



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD
HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO

**ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DE CASPASAS EN
CEREBROS DE SUJETOS CON SOBREPESO Y OBESIDAD**

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS MÉDICAS

PRESENTA:
ERICK GÓMEZ APO

TUTOR:


DR. JUAN FELIPE SILVA PEREYRA

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA, UNAM


V. B.

Alumno 
Erick Gómez Apo

CIUDAD DE MÉXICO, MARZO 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTORAL

DR. JUAN FELIPE SILVA PEREYRA

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA, UNAM

DR. GLORIA EUGENIA QUEIPO GARCÍA

FACULTAD DE MEDICINA, UNAM

DR. JOSÉ DAMIÁN CARRILLO RUIZ

FACULTAD DE MEDICINA, UNAM

CIUDAD DE MÉXICO, MARZO 2023

DEDICATORIA

A mi tutor, el Dr. Juan Felipe Silva Pereyra, por haberme brindado la oportunidad de laborar con él durante la maestría y el doctorado, por su apoyo, por su tiempo y por toda la dedicación que ha tenido en este proyecto de varios años.

A Claudia y a Elías, por todo su gran amor y cariño.

A mis padres, por ser mis guías, por su gran apoyo, por su comprensión y por darme todo en esta vida.

A mis mentores en Neuropatología, la Dra. Laura Chávez Macías y Dr. Juan Olvera Rabiela, por sus horas de enseñanza, por su tiempo, paciencia y amistad.

Al Hospital General de México “Dr. Eduardo Liceaga”, por permitirme laborar durante los últimos 15 años, más que laborar, seguir aprendiendo diariamente.

Al Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México, por permitirme continuar durante estos años en mi formación como especialista, subespecialista, maestro y doctor en ciencias médicas.

Al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) por la confianza, financiamiento y apoyo a este proyecto de investigación.

ÍNDICE DEL CONTENIDO

	Página
RESUMEN ESTRUCTURADO	1
MARCO TEÓRICO	2
1. INTRODUCCIÓN	2
2. ANTECEDENTES	3
2.1 TEJIDO ADIPOSEO	5
2.2. MACRÓFAGOS DEL TEJIDO ADIPOSEO	10
2.3. CAMBIOS CEREBRALES EN OBESIDAD	14
2.4. MICROGLIA Y ENFERMEDADES CEREBRALES	16
2.5. MICROBIOMA Y OBESIDAD	20
2.6. RELACIÓN ENTRE APOPTOSIS, DIETA RICA EN GRASAS, OBESIDAD Y SISTEMA NERVIOSO CENTRAL	21
2.7. MUERTE CELULAR Y APOPTOSIS	23
2.7.1. CASPASA 1	25
2.7.2. CASPASA 3	27
2.7.3. CASPASA 4 / 11	28
2.7.4. CASPASA 6	29
2.7.5. CASPASA 8	29
2.7.6. CASPASA 9	31
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	31
4. HIPÓTESIS	33

5.	JUSTIFICACIÓN	33
6.	OBJETIVOS	34
7.	DISEÑO DEL ESTUDIO	35
8.	SUJETOS DE ESTUDIO	35
9.	CRITERIOS DE INCLUSIÓN	35
10.	CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	36
11.	VARIABLES	37
12.	MATERIALES Y MÉTODOS	38
12.1.	ADQUISICIÓN DE IMÁGENES	39
13.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	40
14.	RESULTADOS	41
14.1.	SOFTWARE STRING	44
14.1.1.	VÍA ALTERNATIVA DE INFLAMASOMA	45
14.1.2.	VÍA NO CANÓNICA DE RIP-2 / CASPASA 1	46
15.	DISCUSIÓN	46
16.	CONCLUSIONES	51
17.	LIMITACIONES	51
18.	FORTALEZAS	52
19.	ASPECTOS ÉTICOS Y DE BIOSEGURIDAD	52
20.	REFERENCIAS	55

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Posibles vías relacionadas con el tejido adiposo blanco visceral implicadas en la patogenia de la enfermedad neurodegenerativa	7
Figura 2. Hormonas adipocitarias en la comunicación entre tejidos	9
Figura 3. Polarización de los macrófagos del tejido adiposo	12
Figura 4. Nuevo tipo de microglia asociada con enfermedades neurodegenerativas	19
Figura 5. Rutas de señalización activadas para la polarización de la microglia	19
Figura 6. Vía intrínseca y extrínseca de la apoptosis	24
Figura 7. Efecto de la caspasa 1 en el metabolismo de los lípidos	26
Figura 8. Vía de la caspasa 3	27
Figura 9. Interpretación de imágenes con el software ImageJ	40
Figura 10. Porcentaje de la media de caspasas	42
Figura 11. Relación entre la expresión de caspasa 1 y la edad	43
Figura 12. Red de interacción de proteínas de caspasa 1 con caspasa 8, NLRP3 e IL-1A mediante STRING	45
Figura 13. Vía RIP2 / caspasa 1 mediante STRING	46

ÍNDICE DE TABLAS

		Página
Tabla 1.	Variables independientes	37
Tabla 2.	Variables dependientes	37
Tabla 3.	Comparación de expresión de caspasas entre el grupo control y el grupo de sobrepeso/obesidad	41
Tabla 4.	Comparación de caspasas entre el grupo de sobrepeso/obesidad versus control	43

ANEXO

		Página
Anexo 1.	Formato Institucional de carta de consentimiento informado por realizar necropsia hospitalaria	54

RESUMEN ESTRUCTURADO

INTRODUCCIÓN. La obesidad es un problema de salud mundial con repercusión en múltiples órganos y sistemas. En el presente estudio se evalúa la expresión de elementos de la apoptosis en la corteza cerebral de sujetos con sobrepeso/obesidad.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN. ¿La causa de pérdida neuronal en encéfalos de sujetos con sobrepeso/obesidad está asociada a la muerte celular mediada por apoptosis, con incremento de las caspasas de la vía intrínseca y extrínseca, que lleve al incremento de caspasas efectoras?

HIPÓTESIS. Sujetos con sobrepeso/obesidad tendrán un significativo incremento en la expresión inmunohistoquímica para caspasas, en particular un incremento de las caspasas ejecutoras, en el estudio post-mortem de la corteza cerebral.

OBJETIVO GENERAL. Describir la expresión inmunohistoquímica de componentes de la apoptosis en tejido cerebral post-mortem de la corteza cerebral frontal de individuos con sobrepeso/obesidad.

MATERIALES Y MÉTODOS. Se realizan reacciones de inmunohistoquímica con los anticuerpos anti-caspasa 1, 3, 4, 6, 8 y 9 de bloques de parafina de 8 sujetos del grupo problema con sobrepeso/obesidad y de 8 sujetos del grupo control con peso normal. Se realiza la toma de forma aleatoria fotomicrografías de 64 campos a 400 aumentos de cada laminilla. Se realiza análisis de imágenes con el software imageJ y se obtiene la media de expresión de porcentaje de células con expresión positiva.

RESULTADOS. Los análisis de la prueba U de Mann-Whitney mostraron que las muestras de cerebro del grupo con sobrepeso/obesidad tienen medias significativamente mayores de caspasa 1 y caspasa 8 que las muestras del grupo de peso normal.

CONCLUSIONES. No hay una clara activación de la vía extrínseca o intrínseca de la apoptosis, por lo que la expresión incrementada de caspasa 1 y 8 en sujetos sobrepeso/obesidad puede deberse a vías alternas de muerte celular y no por las vías clásicas de la apoptosis.

PALABRAS CLAVE. Apoptosis, caspasas, sobrepeso, obesidad, inmunohistoquímica, corteza frontal, tejido adiposo.

MARCO TEÓRICO

1. INTRODUCCIÓN

El tema básico y fundamental al que se dirige el presente estudio es sobre la asociación que se presenta el sobrepeso/obesidad y la expresión inmunohistoquímica de elementos de la apoptosis en la corteza cerebral en humanos. La evaluación de caspasas en la corteza cerebral ha sido poco estudiada en animales con sobrepeso y obesidad; este es el primer trabajo en el que se evalúa la expresión inmunohistoquímica en la corteza cerebral en sujetos humanos con sobrepeso/obesidad.

Actualmente, es difícil la obtención de tejido cerebral humano post-mortem, por lo que la extensa mayoría de los estudios se realizan en modelos animales y en humanos mediante el análisis de estudios de imagen en sus diversas modalidades.

El tema de la obesidad es fundamental en investigación médica y se encuentra en crecimiento la investigación con respecto a este tema, ya que desde el año 2000 hasta 2022 se han publicado 339,921 artículos registrados en PUBMED (US National Library of Medicine National Institutes of Health), de los cuales están relacionados por palabras MESH “obesity and brain” 19,022 artículos; “obesity and caspases” 1,041 artículos; y “obesity, caspases and brain” 72 artículos.

2. ANTECEDENTES

La obesidad se define como una acumulación anormal o excesiva de grasa que afecta negativamente a la salud ^[1]. Según estimaciones de la Organización Mundial de la Salud, uno de cada cinco adultos en todo el mundo tendrá problemas de obesidad en 2025. La obesidad mundial se ha duplicado desde 1980 ^[2]. El índice de masa corporal (IMC) se utiliza para definir la obesidad de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS). En adultos, la OMS define "sobrepeso" como un IMC de 25.0 a 29.9 y "obesidad" como un $IMC \geq 30.0$ ^[3].

La obesidad debe ser considerada una verdadera enfermedad. El sobrepeso/obesidad aumenta el riesgo de contraer enfermedades, como hipertensión arterial, dislipidemia, diabetes mellitus tipo 2, enfermedad coronaria, vasculopatía cerebral, litiasis vesicular, artropatía, poliquistosis ovárica, síndrome de apnea del sueño y algunas neoplasias ^[4, 5].

La correlación entre el IMC y el riesgo de enfermedad no es lineal. Más del 60 % de la carga mundial de morbilidad por obesidad afecta a personas con un $IMC \geq 30$, que constituyen solo ~10 % de la población mundial ^[6]. Tanto que se ha informado de individuos con sobrepeso/obesidad que pueden tener mortalidad menor, lo que se describe como "paradoja de la obesidad" ^[7].

Además, en la obesidad se genera estrés oxidativo asociado a una respuesta inflamatoria crónica, en la que existe un desequilibrio en relación con la liberación de hormonas y adipocinas que provocan pérdida de homeostasis corporal ^[8].

La obesidad podría considerarse una enfermedad hereditaria. Casos de obesidad monogénica han revelado que los circuitos hipotalámicos regulan la homeostasis energética, el apetito, el hambre y la saciedad ^[9]. Esta aportación de la genética es constante, pero varía según las situaciones desde las raras formas de obesidad monogénica (5% de los casos) y la denominada obesidad poligénica (u obesidad común) que es más frecuente (95% de los casos) ^[10]. En la revisión sistemática de Kanmiki et al (2022) sobre la transmisión multigeneracional del sobrepeso/obesidad, utiliza estimaciones meta-analíticas para la síntesis cuantitativa; utilizaron 25 estudios con una población combinada de 238,771 individuos. Alrededor del 60% de los estudios revisados informaron una asociación positiva entre el sobrepeso/obesidad abuelo-nieto, de los cuales 11 fueron estadísticamente significativos ^[11].

Los avances en el estudio del ácido desoxirribonucleico (ADN) y sus alteraciones han aumentado considerablemente nuestra comprensión de la función de la epigenética en la regulación del metabolismo y el gasto energético en la obesidad ^[12]. La epigenética, parece desempeñar un papel mucho más importante que el IMC en la determinación del riesgo de las comorbilidades de la obesidad ^[6]. Los mecanismos epigenéticos actualmente conocidos incluyen la metilación del ADN, las modificaciones de histonas y la regulación mediada por micro ácido ribonucleico (miARN) ^[13]. En un estudio de Thaker (2017), se observó una asociación significativa con niveles elevados de ciertos miARN (miR-486-5p, miR-486-3p, miR-142-3p, miR-130 b y miR-423-5p) con el IMC en niños con obesidad, con un cambio significativo en el perfil de 10 miARNs con cambio de peso ^[14]. En adultos ^[15] se

realizó un amplio estudio del genoma de los sitios de metilación de citosina fosfoguanina de 479 individuos. Se informó un aumento de la metilación en el locus factor 3a inducible por hipoxia (HIF3A) en la sangre y el tejido adiposo. Las modificaciones de histonas están involucradas en la regulación epigenética de la adipogénesis y pueden desempeñar un papel importante en el desarrollo de la obesidad [15].

2.1. EL TEJIDO ADIPOSO

La investigación de la última década ha aumentado nuestra comprensión del papel que juega el tejido adiposo en la salud y la enfermedad. El tejido adiposo es ahora reconocido como un órgano metabólico y endocrino altamente activo [16].

La patogenicidad del tejido adiposo se basa en su notable plasticidad para ser reprogramada durante la obesidad, en las perspectivas de morfología tisular, composición de la matriz extracelular, angiogénesis, homeostasis inmuno-metabólica, y ritmo circadiano [17]. La obesidad desencadena alteraciones en las células madre adiposas, estas células perjudican la remodelación del tejido adiposo, lo que induce inflamación sistémica de bajo grado y la resistencia progresiva a la insulina [18].

El tejido adiposo generalmente se clasifica como tejido adiposo blanco, encargado de almacenar energía, y el tejido adiposo pardo, que media la termogénesis [19]. La función termogénica de la grasa parda se debe al uso de la proteína desacopladora-1 (UCP-1), la energía se transfiere desacoplando el gradiente de protones para la

fosforilación de adenosin difosfato (ADP) a adenosin trifosfato (ATP) en la membrana de la pared interna de la mitocondria ^[20]. Además, hay adipocitos beige o "brillantes" que pueden surgir por dos modelos: 1) los adipocitos beige pueden formarse a través de la reprogramación de los adipocitos blancos: diferenciación de blanco a beige, o 2) los adipocitos beige surgen a través de la diferenciación de novo a partir de progenitores de adipocitos residentes en tejidos. Este proceso de conversión de adipocitos beige y blancos parece ser reversible ^[21].

Para comprender el desarrollo del tejido adiposo, se están rastreando los orígenes de los adipocitos maduros hasta su precursor adulto y ancestros embrionarios ^[22]. El examen histológico temprano del desarrollo embrionario de ratón identificó que la capa de mesodermo era el origen principal de la mayoría de los adipocitos. Sin embargo, los adipocitos cefálicos se pueden rastrear con el marcador de cresta neural Sox10-Cre, y se cree que tienen un origen en la cresta neural ^[21]. En modelos animales con obesidad inducidos por dieta, se ha informado que los progenitores en tejido adiposo visceral proliferan rápidamente y se diferencian en adipocitos. En la obesidad, el tejido adiposo visceral exhibe respuestas inflamatorias elevadas, que son menos frecuentes en el tejido adiposo subcutáneo ^[23].

Se ha informado que los cambios en el grosor cortical del cerebro están asociados con la acumulación de tejido adiposo blanco visceral, así como enfermedades cerebrales de vasos pequeños, lesiones de sustancia blanca, infarto lacunar silente, incluso hay informes de neuroimagen sobre la asociación entre la enfermedad de Alzheimer y tejido adiposo blanco visceral (figura 1) ^[24].

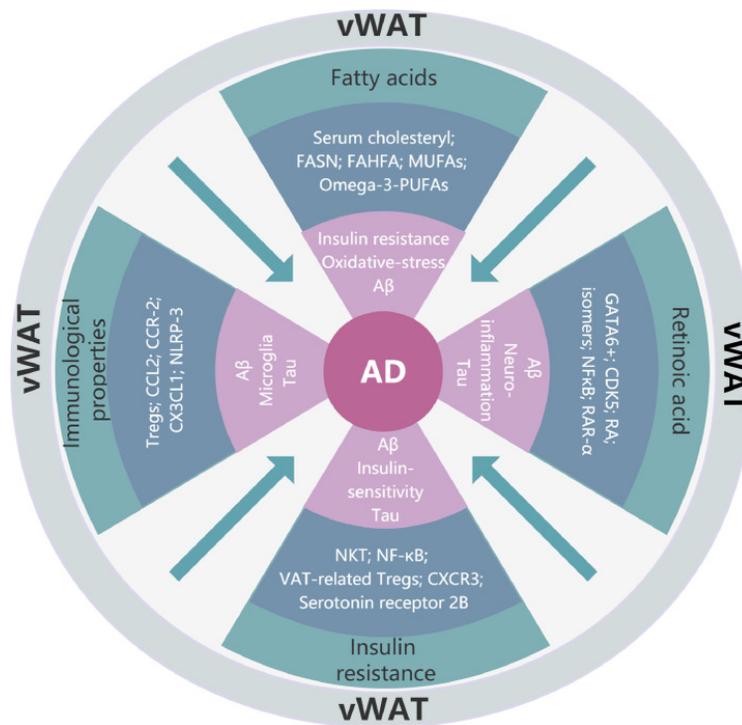


Figura 1. Posibles vías relacionadas con el tejido adiposo blanco visceral implicadas en la patología de la enfermedad neurodegenerativa. El tejido adiposo blanco visceral tiene el potencial de influir en el metabolismo del β A, el metabolismo de tau, la activación microglial y la neuroinflamación a través de varias vías, incluidos los ácidos grasos derivados del tejido adiposo blanco visceral, las propiedades inmunológicas del tejido adiposo blanco visceral, el ácido retinoico derivado del tejido adiposo blanco visceral, y resistencia a la insulina regulada por tejido adiposo blanco visceral. Abreviaturas: AD, Alzheimer's disease; $A\beta$, Amyloid β ; SFAs, saturated fatty acids; PUFAs, polyunsaturated fatty acids; MUFAs, monounsaturated fatty acids; FAHFA, fatty acid esters of hydroxy fatty acids; FASN, fatty acid synthase; RA, retinoic acid; CDK, cyclin-dependent kinase; NF- κ B, nuclear factor kappa B; RAR, retinoic acid receptor; Tregs, regulatory T cells; CCL, chemokine (CC-motif) ligand; CCR, CCL receptor; CX3CL1, C-X3-C motif chemokine ligand 1; NLRP, nucleotide binding domain leucine-rich repeats and Pyrin domain containing receptor; NKT, natural killer T; CXCR, chemokine (C-X-C motif) receptor [24].

El receptor gamma activado por el proliferador de peroxisoma (PPARG) es un receptor hormonal nuclear que regula la diferenciación de adipocitos. PPARG se expresa en células precursoras de adipocitos comprometidos, o "pre-adipocitos", y se activa aún más tras la diferenciación en adipocitos [25].

Chakraborty et al ^[26] identificaron niveles de diferenciación de clona (CD) 10 como un determinante positivo de la maduración de los adipocitos, así como del potencial de oscurecimiento del tejido adiposo humano. CD-10 regula la maduración adipogénica de tejido adiposo humano mediante la modulación de la lipólisis endógena sin afectar las vías adipogénicas del PPARG.

Es probable que la función mitocondrial anormal en el tejido adiposo blanco humano contribuya a la secreción de metabolitos lipídicos y lactato, que están relacionados con la resistencia a la insulina en los tejidos periféricos ^[27].

Giralt et al ^[28] identificaron complejos procesos de diferenciación celular que dan lugar a la aparición de adipocitos pardos activos. La aparición de estos adipocitos pardos inducibles en tejido adiposo blanco también puede implicar procesos de diferenciación de células adiposas de blanco a pardas.

La desdiferenciación, mediante la cual un adipocito maduro se revierte a un estado similar al de un progenitor indiferenciado, es un mecanismo subyacente a la plasticidad de los adipocitos ^[29]. Long et al ^[30] describieron que los adipocitos marrones pueden originarse a partir del músculo liso vascular. La expansión e inflamación del tejido adiposo blanco son características de la obesidad ^[31].

Bajo estrés de adipocitos blancos, la infiltración local de células inmunitarias y la producción mejorada de citoquinas proinflamatorias reducen la flexibilidad metabólica y conducen a la resistencia a la insulina en la obesidad ^[32].

En las últimas dos décadas ha quedado claro que el tejido adiposo es un órgano endocrino secretan una gran cantidad de factores con propiedades hormonales,

autocrinas y paracrinas (figura 2) [33]. Desde descubrimiento de la leptina en 1995, se ha establecido que tejido adiposo secreta moléculas bioactivas, incluidas hormonas que ahora se denominan adipocinas [34].

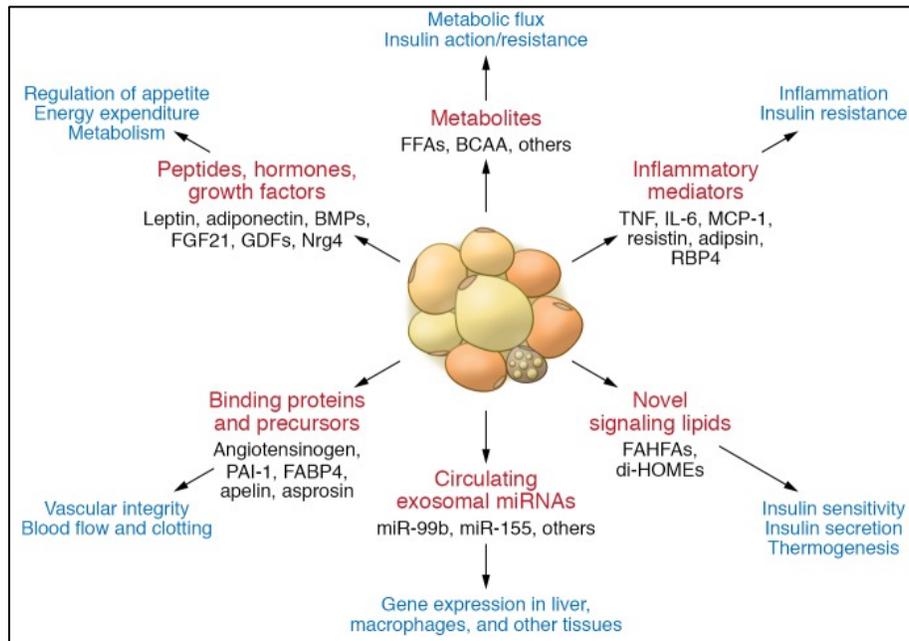


Figura 2. Hormonas adipocitarias en la comunicación entre tejidos. Diferentes clases de hormonas de adipocitos y sus variados efectos sobre el metabolismo y el desarrollo de sensibilidad o resistencia a la insulina. BCAA, aminoácidos de cadena ramificada; GDF, factor de diferenciación del crecimiento; Nrg4, neurorregulina 4 [33].

La secreción de adipocinas incluyen la leptina, adiponectina, factor de crecimiento de fibroblastos 21 (FGF21), proteína de unión a retinol 4 (RBP4), dipeptidil-peptidasa-4 (DPP-4), proteína morfogenética ósea 4 (BMP4), BMP-7, vaspina, la apelin y la progranulina [35, 36].

Las adipocinas protectoras son la adiponectina, factor de crecimiento de fibroblastos 21 (FGF-21), proteína 9 relacionada con el factor de necrosis tumoral C1q (CTRP9)

y progranulina, mientras que las adipocinas dañinas incluyen a la leptina, quemerina, resistina e interleucina-6 (IL-6) [37]. La obesidad y el síndrome metabólico se caracterizan por un aumento leptina, en paralelo a una disminución de los niveles sanguíneos de adiponectina. En consecuencia, la relación adiponectina/leptina ha sido sugerida como factor determinante de la disfunción del tejido adiposo [38].

En la obesidad, la función capilar no logra satisfacer la demanda de crecimiento del tejido adiposo, que lleva a amplificar la señal de hipoxia, promueve el gasto energético sistémico contra la obesidad, y en la etapa tardía, causa disfunción del tejido adiposo por resistencia a la insulina [39].

Spencer et al [40] demostraron por inmunohistoquímica para CD31 que el tejido adiposo de sujetos con obesidad tiene menos capilares y vasos más grandes en comparación con sujetos delgados.

2.2. MACRÓFAGOS DEL TEJIDO ADIPOSO

El tejido adiposo responde dinámicamente a las alteraciones en el exceso de nutrientes a través de la hipertrofia e hiperplasia de los adipocitos, seguido de una mayor angiogénesis, infiltración de células inmunitarias, sobreproducción de matriz extracelular y, por lo tanto, una mayor producción de adipoquinas proinflamatorias durante la progresión de la inflamación crónica [40].

Suganami et al [41] han proporcionado evidencia que sugiere que el almacenamiento reducido de lípidos en el tejido adiposo en obesidad contribuye a la acumulación

ectópica de lípidos en tejidos no adiposos como el hígado, el músculo esquelético y el páncreas, causando lipotoxicidad.

La remodelación del tejido adiposo es inducida por varias células del estroma y da como resultado el deterioro de la función del tejido adiposo [42]. También la remodelación del tejido adiposo implica la proliferación e hipertrofia de adipocitos, la infiltración de macrófagos y la interacción adipocitos-macrófagos [43]. El depósito excesivo de lípidos y la expansión de los adipocitos reducen potencialmente la flexibilidad de la matriz extracelular con hipoxia e inflamación locales. La hipoxia y la inflamación crónica de bajo grado aceleran el desarrollo de la fibrosis del tejido adiposo y las disfunciones metabólicas relacionadas [44, 45].

Los macrófagos del tejido adiposo representan la célula inflamatoria más abundante en el tejido adiposo, constituyendo el 5% de las células del tejido adiposo en individuos con peso normal. Sin embargo, este porcentaje se incrementa dramáticamente al 50% en los individuos con obesidad [46]. Algunos de estos macrófagos forman distintas estructuras y pueden tener una disposición en forma de corona alrededor de los adipocitos [47].

Los macrófagos del tejido adiposo están divididos en dos fenotipos principales; los clásicos macrófagos M1 y los macrófagos M2 activados. Los macrófagos M1 producen citocinas pro-inflamatorias [factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa), interleucina IL-6 y la proteína quimioatrayente de monocitos 1 (MCP-1)]. Por otro lado, los macrófagos M2, anti-inflamatorios, están involucrados en el mantenimiento de la homeostasis del tejido [48].

Existe evidencia considerable del papel fisiopatológico de la vía MCP-1/CCR2 (receptor 2 de la quimiocina cisteina-cisteina) en la infiltración de macrófagos en el tejido adiposo del individuo con obesidad. Además de la vía MCP-1/CCR2, existen varios informes que sugieren la participación potencial de otros factores quimiotácticos [49].

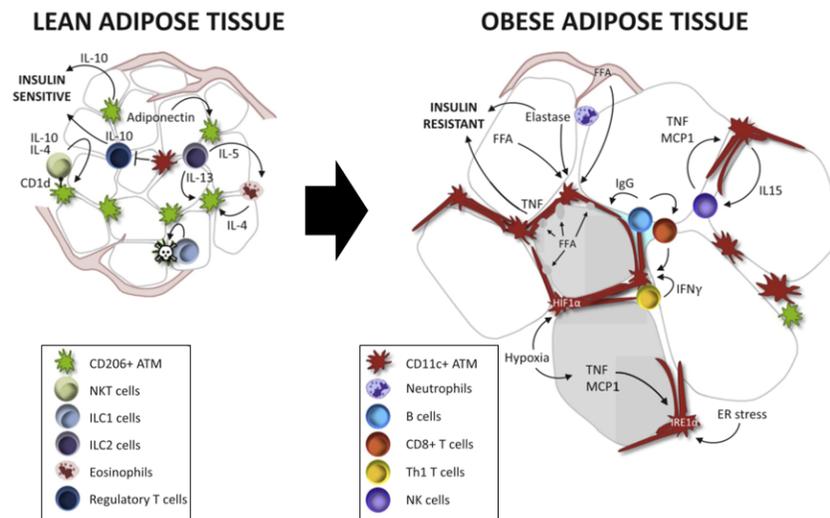


Figura 3. Polarización de los macrófagos del tejido adiposo. El adipocito influye en la polarización de los macrófagos. En el tejido adiposo normal, los adipocitos son sensibles a la insulina. Los adipocitos producen factores, incluida la adiponectina, para promover la activación alternativa de los cajeros automáticos CD206+ y, como respuesta, estos macrófagos del tejido adiposo producen citocinas beneficiosas, incluida la IL-10. Los macrófagos del tejido adiposo CD206+ presentan antígenos lipídicos a través de su receptor CD1d a las células T-NK, lo que estimula su proliferación y activación. A cambio, las células T-NK estimulan la polarización de CD206+ mediante la producción de IL-4 e IL-10. En el tejido adiposo sano, se ha demostrado recientemente que las células linfoides innatas tipo 1 eliminan a los macrófagos del tejido adiposo CD206+ dañados. Los eosinófilos y las células linfoides innatas tipo 2 trabajan juntos para estimular la polarización de M2 mediante la producción de IL-4 e IL-5/IL-13. En el tejido adiposo en obesidad, el panorama inmunitario cambia drásticamente con más células inmunitarias proinflamatorias. Además, los adipocitos son hipóxicos, resistentes a la insulina y estresados. Los macrófagos del tejido adiposo CD11c+ proinflamatorios se acumulan debido al aumento de los niveles de ácidos grasos libres, citocinas proinflamatorias, hipoxia y estrés del retículo endoplásmico. Además, las células B secretan IgG, especialmente alrededor en forma de corona, lo que estimula la polarización proinflamatoria de los macrófagos del tejido adiposo, junto con las células T CD8+ y las células T Th1 productoras de IFN-gamma. También se acumulan células NK, produciendo más mediadores proinflamatorios, incluidos TNF-alfa. También se ha descubierto que los macrófagos del tejido adiposo CD11c+ estimulan la acumulación y proliferación de células NK [51].

Suganami et al ^[50] demostraron un enlace paracrino que involucra ácidos grasos saturados y TNF-alfa derivados de adipocitos y macrófagos, que agrava la inflamación del tejido adiposo inducida por la obesidad ^[50].

Los macrófagos del tejido adiposo ayudan a mantener la homeostasis del tejido adiposo en estado estable al eliminar los adipocitos muertos. Sin embargo, el tejido adiposo cambia drásticamente durante la obesidad (figura 3) ^[51].

La secreción de citocinas y quimiocinas por los macrófagos puede llevar a la modificación del microambiente cerrando la brecha entre la respuesta inmune innata y adaptativa. La evidencia sugiere que la polarización de macrófagos son el pivote para la progresión de la enfermedad ^[52].

En estados de obesidad la polarización de los macrófagos cambia desde una razón 4:1 de macrófagos M2 a M1 en animales controles a una relación 1.2:1 en animales con obesidad, así que los macrófagos M1 son reclutados dentro del tejido adiposo ^[53].

Si bien el reclutamiento de macrófagos de los monocitos sanguíneos es un componente crítico de la generación de inflamación del tejido adiposo, nuevos estudios han revelado un papel para la proliferación de macrófagos del tejido adiposo en las primeras etapas de la obesidad ^[54].

En un modelo animal en los que se realizó ooforectomía bilateral con incremento en la ganancia de peso y de adiposidad, se observó que las hembras operadas tenían más macrófagos del tejido adiposo y colonias mieloides de médula ósea en comparación con las hembras controles. Se observaron también hallazgos similares

en ratones insensibles a los andrógenos; sin embargo, estos ratones tenían menos macrófagos del tejido adiposo CD11c+, lo que implica un papel en el desarrollo de los andrógenos en la mielopoyesis y la inflamación adiposa ^[55].

2.3. CAMBIOS CEREBRALES EN OBESIDAD

Las primeras descripciones sobre la relación entre la obesidad y el déficit cognitivo (aprendizaje, memoria, función ejecutiva y razonamiento abstracto) fue realizada por Elias et al ^[56] utilizando una muestra de 1,423 individuos del Framingham Heart Study. Los investigadores concluyeron que la disminución en el rendimiento cognitivo pasaba solo en hombres. Los hombres con obesidad e hipertensión se desempeñaron peor que los hombres que tenían solo obesidad o hipertensos.

Por otro lado, Deng et al ^[57] realizaron un estudio utilizando a 322,336 participantes del bio-banco del Reino Unido. Ellos determinaron que el riesgo de demencia era 22% mayor en la población con sobrepeso/obesidad ^[57].

Karlsson et al ^[58] utilizaron cohortes del Registro Sueco de Gemelos, encontraron que un radio cintura-cadera más alta de una desviación estándar en la mediana de edad se asoció con un riesgo de demencia en un 25% más alto después de los 65 años.

Bracke et al ^[59] analizaron un modelo de obesidad en ratones de 4 a 6 meses de edad. A esa edad, los ratones con obesidad tenían casi el doble del peso corporal que los controles, pero el volumen del cerebro 10% más pequeño.

Sui et al ^[60] realizaron experimentos en ratones con dieta rica en grasas. Ellos mostraron disfunción cognitiva, hiperfosforilación significativa de la proteína tau y piroptosis neuronal en el hipocampo en comparación con los ratones control.

Similarmente, Towers et al ^[61] evaluaron la actividad de caspasa 1 en el cerebro de ratones mediante histoquímica y análisis de imágenes. Encontraron que los ratones con dieta alta en grasas, en comparación con los ratones con dieta baja en grasas, aumentó la actividad de caspasa 1 en la amígdala y, en particular, en los núcleos basolaterales posteriores en 2.5 veces y 4.6 veces.

Zhang et al ^[62] realizaron un análisis estructural y análisis de morfología basada en vóxeles en 42 individuos con obesidad y 33 individuos con peso normal. En el grupo de obesidad se encontró reducción de volumen en el giro parahipocámpico izquierdo, corteza orbitofrontal izquierda y el área motora suplementaria bilateral.

Taki et al ^[63] por su parte, analizaron a 1428 individuos japoneses sanos mediante la aplicación de análisis volumétrico y morfometría basada en vóxeles del cerebro. Su análisis volumétrico reveló una correlación negativa significativa en los hombres, aunque no en las mujeres, entre el IMC y la relación de sustancia gris; además, en los hombres, el volumen de materia gris regional de las circunvoluciones frontales inferiores bilaterales, lóbulo posterior del cerebelo, lóbulos frontales, lóbulos temporales, los tálamos y el núcleo caudado mostraron correlaciones positivas significativas con el IMC.

En una revisión sistemática ^[64] sobre la asociación entre la obesidad y el volumen de materia gris mediante morfometría basada en vóxeles, en la que incluyeron 34

publicaciones, se encontró que la mayoría de los estudios muestran una asociación negativa entre la obesidad y el volumen de sustancia gris.

En un metaanálisis ^[65] con 21 estudios sobre obesidad y morfometría basada en vóxeles, incluyendo a 5,882 participantes de 18 a 92 años; encontraron que la obesidad se asoció consistentemente con un menor volumen de materia gris en áreas que incluyen la corteza prefrontal medial, el cerebelo bilateral y el polo temporal izquierdo.

De acuerdo con los análisis de meta-regresión de Li et al ^[66], se reveló que el volumen de sustancia gris en la circunvolución occipital media izquierda se correlacionó negativamente con el índice de masa corporal. La circunvolución occipital, una región clave para la codificación visual y gustativa de los alimentos. Estos resultados proporcionan más evidencia del circuito de recompensa desregulado en personas con sobrepeso/obesidad.

2.4. MICROGLIA Y ENFERMEDADES CEREBRALES

El mantenimiento de la función cognitiva normal es un proceso complejo que involucra la coordinación de la función neuronal con múltiples células de la glia. La obesidad altera la función glial, lo que conduce a una falta de respuesta a las demandas de energía de las neuronas ^[67]. La microglia altera su estructura y función en respuesta a las señales proinflamatorias de la circulación; otras células que forman el parénquima cerebral, incluidos los astrocitos, los oligodendrocitos y las

neuronas, también alteran su estructura y función en respuesta a señales proinflamatorias [68].

Se diferencia de otros tipos de células en el cerebro en que no se derivan del tubo neural, sino de macrófagos primitivos en el saco vitelino, y no simplemente de la médula ósea, como se sugirió originalmente [69].

La microglia en el sistema nervioso central generalmente se mantiene en un estado de reposo. Cuando se activan, pueden realizar muchas funciones diversas que pueden ser beneficiosas o perjudiciales según la situación [70]. Mantiene el entorno del nicho neurogénico a través de su capacidad fagocítica e interacción con las neuronas [71]. La función de la microglia está estrictamente regulada por el microambiente del sistema nervioso central, alteraciones como la neurodegeneración y el envejecimiento, pueden tener profundas consecuencias para su fenotipo y su función [72].

Esta puede adoptar un fenotipo aberrante, a veces denominado distrófico o senescente. Si bien la microglia envejecida se ha identificado con frecuencia en enfermedades neurodegenerativas, no hay evidencia concluyente que demuestre un papel causal [73].

En un estudio de Chen et al [74] se determinaron que los perfiles de expresión génica hipotalámica tienen cambios inducidos por la dieta específicos de la región y del sexo. En el hipotálamo, la dieta alta en grasas resultó en una disminución de la proporción de macrófagos similares a M2 CD206+ del 0.58% de todas las células al 0.13%. La proporción de macrófagos proinflamatorios CD11c+ PDL1+ M1 aumentó

del 0.7 al 2.3 %, mientras que el porcentaje de Receptor desencadenante expresado en células mieloides 2 macrófagos de tejido adiposo CD11c+CD36+ aumentó del 0.23 al 0.45 %, lo que no fue significativo.

La secuenciación de ARN en un modelo de Alzheimer reveló un nuevo tipo de microglia (la microglia asociada a enfermedad neurodegenerativa). Estas células son células fagocíticas asociadas a la enfermedad de Alzheimer conservadas en ratones y humanos; se activan secuencialmente por vías dependientes o independientes del receptor desencadenante expresado en células mieloides 2 (TREM2) (figura 4) ^[75].

Las enfermedades neurodegenerativas se caracterizan por la despoblación neuronal en regiones específicas del sistema nervioso central. La neuroinflamación mediada por microglia es una característica común de las enfermedades neurodegenerativas, y varios mediadores inflamatorios liberados por la microglia M1 están involucrados en la patogenia de la neurodegeneración y la lesión de la mielina en estas enfermedades (figura 5) ^[76].

Los hallazgos de Cope et al ^[77] mostraron una relación entre el deterioro cognitivo asociado a la obesidad y la disminución de la densidad de las espinas dendríticas, sitios primarios de sinapsis excitatorias. La restauración de la densidad de la columna dendrítica en ratones con obesidad a los valores de control con el tratamiento con minociclina se asoció con la restauración de la función cognitiva. Es probable que la pérdida de sinapsis en el hipocampo contribuya al deterioro cognitivo inducido por la obesidad.

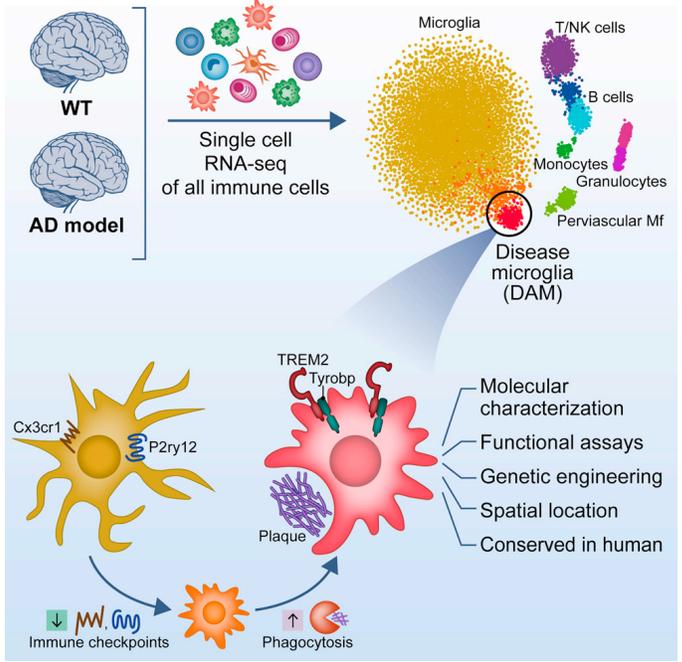
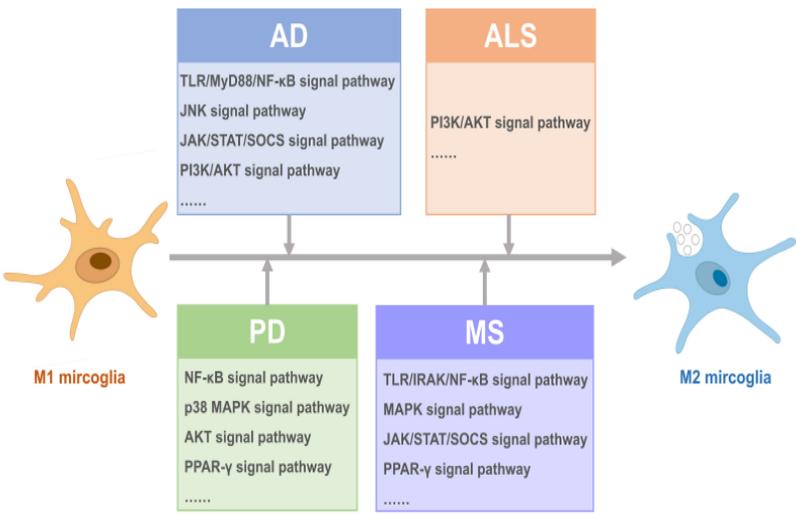


Figura 4. Nuevo tipo de microglia asociada a con enfermedades neurodegenerativas. La secuenciación de ARN de una sola célula de un modelo de Alzheimer fue identificada como un nuevo tipo de microglia. Ésta es una célula fagocítica asociada a la enfermedad de Alzheimer conservadas en ratones y humanos. Se activan secuencialmente por vías independientes y dependientes de Trem2. La activación de ellas requiere una falta de regulación de las vías de punto de control inhibitor de la microglia [75].

Figura 5. Rutas de señalización activadas para la polarización de la microglia de M1 a M2 en diferentes enfermedades neurodegenerativas [76].



2.5. MICROBIOMA Y OBESIDAD

En los últimos diez años, el microbiota intestinal ha sido identificada como un actor crucial que afecta el inicio y la progresión de la obesidad y las enfermedades relacionadas con ésta, especialmente con respecto a los cambios en su composición y los metabolitos durante la progresión de la obesidad [78]. Además, el microbioma intestinal puede regular el metabolismo, la adiposidad, la homeostasis y el equilibrio energético, así como el apetito central y la señalización de la recompensa alimentaria, que en conjunto tienen funciones cruciales en la obesidad [79]. Con la evidencia actual no está claro qué perfil de microbiota se asocia a la presencia de obesidad. Otros factores claramente implicados serían la diversidad del microbioma intestinal o sus posibles cambios funcionales [80]. El funcionamiento alterado del microbioma puede cambiar el funcionamiento de la barrera intestinal y al tejido linfoide asociado al intestino (GALT) al permitir el paso de componentes estructurales de bacterias, como los lipopolisacáridos (LPS), que activan vías inflamatorias que pueden contribuir al desarrollo de resistencia a la insulina [81]. La teoría de una mayor recolección de energía por parte del "microbioma de la obesidad" está respaldada por el hallazgo de una mayor producción de ácidos grasos de cadena corta en el ciego de ratones con obesidad y una disminución del contenido de energía fecal en comparación con sus contrapartes magras [82].

2.6. RELACIÓN ENTRE APOPTOSIS, DIETA RICAS EN GRASAS Y OBESIDAD EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

Moraes et al ^[83] demostraron en un modelo en ratones que el consumo de grasas en la dieta induce la apoptosis de las neuronas y una reducción de las entradas sinápticas en el núcleo arqueado y el hipotálamo lateral. En este mismo sentido, Nakandakari et al ^[84] investigaron los efectos de la alimentación dieta rica en grasas a corto plazo en el hipocampo de ratones. Los ratones alimentados con dieta rica en grasas aumentaron el contenido de proteínas de β -amiloide, pTau, TNF-alfa, IL1 β , caspasa 3, y genes relacionados con el Alzheimer. Similarmente, Xu et al ^[85] exploraron el efecto de la sobrealimentación rica en grasas a corto plazo en ratones y evaluaron proteínas apoptóticas, IL-1 β , APP, BACE1 y MAPK, Akt y la actividad de señalización de NF-kappaB mediante Western blot; los resultados demostraron que un período corto de sobrenutrición rica en grasas promueve significativamente la apoptosis, la expresión de la proteína precursora de amiloide en el día 21 de la corteza cerebral y en el día 7 del cerebelo en comparación con la dieta baja en grasas.

Lyu et al ^[86] evaluaron alteración transcriptómica de las neuronas con proopiomelanocortina en el núcleo arcuato del hipotálamo en ratones con dieta alta en grasas. En total, 1066 genes (628 regulados al alza y 438 regulados a la baja) se identificaron como genes expresados diferencialmente. El análisis reveló que las vías del "ciclo celular", la "apoptosis", la "señalización de quimiocinas" y el "metabolismo de los esfingolípidos" se correlacionaron con el desarrollo de obesidad inducida por la dieta.

Qin et al ^[87] evaluaron el papel de la señalización de SHH en los déficits cognitivos en ratones con obesidad inducidos por una dieta rica en grasas. Después de la alimentación con dieta rica en grasas durante 24 semanas, la expresión de las moléculas de señalización de SHH se reguló a la baja en el hipocampo del ratón, con lo que ellos sugieren que la regulación a la baja de la señalización de SHH del hipocampo conduce a la apoptosis neuronal y a los déficits cognitivos.

Hou et al ^[88] evaluaron la función de protección de la mezcla mejorada con ginsenósido F1 en un modelo de ratón con una dieta alta en grasas durante 3 meses con o sin administración del ginsenósido F1. El ginsenósido F1 suprimió selectivamente el estrés oxidativo inducido por dietas ricas en grasas y la senescencia celular en el cerebro, y también redujo las respuestas inflamatorias posteriores manifestadas por la supresión de IL-6, IL-1 β y TNF-alfa a través de la vía de señalización del factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NF-kappaB).

Shruthi et al ^[89] investigaron el efecto de la restricción dietética sobre la muerte celular neuronal inducida por la obesidad en un modelo de rata. En la corteza cerebral observaron alteraciones en el sistema proteosoma ubiquitina, aumento del estrés del retículo endoplásmico, disminución de la autofagia y aumento de la expresión de α -sinucleína, p53 y BAX en ratas con obesidad. La restricción dietética alivió estos cambios en obesidad en ratas; concluyeron que la restricción dietética en ratas con obesidad podría no solo restaurar las anomalías metabólicas sino también preservar la salud neuronal en la corteza cerebral.

2.7. MUERTE CELULAR Y APOPTOSIS

La muerte celular es un proceso fisiológico fundamental en todos los organismos vivos. Sus funciones se extienden desde el desarrollo embrionario, el mantenimiento de órganos y el envejecimiento hasta la coordinación de las respuestas inmunitarias y la autoinmunidad ^[90].

La red de control de la apoptosis incluye varios momentos de retroalimentación positiva que pueden permitir que la ésta se propague a través del citoplasma ^[91].

Antes se creía que la muerte celular era el resultado de uno de dos procesos distintos, apoptosis (también conocida como muerte celular programada) o necrosis (muerte celular descontrolada) ^[92].

Otros tipos de muerte celular corresponden a oncosis, necroptosis, parthanatos, ferroptosis, sarmoptosis, muerte celular autofágica, autólisis, paraptosis, piroptosis, fagoptosis y transición de permeabilidad mitocondrial ^[93].

La complejidad de la apoptosis ha sido el foco de una serie de investigaciones, acumulando una gran cantidad de conocimiento que ha conducido no solo a una mejor comprensión del proceso fundamental, sino también a potentes terapias de enfermedades ^[94].

Las caspasas humanas son una familia de 12 cisteína proteasas determinantes del destino que son más conocidas por impulsar la muerte celular. Hasta ahora se han identificado miles de posibles sustratos de caspasa ^[95].

El término caspasa deriva de “cysteine-dependent aspartate-specific protease” ^[96].

Las caspasas son una clase de endopeptidasas específicas del ácido aspártico. La activación de las caspasas generalmente ocurre como resultado de cascadas de señalización intracelular complejas, con múltiples "controles y equilibrios" para evitar su activación inapropiada [97].

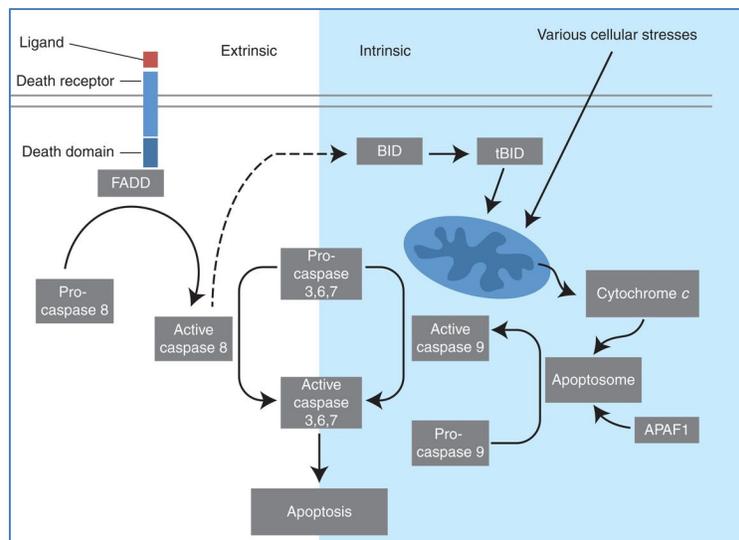


Figura 6. Vía intrínseca y extrínseca de la apoptosis. La vía de extrínseca apoptosis se activa mediante la unión de un ligando a un receptor de muerte, que a su vez conduce, con la ayuda de las proteínas adaptadoras (FADD/TRADD), al reclutamiento, dimerización y activación de caspasa 8. La caspasa 8 activa inicia la apoptosis directamente mediante la escisión y, por lo tanto, activa la caspasa ejecutora (caspasa 3, 6, 7), o activa la vía apoptótica intrínseca a través de la escisión de BID para inducir una muerte celular eficiente. La vía intrínseca de apoptosis o mitocondrial puede activarse a través de diversas tensiones celulares que conducen a la liberación de citocromo c de las mitocondrias y la formación del apoptosoma, compuesto por APAF1, citocromo c, ATP y caspasa 9, lo que da como resultado la activación de caspasa 9. La caspasa 9 activa luego inicia la apoptosis mediante la escisión y, por lo tanto, activa las caspasas ejecutoras [98].

En los vertebrados, al menos dos tipos de caspasas están involucradas en la apoptosis: caspasas ejecutoras (en mamíferos, caspasas 3, 6 y 7) y caspasas iniciadoras (en mamíferos, caspasas 8 y 9). Otro tipo de caspasa, relacionado con las caspasas iniciadoras, incluye caspasas inflamatorias (en humanos, caspasas 1, 4 y 5; en roedores, caspasas 1 y 11). Las caspasas adicionales (en mamíferos,

caspasas 2, 10, 12 y 14, entre otras) son más difíciles de ubicar en una de estas categorías y sus funciones son menos conocidas [98].

2.7.1. CASPASA 1

La caspasa 1 es la primera caspasa estudiada desde 1989 y claramente caracterizada en 1992 después de realizar la secuenciación genética [99]. La caspasa 1, anteriormente conocida como enzima convertidora de interleucina 1 (IL-1) se considera como la proteasa responsable del procesamiento de la citocina proinflamatoria clave IL-1 β de un precursor inactivo a una molécula secretada activa [100]. Se activa a través del ensamblaje del inflamasoma. El inflamasoma es una formación citosólica de un complejo multiproteico que tiene como objetivo iniciar una respuesta inflamatoria frente a infecciones o daños celulares [99].

La caspasa 1 no escinde pro-IL-1 α ; en cambio, una proteasa de la familia de las calpaínas puede procesar la IL-1 α . Se cree que ésta escinde el inhibidor de calpaína endógeno calpastatina y, por lo tanto, estimula el procesamiento mediado por calpaína y la liberación de IL-1 α madura. La caspasa 1 tiene un papel esencial en la maduración del factor inductor de interferón gamma (IFN-gamma) [101].

Hay evidencia que sugiere que esta caspasa tiene funciones alternativas a las de respuestas inflamatorias, pues tiene influencia en otros tipos de células, como en los epitelios, ya que pueden servir para restaurar la homeostasis tisular después de un estrés importante, incluida la infección y la lesión estéril [102].

La caspasa 1 también respalda la supervivencia celular mediante la activación de NF-kappaB, la inducción de la reparación de la membrana y la regulación de la secreción no convencional de ciertas proteínas. Sin embargo, cada vez hay más pruebas de que la caspasa 1 contribuye a los mecanismos de defensa inmunológicos innatos y adaptativos, la reparación y las condiciones patológicas mediante la regulación de varias vías diferentes y parcialmente opuestas [103]. La caspasa 1 se dirige a los sustratos que están involucrados en diferentes vías metabólicas, incluido el metabolismo de los lípidos (absorción de lípidos, transporte de lípidos, lipogénesis, lipólisis y β -oxidación) (figura 7) [104].

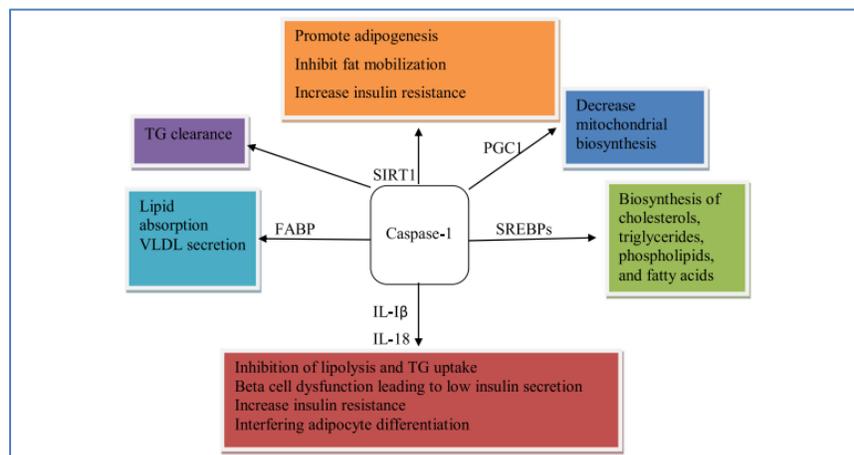


Figura 7. Efecto de la caspasa 1 en el metabolismo de los lípidos [104].

Se ha demostrado también que esta caspasa regula un nuevo modo de muerte celular que luego se definió como piroptosis. Desde entonces, también se ha informado que el inflamasoma, las caspasas inflamatorias (caspasa 4, 5, 11) y sus sustratos gasderminas están involucrados en la vía piroptótica [105].

2.7.2. CASPASA 3

La caspasa 3 tiene funciones en la diferenciación de tejidos, la regeneración y el desarrollo neural [106]. Un desequilibrio en los niveles medidos de caspasa 3 está implicado en la apoptosis irreversible [107]. La caspasa 3 es un miembro ampliamente expresado de una familia de proteínas conservadas, con funciones proteolíticas activadas que responden a inductores extrínsecos o intrínsecos específicos de la apoptosis (figura 8) [108]. Se ha reportado un aumento de la expresión de ARNm y de caspasa 3 en el hipocampo en un modelo de lesión por reperfusión/isquemia cerebral [109].

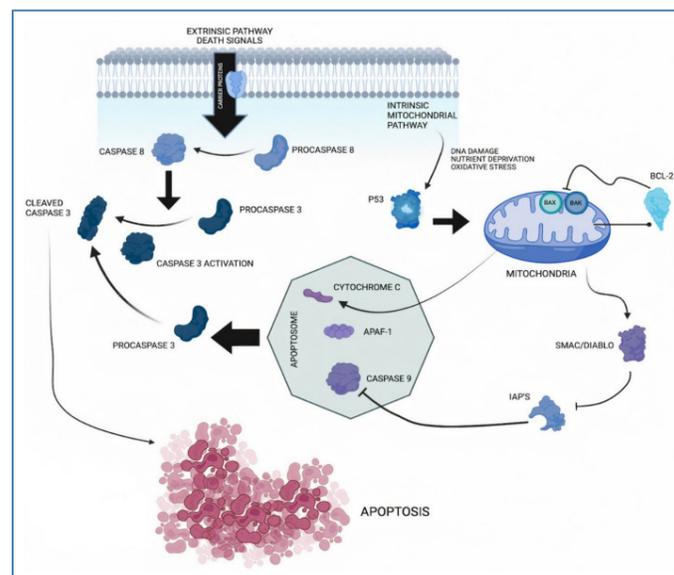


Figura 8. **Vía de la caspasa 3.** El proceso apoptótico puede desencadenarse por señales intrínsecas o extrínsecas que conducen a un resultado común. La vía extrínseca puede activarse cuando los ligandos de muerte se unen a su receptor de muerte correspondiente. Tras la unión del ligando, se recluta una proteína adaptadora. Esto conduce a la activación de la caspasa 8. La vía intrínseca se inicia mediante procesos intracelulares patológicos, como daño en el ADN, privación de nutrientes o estrés oxidativo. Los niveles elevados de proteínas proapoptóticas como Bax o Bak (de la familia de proteínas Bcl-2) también pueden estar asociados con esta activación. Esto desencadena la liberación de citocromo c de las mitocondrias, que luego se une y activa la proteína activadora de la proteasa de apoptosis 1 (Apaf-1), que a su vez se une y activa la caspasa 9. La caspasa activa 8 o caspasa 9 desencadena la escisión de la caspasa 3 a través de su proenzima. Para que se produzca la apoptosis, las proteínas Smac/Diablo deben inactivar las proteínas inhibidoras de la apoptosis [108].

2.7.3. CASPASA 4/11 (CASPASA 4 EN HUMANOS O CASPASA 11 EN MODELOS MURINOS)

La caspasa 4 es una caspasa inflamatoria; sin embargo, su mecanismo de activación es poco conocido ^[110].

La respuesta inmune innata al lipopolisacárido es esencial para la defensa del huésped contra las bacterias Gram negativas. El lipopolisacárido de bacterias que se somete a endocitosis o el lipopolisacárido citosólico producido por bacterias intracelulares es reconocido por las proteasas citosólicas caspasa 4/11 y alberga proteínas de unión a guanilato (GBP) que participan en el ensamblaje y la activación del inflammasoma NLRP3 ^[111]. En respuesta a las bacterias que invaden el citosol, la activación de la caspasa 4 a través de la plataforma GBP es esencial para inducir la piroptosis dependiente de gasdermina-D y el procesamiento de la interleucina-18, lo que destruye el nicho de replicación de las bacterias intracelulares y alerta a las células vecinas ^[112]. No está claro cómo la caspasa 4 detecta factores endógeno derivado del huésped. desencadenantes de la piroptosis en enfermedades no infecciosas ^[113]. Recientemente, Xu et al ^[114] descubrieron un nuevo mecanismo de piroptosis dependiente del gen de la gandesmina E, que fue inducida por el ensamblaje del piroptosoma Apaf-1/caspasa 4 activado por la transición de permeabilidad mitocondrial.

2.7.4. CASPASA 6

La caspasa 6 está categorizada como una caspasa ejecutora. Se sabe poco sobre las funciones de esta caspasa en los procesos biológicos aparte de la apoptosis [115]. Por Western blot se ha demostrado una expresión ubicua de caspasa 6 en la mayoría de los tejidos fetales [116]. Por inmunohistoquímica, en los tejidos adultos, los niveles de caspasa 6 son más bajos que en los tejidos fetales. Sugiriendo que la caspasa 6 es probablemente importante en la mayoría de los tejidos durante el desarrollo temprano, pero está menos involucrada en los tejidos adultos [116].

La caspasa 6 tiene otras funciones no asociadas a la apoptosis, como modificar la entrada al ciclo celular, regula la activación y diferenciación de las células B en células plasmáticas; además, desempeña funciones en la activación de macrófagos impulsada por neutrófilos polimorfonucleares [117]. Induce también la degeneración axónica en cultivos de neuronas primarias humanas, causa inflamación y neurodegeneración en el hipocampo de ratón, y deterioro de la memoria dependiente de la edad [118].

2.7.5. CASPASA 8

La caspasa 8 es una cisteína proteasa específica de aspartato, mejor conocida por sus funciones apoptóticas [119]. Los modelos clásicos en los que esta caspasa se agota o se inhibe con frecuencia dan como resultado la inhibición de la apoptosis y la conversión a la muerte a través de una vía necrótica [120].

Hay evidencia emergente que indica que el precursor de la caspasa 8, la procaspasa 8, tiene una función importante en la adhesión y migración celular. Su fosforilación por c-src controla estas funciones al evitar la conversión de procaspasa en caspasa [121]. La caspasa 8 activada puede impulsar la apoptosis clásica dependiente de caspasa e inhibe activamente la muerte celular mediada por la necroptosis impulsada por el receptor de interacción de serina/treonina - cinasa 3 (RIPK3) [122].

Durante la última década, el concepto de funcionamiento de la caspasa 8 ha cambiado por los descubrimientos de sus funciones adicionales en diversos procesos biológicos [123]. Puede mediar en las vías apoptóticas endógenas. La caspasa 8 también puede participar en la escisión de las proteínas de la familia gasdermina (GSDM) para inducir la piroptosis. Además, la expresión de esta caspasa enzimáticamente inactiva (C362S) puede causar letalidad embrionaria y destrucción de tejido inflamatorio en ratones al inducir necroptosis y piroptosis [124]. La caspasa 8 es una proteasa con funciones pro-muerte y pro-supervivencia: media la apoptosis inducida por receptores de muerte como el receptor 1 del TNF-alfa y suprime la necroptosis mediada por la cinasa RIPK3 y la pseudocinasa MLKL [125].

Cada vez es más claro que tiene muchas funciones no apoptóticas, participando en múltiples procesos que incluyen la regulación de la necroptosis, la expresión de citoquinas inflamatorias, la activación del inflamasoma y la escisión de IL-1 β y gasdermina D, y protección contra el estado de choque y la infección microbiana [126].

2.7.6. CASPASA 9

La caspasa 9 es una caspasa iniciadora bien conocida que desencadena la apoptosis intrínseca. Estudios recientes también sugieren varias funciones no apoptóticas, incluida la regulación de macroautofagia/autofagia [127].

La cisteína aspartil proteasa caspasa 9 juega un papel central en la ruta apoptótica mitocondrial o intrínseca que se involucra en respuesta a muchos estímulos apoptóticos. Se activa en un gran complejo multimérico, el apoptosoma, que se forma con el factor 1 activador de la peptidasa apoptótica (Apaf-1) en respuesta a la liberación de citocromo c de las mitocondrias. Una vez activada, escinde y activa las caspasas efectoras 3 y 7 para provocar la apoptosis. Esta vía está estrictamente regulada en múltiples pasos, incluida la formación de apoptosomas y la activación de caspasa 9 [128, 129, 130].

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El sobrepeso/obesidad es una enfermedad con alta prevalencia en nuestro país y a nivel mundial, se presenta en la edad pediátrica y adulta. Tiene gran repercusión en múltiples órganos y sistemas, siendo parte del síndrome metabólico. Las evaluaciones y repercusiones son estudiadas desde el punto de vista de somatometría, estudios de laboratorio, así como las evaluaciones de las complicaciones.

La extensa mayoría de la información acerca de las repercusiones neurobiológicas de la enfermedad se basa en modelos animales donde las variables están más controladas por los investigadores. Los estudios en tejido humano son limitados y mucho más los realizados con encéfalos humanos, ya que las limitaciones éticas al ser estudios con riesgo mayor al mínimo impiden la evaluación de tejido cerebral mediante biopsia en individuos vivos. Desafortunadamente los estudios post-mortem se han ido reduciendo en la mayoría de los hospitales por múltiples motivos. Además, los cambios observados post-mortem pueden ser multifactoriales, por lo que solo podemos sugerir que se trate de factor de asociación. Teniendo un pensamiento holístico, podemos considerar que la obesidad es una pequeña pieza entre múltiples sistemas y los cambios que ésta provoca puede repercutir a una o varias piezas en uno o varios sistemas; algunos de los estos cambios han sido ampliamente evaluados y hay otros que siguen sin ser considerados.

Considerando a posibilidad de que la obesidad tenga repercusiones en el cerebro se ha evaluado mediante pruebas cognitivas y mediante evaluación indirecta por estudios de imagen, pero la evaluación microscópica de la corteza cerebral ha sido muy limitada. Nosotros hace algunos años evaluamos la corteza cerebral en sujetos con sobrepeso/obesidad y encontramos reducción en el espesor de la corteza y reducción en la cantidad de somas neuronales, que son relativamente proporcionales al incremento del índice de masa corporal ^[131]. La vía en la que se reducen los somas neuronales puede ser variable entre todas las formas de muerte celular, por lo que es una responsabilidad el tratar de descifrar la causa y vía de muerte neuronal asociados a sobrepeso/obesidad.

Por lo que la pregunta de investigación es la siguiente:

¿El menor volumen de sustancia gris o el menor grosor cortical (quizás por pérdida neuronal) en encéfalos de sujetos con sobrepeso/obesidad está asociada a la muerte celular mediada por apoptosis, con incremento de las caspasas de la vía intrínseca y extrínseca?

4. HIPÓTESIS

Hipótesis nula: Sujetos con sobrepeso/obesidad presentarán una expresión inmunohistoquímica de las caspasas similar a encéfalos de sujetos sin obesidad en el estudio post-mortem de la corteza cerebral.

Hipótesis alternativa: Sujetos con sobrepeso/obesidad tendrán un significativo incremento en la expresión inmunohistoquímica para caspasas en comparación con los encéfalos de sujetos sin obesidad, en particular un incremento de las caspasas ejecutoras, en el estudio post-mortem de la corteza cerebral.

5. JUSTIFICACIÓN

La obesidad es un problema de salud pública mundial, siendo el principal factor para síndrome metabólico y muchas otras enfermedades más. En México, de acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2021, la prevalencia

nacional de sobrepeso y obesidad en población de 20 o más fue de 72.4% (75% en mujeres y 69.6% en hombres) [132].

Para nosotros, la justificación principal de este proyecto de investigación es la generación de conocimiento básico sobre la interacción obesidad y muerte neuronal cortical.

Con lo anterior, buscamos determinar si hay indicios de muerte celular por apoptosis, y en caso de estar presentes, determinar las caspasas activadas y la vía utilizada; esto debido a existen actualmente algunos fármacos que son capaces de inhibir algunas caspasas específicas.

6. OBJETIVOS

General.

- Describir la expresión inmunohistoquímica de componentes de la apoptosis en tejido cerebral post-mortem de la corteza cerebral frontal de individuos con sobrepeso/obesidad.

Específicos.

- Determinar la cantidad promedio de expresión positiva de anticuerpos anti-caspasas 1, 3, 4, 6, 7,8 y 9 en el tejido cerebral humano de mosaicos de imágenes tomadas de cortes de corteza frontal de individuos con y sin sobrepeso/obesidad.
- Comparar la expresión inmunohistoquímica de caspasas de muestras de tejido cerebral de donadores con y sin sobrepeso/obesidad.

7. DISEÑO DEL ESTUDIO

Analítico, transversal, descriptivo y comparativo.

8. SUJETOS DE ESTUDIO

Cerebros colectados del Servicio de Patología Posmortem de la Unidad de Anatomía Patológica del Hospital General de México “Dr. Eduardo Liceaga”, de individuos con sobrepeso/obesidad y sin obesidad durante un periodo de dos años obtenidos previamente para el estudio realizado durante la Maestría en Ciencias Médicas. El cálculo del tamaño de la muestra se realizó con el software G*Power 3.1 (<https://www.psychologie.hhu.de/arbeitsgruppen/allgemeine-psychologie-und-arbeitspsychologie/gpower>) utilizando tamaño del efecto de la diferencia de medias del número de neuronas entre donantes con obesidad/sobrepeso y los donantes con peso normal de Gómez-Apo et al ^[131]. Basado en un tamaño de efecto d de Cohen de 1.51, una proporción de 1:1 entre los tamaños de muestra de los dos grupos, una tasa de error de tipo I de una cola de 0.05 y potencia (probabilidad de error $1-\beta$) de 0.85, se obtuvieron 8 casos y 8 controles.

9. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Los casos incluidos en el estudio para el grupo de sujetos sin obesidad o peso normal tuvieron las siguientes características:

- Individuos de 15 a 70 años.
- Individuos de ambos sexos.
- Individuos con IMC menor o igual a 25 kg/m².
- Autorización de estudio de necropsia médica clínica hospitalaria.

Los casos incluidos en el estudio para el grupo de sujetos con sobrepeso/obesidad tuvieron los criterios arriba expuestos, pero también:

- Individuos con índice de masa corporal mayor a 25 kg/m².

10. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Se excluyeron del estudio todos los casos con diagnóstico clínico de:

- Causa de muerte medicolegal.
- Esquizofrenia.
- Autismo.
- Malformaciones congénitas en sistema nervioso central.
- Enfermedad neurológica o psiquiátrica.
- Neoplasia primaria o secundaria en sistema nervioso central.
- Individuos con antecedente de cirugía en sistema nervioso central.
- Síndrome de Cushing.
- Síndrome de Prader-Willi.
- Embarazo.

11. VARIABLES

Se describen y definen las variables independientes y dependientes en la tabla 1 y

2.

Tabla 1. VARIABLES INDEPENDIENTES

Variable	Definición conceptual	Definición operativa	Tipo de escala
Edad	Tiempo transcurrido a partir del nacimiento de un individuo.	Edad expresada en años.	Cuantitativa Continua.
Género	Condición biológica.	Masculino. Femenino.	Cualitativa Nominal.
Índice de masa corporal	El índice de Quetelet (IMC = kg/m ²).	IMC normal= 18.5-24.99 (kg/m ²) IMC sobrepeso/obesidad= ≥ 25.00 (kg/m ²)	Cualitativa Nominal.

Tabla 2. VARIABLES DEPENDIENTES:

Variable	Definición conceptual	Definición operativa	Tipo de escala
Caspasa 1, 3, 4, 6, 8 y 9	Expresión inmunohistoquímica en 64 campos consecutivos de la corteza cerebral del lóbulo frontal	Media del porcentaje de expresión inmunohistoquímica de 64 campos en seco fuerte evaluados con ImageJ	Cuantitativa Continua

12. MATERIAL Y MÉTODOS

Cortes seriados de tejido incluido en parafina se procesaron usando anticuerpos policlonales primarios anti-rata contra caspasas seleccionadas (anti-caspasa 3, anti-caspasa 4, anti-caspas-6 [Sino Biologicals Co.]; anti-caspasa 1, anti-caspasa 8, anti-caspas-9 [Santa Cruz Co.]).

El procedimiento de inmunohistoquímica se desarrolló mediante la técnica manual de inmunoperoxidasa, con una olla a presión eléctrica BioSB®, una gradilla Sequenza® y un kit de inmunohistoquímica BioSB®.

Las secciones de parafina de 2 micrómetros se desparafinaron, se rehidrataron y se trataron con ImmunoDNA Background Blocker BIOSD Co. durante diez minutos. Las secciones se incubaron durante 60 minutos a temperatura ambiente con el anticuerpo primario. Posteriormente, las secciones se incubaron con un anticuerpo biotinilado de segunda etapa a temperatura ambiente. Después de enjuagar con solución salina tamponada con fosfato (PBS), los productos de reacción se visualizaron sumergiendo las secciones en diaminobencidina. Finalmente, las secciones se contrastaron con hematoxilina, se deshidrataron y se cubrieron con un cubreobjetos utilizando Ecomount (Biocare®).

Los anticuerpos de inmunohistoquímica fueron adquiridos mediante el Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT IN217219) de la Universidad Nacional Autónoma de México.

12.1. ADQUISICIÓN DE IMÁGENES

Se realizó un examen microscópico de la expresión de diferentes anticuerpos de inmunohistoquímica en los 16 casos. Se tomaron fotografías de sesenta y cuatro campos representativos no superpuestos y aleatorios del tejido cerebral (cresta de corteza cerebral frontal derecha). Fueron fotomicrografías de campo en seco fuerte (400X), utilizando microscopio Olympus® modelo CX-31; adaptador Olympus® E330-ADU 1.2X, y cámara Olympus® modelo E-620.

Las imágenes capturadas se transfirieron a una computadora para un análisis de imágenes. La evaluación fotográfica se realizó utilizando el software ImageJ (NIH), versión 1.53a (Institutos Nacionales de Salud, Bethesda, MD, EE.UU.). El balance de blancos se ajustó para cada fotografía.

Se utilizó el plugin ImmunoRatio, que es un complemento del software ImageJ, para evaluar secciones de tejido con reacción de inmunohistoquímica. Este plugin permite contabilizar el porcentaje de células con positividad citoplasmática respecto al total de núcleos detectados. Las 64 fotografías se colocan en la barra de herramientas de ImageJ. El software realiza un cálculo del porcentaje de expresión positiva respecto al número de núcleos. El porcentaje se calculó primero por fotografía individual y luego se calcula una media de las 64 fotos. Esta es la media de expresión de caspasa (figura 9).

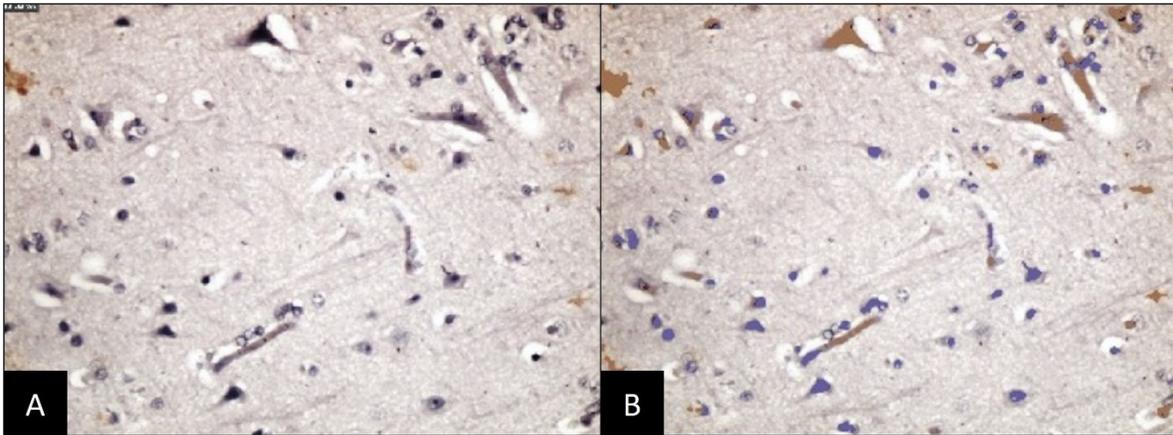


Figura 9. Interpretación de imágenes con software ImageJ. A) Ejemplo de fotomicrografía de un campo en seco fuerte (400X) de una de las 64 fotografías originales. B) Imagen obtenidas del software *ImageJ*. Esta fotografía es la imagen resultante del uso del complemento *ImmunoRatio* (diaminobencidina/promedio del área nuclear). Se identifica el fondo azul pálido, los núcleos contados por el software en azul intenso y la expresión inmunohistoquímica contada por el software en color café. Primero, se calcula el porcentaje de expresión para cada fotografía; al final del proceso se obtiene la expresión media de las 64 fotografías.

13. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó el software SPSS Statistics (versión 20.1; IBM Corp., Armonk, Nueva York) para llevar a cabo una serie de pruebas U de Mann-Whitney para comparar la expresión media de caspasa (caspasa 1, 3, 4, 6, 8, 9) entre grupos (sobrepeso/obesidad y peso normal). También se calculó D de Cohen para cada comparación.

Dado que hubo correlaciones significativas entre la edad y el IMC en un estudio previo ^[131]. Esta posible asociación se evaluó mediante correlación parcial entre la expresión media de caspasa y el IMC controlando por edad.

14. RESULTADOS

La Tabla 3 muestra las comparaciones estadísticas entre los grupos con respecto a la expresión media de caspasas mediante el uso de estadística no paramétrica. Las personas con sobrepeso u obesidad mostraron valores significativamente mayores de Caspasa 8 y Caspasa 1 que los sujetos con peso normal. El tamaño del efecto de estas diferencias fue grande (valor d de Cohen). No hubo diferencias significativas entre grupos para las otras caspasas.

Tabla 3. Comparaciones de expresión de caspasas entre el grupo control y el grupo de sobrepeso/obesidad.

Tipo de función	Caspasa	Peso normal n = 8 Mdn	Sobrepeso/ Obesidad n = 8 Mdn	U de Mann-Whitney	d de Cohen
Iniciadora	Caspasa 8	9.30	13.95	15 ^a	0.998
Iniciadora	Caspasa 9	5.50	6.75	27	0.265
Ejecutora	Caspasa 3	49.20	40.90	17	0.857
Ejecutora	Caspasa 6	44.15	38.55	19	0.726
Inflamatoria	Caspasa 1	12.10	18.10	16.5 ^b	0.891
Inflamatoria	Caspasa 4	43.70	43.95	30	0.105

Nota: Mdn=Mediana; ^a Estimación de significación por medio de Monte Carlo (1 cola) p = 0.037; ^b Estimación de significación por medio de Monte Carlo (1 cola) p = 0.055

Los diagramas de caja y bigotes en la Figura 10 también muestran las diferencias significativas entre los grupos de sujetos para Caspasa 8 y Caspasa 1. Aunque hubo un tamaño del efecto grande en la comparación entre grupos para Caspasa 3 y 6,

existe una dispersión significativa de los valores del grupo de peso normal, principalmente para la caspasa 3. Este hecho puede explicar por qué no hay diferencias significativas entre los grupos.

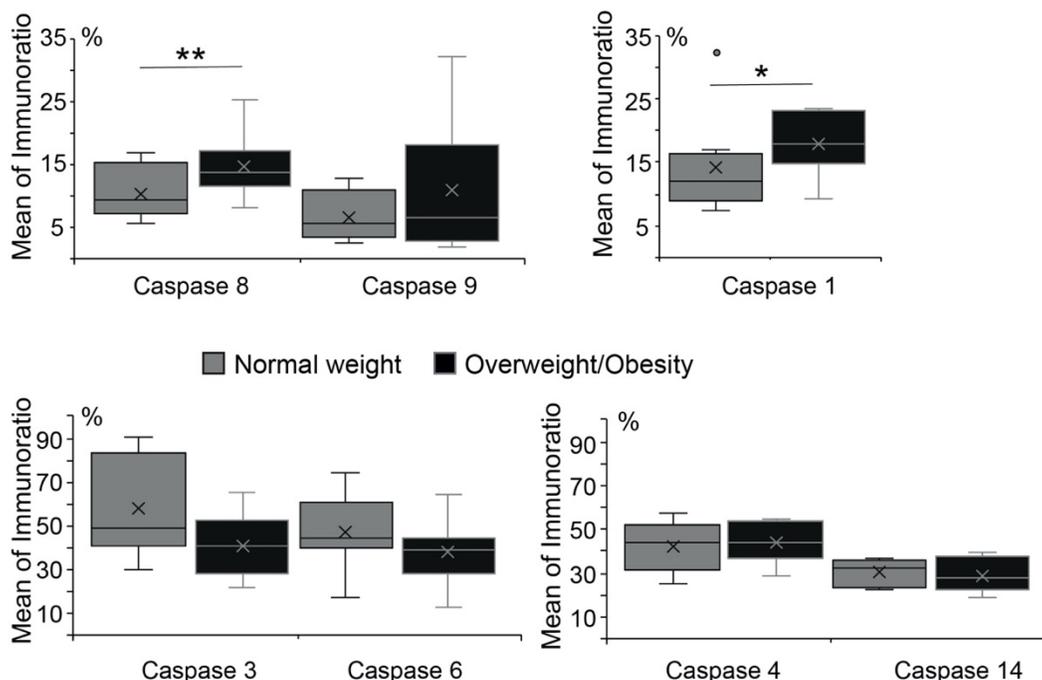


Figura 10. Porcentaje de la media de caspasas. Comparación entre los grupos de normopeso y sobrepeso/obesidad. Obsérvese un porcentaje significativamente mayor de sobrepeso/obesidad que el grupo de peso normal en caspasa 8 y 1.

Gómez-Apo et al ^[131] demostraron que los sujetos con sobrepeso/obesidad tenían un IMC significativamente mayor y eran mayores que los sujetos con peso normal. En el presente estudio, exploramos si este sesgo pudiera incluirse en la expresión de caspasas. Los análisis de correlación parcial entre la media de la expresión de caspasas y del IMC controlando por la edad mostraron una correlación positiva significativa entre la caspasa 1 y el IMC ($r = 0.479$, $p = 0.035$). El IMC no se correlacionó con la media de expresión de caspasa 8 ($r = 0.256$, $p = 0.178$), caspasa

9 ($r = 0.394$, $p = 0.073$), caspasa 3 ($r = 0.143$, $p = 0.306$), caspasa 6 ($r = -0.099$, $p = 0.363$) y caspasa 4 ($r = 0.351$, $p = 0.100$) (figura 11).

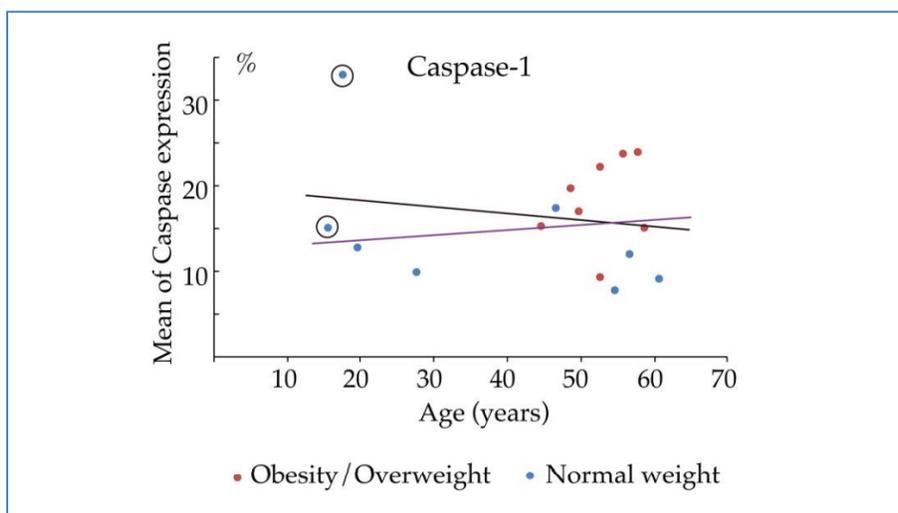


Figura 11. Relación entre la expresión de caspasa 1 y la edad.

Tabla 4. Comparación de caspasas entre el grupo de sobrepeso/obesidad versus control.

Tipo de función	Caspasa	Peso normal n = 6 Mdn	Sobrepeso/ Obesidad n = 8 Mdn	U de Mann-Whitney	d de Cohen
Iniciadora	Caspasa 8	9.30	13.95	9 ^a	1.21
Iniciadora	Caspasa 9	5.50	6.75	20	0.27
Ejecutora	Caspasa 3	49.20	40.90	15	0.65
Ejecutora	Caspasa 6	44.15	38.55	16	0.57
Inflamatoria	Caspasa 1	10.60	18.10	7 ^b	1.44
Inflamatoria	Caspasa 4	49.40	43.95	16	0.57

Note: Mdn = Mediana; ^a Estimación de significación por medio de Monte Carlo (1 cola) $p = 0.028$; ^b Estimación de significación por medio de Monte Carlo (1 cola) $p = 0.015$

Se realizaron nuevamente análisis no paramétricos, extrayendo los datos de los casos de dos individuos más jóvenes del grupo de peso normal. La tabla 4 muestra los resultados de las comparaciones entre grupos con el análisis estadístico no paramétrico. Se observa el mismo patrón que el obtenido anteriormente. Esto es, las muestras de cerebro del grupo con sobrepeso/obesidad tuvieron valores significativamente mayores de caspasa 8 y caspasa 1 que las muestras del grupo de peso normal.

14.1. SOFTWARE STRING

Teniendo en cuenta nuestros resultados de inmunohistoquímica, exploramos la interacción de caspasa 1 y caspasa 8 con algún otro elemento (no evaluado en la inmunohistoquímica de este estudio) utilizando el programa de software llamado Herramienta de búsqueda para la recuperación de genes interactivos (STRING, versión 11.5; <http://string-db.org>).

STRING es una base de datos de interacciones de proteínas conocidas y previstas que incluye asociaciones funcionales y físicas, que se toman de conocimientos previos, experimentos, contexto genómico y estudios de coexpresión. Este software evalúa la interacción proteína-proteína, se puede evaluar en 14.094 organismos, 67,6 millones de proteínas y la interacción de más de 20 mil millones de interacciones. Las interacciones de proteínas disponibles en la base de datos STRING se entregan con una puntuación de confianza.

Evaluamos vías canónicas y no canónicas de apoptosis mediada por caspasa. Decidimos examinar también la vía alternativa del inflamasoma ^[133] y la vía no canónica RIP2/caspasa1 ^[134]. Para la vía apoptótica dependiente de ASC y caspasa 8, seleccionamos, entre otras, la interleucina 1A para interactuar con caspasa 1 y 8. Para la vía no canónica RIP2/caspasa 1, seleccionamos citocromo-c y RIP2 (serina/treonina-proteína cinasa 2 que interactúan con el receptor) entre otros en el modelo.

14.1.1. VÍA ALTERNATIVA DE INFLAMASOMA

La puntuación de confianza de la interacción entre **caspasa 1 y caspasa 8 es 0.916**; entre **caspasa 1 e interleucina 1A es 0.981**; entre **caspasa 1 y NLRP3es 0.999**; caspasa 8 e interleucina 1A es 0.472; entre caspasa 8 y NLRP3 es 0.915; entre interleucina-1A y NLRP3 es 0.697. Estas interacciones entre las moléculas se presentan en la figura 12.

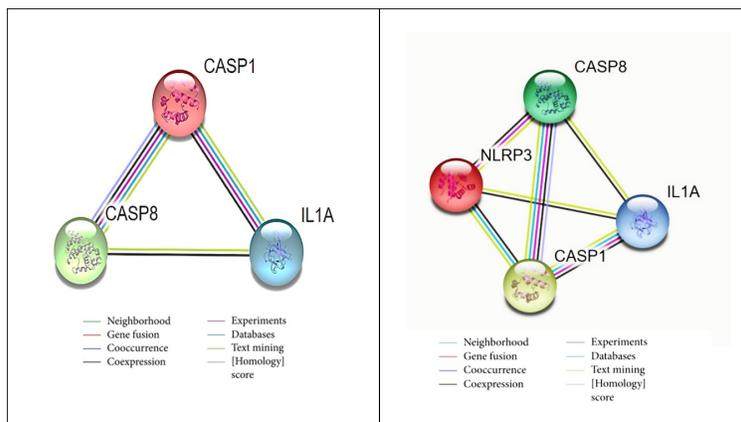


Figura 12. Red de interacción de proteínas de caspasa 1 con caspasa 8, NLRP3 e IL-1A utilizando STRING (<https://string-db.org/>). La interacción entre las proteínas de entrada está codificada por colores que representan el tipo de interacciones.

14.1.2. VÍA NO CANÓNICA DE RIP-2 / CASPASA 1

La puntuación de confianza de la interacción entre **caspara 1 y caspara 8 es 0.916**; entre **caspara 1 y RIPK2 es 0.929**; entre caspara 1 y citocromo-c es 0.665; entre caspara 8 y citocromo-c es 0.907; entre **caspara 8 y RIPK2 es 0.951**; y entre citocromo-c y RIPK2 no existe relación. Las interacciones entre estas moléculas se presentan en la figura 13.

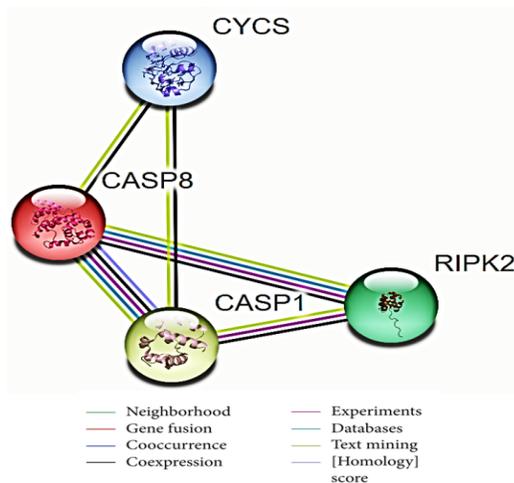


Figura 13. La vía RIP2 / caspasa 1. Red de interacción de proteínas de caspasa 1 con CYCS, caspasa 8 y RIPK2 usando STRING (<https://string-db.org/>). CYCS: citocromo-c; RIPK2 o RIP2: serina/treonina-proteína cinasa 2 que interactúa con el receptor. La interacción entre las proteínas de entrada está codificada por colores que representan el tipo de interacciones.

15. DISCUSIÓN

El propósito del presente estudio fue explorar la asociación entre la expresión de caspasas y la obesidad. Comparamos el porcentaje de expresión positiva de caspasas (caspara 1, 3, 4, 6, 8, 9) a través de una colección de donantes de cerebro que fueron identificados con sobrepeso/obesidad (IMC >25 kg/m²) o peso normal (IMC <25 kg/m²). Se planteó la hipótesis de que las muestras de tejido cerebral de las necropsias de donantes de cerebro con sobrepeso/obesidad tendrían un

aumento de la expresión inmunohistoquímica para la anti-caspasa 8 (vía extrínseca) o la caspasa 9 (vía intrínseca) y la anti-caspasa 3 para la fase final de ejecución. Nuestros resultados confirmaron parcialmente nuestra hipótesis porque los sujetos con sobrepeso u obesidad tuvieron una mayor expresión de caspasa 8 y caspasa 1 respecto a las personas con peso normal, pero no encontramos evidencia de un aumento de caspasa 3 o caspasa 6 (fase de ejecución) en el grupo con sobrepeso/obesidad.

La interacción entre caspasa 1 y caspasa 8 evaluada en las vías canónicas de apoptosis mediada por caspasas no parece estar respaldada por nuestros resultados. En cambio, nuestros resultados podrían sugerir una interacción entre estas caspasas en las vías no clásicas (no canónicas). Es importante recalcar que la vía alternativa del inflamasoma se activa a través de un estímulo principalmente inflamatorio, mientras que la vía no canónica RIP-2/caspasa 1 se activa a través de un estímulo isquémico. Con el presente estudio es imposible determinar si alguna de estas vías está activa ya que ambos tipos de estímulos (citoquinas inflamatorias o isquemia) coexisten en el individuo con obesidad. También es posible pensar que ambas vías están activas en el proceso de apoptosis.

Los datos emergentes sugieren que activación de los inflamasomas por las mitocondrias dañadas da como resultado la secreción dependiente de caspasa 1 de las citocinas inflamatorias interleucina-1 β (IL-1 β) e IL-18, y una forma inflamatoria de muerte celular denominada piroptosis ^[135].

En el cerebro de lechones, se ha descrito la asociación entre caspasa 1 / caspasa 8 con cinasas de la familia Src, tirosina cinasas no receptoras, que están involucradas en la formación de estructuras complejas, los inflamomas [136].

La inflamación inducida por la obesidad implica la regulación positiva a través de factores de transcripción activados: NF-kappaB, proteína activadora-1, factor nuclear de células T activadas y transductor de señal y activador de la transcripción 3. Estos ejecutan como un sensor de células inmunitarias innatas: inflamoma para activar la vía de la caspasa 1 que da como resultado la maduración proteolítica. La secreción de citoquinas proinflamatorias que incluyen TNF-alfa, IL-6, proteína C reactiva e IL-1 β , de los macrófagos M1 del tejido adiposo blanco [137].

Tyagi et al [138] encontraron la escisión de pro-caspasa 1 en un modelo en ratones, sugiriendo la formación de inflamomas; detectando la unión de inflamomas con caspasa 1 y NLRP3. También observaron marcadores de neuroinflamación, incluida la gliosis y la expresión elevada de IL-1 β en el cerebro.

El inflamoma NLRP3 representa el sensor del inflamoma más estudiado y está presente en la microglia y los astrocitos en el SNC [133, 139]. Los NLR citosólicos se han asociado con enfermedades humanas, incluidas infecciones, cáncer y trastornos autoinmunes e inflamatorios [140]. La activación del inflamoma NLRP3 por una amplia gama de estímulos exógenos o endógenos [141] está asociada con muchas enfermedades neurológicas y deterioro cognitivo a través de la neuroinflamación [141, 142].

Esta activación alternativa del inflamasoma NLRP3 produce piroptosis independiente ^[143]. Se observó que una vía alternativa funcionaba a diferencia de las vías canónicas o no canónicas. Aunque inicialmente se describió que respondían a patógenos intracelulares. La diversidad entre los receptores tipo NOD se deriva de la especificidad del ligando conferida por las repeticiones ricas en leucina y un dominio efector NH2-terminal que desencadena la activación de diferentes vías biológicas ^[144]. El inflamasoma NLRP3 generalmente se expresa por células de linaje mieloide ^[145].

La activación del inflamasoma NLRP3 desencadena la activación de caspasa 1 y la maduración de IL-1 β a través de vías de señalización y activación. Las moléculas de patrones moleculares asociadas a daños (DAMP) y/o las moléculas de patrones moleculares asociadas a patógenos (PAMP) pueden estimular TLR4, lo que lleva a la activación de la caspasa 8 y su receptor. La proteína 1 que interactúa con el receptor (RIP1), la sintasa de ácidos grasos y la proteína del dominio de muerte asociado con (FAS) (FADD) pueden inducir tanto la activación canónica de NLRP3 como el paso de transcripción. Además, se ha revelado que la activación alternativa del inflamasoma en los monocitos (microglia y glia en el SNC) está mediada por la proteína adaptadora TLR-SCIMP, que induce la activación de la caspasa 8 al desencadenar la entrada de calcio dependiente de la tirosina cinasa LYN/SYK y la producción de ROS. Esta vía de activación específica inducida por la vía de señalización TLR2 o TLR4 sin involucrar a otros activadores secundarios, se denomina activación alternativa del inflamasoma NLRP3 ^[146, 147, 148, 149, 150].

Otra vía de activación del proceso de apoptosis es a través de la RIP2/caspasa 1. La contribución de la pro-caspasa 1 a las respuestas inflamatorias mediadas por el huésped depende de dos características. Primero, existe la actividad proteolítica bien establecida que permite el procesamiento de IL-1 β e IL-18 y conduce a la piroptosis. En segundo lugar, los estudios de sobreexpresión también indican que la pro-caspasa 1, puede funcionar como un andamio y está implicada en la activación de una vía de señalización específica de NF-kappaB. a nucleótidos ^[151].

La actividad de las caspasas de pro-dominio largo (caspasa 1, 2, 4, 5, 9, 11, 12 y 13) puede regularse mediante interacciones directas proteína-proteína. La interacción ocurre en el pro-dominio N-terminal llamado dominio de reclutamiento de caspasa (CARD). Zhang et al ^[134] realizaron estudios in vitro han demostrado que CARD de caspasa 1 puede asociarse con una variedad de otras moléculas que contienen CARD a través de interacciones CARD-CARD. Por lo tanto, la transfección de neuronas cerebrocorticales primarias con Rip2 dio como resultado una inducción significativa de muerte celular.

Sören et al ^[152] informaron los resultados de dos modelos de ratón de caspasa-1-C284A enzimáticamente inactiva, lo que demuestra la relevancia de esta vía in vivo. La señalización de caspasa-1-C284A depende de RIP2 y está mediada por TNF-alfa pero es independiente del inflamasoma NLRP3. La sangre que es estimulada con lipopolisacáridos de pacientes que portan mutaciones con pérdida de función en caspasa 1 secreta cantidades más altas de TNF-alfa. Revelando una señalización de caspasa 1 no canónica in vivo.

16. CONCLUSIONES

Los resultados sugieren que no hay una clara activación de la vía extrínseca o intrínseca de la apoptosis, pero sí que hay una asociación entre la expresión de caspasa 1 y 8 con sobrepeso/obesidad. A mayor índice de masas corporal, mayor expresión de caspasa 1 y 8. Estos resultados no cumplen con las vías canónicas de la apoptosis, por lo que es probable que haya alguna vía distinta de muerte celular en la corteza cerebral. Con el análisis con el software STRING, nosotros podríamos sugerir que la interacción entre caspasa1 y 8 es por la vía alterna del inflammasoma y vía RIP2/caspasa 1.

17. LIMITACIONES

La evaluación transversal de caspasas en tejido representa una "fotografía instantánea" de un proceso dinámico; por lo tanto, es plausible observar un aumento en caspasa 1 y caspasa 8, sin un aumento en caspasa 3, debido a la dinámica del proceso de apoptosis. Es posible que nuestros hallazgos sean el resultado de un problema de submuestreo. Se evaluó una pequeña porción de la cresta de la segunda circunvolución frontal derecha. Es probable que la expresión de caspasa 3 pueda detectarse en otras regiones.

Otra limitación de nuestro estudio son el pequeño número de sujetos debido al acceso limitado al material de autopsia; no habría posibilidad ética de obtener tejido cerebral en sujetos vivos tanto del grupo control como del grupo problema; así que

no hay casos controles completamente sanos debido a que todos los sujetos fallecieron por causas diversas.

18. FORTALEZAS

Los puntos fuertes del estudio son que como el cerebro tiene una eficaz barrera hematoencefálica, ninguno de los sujetos tenía una enfermedad en el sistema nervioso central secundaria o no relacionada con la obesidad. Debido a que este estudio se realiza en tejido cerebral humano, es posible que no cumpla con los paradigmas de la apoptosis mediada por caspasas como se ha hecho en modelos animales, lo que lo hace más enriquecedor.

19. ASPECTOS ÉTICOS Y MARCO JURÍDICO

En el año 2018, el proyecto de investigación se presentó ante el Comité de Investigación y Comité de Ética dependientes de la Dirección de Investigación del Hospital General de México “Dr. Eduardo Liceaga”, titulado “Cambios morfológicos cerebrales en sujetos con obesidad. Estudio posmortem”, que fue autorizado con el número de identificación DI/18/310/04/014. El presente estudio corresponde a una investigación SIN RIESGO para los sujetos de estudio, ya que se realizó posterior a su defunción, mediante el análisis de cerebros pertenecientes la Unidad de Patología Posmortem del Servicio de Anatomía Patológica. El servicio de Anatomía

Patológica se reserva el derecho de utilizar el material biológico para estudios de investigación, respaldado con el consentimiento informado de necropsia basado en el formato 10 (anexo 1).

El análisis macroscópico de los encéfalos se realiza en la totalidad de las autopsias por el Departamento de Neuropatología, utilizando el corte coronal seriado estándar.

En cumplimiento con la Norma Oficial Mexicana NOM – 168 –SSA1 – 1998 del Expediente Clínico, inciso 8.8.11; y en cumplimiento con la Ley General de Salud. Título decimocuarto. Donación, trasplantes y pérdida de la vida, Artículo 350 bis 2 y del artículo 350 bis 3.

Anexo 1. Formato institucional de carta de consentimiento informado para realizar necropsia hospitalaria.

	 <small>DR. EDUARDO LICEAGA</small>
<p>HOSPITAL GENERAL DE MEXICO "DR. EDUARDO LICEAGA" DIRECCION GENERAL ADJUNTA MEDICA LICENCIA SANITARIA No. 13 AM 09 015 0005</p>	
<p>CARTA DE CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACION PARA REALIZAR NECROPSIA HOSPITALARIA</p>	
<p>Nombre del fallecido: _____ Edad: _____ Sexo _____ No de Exp.: _____ Diagnóstico final _____ Fecha de defunción: _____ Nombre de familiar responsable o representante legal : _____ Edad _____ parentesco: _____ Domicilio: _____</p>	
<p>Por medio de la presente y en pleno uso de mis facultades mentales, sin que haya mediado violencia física o moral, manifiesto que el Dr. _____ del Servicio de _____ del Hospital General de México "Dr. Eduardo Liceaga" me ha explicado ampliamente en un lenguaje claro, sencillo y entendible, realizando todas las observaciones pertinentes, aclarando todas las dudas que he planteado, mismas que he entendido a mi satisfacción y he comprendido que uno de los estudios que fortalecen el avance del conocimiento médico y la investigación es el estudio anatomopatológico post mortem o necropsia, principalmente para establecer las causas reales del fallecimiento de mi familiar, lo que contribuirá ampliamente a avanzar en el campo de la investigación, por tal motivo, autorizo para que se realice a mi _____ la necropsia hospitalaria en el cuerpo de mi familiar, lo anterior de acuerdo a los Artículos 314 fracciones VI y XVII, 315 Fracción I, 320, 321, 322, 323, 325, 350 bis2 y 350 bis3 de la Ley General de Salud en vigor, modificada el 06 de abril de 2012 y publicada en el Diario Oficial de la Federación el 07 de junio de 2012, así como a la Norma Oficial Mexicana NOM-004-SSA3-2012 del Expediente Clínico.</p>	
<p>_____ Nombre y Firma del Familiar Responsable</p> <p>Que se identifica con: _____</p>	<p>_____ Médico Tratante (Nombre, Cédula Profesional y Firma)</p> <p>Que se identifica con: _____</p>
<p>_____ Nombre y Firma Testigo</p> <p>Que se identifica con _____</p>	<p>_____ Nombre y Firma Testigo</p> <p>Que se identifica con _____</p>
<p>Nota: La presente Carta será modificada de acuerdo a las Reformas de la Ley Correspondiente, deberá contener todos los datos solicitados, sin excepción y llenarse una vez que sucedió el evento (muerte), solicitando la firma al familiar responsable.</p>	
<p><small>Dr. Balmis 148 Col. Doctores Del. Cuauhtémoc C.P. 06726 México D.F. Tel. 2789 2000</small></p>	

20. REFERENCIAS

1. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. (2000). *World Health Organization technical report series*, 894, i–253.
2. Mohammed, M. S., Sendra, S., Lloret, J., & Bosch, I. (2018). Systems and WBANs for Controlling Obesity. *Journal of healthcare engineering*, 2018, 1564748. <https://doi.org/10.1155/2018/1564748>
3. Lin, X., & Li, H. (2021). Obesity: Epidemiology, Pathophysiology, and Therapeutics. *Frontiers in endocrinology*, 12, 706978. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.706978>
4. De Lorenzo, A., Gratteri, S., Gualtieri, P., Cammarano, A., Bertucci, P., & Di Renzo, L. (2019). Why primary obesity is a disease?. *Journal of translational medicine*, 17(1), 169. <https://doi.org/10.1186/s12967-019-1919-y>
5. Kanasaki, K., & Koya, D. (2011). Biology of obesity: lessons from animal models of obesity. *Journal of biomedicine & biotechnology*, 2011, 197636. <https://doi.org/10.1155/2011/197636>
6. Caballero B. (2019). Humans against Obesity: Who Will Win? *Advances in nutrition (Bethesda, Md.)*, 10(suppl_1), S4–S9. <https://doi.org/10.1093/advances/nmy055>
7. Al-Tarrah, K., Jones, S. W., Moiemmen, N., & Lord, J. M. (2020). Potential role of adipose tissue and its hormones in burns and critically ill patients. *Burns: journal of the International Society for Burn Injuries*, 46(2), 259–266. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2019.01.012>
8. Barakat, B., & Almeida, M. (2021). Biochemical and immunological changes in obesity. *Archives of biochemistry and biophysics*, 708, 108951. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2021.108951>
9. Rohde, K., Keller, M., la Cour Poulsen, L., Blüher, M., Kovacs, P., & Böttcher, Y. (2019). Genetics and epigenetics in obesity. *Metabolism: clinical and experimental*, 92, 37–50. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2018.10.007>
10. Dubern B. (2019). Génétique et épigénétique de l'obésité : les pistes pour comprendre [Genetics and epigenetics of obesity: keys to understand]. *La Revue du praticien*, 69(9), 1016–1019.
11. Kanmiki, E. W., Fatima, Y., & Mamun, A. A. (2022). Multigenerational transmission of obesity: A systematic review and meta-analysis. *Obesity reviews: an official journal of the International Association for the Study of Obesity*, 23(3), e13405. <https://doi.org/10.1111/obr.13405>
12. Mahmoud A. M. (2022). An Overview of Epigenetics in Obesity: The Role of Lifestyle and Therapeutic Interventions. *International journal of molecular sciences*, 23(3), 1341. <https://doi.org/10.3390/ijms23031341>
13. Thaker VV. Genetic and epigenetic causes of obesity. *Adolesc Med State Art Rev*. 2017 Fall;28(2):379-405. PMID: 30416642; PMCID: PMC6226269.
14. Prats-Puig, A., Ortega, F. J., Mercader, J. M., Moreno-Navarrete, J. M., Moreno, M., Bonet, N., Ricart, W., López-Bermejo, A., & Fernández-Real, J. M. (2013). Changes in circulating microRNAs are associated with childhood obesity. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 98(10), E1655–E1660. <https://doi.org/10.1210/jc.2013-1496>
15. Dick, K. J., Nelson, C. P., Tsaprouni, L., Sandling, J. K., Aissi, D., Wahl, S., Meduri, E., Morange, P. E., Gagnon, F., Grallert, H., Waldenberger, M., Peters, A., Erdmann, J., Hengstenberg, C., Cambien, F., Goodall, A. H., Ouwehand, W. H., Schunkert, H., Thompson, J. R., Spector, T. D., ... Samani, N. J. (2014). DNA methylation and body-mass index: a genome-wide analysis. *Lancet (London, England)*, 383(9933), 1990–1998. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)62674-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)62674-4)
16. Goossens G. H. (2008). The role of adipose tissue dysfunction in the pathogenesis of obesity-related insulin resistance. *Physiology & behavior*, 94(2), 206–218. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.10.010>

17. Qi, Y., & Hui, X. (2022). The shades of grey in adipose tissue reprogramming. *Bioscience reports*, 42(3), BSR20212358. <https://doi.org/10.1042/BSR20212358>
18. Shin, S., El-Sabbagh, A. S., Lukas, B. E., Tanneberger, S. J., & Jiang, Y. (2020). Adipose stem cells in obesity: challenges and opportunities. *Bioscience reports*, 40(6), BSR20194076. <https://doi.org/10.1042/BSR20194076>
19. McMillan, A. C., & White, M. D. (2015). Induction of thermogenesis in brown and beige adipose tissues: molecular markers, mild cold exposure and novel therapies. *Current opinion in endocrinology, diabetes, and obesity*, 22(5), 347–352. <https://doi.org/10.1097/MED.000000000000191>
20. Fedorenko A, Lishko PV, Kirichok Y. Mechanism of fatty-acid-dependent UCP1 uncoupling in brown fat mitochondria. *Cell*. 2012 Oct 12;151(2):400-13. doi: 10.1016/j.cell.2012.09.010. PMID: 23063128; PMCID: PMC3782081.
21. Shamsi F, Wang CH, Tseng YH. The evolving view of thermogenic adipocytes - ontogeny, niche and function. *Nat Rev Endocrinol*. 2021 Dec;17(12):726-744. doi: 10.1038/s41574-021-00562-6. Epub 2021 Oct 8. PMID: 34625737; PMCID: PMC8814904.
22. Sanchez-Gurmaches, J., & Guertin, D. A. (2014). Adipocyte lineages: tracing back the origins of fat. *Biochimica et biophysica acta*, 1842(3), 340–351. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2013.05.027>
23. Hwang, I., & Kim, J. B. (2019). Two Faces of White Adipose Tissue with Heterogeneous Adipogenic Progenitors. *Diabetes & metabolism journal*, 43(6), 752–762. <https://doi.org/10.4093/dmj.2019.0174>
24. Huang, X., Wang, Y. J., & Xiang, Y. (2022). Bidirectional communication between brain and visceral white adipose tissue: Its potential impact on Alzheimer's disease. *EBioMedicine*, 84, 104263. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2022.104263>
25. Claire Bastie, Dorte Holst, Danielle Gaillard, Chantal Jehl-Pietri, Paul A. Grimaldi, Expression of Peroxisome Proliferator-activated Receptor PPAR δ Promotes Induction of PPAR γ and Adipocyte Differentiation in 3T3C2 Fibroblasts. *Journal of Biological Chemistry*, Volume 274, Issue 31,1999, Pages 21920-21925, ISSN 0021-9258, <https://doi.org/10.1074/jbc.274.31.21920>.
26. Chakraborty, S., Ong, W. K., Yau, W., Zhou, Z., Bhanu Prakash, K. N., Toh, S. A., Han, W., Yen, P. M., & Sugii, S. (2021). CD10 marks non-canonical PPAR γ -independent adipocyte maturation and browning potential of adipose-derived stem cells. *Stem cell research & therapy*, 12(1), 109. <https://doi.org/10.1186/s13287-021-02179-y>
27. Bódis, K., & Roden, M. (2018). Energy metabolism of white adipose tissue and insulin resistance in humans. *European journal of clinical investigation*, 48(11), e13017. <https://doi.org/10.1111/eci.13017>
28. Giralt, M., & Villarroya, F. (2013). White, brown, beige/brite: different adipose cells for different functions?. *Endocrinology*, 154(9), 2992–3000. <https://doi.org/10.1210/en.2013-1403>
29. Song, T., & Kuang, S. (2019). Adipocyte dedifferentiation in health and diseases. *Clinical science (London, England: 1979)*, 133(20), 2107–2119. <https://doi.org/10.1042/CS20190128>
30. Long JZ, Svensson KJ, Tsai L, Zeng X, Roh HC, Kong X, Rao RR, Lou J, Lokurkar I, Baur W, Castellot JJ Jr, Rosen ED, Spiegelman BM. A smooth muscle-like origin for beige adipocytes. *Cell Metab*. 2014 May 6;19(5):810-20. doi: 10.1016/j.cmet.2014.03.025. Epub 2014 Apr 4. PMID: 24709624; PMCID: PMC4052772.
31. Liu, W., Li, D., Cao, H., Li, H., & Wang, Y. (2020). Expansion and inflammation of white adipose tissue - focusing on adipocyte progenitors. *Biological chemistry*, 402(2), 123–132. <https://doi.org/10.1515/hsz-2019-0451>
32. Villarroya, F., Cereijo, R., Gavaldà-Navarro, A., Villarroya, J., & Giralt, M. (2018). Inflammation of brown/beige adipose tissues in obesity and metabolic disease. *Journal of internal medicine*, 284(5), 492–504. <https://doi.org/10.1111/joim.12803>
33. Kahn, C. R., Wang, G., & Lee, K. Y. (2019). Altered adipose tissue and adipocyte function in the pathogenesis of metabolic syndrome. *The Journal of clinical investigation*, 129(10), 3990–4000. <https://doi.org/10.1172/JCI129187>

34. Blüher, M., & Mantzoros, C. S. (2015). From leptin to other adipokines in health and disease: facts and expectations at the beginning of the 21st century. *Metabolism: clinical and experimental*, 64(1), 131–145. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2014.10.016>
35. Fasshauer, M., & Blüher, M. (2015). Adipokines in health and disease. *Trends in pharmacological sciences*, 36(7), 461–470. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2015.04.014>
36. Ballantyne, G. H., Gumbs, A., & Modlin, I. M. (2005). Changes in insulin resistance following bariatric surgery and the adipoinular axis: role of the adipocytokines, leptin, adiponectin and resistin. *Obesity surgery*, 15(5), 692–699. <https://doi.org/10.1381/0960892053923789>
37. Liu, L., Shi, Z., Ji, X., Zhang, W., Luan, J., Zahr, T., & Qiang, L. (2022). Adipokines, adiposity, and atherosclerosis. *Cellular and molecular life sciences: CMLS*, 79(5), 272. <https://doi.org/10.1007/s00018-022-04286-2>
38. Frühbeck, G., Catalán, V., Rodríguez, A., & Gómez-Ambrosi, J. (2018). Adiponectin-leptin ratio: A promising index to estimate adipose tissue dysfunction. Relation with obesity-associated cardiometabolic risk. *Adipocyte*, 7(1), 57–62. <https://doi.org/10.1080/21623945.2017.1402151>
39. Ye J. (2011). Adipose tissue vascularization: its role in chronic inflammation. *Current diabetes reports*, 11(3), 203–210. <https://doi.org/10.1007/s11892-011-0183-1>
40. Catalán, V., Gómez-Ambrosi, J., Rodríguez, A., & Frühbeck, G. (2012). Role of extracellular matrix remodelling in adipose tissue pathophysiology: relevance in the development of obesity. *Histology and histopathology*, 27(12), 1515–1528. <https://doi.org/10.14670/HH-27.1515>
41. Suganami, T., Tanaka, M., & Ogawa, Y. (2012). Adipose tissue inflammation and ectopic lipid accumulation. *Endocrine journal*, 59(10), 849–857. <https://doi.org/10.1507/endocrj.ej12-0271>
42. Tanaka, M., Itoh, M., Ogawa, Y., & Suganami, T. (2018). Molecular mechanism of obesity-induced 'metabolic' tissue remodeling. *Journal of diabetes investigation*, 9(2), 256–261. <https://doi.org/10.1111/jdi.12769>
43. Ito, A., Suganami, T., & Ogawa, Y. (2009). *Nihon rinsho. Japanese journal of clinical medicine*, 67(2), 270–276.
44. Li, S., Gao, H., Hasegawa, Y., & Lu, X. (2021). Fight against fibrosis in adipose tissue remodeling. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, 321(1), E169–E175. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00558.2020>
45. Marcelin, G., Silveira, A., Martins, L. B., Ferreira, A. V., & Clément, K. (2019). Deciphering the cellular interplays underlying obesity-induced adipose tissue fibrosis. *The Journal of clinical investigation*, 129(10), 4032–4040. <https://doi.org/10.1172/JCI129192>
46. Herrada, A. A., Olate-Briones, A., Rojas, A., Liu, C., Escobedo, N., & Piesche, M. (2021). Adipose tissue macrophages as a therapeutic target in obesity-associated diseases. *Obesity reviews: an official journal of the International Association for the Study of Obesity*, 22(6), e13200. <https://doi.org/10.1111/obr.13200>
47. Hill, D. A., Lim, H. W., Kim, Y. H., Ho, W. Y., Foong, Y. H., Nelson, V. L., Nguyen, H., Chegireddy, K., Kim, J., Habberthuer, A., Vallabhajosyula, P., Kambayashi, T., Won, K. J., & Lazar, M. A. (2018). Distinct macrophage populations direct inflammatory versus physiological changes in adipose tissue. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(22), E5096–E5105. <https://doi.org/10.1073/pnas.1802611115>
48. Chylikova, J., Dvorackova, J., Tauber, Z., & Kamarad, V. (2018). M1/M2 macrophage polarization in human obese adipose tissue. *Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czechoslovakia*, 162(2), 79–82. <https://doi.org/10.5507/bp.2018.015>
49. Nomiya, T., Perez-Tilve, D., Ogawa, D., Gizard, F., Zhao, Y., Heywood, E. B., Jones, K. L., Kawamori, R., Cassis, L. A., Tschöp, M. H., & Bruemmer, D. (2007). Osteopontin mediates obesity-induced adipose tissue macrophage infiltration and insulin resistance in mice. *The Journal of clinical investigation*, 117(10), 2877–2888. <https://doi.org/10.1172/JCI31986>

50. Suganami, T., & Ogawa, Y. (2010). Adipose tissue macrophages: their role in adipose tissue remodeling. *Journal of leukocyte biology*, 88(1), 33–39. <https://doi.org/10.1189/jlb.0210072>
51. Catrysse, L., & van Loo, G. (2018). Adipose tissue macrophages and their polarization in health and obesity. *Cellular immunology*, 330, 114–119. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2018.03.001>
52. Koh, Y. C., Yang, G., Lai, C. S., Weerawatanakorn, M., & Pan, M. H. (2018). Chemopreventive Effects of Phytochemicals and Medicines on M1/M2 Polarized Macrophage Role in Inflammation-Related Diseases. *International journal of molecular sciences*, 19(8), 2208. <https://doi.org/10.3390/ijms19082208>
53. Ruggiero, A. D., Key, C. C., & Kavanagh, K. (2021). Adipose Tissue Macrophage Polarization in Healthy and Unhealthy Obesity. *Frontiers in nutrition*, 8, 625331. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.625331>
54. Russo, L., & Lumeng, C. N. (2018). Properties and functions of adipose tissue macrophages in obesity. *Immunology*, 155(4), 407–417. <https://doi.org/10.1111/imm.13002>
55. Varghese, M., Griffin, C., Abrishami, S., Eter, L., Lanzetta, N., Hak, L., Clemente, J., Agarwal, D., Lerner, A., Westerhoff, M., Patel, R., Bowers, E., Islam, M., Subbaiah, P., & Singer, K. (2021). Sex hormones regulate metaflammation in diet-induced obesity in mice. *The Journal of biological chemistry*, 297(5), 101229. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2021.101229>
56. Elias MF, Elias PK, Sullivan LM, Wolf PA, D'Agostino RB. Lower cognitive function in the presence of obesity and hypertension: the Framingham heart study. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2003 Feb;27(2):260-8. doi: 10.1038/sj.ijo.802225. PMID: 12587008.
57. Deng YT, Li YZ, Huang SY, Ou YN, Zhang W, Chen SD, Zhang YR, Yang L, Dong Q, Feng JF, Suckling J, Smith AD, Cheng W, Yu JT. Association of life course adiposity with risk of incident dementia: a prospective cohort study of 322,336 participants. *Mol Psychiatry*. 2022 Aug;27(8):3385-3395. doi: 10.1038/s41380-022-01604-9. Epub 2022 May 10. PMID: 35538193.
58. Karlsson, I. K., Zhan, Y., Wang, Y., Li, X., Jylhävä, J., Hägg, S., Dahl Aslan, A. K., Gatz, M., Pedersen, N. L., & Reynolds, C. A. (2022). Adiposity and the risk of dementia: mediating effects from inflammation and lipid levels. *European journal of epidemiology*, 10.1007/s10654-022-00918-w. Advance online publication. <https://doi.org/10.1007/s10654-022-00918-w>
59. Bracke, A., Domanska, G., Bracke, K., Harzsch, S., van den Brandt, J., Bröker, B., & von Bohlen Und Halbach, O. (2019). Obesity Impairs Mobility and Adult Hippocampal Neurogenesis. *Journal of experimental neuroscience*, 13, 1179069519883580. <https://doi.org/10.1177/1179069519883580>
60. Sui, G., Yang, C., Wang, L., Xiong, X., Guo, M., Chen, Z., & Wang, F. (2021). Exogenous IGF-1 improves tau pathology and neuronal pyroptosis in high-fat diet mice with cognitive dysfunction. *Metabolic brain disease*, 36(7), 2079–2088. <https://doi.org/10.1007/s11011-021-00787-4>
61. Towers, A. E., Oelschlager, M. L., Juda, M. B., Jain, S., Gainey, S. J., & Freund, G. G. (2020). HFD refeeding in mice after fasting impairs learning by activating caspase-1 in the brain. *Metabolism: clinical and experimental*, 102, 153989. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2019.153989>
62. Zhang, P., Wu, G. W., Tang, L. R., Yu, F. X., Li, M. Y., Wang, Z., Yang, Z. H., Zhang, Z. T., Lv, H., Liu, Y., & Wang, Z. C. (2022). Altered Brain Structural Reorganization and Hierarchical Integrated Processing in Obesity. *Frontiers in neuroscience*, 16, 796792. <https://doi.org/10.3389/fnins.2022.796792>
63. Taki Y, Kinomura S, Sato K, Inoue K, Goto R, Okada K, Uchida S, Kawashima R, Fukuda H. Relationship between body mass index and gray matter volume in 1,428 healthy individuals. *Obesity (Silver Spring)*. 2008 Jan;16(1):119-24. doi: 10.1038/oby.2007.4. PMID: 18223623.

64. Fernández-Andújar M, Morales-García E, García-Casares N. Obesity and Gray Matter Volume Assessed by Neuroimaging: A Systematic Review. *Brain Sci.* 2021 Jul 28;11(8):999. doi: 10.3390/brainsci11080999. PMID: 34439618; PMCID: PMC8391982.
65. García-García I, Michaud A, Dadar M, Zeighami Y, Neseliler S, Collins DL, Evans AC, Dagher A. Neuroanatomical differences in obesity: meta-analytic findings and their validation in an independent dataset. *Int J Obes (Lond).* 2019 May;43(5):943-951. doi: 10.1038/s41366-018-0164-4. Epub 2018 Jul 18. PMID: 30022057.
66. Li L, Yu H, Zhong M, Liu S, Wei W, Meng Y, Li ML, Li T, Wang Q. Gray matter volume alterations in subjects with overweight and obesity: Evidence from a voxel-based meta-analysis. *Front Psychiatry.* 2022 Sep 26;13:955741. doi: 10.3389/fpsy.2022.955741. PMID: 36226110; PMCID: PMC9548618.
67. Henn, R. E., Noureldein, M. H., Elzinga, S. E., Kim, B., Savelieff, M. G., & Feldman, E. L. (2022). Glial-neuron crosstalk in health and disease: A focus on metabolism, obesity, and cognitive impairment. *Neurobiology of disease*, 170, 105766. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2022.105766>
68. Woo, A., Botta, A., Shi, S. S. W., Paus, T., & Pausova, Z. (2022). Obesity-Related Neuroinflammation: Magnetic Resonance and Microscopy Imaging of the Brain. *International journal of molecular sciences*, 23(15), 8790. <https://doi.org/10.3390/ijms23158790>
69. Hickey, W. F., & Kimura, H. (1988). Perivascular microglial cells of the CNS are bone marrow-derived and present antigen in vivo. *Science (New York, N.Y.)*, 239(4837), 290–292. <https://doi.org/10.1126/science.3276004>
70. Boche, D., Perry, V. H., & Nicoll, J. A. (2013). Review: activation patterns of microglia and their identification in the human brain. *Neuropathology and applied neurobiology*, 39(1), 3–18. <https://doi.org/10.1111/nan.12011>
71. Araki, T., Ikegaya, Y., & Koyama, R. (2021). The effects of microglia- and astrocyte-derived factors on neurogenesis in health and disease. *The European journal of neuroscience*, 54(5), 5880–5901. <https://doi.org/10.1111/ejn.14969>
72. Perry, V. H., & Teeling, J. (2013). Microglia and macrophages of the central nervous system: the contribution of microglia priming and systemic inflammation to chronic neurodegeneration. *Seminars in immunopathology*, 35(5), 601–612. <https://doi.org/10.1007/s00281-013-0382-8>
73. Angelova, D. M., & Brown, D. R. (2019). Microglia and the aging brain: are senescent microglia the key to neurodegeneration?. *Journal of neurochemistry*, 151(6), 676–688. <https://doi.org/10.1111/jnc.14860>
74. Chen, K. E., Lainez, N. M., Nair, M. G., & Coss, D. (2021). Visceral adipose tissue imparts peripheral macrophage influx into the hypothalamus. *Journal of neuroinflammation*, 18(1), 140. <https://doi.org/10.1186/s12974-021-02183-2>
75. Keren-Shaul, H., Spinrad, A., Weiner, A., Matcovitch-Natan, O., Dvir-Szternfeld, R., Ulland, T. K., David, E., Baruch, K., Lara-Astaiso, D., Toth, B., Itzkovitz, S., Colonna, M., Schwartz, M., & Amit, I. (2017). A Unique Microglia Type Associated with Restricting Development of Alzheimer's Disease. *Cell*, 169(7), 1276–1290.e17. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.05.018>
76. Guo, S., Wang, H., & Yin, Y. (2022). Microglia Polarization From M1 to M2 in Neurodegenerative Diseases. *Frontiers in aging neuroscience*, 14, 815347. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2022.815347>
77. Cope EC, LaMarca EA, Monari PK, Olson LB, Martinez S, Zych AD, Katchur NJ, Gould E. Microglia Play an Active Role in Obesity-Associated Cognitive Decline. *J Neurosci.* 2018 Oct 10;38(41):8889-8904. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0789-18.2018. Epub 2018 Sep 10. PMID: 30201764; PMCID: PMC6181311.
78. Geng, J., Ni, Q., Sun, W., Li, L., & Feng, X. (2022). The links between gut microbiota and obesity and obesity related diseases. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 147, 112678. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112678>
79. Torres-Fuentes, C., Schellekens, H., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2017). The microbiota-gut-brain axis in obesity. *The lancet. Gastroenterology & hepatology*, 2(10), 747–756. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(17\)30147-4](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(17)30147-4)

80. Fontané, L., Benaiges, D., Goday, A., Llauradó, G., & Pedro-Botet, J. (2018). Influence of the microbiota and probiotics in obesity. *Influencia de la microbiota y de los probióticos en la obesidad. Clinica e investigacion en arteriosclerosis : publicacion oficial de la Sociedad Espanola de Arteriosclerosis*, 30(6), 271–279. <https://doi.org/10.1016/j.arteri.2018.03.004>
81. Gomes, A. C., Hoffmann, C., & Mota, J. F. (2018). The human gut microbiota: Metabolism and perspective in obesity. *Gut microbes*, 9(4), 308–325. <https://doi.org/10.1080/19490976.2018.1465157>
82. Sanmiguel, C., Gupta, A., & Mayer, E. A. (2015). Gut Microbiome and Obesity: A Plausible Explanation for Obesity. *Current obesity reports*, 4(2), 250–261. <https://doi.org/10.1007/s13679-015-0152-0>
83. Moraes, J. C., Coope, A., Morari, J., Cintra, D. E., Roman, E. A., Pauli, J. R., Romanatto, T., Carvalheira, J. B., Oliveira, A. L., Saad, M. J., & Velloso, L. A. (2009). High-fat diet induces apoptosis of hypothalamic neurons. *PLoS one*, 4(4), e5045. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005045>
84. Nakandakari SC, Muñoz VR, Kuga GK, Gaspar RC, Sant'Ana MR, Pavan ICB, da Silva LGS, Morelli AP, Simabuco FM, da Silva ASR, de Moura LP, Ropelle ER, Cintra DE, Pauli JR. Short-term high-fat diet modulates several inflammatory, ER stress, and apoptosis markers in the hippocampus of young mice. *Brain Behav Immun*. 2019; 79:284–93. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2019.02.016> PMID:30797044
85. Xu, C. J., Li, M. Q., Li-Zhao, Chen, W. G., & Wang, J. L. (2021). Short-term high-fat diet favors the appearances of apoptosis and gliosis by activation of ERK1/2/p38MAPK pathways in brain. *Aging*, 13(19), 23133–23148. <https://doi.org/10.18632/aging.203607>
86. Lyu, P., Huang, Z., Feng, Q., Su, Y., Zheng, M., Hong, Y., Cai, X., & Lu, Z. (2020). Unveiling the transcriptome alteration of POMC neuron in diet-induced obesity. *Experimental cell research*, 389(1), 111848. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2020.111848>
87. Qin S, Sun D, Zhang C, Tang Y, Zhou F, Zheng K, Tang R, Zheng Y. Downregulation of sonic hedgehog signaling in the hippocampus leads to neuronal apoptosis in high-fat diet-fed mice. *Behav Brain Res*. 2019; 367:91–100. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.03.055> PMID:3094051
88. Hou J, Jeon B, Baek J, Yun Y, Kim D, Chang B, Kim S, Kim S. High fat diet-induced brain damaging effects through autophagy-mediated senescence, inflammation and apoptosis mitigated by ginsenoside F1-enhanced mixture. *J Ginseng Res*. 2022 Jan;46(1):79-90. doi: 10.1016/j.jgr.2021.04.002. Epub 2021 Apr 16. PMID: 35058728; PMCID: PMC8753566.
89. Shruthi, K., Reddy, S. S., Reddy, P. Y., Shivalingam, P., Harishankar, N., & Reddy, G. B. (2016). Amelioration of neuronal cell death in a spontaneous obese rat model by dietary restriction through modulation of ubiquitin proteasome system. *The Journal of nutritional biochemistry*, 33, 73–81. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2016.03.008>
90. Bertheloot, D., Latz, E., & Franklin, B. S. (2021). Necroptosis, pyroptosis and apoptosis: an intricate game of cell death. *Cellular & molecular immunology*, 18(5), 1106–1121. <https://doi.org/10.1038/s41423-020-00630-3>
91. Cheng, X., & Ferrell, J. E., Jr (2018). Apoptosis propagates through the cytoplasm as trigger waves. *Science (New York, N.Y.)*, 361(6402), 607–612. <https://doi.org/10.1126/science.aah4065>
92. D'Arcy M. S. (2019). Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. *Cell biology international*, 43(6), 582–592. <https://doi.org/10.1002/cbin.11137>
93. Fricker M, Tolkovsky AM, Borutaite V, Coleman M, Brown GC. Neuronal Cell Death. *Physiol Rev*. 2018 Apr 1;98(2):813-880. doi: 10.1152/physrev.00011.2017. PMID: 29488822; PMCID: PMC5966715.
94. Xu, X., Lai, Y., & Hua, Z. C. (2019). Apoptosis and apoptotic body: disease message and therapeutic target potentials. *Bioscience reports*, 39(1), BSR20180992. <https://doi.org/10.1042/BSR20180992>
95. Julien, O., Wells, J. Caspases and their substrates. *Cell Death Differ* 24, 1380–1389 (2017). <https://doi.org/10.1038/cdd.2017.44>

96. Alnemri, E.S., Livingston, D.J., Nicholson, D.W., Salvesen, G., Thornberry, N.A., Wong, W.W. and Yuan, J. (1996) Human ICE/CED-3 Protease Nomenclature. *Cell*, 87, 171. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81334-3](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81334-3)
97. Connolly, P., Garcia-Carpio, I., & Villunger, A. (2020). Cell-Cycle Cross Talk with Caspases and Their Substrates. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 12(6), a036475. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a036475>
98. Green D. R. (2022). Caspases and Their Substrates. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 14(3), a041012. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a041012>
99. Molla MD, Akalu Y, Geto Z, Dagneb B, Ayelign B, Shibabaw T. Role of Caspase-1 in the Pathogenesis of Inflammatory-Associated Chronic Noncommunicable Diseases. *J Inflamm Res*. 2020;13:749-764. <https://doi.org/10.2147/JIR.S277457>
100. Denes, A., Lopez-Castejon, G. & Brough, D. Caspase-1: is IL-1 just the tip of the ICEberg?. *Cell Death Dis* 3, e338 (2012). <https://doi.org/10.1038/cddis.2012.86>
101. Robert V. Talanian, Hamish J. Allen. Chapter 27 - Roles of Caspases in Inflammation and Apoptosis: Prospects as Drug Discovery Targets. Editor(s): James A. Bristol. *Annual Reports in Medicinal Chemistry*, Academic Press, Volume 33, 1998, Pages 273-282, ISSN 0065-7743, ISBN 9780120405336, [https://doi.org/10.1016/S0065-7743\(08\)61092-1](https://doi.org/10.1016/S0065-7743(08)61092-1). (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0065774308610921>).
102. Sun, Q., & Scott, M. J. (2016). Caspase-1 as a multifunctional inflammatory mediator: noncytokine maturation roles. *Journal of leukocyte biology*, 100(5), 961–967. <https://doi.org/10.1189/jlb.3MR0516-224R>
103. Sollberger, G., Strittmatter, G. E., Garstkiewicz, M., Sand, J., & Beer, H. D. (2014). Caspase-1: the inflammasome and beyond. *Innate immunity*, 20(2), 115–125. <https://doi.org/10.1177/1753425913484374>
104. Molla MD, Ayelign B, Dessie G, Geto Z, Admasu TD. Caspase-1 as a regulatory molecule of lipid metabolism. *Lipids Health Dis*. 2020 Mar 6;19(1):34. doi: 10.1186/s12944-020-01220-y. PMID: 32143623; PMCID: PMC7060649.
105. Pan, Y., Cai, W., Huang, J., Cheng, A., Wang, M., Yin, Z., & Jia, R. (2022). Pyroptosis in development, inflammation and disease. *Frontiers in immunology*, 13, 991044. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.991044>
106. Asadi, M., Taghizadeh, S., Kaviani, E., Vakili, O., Taheri-Anganeh, M., Tahamtan, M., & Savardashtaki, A. (2022). Caspase-3: Structure, function, and biotechnological aspects. *Biotechnology and applied biochemistry*, 69(4), 1633–1645. <https://doi.org/10.1002/bab.2233>
107. Lei, Q., Huang, X., Zheng, L., Zheng, F., Dong, J., Chen, F., & Zeng, W. (2022). Biosensors for Caspase-3: From chemical methodologies to biomedical applications. *Talanta*, 240, 123198. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.123198>
108. Eskandari, E., & Eaves, C. J. (2022). Paradoxical roles of caspase-3 in regulating cell survival, proliferation, and tumorigenesis. *The Journal of cell biology*, 221(6), e202201159. <https://doi.org/10.1083/jcb.202201159>
109. Li, M. L., Dong, M. M., Huang, C. J., Xu, X. H., & Zhou, G. P. (2022). Zhen ci yan jiu = Acupuncture research, 47(5), 422–427. <https://doi.org/10.13702/j.1000-0607.20210788>
110. Jun, HK., Jung, YJ., Ji, S. et al. Caspase-4 activation by a bacterial surface protein is mediated by cathepsin G in human gingival fibroblasts. *Cell Death Differ* 25, 380–391 (2018). <https://doi.org/10.1038/cdd.2017.167>
111. Zamyatina, A., & Heine, H. (2020). Lipopolysaccharide Recognition in the Crossroads of TLR4 and Caspase-4/11 Mediated Inflammatory Pathways. *Frontiers in immunology*, 11, 585146. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.585146>
112. Wandel, M. P., Kim, B. H., Park, E. S., Boyle, K. B., Nayak, K., Lagrange, B., Herod, A., Henry, T., Zilbauer, M., Rohde, J., MacMicking, J. D., & Randow, F. (2020). Guanylate-binding proteins convert cytosolic bacteria into caspase-4 signaling platforms. *Nature immunology*, 21(8), 880–891. <https://doi.org/10.1038/s41590-020-0697-2>
113. Shao G, Wang L, Wang X, Fu C. Apaf-1/caspase-4 pyroptosome: a mediator of mitochondrial permeability transition-triggered pyroptosis. *Signal Transduct Target Ther*. 2021 Mar 9;6(1):116. doi: 10.1038/s41392-021-00524-4. PMID: 33750760; PMCID: PMC7943558.

114. Xu, W., Che, Y., Zhang, Q., Huang, H., Ding, C., Wang, Y., Wang, G., Cao, L., & Hao, H. (2021). Apaf-1 Pyroptosome Senses Mitochondrial Permeability Transition. *Cell metabolism*, 33(2), 424–436. e10. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.11.018>
115. Zheng M, Karki R, Vogel P, Kanneganti TD. Caspase-6 Is a Key Regulator of Innate Immunity, Inflammasome Activation, and Host Defense. *Cell*. 2020 Apr 30;181(3):674-687.e13. doi: 10.1016/j.cell.2020.03.040. Epub 2020 Apr 15. PMID: 32298652; PMCID: PMC7425208.
116. Godefroy N, Foveau B, Albrecht S, Goodyer CG, LeBlanc AC. Expression and activation of caspase-6 in human fetal and adult tissues. *PLoS One*. 2013 Nov 12;8(11):e79313. doi: 10.1371/journal.pone.0079313. PMID: 24265764; PMCID: PMC3827169.
117. Yao Y, Shi Q, Chen B, Wang Q, Li X, Li L, Huang Y, Ji J, Shen P. Identification of Caspase-6 as a New Regulator of Alternatively Activated Macrophages. *J Biol Chem*. 2016 Aug 12;291(33):17450-66. doi: 10.1074/jbc.M116.717868. Epub 2016 Jun 20. PMID: 27325699; PMCID: PMC5016141.
118. Noël A, Zhou L, Foveau B, Sjöström PJ, LeBlanc AC. Differential susceptibility of striatal, hippocampal and cortical neurons to Caspase-6. *Cell Death Differ*. 2018 Jul;25(7):1319-1335. doi: 10.1038/s41418-017-0043-x. Epub 2018 Jan 19. PMID: 29352267; PMCID: PMC6030053.
119. Kostova I, Mandal R, Becker S, Strebhardt K. The role of caspase-8 in the tumor microenvironment of ovarian cancer. *Cancer Metastasis Rev*. 2021 Mar;40(1):303-318. doi: 10.1007/s10555-020-09935-1. Epub 2020 Oct 7. PMID: 33026575; PMCID: PMC7897206.
120. Salvesen GS, Walsh CM. Functions of caspase 8: the identified and the mysterious. *Semin Immunol*. 2014 Jun;26(3):246-52. doi: 10.1016/j.smim.2014.03.005. Epub 2014 May 21. PMID: 24856110; PMCID: PMC4099255.
121. Zhao Y, Sui X, Ren H. From procaspase-8 to caspase-8: revisiting structural functions of caspase-8. *J Cell Physiol*. 2010 Nov;225(2):316-20. doi: 10.1002/jcp.22276. PMID: 20568107.
122. Monie TP, Bryant CE. Caspase-8 functions as a key mediator of inflammation and pro-IL-1 β processing via both canonical and non-canonical pathways. *Immunol Rev*. 2015 May;265(1):181-93. doi: 10.1111/imr.12284. PMID: 25879293.
123. Han JH, Park J, Kang TB, Lee KH. Regulation of Caspase-8 Activity at the Crossroads of Pro-Inflammation and Anti-Inflammation. *Int J Mol Sci*. 2021 Mar 24;22(7):3318. doi: 10.3390/ijms22073318. PMID: 33805003; PMCID: PMC8036737.
124. Jiang M, Qi L, Li L, Wu Y, Song D, Li Y. Caspase-8: A key protein of cross-talk signal way in "PANoptosis" in cancer. *Int J Cancer*. 2021 Oct 1;149(7):1408-1420. doi: 10.1002/ijc.33698. Epub 2021 May 29. PMID: 34028029.
125. Newton K, Wickliffe KE, Maltzman A, Dugger DL, Reja R, Zhang Y, Roose-Girma M, Modrusan Z, Sagolla MS, Webster JD, Dixit VM. Activity of caspase-8 determines plasticity between cell death pathways. *Nature*. 2019 Nov;575(7784):679-682. doi: 10.1038/s41586-019-1752-8. Epub 2019 Nov 13. PMID: 31723262.
126. Orning P, Lien E. Multiple roles of caspase-8 in cell death, inflammation, and innate immunity. *J Leukoc Biol*. 2021 Jan;109(1):121-141. doi: 10.1002/JLB.3MR0420-305R. Epub 2020 Jun 12. PMID: 32531842; PMCID: PMC8664275.
127. An HK, Chung KM, Park H, Hong J, Gim JE, Choi H, Lee YW, Choi J, Mun JY, Yu SW. CASP9 (caspase 9) is essential for autophagosome maturation through regulation of mitochondrial homeostasis. *Autophagy*. 2020 Sep;16(9):1598-1617. doi: 10.1080/15548627.2019.1695398. Epub 2019 Dec 10. PMID: 31818185; PMCID: PMC8386608.
128. Allan LA, Clarke PR. Apoptosis and autophagy: Regulation of caspase-9 by phosphorylation. *FEBS J*. 2009 Nov;276(21):6063-73. doi: 10.1111/j.1742-4658.2009.07330.x. Epub 2009 Sep 29. PMID: 19788417.
129. Hu Q, Wu D, Chen W, Yan Z, Yan C, He T, Liang Q, Shi Y. Molecular determinants of caspase-9 activation by the Apaf-1 apoptosome. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014 Nov 18;111(46):16254-61. doi: 10.1073/pnas.1418000111. Epub 2014 Oct 13. PMID: 25313070; PMCID: PMC4246342.

130. Twiddy D, Cain K. Caspase-9 cleavage, do you need it? *Biochem J.* 2007 Jul 1;405(1):e1-2. doi: 10.1042/BJ20070617. PMID: 17555401; PMCID: PMC1925255.
131. Gómez-Apo E, García-Sierra A, Silva-Pereyra J, Soto-Abraham V, Mondragón-Maya A, Velasco-Vales V, Pescatello LS. A Postmortem Study of Frontal and Temporal Gyri Thickness and Cell Number in Human Obesity. *Obesity (Silver Spring).* 2018 Jan;26(1):94-102. doi: 10.1002/oby.22036. Epub 2017 Nov 13. PMID: 29131517.
132. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2021, 220804_Ensa21_digital_4ago.pdf (insp.mx)
133. Gaidt MM, Ebert TS, Chauhan D, Schmidt T, Schmid-Burgk JL, Rapino F, Robertson AA, Cooper MA, Graf T, Hornung V. Human Monocytes Engage an Alternative Inflammasome Pathway. *Immunity.* 2016 Apr 19;44(4):833-46. doi: 10.1016/j.immuni.2016.01.012. Epub 2016 Mar 29. PMID: 27037191.
134. Zhang WH, Wang X, Narayanan M, Zhang Y, Huo C, Reed JC, Friedlander RM. Fundamental role of the Rip2/caspase-1 pathway in hypoxia and ischemia-induced neuronal cell death. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003 Dec 23;100(26):16012-7. doi: 10.1073/pnas.2534856100. Epub 2003 Dec 8. Erratum in: *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004 Feb 3;101(5):1426. PMID: 14663141; PMCID: PMC307684.
135. Gurung, P., Lukens, J. R., & Kanneganti, T. D. (2015). Mitochondria: diversity in the regulation of the NLRP3 inflammasome. *Trends in molecular medicine*, 21(3), 193–201. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2014.11.008>
136. Angelis D, Fontánez Nieves TD, Delivoria-Papadopoulos M. Temporal Changes in Caspase-1 and Caspase-8 Activities Following Brain Hypoxia With and Without Src kinase Inhibition in a Piglet Animal Model. *Neurochem Res.* 2015 Nov;40(11):2270-9. doi: 10.1007/s11064-015-1717-8. Epub 2015 Sep 5. PMID: 26342830.
137. Debnath, M., Agrawal, S., Agrawal, A., & Dubey, G. P. (2016). Metaflammatory responses during obesity: Pathomechanism and treatment. *Obesity research & clinical practice*, 10(2), 103–113. <https://doi.org/10.1016/j.orcp.2015.10.012>
138. Tyagi A, Nguyen CU, Chong T, Michel CR, Fritz KS, Reisdorph N, Knaub L, Reusch JEB, Pugazhenth S. SIRT3 deficiency-induced mitochondrial dysfunction and inflammasome formation in the brain. *Sci Rep.* 2018 Dec 3;8(1):17547. doi: 10.1038/s41598-018-35890-7. PMID: 30510203; PMCID: PMC6277395.
139. Huang Y, Xu W, Zhou R. NLRP3 inflammasome activation and cell death. *Cell Mol Immunol.* 2021 Sep;18(9):2114-2127. doi: 10.1038/s41423-021-00740-6. Epub 2021 Jul 28. PMID: 34321623; PMCID: PMC8429580.
140. Saxena M, Yeretssian G. NOD-Like Receptors: Master Regulators of Inflammation and Cancer. *Front Immunol.* 2014 Jul 14;5:327. doi: 10.3389/fimmu.2014.00327. PMID: 25071785; PMCID: PMC4095565.
141. Zheng D, Liwinski T, Elinav E. Inflammasome activation and regulation: toward a better understanding of complex mechanisms. *Cell Discov.* 2020 Jun 9;6:36. doi: 10.1038/s41421-020-0167-x. PMID: 32550001; PMCID: PMC7280307.
142. Raneros AB, Bernet CR, Flórez AB, Suarez-Alvarez B. An Epigenetic Insight into NLRP3 Inflammasome Activation in Inflammation-Related Processes. *Biomedicines.* 2021 Nov 4;9(11):1614. doi: 10.3390/biomedicines9111614. PMID: 34829842; PMCID: PMC8615487.
143. Russo AJ, Behl B, Banerjee I, Rathinam VAK. Emerging Insights into Noncanonical Inflammasome Recognition of Microbes. *J Mol Biol.* 2018;430(2):207-216. doi:10.1016/j.jmb.2017.10.003
144. Motta V, Soares F, Sun T, Philpott DJ. NOD-like receptors: versatile cytosolic sentinels. *Physiol Rev.* 2015 Jan;95(1):149-78. doi: 10.1152/physrev.00009.2014. PMID: 25540141.
145. Kelley N, Jeltema D, Duan Y, He Y. The NLRP3 Inflammasome: An Overview of Mechanisms of Activation and Regulation. *Int J Mol Sci.* 2019 Jul 6;20(13):3328. doi: 10.3390/ijms20133328. PMID: 31284572; PMCID: PMC6651423.
146. Próchnicki T, Mangan MS, Latz E. Recent insights into the molecular mechanisms of the NLRP3 inflammasome activation. *F1000Res.* 2016 Jun 22;5:F1000 Faculty Rev-1469. doi: 10.12688/f1000research.8614.1. PMID: 27508077; PMCID: PMC4963208.

147. Swanson KV, Deng M, Ting JP. The NLRP3 inflammasome: molecular activation and regulation to therapeutics. *Nat Rev Immunol.* 2019 Aug;19(8):477-489. doi: 10.1038/s41577-019-0165-0. PMID: 31036962; PMCID: PMC7807242.
148. Yabal M, Calleja DJ, Simpson DS, Lawlor KE. Stressing out the mitochondria: Mechanistic insights into NLRP3 inflammasome activation. *J Leukoc Biol.* 2019 Feb;105(2):377-399. doi: 10.1002/JLB.MR0318-124R. Epub 2018 Dec 27. PMID: 30589456.
149. Fusco R, Siracusa R, Genovese T, Cuzzocrea S, Di Paola R. Focus on the Role of NLRP3 Inflammasome in Diseases. *Int J Mol Sci.* 2020 Jun 13;21(12):4223. doi: 10.3390/ijms21124223. PMID: 32545788; PMCID: PMC7352196.
150. Jiang C, Xie S, Yang G, Wang N. Spotlight on NLRP3 Inflammasome: Role in Pathogenesis and Therapies of Atherosclerosis. *J Inflamm Res.* 2021 Dec 21;14:7143-7172. doi: 10.2147/JIR.S344730. PMID: 34992411; PMCID: PMC8711145.
151. Molla MD, Akalu Y, Geto Z, Dagnew B, Ayelign B, Shibabaw T. Role of Caspase-1 in the Pathogenesis of Inflammatory-Associated Chronic Noncommunicable Diseases. *J Inflamm Res.* 2020 Oct 20;13:749-764. doi: 10.2147/JIR.S277457. PMID: 33116753; PMCID: PMC7585796.
152. Sören Reinke, Mary Linge, Hans H. Diebner, Hella Luksch, Silke Glage, Anne Gocht, Avril A.B. Robertson, Matthew A. Cooper, Sigrun R. Hofmann, Ronald Naumann, Mihail Sarov, Rayk Behrendt, Axel Roers, Frank Pessler, Joachim Roesler, Angela Rösen-Wolff, Stefan Winkler. Non-canonical Caspase-1 Signaling Drives RIP2-Dependent and TNF- α -Mediated Inflammation In Vivo. *Cell Reports*, Volume 30, Issue 8, 2020, Pages 2501-2511.e5, ISSN 2211-1247, <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.01.090>.