



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

TITULO
PAPEL DEL LPS CIRCULANTE EN LA INFLAMACIÓN SISTÉMICA Y EL
DETERIORO COGNITIVO ASOCIADO EN DOS MODELOS DE OBESIDAD

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO



PRESENTA:
DIEGO RODRÍGUEZ RETANA

México, Ciudad de México.

2020



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

Jurado asignado

Sitio donde se desarrolló el tema: El presenta trabajo fue desarrollado en la Unidad de Medicina Experimental en el Laboratorio de Neuroinmunología, Hospital General de México, Dr. Eduardo Liceaga.

ASESOR DEL TEMA:

Dra. Anahí Chavarría Krauser

(Nombre y Firma)

SUSTENTANTE:

Diego Rodríguez Retana

(Nombre y Firma)

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer en primer lugar a mi tutora Anahí por aceptarme y recibirme en su laboratorio y orientarme con sus conocimientos a través de cada una de las etapas de este proyecto para alcanzar resultados.

También quiero agradecer a la Facultad de Química por brindarme todos los recursos y herramientas para la resolución de problemas, que he logrado demostrar en mi empleo.

Agradezco a mi madre, María Teresa Retana Reyes por darme todo su cariño y apoyo a lo largo de tantos años, por darme una educación y nunca rendirse ante cualquier adversidad, a mi tío Moisés Retana Reyes por ser un padre para mí, gracias a todo el apoyo indirecto y directo que me ha brindado, Que Dios te lo pague, y a mi Hermano, Carlos Omar Retana Reyes por ser mi hermano, a pesar de la diferencia de edades.

Agradezco a toda mi familia cercana por todo su apoyo y tiempo que he podido pasar con ustedes, al igual que las enseñanzas que he aprendido estando a su lado.

Agradezco a mis amigos Alvaro Zacarías, Juan Pablo Díaz, Carlos Marín y Andrés Burgos por ser las personas que son, por las horas de diversión, por sus consejos y por sus años de amistad que me han dado.

A Evelyn Mayela Galicia Robles, a ti te agradezco por diferentes motivos, por enseñarme a bailar, por ser una persona con un corazón de oro, de tus actitudes y pensamientos inculcaste en mí el deber de la obligación, pero también de la relajación, por abrirme tú corazón, gracias por todo el tiempo que me regalaste y me brindaste incondicionalmente. Espero que tengas un camino lleno de muchos éxitos. Cuídate pequeña.

Finalmente quiero agradecer por el financiamiento del proyecto Ciencia de Frontera 2019 de CONACYT (263957), ya que sin su apoyo no se podría haber logrado este proyecto.

ABREVIATURAS

OMS: Organización Mundial de la Salud

IMC: índice de Masa Corporal

TAB: Tejido Adiposo Blanco

TAP: Tejido Adiposo Pardo

VEGF: Factor de crecimiento endotelial vascular

FA: Fuentes de ácidos grasos ácidos grasos libres

FFA: Ácidos grasos libres

HIF: Factores principales inducibles de hipoxia

SCFA: Ácidos grasos de cadena corta

MAMPs: Patrones moleculares asociado a microorganismo

LPS: Lipopolisacárido

LBP: Proteína de unión a LPS

PRR: Receptores de reconocimiento de patrones

PAMPs: Patrones moleculares asociados a patógenos

DAMPs: Patrones moleculares asociado a daño

TLR: Receptores tipo Toll

SN: Sistema Nervioso

SNC: Sistema Nervioso Central

SNP: Sistema Nervioso Periférico

BDNF: Factor neurotrófico derivado de cerebro

INDICE

1. ANTECEDENTES	2
1.1 OBESIDAD	2
1.2 TIPOS DE TEJIDO ADIPOSO	3
2. MICROBIOTA.....	9
2.1 MICROBIOTA EN LA OBESIDAD	11
3. INFLAMACIÓN SISTÉMICA	12
4. SISTEMA NERVIOSO CENTRAL	14
4.1 Neuronas	14
4.2 Astroцитos.....	15
4.3 Microglia.....	15
4.4 Oligodendrocitos	16
4.5 Ependimocitos.....	16
5. NEUROINFLAMACIÓN ASOCIADA A LA OBESIDAD	16
6. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	18
7. JUSTIFICACIÓN	19
8. HIPOTESIS	19
9. OBJETIVOS	19
9.1 GENERAL.....	19
9.2 PARTICULARES	19
10. METODOLOGÍA.....	19
11. RESULTADOS	23
12. DISCUSIÓN	30
13. CONCLUSIONES	34
14. REFERENCIAS	34

1. ANTECEDENTES

1.1 OBESIDAD

La obesidad hoy en día se ha convertido en un problema de salud pública, ya que ha alcanzado niveles pandémicos. En el año 2016 más de 1.9 mil millones de adultos mayores de 18 años tenían sobrepeso y obesidad, y de éstos más de 650 millones eran obesos [1]. Si la incidencia sigue aumentando con la misma rapidez, se estima que para el año 2030 la mitad de la población del planeta Tierra serán obesos [2].

En México de acuerdo a la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición en 2016, la prevalencia de sobrepeso y obesidad fue de 72.5% [3], colocando a México en el segundo lugar a nivel mundial con obesidad y sobrepeso en el adulto. Esto representa un gran problema para el sector de la salud, ya que los gastos públicos para esta enfermedad y sus complicaciones son elevados; por ejemplo, en el año 2008 tuvo un costo de alrededor de 67,000 millones de pesos [3]. La obesidad es la responsable de 2.8 millones de muertes anuales a nivel mundial, esto corresponde al 5% de las muertes globales [4].

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a la obesidad como la acumulación excesiva de grasa corporal que perjudica a la salud [1]. Esta patología tradicionalmente se ha asociado a una ingesta excesiva de calorías e inactividad física. Sin embargo, esta enfermedad es más compleja de lo que se pensaba y tiene gran impacto en la mayoría de las enfermedades metabólicas crónicas.

Para el diagnóstico del sobrepeso y obesidad se utiliza el índice de masa corporal (IMC), el cual se obtiene dividiendo el peso de una persona en kilos entre el cuadrado de su talla en metros. Esta fórmula permite clasificar la obesidad y el sobrepeso (**Tabla 1**), siendo una herramienta práctica para la monitorización de la obesidad [1].

Clasificación	IMC (Kg/m ²)	Riesgo de comorbilidades
Bajo Peso	< 18.5	Baja

Normopeso	18.5-24.9	Promedio
Sobrepeso	25.0-29.9	Medio
Obesidad	≥ 30.0	
Grado I	30.0-34.9	Moderada
Grado II	35.0-39.9	Severa
Grado III	≥ 40.0	Muy severa

Tabla 1. Clasificación del peso corporal de acuerdo al IMC según la OMS.

La obesidad se considera una enfermedad sistémica, multiorgánica, metabólica, inflamatoria, crónica y multifactorial determinada por la interacción entre los factores genómicos y ambientales, que fenotípicamente se expresa por un exceso de grasa corporal, que conlleva a un mayor riesgo de comorbilidades [5].

La obesidad tenemos que entenderla como una enfermedad crónica multifactorial que se desarrolla por una alteración de la función correcta del tejido adiposo [5].

1.2 TIPOS DE TEJIDO ADIPOSEO

El tejido adiposo es complejo y heterogéneo compuesto por distintas células y con diversas funciones por lo que se clasifica en dos subtipos: tejido adiposo blanco (TAB) y tejido adiposo pardo (TAP) [5]. Algunas de las funciones del tejido adiposo de forma general son: el almacenamiento de energía en forma de lípidos y la liberación de los mismos en situaciones de necesidad energética, también participa de forma indirecta en la regulación del catabolismo de lípidos en diferentes tejidos por la liberación de adipocinas, regulación de la temperatura corporal, en la regulación del metabolismo del colesterol y presenta funciones endocrinas como la liberación de la leptina que participa en regular la saciedad

[6]. En otras palabras, el tejido adiposo se encarga de almacenar triglicéridos como fuente de energía y regular procesos metabólicos [5].

1.2.1 Tejido adiposo blanco

El TAB almacena la energía del organismo, además también se le atribuye la protección mecánica para algunos órganos vitales [7]. Los adipocitos maduros presentan una morfología unilocular, redondeada, poseen una sola gota de grasa que abarca prácticamente todo el citoplasma. Los adipocitos muestran un perfil de expresión para la síntesis de triglicéridos, captación de glucosa, lipogénesis y lipólisis, esto permite que cuando el aporte de energía es excesivo se deposite dentro de los adipocitos [7]. Por estas características el TAB está asociado a un mayor riesgo de generar obesidad y desórdenes metabólicos [8]. Por otro lado, en una situación de escasez de ingesta energética el TAB moviliza los depósitos de lípidos liberando ácidos grasos a la sangre para que sean transportados a los tejidos, donde serán oxidados para obtener energía [7].

El TAB se había considerado como un tejido de poca actividad, sin embargo, hoy esto ha cambiado, ya que se ha descrito que libera numerosos factores, no solo lipídicos, sino también proteicos que participan en el metabolismo del organismo y también presenta una función endocrina [7]. Los componentes proteicos secretados presentan funciones y estructuras distintas; varias de estas moléculas están relacionadas con el sistema inmunológico como las citocinas TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-4, IL-13, IL-10, TGF- β y MCP-1, esto ha permitido establecer una relación entre la inflamación y la obesidad [7]. Otras proteínas liberadas por el TAB son las adipocinas que incluyen a la leptina, que participa en la regulación de la ingesta y balance energético; la adiponectina, resistina y visfatina que participan en la homeostasis de la glucosa, las cuales juegan un papel de suma importancia en el metabolismo, y el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) que participa en la angiogénesis [7].

En humanos, el TAB se encuentra en diferentes localizaciones, pero en la zona intra-abdominal hay mayores depósitos de grasa en el omento, mesenterio y áreas retroperitoneales; a nivel subcutáneo se localiza en glúteos, muslos y abdomen. También hay otras áreas en donde existe el TAB como el pericardio, periarticular, retro-orbital, médula ósea y cara [7]. Las distintas localizaciones del TAB presentan características

endocrinas y metabólicas diferentes, además de que pueden ser más sensibles a diversos estímulos por el microambiente que les rodea. Por ejemplo, el TAB presente en la espalda y cuello es más sensible a glucocorticoides, el visceral es más propenso a la secreción de adipocinas relacionadas con un proceso inflamatorio, mientras que el tejido subcutáneo muestra un menor perfil secretorio de adipocinas pro-inflamatorias [7].

En condiciones fisiológicas el TAB tiene dos actividades metabólicas primordiales que son la lipógenesis, que involucra el almacenamiento y la síntesis de ácidos grasos, y la segunda es la lipólisis que es la movilización y la ruptura de triglicéridos. Estas dos actividades se encuentran reguladas por mecanismos endocrinos y neurales para mantener la cantidad de grasa corporal en condiciones normales [9-10].

El almacenamiento de ácidos grasos o lipogénesis se da como se describe a continuación. Las fuentes de ácidos grasos (FA) pueden obtenerse como ácidos grasos libres (FFA) transportados en circulación a través de la albumina o de la hidrólisis de lipoproteínas o de quilomicrones por lipasas presentes en los endotelios vasculares [9]. Los adipocitos presentan transportadores de ácidos grasos para introducir los ácidos grasos dentro de los adipocitos. Una vez adentro los ácidos grasos se esterifican con acetil coenzima A (CoA) para formar acil-CoA y posteriormente se transportan a sitios para la esterificación con glicerol-3-fosfato en el retículo endoplásmico para formar triglicéridos o triacilgliceroles [9-10]. La síntesis de ácidos grasos puede ocurrir tanto en hígado como en el tejido adiposo. Esta lipogénesis ocurre cuando el acetil-CoA se carboxila en malonil-CoA. La molécula de malonil-CoA y acetil-CoA permite que la cadena hidrocarbonada de ácidos grasos se alargue formando ácido grasos [10]. En otro sitio de la célula se lleva a cabo la producción de glicerol-3-fosfato mediante la vía metabólica llamada gliceroneogénesis, ya que el glicerol-3-fosfato y los ácidos grasos sintetizados se esterifican para formar triacilgliceroles mediante una serie de reacciones enzimáticas y con esto favorecer el almacenamiento de los ácidos grasos. La lipogénesis está regulada de forma nutricional y endocrina [9-10]. La regulación nutricional consiste en que el consumo excesivo de carbohidratos estimula la lipogénesis tanto en hígado como en el TAB, y durante el ayuno la capacidad de formar acetil-CoA se ve limitada por la falta de glucosa. Por otro lado, la regulación de la lipogénesis endocrina se ve favorecida por la insulina, ya que permite la captación de glucosa y la activación de enzimas lipogénicas y glucolíticas favoreciendo la lipogénesis. La hormona del crecimiento disminuye la lipogénesis, lo que resulta en la pérdida de grasa y

finalmente la leptina también participa en la inhibición de la lipogénesis, además de que tiene interacción a nivel cerebral para el control de la saciedad [9]. El proceso de lipogénesis se muestra en la **Imagen 1**.

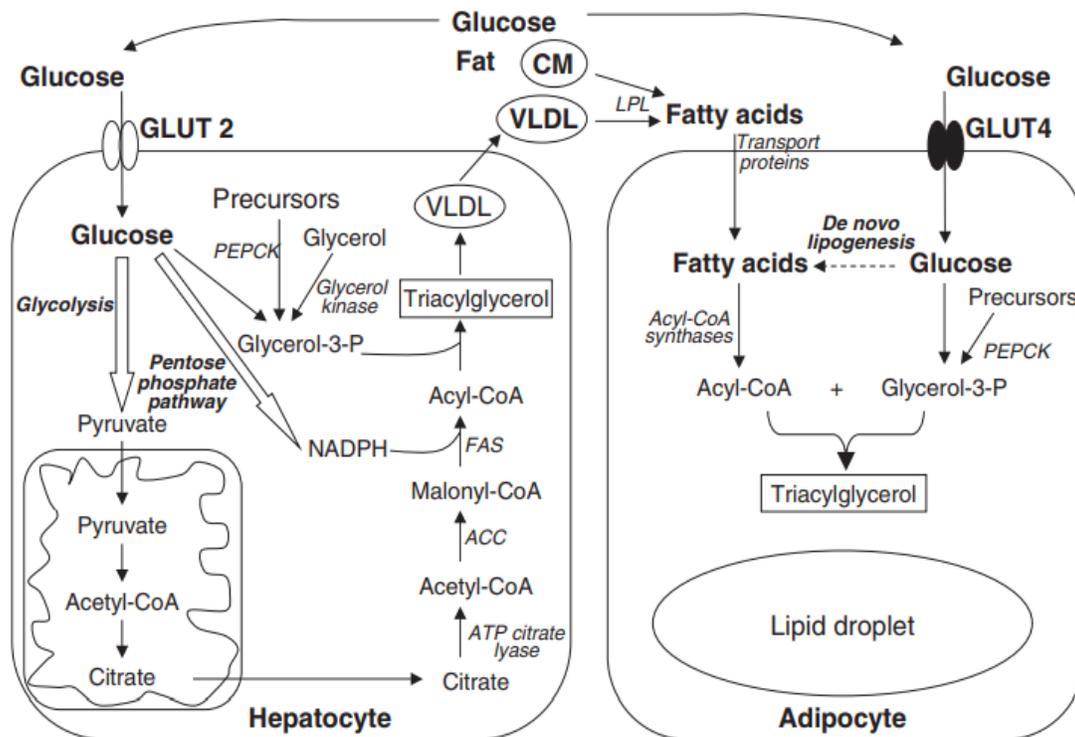


Figura 1. Resumen de la lipogénesis en hepatocitos y adipocitos. La imagen fue tomada de Palou A, Bonet M L, 2007.

En las circunstancias de privación de nutrientes, como cuando hacemos ejercicio físico, se favorece la lipólisis de los triglicéridos que fueron almacenados en el TAB [9]. La lipólisis es el proceso por el cual se van a liberar ácidos grasos libres a circulación sanguínea para que los diferentes tejidos u órganos los usen como fuente de energía, pero para que suceda esto se requiere una serie de eventos extracelulares e intracelulares mediada por mensajeros químicos [11].

1.2.2 Tejido adiposo pardo

El TAP es la parte antagónica del TAB, ya que se encarga de metabolizar los ácidos grasos a energía en forma de calor. Sus células se caracterizan por ser multiloculares, es decir, contienen numerosas pequeñas gotas de lípidos en su citoplasma y presentan múltiples mitocondrias. El TAP cumple la función de metabolizar los ácidos grasos produciendo calor, esto se debe a su elevada cantidad de proteína desacopladora-1 (UCP-1), la cual se ubica

en las crestas mitocondriales, y cuya función es desacoplar la respiración mitocondrial de la síntesis de ATP permitiendo así la generación de calor [7]. Este tejido por lo general solo se encuentra en los mamíferos, ya que participa en el proceso de termorregulación. En el humano, hay una gran cantidad de TAP en fetos y en recién nacidos, sin embargo, su expresión disminuye con la edad [8]. El TAP se ha asociado a un menor riesgo de generar obesidad y desórdenes metabólicos, por lo que actualmente es un blanco molecular para el tratamiento de la obesidad [7, 8].

1.2.3 El tejido adiposo blanco en la obesidad

El TAB no solo se conforma de adipocitos aunque éstas sean las células más abundantes, entre el 60 y 80% en el tejido adiposo subcutáneo y visceral, respectivamente, son células del estroma vascular [7,12]. Las células que conforman al estroma vascular son: preadipocitos, macrófagos, linfocitos T, células madre y células endoteliales. Los macrófagos así como linfocitos T han generado un gran interés por su participación durante el proceso inflamatorio crónico de bajo grado que está presente en la obesidad [13].

En condiciones fisiológicas del TAB, la sensibilidad que presenta hacia la insulina se mantiene a través de macrófagos residentes de clase M2, o activados alternativamente, ya que liberan citocinas anti-inflamatorias como TGF- β e IL-10 favoreciendo la captación de glucosa mediada por la insulina [14]. Esto es de gran importancia ya que en la obesidad existe un mayor número de macrófagos M1, activados clásicamente, infiltrados, lo cual se asocia con una mayor resistencia a la insulina por la secreción de TNF- α [15]. Es importante recalcar que esta liberación de citocinas anti-inflamatorias es principalmente mediada por la liberación de IL-4 e IL-13 por los adipocitos y puede promover la polarización de macrófagos M2, favoreciendo el metabolismo de los lípidos al reducir la inflamación y la resistencia a la insulina [16].

En ratones C57/Bl6 se encontró que en el tejido adiposo abdominal al menos el 10% de todas las células de la fracción del estroma vascular fueron linfocitos T, en una proporción 3:1 de T CD4+ y T CD8+ respectivamente. La mitad de la población de T CD4+ expresaba el factor transcripcional FoxP3, lo que sugiere una participación de linfocitos T reguladores (T reg) liberando citocinas anti-inflamatorias en condiciones fisiológicas, sin embargo, la cantidad de T reg disminuye durante la obesidad [17]. En este mismo estudio se analizó el

tejido adiposo humano y encontraron niveles altos del factor de transcripción FoxP3, corroborando los hallazgos en ratón [17].

Como ya se mencionó previamente la obesidad es una acumulación excesiva de grasa acompañada de una inflamación sistémica crónica de bajo grado [1, 13].

El exceso energético por el tipo de dieta y la falta de actividad física se almacena en los adipocitos [9], sin embargo, si el exceso energético es constante los adipocitos aumentan de tamaño, a este fenómeno se le conoce como hipertrofia. Otro fenómeno que sucede es la hiperplasia, que es un aumento del número de células, esto solo sucede después de la hipertrofia, los preadipocitos se diferencian a adipocitos para compensar la alteración de los adipocitos hipertrofiados y poder mantener un equilibrio homeostático, es decir para aumentar la capacidad de almacenamiento de energía [21].

La hipertrofia no solo es el agrandamiento del adipocito, sino que también es un mecanismo de protección del organismo para defenderlo de la lipotoxicidad [18]. Sin embargo, el exceso de energía sobrepasará la capacidad del adipocito de almacenamiento de los ácidos grasos y esto conducirá a depósitos de éstos en distintos órganos periféricos provocando lipotoxicidad [18]. Los adipocitos hipertrofiados van a provocar que la irrigación sanguínea se vea afectada y con esto la concentración de oxígeno, lo que generará hipoxia tisular [18]. Un ambiente celular con una tensión baja en oxígeno provoca la expresión de genes sensibles a hipoxia que serán regulados con factores transcripcionales como el factor NF- κ B, que es un factor clave en las respuestas inflamatorias, o también de los factores principales inducibles de hipoxia (HIF), que se han descrito como reguladores maestros para la homeostasis del oxígeno [19]. Esto causará que el adipocito cambie su perfil de secreción de adipocinas, así como de citocinas y que entren en estrés celular tanto mitocondrial como a nivel del retículo endoplásmico [63]. Este primer cambio va alterar el microambiente local, ya que el cambio de citocinas como la disminución de IL-4 proveniente de adipocitos provocará [20] que los macrófagos residentes cambien a un fenotipo M1 y produzcan TNF- α , IL-1 β , IL-6 y MCP-1, culminando en un proceso inflamatorio local con la llegada de un mayor número de macrófagos infiltrantes [20].

El estado inflamatorio deja de ser local en el TAB y se vuelve sistémico afectando a los diferentes órganos del individuo. En ratas obesas inducidas con una dieta alta en lípidos se observó que entre la semana 12 y 48 desarrollaron esteatosis hepática no alcohólica y

posteriormente fibrosis por la acumulación de lípidos e infiltración de macrófagos inflamatorios. Este estado puede llevar a una insuficiencia hepática [22] como consecuencia de un ambiente inflamatorio sistémico que se originó en el TAB.

La inflamación sistémica crónica de bajo grado afecta todo el organismo del individuo obeso y también puede afectar estructuras del sistema nervioso central (SNC) como la barrera hematoencefálica (BHE), lo que facilita el desarrollo de procesos neuroinflamatorios que pueden culminar en una neurodegeneración [23]. Este punto se tocará más adelante.

2. MICROBIOTA

La microbiota es el conjunto de microorganismos que habitan en todo el cuerpo, dependiendo del sitio anatómico se hablará de distintos microorganismos y funciones. En el intestino humano hay una inmensidad de microorganismos que colectivamente se les conoce como microbiota intestinal, la cual participa en diversas funciones [24]. Una microbiota intestinal “saludable” está constituida por las especies *Firmicutes*, *Bacteroidetes* principalmente y en menor cantidad por las especies *Proteobacteria* y *Actinobacteria*, sin embargo, esta proporción puede cambiar con la dieta [24].

Las funciones que se han descrito de la microbiota son principalmente metabolismo de nutrientes, fármacos y xenobióticos, protección antimicrobiana, inmunomodulación y mantenimiento de la integridad de la barrera intestinal [24].

La microbiota adquiere sus nutrientes de la dieta. Los carbohidratos que se escaparon de la digestión y los oligosacáridos no digeribles serán fermentados por distintas bacterias como *Bacteroides*, *Bifidobacterium* o *Enterobacteria*, dando lugar a la síntesis de ácidos grasos de cadena corta (SCFA) como butirato, propionato y acetato [24]. La principal función del acetato es participar en la síntesis de colesterol hepático y en la lipogénesis de *novo* [25]. El papel de propionato es un sustrato neoglucogénico en el hígado y favorece la adipogénesis e inhibe la lipólisis, también se ha observado que inhibe la síntesis de colesterol y la lipogénesis de *novo* promovida por el acetato [25]. El butirato provee de energía a las células intestinales y la falta de éste puede alterar la estructura del epitelio intestinal conduciendo a un aumento de la permeabilidad intestinal [25].

Es importante mencionar que la microbiota ocupa receptores que pueden usar las bacterias patógenas para la adhesión y provocar posteriormente daño, funcionando como una barrera microbiológica [24].

En el intestino delgado la microbiota intestinal induce la síntesis de proteínas antimicrobianas como catelicidinas, lectinas de tipo C, entre otros, así como la secreción de moco [24]. Esta liberación de péptidos antimicrobianos se lleva a cabo por el reconocimiento de patrones moleculares asociado a microorganismo (PAMPs) mediado por los receptores de reconocimiento de patrones esto da lugar a la activación de vías de señalización que promueven la secreción de moco y de la producción de los péptidos antimicrobianos [24].

Los *Lactobacillus* también participan en proporcionar actividad antimicrobiana, ya que la producción de ácido láctico además de disminuir el pH para inhibir el crecimiento microbiano y también aumenta la actividad de la lisozima [24].

Otra función de la microbiota intestinal, en particular de los microorganismos gram negativos como *Bacteroides*, es activar células dendríticas que liberan citocinas para que las células plasmáticas secreten anticuerpos de clase IgA que es resistente a la degradación por proteasas bacterianas, controlando así el crecimiento de microorganismo patógenos [24].

Otra de las funciones de la microbiota intestinal es su participación en el mantenimiento del tracto gastrointestinal. *Bacteroides thetaiotaomicron* favorecen la expresión de la prolina 2A para el mantenimiento de los desmosomas en las células epiteliales y con esto la integridad de la barrera intestinal. También la microbiota intestinal favorece la microvasculatura intestinal, ya que induce el factor de transcripción angiogenina 3 [26]. En ratones libres de gérmenes se observó que la red capilar estaba reducida, esto quiere decir que la microbiota intestinal juega un papel de gran importancia en el microambiente químico y estructural del intestino para mantenerlo en las condiciones adecuadas para su funcionamiento [26].

La microbiota del tracto digestivo es de gran importancia para mantener un funcionamiento óptimo de este sistema, sin embargo, una microbiota saludable constituida principalmente por *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacterias* y *Proteobacterias* puede sufrir cambios por

distintos factores como la edad, el estrés, el cigarro, o los hábitos alimenticios y esto puede repercutir en problemas digestivos.

2.1 MICROBIOTA EN LA OBESIDAD

Muchos estudios han relacionado el consumo prolongado de una dieta alta en grasas con los cambios en la microbiota intestinal o la disbiosis intestinal.

Hay mucha evidencia que propone una asociación entre la microbiota intestinal y la regulación del peso corporal, además estos cambios observados en la microbiota intestinal altera las funciones metabólicas de la misma [27]. En un modelo de obesidad en ratones C57BC/6 se comprobó que la dieta alta en grasas primero altera la microbiota intestinal y luego favorece la inflamación [26]. Este estudio demostró que la alteración de la microbiota intestinal fue por un aumento en la proporción de *Firmicutes* con respecto a los *Bacteroidetes* y esta alteración sucedió antes de que existiera un aumento de las citocinas inflamatorias circulantes secretadas por el tejido adiposo [26].

Los cambios en la microbiota intestinal asociados a la dieta alta en lípidos también conduce a un incremento en el peso corporal. Estos cambios fueron acompañados por una elevación de los niveles circulantes de lipopolisacárido (LPS) proveniente de bacterias gram negativas. El aumento de LPS en sangre se denomina "endotoxemia metabólica" [28]. En este mismo estudio se observó que la infusión continua de LPS durante 4 semanas inducía un cuadro similar a la obesidad inducida con una dieta alta en lípidos [28]. Esto ha sugerido que el receptor tipo Toll 4 (TLR-4) tiene un papel en la relación entre la endotoxemia metabólica y el aumento de peso [28].

También se ha demostrado que las dietas altas en lípidos aumentan la permeabilidad de la barrera intestinal, ya que las proteínas encargadas de mantener las uniones estrechas se encuentran alteradas por el cambio de la microbiota intestinal [29]. Esto favorece que el LPS proveniente de la microbiota intestinal pueda ingresar a través de la barrera intestinal e interactúe con macrófagos residentes de la mucosa intestinal para que produzcan citocinas generando inflamación local y disminuyendo así la expresión de proteínas presentes en la barrera intestinal [26].

Los mecanismos de como el lipopolisácarido atraviesa la barrera intestinal siguen en investigación, pero es posible que el LPS por sus características anfipáticas se pudiera asociar a los lípidos provenientes de la dieta, formando quilomicrones y de esta manera ser transportado a través del enterocito a la vía linfática mesentérica y así a la circulación sistémica [30]. El LPS pudiera interactuar con lipasas ancladas al endotelio favoreciendo su liberación de los quilomicrones a la circulación sanguínea, favoreciendo la endotoxemia metabólica y con esto una respuesta inflamatoria sistémica [31].

Además el LPS libre se asocia a proteínas como la proteína de unión a LPS (LBP), CD14 soluble (sCD14) o receptores de membrana como mCD14, lo que puede favorecer la interacción con el TLR-4 [31] presente en el tejido adiposo y en otros órganos, facilitando el desarrollo de una inflamación crónica de bajo grado que fenotípicamente se expresaría en obesidad [26].

3. INFLAMACIÓN SISTÉMICA

La inflamación sistémica se caracteriza por el aumento de citocinas pro-inflamatorias en la circulación sanguínea, así como infiltración de macrófagos en tejidos periféricos [32]. Esta inflamación sistémica se ha relacionado con el desarrollo de enfermedades metabólicas como la diabetes, la obesidad y el síndrome metabólico [32]. El sistema inmunológico innato reconoce a los patógenos mediante receptores [33]. Estos receptores se les conocen como receptores de reconocimiento de patrones (PRR) y lo que reconoce son patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) y patrones moleculares asociados a daño (DAMPs). Los PRR más conocidos son los receptores tipo Toll (TLR), en humanos se han descrito 10 tipos y que se ubican tanto en la membrana celular como en el citoplasma. Los TLR al interactuar con el patrón que reconocen desencadenan señales intracelulares que culminan la activación del factor nuclear kappa B (NF- κ B) y otros factores facilitando la transcripción de citocinas pro-inflamatorias como TNF α entre otras y con esto el inicio de una respuesta inflamatoria (**Figura 2**) [32-33].

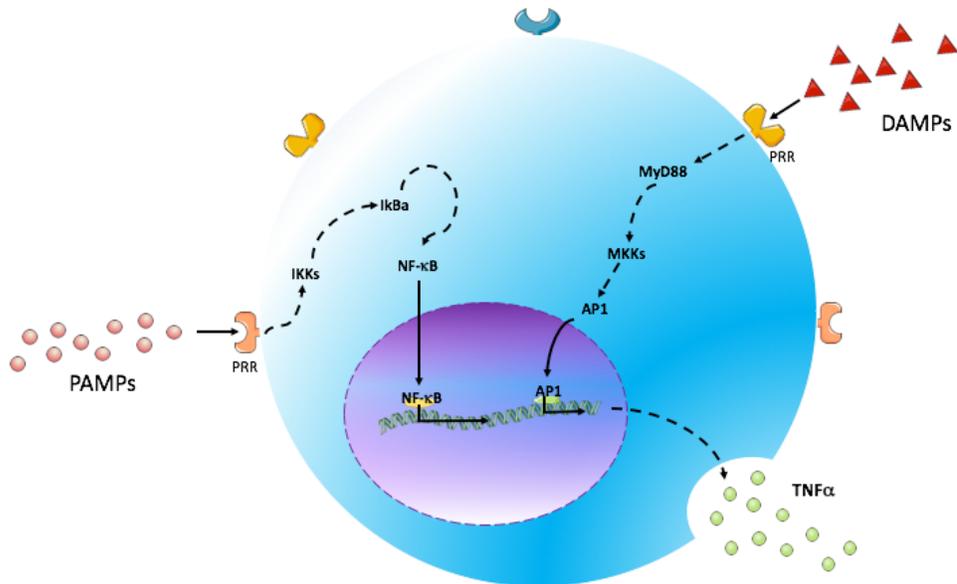


Figura 2. Los TLR son receptores que detectan patrones moleculares de patógenos (PAMPs), así como componentes intracelulares (DAMPs). Cuando los TLR reconocen su patrón molecular se activan vías de señalización intracelular que culminarán en la translocación de factores transcripcionales favoreciendo la síntesis de citocinas.

Sin embargo, estos TLRs, en particular los TLR-1, 2, 4 y 6, pueden detectar también ácidos grasos libres y productos avanzados de glicosilación, por lo tanto las alteraciones metabólicas como las dislipidemias y la diabetes también pueden inducir una respuesta inflamatoria a través de estos receptores [32].

En la obesidad el desarrollo de la inflamación sistémica inicia cuando por el desbalance entre la energía que se consume respecto a la que se gasta provoca hipertrofia e hiperplasia de los adipocitos, aumentando de la expresión de citocinas pro-inflamatorias y la disminución de citocinas anti-inflamatorias, favoreciendo la activación clásica de macrófagos residentes de tejido a un perfil M1, con la liberación de más componentes inflamatorios que facilitan la infiltración de más macrófagos [32-34]. El tejido adiposo también libera ácidos grasos libres, ya que no puede almacenar mayor cantidad. Ambos componentes llegan a distintos tejidos en donde ocasionarán la activación de macrófagos tisulares a un perfil pro-inflamatorio y con esto el fenómeno de resistencia a la insulina, enfermedad intestinal, hígado graso, aterosclerosis y neurodegeneración. La acumulación de ácidos grasos libres también provoca lipotoxicidad [32, 23].

Como se mencionó anteriormente, el LPS es otro factor que participa en el desarrollo de la inflamación sistémica, ya que al interactuar con el TLR-4 favorece un perfil inflamatorio en macrófagos [28].

En resumen hay tres factores que pueden desencadenar una inflamación sistémica en la obesidad: 1) los ácidos grasos libres provenientes de la dieta que pueden interactuar con los TLR-4 de macrófagos y adipocitos favoreciendo una respuesta inflamatoria [32]; 2) las citocinas pro-inflamatorias como TNF α , IL-6, IL-12, IL-23, MIF-1, MCP-1 e IL-1 β que están asociadas a la polarización de macrófagos M1, resistencia a la insulina, y una mayor infiltración de células inmunes inflamatorias en tejido [32-33]; y 3) el LPS circulante que puede ser reconocido mediante el TLR-4 cuando existe una endotoxemia metabólica [28,31].

4. SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

El sistema nervioso (SN) se encarga de recibir información proveniente del entorno y responde ante estos cambios para mantener un equilibrio. Desde el punto anatómico el SN se divide en dos grandes regiones que son: 1) el sistema nervioso central (SNC) que se compone de médula espinal y cerebro; y 2) el sistema nervioso periférico que se caracteriza por la presencia de nervios sensitivos y motores que permiten la comunicación con el ambiente al SNC.

En el parénquima del SNC existen neuronas y células de la glia (astrocitos, oligodendrocitos, microglia y ependimocitos). Cada célula cumple una función importante para mantener la homeostasis en el SNC.

4.1 Neuronas

Las neuronas son células que en condiciones fisiológicas permiten responder a estímulos provenientes del ambiente, así como propios del organismo. Son importantes para el aprendizaje y la memoria, controlan el músculo y la función glandular, además de que son blanco en las enfermedades neurodegenerativas [35]. También se ha demostrado que las neuronas presentan un papel relevante en la regulación de las células gliales en particular

la microglia y los linfocitos T que se infiltran al parénquima cerebral, mediante mecanismos dependientes e independientes de contacto [36].

4.2 Astrocitos

Los astrocitos son células de la glía que constituyen el 30% de todas las células del SNC que se originan del ectodermo neuroepitelial. La función principal de los astrocitos es mantener la homeostasis del SNC ayudando al desarrollo de las neuronas [37]. Los astrocitos son células de gran adaptabilidad plástica, ya que presentan una gama amplia de transportadores, receptores y canales útiles para el reconocimiento del microambiente cerebral. También aportan los precursores necesarios a las neuronas para la síntesis de neurotransmisores y ayuda en la recaptura de los mismos, brindan factores neurotróficos y nutrientes para el desarrollo de las neuronas. Asimismo, regulan la vasculatura cerebral, el pH y ayudan a mantener el equilibrio óxido-reducción y están implicados en el aclaramiento del parénquima cerebral [37]. Los astrocitos también se han visto implicados en procesos neuroinflamatorios y neurodegenerativos [37].

4.3 Microglia

La microglia representa el 10% de todas las células del SNC. La microglia son células de origen mielóide que se originan en el saco vitelino y que se infiltran al tubo neural durante el desarrollo embrionario, donde proliferan, colonizan todo el parénquima y subsisten a lo largo de la vida del organismo [38]. La microglia en condiciones homeostáticas participa en varios procesos como la poda sináptica, en la defensa del SNC, ya que tiene prácticamente el panel de receptores de reconocimiento de patrones (PRR) como las células de la respuesta inmunológica innata. También presenta receptores para neurotransmisores para entablar comunicación microglia-neurona, libera factores neurotróficos y citocinas anti-inflamatorias para propiciar un ambiente de neurogénesis [38].

En el funcionamiento normal del SNC la microglia se encuentra en un estado quiescente, es decir se encuentra censando el ambiente y ante una lesión responden rápidamente. Cuando la microglia es expuesta a un estímulo pro-inflamatorio se activa, libera citocinas pro-inflamatorias y posteriormente se convierte en una célula ameboide similar al macrófago. Por su perfil de secreción de moléculas se ha podido clasificar a la microglia en M1/M2 de forma similar a los macrófagos [41]. Actualmente la microglia está implicada en

las enfermedades crónicas neurodegenerativas como actor principal y neurotóxico en el desarrollo de estas patologías [38, 40].

4.4 Oligodendrocitos

Los oligodendrocitos son las células de la glia encargadas de formar la mielina en los axones de las neuronas del SNC. Se originan de células precursoras de oligodendrocitos [35].

4.5 Ependimocitos

Los ependimocitos son células que recubren los ventrículos cerebrales y los plexos coroideos. Presentan una morfología cuboidal con cilios, los cuales están implicados en el flujo del líquido cefalorraquídeo (LCR), y microvellosidades. Los ependimocitos secretan el LCR a los ventrículos cerebrales, regulan la presión osmótica mediante transportadores y poseen las características estructurales y enzimáticas necesarias para eliminar una gran variedad de sustancias que circulan en el LCR que pueden ser potencialmente dañinas para el cerebro [61-62].

5. NEUROINFLAMACIÓN ASOCIADA A LA OBESIDAD

La neuroinflamación se define como una respuesta inflamatoria en el cerebro o médula espinal que es mediada por la producción de citocinas, quimiocinas, especies reactivas de oxígeno y nitrógeno. Estos mediadores de la inflamación son producidos por la microglia y astrocitos principalmente [39].

La microglia y los astrocitos expresan los diferentes TLRs por lo que pueden detectar LPS, DAMPs, β -amiloide y α -sinucleína, entre otros. Otro potente activador de la microglia es el INF γ [40]. La activación se caracteriza por un cambio en la morfología ramificada a una forma ameboide, y con la producción de una gran cantidad de mediadores inflamatorios y especies reactivas de oxígeno y nitrógeno asemejándose a un perfil M1 [40].

La microglia libera una gran cantidad de citocinas inflamatorias en las cuales destacan TNF α , IL-1 β , IL-6 y IL1- α . También secreta proteínas del complemento como C3 y C1q, y genera especies reactivas de oxígeno para el estallido respiratorio, todo esto para la eliminación del estímulo de daño [40, 41]. Sin embargo, un exceso de estos componentes

inflamatorios puede ocasionar la activación crónica de la microglia y con esto daño neuronal y el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas [40,42].

Existe amplia evidencia clínica y experimental que demuestra que la obesidad o la dieta alta en grasas se asocia a un déficit en el aprendizaje, la memoria y en la ejecución de funciones [43]. Los datos del estudio de cohorte Whitehall II donde la población de estudio consistía en personal de una oficina del departamento de servicio civil con sede en Londres, con edades entre 35-61 años. Se tomó el índice de masa corporal y también se realizaron pruebas cognitivas como: el examen de estado mental mínimo para evaluar la cognición global evaluando aspectos de orientación, registro, atención, cálculo, recuperación, lenguaje y praxis. Sus resultados indicaron que la obesidad se relacionó con puntuaciones más bajas en el examen de estado mental mínimo y en la función ejecutiva, además de que el aumento en el IMC se relacionó con una disminución del rendimiento en las pruebas de funciones ejecutivas [44]. En otro estudio también llegaron a la conclusión de que un IMC elevado está asociado con una función cognitiva reducida [45].

En los estudios en humanos se ha evidenciado el efecto de la obesidad en las funciones cognitivas. También en los modelos murinos de obesidad inducidos con dietas altas en grasa se ha observado que las habilidades de memoria y aprendizaje están comprometidas. En un estudio donde utilizaron una dieta alta en grasas observaron que genera muerte celular de neuronas hipotalámicas, esto es secundario a que la dieta activa la expresión y la actividad de proteínas que participan en el desarrollo de la inflamación como SOCS3, IKK, JNK y PTP1B, desencadenando un ambiente pro-apoptótico neuronal [46]. También se ha observado que en el hipocampo y corteza cerebral de roedores con una dieta alta en grasas disminuye la plasticidad sináptica, por la disminución del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) [47].

Otro punto importante es que la alimentación alta en grasas altera la permeabilidad de la BHE ya que la expresión de vimentina, tubulina y de ocludinas en particular la ZO-1 disminuyeron en los ratones obesos con respecto a los controles [48].

En otro estudio evaluaron si la dieta alta en grasas afecta el acoplamiento neurovascular, y la disfunción cerebrovascular, y si esto empeora el curso de la isquemia cerebral, incluso en ausencia de obesidad en ratas. Lo que los autores encontraron fue que la dieta alta en

grasas provoca cambios en la función cerebrovascular, es decir, entre la comunicación neuronal y de las arteriolas, incluso en ausencia de cambios metabólicos evidentes o de un evento isquémico [49].

La relación de la obesidad con el déficit de cognición, alteración de la BHE y con la neuroinflamación se puede explicar por la inflamación crónica de bajo grado que inicia en la periferia [43].

El estado inflamatorio crónico de bajo grado asociado a la obesidad aumenta la permeabilidad de la BHE, facilitando el acceso de las moléculas pro-inflamatorias al parénquima cerebral y así interactuando con la microglia [48].

Tras la estimulación con estos factores inflamatorios la microglia se activa a un perfil inflamatorio M1, induciendo a la microglia a un estado “priming o pre-activación” [50]. El priming microglial es un estado en el que la microglia es más sensible a estímulos inflamatorios [50]. El priming microglial ocurre durante el envejecimiento, en las enfermedades neurodegenerativas y en la lesión cerebral traumática [50,51]. Sin embargo, ha comenzado a surgir evidencia de que la inflamación sistémica ya sea inducida con LPS periférico o la administración de una o más de las citocinas pro-inflamatorias como TNF α , IL-1 β e IL-6, IL-33 está involucrada en el priming microglial [50,51,52]. También se ha observado el priming microglial tanto en hipocampo e hipotálamo de neonatos de ratas sobre-alimentados [53].

6. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La obesidad se asocia principalmente al consumo excesivo de calorías provocando un desbalance energético que conlleva a un estado inflamatorio crónico de bajo grado. Los ácidos grasos libres son reconocidos por el TLR-4 de adipocitos y macrófagos periféricos induciendo la liberación de citocinas pro-inflamatorias, favoreciendo la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), lo que causa alteraciones en la barrera hematoencefálica, con esto la activación de la microglia y el desarrollo de procesos neuroinflamatorios. Adicionalmente se ha demostrado la presencia de LPS en circulación sanguínea lo que pudiera favorecer aún más el proceso neuroinflamatorio y con esto facilitar el proceso neurodegenerativo asociado a la obesidad. Por este motivo la obesidad

no solo es un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades metabólicas sino también para enfermedades neurodegenerativas.

7. JUSTIFICACIÓN

La prevalencia de la obesidad ha aumentado en las últimas décadas de manera impresionante, siendo actualmente México el segundo país con mayor número de personas con sobrepeso y obesidad. La fisiopatología aún no es lo suficientemente clara por la cantidad de los factores involucrados. Entender cómo el aumento del LPS sistémico participa en los procesos inflamatorio sistémico y neuroinflamatorio nos permitirá entender mejor el papel de la inflamación sistémica en la neurodegeneración asociada a la obesidad.

8. HIPOTESIS

Las ratas con las diferentes dietas presentan una mayor absorción de LPS, por lo tanto más LPS circulante que coadyuva el incremento de citocinas pro-inflamatorias favoreciendo procesos neuroinflamatorios que podrán facilitar el desarrollo de procesos neurodegenerativos.

9. OBJETIVOS

9.1 GENERAL

- Evaluar el efecto del LPS circulante en la inflamación sistémica y en el proceso de aprendizaje y memoria en ratas obesas inducidas con una dieta rica en lípidos y ratas obesas inducidas con agua azucarada.

9.2 PARTICULARES

- Evaluación del aprendizaje y la memoria
- Determinación de los niveles de TNF α sérico
- Determinación de lipopolisacárido sérico

10. METODOLOGÍA

Animales

Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar (210-250 g), las cuales fueron mantenidas con un fotoperiodo 12:12 hrs con agua y alimento *ad libitum*. Se siguieron las disposiciones planteadas por la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999) en el manejo de los animales. Todos los procedimientos experimentales fueron aprobados por las Comisiones de Investigación y Ética de la Facultad de Medicina.

Grupos experimental

La obesidad fue inducida por 16 semanas con una dieta alta en lípidos (AL) con 58% de calorías provenientes de grasa (manteca de cerdo y manteca vegetal), o con el consumo de agua con sacarosa al 20% *ad libitum* (AZ). Las ratas controles sólo recibieron la dieta chow (5010, Lab Diet) y agua natural.

Las ratas fueron distribuidas aleatoriamente en los siguientes grupos experimentales (n = 15 por grupo experimental): 1) control, 2) con dieta alta en lípidos (AL) y 3) con agua al 20% de sacarosa (AZ).

Determinación de peso

La determinación del peso fue semanalmente a las 8:00 hrs.

Glucosa en Ayuno

La glucosa en ayuno se determinó después de 12:00 hrs de ayuno con un glucómetro estándar de la marca *Freestyle Optium Neo H Abbott Diabetes Care* a las 8:00 hrs antes de iniciar la dieta y a la semana 13 de la dieta del tiempo de inducción de obesidad.

Curva de tolerancia a la glucosa intraperitoneal

La curva de tolerancia a la glucosa se realizó al finalizar la semana 13 de la dieta. Para ello se pusieron a los animales en ayuno de 12 hrs, posteriormente recibieron un bolo intraperitoneal de glucosa de 2 gramos por kilogramo de peso corporal y se midió la respuesta glicémica a los 15, 30, 60 y 120 minutos con un glucómetro *Freestyle Optium Neo H Abbott Diabetes Care*.

Muestras sanguíneas

Las muestras sanguíneas se obtuvieron por punción cardiaca después de la eutanasia del animal con una sobredosis de pentobarbital sódico (150 mg/kg de peso corporal). La sangre recolectada se colocó en tubos Eppendorf de 2.5 ml con heparina para evitar la coagulación. Se centrifugaron a 2500 rpm 15 minutos para separar los componentes sanguíneos. Se recuperó el plasma y se colocó en tubos Eppendorf de 1.0 mL, y se almacenaron a -40 °C, para su posterior análisis.

Histología

Tejido Adiposo e Hígado

Durante la eutanasia se recolectó y se pesó el tejido adiposo visceral y retroperitoneal. Posteriormente se tomó una muestra para realizar la tinción de hematoxilina-eosina (HE). Se determinó el área de los adipocitos mediante el software ImageJ. También se recolectó el hígado de las ratas, se pesó y se tomó una muestra para realizar la tinción HE.

Determinación de TNF α sistémico

La medición de TNF α se realizó mediante la técnica del ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) con el kit Rat TNF-alpha DuoSet de R and D Systems (DY510-05 ELISA).

Determinación de LPS sistémico

La medición de LPS se hizo con el kit Instant ELISA Kit for Lipopolysaccharide (LPS) de Cloud-Clone-Corp (IEB526Ge) para el cual se siguieron las instrucciones del proveedor.

Prueba de reconocimiento de objeto novedoso

Para la evaluación del aprendizaje y la memoria se utilizó la prueba de reconocimiento de objeto novedoso o también conocida como la prueba de reconocimiento de objetos, que fue descrita por primera vez en 1988 en ratas [54]. Esta prueba se basa en tan solo en tres sesiones: una sesión de habituación, una sesión de entrenamiento y una sesión de prueba (**Figura 3**) [54].

La fase de habituación consistió en colocar al roedor en una caja para que conozca el ambiente durante un periodo de tiempo de 5 minutos.

La sesión de entrenamiento se basó en una exploración visual de dos objetos de la misma complejidad y el roedor tuvo 10 minutos para explorarlos. Cabe destacar que estos dos objetos se encuentran equidistantes.

La tercer sesión o el día de la prueba consiste en reemplazar uno de los objetos explorados previamente por un nuevo objeto y al roedor se le dejó explorar los dos objetos durante 10 minutos.

Debido a que los roedores tienen una preferencia innata por la novedad, un roedor explorará el objeto familiar menos tiempo y pasará más tiempo explorando el objeto nuevo [54]. Esta prueba presenta varias ventajas como: menor estrés para el roedor, requiere poco tiempo para hacer la prueba, se emplea en distintas especies, permite evaluar diferentes aspectos de la memoria y se puede modificar para poder evaluar diferentes fases de aprendizaje y memoria [54].

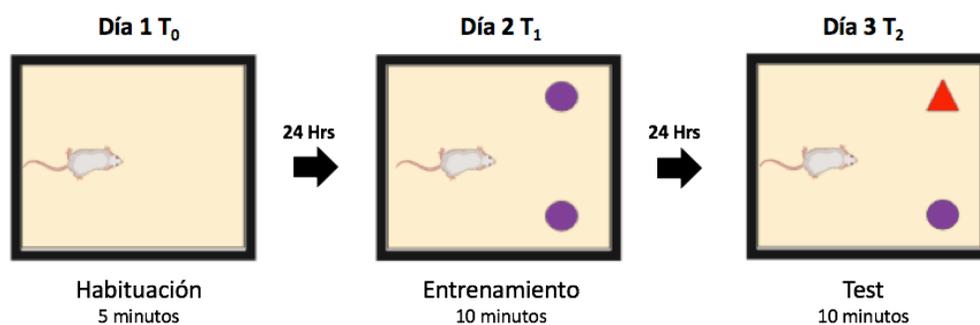


Figura 3. Esquema de la prueba de reconocimiento de objeto novedoso

Para la medición de si existe alguna alteración se determina el índice de reconocimiento. El índice de reconocimiento se calculó con la siguiente ecuación:

$$RI = (TEBN)/(TEBF+TEBN)$$

TEBN: Tiempo de exploración objeto nuevo

TEB: Tiempo de exploración del objeto familiar

Análisis estadístico

Los datos experimentales se presentan como promedios \pm SEM. Los resultados se analizaron en GraphPad Prism 7. Las diferencias estadísticas entre los grupos experimentales se determinaron mediante una prueba de análisis de varianza (ANOVA) de una vía seguida de la prueba *post hoc* de Tuckey para el area bajo la curva de la curva de tolerancia a la glucosa. La glicemia en ayuno, cantidad de tejido adiposo, porcentaje de tejido adiposo se analizaron con Kruskal-Wallis seguido de la prueba de Dunn, ANOVA de dos vías seguida de la prueba *post hoc* de Tuckey para el peso corporal, la ganancia de peso y la curva de tolerancia a la glucosa. El analisis de varianza (ANOVA) de una vía seguida de la prueba *post hoc* de Dunnet para el area de los adipocitos y el reconocimiento de objeto novedoso. $P \leq 0.05$ se consideró significativa.

11. RESULTADOS

Aumento de peso corporal y ganancia de peso

Tanto la dieta rica en lípidos (AL) como la dieta rica en agua azucarada (AZ) mostraron incremento de peso a lo largo de las 16 semanas (**Figura 4**). Los animales que recibieron la dieta AL aumentaron significativamente más de peso desde la semana 6 que el grupo control, mientras que el AZ adquirió un mayor peso a partir de la semana 11 (**Figura 4 A**). Asimismo, el grupo AL presentó significativamente mayor peso corporal de la semana 8 a la 13 con respecto al grupo AZ (**Figura 4 A**).

La ganancia de peso mostró un comportamiento similar a los observado en el peso. El grupo AL ganó más peso que el grupo control a partir de la semana 6 hasta la semana 16 (**Figura 1 B**). El grupo de AZ sólo se distinguió significativamente del grupo control en la semana 16 (**Figura 1 B**).

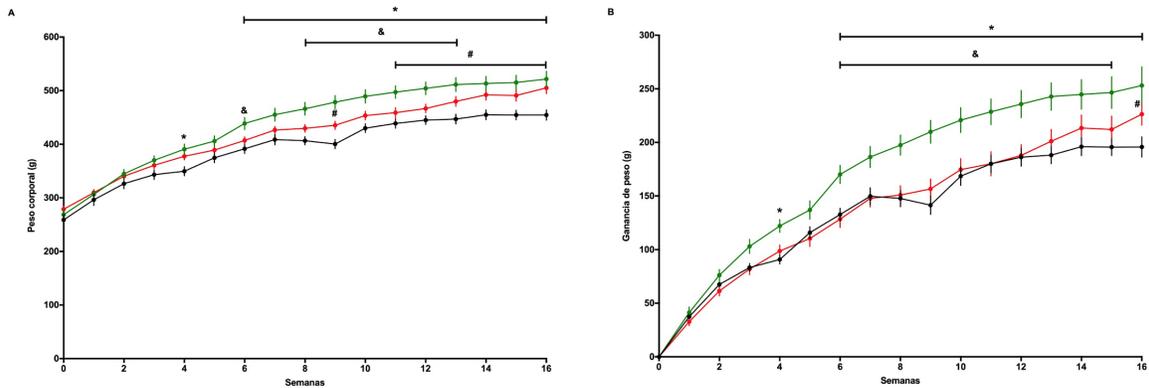


Figura 4. Peso corporal (A) y ganancia de peso (B) de los tres grupos experimentales. El grupo control está representado en negro (CNT, n=14), el grupo con dieta alta en lípidos en verde (AL, n=13), y el grupo con agua azucarada en rojo (AZ, n=15). Los datos representan los promedios \pm error estándar y se analizaron con la prueba de ANOVA de dos vías seguida por el *post hoc* de Tuckey. * Representa las diferencias significativas entre el grupo CNT y AL ($p \leq 0.05$), # entre el grupo CNT y AZ ($p \leq 0.05$), y & entre el grupo AL y AZ ($p \leq 0.05$).

Glucosa en ayuno

La determinación de la glucosa se realizó antes y a la semana 13 de la inducción de los modelos de obesidad (**Figura 5**). En ambos tiempos experimentales se observa que los dos grupos experimentales AL y AZ tuvieron glicemias en ayuno similares al grupo control (**Figura 5**).

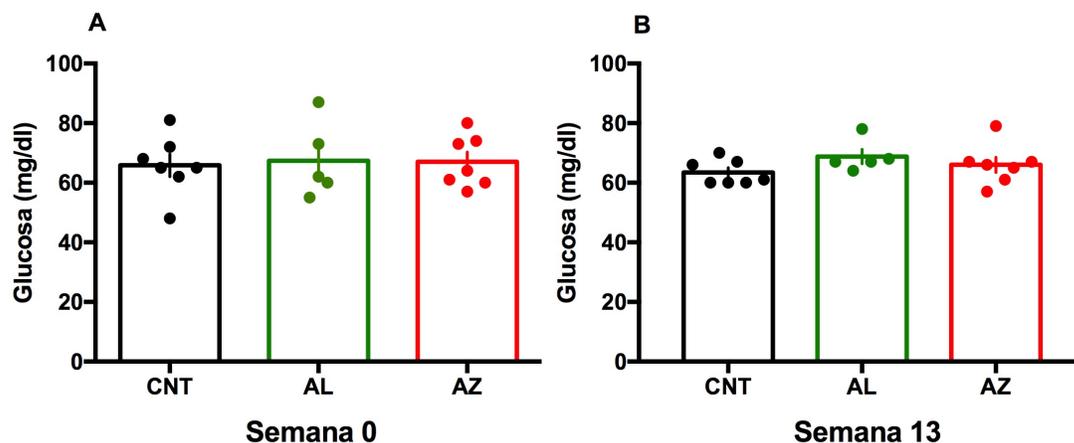


Figura 5. Glicemia en ayuno al inicio (A) y a la semana 13 de la inducción del modelo experimental) (B). El grupo control está representado en negro (CNT, n=7), el grupo con dieta alta en lípidos en verde (AL, n=5), y el grupo con agua azucarada en rojo (AZ, n=7). Los datos representan los promedios \pm error estándar y se analizaron con la prueba de Kruskal-Wallis seguida por el *post hoc* de Dunn.

Curva de Tolerancia a la glucosa intraperitoneal

La curva de tolerancia a la glucosa intraperitoneal se realizó en la semana 13 y la respuesta glicémica se midió a los 15, 30, 60 y 120 minutos (**Figura 6 A**). A los 60 minutos se observó una diferencia significativa de los grupos AZ y AL con respecto al grupo control. Además se visualiza que el grupo control regresa más rápido a sus niveles de glicemia normales, mientras que los grupos AL y AZ no regresan igual a sus niveles basales. El área bajo la curva de la curva de la tolerancia a la glucosa muestra una diferencia significativa de los grupos AL y AZ con respecto al control indicándonos que hay una posible alteración en el metabolismo de la glucosa (**Figura 6 B**).

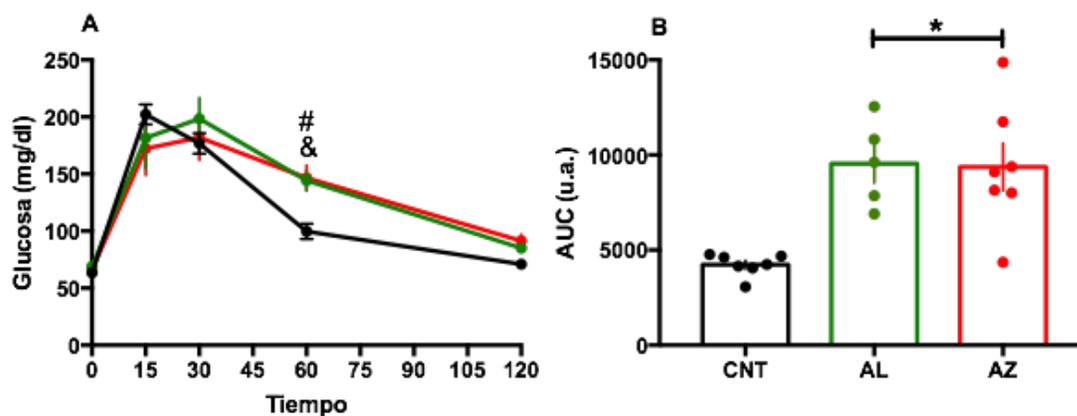


Figura 6. Curva de tolerancia a la glucosa intraperitoneal de los diferentes grupos experimentales. **A** Respuesta de la glucosa plasmática después de una administración intraperitoneal de glucosa (2 g/kg de pesos corporal). **B** Área bajo la curva (AUC) de cada grupo. u.a.- unidades arbitrarias. El grupo control está representado en negro (CNT, n = 7), el grupo con dieta alta en lípidos en verde (AL, n = 5), y el grupo con agua azucarada en rojo (AZ, n = 7). Los datos representan los promedios \pm error estándar y se analizaron con la prueba de ANOVA de una vía seguida por el *post hoc* de Tuckey. * Representa las diferencias significativas entre el grupo CNT y AL ($p \leq 0.05$) y entre el grupo CNT y AZ ($p \leq 0.05$), # entre el grupo CNT y AZ ($p \leq 0.05$), y & entre el grupo CNT y AL ($p \leq 0.05$).

Tejido Adiposo Blanco

La cantidad de tejido adiposo y porcentaje de tejido adiposo se muestra en la **Figura 7**. Los grupos AZ y AL tuvieron una mayor cantidad de tejido adiposo, el grupo AL fue el que presentó una diferencia significativa con respecto al grupo control mostrada en la (**Figura 7 A**), sin embargo, el grupo AL y AZ presentaron significativamente mayor porcentaje de tejido adiposo (**Figura 7 B**).

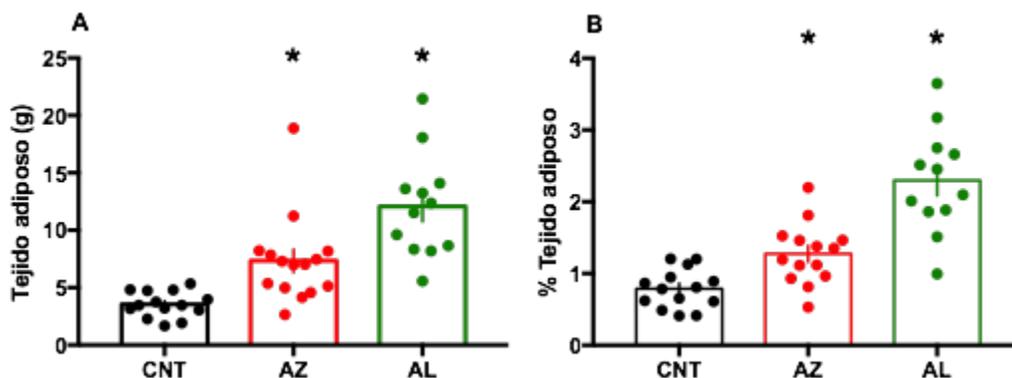


Figura 7. Cantidad de tejido adiposo (A) y porcentaje de tejido adiposo (B) de los tres grupos experimentales. El grupo control está representado en negro (CNT, n = 14), el grupo con dieta alta en lípidos en verde (AL, n = 12), y el grupo con agua azucarada en rojo (AZ, n = 15). Los datos representan los promedios \pm error estándar y se analizaron con la prueba de Kruskal-Wallis seguida por el *post hoc* de Dunn. * Representa las diferencias significativas entre el grupo CNT y AL ($p \leq 0.05$) y entre el grupo CNT y AZ ($p \leq 0.05$).

Las tinciones de hematoxilina-eosina del tejido adiposo blanco y el área de adipocitos de los tres grupos experimentales se observan en la **Figura 8**. El grupo AL presenta una mayor cantidad de adipocitos hipertrofiados con respecto al grupo control y al grupo AZ (**Figura 8 A**).

Para complementar el resultado anterior se realizó un análisis de imagen con el software **ImageJ** para determinar el área de los adipocitos. El grupo que presentó un mayor agrandamiento de sus adipocitos fue el grupo AL, confirmando que se encontraban en un estado de hipertrofia, siendo este grupo diferente al grupo control (**Figura 8 B**).

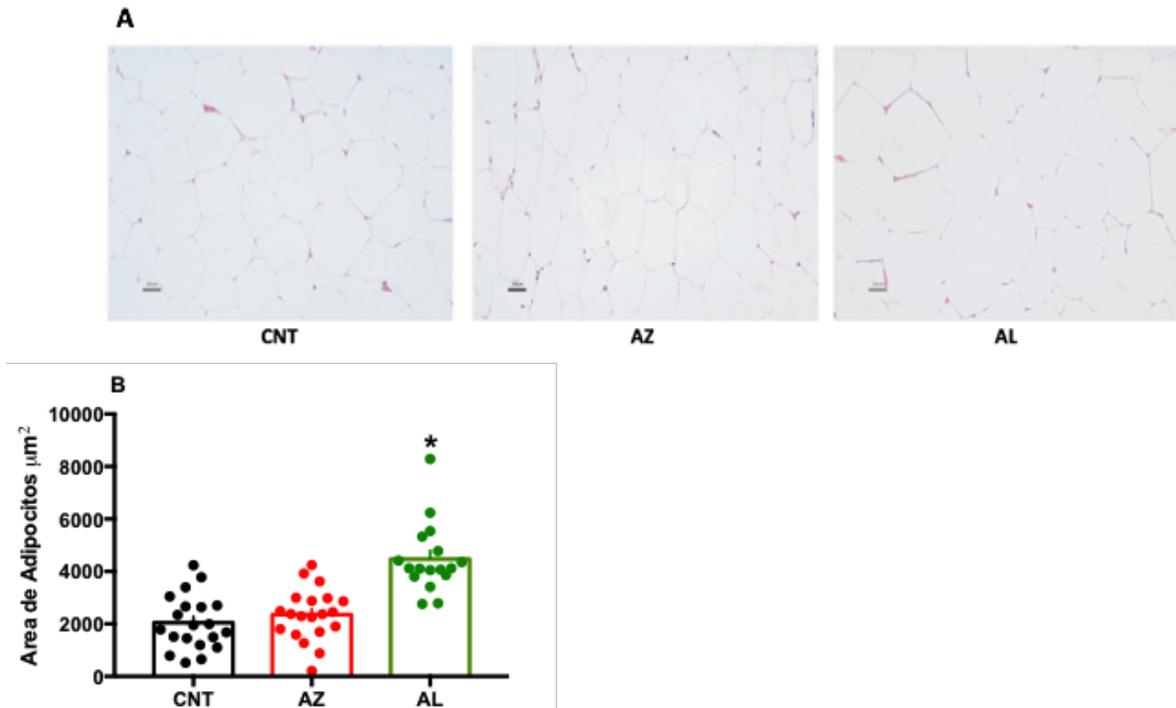


Figura 8. Imágenes representativas de tejido adiposo blanco de los tres grupos (A) . La imagen del lado izquierdo es el grupo CNT, la imagen central es el grupo AZ y la imagen a la derecha es el grupo AL. **Área de adipocitos (B)** El grupo control está representado en negro (CNT, n = 20), grupo con agua azucarada en rojo (AZ, n = 20) y el grupo con dieta alta en lípidos en verde (AL, n = 17). Los datos representan los promedios \pm error estándar y se analizaron con la prueba de ANOVA de una vía seguida por el *post hoc* de Dunnett. * Representa las diferencias significativas entre el grupo CNT y AL ($p \leq 0.05$).

Tejido Hepático

En las tinciones de hematoxilina-eosina del hígado del grupo control se observan los sinoides hepáticos y los hepatocitos sin cambios (**Figura 9**). El grupo AZ presentó múltiples pequeñas gotas lipídicas en los hepatocitos gotas lipídicas con respecto al grupo control. Pareciera que el grupo AZ presentara cambios estructurales en los sinoides hepáticos. Por otro lado el grupo AL presentó grandes gotas lipídicas, sin grandes cambios a nivel sinuoidal. Pareciera que este grupo presenta una esteatosis no alcohólica [22]. Es interesante observar que las dos distintas dietas inducen alteraciones histológicas diferentes en el tejido hepático y adiposo blanco.

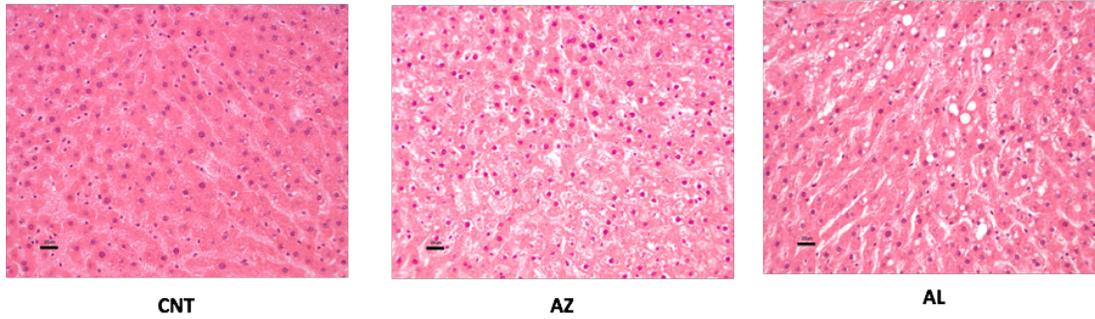


Figura 9. Imagen representativa de tinciones de tejido hepático de los tres grupos experimentales. La imagen del lado izquierdo es el grupo CNT, la imagen central es el grupo AZ y la imagen a la derecha es el grupo AL.

TNF α sérico

La concentración de TNF α sérico (**Figura 10**) de los grupos AZ y AL fue distinta al grupo control, ya que ambos grupos experimentales presentaron mayores niveles de TNF α circulante. El promedio para cada uno de los grupos fue CNT=30.52 pg/ml, AZ=56.62 pg/ml y AL=66.80 pg/ml.

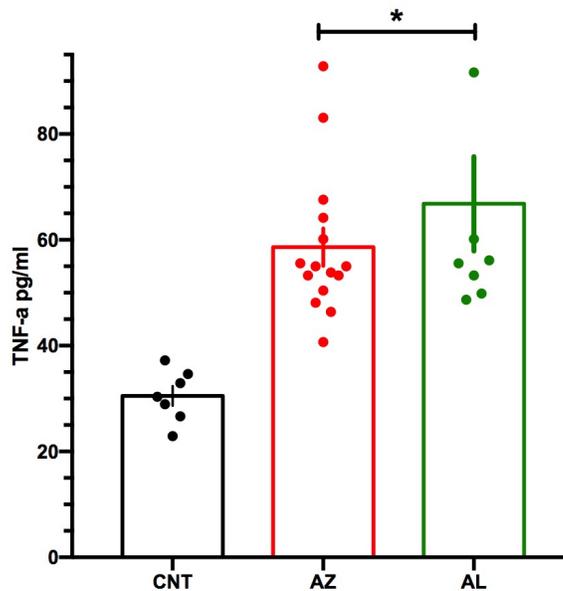


Figura 10. Concentración de TNF α en suero de los tres grupos experimentales. El grupo control está representado en negro (CNT, n = 7), grupo con agua azucarada en rojo (AZ, n = 15) y el grupo con dieta alta en lípidos en verde (AL, n = 8). Los datos representan los promedios \pm error estándar y se analizaron con la prueba de Kruskal-Wallis seguida por el post hoc de Dunn.

* Representa las diferencias significativas entre el grupo CNT y AL ($p \leq 0.05$) y entre el grupo CNT y AZ ($p \leq 0.05$).

Lipopolisacárido sérico

La concentración de LPS circulante (**Figura 11**) del grupo CNT fue de 94.57 ng/ml. Solo se pudieron analizar tres animales del grupo control y un animal salió muy elevado en la concentración de LPS, posiblemente se debió a una contaminación de endotoxina del ambiente, por lo que es necesario analizar más individuos de este grupo. Para el grupo AL se obtuvo el valor de 280.17 ng/ml y para el grupo AZ 165 ng/ml de endotoxina. No se encontró diferencia significativa, pero es probable que se deba al número pequeño de muestras que se utilizó. Es por eso que será necesario analizar un mayor número de muestras para tener una población mejor representativa, aunque claramente se visualiza una tendencia a que la AL favorece más la circulación de LPS, posiblemente secundario a una mayor absorción intestinal por el tipo de dieta rica en lípidos.

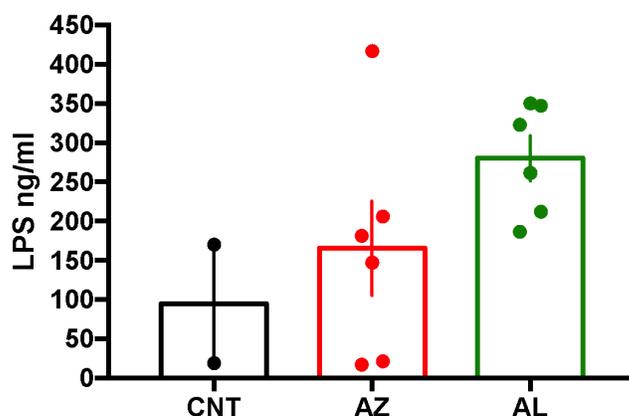


Figura 11. LPS sérico. El grupo control está representado en negro (CNT, n = 2), grupo con agua azucarada en rojo (AZ, n = 6) y el grupo con dieta alta en lípidos en verde (AL, n = 6). Los datos representan los promedios \pm error estándar y se analizaron con la prueba de Kruskal-Wallis seguida por el post hoc de Dunn.

Reconocimiento de objeto novedoso

Los grupos tratados con las diferentes dietas (AZ y AL) presentaron un índice de reconocimiento menor que el grupo control (**Figura 12**), indicando alguna alteración a nivel cerebral, ya que estuvieron mayor tiempo reconociendo el objeto conocido que el nuevo, ambos grupos mostraron una diferencia estadísticamente significativa con respecto al control. Cabe destacar que el grupo AL presentó el menor índice de reconocimiento (**Figura 12**).

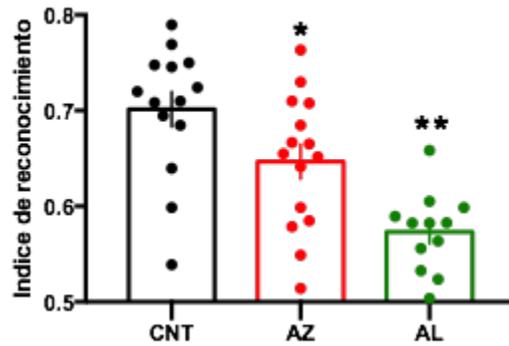


Figura 12. Reconocimiento de objetos novedosos. El grupo control está representado en negro (CNT, n = 14), grupo con agua azucarada en rojo (AZ, n = 15) y el grupo con dieta alta en lípidos en verde (AL, n = 12). Los datos representan los promedios \pm error estándar y se analizaron con la prueba de ANOVA de una vía seguida por el *post hoc* de Dunnett. * Representa las diferencias significativas entre el grupo CNT y AL ($p \leq 0.05$) y entre el grupo CNT y AZ ($p \leq 0.05$).

12. DISCUSIÓN

La obesidad es una enfermedad sistémica que afecta a múltiples órganos y es resultado de la interacción entre los componentes genómicos y ambientales. Hoy en día la obesidad es un factor de riesgo importante para el desarrollo de comorbilidades como las enfermedades cardiovasculares, diabetes, cáncer y enfermedades neurodegenerativas [5-6]. Uno de los factores ambientales que es de gran importancia es la dieta. La gran mayoría de los modelos para el estudio de la obesidad se realizan en animales inducidos con dietas altas en carbohidratos o en lípidos, sin embargo, los modelos que conducen a un mejor cuadro de obesidad son las dietas ricas en lípidos [55]. Nuestras observaciones están en congruencia con estos estudios previos, las ratas alimentadas crónicamente con una dieta alta en grasas mostraron un mayor aumento de peso y cantidad de tejido adiposo.

La determinación de parámetros bioquímicos en sangre como la cantidad de glucosa, triglicéridos, colesterol total, insulina, curva de tolerancia a la glucosa y curva de tolerancia a la insulina nos brinda una idea de la regulación del metabolismo del organismo [66]. En nuestras observaciones al medir glucosa en sangre durante la inducción del modelo se encontró que no existía ningún cambio en el metabolismo de la misma, llegando a resultados no congruentes con otros estudios previos [66,67,68]. Sin embargo, la curva de tolerancia a la glucosa mostró que hay cambios en el metabolismo de la glucosa tal vez no tan pronunciados. Es decir, ya existía una alteración dado que el área bajo la curva fue

significativamente mayor en los dos grupos experimentales con dieta, lo que sugiere que los cambios de la glucosa son aún discretos y que la determinación de la glucosa en ayuno no las muestran, pero la prueba de tolerancia a la glucosa sí. Idealmente habría que realizar la determinación de triglicéridos, colesterol total y la insulina para complementar el estudio.

El porcentaje y la cantidad de tejido adiposo incrementó en ambas dietas, sin embargo, la de mayor aumento fue la dieta AL, lo cual coincide con otros estudios previos [66]. El aumento en la cantidad de tejido adiposo se ve reflejada por la acumulación excesiva de triglicéridos y ácidos grasos libres que fueron captados por los adipocitos, induciendo los fenómenos de hipertrofia e hiperplasia en los adipocitos [9]. Este fenómeno se ve reflejado en el diámetro de los adipocitos hipertrofiados de nuestro estudio llegando a resultados similares a otros estudios [66]. Este agrandamiento provoca que la irrigación sanguínea se vea afectada y con esto la concentración de oxígeno, lo que generará hipoxia tisular [18]. Esto favorece la expresión de genes sensibles a hipoxia que serán regulados con factores transcripcionales como el factor NF- κ B, que es un factor clave en las respuestas inflamatorias favoreciendo la secreción de ácidos grasos y citocinas pro-inflamatorias como el TNF α , IL1 β e IL6 principalmente. Esto lleva a que los macrófagos presentes en el tejido adiposo cambien a un perfil M1 favoreciendo la secreción de más citocinas pro-inflamatorias y una mayor llegada de macrófagos dando lugar a una inflamación local [20,32].

Estas citocinas ingresarán a la circulación sanguínea y señalarán en distintas zonas del cuerpo como hígado, músculo, cerebro, páncreas, intestinos, entre otros [32]. El TNF α juega un rol en respuestas a daños, infecciones, angiogénesis, apoptosis, así como en otros procesos fisiológicos, sin embargo, también está implicado en múltiples patologías como las enfermedades autoinmunes y la resistencia a la insulina [57]. La resistencia a la insulina se ve interrumpida por la vía de señalización PI3K por el TNF α , lo que provoca una inhibición en la función de la insulina y que aumente la misma en sangre. Esta vía de señalización que se ve interferida por el TNF α podría explicar que la curva intraperitoneal de tolerancia a la glucosa de los dos grupos experimentales mostrara niveles más elevados de glucosa en sangre y una mayor área bajo la curva, sugerente de que nuestro modelo animal ya presentan alteraciones en el metabolismo de la glucosa [64].

El hígado también se ve afectado por la presencia excesiva de ácidos grasos y citocinas pro-inflamatorias circulantes favoreciendo cambios histológicos como la esteatosis hepática no alcohólica [65]. Nuestros grupos experimentales con dieta mostraron cambios histológicos que apoyan estas observaciones previas.

Además en el intestino delgado, las citocinas pro-inflamatorias como el $TNF\alpha$, $IL1\beta$ e $IL6$ son responsables de alterar la permeabilidad intestinal como se ha identificado en estudios previos [69,70]. Nuestros datos mostraron por un lado un incremento en $TNF\alpha$, el cual pudiera modificar la permeabilidad intestinal en nuestros grupos experimentales con dieta, y que por este motivo estuviera más elevado el LPS circulante en estos dos grupos experimentales.

Por otro lado la dieta influye en el cambio de la microbiota intestinal normal y con esto una desregulación en las poblaciones de la microbiota intestinal, favoreciendo un mayor incremento de bacterias Gram negativas que continuamente recambian su LPS de la membrana externa y liberándolo a lumen del intestino [25,29,31,48]. Es probable que nuestros grupos experimentales ya presentes una microbiota intestinal modificada, sin embargo, habría que confirmar con otros estudios esta posibilidad.

El LPS puede ser transportado a circulación sanguínea por dos vías principalmente una es mediante el metabolismo de los lípidos a través de los quilomicrones y la vía linfática mesentérica [26,29,30], así como con el transporte paracelular. Es posible que en nuestros modelos con dieta ya exista un incremento de la permeabilidad intestinal por el ambiente las citocinas pro-inflamatorias provenientes del tejido adiposo y macrófagos M1, el cual afecta las uniones estrechas facilitando el transporte paracelular del LPS [29,69,70], lo cual se vería reflejado en niveles más elevados de LPS en circulación sanguínea.

El incremento de los niveles circulantes de LPS a su vez favorece una endotoxemia metabólica, que se ha relacionado causalmente con la adiposidad y la resistencia a la insulina asociada a la obesidad y la inflamación enfermedades del hígado, tales como hígado graso y esteatosis no alcohólica, lo que se explicaría también el desarrollo de esteatosis no alcohólica en nuestros grupos experimentales y el incremento de LPS en las dietas, sin embargo, falta analizar más muestras [71].

El LPS estimula los receptores tipo toll, principalmente el TLR-4 de macrófagos y de adipocitos, favoreciendo la secreción de una mayor cantidad de citocinas pro-inflamatorias y perpetuando la inflamación sistémica de bajo grado [18-21]. Esto conduce a un ciclo, ya que a mayor cantidad de citocinas pro-inflamatorias aumentará más la permeabilidad intestinal permitiendo una mayor entrada de LPS, el cual finalmente terminará estimulando al TLR-4 para secretar a su vez una mayor cantidad de citocinas pro-inflamatorias, asemejando a un sistema de retroalimentación positiva. Por otro lado se ha demostrado que la administración de antibióticos en dos modelos diferentes de resistencia a la insulina en ratones, condujo al agotamiento de la microbiota intestinal y a una reducción de los niveles séricos de LPS, la inflamación de bajo grado, obesidad y diabetes tipo 2 [71].

El ambiente inflamatorio generado por esta interacción LPS-TLR-4 y citocinas pro-inflamatorias pueden afectar al SNC, ya que la BHE aumentará su permeabilidad al disminuir las uniones estrechas y adherentes presentes con lo que facilitaría la señalización de estas moléculas en el SNC [72]. Otra vía es que las citocinas pro-inflamatorias alcancen el LCR, es a través de los plexos coroideos o BHE [74]. En ambas vías se favorecerá la activación de macrófagos residentes del SNC como la microglia, y los macrófagos meníngeos, perivasculares, macrófagos de los órganos circunventriculares y de los plexos coroideos [73]. Por la localización de los macrófagos perivasculares y meníngeos en la interfaz entre el parénquima y el torrente sanguíneo, se les ha asociado funciones de monitoreo, filtrado del LCR y en captación de antígenos, metabolitos y otras moléculas derivadas de este fluido o provenientes de la sangre periférica [74]. Cuando las citocinas pro-inflamatorias estimulan a los macrófagos perivasculares y meníngeos causan una activación hacia un perfil M1 [14], provocando la liberación de más citocinas pro-inflamatorias que viajarán a través del flujo del LCR a distintas zonas del cerebro ingresando al parénquima cerebral, posiblemente por un sistema de difusión facilitado y su interacción con la microglia [74].

La microglia participa en varios procesos como la poda sináptica, la defensa inmune del SNC, liberación de factores neurotróficos, citocinas anti-inflamatorias para propiciar la neurogénesis y citocinas pro-inflamatorias [38]. Cuando las citocinas pro-inflamatorias provenientes de la periferia y de macrófagos perivasculares, meníngeos o de plexos coroideos, ingresan al parénquima cerebral actúan sobre la microglia en reposo favoreciendo la transición a un estado de preactivación (priming), lo que a su vez la

secreción de citocinas pro-inflamatorias, sin alterar el perfil de secreción de factores neuroprotectores para el desarrollo y supervivencia adecuada de las neuronas de las distintas zonas del cerebro como en el hipocampo [50,58].

Sin embargo, cuando el estímulo es persistente y crónico genera un ambiente neuroinflamatorio que puede conducir a una mayor pérdida neuronal y a una progresión acelerada de alguna enfermedad neurodegenerativa o alteraciones cognitivas [50]. Por ejemplo, en el hipocampo este ambiente provoca que sufra cambios celulares y moleculares que repercutirán en las funciones cognitivas que a largo plazo culminará en una enfermedad neurodegenerativa como la enfermedad de Alzheimer [58]. Lo anterior permite explicar como las ratas con agua azucarada y dieta alta en grasa reconocieran menos los objetos nuevos como nuevos, indicando una alteración a nivel del hipocampo [59-60]. Sería interesante a futuro medir los niveles de TNF α e IL-1 β en el hipocampo y el estado de activación de la microglia, así como cambios en la densidad neuronal en hipocampo y sustancia nigra.

13. CONCLUSIONES

La dieta alta en grasas y la dieta rica en agua azucarada favorecen un ambiente inflamatorio de bajo grado y una mayor cantidad de LPS circulante, induciendo una endotoxemia metabólica que facilita la inflamación sistémica, que a su vez repercute en el desarrollo de la neuroinflamación que finalmente puede llevar a una neurodegeneración si la obesidad persiste.

14. REFERENCIAS

- [1] World Health Organization, 2016, Obesity and overweight: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>, 18/01/2017
- [2] Tremmel M, Gerdtham Ulf-G, Nilsson Peter M, and Sanjib, S 2017., Economic Burden of Obesity: A Systematic Literature Review. *Int J Environ Res Public Health* .14:435.
- [3] Encuesta Nacional de Salud y Nutrición, 2016, Informe Final de Resultados, <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/209093/ENSANUT.pdf>

- [4] Dobbs R, Sawers C, Thompson F, Manyika J, Woetzel J, Child P, McKenna S, Spatharou A, 2014, Overcoming obesity: An initial economic analysis, Mc Kinsey Global Institute.
- [5] Carmona Suárez Walter, et al, 2017, Fisiopatología de la obesidad: Perspectiva actual, Revista Chilena de nutrición vol 44, #3, pp 226-233.
- [6] Mataforme P, Seica R, 2017, Function and Dysfunction of Adipose Tissue, Obesity and Brain Function, Advances in Neurobiology, Vol 3, pp 3-31.
- [7] Rafols E M, 2013, Tejido Adiposo: heterogeneidad celular y diversidad funcional, Endocrinología y Nutrición, pp 1-13.
- [8] Saely C, Geiger K, Drexel, H, 2010, Brown versus White Adipose Tissue: A mini Review, Gerontology, Vol 7 pp 15-23.
- [9] Proenca A. R. G, et al, 2014, New concepts in white adipose tissue physiology, Brazilian Journal of Medical and Biological Research, Vol 47, pp 192-205.
- [10] Palou A, Bonet M L, 2007, Controlling lipogenesis and thermogenesis and the use of ergogenic aids for weight control, Novel Food Ingredients for Weight Control, pp 58-103.
- [11] Samano, M J, Torres V P, Oropez J, M A, 2012, Los ácidos grasos y la lipotoxicidad: implicaciones metabólicas, Revista de la facultad de medicina de la UNAM, pp 7-18.
- [12] Tchoukalova YD, Sarr MG, Jensen MD. Measuring committed preadipocytes in human adipose tissue from severely obese patients by using adipocyte fatty acid binding protein. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2004;287:R1132-40.
- [13] Heredia F, Matinez G. S, Ascensión M, 2012, Chronic and degenerative diseases Obesity, inflammation and the immune system, Proc Nut Society, pp 332-338.
- [14] Gordon S, Pomares M, L, 2017, Physiological roles of macrophages, Pflugers Archiv Springer, pp 365-374.
- [15] Akash M S H, Rehman K, Liaqat A, 2017, Tumor necrosis factor-alpha: Role in Development of insulin resistance and pathogenesis of type 2 diabetes mellitus, Journal of cellular Biochemistry, Vol 119, 1, pp 105-110.
- [16] Tsao Chang H, Shiao Ming Y, Chuang P H, Chang Y. H, Hwang J, 2014, Interleukin-4 regulates lipid metabolism by inhibiting adipogenesis and promoting lipolysis, Journal of Lipid
- [17] Feuerer M, Herrero L, Cipolletta D, Naaz A, Wong J, Nayer A, et al. Lean, but not obese, fat is enriched for a unique population of regulatory T cells that affect metabolic parameters. Nat Med. 2009;15:930-9.
- [18] Muir L A, et al, 2016, Adipose tissue fibrosis, hypertrophy, and hyperplasia: correlation with diabetes in human obesity, Obesity (Silver Spring), pp 597-605.
- [19] Trayhurn P, 2014, Hipoxia and adipocyte physiology: implications for adipose tissue dysfunction in obesity, Review in advance, pp 14-45.

- [20] Tsao Chang H, Shiao Ming Y, Chuang P H, Chang Y. H, Hwang J, 2014, Interleukin-4 regulates lipid metabolism by inhibiting adipogenesis and promoting lipolysis, *Journal of Lipid Research*, Vol 55, pp 385-397.
- [21] Choe S, Huh J, Hwang I, Kim J, Kim Jae. B, 2016, Adipose Tissue Remodeling: Its role in energy metabolism and metabolic disorders, *Frontiers in Endocrinology*, Vol 7, pp 1-16.
- [22] Xu Z, Fan J, Ding X, Qiao L, Wang G, 2009, Characterization of High-Fat, Diet-Induced, Non-alcoholic Steatohepatitis with Fibrosis in Rats, *Digestive Disease and Sciences*, Vol 55, pp 931-940.
- [23] Rhea E, Salameh T, Logsdon A, Hanson A, Erickson M, Banks W, Blood-Brain Barriers in obesity, *The AAPS Journal*, Vol 19, pp 921-930.
- [24] Jandhyala M, S, Talukdar R, Subramanyam C, Vuyyuru H, Sasikala M, Reddy D'N, 2015, Role of the normal gut microbiota, *World Jou Gastro*, 8787-8803.
- [25] Lecomte V, Kaakoush N, O, Maloney, C, Huinao, K, Mitchell, H, Morris M, 2015, Changes in gut microbiota in rats fed high fat diet correlate with obesity-associated metabolic parameters, *PLoS One*.
- [26] Guo X, Li J, Tang R, Zhang G, Zeng H, Wood R. J, Liu Z, 2017, High Fat Diet Alters Gut Microbiota and the Expression of Paneth Cell-Antimicrobial Peptides Preceding Changes of Circulating inflammatory cytokines, *Mediators of Inflammation*, pp 1-9
- [27] Kim KA, Gu W, Lee IA, Joh EH, Kim DH (2012) High fat diet-induced gut microbiota exacerbates inflammation and obesity in mice via the TLR4 signaling pathway. *PLoS One*
- [28] Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, Neyrinck AM, Fava F, Tuohy KM, Chabo C, Waget A, Delmée E, Primo B, Sulpice T, Chamontin B, Ferrières J, Tanti JF, Gibson GR, Casteilla L, Delzenne NM, Alessi MC, Burcelin R, 2007, Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance, *Diabetes*,(7): 1761-1772.
- [29] *e La Serre CB, Ellis CL, Lee J, Hartman AL, Rutledge JC, Raybould HE 2010, Propensity to high-fat diet-induced obesity in rats is associated with changes in the gut microbiota and gut inflammation, Am J Physiol Gastrointestinal Physiology 299 (2): G440-G448.*
- [30] Ghoshal S, Witta J, Zhong J, de Villiers W, Eckhardt E, 2009, Chylomicrons promote intestinal absorption of lipopolysaccharides, *Journal of Lipid Research*, 50, 90-95.
- [31] Wang X, Quinn P. J, 2010, *Endotoxins: Structure, Function and Recognition*, Springer vol 53, 188-208.
- [32] Pedroza J, I, et al, 2015, Low-grade systemic inflammation and the development of metabolic diseases: From the molecular evidence to the clinical practice, *Cirugía y Cirujanos* Vol 83, pp 543-551.
- [33] Ospelt C, Gay Steffen, 2010, TLRs and Chronic inflammation, *The international Journal of biochemistry and Cell biology*, Vol 42, pp 495-505.

- [34] Li Chuan, Xu M, Adler A, Vella A, Zhou B, 2017, Macrophage polarization and Metainflammation, HHS Public Acces, Vol 191, pp 29-44.
- [35] Fox S I, 2011, Fisiología humana, Mc Graw Hill, 12 ed, México, pp 161-166.
- [36] Chavarría A y Cárdenas G, 2013, Neuronal influence behind the central nervous system regulation of the immune cells, *Frontiers in integrative neuroscience*, Vol 7, 64, pp 1-6.
- [37] Verkhratsky A. y Nedergaard M, 2018, Physiology of Astroglia, *Physiology Review*, Vol 98, pp 239-389.
- [38] Colonna M y Betovsky O, 2017, Microglia Function in the Central Nervous System During Health and Neurodegeneration, *Annual Review of Immunology*, vol 35, pp 441-468.
- [39] DiSabato D, Quan N and Godbout J P, 2016, Neuroinflammation: The Devil is in the Details, *Journal Neurochemistry*, Vol 139, pp 136-153.
- [40] Subhramanyam C S, Wang Cheng, Hu Q and Dheen, S T, 2019, Microglia-mediated neuroinflammation in neurodegenerative disease, *Seminars in Cell and Developmental Biology*, pp 1-9.
- [41] Liddelow Shane A, et al, 2017, Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia, *Nature* vol 541, pp 481-487.
- [42] U.K. Hanisch, H. Kettenmann, 2007, Microglia: active sensor and versatile effector cells in the normal and pathologic brain, *Nature Neuroscience*, Vol 10, pp 1387–1394.
- [43] Miller A, Spencer S, J, 2014, Obesity and neuroinflammation: A pathway to cognitive impairment, *Brain, Behavior and Immunity*, Vol 42, pp 10-21.
- [44] S. Sabia, M. Kivimaki, M.J. Shipley, M.G. Marmot, A. Singh-Manoux, 2009, Body mass index over the adult life course and cognition in late midlife: the Whitehall II Cohort Study, *The American Journal. Clinical. Nutrition.*, Vol 89, pp. 601-607
- [45] J. Gunstad, R.H. Paul, R.A. Cohen, D.F. Tate, M.B. Spitznagel, E. Gordon, 2007, Elevated body mass index is associated with executive dysfunction in otherwise healthy adults *Compr. Psychiatry*, Vol 48, pp. 57-61
- [46] J.C. Moraes, A. Coope, J. Morari, D.E. Cintra, E.A. Roman, J.R. Pauli, et al., 2009, High-fat diet induces apoptosis of hypothalamic neurons *PLoS One*, Vol 4.
- [47] A.M. Stranahan, E.D. Norman, K. Lee, R.G. Cutler, R.S. Telljohann, J.M. Egan, et al, 2008, Diet-induced insulin resistance impairs hippocampal synaptic plasticity and cognition in middle-aged rats, *Hippocampus*, 18 pp. 1085-1088.
- [48] Ouyang S, Hsuchou H, Kastin J A, Wang Y, Yu C, Pan W, 2014, Diet-induced obesity suppresses expression of many proteins at the blood-brain barrier, *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, Vol 34, pp. 43-51.

- [49] W. Li, R. Prakash, D. Chawla, W. Du, S.P. Didion, J.A. Filosa, et al, 2013, Early effects of high-fat diet on neurovascular function and focal ischemic brain injury, *American Journal Physiology Regul. Integr. Comp. Physiol*, 304 (11), pp. R1001-R1008
- [50] Perry V h., and Holmes C, 2014, Microglia priming in neurodegenerative disease. *Nature Review Neurology*, Vol 10, pp 217-224.
- [51] Yu Zong J., Wei Li J., Lin Tan. y Lan Tan, 2018, Microglial priming in Alzheimer's disease, *Translational Neurodegeneration*, pp 1-14.
- [52] Ghosh, S., Wu, M. D., Shaftel, S. S., Kyrkanides, S., LaFerla, F. M., Olschowka, J. A., & O'Banion, M. K., 2013, Sustained Interleukin-1 Overexpression Exacerbates Tau Pathology Despite Reduced Amyloid Burden in an Alzheimer's Mouse Model. *Journal of Neuroscience*, 33, pp.5053–5064.
- [53] Soch, A., Sominsky, L., De Luca, S. N., & Spencer, S. J., 2019, Obesity after neonatal overfeeding is independent of hypothalamic microgliosis. *Journal of Neuroendocrinology*, e12757.
- [54] Lueptow L, M, 2017, Novel Object Recognition Test for the Investigation of Learning and Memory in Mice, *Journal of Visualized Experiments*, 126, e55718, pp 1-9.
- [55] Hariri N, Thibault L, 2010, High-fat diet-induced obesity in animal models, *Nutrition Research Reviews*, Vol 23, pp 270-299.
- [56] https://www.who.int/diabetes/action_online/basics/es/index1.html
- [57] Borst S, 2004, The role of TNF in insulin resistance, *Endocrine* Vol 23 pp 177-182.
- [58] Hennessy E, et al, 2017, Systemic TNF- α produces acute cognitive dysfunction and exaggerated sickness behavior when superimposed upon progressive neurodegeneration, *Brain, Behavior, and Immunity*, pp 233-244.
- [59] Jurdak N, Kanarek R, 2009, Sucrose-induced obesity, *Physiology and Behavior*, pp 1-5.
- [60] Mclean F, et al, 2018, Rapid and reversible impairment of episodic memory by a high-fat diet in mice, *Scientific Reports*, 1-9 pp.
- [61] Meunier A, Sawamoto K y Spassky N, 2013, Ependyma Choroid, Patterning and Cell Type Specification in the Developing CNS and PNS: *Comprehensive Developmental Neuroscience*, Vol 1, 819-830 pp.
- [62] Wolburg H y Wolburg-Buchholz K, 2015, Ependymal Cells, *ELSEVIER*, 1-9 pp.
- [63] Deng Y y Scherer P E, 2011, Adipokines as novel biomarkers and regulator of the metabolic syndrome, *Ann NY Acad*, 1-25 pp.

[64] Boucher J, Kleinridders A, Kahn R, 2014, Insulin Receptor Signaling in Normal and Insulin-Resistant States, Cold Spring Harbor Perspective Biology pp 1-23.

[65] Asrih M, Jornayaz F, 2013, Inflammation as potential link between nonalcoholic fatty liver disease and insulin resistance, Journal of Endocrinology, pp R25-R36.

[66] Marques C, et al, 2015, High-fat diet-induced obesity Rat model: a comparison between Wistar and Sprague-Dawley Rat, Adipocyte, pp 11-21.

[67] Hafizur R, et al, 2015, A “Humanized” rat model of pre-diabetes by high fat diet-feeding to weaning wistar rats, Integrative obesity and diabetes, pp 44-48.

[68] Bhandari U, et al, 2012, The effect of high-fat diet induced obesity on cardiovascular toxicity in wistar albino rats, Human and Experimental Toxicology, pp 1313-1321.

[69] Zhen Li G, et al, 2012, Tumor necrosis factor alpha increase intestinal permeability in mice with fulminant hepatic failure, World Journal of Gastroenterology, pp 5042-5050

[70] Ratwat M, et al, 2020, IL1B Increases Intestinal Tight Junction Permeability by Upregulation of MIR200C-3p, Which Degrades Occludin mRNA, Gastroenterology, pp 1-35.

[71] Lyte M, et al, 2014, The microbial endocrinology: The microbiota-Gut-Brain Axis in Health and disease, Springer.

[72] Tsao N, et al, 2001, Tumour Necrosis Factor-Alpha Causes an Increase in Blood-Brain Barrier Permeability During Sepsis, Journal Medical Microbiology, pp 812-821.

[73] Yin J, et al, 2017, The Role of Microglia and Macrophages in CNS Homeostasis, Autoimmunity and Cancer, Journal Immunology Response.

[74] McCusker R and Kelley K, 2013, Immune-neural connections: how the immune system's response to infectious agents influences behavior, Journal of Experimental Biology, pp 84-98.

