

y el estado inflamatorio, afectan el proceso de diferenciación, posiblemente ejerciendo cambios sobre los procesos transcripcionales y epigenéticos (Wheeler N., 2016).

Nuestros resultados mostraron que el consumo de dieta hipercalórica durante 1 mes favorece la maduración de oligodendrocitos en GD y CA3 (Figura 19), mientras que el consumo de dieta durante 3 meses incrementa el número de OPC y propicia su maduración en oligodendrocitos productores de mielina (Figura 22).

La relación entre la inflamación y la mielinización ya se ha propuesto, y relaciona cambios en la maduración de OPC, los cambios sutiles en los niveles de mielina tienen un impacto en la neurodegeneración y las enfermedades neuropsiquiátricas, lo que hace que sea aún más importante comprender los mecanismos subyacentes de su regulación. Se ha reconocido que el restablecimiento de la vaina de mielina puede ocurrir en respuesta al daño, y que este proceso puede restaurar la función y proporcionar protección axonal (Duncan I., 2009)

Diversos estudios han demostrado que la diferenciación de la microglía al fenotipo M2 está asociada con los procesos de remielinización, pues se ha evidenciado que después de un accidente cerebrovascular este fenotipo impulsa la diferenciación de oligodendrocitos para una respuesta de remielinización eficaz. Sin embargo, la asociación de este fenotipo de microglía no solo tiene un papel en los estados patológicos, se plantea que tienen un papel importante en la regulación homeostática de OPC durante el desarrollo del SNC y en la edad adulta (Hagemeyer N., 2017). La alteración de la capacidad de OPC en proliferación para madurar y convertirse en oligodendrocitos da como resultado una falla en la mielinización, lo que dificulta la recuperación neurológica después del daño.

La mielina es una estructura rica en lípidos. Por lo tanto, la mielinización depende en gran medida de la homeostasis de los lípidos. Los lípidos pueden desempeñar un papel más importante en el desarrollo de oligodendrocitos más allá de simplemente servir como componentes básicos de la vaina de mielina multicapa (Aaker J., 2016). Los análisis farmacológicos de alto rendimiento han identificado moléculas que tienen la capacidad de mejorar la maduración de los oligodendrocitos

y la mielinización del SNC. La expresión de genes implicados en el metabolismo de los ácidos grasos y el colesterol está controlada por SREBP, estudios recientes sugieren que estos factores de transcripción tienen un papel celular autónomo tanto en los oligodendrocitos, donde funcionan en la síntesis de lípidos de mielina, como en los astrocitos, para suministrar componentes básicos de mielina a los oligodendrocitos a través del transporte transcelular (Elbaz B., 2019).

Si bien, la modificación de las poblaciones de oligodendrocitos no ha sido evaluada bajo los efectos del SMet, en trabajos previos hemos puesto en evidencia que el consumo de dieta HC durante 3 meses incrementa la expresión de SREBP1c en todas las regiones del sistema límbico, incluidas las subregiones del hipocampo; lo que podría relacionarse con la regulación a la alza de la síntesis de lípidos en el SNC que brinda componentes básicos para la síntesis de mielina, como se observa en nuestros resultados (Figura 22).

Por otra parte, la diferenciación de la microglía y astrocitos a los fenotipos antinflamatorios (M2 y A2), así como el incremento en la producción de citocinas antinflamatorias (IL-10 e IL-4), se ha vinculado con la maduración y producción de mielina en cultivos celulares (Zhang Q., 2019).

Proponemos que, el incremento en el número de células OPC, así como su maduración por efecto del consumo de dieta hipercalórica, son mecanismos de compensación y adaptación al estímulo neuroinflamatorio antes descrito (Figuras 4 y 5), pues evitan la atrofia celular y el sistema trata de mantener la comunicación neuronal y el funcionamiento cognitivo. Sin embargo, es importante mencionar que el exceso de producción de mielina también se ha asociado con el mal funcionamiento neuronal y el deterioro cognitivo. El equilibrio entre la desmielinización y la remielinización en el cerebro enfermo es crucial para el retorno de la homeostasis del SNC y requiere una rápida eliminación de los fragmentos adicionales de mielina (Cignarella F., 2020), en este proceso la microglía y los astrocitos con capacidad fagocítica, desempeñan un papel importante. Por lo que resulta indispensable dilucidar cuales son los efectos precisos del incremento en la maduración de oligodendrocitos y la producción de mielina.

Conclusiones

El consumo de dieta HC durante 1 mes generó:

- Estados hiperglicémicos, hiperinsulinémicos y dislipidemia.
- Inflamación en el hipocampo y diferenciación al fenotipo M1 en las subregiones CA1 y CA3, y al fenotipo M2 en GD y CA3.
- Astrogliosis en todas las subregiones del hipocampo, sin diferenciación en los fenotipos A1 y A2.
- Incremento en el número de oligodendrocitos maduros en GD y CA3.

Por lo tanto, la metainflamación de bajo grado induce adaptaciones hipocampales que favorecen la maduración de los oligodendrocitos.

Por otra parte, el consumo de la dieta durante 3 meses:

- Desarrolla un fenotipo de SMet similar al del humano.
- Inflamación e incremento de la interleucina antinflamatoria IL-10.
- Induce el fenotipo M1 microglial en todas las subregiones del hipocampo y M2 en CA1 y CA3.
- Desarrolla astrogliosis hipocampal del fenotipo A2.
- Eleva el número de oligodendrocitos maduros en el hipocampo y de células precursoras de oligodendrocitos en la CA3.

En este microambiente la metainflamación modula positivamente la astrogliosis, oligodendrogénesis y la maduración de oligodendrocitos, lo que da paso a condiciones neuroreparadoras, lo cual retarda la neurodegeneración hipocampal.

Perspectivas

- Identificar si origen de las citocinas es periférico o son sintetizadas en el tejido hipocampal.
- Cuantificar la producción de citocinas en cada tipo celular (microglía y astrocitos).
- Evaluar si el incremento en la producción de mielina genera efectos benéficos o perjudiciales en la trasmisión del potencial de acción.
- Conocer las funciones metabólicas de los astrocitos A2 en nuestro modelo de estudio.
- Explorar a nivel molecular los mecanismos que regulan la diferenciación de la microglía y astrocitos en sus fenotipos M1 y A1 o M2 y A2.
- Realizar estudios con tiempo de cohorte intermedio a los ya evaluados, para analizar la progresión del proceso neuroinflamatorio.
- Identificar la eficacia de intervenciones terapéuticas en la recesión del proceso inflamatorio.

Bibliografía

Nayak, D., Roth, T. L., & McGavern, D. B. (2014). Microglia development and function. Annual review of immunology, 32, 367–402. https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032713-120240

Aery Jones, E. A., Rao, A., Zilberter, M., Djukic, B., Bant, J. S., Gillespie, A. K., Koutsodendris, N., Nelson, M., Yoon, S. Y., Huang, K., Yuan, H., Gill, T. M., Huang, Y., & Frank, L. M. (2021). Dentate gyrus and CA3 GABAergic interneurons bidirectionally modulate signatures of internal and external drive to CA1. Cell reports, 37(13), 110159.

Ahima, R. S., & Lazar, M. A. (2008). Adipokines and the peripheral and neural control of energy balance. Molecular endocrinology (Baltimore, Md.), 22(5), 1023–1031. https://doi.org/10.1210/me.2007-0529Y., Gautier, J. F., & Chon, S. (2021). Assessment of Insulin Secretion and Insulin Resistance in Human. Diabetes & metabolism journal, 45(5), 641–654. https://doi.org/10.4093/dmj.2021.0220

Akdis, M., Burgler, S., Crameri, R., Eiwegger, T., Fujita, H., Gomez, E., Klunker, S., Meyer, N., O'Mahony, L., Palomares, O., Rhyner, C., Ouaked, N., Schaffartzik, A., Van De Veen, W., Zeller, S., Zimmermann, M., & Akdis, C. A. (2011). Interleukins, from 1 to 37, and interferon-γ: receptors, functions, and roles in diseases. The Journal of allergy and clinical immunology, 127(3), 701–21. e270. https://doi.org/10.1016/j.jaci.2010.11.050

Alahmari A. (2021). Blood-Brain Barrier Overview: Structural and Functional Correlation. Neural plasticity, 2021, 6564585. https://doi.org/10.1155/2021/6564585

Allen, N. J., & Barres, B. A. (2009). Neuroscience: Glia - more than just brain glue. Nature, 457(7230), 675–677. https://doi.org/10.1038/457675a

Allen, N. J., & Lyons, D. A. (2018). Glia as architects of central nervous system formation and function. Science (New York, N.Y.), 362(6411), 181–185. https://doi.org/10.1126/science.aat0473

Amaral, D. G., Scharfman, H. E., & Lavenex, P. (2007). The dentate gyrus: fundamental neuroanatomical organization (dentate gyrus for dummies). Progress in brain research, 163, 3–22. https://doi.org/10.1016/S0079-6123(07)63001-5

Amaral, D., Lavenex, P., Andersen, P., Morris, R., Bliss, T., & O'Keefe, J. (2007). The hippocampus book. The hippocampus book, 37-45.

Appel, L. J., Moore, T. J., Obarzanek, E., Vollmer, W. M., Svetkey, L. P., Sacks, F. M., Bray, G. A., Vogt, T. M., Cutler, J. A., Windhauser, M. M., Lin, P. H., & Karanja, N. (1997). A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. DASH Collaborative Research Group. The New England journal of medicine, 336(16), 1117–1124. https://doi.org/10.1056/NEJM199704173361601

Araújo, B., Caridade-Silva, R., Soares-Guedes, C., Martins-Macedo, J., Gomes, E. D., Monteiro, S., & Teixeira, F. G. (2022). Neuroinflammation and Parkinson's Disease-From Neurodegeneration to Therapeutic Opportunities. Cells, 11(18), 2908. https://doi.org/10.3390/cells11182908

Badanjak, K., Fixemer, S., Smajić, S., Skupin, A., & Grünewald, A. (2021). The Contribution of Microglia to Neuroinflammation in Parkinson's Disease. International journal of molecular sciences, 22(9), 4676. https://doi.org/10.3390/ijms22094676

Baier, P. C., May, U., Scheller, J., Rose-John, S., & Schiffelholz, T. (2009). Impaired hippocampus-dependent and -independent learning in IL-6 deficient mice. Behavioural brain research, 200(1), 192–196. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.01.013

Bergles, D. E., & Richardson, W. D. (2015). Oligodendrocyte Development and Plasticity. Cold Spring Harbor perspectives in biology, 8(2), a020453. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a020453

Bervoets, L., Mewis, A., & Massa, G. (2015). The shape of the plasma glucose curve during an oral glucose tolerance test as an indicator of Beta cell function and insulin sensitivity in end-pubertal obese girls. Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et metabolisme, 47(6), 445–451. https://doi.org/10.1055/s-0034-1395551

Borsini, A., Zunszain, P. A., Thuret, S., & Pariante, C. M. (2015). The role of inflammatory cytokines as key modulators of neurogenesis. Trends in neurosciences, 38(3), 145–157. https://doi.org/10.1016/j.tins.2014.12.006

Borst, K., Dumas, A. A., & Prinz, M. (2021). Microglia: Immune and non-immune functions. Immunity, 54(10), 2194–2208. https://doi.org/10.1016/j.immuni.2021.09.014

Bourlier, V., Zakaroff-Girard, A., Miranville, A., De Barros, S., Maumus, M., Sengenes, C., Galitzky, J., Lafontan, M., Karpe, F., Frayn, K. N., & Bouloumié, A. (2008). Remodeling phenotype of human subcutaneous adipose tissue macrophages. Circulation, 117(6), 806–815.

Bradl, M., & Lassmann, H. (2010). Oligodendrocytes: biology and pathology. Acta neuropathologica, 119(1), 37–53. https://doi.org/10.1007/s00401-009-0601-5 & Lassmann, H. (2010). Oligodendrocytes: biology and pathology. Acta neuropathologica, 119(1), 37–53. https://doi.org/10.1007/s00401-009-0601-5

Browning, V., Joseph, M., & Sedrak, M. (2012). Multiple sclerosis: a comprehensive review for the physician assistant. JAAPA : official journal of the American Academy of Physician Assistants, 25(8), 24–29. https://doi.org/10.1097/01720610-201208000-00005

Brunk, S. D., & Swanson, J. R. (1981). Colorimetric method for free fatty acids in serum validated by comparison with gas chromatography. Clinical chemistry, 27(6), 924–926. D., & Swanson, J. R. (1981). Colorimetric method for free fatty acids in serum validated by comparison with gas chromatography. Clinical chemistry, 27(6), 924–926.

Bushong, E. A., Martone, M. E., & Ellisman, M. H. (2004). Maturation of astrocyte morphology and the establishment of astrocyte domains during postnatal hippocampal development. International journal of developmental neuroscience : the official journal of the International Society for Developmental Neuroscience, 22(2), 73–86. https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2003.12.008

Bussler, S., Penke, M., Flemming, G., Elhassan, Y. S., Kratzsch, J., Sergeyev, E., Lipek, T., Vogel, M., Spielau, U., Körner, A., de Giorgis, T., & Kiess, W. (2017). Novel Insights in the

Metabolic Syndrome in Childhood and Adolescence. Hormone research in paediatrics, 88(3-4), 181–193. https://doi.org/10.1159/000479510

Caputo, T., Gilardi, F., & Desvergne, B. (2017). From chronic overnutrition to metaflammation and insulin resistance: adipose tissue and liver contributions. FEBS letters, 591(19), 3061–3088. https://doi.org/10.1002/1873-3468.12742

Charles-Messance, H., Mitchelson, K. A. J., De Marco Castro, E., Sheedy, F. J., & Roche, H. M. (2020). Regulating metabolic inflammation by nutritional modulation. The Journal of allergy and clinical immunology, 146(4), 706–720. https://doi.org/10.1016/j.jaci.2020.08.013

Chen, Y., Yin, M., Cao, X., Hu, G., & Xiao, M. (2018). Pro- and Anti-inflammatory Effects of High Cholesterol Diet on Aged Brain. Aging and disease, 9(3), 374–390. https://doi.org/10.14336/AD.2017.0706

Cignarella, F., Filipello, F., Bollman, B., Cantoni, C., Locca, A., Mikesell, R., Manis, M., Ibrahim, A., Deng, L., Benitez, B. A., Cruchaga, C., Licastro, D., Mihindukulasuriya, K., Harari, O., Buckland, M., Holtzman, D. M., Rosenthal, A., Schwabe, T., Tassi, I., & Piccio, L. (2020). TREM2 activation on microglia promotes myelin debris clearance and remyelination in a model of multiple sclerosis. Acta neuropathologica, 140(4), 513–534. https://doi.org/10.1007/s00401-020-02193-z

Clemente-Postigo, M., Queipo-Ortuño, M. I., Fernandez-Garcia, D., Gomez-Huelgas, R., Tinahones, F. J., & Cardona, F. (2011). Adipose tissue gene expression of factors related to lipid processing in obesity. PloS one, 6(9), e24783. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024783

Coleman, R. A., & Lee, D. P. (2004). Enzymes of triacylglycerol synthesis and their regulation. Progress in lipid research, 43(2), 134–176. https://doi.org/10.1016/s0163-7827(03)00051-1

Colonna, M., & Butovsky, O. (2017). Microglia Function in the Central Nervous System During Health and Neurodegeneration. Annual review of immunology, 35, 441–468. https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-051116-052358

Colonna, M., & Butovsky, O. (2017). Microglia Function in the Central Nervous System During Health and Neurodegeneration. Annual review of immunology, 35, 441–468. https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-051116-052358

Colonna, M., & Butovsky, O. (2017). Microglia Function in the Central Nervous System During Health and Neurodegeneration. Annual review of immunology, 35, 441–468. https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-051116-052358

Cytokines and the Brain. (2008). Países Bajos: Elsevier Science.

Daneman, R., & Prat, A. (2015). The blood-brain barrier. Cold Spring Harbor perspectives in biology, 7(1), a020412. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a020412

DeFlitch, L., Gonzalez-Fernandez, E., Crawley, I., & Kang, S. H. (2022). Age and Alzheimer's Disease-Related Oligodendrocyte Changes in Hippocampal Subregions. Frontiers in cellular neuroscience, 16, 847097. https://doi.org/10.3389/fncel.2022.847097 & Losonczy, A. (2018). CA1 pyramidal cell diversity enabling parallel information processing

in the hippocampus. Nature neuroscience, 21(4), 484–493. https://doi.org/10.1038/s41593-018-0118-0

Diaz, A., Escobedo, C., Treviño, S., Chávez, R., Lopez-Lopez, G., Moran, C., Guevara, J., Venegas, B., & Muñoz-Arenas, G. (2018). Metabolic Syndrome Exacerbates the Recognition Memory Impairment and Oxidative-Inflammatory Response in Rats with an Intrahippocampal Injection of Amyloid Beta 1-42. Oxidative medicine and cellular longevity, 2018, 1358057. https://doi.org/10.1155/2018/1358057

Ding S. L. (2013). Comparative anatomy of the prosubiculum, subiculum, presubiculum, postsubiculum, and parasubiculum in human, monkey, and rodent. The Journal of comparative neurology, 521(18), 4145–4162. https://doi.org/10.1002/cne.23416

Ding, Z. B., Song, L. J., Wang, Q., Kumar, G., Yan, Y. Q., & Ma, C. G. (2021). Astrocytes: a double-edged sword in neurodegenerative diseases. Neural regeneration research, 16(9), 1702–1710. https://doi.org/10.4103/1673-5374.306064

do Vale Moreira, N. C., Hussain, A., Bhowmik, B., Mdala, I., Siddiquee, T., Fernandes, V. O., Montenegro Júnior, R. M., & Meyer, H. E. (2020). Prevalence of Metabolic Syndrome by different definitions, and its association with type 2 diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular disease risk in Brazil. Diabetes & metabolic syndrome, 14(5), 1217–1224. https://doi.org/10.1016/j.dsx.2020.05.043

Duncan, I. D., Brower, A., Kondo, Y., Curlee, J. F., Jr, & Schultz, R. D. (2009). Extensive remyelination of the CNS leads to functional recovery. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 106(16), 6832–6836. https://doi.org/10.1073/pnas.0812500106

Elbaz, B., & Popko, B. (2019). Molecular Control of Oligodendrocyte Development. Trends in neurosciences, 42(4), 263–277. https://doi.org/10.1016/j.tins.2019.01.002

Færch, K., Vistisen, D., Pacini, G., Torekov, S. S., Johansen, N. B., Witte, D. R., Jonsson, A., Pedersen, O., Hansen, T., Lauritzen, T., Jørgensen, M. E., Ahrén, B., & Holst, J. J. (2016). Insulin Resistance Is Accompanied by Increased Fasting Glucagon and Delayed Glucagon Suppression in Individuals with Normal and Impaired Glucose Regulation. Diabetes, 65(11), 3473–3481. https://doi.org/10.2337/db16-0240 O., & Conde, S. V. (2022). Impact of Diet Composition on Insulin Resistance. Nutrients, 14(18), 3716. https://doi.org/10.3390/nu14183716

Feldmann M. (2008). Many cytokines are very useful therapeutic targets in disease. The Journal of clinical investigation, 118(11), 3533–3536. https://doi.org/10.1172/JCI37346M., Sakata, R. K., Issy, A. M., Gerola, L. R., & Salomão, R. (2011). Cytokines and pain. Revista brasileira de anestesiologia, 61(2), 255–142. https://doi.org/10.1016/S0034-7094(11)70029-0

Freeman M. R. (2010). Specification and morphogenesis of astrocytes. Science (New York, N.Y.), 330(6005), 774–778. https://doi.org/10.1126/science.1190928

Fünfschilling, U., Supplie, L. M., Mahad, D., Boretius, S., Saab, A. S., Edgar, J., Brinkmann, B. G., Kassmann, C. M., Tzvetanova, I. D., Möbius, W., Diaz, F., Meijer, D., Suter, U., Hamprecht, B., Sereda, M. W., Moraes, C. T., Frahm, J., Goebbels, S., & Nave, K. A. (2012).

Glycolytic oligodendrocytes maintain myelin and long-term axonal integrity. Nature, 485(7399), 517–521. https://doi.org/10.1038/nature11007

Galic, M. A., Riazi, K., & Pittman, Q. J. (2012). Cytokines and brain excitability. Frontiers in neuroendocrinology, 33(1), 116–125. https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2011.12.002

Gao, H., Danzi, M. C., Choi, C. S., Taherian, M., Dalby-Hansen, C., Ellman, D. G., Madsen, P. M., Bixby, J. L., Lemmon, V. P., Lambertsen, K. L., & Brambilla, R. (2017). Opposing Functions of Microglial and Macrophagic TNFR2 in the Pathogenesis of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. Cell reports, 18(1), 198–212. https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.11.083

García-García, F. J., Monistrol-Mula, A., Cardellach, F., & Garrabou, G. (2020). Nutrition, Bioenergetics, and Metabolic Syndrome. Nutrients, 12(9), 2785. https://doi.org/10.3390/nu12092785

Ghasemi, N., Razavi, S., & Nikzad, E. (2017). Multiple Sclerosis: Pathogenesis, Symptoms, Diagnoses and Cell-Based Therapy. Cell journal, 19(1), 1–10. https://doi.org/10.22074/cellj.2016.4867

Ghosh, S., Castillo, E., Frias, E. S., & Swanson, R. A. (2018). Bioenergetic regulation of microglia. Glia, 66(6), 1200–1212. https://doi.org/10.1002/glia.23271

Glass, C. K., Saijo, K., Winner, B., Marchetto, M. C., & Gage, F. H. (2010). Mechanisms underlying inflammation in neurodegeneration. Cell, 140(6), 918–934. https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.02.016

Gómez-Dantés, H., Fullman, N., Lamadrid-Figueroa, H., Cahuana-Hurtado, L., Darney, B., Avila-Burgos, L., Correa-Rotter, R., Rivera, J. A., Barquera, S., González-Pier, E., Aburto-Soto, T., de Castro, E. F., Barrientos-Gutiérrez, T., Basto-Abreu, A. C., Batis, C., Borges, G., Campos-Nonato, I., Campuzano-Rincón, J. C., de Jesús Cantoral-Preciado, A., Contreras-Manzano, A. G., … Lozano, R. (2016). Dissonant health transition in the states of Mexico, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. Lancet (London, England), 388(10058), 2386–2402. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31773-1

Gonzalez-Perez, O., & Alvarez-Buylla, A. (2011). Oligodendrogenesis in the subventricular zone and the role of epidermal growth factor. Brain research reviews, 67(1-2), 147–156. https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2011.01.001& Popko, B. (2019). Molecular Control of Oligodendrocyte Development. Trends in neurosciences, 42(4), 263–277. https://doi.org/10.1016/j.tins.2019.01.002

González-Reyes, RE, Nava-Mesa, MO, Vargas-Sánchez, K., Ariza-Salamanca, D., & Mora-Muñoz, L. (2017). Implicación de los astrocitos en la enfermedad de Alzheimer desde la perspectiva del estrés neuroinflamatorio y oxidativo. Fronteras en neurociencia molecular, 10 , 427. https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00427

Gordon, S., & Martinez, F. O. (2010). Alternative activation of macrophages: mechanism and functions. Immunity, 32(5), 593–604. https://doi.org/10.1016/j.immuni.2010.05.007

Goshen, I., Kreisel, T., Ounallah-Saad, H., Renbaum, P., Zalzstein, Y., Ben-Hur, T., Levy-Lahad, E., & Yirmiya, R. (2007). A dual role for interleukin-1 in hippocampal-dependent

memory processes. Psychoneuroendocrinology, 32(8-10), 1106–1115. https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2007.09.004

Gregor, M. F., & Hotamisligil, G. S. (2011). Inflammatory mechanisms in obesity. Annual review of immunology, 29, 415–445. https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-031210-101322

Greter, M., & Merad, M. (2013). Regulation of microglia development and homeostasis. Glia, 61(1), 121–127. https://doi.org/10.1002/glia.22408

Hagemeyer, N., Hanft, K. M., Akriditou, M. A., Unger, N., Park, E. S., Stanley, E. R., Staszewski, O., Dimou, L., & Prinz, M. (2017). Microglia contribute to normal myelinogenesis and to oligodendrocyte progenitor maintenance during adulthood. Acta neuropathologica, 134(3), 441–458. https://doi.org/10.1007/s00401-017-1747-1A., & Fuss, B. (2016). Extracellular cues influencing oligodendrocyte differentiation and (re)myelination. Experimental neurology, 283(Pt B), 512–530. https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2016.03.019

Hall, K. D., Ayuketah, A., Brychta, R., Cai, H., Cassimatis, T., Chen, K. Y., Chung, S. T., Costa, E., Courville, A., Darcey, V., Fletcher, L. A., Forde, C. G., Gharib, A. M., Guo, J., Howard, R., Joseph, P. V., McGehee, S., Ouwerkerk, R., Raisinger, K., Rozga, I., … Zhou, M. (2019). Ultra-Processed Diets Cause Excess Calorie Intake and Weight Gain: An Inpatient Randomized Controlled Trial of Ad Libitum Food Intake. Cell metabolism, 30(1), 67–77. e3. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2019.05.008

Heneka, M. T., Carson, M. J., El Khoury, J., Landreth, G. E., Brosseron, F., Feinstein, D. L., Jacobs, A. H., Wyss-Coray, T., Vitorica, J., Ransohoff, R. M., Herrup, K., Frautschy, S. A., Finsen, B., Brown, G. C., Verkhratsky, A., Yamanaka, K., Koistinaho, J., Latz, E., Halle, A., Petzold, G. C., … Kummer, M. P. (2015). Neuroinflammation in Alzheimer's disease. The Lancet. Neurology, 14(4), 388–405. https://doi.org/10.1016/S1474-4422(15)70016-5

Henkel, J. S., Beers, D. R., Zhao, W., & Appel, S. H. (2009). Microglia in ALS: the good, the bad, and the resting. Journal of neuroimmune pharmacology: the official journal of the Society on NeuroImmune Pharmacology, 4(4), 389–398. https://doi.org/10.1007/s11481-009-9171-5

Horton, J. D., Goldstein, J. L., & Brown, M. S. (2002). SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. The Journal of clinical investigation, 109(9), 1125–1131. https://doi.org/10.1172/JCI15593

Hotamisligil G. S. (2006). Inflammation and metabolic disorders. Nature, 444(7121), 860–867. https://doi.org/10.1038/nature05485 F., & Hotamisligil, G. S. (2011). Inflammatory mechanisms in obesity. Annual review of immunology, 29, 415–445. https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-031210-101322

Hu, X., Leak, R. K., Shi, Y., Suenaga, J., Gao, Y., Zheng, P., & Chen, J. (2015). Microglial and macrophage polarization—new prospects for brain repair. Nature reviews. Neurology, 11(1), 56–64. https://doi.org/10.1038/nrneurol.2014.207

Huang P. L. (2009). A comprehensive definition for metabolic syndrome. Disease models & mechanisms, 2(5-6), 231–237. https://doi.org/10.1242/dmm.001180). The Global Epidemic

of the Metabolic Syndrome. Current hypertension reports, 20(2), 12. https://doi.org/10.1007/s11906-018-0812-z

Ighbariya, A., & Weiss, R. (2017). Insulin Resistance, Prediabetes, Metabolic Syndrome: What Should Every Pediatrician Know? Journal of clinical research in pediatric endocrinology, 9(Suppl 2), 49–57. https://doi.org/10.4274/jcrpe.2017.S005

Ishimoto, T., Lanaspa, M. A., Rivard, C. J., Roncal-Jimenez, C. A., Orlicky, D. J., Cicerchi, C., McMahan, R. H., Abdelmalek, M. F., Rosen, H. R., Jackman, M. R., MacLean, P. S., Diggle, C. P., Asipu, A., Inaba, S., Kosugi, T., Sato, W., Maruyama, S., Sánchez-Lozada, L. G., Sautin, Y. Y., Hill, J. O., … Johnson, R. J. (2013). High-fat and high-sucrose (western) diet induces steatohepatitis that is dependent on fructokinase. Hepatology (Baltimore, Md.), 58(5), 1632–1643. https://doi.org/10.1002/hep.26594

Italiani, P., Mazza, E. M., Lucchesi, D., Cifola, I., Gemelli, C., Grande, A., Battaglia, C., Bicciato, S., & Boraschi, D. (2014). Transcriptomic profiling of the development of the inflammatory response in human monocytes in vitro. PloS one, 9(2), e87680. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087680

Jiao, P., Chen, Q., Shah, S., Du, J., Tao, B., Tzameli, I., Yan, W., & Xu, H. (2009). Obesity-related upregulation of monocyte chemotactic factors in adipocytes: involvement of nuclear factor-kappaB and c-Jun NH2-terminal kinase pathways. Diabetes, 58(1), 104–115. https://doi.org/10.2337/db07-1344

Jung, U. J., & Choi, M. S. (2014). Obesity and its metabolic complications: the role of adipokines and the relationship between obesity, inflammation, insulin resistance, dyslipidemia and nonalcoholic fatty liver disease. International journal of molecular sciences, 15(4), 6184–6223. https://doi.org/10.3390/ijms15046184 R., & Defronzo, R. A. (2007). The insulin resistance syndrome: physiological considerations. Diabetes & vascular disease research, 4(1), 13–19. https://doi.org/10.3132/dvdr.2007.001

Jung, U. J., & Choi, M. S. (2014). Obesity and its metabolic complications: the role of adipokines and the relationship between obesity, inflammation, insulin resistance, dyslipidemia and nonalcoholic fatty liver disease. International journal of molecular sciences, 15(4), 6184–6223. https://doi.org/10.3390/ijms15046184

Kaifosh, P., & Losonczy, A. (2016). Mnemonic Functions for Nonlinear Dendritic Integration in Hippocampal Pyramidal Circuits. Neuron, 90(3), 622–634. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.03.019

Kamma, E., Lasisi, W., Libner, C., Ng, H. S., & Plemel, J. R. (2022). Central nervous system macrophages in progressive multiple sclerosis: relationship to neurodegeneration and therapeutics. Journal of neuroinflammation, 19(1), 45. https://doi.org/10.1186/s12974-022-02408-y

Kanauchi, M., Kimura, K., Kanauchi, K., & Saito, Y. (2005). Beta-cell function and insulin sensitivity contribute to the shape of plasma glucose curve during an oral glucose tolerance test in non-diabetic individuals. International journal of clinical practice, 59(4), 427–432. https://doi.org/10.1111/j.1368-5031.2005.00422.x

Kenney, J. W., & Gould, T. J. (2008). Modulation of hippocampus-dependent learning and synaptic plasticity by nicotine. Molecular neurobiology, 38(1), 101–121. https://doi.org/10.1007/s12035-008-8037-9 The hippocampus. Current biology: CB, 25(23), R1116–R1121. https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.10.049

Kessaris, N., Fogarty, M., Iannarelli, P., Grist, M., Wegner, M., & Richardson, W. D. (2006). Competing waves of oligodendrocytes in the forebrain and postnatal elimination of an embryonic lineage. Nature neuroscience, 9(2), 173–179. https://doi.org/10.1038/nn1620

Kettenmann, H., Hanisch, U. K., Noda, M., & Verkhratsky, A. (2011). Physiology of microglia. Physiological reviews, 91(2), 461–553. https://doi.org/10.1152/physrev.00011.2010

Khan, A. W., Farooq, M., Hwang, M. J., Haseeb, M., & Choi, S. (2023). Autoimmune Neuroinflammatory Diseases: Role of Interleukins. International journal of molecular sciences, 24(9), 7960. https://doi.org/10.3390/ijms24097960

Kim, G. H., Kim, J. E., Rhie, S. J., & Yoon, S. (2015). The Role of Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases. Experimental neurobiology, 24(4), 325–340. https://doi.org/10.5607/en.2015.24.4.325

Kimelberg H. K. (2004). The problem of astrocyte identity. Neurochemistry international, 45(2-3), 191–202. https://doi.org/10.1016/j.neuint.2003.08.015 Contreras, M., & Allen, N. J. (2021). Glia as sculptors of synaptic plasticity. Neuroscience research, 167, 17–29. https://doi.org/10.1016/j.neures.2020.11.005

Klop, B., Wouter Jukema, J., Rabelink, T. J., & Castro Cabezas, M. (2012). A physician's guide for the management of hypertriglyceridemia: the etiology of hypertriglyceridemia determines treatment strategy. Panminerva medica, 54(2), 91–103.

Kol, A., Adamsky, A., Groysman, M., Kreisel, T., London, M., & Goshen, I. (2020). Astrocytes contribute to remote memory formation by modulating hippocampal-cortical communication during learning. Nature neuroscience, 23(10), 1229–1239. https://doi.org/10.1038/s41593-020-0679-6

Kong, L., Li, W., Chang, E., Wang, W., Shen, N., Xu, X., Wang, X., Zhang, Y., Sun, W., Hu, W., Xu, P., & Liu, X. (2022). mtDNA-STING Axis Mediates Microglial Polarization via IRF3/NF-κB Signaling After Ischemic Stroke. Frontiers in immunology, 13, 860977. https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.860977

Kong, Q., Sacca, V., Zhu, M., Ursitti, A. K., & Kong, J. (2023). Anatomical and Functional Connectivity of Critical Deep Brain Structures and Their Potential Clinical Application in Brain Stimulation. Journal of clinical medicine, 12(13), 4426. https://doi.org/10.3390/jcm12134426 J. (2015). The hippocampus. Current biology : CB, 25(23), R1116–R1121. https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.10.049

Kosteli, A., Sugaru, E., Haemmerle, G., Martin, J. F., Lei, J., Zechner, R., & Ferrante, A. W., Jr (2010). Weight loss and lipolysis promote a dynamic immune response in murine adipose tissue. The Journal of clinical investigation, 120(10), 3466–3479. https://doi.org/10.1172/JCI42845

Kosteli, A., Sugaru, E., Haemmerle, G., Martin, J. F., Lei, J., Zechner, R., & Ferrante, A. W., Jr (2010). Weight loss and lipolysis promote a dynamic immune response in murine adipose tissue. The Journal of clinical investigation, 120(10), 3466–3479. https://doi.org/10.1172/JCI42845

Kwon, H. S., & Koh, S. H. (2020). Neuroinflammation in neurodegenerative disorders: the roles of microglia and astrocytes. Translational neurodegeneration, 9(1), 42. https://doi.org/10.1186/s40035-020-00221-2

Lana, D., Ugolini, F., Nosi, D., Wenk, G. L., & Giovannini, M. G. (2021). The Emerging Role of the Interplay Among Astrocytes, Microglia, and Neurons in the Hippocampus in Health and Disease. Frontiers in aging neuroscience, 13, 651973. https://doi.org/10.3389/fnagi.2021.651973

Lasker, S., Rahman, M. M., Parvez, F., Zamila, M., Miah, P., Nahar, K., Kabir, F., Sharmin, S. B., Subhan, N., Ahsan, G. U., & Alam, M. A. (2019). High-fat diet-induced metabolic syndrome and oxidative stress in obese rats are ameliorated by yogurt supplementation. Scientific reports, 9(1), 20026. https://doi.org/10.1038/s41598-019-56538-0 A., & Birnbaum, M. J. (2021). Molecular aspects of fructose metabolism and metabolic disease. Cell metabolism, 33(12), 2329–2354. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2021.09.010

Lee, H., & Choi, Y. K. (2018). Regenerative Effects of Heme Oxygenase Metabolites on Neuroinflammatory Diseases. International journal of molecular sciences, 20(1), 78. https://doi.org/10.3390/ijms20010078Almeida, A., & Bolaños, J. P. (2012). Antioxidant and bioenergetic coupling between neurons and astrocytes. The Biochemical journal, 443(1), 3–11. https://doi.org/10.1042/BJ20111943

Lee, S. H., Park, S. Y., & Choi, C. S. (2022). Insulin Resistance: From Mechanisms to Therapeutic Strategies. Diabetes & metabolism journal, 46(1), 15–37. https://doi.org/10.4093/dmj.2021.0280

Lee, Y. S., Li, P., Huh, J. Y., Hwang, I. J., Lu, M., Kim, J. I., Ham, M., Talukdar, S., Chen, A., Lu, W. J., Bandyopadhyay, G. K., Schwendener, R., Olefsky, J., & Kim, J. B. (2011). Inflammation is necessary for long-term but not short-term high-fat diet-induced insulin resistance. Diabetes, 60(10), 2474–2483. https://doi.org/10.2337/db11-0194 Saberi, M., & Olefsky, J. M. (2008). Insulin sensitivity: modulation by nutrients and inflammation. The Journal of clinical investigation, 118(9), 2992–3002. https://doi.org/10.1172/JCI34260

Lewis, G. F., Carpentier, A. C., Pereira, S., Hahn, M., & Giacca, A. (2021). Direct and indirect control of hepatic glucose production by insulin. Cell metabolism, 33(4), 709–720. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2021.03.007

Li, J., Khankan, R. R., Caneda, C., Godoy, M. I., Haney, M. S., Krawczyk, M. C., Bassik, M. C., Sloan, S. A., & Zhang, Y. (2019). Astrocyte-to-astrocyte contact and a positive feedback loop of growth factor signaling regulate astrocyte maturation. Glia, 67(8), 1571–1597. https://doi.org/10.1002/glia.23630

Liddelow, S. A., & Barres, B. A. (2017). Reactive Astrocytes: Production, Function, and Therapeutic Potential. Immunity, 46(6), 957–967. https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.06.006 A., & Barres, B. A. (2017). Reactive

Astrocytes: Production, Function, and Therapeutic Potential. Immunity, 46(6), 957–967. https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.06.006

Liddelow, S. A., & Barres, B. A. (2017). Reactive Astrocytes: Production, Function, and Therapeutic Potential. Immunity, 46(6), 957–967. https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.06.006

Liddelow, S. A., Guttenplan, K. A., Clarke, L. E., Bennett, F. C., Bohlen, C. J., Schirmer, L., Bennett, M. L., Münch, A. E., Chung, W. S., Peterson, T. C., Wilton, D. K., Frouin, A., Napier, B. A., Panicker, N., Kumar, M., Buckwalter, M. S., Rowitch, D. H., Dawson, V. L., Dawson, T. M., Stevens, B., … Barres, B. A. (2017). Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia. Nature, 541(7638), 481–487. https://doi.org/10.1038/nature21029

Lim, S.Li, T., Liu, T., Chen, X., Li, L., Feng, M., Zhang, Y., Wan, L., Zhang, C., & Yao, W. (2020). Microglia induce the transformation of A1/A2 reactive astrocytes via the CXCR7/PI3K/Akt pathway in chronic post-surgical pain. Journal of neuroinflammation, 17(1), 211. https://doi.org/10.1186/s12974-020-01891-5 H., Park, E., You, B., Jung, Y., Park, A. R., Park, S. G., & Lee, J. R. (2013). Neuronal synapse formation induced by microglia and interleukin 10. PloS one, 8(11), e81218. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081218

Liu, Z., Zhou, T., Ziegler, A. C., Dimitrion, P., & Zuo, L. (2017). Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases: From Molecular Mechanisms to Clinical Applications. Oxidative medicine and cellular longevity, 2017, 2525967. https://doi.org/10.1155/2017/2525967

Lobo-Silva, D., Carriche, G. M., Castro, A. G., Roque, S., & Saraiva, M. (2016). Balancing the immune response in the brain: IL-10 and its regulation. Journal of neuroinflammation, 13(1), 297. https://doi.org/10.1186/s12974-016-0763-8

López-Olmedo, N., Popkin, B. M., Gordon-Larsen, P., & Taillie, L. S. (2020). Cross-sectional association between diet quality and cardiometabolic risk by education level in Mexican adults. Public health nutrition, 23(2), 264–274. https://doi.org/10.1017/S1368980019001678

Lu, Y., Jarrahi, A., Moore, N., Bartoli, M., Brann, D. W., Baban, B., & Dhandapani, K. M. (2023). Inflammaging, cellular senescence, and cognitive aging after traumatic brain injury. Neurobiology of disease, 180, 106090. https://doi.org/10.1016/j.nbd.2023.106090McPherson, C. A., & Harry, G. J. (2016). Microglial M1/M2 polarization and metabolic states. British journal of pharmacology, 173(4), 649–665. https://doi.org/10.1111/bph.13139

Marriott, B. P., Cole, N., & Lee, E. (2009). National estimates of dietary fructose intake increased from 1977 to 2004 in the United States. The Journal of nutrition, 139(6), 1228S–1235S. https://doi.org/10.3945/jn.108.098277

Martinez, F. O., & Gordon, S. (2014). The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment. F1000prime reports, 6, 13. https://doi.org/10.12703/P6-13

Marton, R. M., Miura, Y., Sloan, S. A., Li, Q., Revah, O., Levy, R. J., Huguenard, J. R., & Pașca, S. P. (2019). Differentiation and maturation of oligodendrocytes in human three-

dimensional neural cultures. Nature neuroscience, 22(3), 484–491. https://doi.org/10.1038/s41593-018-0316-9

Mastrocola, R., Aragno, M., Alloatti, G., Collino, M., Penna, C., & Pagliaro, P. (2018). Metaflammation: Tissue-Specific Alterations of the NLRP3 Inflammasome Platform in Metabolic Syndrome. Current medicinal chemistry, 25(11), 1294–1310. https://doi.org/10.2174/0929867324666170407123522

Matsuda, M., & DeFronzo, R. A. (1999). Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: comparison with the euglycemic insulin clamp. Diabetes care, 22(9), 1462–1470. https://doi.org/10.2337/diacare.22.9.1462

Matsumoto, M., Han, S., Kitamura, T., & Accili, D. (2006). Dual role of transcription factor FoxO1 in controlling hepatic insulin sensitivity and lipid metabolism. The Journal of clinical investigation, 116(9), 2464–2472. https://doi.org/10.1172/JCI27047

Matsuzawa, Y., Funahashi, T., & Nakamura, T. (2011). The concept of metabolic syndrome: contribution of visceral fat accumulation and its molecular mechanism. Journal of atherosclerosis and thrombosis, 18(8), 629–639. https://doi.org/10.5551/jat.7922

Matthews, D. R., Hosker, J. P., Rudenski, A. S., Naylor, B. A., Treacher, D. F., & Turner, R. C. (1985). Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. Diabetologia, 28(7), 412–419. https://doi.org/10.1007/BF00280883 Mechanisms of insulin resistance related to white, beige, and brown adipocytes. Molecular metabolism, 34, 27–42. https://doi.org/10.1016/j.molmet.2019.12.014

Meléndez-Salcido, C. G., Ramírez-Emiliano, J., & Pérez-Vázquez, V. (2022). Hypercaloric Diet Promotes Metabolic Disorders and Impaired Kidney Function. Current pharmaceutical design, 28(38), 3127–3139. https://doi.org/10.2174/1381612829666221020162955

Miller, F. D., & Gauthier, A. S. (2007). Timing is everything: making neurons versus glia in the developing cortex. Neuron, 54(3), 357–369. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.04.019

Montgomery, S. L., & Bowers, W. J. (2012). Tumor necrosis factor-alpha and the roles it plays in homeostatic and degenerative processes within the central nervous system. Journal of neuroimmune pharmacology: the official journal of the Society on NeuroImmune Pharmacology, 7(1), 42–59. https://doi.org/10.1007/s11481-011-9287-2

Mozaffarian D. (2016). Dietary and Policy Priorities for Cardiovascular Disease, Diabetes, and Obesity: A Comprehensive Review. Circulation, 133(2), 187–225. https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.115.018585 & Darkoh, C. (2022). Meal Timing, Meal Frequency and Metabolic Syndrome. Nutrients, 14(9), 1719. https://doi.org/10.3390/nu14091719

Murray, C. L., Obiang, P., Bannerman, D., & Cunningham, C. (2013). Endogenous IL-1 in cognitive function and anxiety: a study in IL-1RI-/- mice. PloS one, 8(10), e78385. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0078385

Nayak, D., Roth, T. L., & McGavern, D. B. (2014). Microglia development and function. Annual review of immunology, 32, 367–402. https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032713-120240

Ohsuzu F. (2004). The roles of cytokines, inflammation and immunity in vascular diseases. Journal of atherosclerosis and thrombosis, 11(6), 313–321. https://doi.org/10.5551/jat.11.313

Orihuela, R., McPherson, C. A., & Harry, G. J. (2016). Microglial M1/M2 polarization and metabolic states. British journal of pharmacology, 173(4), 649–665. https://doi.org/10.1111/bph.13139M., & Brown, M. A. (2012). Innate immunity in the central nervous system. The Journal of clinical investigation, 122(4), 1164–1171. https://doi.org/10.1172/JCI58644

Ouchi, N., Kihara, S., Arita, Y., Maeda, K., Kuriyama, H., Okamoto, Y., Hotta, K., Nishida, M., Takahashi, M., Nakamura, T., Yamashita, S., Funahashi, T., & Matsuzawa, Y. (1999). Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. Circulation, 100(25), 2473–2476.

Paik, S., Kim, J. K., Silwal, P., Sasakawa, C., & Jo, E. K. (2021). An update on the regulatory mechanisms of NLRP3 inflammasome activation. Cellular & molecular immunology, 18(5), 1141–1160. https://doi.org/10.1038/s41423-021-00670-3

Pan, W., Stone, K. P., Hsuchou, H., Manda, V. K., Zhang, Y., & Kastin, A. J. (2011). Cytokine signaling modulates blood-brain barrier function. Current pharmaceutical design, 17(33), 3729–3740. https://doi.org/10.2174/138161211798220918 A. (2000). Proinflammatory cytokines. Chest, 118(2), 503–508. https://doi.org/10.1378/chest.118.2.503

Pan, X., Zhang, Z., Liu, C., Zhao, M., Wang, X., Zhai, J., Wang, C., & Song, G. (2022). Circulating levels of DDIT4 and mTOR, and contributions of BMI, inflammation and insulin sensitivity in hyperlipidemia. Experimental and therapeutic medicine, 24(5), 666. https://doi.org/10.3892/etm.2022.11602

Patel, A. R., Ritzel, R., McCullough, L. D., & Liu, F. (2013). Microglia and ischemic stroke: a double-edged sword. International journal of physiology, pathophysiology and pharmacology, 5(2), 73–90.

Patterson S. L. (2015). Immune dysregulation and cognitive vulnerability in the aging brain: Interactions of microglia, IL-1β, BDNF and synaptic plasticity. Neuropharmacology, 96(Pt A), 11–18. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2014.12.020

Pehar, M., Vargas, M. R., Cassina, P., Barbeito, A. G., Beckman, J. S., & Barbeito, L. (2005). Complexity of astrocyte-motor neuron interactions in amyotrophic lateral sclerosis. Neuro-degenerative diseases, 2(3-4), 139–146. https://doi.org/10.1159/000089619

Phelps C. & Korneva E. A. (2008). Cytokines and the brain. Elsevier. Retrieved November 12 2023 from http://www.dawsonera.com/abstract/9780080559353.

Prinz, M., Priller, J., Sisodia, S. S., & Ransohoff, R. M. (2011). Heterogeneity of CNS myeloid cells and their roles in neurodegeneration. Nature neuroscience, 14(10), 1227–1235. https://doi.org/10.1038/nn.2923

Rauch U. (2007). Brain matrix: structure, turnover and necessity. Biochemical Society transactions, 35(Pt 4), 656–660. https://doi.org/10.1042/BST0350656 & Chan, J. R. (2020). Myelin plasticity: sculpting circuits in learning and memory. Nature reviews. Neuroscience, 21(12), 682–694. https://doi.org/10.1038/s41583-020-00379-8

Rivest S. (2009). Regulation of innate immune responses in the brain. Nature reviews. Immunology, 9(6), 429–439. https://doi.org/10.1038/nri2565

Rochlani, Y., Pothineni, N. V., Kovelamudi, S., & Mehta, J. L. (2017). Metabolic syndrome: pathophysiology, management, and modulation by natural compounds. Therapeutic advances in cardiovascular disease, 11(8), 215–225. https://doi.org/10.1177/1753944717711379

Rodríguez-Gómez, J. A., Kavanagh, E., Engskog-Vlachos, P., Engskog, M. K. R., Herrera, A. J., Espinosa-Oliva, A. M., Joseph, B., Hajji, N., Venero, J. L., & Burguillos, M. A. (2020). Microglia: Agents of the CNS Pro-Inflammatory Response. Cells, 9(7), 1717. https://doi.org/10.3390/cells9071717

Scharfman H. E. (2016). The enigmatic mossy cell of the dentate gyrus. Nature reviews. Neuroscience, 17(9), 562–575. https://doi.org/10.1038/nrn.2016.87 The enigmatic mossy cell of the dentate gyrus. Nature reviews. Neuroscience, 17(9), 562–575. https://doi.org/10.1038/nrn.2016.87

Sheintuch, L., Geva, N., Deitch, D., Rubin, A., & Ziv, Y. (2023). Organization of hippocampal CA3 into correlated cell assemblies supports a stable spatial code. Cell reports, 42(2), 112119. https://doi.org/10.1016/j.celrep.2023.112119

Shemer, A., Scheyltjens, I., Frumer, G. R., Kim, J. S., Grozovski, J., Ayanaw, S., Dassa, B., Van Hove, H., Chappell-Maor, L., Boura-Halfon, S., Leshkowitz, D., Mueller, W., Maggio, N., Movahedi, K., & Jung, S. (2020). Interleukin-10 Prevents Pathological Microglia Hyperactivation following Peripheral Endotoxin Challenge. Immunity, 53(5), 1033–1049.e7. https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.09.018

Shi, H., Hu, X., Leak, R. K., Shi, Y., An, C., Suenaga, J., Chen, J., & Gao, Y. (2015). Demyelination as a rational therapeutic target for ischemic or traumatic brain injury. Experimental neurology, 272, 17–25. https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2015.03.017

Shi, H., Kokoeva, M. V., Inouye, K., Tzameli, I., Yin, H., & Flier, J. S. (2006). TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. The Journal of clinical investigation, 116(11), 3015–3025. https://doi.org/10.1172/JCI28898

Sierra, A., Encinas, J. M., Deudero, J. J., Chancey, J. H., Enikolopov, G., Overstreet-Wadiche, L. S., Tsirka, S. E., & Maletic-Savatic, M. (2010). Microglia shape adult hippocampal neurogenesis through apoptosis-coupled phagocytosis. Cell stem cell, 7(4), 483–495. https://doi.org/10.1016/j.stem.2010.08.014

Simons, M., & Trajkovic, K. (2006). Neuron-glia communication in the control of oligodendrocyte function and myelin biogenesis. Journal of cell science, 119(Pt 21), 4381–4389. https://doi.org/10.1242/jcs.03242

Singh, N., Baby, D., Rajguru, J. P., Patil, P. B., Thakkannavar, S. S., & Pujari, V. B. (2019). Inflammation and cancer. Annals of African medicine, 18(3), 121–126. https://doi.org/10.4103/aam.aam_56_18 Inflammation and metabolic disorders. Nature, 444(7121), 860–867. https://doi.org/10.1038/nature05485

Siqueira Mendes, F. C. C., Almeida, M. N. F., Falsoni, M., Andrade, M. L. F., Felício, A. P. G., Paixão, L. T. V. B. D., Júnior, F. L. D. A., Anthony, D. C., Brites, D., Diniz, C. W. P., & Sosthenes, M. C. K. (2022). The Sedentary Lifestyle and Masticatory Dysfunction: Time to Review the Contribution to Age-Associated Cognitive Decline and Astrocyte Morphotypes in the Dentate Gyrus. International journal of molecular sciences, 23(11), 6342. https://doi.org/10.3390/ijms23116342

Small, D. M., & DiFeliceantonio, A. G. (2019). Processed foods and food reward. Science (New York, N.Y.), 363(6425), 346–347. https://doi.org/10.1126/science.aav0556

Song, H., Stevens, C. F., & Gage, F. H. (2002). Astroglia induce neurogenesis from adult neural stem cells. Nature, 417(6884), 39–44. https://doi.org/10.1038/417039a J., Rönnbäck, L., & Hansson, E. (2006). Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier. Nature reviews. Neuroscience, 7(1), 41–53. https://doi.org/10.1038/nrn1824

Stevens, B., Allen, N. J., Vazquez, L. E., Howell, G. R., Christopherson, K. S., Nouri, N., Micheva, K. D., Mehalow, A. K., Huberman, A. D., Stafford, B., Sher, A., Litke, A. M., Lambris, J. D., Smith, S. J., John, S. W., & Barres, B. A. (2007). The classical complement cascade mediates CNS synapse elimination. Cell, 131(6), 1164–1178.

Stipanuk M. H. & Caudill M. A. (2018). Biochemical physiological and molecular aspects of human nutrition (Fourth). Saunders. Retrieved October 31 2023 from https://nls.ldls.org.uk/welcome.html?ark:/81055/vdc_100061881541.0x000001., & Calder, P. C. (2020). Defining a Healthy Diet: Evidence for The Role of Contemporary Dietary Patterns in Health and Disease. Nutrients, 12(2), 334. https://doi.org/10.3390/nu12020334

Stout, R. D., Jiang, C., Matta, B., Tietzel, I., Watkins, S. K., & Suttles, J. (2005). Macrophages sequentially change their functional phenotype in response to changes in microenvironmental influences. Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950), 175(1), 342–349. https://doi.org/10.4049/jimmunol.175.1.342

Sweeney, M. D., Ayyadurai, S., & Zlokovic, B. V. (2016). Pericytes of the neurovascular unit: key functions and signaling pathways. Nature neuroscience, 19(6), 771–783. https://doi.org/10.1038/nn.4288

Teleanu, D. M., Niculescu, A. G., Lungu, I. I., Radu, C. I., Vladâcenco, O., Roza, E., Costăchescu, B., Grumezescu, A. M., & Teleanu, R. I. (2022). An Overview of Oxidative Stress, Neuroinflammation, and Neurodegenerative Diseases. International journal of molecular sciences, 23(11), 5938. https://doi.org/10.3390/ijms23115938

Thompson, K. K., & Tsirka, S. E. (2017). The Diverse Roles of Microglia in the Neurodegenerative Aspects of Central Nervous System (CNS) Autoimmunity. International journal of molecular sciences, 18(3), 504. https://doi.org/10.3390/ijms18030504

Tiane, A., Schepers, M., Rombaut, B., Hupperts, R., Prickaerts, J., Hellings, N., van den Hove, D., & Vanmierlo, T. (2019). From OPC to Oligodendrocyte: An Epigenetic Journey.

Cells, 8(10), 1236. https://doi.org/10.3390/cells8101236E., & Richardson, W. D. (2015). Oligodendrocyte Development and Plasticity. Cold Spring Harbor perspectives in biology, 8(2), a020453. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a020453

Tiane, A., Schepers, M., Rombaut, B., Hupperts, R., Prickaerts, J., Hellings, N., van den Hove, D., & Vanmierlo, T. (2019). From OPC to Oligodendrocyte: An Epigenetic Journey. Cells, 8(10), 1236. https://doi.org/10.3390/cells8101236

Treviño, S., Aguilar-Alonso, P., Flores Hernandez, J. A., Brambila, E., Guevara, J., Flores, G., Lopez-Lopez, G., Muñoz-Arenas, G., Morales-Medina, J. C., Toxqui, V., Venegas, B., & Diaz, A. (2015). A high calorie diet causes memory loss, metabolic syndrome and oxidative stress into hippocampus and temporal cortex of rats. Synapse (New York, N.Y.), 69(9), 421–433. https://doi.org/10.1002/syn.21832

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

Uçeyler, N., Valenza, R., Stock, M., Schedel, R., Sprotte, G., & Sommer, C. (2006). Reduced levels of antiinflammatory cytokines in patients with chronic widespread pain. Arthritis and rheumatism, 54(8), 2656–2664. https://doi.org/10.1002/art.22026 M., & An, J. (2007). Cytokines, inflammation, and pain. International anesthesiology clinics, 45(2), 27–37. https://doi.org/10.1097/AIA.0b013e318034194e

Ueno, M., Fujita, Y., Tanaka, T., Nakamura, Y., Kikuta, J., Ishii, M., & Yamashita, T. (2013). Layer V cortical neurons require microglial support for survival during postnatal development. Nature neuroscience, 16(5), 543–551. https://doi.org/10.1038/nn.3358

Utzschneider, K. M., Younes, N., Rasouli, N., Barzilay, J. I., Banerji, M. A., Cohen, R. M., Gonzalez, E. V., Ismail-Beigi, F., Mather, K. J., Raskin, P., Wexler, D. J., Lachin, J. M., Kahn, S. E., & GRADE Research Group (2021). Shape of the OGTT glucose response curve: relationship with β-cell function and differences by sex, race, and BMI in adults with early type 2 diabetes treated with metformin. BMJ open diabetes research & care, 9(1), e002264. https://doi.org/10.1136/bmjdrc-2021-002264

Vallés, SL, Blanco, AM, Pascual, M., & Guerri, C. (2004). El tratamiento crónico con etanol mejora los mediadores inflamatorios y la muerte celular en el cerebro y en los astrocitos. Patología cerebral (Zurich, Suiza) , 14 (4), 365–371. https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2004.tb00079.x

Varnum, M. M., & Ikezu, T. (2012). The classification of microglial activation phenotypes on neurodegeneration and regeneration in Alzheimer's disease brain. Archivum immunologiae et therapiae experimentalis, 60(4), 251–266. https://doi.org/10.1007/s00005-012-0181-2

Vejrazkova, D., Vankova, M., Lukasova, P., Hill, M., Vcelak, J., Tura, A., Chocholova, D., & Bendlova, B. (2023). The Glycemic Curve during the Oral Glucose Tolerance Test: Is It Only Indicative of Glycoregulation?. Biomedicines, 11(5), 1278. https://doi.org/10.3390/biomedicines11051278

Voskuhl, R. R., Peterson, R. S., Song, B., Ao, Y., Morales, L. B., Tiwari-Woodruff, S., & Sofroniew, M. V. (2009). Reactive astrocytes form scar-like perivascular barriers to leukocytes during adaptive immune inflammation of the CNS. The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience, 29(37), 11511–11522. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1514-09.2009

Wake, H., Moorhouse, A. J., Jinno, S., Kohsaka, S., & Nabekura, J. (2009). Resting microglia directly monitor the functional state of synapses in vivo and determine the fate of ischemic terminals. The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience, 29(13), 3974–3980. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4363-08.2009

Wang, D. D., & Bordey, A. (2008). The astrocyte odyssey. Progress in neurobiology, 86(4), 342–367. https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2008.09.015 Specification and morphogenesis of astrocytes. Science (New York, N.Y.), 330(6005), 774–778. https://doi.org/10.1126/science.1190928

Weaver, C. M., Dwyer, J., Fulgoni, V. L., 3rd, King, J. C., Leveille, G. A., MacDonald, R. S., Ordovas, J., & Schnakenberg, D. (2014). Processed foods: contributions to nutrition. The American journal of clinical nutrition, 99(6), 1525–1542. https://doi.org/10.3945/ajcn.114.089284

Wheeler, N. A., & Fuss, B. (2016). Extracellular cues influencing oligodendrocyte differentiation and (re)myelination. Experimental neurology, 283(Pt B), 512–530. https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2016.03.019

Wilk, A. J., Rustagi, A., Zhao, N. Q., Roque, J., Martínez-Colón, G. J., McKechnie, J. L., Ivison, G. T., Ranganath, T., Vergara, R., Hollis, T., Simpson, L. J., Grant, P., Subramanian, A., Rogers, A. J., & Blish, C. A. (2020). A single-cell atlas of the peripheral immune response in patients with severe COVID-19. Nature medicine, 26(7), 1070–1076. https://doi.org/10.1038/s41591-020-0944-y

Winkler, G., Kiss, S., Keszthelyi, L., Sápi, Z., Ory, I., Salamon, F., Kovács, M., Vargha, P., Szekeres, O., Speer, G., Karádi, I., Sikter, M., Kaszás, E., Dworak, O., Gerö, G., & Cseh, K. (2003). Expression of tumor necrosis factor (TNF)-alpha protein in the subcutaneous and visceral adipose tissue in correlation with adipocyte cell volume, serum TNF-alpha, soluble serum TNF-receptor-2 concentrations and C-peptide level. European journal of endocrinology, 149(2), 129–135. https://doi.org/10.1530/eje.0.1490129 & Hotamisligil, G. S. (2001). Signaling pathways utilized by tumor necrosis factor receptor 1 in adipocytes to suppress differentiation. FEBS letters, 506(2), 97–102. https://doi.org/10.1016/s0014-5793(01)02889-7

Xiong, P., Zhang, F., Liu, F., Zhao, J., Huang, X., Luo, D., & Guo, J. (2023). Metaflammation in glucolipid metabolic disorders: Pathogenesis and treatment. Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie, 161, 114545. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.114545

Xiong, X. Y., Liu, L., & Yang, Q. W. (2016). Functions and mechanisms of microglia/macrophages in neuroinflammation and neurogenesis after stroke. Progress in neurobiology, 142, 23–44. https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2016.05.001

Xiong, X. Y., Tang, Y., & Yang, Q. W. (2022). Metabolic changes favor the activity and heterogeneity of reactive astrocytes. Trends in endocrinology and metabolism: TEM, 33(6), 390–400. https://doi.org/10.1016/j.tem.2022.03.001

Xiong, X. Y., Tang, Y., & Yang, Q. W. (2022). Metabolic changes favor the activity and heterogeneity of reactive astrocytes. Trends in endocrinology and metabolism: TEM, 33(6), 390–400. https://doi.org/10.1016/j.tem.2022.03.001

Xu, X., Grijalva, A., Skowronski, A., van Eijk, M., Serlie, M. J., & Ferrante, A. W., Jr (2013). Obesity activates a program of lysosomal-dependent lipid metabolism in adipose tissue macrophages independently of classic activation. Cell metabolism, 18(6), 816–830. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.11.001, Laplantine, E., Mbongo, W., Rieux-Laucat, F. y Weil, R. (2021). NF-κB: en las fronteras de la autoinmunidad y la inflamación. Fronteras en inmunología , 12 , 716469. https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.716469

Yirmiya, R., Winocur, G., & Goshen, I. (2002). Brain interleukin-1 is involved in spatial memory and passive avoidance conditioning. Neurobiology of learning and memory, 78(2), 379–389. https://doi.org/10.1006/nlme.2002.4072

Zefferino, R., Di Gioia, S., & Conese, M. (2021). Molecular links between endocrine, nervous and immune system during chronic stress. Brain and behavior, 11(2), e01960. https://doi.org/10.1002/brb3.1960

Zha, Z., Liu, Y. J., Liu, S. S., Zhang, N., Li, J. L., Qi, F., Jin, L. Y., Xue, B., Yang, T., Fan, Y. P., Zhao, H., & Wang, L. (2022). Bu Shen Yi Sui Capsule Promotes Myelin Repair by Modulating the Transformation of A1/A2 Reactive Astrocytes In Vivo and In Vitro. Oxidative medicine and cellular longevity, 2022, 3800004. https://doi.org/10.1155/2022/3800004

Zhang, Q., Zhu, W., Xu, F., Dai, X., Shi, L., Cai, W., Mu, H., Hitchens, T. K., Foley, L. M., Liu, X., Yu, F., Chen, J., Shi, Y., Leak, R. K., Gao, Y., Chen, J., & Hu, X. (2019). The interleukin-4/PPARγ signaling axis promotes oligodendrocyte differentiation and remyelination after brain injury. PLoS biology, 17(6), e3000330. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000330

Zhang, Y., Sloan, S. A., Clarke, L. E., Caneda, C., Plaza, C. A., Blumenthal, P. D., Vogel, H., Steinberg, G. K., Edwards, M. S., Li, G., Duncan, J. A., 3rd, Cheshier, S. H., Shuer, L. M., Chang, E. F., Grant, G. A., Gephart, M. G., & Barres, B. A. (2016). Purification and Characterization of Progenitor and Mature Human Astrocytes Reveals Transcriptional and Functional Differences with Mouse. Neuron, 89(1), 37–53. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.11.013

Zhao, Z., Nelson, A. R., Betsholtz, C., & Zlokovic, B. V. (2015). Establishment and Dysfunction of the Blood-Brain Barrier. Cell, 163(5), 1064–1078. https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.10.067

Anexos

Anexo 1. Determinación de la concentración de glucosa sérica.

Fundamento:
La glucosa oxidasa cataliza la oxidación de glucosa a ácido glucónico. El peróxido de hidrógeno producido se detecta mediante un aceptor cromogénico de oxígeno, fenol-ampirona en presencia de peroxidasa, la intensidad del color formado es proporcional a la concentración de glucosa presente en la muestra.

$$Glucosa + \frac{1}{2}O_2 + H_2O \xrightarrow{\text{Glucosa oxidasa}} \text{Ác.}\, glucónico + H_2O$$

$$2H_2O + Fenol + 4Ampirona \xrightarrow{\text{Peroxidasa}} Quinona + 4H_2O$$

Condiciones de ensayo:

- Longitud de onda: 505 nm
- Temperatura: 37 °C

Procedimiento:

1. Atemperar el reactivo a temperatura ambiente.
2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada
3. Pipetear en un tubo de ensayo:

	BLANCO	PATRÓN	MUESTRA
PATRÓN (A)		10 µL	
MUESTRA			10 µL
REACTIVO	1.0 mL	1.0 mL	1.0 mL

4. Mezclar e incubar los tubos durante 10 minutos a 37 °C.
5. Leer la absorbancia (A) del patrón y de la muestra a 505 nm frente al blanco de reactivo. El color es estable 30 minutos.

Cálculos

$$Concentración\ de\ la\ muestra\left(\frac{mg}{dL}\right) = \left(\frac{A\ muestra}{A\ patron}\right)(100)(Concentración\ del\ patrón)$$

Anexo 2. Determinación de la concentración de insulina sérica

Fundamento:

En esta técnica, la inmovilización ocurre en el transcurso del ensayo en la superficie del pozo en la microplaca. Esto sucede mientras la interacción entre la estreptavidina que recubre el pozo y un anticuerpo monoclonal de insulina biotinilado, que ha sido añadido exógenamente, tiene lugar. Una vez que se mezcla este anticuerpo monoclonal biotinilado con el anticuerpo enzimáticamente etiquetado y un suero que contiene el antígeno original, se genera una reacción entre el antígeno y los anticuerpos. Esta reacción se desarrolla sin ninguna competencia o impedimento estérico, lo que resulta en la formación de un complejo de sándwich soluble. Una vez que se alcanza el equilibrio en esta reacción, la fracción de anticuerpos unidos al antígeno se separa del antígeno no unido, ya sea mediante decantación o aspiración. La actividad enzimática presente en esta fracción de anticuerpos ligados está directamente relacionada con la concentración del antígeno nativo.

Mediante el uso de diferentes sueros de referencia con valores conocidos del antígeno, es posible generar una curva de reacción para distintas dosis. A partir de esta curva, se puede determinar la concentración del antígeno en una muestra desconocida.

Procedimiento

1. En los pozos necesarios para cada suero de referencia, controles y muestras. Colocar 50 µL de los sueros de referencia, controles y muestras en los pozos correspondientes.
2. Agregar 100µL de la solución del reactivo de la enzima de insulina a todos los pozos y golpear suavemente uno de los extremos de la microplaca por 20-30 segundos para mezclar. Sellar la microplaca con una cubierta de plástico.
3. Incubar por 120 minutos a temperatura ambiente (20-27°C)
4. Desechar el contenido de la microplaca por decantación o aspiración.
5. Agregar 300µL de la solución de lavado. Repetir dos veces adicionales.
6. Agregar 100µL de la solución de substrato a todos los pozos.
7. Incubar a temperatura ambiente por 15 minutos.
8. Agregar 50µL de la solución de paro a cada pozo y mezclar suavemente por 15-20 segundos. Agregar siempre los reactivos en el mismo orden para reducir al mínimo diferencias del tiempo de reacción entre los pozos.
9. Leer la absorbancia en cada pozo a 450nm en un lector de microplacas. Los resultados se deben leer en el plazo máximo de 30 minutos después de haber agregado la solución de paro.

Cálculos

Se utiliza una curva de reacción para comprobar la concentración de insulina en especímenes desconocidos.

1. Registrar la absorbancia obtenida del listado del lector de microplacas.

2. Trazar la absorbancia para cada referencia duplicada del suero contra la concentración correspondiente de insulina en **µIU/mL**.
3. Calcular la ecuación de la línea recta para la curva de calibración.

Anexo 3. Determinación de la concentración de colesterol total

Fundamento:
El colesterol presente en la muestra origina un compuesto coloreado según la reacción siguiente:

$$Colesterol\ esterificado + H_2O \xrightarrow{\text{Colesterol Esterasa}} Colesterol + Ác.Grasos$$

$$Colesterol\ esterificado + H_2O \xrightarrow{\text{Colesterol Oxidasa}} 4 - Colestona + H_2O$$

$$2H_2O + 4 - Aminoantipirina + Fenol \xrightarrow{\text{Peroxidasa}} Quinonaimina + 4H_2O$$

La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de colesterol presente en la muestra ensayada.

Condiciones de ensayo:
- Longitud de onda: 505 nm
- Temperatura: 37 °C

Procedimiento
1. Atemperar el reactivo a temperatura ambiente.
2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada
3. Pipetear en un tubo de ensayo:

	BLANCO	PATRÓN	MUESTRA
PATRÓN (A)		10 µL	
MUESTRA			10 µL
REACTIVO	1.0 mL	1.0 mL	1.0 mL

4. Agitar bien e incubar los tubos durante 10 minutos a 37 °C.
5. Leer la absorbancia (A) del patrón y de la muestra a 505 nm frente al blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 60 minutos.

Cálculos

$$Concentración\ de\ la\ muestra\left(\frac{mg}{dL}\right) = \left(\frac{A\ muestra}{A\ patron}\right)(100)(Concentración\ del\ patrón)$$

Anexo 4. Determinación de la concentración de triglicéridos

Fundamento:

La lipoprotein lipasa libera glicerol y ácidos grasos libres de los triglicéridos. El glicerol liberado es fosforilado por la glicerolfosfato deshidrogenasa y ATP en presencia de glicerol quinasa para producir glicerol-3-fosfato (G3P) y adenosina-5-difosfato (ADP). El G3P es entonces convertido a dihidroxiacetona fosfato (DAP) y peróxido de hidrogeno (H_2O_2) por la glicerol fosfato deshidrogenasa. Al final, el H_2O_2 reacciona con 4-aminofenazona (4-AF) y p-clorofenol, reacción catalizada por la peroxidasa (POD) dando una coloración roja. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de triglicéridos presentes en la muestra ensayada.

Condiciones de ensayo:

- Longitud de onda: 505 nm
- Temperatura: 37 °C

Procedimiento

1. Atemperar el reactivo a temperatura ambiente.
2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada
3. Pipetear en un tubo de ensayo:

	BLANCO	**PATRÓN**	**MUESTRA**
PATRÓN (A)		10 µL	
MUESTRA			10 µL
REACTIVO	1.0 mL	1.0 mL	1.0 mL

4. Agitar bien e incubar los tubos durante 5 minutos a 37 °C.
5. Leer la absorbancia (A) del patrón y de la muestra a 505 nm frente al blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 60 minutos.

Cálculos

$$Concentración\ de\ la\ muestra\left(\frac{mg}{dL}\right) = \left(\frac{A\ muestra}{A\ patron}\right)(100)(Concentración\ del\ patrón)$$

Anexo 5. Determinación de la concentración de colesterol HDL reactivo precipitante

Fundamento:
Las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y baja densidad (LDL) del suero o plasma, se precipitan con fosfotungstato en presencia de iones magnesio. Tras la centrifugación, el sobrenadante contiene lipoproteínas de alta densidad (HDL). La fracción de HDL colesterol se determina utilizando el reactivo enzimático de colesterol total.

Condiciones de ensayo:
Longitud de onda: 505 nm.

Procedimiento

1. Agregar en un tubo de ensayo:
   - 25 µL de reactivo + 250 µL de suero
2. Mezclar y dejar reposar 10 minutos a temperatura ambiente.
3. Centrifugar 2 minutos a 12 rpm
4. Recoger el sobrenadante y procesar como muestra en la determinación de colesterol total (Anexo 3).

NOTA: Es muy importante formar el sobrenadante del menisco formado en el tubo, para ello no introducir demasiado la punta y no arrastrar las fracciones VLDL y LDL.

Cálculos
Seguir las instrucciones del Anexo 3 en la sección de cálculos.

Anexo 6. Determinación de la concentración de colesterol LDL reactivo precipitante

Fundamento:
Las lipoproteínas de baja densidad (LDL) presentes en la muestra, precipitan en presencia de polivinil. La concentración de colesterol LDL se calcula por diferencia entre los valores de colesterol en el suero y el sobrenadante obtenido tras la precipitación. El colesterol se cuantifica espectrofotométricamente mediante las reacciones acopladas descritas a continuación.

Procedimiento
1. Atemperar el reactivo a temperatura ambiente.
2. Pipetear en un tubo 0.4ml de muestra + 0.2 ml de reactivo.
3. Agitar bien y dejar reposar durante 15 minutos a temperatura ambiente.
4. Centrifugar durante 15 minutos a 4000 r.p.m.
5. Aspirar con cuidado el sobrenadante.
6. Pipetear en un tubo de ensayo

	BLANCO	PATRÓN	MUESTRA
AGUA DESTILADA	20µL		
PATRÓN DE COLESTEROL		20µL	
SOBRENADANTE DE MUESTRA			20µL
REACTIVO DE COLESTEROL	1mL	1mL	1mL

7. Agitar e incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente.
8. Leer la absorbancia (A) del patrón y la muestra a 505 nm, frente al blanco. La reacción es estable hasta 30 minutos.

Cálculos

La concentración de colesterol en el sobrenadante:

$$Concentración\ de\ la\ muestra\left(\frac{mg}{dL}\right) = \left(\frac{A\ muestra}{A\ patron}\right)(100)(Concentración\ del\ patrón)(Factor\ de\ dilución)$$

La concentración de colesterol LDL en la muestra:

$$Colesterol\ LDL = Colesterol\ total - Colesterol\ del\ sobrenandante$$

Anexo 7. Determinación de la concentración de ácidos grasos libres

Fundamento:
Esta técnica está basada en la formación de sales metálicas de los ácidos y la posterior estimación del metal en los jabones extraídos con un reactivo de color adecuado. La extracción se realiza con cloroformo. Esta afinidad se mejora con alcohol y con el nitrato de cobre. El cobre presente durante la extracción reacciona primero con los ácidos grasos libres generando jabones de cobre, estos son extraídos con el cloroformo. La trietanolamina proporciona un medio básico y favorece la formación de complejos de cobre. La forma en cómo se agita la muestra durante la extracción es de suma importancia, siendo la mezcla vertical en vortex a velocidad media la manera ideal. Se utiliza en una solución con etanol o isopropanol en una relación 1:1 y se desarrolla un color de baja intensidad. El color aparece inmediatamente después de agregar la solución de amoniaco y aumenta rápidamente dependiendo de la concentración de ácidos grasos presentes en la muestra y permanece estable al menos por 25 minutos.

Reactivos

- Cloroformo
- Reactivo de cobre:
  - $Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_20$, 40g/L
  - Trietanolamina 99%, 120mL/L (135g/L)
  - Disolver el nitrato cúprico en 500mL de agua destilada, agregue la trietanolamina y diluir a1 litro con agua destilada.
- Reactivo cuprizona:
  - Ácido oxálico-bis(cyclohexylidenehydrazide) (cuprizona) 0.4g/L de isopropanol.
  - Disolver la cuprizona en 10 mL de cloroformo y se diluye con isopropanol para 1L.
- Reactivo amoníaco:
  - 100ml de una solución al 58% de NH_4OH (concentrado) se diluye hasta 1L con agua destilada.

Procedimiento

1. Añadir 50 µL de suero en un tubo de ensayo
2. En otro tubo añadir 50 µL de estándar de ácido oleico.
3. En un tercer tubo de ensayo, añadir 100µL de agua, este será el blanco de reactivo.
4. Para todos los tubos añadir 150 µL de reactivo de cobre y 1 mL de cloroformo.
5. Colocar los tubos verticalmente en el vortex y agitar por 10 min.
6. Centrifugar los tubos 10 minutos a 1500 rpm.
7. Extraer las fases de cloroformo en otros tubos de ensayo cuidando no extraer la fase acuosa de color azul.
8. De cada tubo, pipetear 500µL de extracto de cloroformo y colocar en un nuevo tubo, la evaporación debe mantenerse al mínimo.
9. A cada tubo, añadir 450µL de reactivo cuprizona, tapar y agitar suavemente.

10. A cada tubo, añadir 50µL de solución de amoniaco, tapar y agitar suavemente.
11. Leer la absorbancia a 620 nm (frente a un blanco a cero de absorbancia) 10 minutos después de agitar con la solución de amoníaco. Si aparece un precipitado azul, agitar la cubeta enérgicamente para redispersarlo y leer la absorbancia.

Cálculos

$$Concentración\ de\ la\ muestra\left(\frac{mg}{dL}\right) = \left(\frac{A\ muestra}{A\ patron}\right)(8.6\frac{mg}{dl})$$

Anexo 8. Deshidratación y embebido en parafina.

Fundamento:
Se realiza el proceso de fijación para detener la vida de las células e impedir las modificaciones *postmortem* que puedan sufrir las células, manteniendo la estructura morfológica de las células y tejidos sin que ocurran cambios notables en ellos. Esto se consigue inmovilizando las moléculas proteicas e inhibiendo las enzimas. Esta acción garantiza la integridad celular y de los tejidos, se efectúa con el uso de agentes fijadores como lo es la formalina. Después de la fijación, las muestras, son deshidratadas e infiltradas con el solvente de la sustancia de inclusión con la finalidad de extraer o remover el agua de los tejidos, para ello se someten las muestras en baños sucesivos en soluciones de concentraciones crecientes de alcohol etílico. Las parafinas son hidrocarburos saturados provenientes de la destilación del petróleo. La penetración de la parafina a interior de los tejidos se efectúa cuando esta se encuentra en estado líquido. El primer recipiente con parafina recibirá a las muestras embebidas en xilol, la parafina reemplazará el xilol de las muestras y se infiltrará al interior de estas, la parafina 3 servirá como contenedor de las muestras.

Procedimiento:

1. Extraer los tejidos y conservarlos en formalina al 10% en PBS.
2. Cortar el tejido en tres secciones coronales y colocarlos en casettes para inclusión.
3. Rotular con lápiz de acuerdo con la nomenclatura asignada.
4. Realizar el siguiente tren de deshidratación:
   - ✓ PBS 1X, durante 45 minutos, para limpiar la formalina del tejido
   - ✓ Alcohol al 80%, 1 hora
   - ✓ Alcohol 1 al 96%, 1 hora
   - ✓ Alcohol 2 al 96%, 1 hora
   - ✓ Alcohol 1 al 100%, 1 hora
   - ✓ Alcohol 2 al 100%, 1 hora
   - ✓ Alcohol-xilol (1:1), 1 hora
   - ✓ Xilol 1, 1 hora
   - ✓ Xilol 2, 1 hora
   - ✓ Parafina 1, 1 hora (mantener la parafina entre 50–55°C)
   - ✓ Parafina 2, 1 hora (mantener la parafina entre 50–55°C)
   - ✓ Parafina 3 (mantener la parafina entre 50–55°C
   - ✓ Inclusión con paraplast

Anexo 9. Inmunofluorescencia

Fundamento:

La inmunofluorescencia (IF) es un método utilizado para detectar la localización de proteínas y otros antígenos en secciones de tejido teniendo como principio la unión antígeno-anticuerpo. En general, los datos IF proporcionan una perspectiva valiosa que puede ayudar a interpretar los datos obtenidos mediante otros métodos. La clave para la inmunofluorescencia de alta calidad es la especificidad del anticuerpo utilizado. Un anticuerpo altamente específico se unirá sólo a la proteína de interés en la sección de tejido. La interacción antígeno-anticuerpo se visualiza usando la detección fluorescente, pues el anticuerpo secundario se conjuga a un fluorocromo que al ser excitado por cierta longitud de onda es capaz de emitir fluorescencia, en la ubicación de la proteína.

Procedimiento:

1. Realizar cortes coronales de 5 µm de espesor y se colocar en portaobjetos previamente silanizados.
2. Mantener las laminillas durante 40 minutos en la estufa a 50°.
3. Colocar las laminillas en xilol durante 10 minutos.
4. Realizar el siguiente proceso de rehidratación:
5. Calentar en baño maría Buffer para recuperación antigénica a 60°C (mantener la temperatura)
6. Sumergir las laminillas en el Buffer durante 40 minutos.
7. Dejar enfriar por 15 minutos.
8. Sumergir en PBS-Tritón 0.2% durante 5 minutos.
9. Realizar 10 baños en PBS.
10. Colocar las laminillas con ayuda de PBS en el coverplate, cuidando se mantenga húmeda toda la laminilla.
11. Bloquear con albumina 2%, durante 2 horas.
12. Realizar 3 lavados de 300µL de PBST al 0.2%, esperando a que todo el liquido se deslice sobre la laminilla, entre cada lavado.
13. Agregar 200µL del primer anticuerpo primario, en cada laminilla.
14. Incubar toda la noche, en refrigeración (4°C)
15. Realizar lavados como se menciona en el paso 12.

A partir de este paso, todo se realiza en oscuridad.

16. Agregar 200µL del primer anticuerpo secundario.
17. Incubar el primer anticuerpo secundario durante 4 horas.
18. Realizar lavados como se menciona en el paso 12.
19. Agregar 200µL del segundo anticuerpo primario, a cada laminilla.
20. Incubar durante toda la noche a 4°C.
21. Realizar lavados como se menciona en el paso 12.
22. Agregar 200µL del segundo anticuerpo secundario.
23. Incubar durante 4 horas.
24. Realizar 4 lavados de 300µL de PBST al 0.2%, esperando a que se deslice todo el liquido por la laminilla, entre cada lavado.
25. Montar con Vecta Shield con DAPI
26. Sellar el cubreobjetos con barniz.

Las diluciones empleadas se muestran en la siguiente tabla:

Anticuerpo primario	Dilución	Anticuerpo secundario	Dilución
Iba-1	1:400	Fluoresceína	1:800
Olig2	1:500		1:800
GFAP	1:500		1:1000
CD206	1:550	Rodamina	1:800
CD16	1:550		1:850
NG2	1:500		1:800
MBP	1:350		1:600
S100A10	1:250		1:500
C1INH	1:500		1:1000

Nota: Mantener las laminillas en un porta laminillas cubierto con papel aluminio y en refrigeración.

Anexo 10. Determinación de interleucinas

Fundamento:

El inmunoensayo quimioluminiscente es una variación del inmunoensayo enzimático estándar, en la cual la detección se basa en la emisión de luz producida por reacciones químicas enzimáticas. A diferencia del ELISA tradicional, donde la señal se basa en un cambio de color, en el ELISA quimioluminiscente se utiliza una enzima que cataliza una reacción química que genera luz en lugar de color. Esto ofrece varias ventajas pues brinda alta sensibilidad y rango dinámico de detección, debido a que la detección se basa en la emisión de luz, es posible detectar señales más débiles que no serían visibles en métodos basados en cambio de color. Esto hace que el ELISA quimioluminiscente sea especialmente útil en situaciones donde se necesitan detectar concentraciones muy bajas de antígeno.

A partir de hipocampo disectado, realizar homogeneizado:

I. Colocar en un tubo eppendorf el tejido y mantener en hielo durante el proceso de homogeneizado.
II. Agregar 300µL de Buffer RIPA
III. Con ayuda de un homogeneizador, homogeneizar todo el tejido.
IV. Centrifugar a 12000 rpm durante 15 minutos a 4°C.
V. Aspirar el sobrenadante y conservar.

En una placa para ELISA, con pozos color blanco:

1. Colocar 5uL de homogeneizado, hasta el fondo del pozo.
2. Agregar 100µL de buffer de carbonatos.
3. Incubar durante 24 horas a 4°C.
4. Realizar 3 lavados con PBST al 0.2% con ayuda de una piseta.
5. Secar los pozos con golpes ligeros sobre papel absorbente.
6. Agregar 50µL de albumina al 2% en cada pozo.
7. Incubar durante 2 horas a temperatura ambiente.
8. Realizar lavados y secado como se indica en el paso 4 y 5.
9. Agregar 50µL de anticuerpo primario con dilución 1:500, en albumina al 1%.
10. Incubar durante toda la noche a 4°C.
11. Realizar lavados como se indica en el paso 4 y 5.
12. Agregar 50µL de anticuerpo secundario acoplado a HRP, en concentración 1:100, en albumina al 1%.
13. Incubar durante 2 horas a temperatura ambiente.
14. Realizar lavados y secado como se indica en el paso 4 y 5.
15. Agregar 50µL de solución de luminol, preparada de la siguiente manera: 2:1:1, de PBS, Solución A y Solución B, respectivamente.
16. Mezclar suavemente.
17. Esperar 1 minuto y leer.