

AYUDAS A LA INVESTIGACIÓN IGNACIO H. DE LARRAMENDI

CONVOCATORIA AÑO 20
(Salud)

Fundación
MAPFRE

MEMORIA FINAL

Investigador Principal: U M
Entidad: y U
País: U

“Búsqueda de marcadores séricos para el diagnóstico de posible deterioro cognitivo asociado a la neuronflamación y la obesidad en mujeres adultas mayores de 60 años”.

Luna López Armando¹, Lira-Rotstein Julán de Jesús^{1,2}, Librado-Osorio Raúl¹, Santín- Márquez Roberto², Rosas-Carrasco Óscar³, Konigsberg Mina.^{2*}

¹ Departamento de Investigación Básica, Instituto Nacional de Geriatria, CDMX, México.

² Laboratorio de Bioenergética y Envejecimiento Celular, Depto. de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, CDMX, México.

³ Departamento de la Salud, Universidad Iberoamericana, Ciudad de México, México.

* Autora de correspondencia

Agradecemos a la FUNDACIÓN MAPFRE-ESPAÑA por el apoyo recibido para realizar este proyecto dentro del programa AYUDAS A LA INVESTIGACIÓN IGNACIO H. DE LARRAMENDI 2022.

1. Autores

Dr. Armando Luna López. Doctor en Biología Experimental. Investigador en Ciencias Médicas nivel E”, del Departamento de Investigación Básica del INGER, es miembro del Sistema Nacional de Investigadores, nivel II.

Ha sido tutor de 7 alumnos de Licenciatura, 4 de Maestría y 5 de Doctorado. Es autor de 46 artículos de Investigación indexados, 2 artículos de divulgación y 6 capítulos de libros.

Sus líneas de investigación son el estado redox, la activación del factor Nrf2 como un posible mecanismo de protección y supervivencia celular. Así como el deterioro asociado a la edad, principalmente relacionado con la osteosarcopenia y los tratamientos para prevenirla.

allbioexp@yahoo.com

Biólogo Julián de Jesús Lira Rotstein. Estudiante de la Maestría en Biología Experimental en la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa. Está capacitado en las técnicas de Western Blot y ELISA. Ha participado en dos congresos internacionales y uno nacional. Sus temas de estudio son la senescencia celular, el envejecimiento, la sarcopenia y la obesidad, así como los radicales libres y su relación con las enfermedades asociadas a la edad. lirajulian631@gmail.com

Dr. Roberto Santín Márquez. Posdoctorante en el Oklahoma Medical Research Foundation, Departamento de Envejecimiento y Metabolismo. Estudió la Licenciatura, Maestría y Doctorado en Biología Experimental, en la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa. Es autor de seis artículos de investigación indexados. Sus líneas de investigación se relacionan con el envejecimiento y la senescencia celular, el deterioro cognitivo, la neuroinflamación y el estrés oxidante. Roberto-Santin-Marquez@omrf.org

Biólogo Raúl Alejandro Librado Osorio. Laboratorista “A” en el laboratorio de Biología del envejecimiento en el Instituto Nacional de Geriátría (INGER). Cuenta con siete artículos de investigación, ha participado en diversos cursos, foros y talleres, así como también en certificaciones en diversos equipos. Forma parte del comité de bioseguridad en investigación del INGER, así como del comité interno para el cuidado y uso de los animales de laboratorio (CICUAL) del mismo instituto. lraulosorio@gmail.com

Dr. Oscar Rosas Carrasco. Médico especialista en Medicina Interna y Geriátría. Coordinador del Centro de Evaluación del Adulto Mayor en el departamento de Salud de la Universidad Iberoamericana, Ciudad de México. Pertenece al Sistema Nacional de Investigadores, nivel II. Cuenta con 43 publicaciones en revistas internacionales con factor de impacto, indexadas en MedLine y con 30 capítulos de libro. Fue editor de 4 libros. Sus principales líneas de interés en investigación son: Sarcopenia, obesidad sarcopénica y obesidad osteosarcopénica, Fragilidad,

Diabetes en el Adulto Mayor, Fármaco - epidemiología en Geriatría (Calidad de la prescripción, Interacciones farmacológicas, efectos adversos), Calidad de Vida en el Adulto Mayor, Calidad de Vida en Demencias, Factores asociados al Maltrato en el Adulto Mayor

Dra. Mina Konigsberg Fainstein. Doctora en Ciencias Biológicas. Profesora Titular C y responsable del Laboratorio de Bioenergética y Envejecimiento Celular del Departamento Ciencias de la Salud, de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa. Realizó una estancia sabática en el Barshop Institute for Aging and Longevity studies. Health-Science Center. University of Texas, con una beca Fulbright y del CONACyT. Ha publicado más de 100 artículos científicos y de divulgación; ha dirigido 17 tesis de alumnos de licenciatura y 40 de posgrado. Es cofundadora y miembro del colectivo Mujeres de Ciencia en Red. Su investigación se orienta al estudio del envejecimiento, senescencia celular, estrés oxidante deterioro cognitivo y obesidad. Es miembro de la Society for Redox Biology and Medicine, American Aging Association, Academia Mexicana de las Ciencias y del Sistema Nacional de Investigadores nivel III.

2. Índice general paginado

1. Autores	2
2. Índice general	4
3. Objeto y alcance	4
4. Abstract	5
5. Introducción y antecedentes	5
6. Objetivos	9
7. Materiales y metodología	9
8. Resultados	11
9. Discusión	19
10. Conclusiones	20
11. Bibliografía	21
12. Anexos	23

3. Objeto y alcance

Las enfermedades crónicas constituyen uno de los desafíos más difíciles que enfrenta el sistema de salud mexicano, debido a su aumento exponencial en los últimos años, provocando morbilidad y mortalidad en la creciente población de personas adultas mayores. Entre las enfermedades crónicas destaca el deterioro cognitivo que conlleva a las enfermedades neurodegenerativas y demencias. Uno de los principales factores de riesgo para desarrollar enfermedades crónicas es la obesidad, misma que ha ido aumentando en la población femenina de personas adultas mayores.

En México, a la fecha se han realizado una gran cantidad de programas e intervenciones que han tenido poco éxito en contrarrestar o evitar este problema, principalmente porque existen pocos estudios que lo analicen de manera integral, además de que los estudios e intervenciones dirigidas a mujeres adultas mayores son muy escasos. Por lo que el objetivo de este estudio fue encontrar un conjunto de biomarcadores séricos que pudieran usarse como un predictor diagnóstico de posible deterioro cognitivo asociado a la obesidad en mujeres adultas mayores con obesidad.

En 2019 se llevó a cabo el Estudio FraDySMex (Fragilidad, Dinapenia y Sarcopenia en Adultos Mexicanos) por parte del Instituto Nacional de Geriátría (INGER) en la Ciudad de México. De esas muestras, se seleccionaron 80 mujeres que presentaron obesidad y 80 mujeres controles. Se evaluaron las citocinas séricas IL-6, TNF-alfa, IL-10 y adiponectina, y el factor PPAR γ para determinar in perfil inflamatorio; se evaluó el perfil redox mediante el cociente GSH/GSSG y la carbonilación de proteínas. Se determinaron los biomarcadores séricos de daño cerebral y neurodegeneración GFAP y S100B, y el factor neurotrófico BDNF. Se realizó un análisis multivariado de componentes

principales en donde se observó que las mujeres estudiadas se distribuyen en dos poblaciones completamente separadas, las mujeres con obesidad y sin obesidad, sugiriendo que tienen variables y patrones distintos. Las variables más robustas encontradas que se proponen como posibles marcadores asociados a la edad y obesidad para predecir un potencial riesgo de deterioro cognitivo son, la disminución en los niveles de GSH, adiponectina y PPAR γ ; aunados a un incremento en los niveles de GSSG, IL-6 y S100B.

Una de las limitantes de este estudio fue el bajo número de mujeres estudiadas (solo 80 por grupo), por lo que para corroborar estos marcadores habría que estudiar a una población mayor. En marzo de este año, 2024, se iniciará una nueva versión del estudio FraDySMex, y tendremos acceso a las muestras y datos. De conseguir financiamiento, pretendemos acotar el estudio para centrarnos específicamente en mujeres adultas mayores de 60 años con obesidad y deterioro cognitivo, pero evaluando los marcadores aquí propuestos un número mayor de mujeres.

4. Abstract

Chronic diseases, among which cognitive impairment and dementias stand out, constitute one of the most difficult challenges facing the Mexican health system, due to the increase in the number of elderly people. One of the main risk factors for developing chronic diseases is obesity, which is increasing in the elderly female population. Hence, the aim of this study was to find a set of serum biomarkers that could be used as a diagnostic predictor of possible obesity-associated cognitive impairment in obese elderly women. Based on the FraDySMex (Fragility, Dynapenia and Sarcopenia in Mexican Adults) Study of the National Institute of Geriatrics (INGER) of Mexico, 80 women with obesity and 80 controls were selected. Serum cytokines IL-6, TNF-alpha, IL-10 and adiponectin and the factor PPAR γ were evaluated to determine the inflammatory profile; the redox profile was evaluated by GSH/GSSG ratio and protein carbonylation. The serum biomarkers of brain damage and neurodegeneration GFAP and S100B and the neurotrophic factor BDNF were also determined. A multivariate principal component analysis was performed and it showed that the women studied are distributed in two separate and clear populations obese and non-obese, and that these populations have different characteristics. The most robust variables found as proposed markers are the decrease in GSH, adiponectin and PPAR γ , together with the increase in GSSG, IL-6 and S100B. One of the limitations of this study was the low number of women studied, so these markers should be corroborated with larger and more limited populations.

5. Introducción y antecedente

Las enfermedades crónico-degenerativas (ECD) constituyen uno de los desafíos más difíciles que enfrentan los sistemas de salud en la mayoría de los países del mundo, debido a su aumento

exponencial en los últimos años, provocando morbilidad y mortalidad en la creciente población de personas adultas mayores (1)

El aumento de la longevidad trae consigo muchos beneficios, sin embargo, no se pueden dejar de lado ciertas dificultades que no deben ser desatendidas, como la pérdida de las capacidades físicas y mentales, la disminución de la autonomía de las personas, el deterioro de los roles familiares y sociales, la pérdida de la capacidad económica y el riesgo para la salud con consecuencias incurables y progresivas (2,3). De ahí que exista una brecha entre la esperanza de vida y la esperanza de vida-saludable, lo que significa que durante los últimos 10 años de vida muchas personas sufren de ECD, cuyo tratamiento tiene un alto costo, tanto para el estado como para las familias. Actualmente, alrededor del 9.7% de la población mundial son personas adultas mayores, y se espera que esta población se duplique para el 2050, por lo que encontrar formas de prevenir dichas enfermedades y el deterioro asociado a ellas es imperativo.

Entre los principales factores de riesgo para desarrollar ECD se encuentra la obesidad, la cual se definió por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como la acumulación excesiva de grasa que se vuelve perjudicial para la salud humana y ha sido declarada emergencia sanitaria, ya que en los últimos 50 años la población de adultos con obesidad casi se ha triplicado en todo el mundo, siendo la mayor prevalencia en mujeres (15%) que en hombres (11%) (4). México ocupa el segundo lugar en obesidad mundial y, de acuerdo a la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT 2018) (5), el 39.1% de personas adultas mayores de 20 años tienen sobrepeso y el 36.1% obesidad (75.2%). La obesidad afecta a toda la población; sin embargo, la prevalencia en mujeres fue del 40.2% y de 30.5% para hombres (5).

El exceso de grasa ingerido en la dieta se acumula en el tejido adiposo, en particular en las células conocidas como adipocitos. Al aumentar su tamaño, debido al excedente de grasa, los adipocitos incrementan su capacidad para producir y secretar moléculas inflamatorias conocidas como citoquinas y quimiocinas. Las personas obesas y con sobrepeso tienen niveles séricos alterados con aumento en diversas citoquinas inflamatorias, entre las que destacan el factor de necrosis tumoral alfa ($TNF-\alpha$) y la interleucina 6 (IL-6). La obesidad también hace que disminuyan las citoquinas antiinflamatorias como la interleucina 10 (IL-10) y la adiponectina, esta última es una adipocina que se relaciona con el metabolismo de los lípidos y su disminución se ha asociado con mayor riesgo a enfermedades cardiovasculares y síndrome metabólico (6). Entre las moléculas relacionadas con los mecanismos moleculares en la inflamación inducida por la obesidad, se ha propuesto la participación de los receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPAR), en particular el tipo gamma ($PPAR\gamma$), ya que es un factor de transcripción relacionado con el metabolismo de los lípidos y azúcares, que también regula la respuesta inflamatoria disminuyendo la síntesis de mediadores proinflamatorios y aumentando la expresión de genes antioxidantes (7,8). Además, $PPAR\gamma$ eleva los niveles sanguíneos de adiponectina, que como se mencionó antes, están disminuidos en personas

con obesidad y pacientes diabéticos, mejorando el metabolismo de lípidos y glucosa (9). Conjuntando lo anterior, actualmente se acepta que la obesidad genera un estado de inflamación sistémica crónica de bajo grado; pero ¿cuál es el problema de tener una inflamación crónica?

En condiciones normales, el sistema inmune activa la respuesta inflamatoria para contender contra patógenos o estímulos adversos; una vez que la amenaza o el daño se eliminan, la inflamación se resuelve y el organismo regresa a la homeostasis. Si la inflamación no se resuelve, las citoquinas inflamatorias y las moléculas oxidantes pueden dañar o incluso inducir la muerte en las células de los tejidos afectados, fomentando la aparición de diversas enfermedades.

Se sabe que, durante el envejecimiento, el sistema inmune se encuentra alterado y activa respuestas inflamatorias (producción de citoquinas y quimiocinas) sin necesidad, y por lo mismo, también sin resolución, generando un estado crónico de inflamación de bajo grado al que se ha denominado *Inflamma-aging* (de inglés: inflamación y envejecimiento). Por lo que durante el envejecimiento asociado a obesidad hay un doble estímulo inflamatorio que puede conjuntarse para generar daño en el organismo (10, 11).

Por si fuera poco, la inflamación crónica también contribuye al incremento del estrés oxidante, que es un factor importante en diversas patologías y en el envejecimiento. El estrés oxidante ocurre cuando hay un desequilibrio entre la producción de radicales libres (moléculas inestables que pueden dañar las células al reaccionar con el ADN, proteínas y lípidos) y la capacidad de los sistemas antioxidantes para contrarrestarlos (12), por lo que durante el estrés oxidante se dañan los tejidos y se altera la homeostasis celular.

Por lo tanto, la obesidad puede generar efectos nocivos en diferentes órganos al incrementar el riesgo de desarrollar un amplio espectro de condiciones como: diabetes tipo 2, hipertensión, enfermedades cardíacas, accidentes cerebrovasculares, trastornos musculoesqueléticos, problemas gastrointestinales y respiratorios y muchos tipos de cáncer (13,14). La inflamación crónica también puede incidir sobre el funcionamiento del sistema nervioso central (SNC) (15), ya que perturba la barrera hematoencefálica debido a las alteraciones estructurales en la microvasculatura del cerebro y la disfunción endotelial, neuroinflamación e incremento del estrés oxidante (16). En la actualidad, ya se ha reconocido la existencia de una asociación entre la obesidad y el deterioro de la función cognitiva, así como el riesgo de demencias como la enfermedad de Alzheimer (17). El incremento en la cantidad de personas con sobrepeso y obesidad a nivel mundial, aunado a una población que envejece cada vez más, muestran que es esencial comprender la fisiopatología de la obesidad en el SNC y, en particular, en aquellas regiones importantes en el aprendizaje y la memoria (18). En particular en México, la prevalencia de demencias es superior al 7.3%, con más del 27.3% en personas adultas mayores. Además, este tipo de enfermedades son más frecuentes en las mujeres (19), por lo que el problema de deterioro cognitivo asociado a la obesidad parece agravarse en la población de personas adultas mayores femenina.

De manera que la obesidad y el envejecimiento son factores de riesgo que, pueden favorecer la neuroinflamación, propiciando cambios patológicos relacionados con el deterioro de las actividades cognitivas y motoras (20, 21). Las células más abundantes en el cerebro son los astrocitos, que se encargan de dar soporte a las neuronas, además de proveer los de nutrientes y de moléculas antioxidantes, entre otras funciones (22). Sin embargo, la exposición a una inflamación crónica prolongada se asocia con la pérdida del fenotipo neuroprotector de los astrocitos (22), ya que al enfrentarse a diversos daños o neuroinflamación, los astrocitos se activan en lo que se conoce como gliosis. La gliosis se caracteriza por un aumento en la expresión de GFAP, una alta tasa de proliferación y la formación de una cicatriz glial compacta para la protección contra la extravasación de células inflamatorias y agentes infecciosos. La gliosis es una reacción defensiva para promover la supervivencia neuronal (23), pero si se mantiene, puede volverse crónica y en ese caso, los astrocitos reactivos también pueden secretar moléculas inflamatorias como citoquinas y quimiocinas, contribuyendo a la neuroinflamación (24). Recientemente se ha reportado que los niveles elevados de la proteína GFAP en suero pueden servir como un potencial biomarcador de eventos cerebrovasculares, alteraciones neuroinflamatorias y neurodegenerativas (25). Por otro lado, la S100B es una proteína fijadora de calcio que se encuentra principalmente en los astrocitos y sus niveles séricos también han sido empezados a usar como biomarcadores de daño neuronal y neuroinflamación (26).

Finalmente, los factores neurotróficos son factores de crecimiento que promueven la supervivencia y regeneración de las neuronas, también denominados neurotrofinas. Entre los más estudiados se encuentra el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), que tiene papel importante en la supervivencia, proliferación y maduración de las neuronas (27). La producción de citoquinas proinflamatorias durante la obesidad ha mostrado reducir significativamente la expresión de BDNF lo cual se ha asociado con disfunción cognitiva y demencia (28).

En 2019 en la Ciudad de México, se llevó a cabo el Estudio FraDySMex (Fragilidad, Dinapenia y Sarcopenia en Adultos Mexicanos) por parte del Instituto Nacional de Geriátrica (INGER). En este estudio participaron mujeres y hombres de 50 años y más, residentes en tres municipios (de un total de 16) del sureste de la Ciudad de México (Cuajimalpa, Magdalena Contreras y Álvaro Obregón). Estas tres zonas concentran el 12.5% del total de personas de 60 años y más en la Ciudad de México y tienen altos niveles de pobreza (Cuajimalpa: 30.1%; Magdalena Contreras: 32.6%; y Álvaro Obregón: 27.9%). Un equipo multidisciplinario integrado por geriatras, internistas, médicos generales, enfermeras, fisioterapeutas, nutricionistas y especialistas en rehabilitación geriátrica, realizó una serie de evaluaciones objetivas a los participantes. En 2022 se publicaron los resultados del rendimiento físico y la calidad de vida relacionada con la salud (CVRS) de una muestra de 624 pacientes, en donde se encontró que el bajo rendimiento físico se asocia a una menor calidad de vida en las personas mayores. Sin embargo, además de esas pruebas también se evaluaron los

datos sociodemográficos, comorbilidad, estado cognitivo, síntomas depresivos, ansiedad, fragilidad y dependencia funcional (29).

6. Objetivo

La obesidad es un proceso que genera de inflamación y estrés oxidante en el cerebro, lo que se ha asociado con la pérdida cognitiva durante el envejecimiento. Por todo ello es que en este trabajo se decidió evaluar algunos marcadores séricos del estado inflamatorio como TNF- α , IL-6, IL-10, adiponectina y PPAR γ ; tres biomarcadores de daño o protección neuronal y de trastornos neuroinflamatorios y neurodegenerativos: GFAP, S100B y BDNF; junto con los cambios en el estado redox mediante el cociente GSH/GSSG y el daño oxidante a proteínas, para encontrar un perfil bioquímico diferencial en mujeres mayores de 60 años con obesidad y compararlo con mujeres sin alteraciones en el peso corporal.

Posteriormente se realizó un análisis estadístico de componentes principales (ACP) empleando los datos obtenidos en el perfil bioquímico completo con los datos encontrados en las pruebas de minimal y de Barthel de FraDySMex (deterioro cognitivo y dependencia, respectivamente), así como las variables clínicas de IMC, porcentaje de grasa y edad, para encontrar un conjunto de marcadores que pudieran ser predictores de posible daño o deterioro cognitivo asociado a la edad y la obesidad.

7. Materiales y Metodología

7.1 Población de Estudio

De las muestras del estudio de Fragilidad, Dinapenia y Sarcopenia en México (Estudio FraDySMex-2019), detallado previamente (11), se seleccionaron 80 mujeres que presentaron obesidad (IMC > 30) y 80 mujeres controles (IMC < 30).

7.2 Determinaciones morfométricas

Se determinó la talla, el peso y con esos valores se determinó el índice de masa corporal (IMC). Adicionalmente, se determinó la composición corporal mediante densitometría dual de rayos X (DEXA). La obesidad fue asignada cuando las mujeres presentaron un porcentaje mayor o igual al 40% de grasa corporal total.

7.3 Evaluación de los niveles de citocinas séricas y marcadores de daño neuronal.

Las muestras de sangre se centrifugaron a 3,500 rpm a 4°C durante 15 min para obtener el suero. La concentración de citocinas en suero se determinó mediante el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ensayo ELISA). Se evaluaron IL-6, TNF-alfa, IL-10, adiponectina, GFAP, S100B y BDNF siguiendo las instrucciones del proveedor. Todas las soluciones requeridas se prepararon con agua desionizada de un sistema Milli-RQ (Millipore, MA). Los sueros se incubaron durante 18 horas a 4

°C con PBS-Tween20 (0.05 %) /BSA al 0.5 %, se lavaron tres veces y se incubaron con el anticuerpo de detección correspondiente durante 2 h a temperatura ambiente. Los anticuerpos de detección unidos se detectaron usando el sistema a-HRP (avidina-HRP/estreptavidina-HRP) usando TMB/H₂O₂ como sustrato. Las lecturas de densidad óptica fueron a 450 nm (Epoch BioTek, Winooski, VT, Estados Unidos).

7.4 Determinación de GSH/GSSG para evaluar el estado redox

Las concentraciones de GSH y GSSG se determinaron por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) siguiendo el protocolo de Hernández-Álvarez et al (30). Se utilizaron 50 mL de suero disueltos en 800 µL de búfer de lisis (10% de HCl y 10 mM de ácido batofenantrolindisulfónico). La suspensión se centrifugó a 13,500 rpm y a 4 °C durante 5 min. Se recuperó el sobrenadante y se inyectó en un equipo de HPLC usando una bomba binaria 1525 (Waters, MA) conectada a una columna de fase reversa Zorbax Eclipse XDB-C18 (Agilent, CA; 250 × 4:6 mm i.d., tamaño de partícula: 5 µm). La fase móvil constó de de acetonitrilo al 1% y búfer de fosfato monobásico 20 mM a pH 7.0, a un flujo de 1mL/min. El GSH y GSSG se detectaron en la misma corrida a 210 nm empleando un detector UV/visible 2489 (Waters, MA). Se cuantificó el área bajo la curva y la concentración de los analitos se determinó usando una curva estándar de GSH y GSSG a 10, 25, 50, 100, 200 y 400 µM.

7.5 Cuantificación del daño oxidante a proteínas por carbonilación

Se cuantificó el daño generado a las proteínas por carbonilación (31). Para aislar las proteínas de la sangre, ésta se centrifugó a 5000 x g durante 15 min a 4° C. Posteriormente se recuperaron los sobrenadantes en tubos de 1.5 mL. En una placa de 96 pozos se agregaron 20 µL de muestra y se adicionaron 20 µL de Dinitrofenilhidrazina (DNPH; 10 mM disuelto en H₃PO₄ 0.5 M), y se dejó incubar la placa en oscuridad durante 10 min a temperatura ambiente. Al terminar el tiempo se añadieron 10 µL de NaOH 6 M y se incubaron durante 10 min más en oscuridad. Finalmente se leyó la placa a 450 nm en un lector de microplacas H Reader 1 Elisa Reader (HLAB). La concentración de carbonilos en las muestras fue determinada multiplicando el valor de la absorbancia a 450 nm por el factor de extinción (46.1). Se ajustó el valor obtenido con la concentración de proteínas en cada muestra.

7.6 Obtención de proteínas para Western blot.

Las muestras de sangre fueron centrifugadas como se mencionó antes para la obtención del suero y el posterior aislamiento de proteínas empleando el correspondiente tampón de lisis (100 µL de ditiotreitól 1M, 100 µL fenylmetilsulfonil floruro (PMSF) 0.1M, 1 tableta de mini Complete™ (Roche, USA), 10 mL T-PER™ (Thermo Scientific). El homogenado se centrifugó a 13,500 rpm a 4 °C durante 15 min. Los sobrenadantes fueron reservados y almacenados a -80 °C en un ultracongelador. Antes de cada experimento, se determinó la concentración de proteínas por espectrofotometría a 595nm, utilizando reactivo de Bradford (Bio-Rad, USA).

7.7 Western blot

Las muestras de proteínas se separaron por SDS-PAGE usando un gel al 12%. Se cargaron 30µg de proteína por pozo. Se corrieron a 75 mV por 15 minutos y posteriormente a 120 mV por una hora y media. Después de la electroforesis, las proteínas fueron transferidas en membranas de PVDF (Amersham Hybond™-P). Los sitios inespecíficos para la unión de los anticuerpos fueron bloqueados con una solución de leche al 8% y las membranas fueron lavadas con TBS-Tween20™ (Thermo Scientific, USA). Las membranas se incubaron durante toda la noche con el anticuerpo primario anti-PPAR γ 1:1000 (PPAR gamma Monoclonal Antibody (A3409A, Invitrogen) usando β -actina 1:1000 (Santa Cruz Biotechnology sc-47778) como control constitutivo. Después se realizaron lavados y las membranas se incubaron por 90 min a temperatura ambiente con el anticuerpo secundario correspondiente. Las bandas de proteínas se revelaron mediante los reactivos de quimioluminiscencia Immobilon™ Western (Millipore, USA) (32).

7.8 Análisis de componentes principales

Debido al alto número de variables se realizó un análisis de componentes principales para reducir la dimensionalidad del análisis y colapsarlas en tres nuevas variables, o componentes. El análisis se realizó tomando en cuenta la matriz de correlaciones entre las variables. La variación acumulada explicada por los componentes calculados fue de 88.3% (componente 1 con un valor de $\text{Chi}^2=243.2$ y 75.6 grados de libertad; componente 2 con un valor de $\text{Chi}^2=166.2$ y 44.7 grados de libertad; componente 3 con un valor de $\text{Chi}^2=127.2$ y 28.1 grados de libertad). Tanto los gráficos como el análisis de componentes principales fueron generados con el software JMP Pro16.

8. Resultados

8.1 Datos morfométricos

Los datos morfométricos se obtuvieron del Estudio FraDySMex (29) seleccionando únicamente 80 mujeres que cumplieran con los criterios de obesidad señalados por la OMS ($\text{IMC} > 30$) y que fueran mayores de 60 años. En la figura 1A se muestra que no hubo diferencias en la dispersión de datos por edad entre las dos poblaciones de estudio, es decir mujeres con obesidad y mujeres con peso normal. El promedio de edad para las primeras fue de 73.96 ± 7.81 años, mientras que para las segundas fue de 72.13 ± 9.67 . Las figuras 1B, 1C y 1D muestran el porcentaje de grasa, el peso corporal y el IMC (índice de masa corporal), respectivamente para las dos poblaciones, y como era de esperarse, las mujeres del grupo con obesidad presentan un incremento significativo en todos los parámetros analizados en comparación a las que no presentan obesidad: % Grasa Corporal 44.02 ± 2.61 vs. 35.48 ± 3.32 ; IMC 30.32 ± 4.46 vs. 24.19 ± 2.88 .

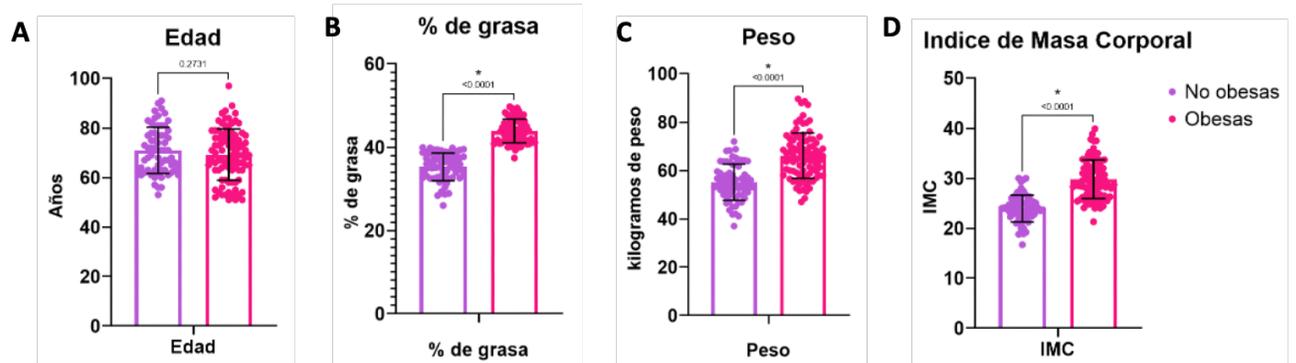


Fig. 1 Datos morfométricos.

Las figuras se construyeron utilizando los datos del Estudio FraDySMex (29). Cada punto en las poblaciones de estudio representa una mujer mayor de 60 años. $N = 80$ para cada grupo. $* p < 0.001$, empleando la Prueba de Mann-Whitney para muestras no pareadas. Se representa la media \pm Error estándar

8.2 Relación entre la obesidad y los estudios cognitivos

Se emplearon los datos del mini-mental (Figura 2A) y los de la escala de dependencia de Barthel (Figura 2B) del Estudio FraDySMex correspondientes a las mujeres de los grupos antes mencionados (29) para correlacionar el deterioro cognitivo con la obesidad. Pero como se observa en las Figuras 2A y 2B, no se encontró una correlación directa entre la obesidad y el deterioro cognitivo. Otra aproximación fue separar los datos según el nivel de deterioro del estudio mini-mental (menor de 24 deterioro severo, entre 25-26 deterioro moderado, arriba de 27 sin deterioro). Como se observa en la Figura 2C, tampoco en este tipo de análisis se vio una asociación directa entre la obesidad y el deterioro cognitivo. Esto es importante, puesto que no es posible decir que la obesidad es el único factor determinante para el deterioro cognitivo asociado al envejecimiento.

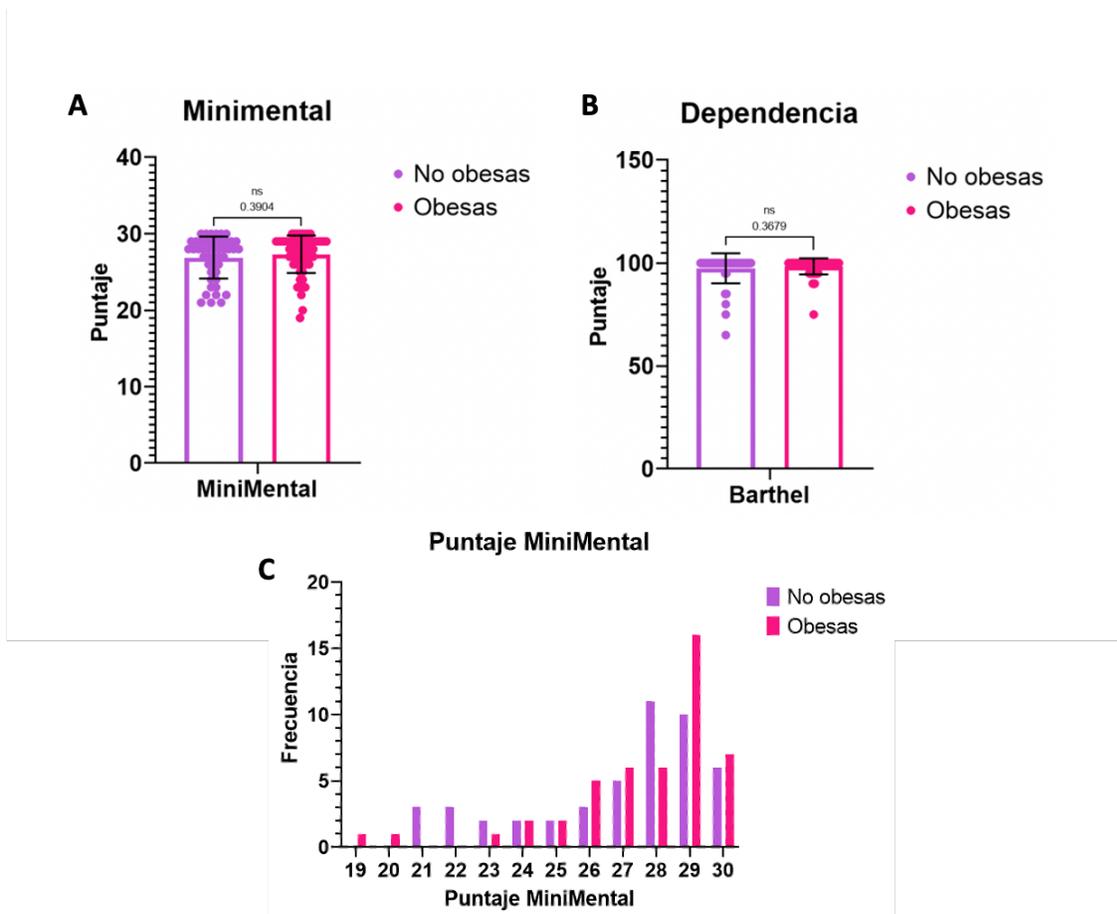


Figura 2. Relación de la obesidad y deterioro cognitivo en las mujeres adultas mayores con y sin obesidad.

Las figuras se construyeron utilizando los datos del Estudio FraDySMex (29). Cada punto en las poblaciones de estudio representa una mujer mayor de 60 años. $N = 80$ para cada grupo. Se empleó la Prueba de Mann-Whitney para muestras no pareadas y no se encontraron diferencias significativas.

8.3 Determinación de las concentraciones séricas de citoquinas y de $PPAR\gamma$ en mujeres adultas mayores con y sin obesidad

La figura 3 muestra las concentraciones de las diferentes citoquinas evaluadas. Se encontró una disminución de casi 45% en las mujeres obesas con respecto a las mujeres no obesas ($p < 0.0001$) en las concentraciones de la adiponectina (Figura 3A). La adiponectina es secretada por las células de la grasa y se relaciona con el metabolismo de los lípidos, por lo que su disminución se ha asociado con mayor riesgo a enfermedades cardiovasculares y síndrome metabólico. La IL-6 es una interleucina que se emplea como marcador sérico de inflamación y en la Figura 3B se observa que las concentraciones séricas de IL-6 fueron alrededor de 39% mayores en las personas con obesidad ($p < 0.0001$). Sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones de $TNF-\alpha$, a pesar que esta citoquina es una de las que se evalúan de manera clásica para medir la respuesta inflamatoria y muerte celular (Figura 3C); ni tampoco en la IL-10 que

es un marcador de la respuesta antiinflamatoria del sistema inmune (Figura 3D). Nuestros resultados muestran una tendencia a la disminución en el grupo con obesidad, sin embargo, el resultado no llega a ser significativo ($p < 0.06$).

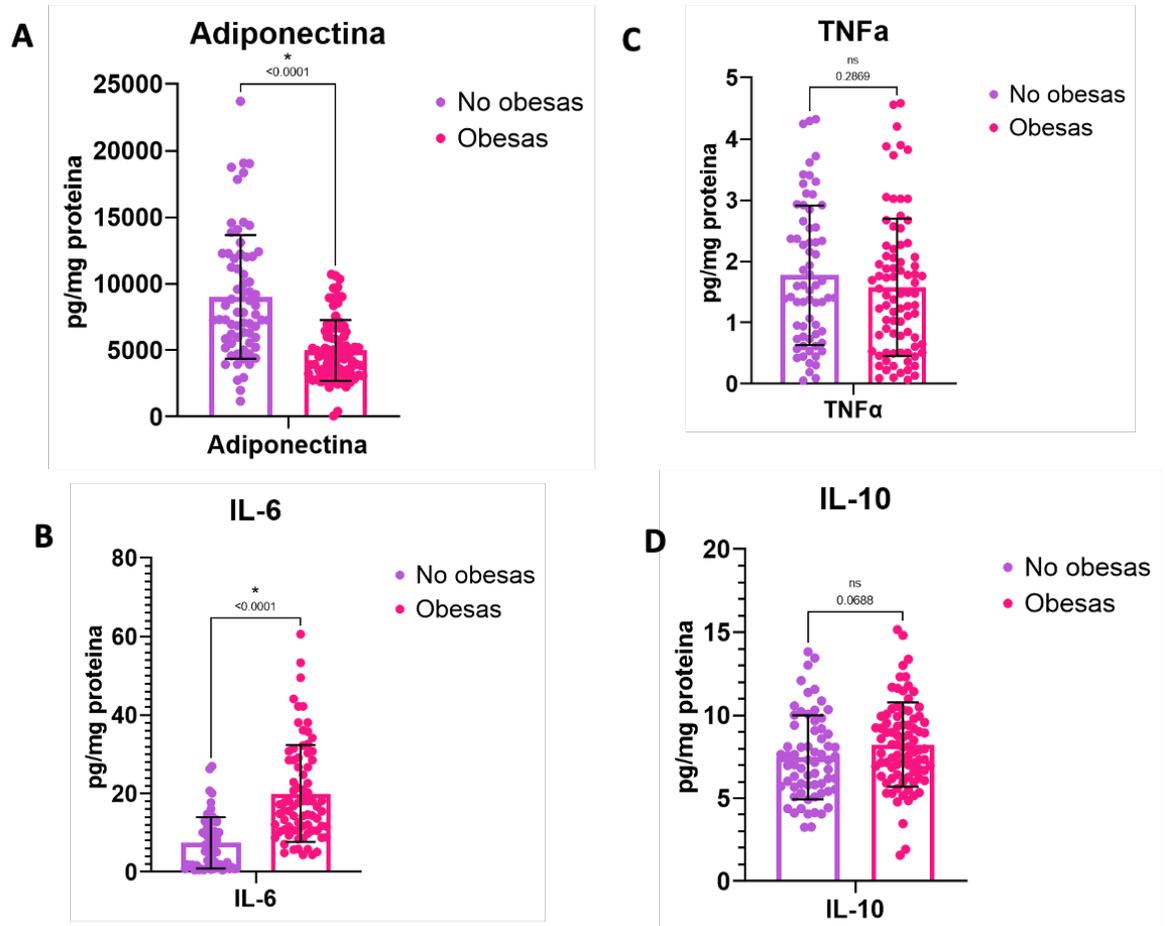


Figura 3. Niveles de citoquinas circulantes en el suero de las mujeres adultas con y sin obesidad.

Cada punto en las poblaciones de estudio representa una mujer mayor de 60 años. $N = 80$ para cada grupo. * $p < 0.001$, empleado la Prueba de Mann-Whitney para muestras no pareadas.

Puesto que PPAR γ es un regulador muy importante del metabolismo de lípidos, así como de los niveles de adiponectina se evaluó esta proteína en el suero. Sin embargo, en este caso no se realizó una prueba de ELISA sino que fue necesario hacer los Western blots de todas las muestras. En la figura 4A se presenta un gel representativo con las muestras de 7 mujeres con obesidad y 7 controles sin obesidad. La Figura 4B presenta los valores de la densitometría realizada tomando en cuenta las 80 muestras de cada población de estudio. Los resultados se normalizaron primero contra el control interno de carga (GAPDH), que es una proteína que no cambia, y que asegura que el cargado de los gels fuera homogéneo. Después se normalizó contra los valores obtenidos para las mujeres con

obesidad, que se toman como 1 (es decir como el 100%). De manera que los resultados muestran que las personas sin obesidad presentan valores aproximadamente 35% más altos de PPAR γ que las que son obesas.

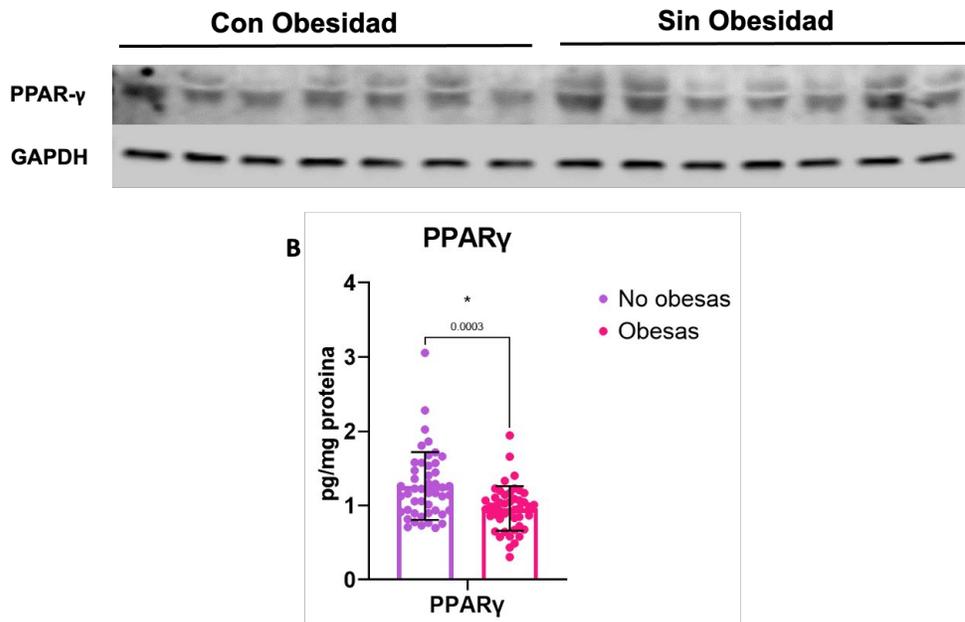


Figura 4. Niveles de PPAR γ en el suero de las mujeres adultas con y sin obesidad.

La proteína PPAR γ se evaluó usando la técnica de Western blot descrita en la sección de metodología. Cada barra representa el promedio de la densitometría de los resultados normalizado con el control de carga GAPDH y después contra las personas con obesidad como valor de 1.0

N = 80 para cada grupo. * $p < 0.05$, empleado la Prueba de Mann-Whitney para muestras no pareadas. Se representa la media \pm Error estándar

8.4 Evaluación del estado redox

En la Figura 4 se muestran las determinaciones del estado redox de las mujeres con o sin obesidad. Los resultados muestran que el glutatión reducido (GSH) (Figura 4A) no presenta diferencias, pero si hay un aumento significativo del glutatión oxidado (GSSG) ($p < 0.0001$) (Figura 4B). Mismo que se ve reflejado en el cociente de (GSH/GSSG) (Figura 4C) indicando que hay un mayor daño por estrés oxidante en las mujeres con obesidad y un peor estado redox que en las que no son obesas. Los niveles de carbonilos indican el daño a proteínas generado por oxidación, es decir por un estado redox deficiente y un estado de estrés oxidante. En este caso encontramos un mayor número de proteínas carboniladas en las personas con obesidad (aprox. 46 % mayor) ($p < 0.0001$) (Figura 4D).

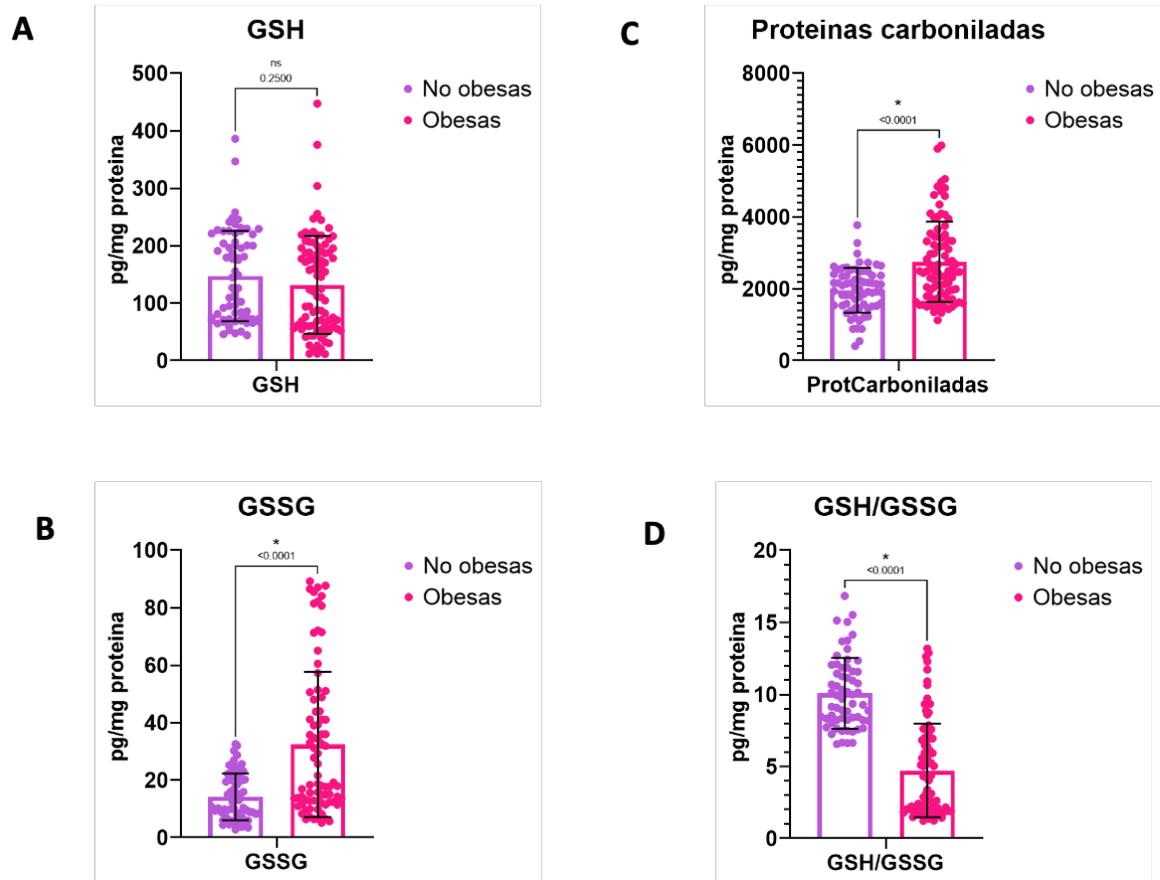


Figura 4. Análisis del Estado Redox de las mujeres adultas mayores con y sin obesidad.

A y B. Niveles de GSH y GSSG circulantes en el suero. **C.** Evaluación del estado redox (cociente GSH/GSSG).

D. Niveles de proteínas carboniladas en la sangre de las mujeres adultas mayores con y sin obesidad.

Cada punto en las poblaciones de estudio representa una mujer mayor de 60 años. $N = 80$ para cada grupo. * $p < 0.001$, empleando la Prueba de Mann-Whitney para muestras no pareadas. Se representa la media \pm Error estándar

8.5 Determinación de las concentraciones séricas de marcadores de daño al SNC en mujeres adultas mayores con y sin obesidad

Al analizar los marcadores de daño en el SNC, no se encontraron diferencias significativas en las dos poblaciones en BDNF, el cual se asocia con una protección y supervivencia de las neuronas (Figura 5A), ni en GFAP (que se asocia con astrogliosis) (Figura 5B). Pero si se encontró un aumento significativo en el otro marcador de gliosis S100B ($p < 0.01$) (Figura 5C).

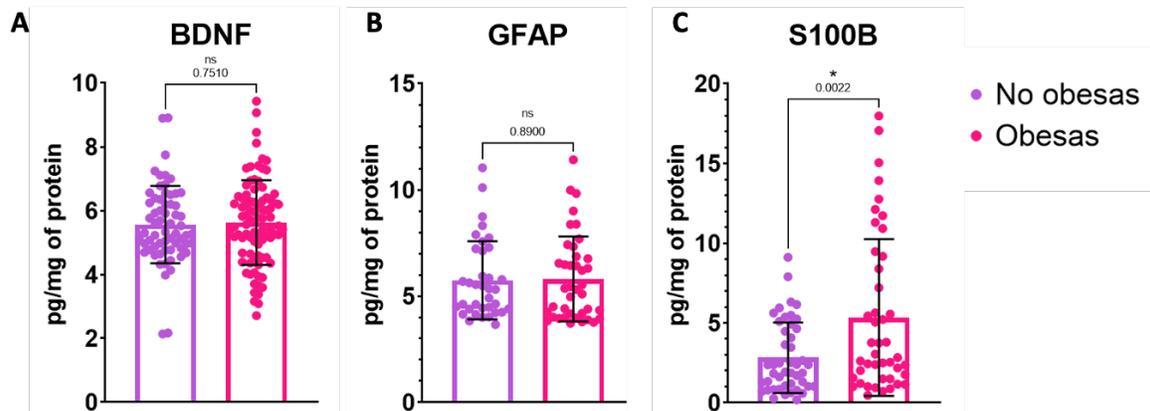


Figura 5. Niveles de biomarcadores asociados a daño en el SNC, circulantes en el suero de las mujeres adultas mayores con y sin obesidad.

Cada punto en las poblaciones de estudio representa una mujer mayor de 60 años. $N = 80$ para cada grupo. * $p < 0.01$, empleado la Prueba de Mann-Whitney para muestras no pareadas. Se representa la media \pm Error estándar

8.6 Análisis de Componentes Principales (ACP)

El análisis de componentes principales se realizó para disminuir el número de variables y poder explicar el fenómeno. Para ello se colapsan las variables y se utiliza el número mínimo de componentes que en conjunto expliquen al menos el 75% del fenómeno. En el caso de este estudio fueron tres componentes principales y explican el 88.36 % de fenómeno. Como se observa en los ejes X y Y de las Figuras 6A y 6B, el componente 1 explica el 63.9% del fenómeno y el componente 2 explica el 16.3%, por lo que juntos explicarían el 80.2%, lo que estrictamente es suficiente ya que el mínimo es de 75%. Nosotros agregamos un tercer componente que explica el 8.18% dando un total de 88.3%. Sin embargo, para esta discusión nos enfocaremos únicamente en el cuadrante superior que relaciona el componente 1 con el 2, explicando el 80% del fenómeno.

Es importante mencionar que para este tipo de análisis no se emplean variables categóricas, sino que se meten todas las variables en el programa y se analizan de manera independiente. Para construir la Figura 6, se metieron todos datos de cada persona dentro del estudio y el programa los acomodó según se relacionan con el fenómeno. Las que se relacionan de manera positiva (las que aumentan) tiene números positivos, es decir, están en la parte superior de la gráfica, mientras las que se asocian de manera negativa están por debajo y tienen números negativos. Una vez que se generó la gráfica con los puntos que representan a cada persona, se le asignaron colores. En este caso, se solicitó al programa que le asignara el color rosa a las mujeres que tenían obesidad y el lila a las que no tenían obesidad. Al conjuntar el componente 2 con el 1 (cuadrante superior en la Figura 6A) y al conjuntar el 3 con el 1 (cuadrante inferior izquierdo en la Figura 6A), se observa que los dos grupos de estudio se acomodan de manera independiente, señalando que son dos poblaciones distintas (obesas y no obesas), que tienen características comunes entre si, pero separadas de la

otra. El cuadrante inferior derecho no se discutirá por que al conjuntar el componente 3 con el 2 solo se explican el 24.46% del fenómeno.

La figura 6B muestra los vectores que representan a cada una de las variables. En este caso, además de tener valores positivos o negativos, también es importante la longitud de vector y la dirección. Los que se mueven en la misma dirección están asociados entre si y entre mayor sea su longitud, existe una mayor asociación. La figura 6C es una sobreposición de las figuras 6A y 6B, que sirve para visualizar que variables se asocian a la población obesa y a la no obesa.

En el cuadrante superior se observa que las variables que se asocian positivamente con las mujeres no obesas fueron aquellas relacionadas con un estado redox preferentemente reducido como los niveles de GSH (0.37), y moléculas asociadas con un correcto funcionamiento metabólico como la adiponectina (0.27) y PPARγ (0.32), así como la edad (0.41). Mientras que los niveles de TNFα, a pesar de estar positivamente asociados con este grupo, el grado de asociación fue bajo (0.04).

En el caso de las variables asociadas con el grupo de mujeres con obesidad se observó una fuerte asociación con los parámetros correspondientes con el fenotipo obeso, como valores altos de IMC (0.43), y alto porcentaje de grasa (0.46), así como con parámetros correspondientes a un estado redox preferentemente oxidado, como las proteínas carboniladas (0.23) y los niveles de GSSG (0.25). También se observó una asociación positiva con los niveles de la citocina IL-6 (0.24) y de S100B (0.52) involucradas en la modulación de procesos inflamatorios, mientras que el grado de asociación de los niveles de IL-10, BDNF y el puntaje de Mini-mental fue bajo (0.04, 0.1 y 0.005, respectivamente).

En resumen, nuestros datos indican que las variables positivamente asociadas con las pacientes no obesas están relacionadas con un estado redox reducido, así como un correcto funcionamiento metabólico, mientras que las pacientes obesas se encuentran positivamente asociadas con las variables relacionadas con estrés oxidante, procesos inflamatorios y alto contenido de grasa corporal.

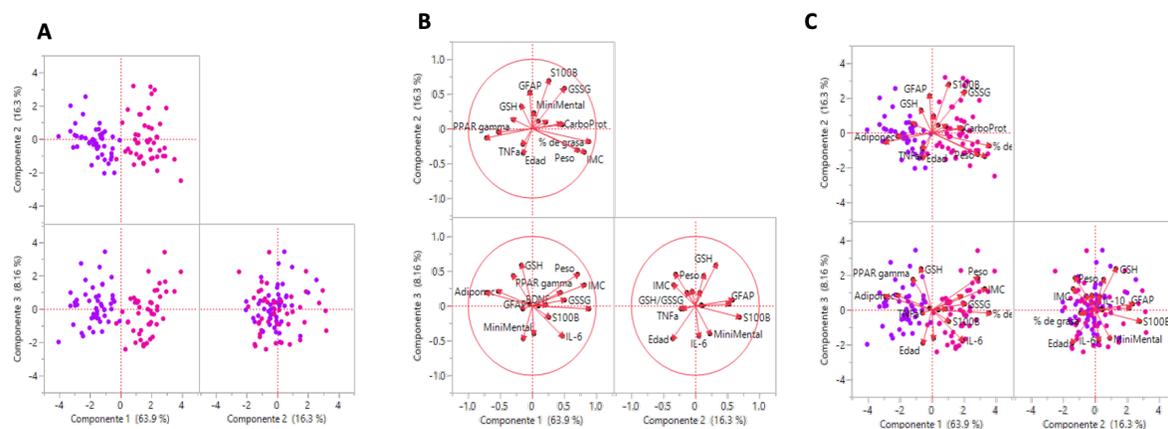


Figura 6. Análisis de Componentes Principales.

Cada punto en las poblaciones de estudio representa una mujer mayor de 60 años. N = 80 para cada grupo.

9. Discusión

Existen varios reportes donde se encontró que el consumo crónico de dietas con alto contenido calórico, así como la obesidad, se han relacionado con una función cognitiva reducida en modelos animales y humanos (33, 34). Resultados recientes de nuestro laboratorio, usando un modelo animal de ratas hembra Wistar de mediana edad sometidas a una dieta hipercalórica durante toda su vida, demostraron que la obesidad incrementa la inflamación, el estrés oxidante y la senescencia celular, al mismo tiempo que genera un deterioro cognitivo evaluado como la disminución en la memoria declarativa (35). Sin embargo, nuestro análisis de los datos del estudio FraDySMex (25), no mostraron esa misma tendencia. Una de las posibles explicaciones es que los primeros estudios mencionado se realizaron con poblaciones controladas de animales o pacientes de edades y condiciones de obesidad similares, parecidas a lo que observamos nosotros en nuestro estudio con ratas alimentadas con una dieta alta en grasa. Sin embargo, es importante entender que las poblaciones abiertas de personas no se pueden comportar de la misma manera. Por lo que era de esperarse que en la población en general, no se encontrara una relación directa entre “solamente” tener sobrepeso u obesidad con un deterioro cognitivo. Existen una gran cantidad de factores socioculturales, económicos, psicológico, ambientales, etc., que influyen de manera importante en este proceso. Por ejemplo, se ha reportado que una población de personas con un mayor nivel educativo, mayor poder adquisitivo, una vida comunitaria enriquecida y un mejor sistema de salud tienen un envejecimiento más exitoso que una población que carece de todos estos beneficios (37). En las personas influyen factores muy diversos que pueden modificar los resultados, de tal manera que no es posible decir que una persona obesa tiene menos capacidad cognitiva que una delgada. Este primer resultado pone de manifiesto que no es posible adaptar los datos de los resultados con animales o con grupos de estudio muy controlados a la población general. En nuestro estudio empleamos un análisis de componentes principales para analizar una gran cantidad de variables de manera integrada, para tratar de encontrar algunos biomarcadores que pudieran ser predictores de daño asociado al deterioro cognitivo en mujeres mayores de edad con obesidad.

Nuestros resultados del APC muestran que las mujeres estudiadas se distribuyen en dos poblaciones completamente separadas, es decir, las mujeres con obesidad (puntos rosas) se agrupan en una nube bien definida y separada de las mujeres sin obesidad (puntos violetas). Esto quiere decir que se relacionan más estrechamente con algunas variables que con otras.

Las variables más robustas que pudieran estudiarse como marcadores asociados a la edad y obesidad que podrían predecir un riesgo de deterioro cognitivo que se proponen son la disminución en los niveles de GSH, adiponectina y PPAR γ , aunados a un incremento en los niveles de GSSG, IL-6 y S100B.

Una de las limitantes de este estudio fue el bajo número de mujeres estudiadas (solo 80 por grupo), por lo que para corroborar estos marcadores habría que estudiar a una población mayor, pero también más acotada. En marzo de este año, 2024, se iniciará una nueva versión del estudio FraDySMex, en el cual tendremos acceso a las muestras y datos. De conseguir financiamiento, pretendemos acotar el estudio para centrarnos específicamente en mujeres adultas mayores de 60 años (MAM) con obesidad y deterioro cognitivo, evaluando seis marcadores que hemos identificado (GSH, GSSG, S100B, adiponectina, PPAR γ e IL-6) en cuatro grupos de estudio:

1. MAM sin obesidad ni deterioro cognitivo;
2. MAM sin obesidad y con deterioro cognitivo;
3. MAM con obesidad y sin deterioro cognitivo;
4. MAM con obesidad y con deterioro cognitivo.

Por otra parte, la gran dispersión en los resultados entre las mujeres evaluadas sugiere que el estilo de vida, la alimentación y el entorno social pueden influir en el deterioro cognitivo de las MAM. A nivel molecular esto debe estudiarse atendiendo a la epigenética, que analiza los cambios en la expresión de genes (sin modificaciones del ADN) relacionadas con factores ambientales. Por lo que se piensa evaluar los cambios en la metilación global del ADN, en particular metilación e hidroxilación de las citosinas, lo cual se ha relacionado con un mal pronóstico para longevidad y vida saludable (reloj epigenético). Además, ya hemos iniciado una colaboración con la Dra. Bárbara Vizmanos de la Universidad de Guadalajara en México, para analizar el tipo de dieta y alimentación en el fenómeno.

Finalmente, para entender y después poder enfrentar este problema, hay que analizarlo a la luz de la perspectiva social y de género. Normalmente los estudios moleculares analizan los resultados de manera cuantitativa usando estadística, etc. Pero en este caso sería muy enriquecedor estudiar la parte cualitativa de la vida de las mujeres adultas mayores y entender que eventos podrían estar llevándolas hacia la obesidad y el deterioro cognitivo. Por lo que será muy importante complementar este estudio con trayectorias biográficas personales para comprender los contextos sociales, las relaciones con el sistema médico, el entorno familiar y psicosocial de este grupo de personas, lo que permitirá entender los resultados obtenidos para poder atacar este problema de manera integral.

10. Conclusión

Como conclusión puede decirse que se cumplieron los objetivos del proyecto. Se analizaron todas las variables de manera integrada y se encontró que las mujeres adultas mayores con y sin obesidad se agrupan de manera independiente según sus características. Así mismo se proponen continuar con la evaluación a la baja de los biomarcadores GSH, adiponectina y PPAR γ ,

junto con GSSG, IL-6 y S100B a la alta, que podrían predecir un riesgo de deterioro cognitivo en mujeres adultas mayores con obesidad.

11. Bibliografía

1. INEGI, 2020. Censo Nacional 2020, Instituto Nacional de Geografía y Estadística.
2. CONAPO, 2019. Consejo Nacional de Población.
3. Ham-Chande, 1999. EL ENVEJECIMIENTO: UNA NUEVA DIMENSIÓN DE LA SALUD EN MÉXICO, en: Salud Publica Mex. 409-418.
4. World Health Organization (2023). Obesity. Available at: https://www.who.int/health-topics/obesity#tab=tab_1 (Accessed January 28, 2023).
5. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición, 2018. Consultado el 23 de febrero de 2024, en https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanut2018/doctos/informes/ensanut_2018_presentacion_resultados.pdf
6. Dragoumani K, Troumbis A, Bacopoulou F, Chrousos G. 2023. Childhood and Adolescent Obesity with Somatic Indicators of Stress, Inflammation, and Dysmetabolism before and after Intervention: A Meta-Analysis. *J Pers Med.* 13(9):1322. doi: 10.3390/jpm13091322.
7. Stienstra R, Duval C, Müller M, Kersten S. 2007. PPARs, Obesity, and Inflammation. *PPAR Res:*95974. doi: 10.1155/2007/95974.
8. Muzio G, Barrera G, Pizzimenti S. 2021. Peroxisome Proliferator-Activated Receptors (PPARs) and Oxidative Stress in Physiological Conditions and in Cancer. *Antioxidants (Basel).* 1(11):1734. doi: 10.3390/antiox10111734.
9. Duszka K, Gregor A, Guillou H, König J, Wahli W. 2020. Peroxisome Proliferator-Activated Receptors and Caloric Restriction-Common Pathways Affecting Metabolism, Health, and Longevity. *Cells.* 9(7):1708. doi: 10.3390/cells9071708.
10. Franceschi C, Bonafè M, Valensin S, Olivieri F, De Luca M, et al. 2000. Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immunosenescence. *Ann N Y Acad Sci.* 908:244-54. doi: 10.1111/j.1749-6632.2000.tb06651.x.
11. Koelman L, Pivovarova-Ramich O, Pfeiffer AFH, Grune T, Aleksandrova K. 2019. Cytokines for evaluation of chronic inflammatory status in ageing research: reliability and phenotypic characterisation. *Immun Ageing.* 16:11. doi: 10.1186/s12979-019-0151-1.
12. Maldonado E, Morales-Pison S, Urbina F, Solari A. 2023. Aging Hallmarks and the Role of Oxidative Stress. *Antioxidants (Basel).* 12(3):651. doi: 10.3390/antiox12030651.
13. Grundy SM. 2004. Obesity, metabolic syndrome, and cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 89(6):2595-600. doi: 10.1210/jc.2004-0372.
14. Haslam DW, James WP. 2005. Obesity. *Lancet.* 366(9492):1197-209. doi: 10.1016/S0140-6736(05)67483-1.
15. Castro AM, Macedo-de la Concha LE, Pantoja-Melendez CA. 2017. Low grade inflammation and its relation to obesity and chronic degenerative diseases. *Revista Médica del Hospital General de México,* 80(2), 101-105. <https://doi.org/10.1016/j.hgmx.2016.06.011>.

16. Tucsek Z, Toth P, Tarantini S, Sosnowska D, Gautam T, et al. 2014. Aging exacerbates obesity-induced cerebrovascular rarefaction, neurovascular uncoupling, and cognitive decline in mice. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 69(11):1339-52. doi: 10.1093/gerona/glu080.
17. Nguyen JC, Killcross AS, Jenkins TA. 2014. Obesity and cognitive decline: role of inflammation and vascular changes. *Front Neurosci.* 8:375. doi: 10.3389/fnins.2014.00375.
18. Karlsson IK, Zhan Y, Wang Y, Li X, Jylhävä J, et al. 2022. Adiposity and the risk of dementia: mediating effects from inflammation and lipid levels. *Eur J Epidemiol.* 37(12):1261-1271. doi: 10.1007/s10654-022-00918-w.
19. Gutiérrez-Robledo LM, Arrieta-Cruz I. 2015. Demencias en México: la necesidad de un Plan de Acción [Dementia in Mexico: The need for a National Alzheimer's Plan]. *Gac Med Mex.* 151(5):667-73. Spanish. PMID: 26526483.
20. Chinta SJ, Woods G, Rane A, Demaria M, Campisi J, Andersen JK. 2015. Cellular senescence and the aging brain. *Exp Gerontol.* 68:3-7. doi: 10.1016/j.exger.2014.09.018.
21. Dozio V, Sanchez JC. 2018. Profiling the proteomic inflammatory state of human astrocytes using DIA mass spectrometry. *J Neuroinflammation.* 15(1):331. doi: 10.1186/s12974-018-1371-6.
22. Brosnan C. 2013. Characteristics of a reactive astrogliosis in multiple sclerosis. *Revista Española De Esclerosis Múltiple,* 28, 10-8.
23. Diene LD, Costa-Ferro ZSM, Barbosa S, Milanese BB, Lazzari GZ, et al. 2019. Selective brain neuronal and glial losses without changes in GFAP immunoreactivity: Young versus mature adult Wistar rats. *Mech Ageing Dev.* 182:111128. doi: 10.1016/j.mad.2019.111128.
24. Bobermin LD, de Souza Almeida RR, Weber FB, Medeiros LS, Medeiros L, et al. 2022. Lipopolysaccharide Induces Gliotoxicity in Hippocampal Astrocytes from Aged Rats: Insights About the Glioprotective Roles of Resveratrol. *Mol Neurobiol.* 59(3):1419-1439. doi: 10.1007/s12035-021-02664-8.
25. Christensen SH, Hviid CVB, Madsen AT, Parkner T, Winther-Larsen A. 2022. Short-term biological variation of serum glial fibrillary acidic protein. *Clin Chem Lab Med.* 60(11):1813-1819. doi: 10.1515/cclm-2022-0480.
26. Michetti F, Clementi ME, Di Liddo R, Valeriani F, Ria F, et al. 2023. The S100B Protein: A Multifaceted Pathogenic Factor More Than a Biomarker. *Int J Mol Sci.* 24(11):9605. doi: 10.3390/ijms24119605.
27. Xiao N, Le QT. 2016. Neurotrophic Factors and Their Potential Applications in Tissue Regeneration. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 64(2):89-99. doi: 10.1007/s00005-015-0376-4.
28. Raharjo S, Pranoto A, Rejeki PS, Harisman ASM, Pamungkas YP, Andiana O. 2021. Negative correlation between serum brain-derived neurotrophic factor levels and obesity predictor markers and inflammation levels in females with obesity. *Maced J Med Sci* 9(B), 1021-1026.
29. Martínez-Hernández BM, Rosas-Carrasco O, López-Teros M, González-Rocha A, Muñoz-Aguirre P. 2022. Association between physical activity and physical and functional performance in non-institutionalized Mexican older adults: a cohort study. *BMC Geriatr.* 22(1):388. doi: 10.1186/s12877-022-03083-7.
30. Hernández-Álvarez D, Mena-Montes B, Toledo-Pérez R, Pedraza-Vázquez G, López-Cervantes SP, et al. 2019. Long-Term Moderate Exercise Combined with Metformin Treatment Induces an Hormetic Response That Prevents Strength and Muscle Mass Loss in Old Female Wistar Rats. *Oxid Med Cell Longev.* 3428543. doi: 10.1155/2019/3428543.

31. Hernández-Arciga U, Hernández-Álvarez D, López-Cervantes SP, López-Díazguerrero NE, Alarcón-Aguilar A, et al. 2020. Effect of long-term moderate-exercise combined with metformin-treatment on antioxidant enzymes activity and expression in the gastrocnemius of old female Wistar rats. *Biogerontology*. 21(6):787-805. doi: 10.1007/s10522-020-09894-8.
32. Santín-Márquez R, Ramírez-Cordero B, Toledo-Pérez R, Luna-López A, López-Díazguerrero NE, et al. 2021. Sensory and memory processing in old female and male Wistar rat brain, and its relationship with the cortical and hippocampal redox state. *Geroscience*.43(4):1899-1920. doi: 10.1007/s11357-021-00353-x.
33. Rangel-Baltazar E, Cuevas-Nasu L, Shamah-Levy T, Rodríguez-Ramírez S, Méndez-Gómez-Humarán I, Rivera JA. 2019. Association between High Waist-to-Height Ratio and Cardiovascular Risk among Adults Sampled by the 2016 Half-Way National Health and Nutrition Survey in Mexico (ENSANUT MC 2016). *Nutrients*. 11(6):1402. doi: 10.3390/nu11061402.
34. Chen R, Cai G, Xu S, Sun Q, Luo J, et al. 2022 Body mass index related to executive function and hippocampal subregion volume in subjective cognitive decline. *Front Aging Neurosci*. 14:905035. doi: 10.3389/fnagi.2022.905035.
35. Salas-Venegas V, Flores-Torres RP, Rodríguez-Cortés YM, Rodríguez-Retana D, Ramírez-Carretero RJ, et al. 2022. The Obese Brain: Mechanisms of Systemic and Local Inflammation, and Interventions to Reverse the Cognitive Deficit. *Front Integr Neurosci*. 16:798995. doi: 10.3389/fnint.2022.798995.
36. López-Ortega M, Konigsberg M. 2020. Health-related quality of life among Jewish older persons in Mexico and its determinants. *Health Qual Life Outcomes*. 18(1):152. doi: 10.1186/s12955-020-01401-4.

12. Anexos

Este trabajo se presentó en forma de cartel el Congreso Internacional Society for Redox Biology and Medicine's (SfRBM) 30th Annual Conference & Society for Free Radical Research International's (SFRR) 21st Biennial Congress. Punta del Este, Uruguay, Noviembre 15-18, 2023.

A continuación se anexa el abstract:

Correlation of serum markers of inflammation, oxidative stress, and brain alterations with cognitive impairment in elderly women with obesity.

Mina Königsberg¹, Julián de Jesús Lira-Rotstein², Roberto Santín- Márquez², Adriana Alarcón-Aguilar², Raúl Librado-Osorio³, Oscar Rosas-Carrasco⁴, Armando Luna-López⁵

¹Universidad Autónoma Metropolitana. Iztapalapa, Mexico City, Mexico

²Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana. Iztapalapa, Mexico

³Instituto Nacional de Geriatria, Mexico

⁴Departamento de la Salud, Universidad Iberoamericana, Mexico

⁵Instituto Nacional de Geriatria, Mexico City, Mexico

Obesity is known to generate neuroinflammation and oxidative stress associated with cognitive impairment during aging. One of the groups most likely to be affected by obesity is adult women over 60 years of age, since after menopause they tend to increase body fat. Elderly women are also more likely to acquire dementia, as well as various mood disorders such as anxiety, depression, and fear. Hence, our aim was to evaluate the inflammatory state, oxidative stress, and neuroinflammation in elderly women with obesity and relate these factors to their cognitive state. For this purpose, 80 obese women over 60 years old and 80 controls were selected from a previous study conducted in three Mexico City

municipalities (FreDySMex Study). Serum cytokines (IL-6, TNF-alpha, IL-10, and adiponectin) were evaluated to determine the inflammatory profile, as well as GSH/GSSG ratio and protein carbonylation to establish the redox profile. Two astrocyte cytoskeleton proteins in serum (GFAP and S100B), which can be used as biomarkers of intracerebral vascular events, neuroinflammatory and neurodegenerative disorders, and neurotrophic protein (BDNF), were also evaluated. The complete biochemical profile data were correlated with the data previously obtained from the patients in the mini-mental and Bartel's tests.

Our results showed that obese women have a higher systemic pro-inflammatory profile compared to non-obese older adult women. In addition, it was observed that the group of obese women present a more oxidized redox state than the non-obese and a higher degree of oxidized proteins, suggesting that obesity in older women is a risk factor in the development of neuroinflammation and cognitive damage during aging.

This Project is financed by AYUDAS A LA INVESTIGACIÓN IGNACIO H. DE LARRAMENDI 2022. FUNDACIÓN MAPFRE-ESPAÑA.

doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2023.10.126