



Universidad de Jaén
Facultad de Ciencias Experimentales

Trabajo Fin de Grado

Características de las diferentes poblaciones de macrófagos en obesidad

Alumna: Rosa María Mondéjar Merlos

Junio, 2021



Trabajo Fin de Grado

Características de las diferentes poblaciones de macrófagos en obesidad

A handwritten signature in black ink, consisting of a large, stylized 'C' followed by the initials 'RM'.

Alumna: Rosa María Mondéjar Merlos

Jaén, Junio 2021

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	3
2.INTRODUCCIÓN.....	4
GLOSARIO DE ABREVIATURAS	6
3.OBJETIVOS	8
4.MATERIAL Y MÉTODOS.....	9
5.RESULTADOS.....	9
5.1. Tejido adiposo y función homeostática	9
5.1.1. <i>Adipocinas</i>	12
5.2. Inflamación inducida por la obesidad	14
5.2.1 <i>Infiltración celular en el tejido adiposo: M1 y M2.....</i>	15
5.2.2. <i>Mecanismos y factores que activan la inflamación en el tejido adiposo...</i>	18
5.3. Activación y regulación en la polarización de macrófagos en el tejido adiposo.	28
5.3.1. <i>Vías de activación proinflamatorias.....</i>	29
5.3.2. <i>Vías de activación antiinflamatorias.</i>	29
5.3.3. <i>Mecanismos de regulación en la polarización de macrófagos M1 y M2 ..</i>	31
6.CONCLUSIONES.....	35
7.BIBLIOGRAFÍA.....	36

1. RESUMEN

Una dieta alta en grasas induce a un estado de obesidad que provoca en el tejido adiposo un desequilibrio celular y metabólico. Los macrófagos, el tipo celular predominante junto con las células que forman el tejido adiposo y las células inmunitarias participan en esta alteración por medio de la secreción de factores proinflamatorios que agravan la inflamación. Se conocen dos tipos de macrófagos en la denominada inflamación crónica que induce la obesidad, M2 que muestran funciones antiinflamatorias y control homeostático y los macrófagos M1 que exhiben características proinflamatorias. La presencia en el tejido adiposo de cada uno de ellos va a estar marcada por mecanismos de activación y regulación estimulados por el microambiente pro o antiinflamatorio que rodee al tejido.

Palabras clave: macrófagos, obesidad, tejido adiposo, inflamación, activación, m1, m2 y polarización.

ABSTRACT

A high-fat diet induces a state of obesity that causes a cellular and metabolic imbalance in the adipose tissue. Macrophages, the predominant cell type together with the cells that form the adipose tissue and the immune cells participate in this alteration by secreting proinflammatory factors that aggravate inflammation. Two types of macrophages are known in the so-called chronic inflammation that induces obesity, M2 that show antiinflammatory functions and homeostatic control and M1 macrophages that exhibit proinflammatory characteristics. The presence in the adipose tissue of each one of them will be marked by activation and regulation mechanisms stimulated by the pro or anti-inflammatory microenvironment surrounding the tissue.

Key words: macrophages, obesity, adipose tissue, inflammation, activation, m1, m2, and polarization.

2.INTRODUCCIÓN

La obesidad se ha convertido en un problema crítico a nivel mundial en los últimos años, los malos hábitos alimenticios junto con la falta de ejercicio físico llevan consigo una serie de síntomas como hipertensión, hiperglicemia, hipolipidemia o hiperlipidemia que dan lugar al síndrome metabólico, todos ellos en su conjunto agravan el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares. Además, la obesidad provoca resistencia a la insulina la cual contribuye a padecer diabetes Mellitus tipo 2. Wensveen et al., (2015).

El tejido adiposo (AT) proporciona al organismo la energía que necesita y está considerado un órgano endocrino importante por lo que cualquier alteración que afecte a sus funciones es un buen indicador del estado metabólico en la que se encuentra el individuo. Se pueden distinguir dos tipos de grasas en el cuerpo; blanca y marrón, la primera con funciones de almacenaje de nutrientes y la segunda con función calorífica. Durante el desarrollo de la obesidad se produce un almacenamiento desmesurado de AT, en concreto el tejido adiposo visceral es el lugar donde más acúmulo de ésta hay y donde se lleva a cabo la inflamación crónica de bajo grado característica, que induce obesidad. Además, durante la obesidad inducida por la dieta (DIO) se produce un cambio en la composición celular que compone el AT. Wensveen et al.(2015).

La evidencia más notable en la inflamación inducida por la obesidad ocurre con la infiltración de células inmunes en el AT, en concreto los macrófagos. El tejido adiposo está compuesto por diferentes células inmunitarias, en ratones obesos los macrófagos constituyen el 40% del total en contra del 10% en ratones normales. Este incremento en el número de macrófagos es debido a diferentes factores que los estimula, entre ellos el lipopolisacárido (LPS), los ácidos grasos libres (FFA) y el colesterol. Estos factores a su vez activan diferentes vías de señalización que provocan cambios en el fenotipo de los macrófagos. Castoldi et al.(2016).

Se presentan dos poblaciones de macrófagos en el AT; los activados clásicamente M1 y los activados alternativamente M2. La abundancia de un tipo de ellos es indicativo del estado en el que se encuentra dicho tejido, si el AT presenta un elevado número de M1 se relaciona con inflamación y resistencia a la insulina, mientras que la presencia de macrófagos M2 se relaciona con el mantenimiento de la homeostasis y la sensibilidad a la insulina. Castoldi et al.(2016).

Además de los macrófagos M1 y M2 se conocen otros fenotipos distintos en los que la activación de ellos se produce por otras vías. Durante el desarrollo de la obesidad los macrófagos del tejido adiposo (ATM) activan el metabolismo lipídico con la finalidad de mantener la homeostasis del tejido aumentando su adiposidad, este fenotipo presenta la peculiaridad de aumentar la concentración de lípidos del ATM y aumentar la expresión de CD36 transportador de ácidos grasos y Msr1 receptor captador de lípidos. Por otro lado, existe otro tipo de macrófago activado mediante el tratamiento con glucosa, insulina y palmito, presenta un fenotipo proinflamatorio pero distinto al fenotipo M1, secreta interleucina- 1β (IL- 1β) y factor de necrosis tumoral α (TNF- α). Castoldi et al.(2016).

Los fenotipos de macrófagos más estudiados son los M1 y M2. Los macrófagos M1 se caracterizan por presentar un perfil proinflamatorio. Estas células inmunitarias secretan citocinas como IL-6, TFN- α , interleucina-1 (IL-1), interleucina-12 (IL-12), a su vez los macrófagos son estimulados por patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) o por citosinas como el interferón- γ (INF- γ). Por otro lado, los macrófagos M1 expresan elevados niveles de marcadores CD68, CD80 y CD86 y moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad clase II (MHC-II), además los macrófagos atraen a otras células mediante la expresión de quimiocinas como CXCL9 Y CXCL10. Castoldi et al.(2016).

En la polarización de macrófagos M1 están implicados una amplia variedad de moléculas, el factor regulador de interferón (IRF) que participa en la polarización a través del IRF5, los transductores de señal y activadores de la transcripción (STAT) y el supresor de la señalización de citocinas (SOCS). SOCS3 es expresado por M1 además participa en la producción de óxido nítrico (NO), mediador en las respuestas proinflamatorias. Los patrones moleculares asociados al daño (DAMP) durante la obesidad activan al receptor de tipo Toll (TLR) y a los inflammasomas que contribuyen a polarización hacia un fenotipo M1, mediante la secreción IL- 1β . Castoldi et al.(2016).

Los macrófagos M2 muestran un perfil antiinflamatorio, están involucrados en la reducción de la inflamación y en la remodelación tisular. Los macrófagos M2 secretan citocinas antiinflamatorias, factores angiogénicos y de crecimiento, como la IL-10 y el factor de crecimiento transformante β (TFG- β). Estas células expresan CD163, CCR2, CXCR1, CXCR2 en altos niveles. Castoldi et al.(2016).

Se ha comprobado que *in vitro* existe una amplia variedad de fenotipos en función del estímulo que reciben. Las interleucinas 4 o 13 (IL-4) o (IL-13) inducen hacia un fenotipo M2a. Los complejos inmunes y (TLR) inducen el fenotipo M2b que junto con M2a presentan funciones reguladoras en el sistema inmunitario. El fenotipo M2c es inducido por la interleucina-10 (IL-10) y por corticoides, estos macrófagos intervienen en la remodelación tisular y tienen propiedades inmunosupresoras. Sin embargo, todavía no se conoce la actuación de estas células *in vivo* pero sí se ha avanzado en el estudio de los subtipos M2 y en las propiedades de cada uno de ellos. Castoldi et al.(2016).

La polarización de los macrófagos hacia un perfil antiinflamatorio está coordinada por vías de regulación, células inmunitarias y moléculas. Los eosinófilos y células T reguladoras (Tregs) secretan IL-4, IL-13 e IL-10 que polarizan los ATM hacia un fenotipo M2. También las células linfoides innatas de tipo 2 (ILC2) participan en la polarización a través de la activación por parte de la interleucina-33 (IL-33), estas células secretan altos niveles de interleucina-5 (IL-5) e IL-13. Las ILC muestran propiedades similares en relación a la secreción de citocinas a los linfocitos T helper 1(Th1), linfocitos T helper 2 (Th2) y linfocitos T helper 17 (Th17). El metabolismo también participa en la polarización de los macrófagos, el fenotipo M1 se ve favorecido por los ácidos grasos saturados y por un metabolismo glucolítico mientras que el M2 por los insaturados y por un metabolismo oxidativo. Castoldi et al.(2016)

Los macrófagos son piezas clave en la regulación del sistema inmunitario, en especial en el mantenimiento de la homeostasis del AT y la inflamación durante la obesidad, por lo que conocer sus funciones y los mecanismos que los activan y regulan podrían servir para futuras terapias de cara a enfermedades relacionados con la obesidad. Castoldi et al.(2016).

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

ADM: “Aipocytes-derived microvesicles” en inglés, Microvesículas derivadas de los adipocitos

APC: “Antigen-presenting cells” en inglés, Células presentadoras de antígenos

ATM: “Adipose tissue macrophages” en inglés, Macrófagos del tejido adiposo

MHC-II: "Major histocompatibility complex class II" en inglés, Complejo mayor de histocompatibilidad clase II

DAMP: "Damage-associated molecular patterns" en inglés, Patrones moleculares asociados al daño

DIO: "Diet induced obesity" en inglés, Obesidad inducida por la dieta

FFA: "Free fatty acids" en inglés, Ácidos grasos libre

GR: "Glucocorticoid receptor" en inglés, Receptor de glucocorticoides

ILC2: "Innate lymphoid type 2 cells" en inglés, Células linfoides innatas de tipo 2

IL: Interleucina

INF- γ : Interferón- γ

NKT: "Natural killer T" en inglés, Células T asesinas naturales

i NOS: "Nitric oxide synthase" en inglés, Óxido nítrico sintasa inducible

IRF: "Interferon regulatory factor" en inglés, Factor regulador de interferón

LPS: "Lipopolysaccharide" en inglés, Lipopolisacárido

MCP-1: "Monocyte chemoattractant protein-1" en inglés, Proteína quimioatrayente de monocitos-1

MR: "Mineralocorticoid receptor" en inglés, Receptor de mineralocorticoides

M1: "Classically activated macrophages" en inglés, Macrófagos activados de forma clásica

M2: "Classically alternatively macrophages" en inglés, Macrófagos activados de forma alternativa

NO: "Nitric oxide" en inglés, Óxido nítrico

PAMP: "Patogen-associated molecular patterns" en inglés, Patrones moleculares asociados a patógenos

PPAR: “Peroxisome proliferator activated receptors” en inglés, Receptores activados por proliferadores de peroxisomas

PGE2: prostaglandina E2

ROS: “Reactive oxygen species” en inglés, Especies reactivas de oxígeno

SOCS: “Suppressor of cytokine signaling” en inglés, Supresor de la señalización de citocinas

STAT: “Signal transducer and activators of transcription” en inglés, Transductores de señal y activadores de la transcripción

TA: “Adipose tissue” en inglés, Tejido adiposo

TFG- β : “Transforming growth factor β ” en inglés, Factor de crecimiento transformante β

TLR: “Toll like receptor” en inglés, Receptores de tipo Toll

Th: “T- helper cells” en inglés, Linfocitos T helper

Tregs: “Regulatory T cells” en inglés, Células T reguladoras

TNF- α : “Tumor necrosis factor- α ” en inglés, Factor de necrosis tumoral α

3.OBJETIVOS

La presente revisión bibliográfica tiene como objetivo principal identificar y describir los tipos y funciones de los macrófagos infiltrados en el tejido adiposo, así como los procesos inmunológicos relacionados en la obesidad.

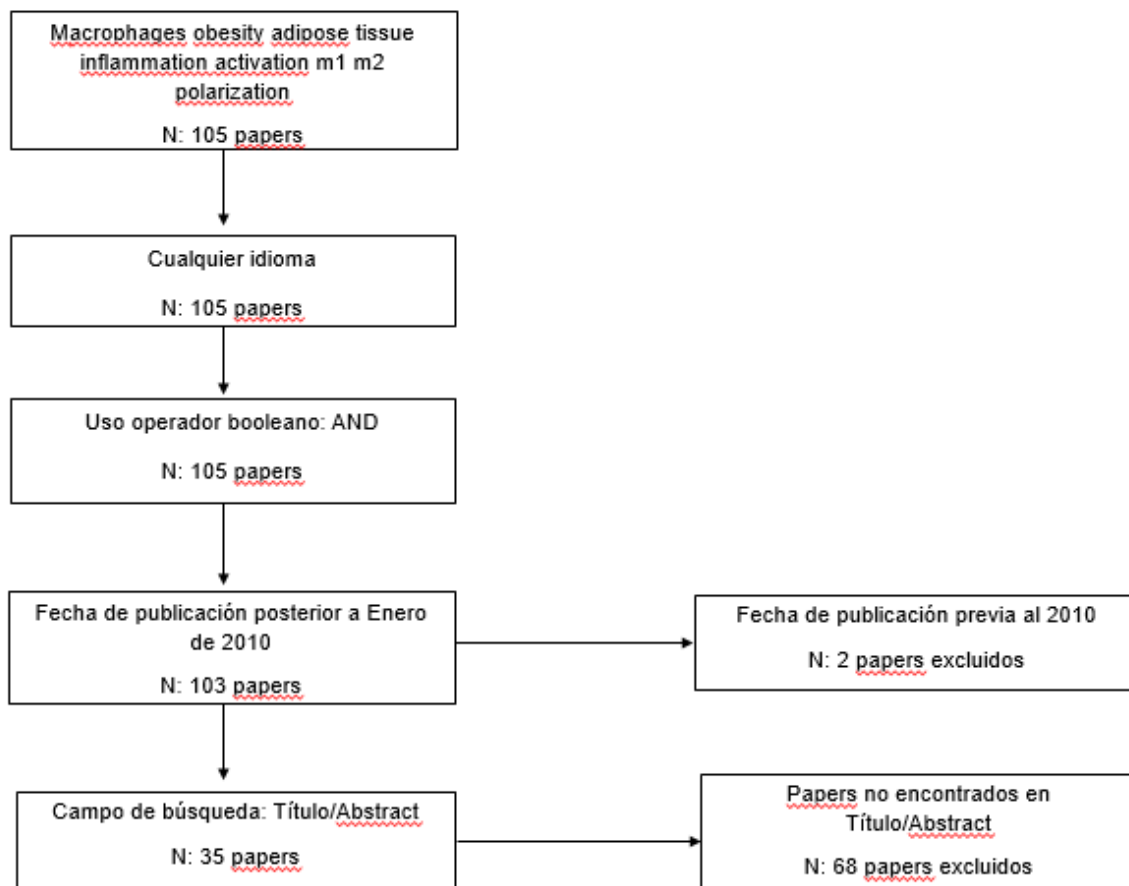
Como objetivos secundarios:

1. Estudiar el proceso de inflamación del tejido adiposo en condiciones normales frente a condiciones de obesidad.
2. Indicar y estudiar el proceso de activación de los macrófagos en condiciones de obesidad.
3. Estudiar las vías que regulan la polarización de macrófagos en condiciones de obesidad

4.MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización de la revisión bibliográfica de; “*Características de las diferentes poblaciones de macrófagos en obesidad*” se ha llevado a cabo una búsqueda de información en la base de datos PubMed. Se han utilizado las siguientes palabras clave: “macrófagos”, “obesidad”, “tejido adiposo”, “inflamación”, “activación”, “m1”, “m2” y “polarización”.

En la selección de artículos se han utilizado los siguientes criterios de inclusión y exclusión:



5.RESULTADOS

5.1. Tejido adiposo y función homeostática

La composición celular del tejido adiposo, su correcto funcionamiento y el equilibrio homeostático está controlado por el sistema inmunitario, el cual proporciona una remodelación del tejido dañado, actúa inhibiendo la inflamación a través de la

activación de dichas células inmunitarias y manteniendo un fenotipo antiinflamatorio. El AT en condiciones normales presenta una gran diversidad celular, aunque se ha demostrado que los macrófagos son el tipo celular predominante y la mayoría muestran un fenotipo M2. Ciertas células junto con los adipocitos se encargan de mantener el perfil antiinflamatorio de los macrófagos (Fig.5.1). Un componente destacable es el eje ILC2/eosinófilos/M2. La IL-4 producida por eosinófilos favorece el fenotipo M2 de los ATM, esta interleucina depende a su vez de la IL-5 debido a que ésta estimula a los eosinófilos. Se ha evidenciado que la ausencia de células eosinofílicas en ratones Δ dblGATA o la sobreexpresión en animales modificados genéticamente con IL-5 varía el número de macrófagos M2. Las ILC2 por otro lado son las responsables de la presencia de IL-5 en el AT, cualquier alteración en algunos de los componentes de este eje puede producir un aumento de citocinas proinflamatorias y hacer que se pierda el equilibrio homeostático. Wensveen et al.(2015).

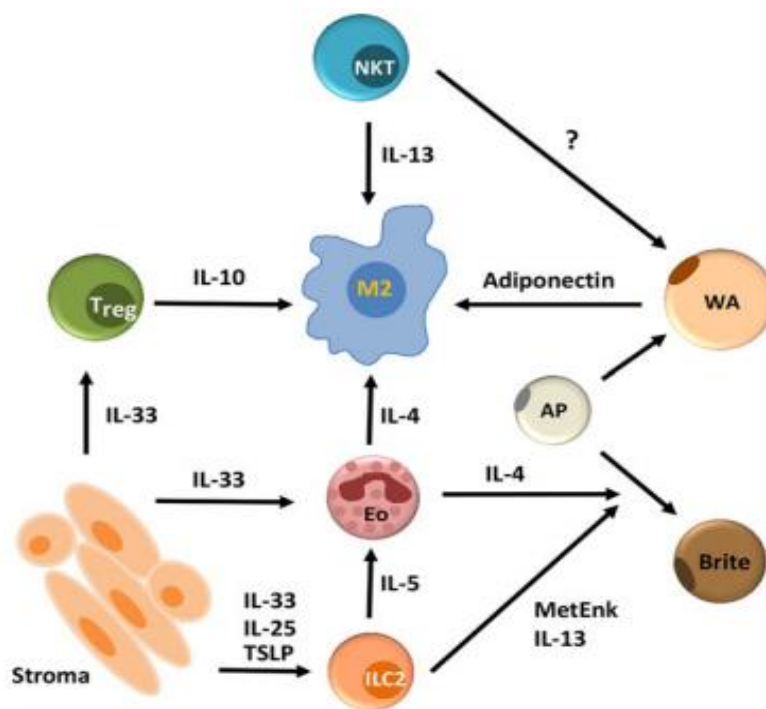


Figura 5.1: Células inmunitarias en el control de la homeostasis. Imagen obtenida de Wensveen et al.(2015)

Otra población involucrada en el mantenimiento de los macrófagos M2 son las células T asesinas naturales de cadena invariable (i NKT), encargadas del reconocimiento de antígenos lipídicos mediante CD1d (Fig.5.1). La deficiencia de estas células conduce

a la disminución en los niveles de IL-13 e IL-4 y al aumento de macrófagos con un perfil proinflamatorio. Por otro lado, las células T reguladoras (Treg), en concreto las células T CD4⁺ son las células T mayoritarias en el AT, con la característica de ser efectiva para Foxp3 el cual es dependiente de la IL-33 y de PPAR. Las Treg secretan IL-10 como medio para inhibir la activación de células inmunes que favorecen el fenotipo proinflamatorio. Además, las células que conforman el tejido adiposo, los adipocitos, junto con el estroma adiposo intervienen también en la regulación homeostática. Wensveen et al.(2015).

La remodelación del AT es otro mecanismo en el que las células inmunitarias están involucradas, los mastocitos promueven la expansión y modelado de tejido adiposo saludable mediante la secreción de IL-6 e INF- γ . En mastocitos, Th2 CD4⁺, ILC2 y en Treg se expresa ST2, receptor para IL-33, la cual interviene en la remodelación del AT y en la actuación de las células inmunes. Esta interleucina pertenece a la familia de las IL-1 y tiene la particularidad de jugar un doble papel dependiendo de las condiciones del tejido, en principio se clasifica como mediador proinflamatorio inducida por la mayoría de tejidos, pero en condiciones normales la IL-33 atrae a las células ILC2 y macrófagos M2. Las células epiteliales y el estroma del AT también la expresan con el fin de mantener el equilibrio homeostático. Hay evidencias de la importancia de la relación de esta citocina con los eosinófilos y células Treg, la inhibición de ST2 provoca la disminución en la proporción de eosinófilos no tomando parte ILC2. Lo mismo ocurre con Treg, la deficiencia del receptor provoca una pérdida en el número de éstas. Las ILC2 tiene una relación especial con la IL-33, estimulando un proceso conocido como “beiging” en el que la citocina activa a ILC2 la cual produce IL-13 y met-enkefalina un opioide endógeno natural, que provoca la diferenciación de los adipocitos precursores en células “brite” o beige, que son adipocitos que expresan termogenina en la grasa blanca, pero con un fenotipo marrón. La inhibición de IL-33 se ha visto relacionada con un aumento de la grasa corporal debido a la falta de ILC2, ya que estos mantienen la función de los adipocitos y el fenotipo M2. Wensveen et al.(2015).

Como se ha mencionado una dieta alta en grasas induce a la obesidad además se ha comprobado que estimula la producción de miostatina, una proteína expresada en el músculo y en el AT, aunque su expresión es en niveles bajos. Algunos estudios han mostrado que la inhibición de esta proteína reduce la acumulación de grasa en

consecuencia de la obesidad. Para ello suministraron a ratones dietas normales y altas en grasa, dentro de las HDF se crean dos grupos, un control y al otro se añade la miostatina inhibida. Los resultados mostraron que inhibir la miostatina reduce la secreción de citocinas proinflamatorias, como IL-6, TNF- α , MCP-1 a través de la reducción en la infiltración de macrófagos al tejido adiposo. La expresión de marcadores de macrófagos CD68 y F4/80 disminuye como consecuencia de la inhibición de la proteína por tanto este es el mecanismo por el que la miostatina reduce la expresión de citocinas proinflamatorias. La irisina actúa mediante la inhibición de miostatina provocando la disminución de marcadores inflamatorios y promoviendo el cambio de fenotipo de M1 a M2, los resultados del estudio muestran una disminución en la expresión de marcadores de M1, CD86 y un aumento en los marcadores de M2, CD206 y CD163. Dong et al.(2016).

Otro de los efectos de la inhibición de la miostatina esta relaciona con el pardeamiento del tejido adiposo. El tejido adiposo blanco y el tejido adiposo marrón son los dos principales depósitos de grasas del cuerpo, pero hay un tercer tipo, "brite" en el que el tejido adiposo blanco adquiere las propiedades del marrón. Este adipocito se activa mediante un mecanismo denominado pardeamiento en la que se produce un aumento de la expresión de Fcnd5 que tras sufrir cambios en su estructura crea una nueva molécula, irisina involucrada en el pardeamiento del tejido adiposo, los resultados del estudio muestran un aumento en los marcadores UPC1 y PGC-1 α del tejido adiposo blanco. Por lo que estudiar el papel inhibidor de la miostatina a través de la respuesta de irisina contribuiría a futuras terapias mediante la formación de dorado del tejido adiposo e incluso en la reducción de los componentes que inducen la inflamación del tejido adiposo. Dong et al.(2016).

5.1.1. Adipocinas

Durante el desarrollo de la obesidad se produce una acumulación excesiva de lípidos lo que conlleva a los adipocitos que forman el AT a sufrir hiperplasia e hipertrofia, el AT actúa como un órgano endocrino secretando adipocinas. La leptina y la adiponectina son dos de las adipocitocinas más conocidas y ambas presentan funciones proinflamatorias y antiinflamatorias respectivamente. Con el aumento de masa en el AT se produce un aumento en los niveles de leptina, una proteína plasmática implicada en el control de la ingesta de alimentos a través del hipotálamo y está regulada por el gen *ob*. Periyalil et al.(2013).

La leptina interfiere negativamente inhibiendo la actividad de la grelina, hormona estimulante del apetito formada en el intestino. El receptor de la leptina, LEP-R, es estructuralmente parecido a el receptor de la IL-6 y se expresa en macrófagos, neutrófilos y células NK donde realiza su acción proinflamatoria. Al contrario de las anteriores células, los neutrófilos adolecen de LEP-R por lo que la leptina ejerce efectos indirectos sobre ellos. Se ha demostrado que ratones con defecto de leptina (*ob/ob*) o en su receptor (*db/db*) al no sentirse nunca saciados muestran un aspecto obeso, la cantidad de leptina en sangre es proporcional a la cantidad de masa en el AT. Por lo que la producción por parte del tejido adiposo de leptina puede ser un factor clave en la estimulación de células inmunitarias como reacción a la obesidad. Periyalil et al.(2013) Wensveen et al.(2015).

En contraste con la leptina, la adiponectina tiene características antiinflamatorias y en individuos obesos la expresión de esta adipocina disminuye, mientras que con la pérdida de peso aumenta su concentración, como consecuencia de la reducción en la concentración de adiponectina se pierde la actividad antiinflamatoria del tejido. Los macrófagos interaccionan sobre la adiponectina por medio de la secreción de la IL-6 y el TFN- α lo que implica la regulación de estos sobre la adipocina. Periyalil et al.(2013).

En la misma línea, el AT secreta otras adipocinas que ejercen acción sobre las células inmunitarias, como la proteína quimioatrayente de monocitos-1 (MCP-1), la IL-6, il-18, TFN- α , ligando 2 de quimiocina (CCL2), ligando 5 de quimiocina CXC (CXC5) resistina, visfatina y proteína de unión a retinal 4 (RBP4), la cual acrecienta su concentración en condiciones de obesidad y activa las respuestas inflamatorias del AT. La TFN- α es una citocina secretada por los macrófagos, pero si ésta se ha infiltrado en el AT puede tomarse como una adipocina. Periyalil et al.(2013) Wensveen et al.(2015).

Además de secretar adipocinas los adipocitos aumentados de tamaño por el exceso de ácidos grasos pueden contribuir a la inflamación secretando miR271a que influye en los preadipocitos para mostrar características de macrófagos. Esta expresión de miR27a induce en los preadipocitos la capacidad para fagocitar y de expresar F4/80 un marcador de macrófagos incluso este microARN muestra una tendencia proinflamatoria ya que al examinar la expresión de marcadores y citocinas de

macrófagos M1 y M2 se aprecia un aumento significativo de MPC-1, TFN- α , IL-1 β todas ellas citocinas proinflamatorias mientras que IL-10, Arg-1 disminuyen en las células tratadas con miR27a. Por tanto, la expresión de miR27a en preadipocitos inhibe las vías antiinflamatorias a la vez que estimula la proinflamatorias. M. Zhang et al.(2018)

5.2. Inflamación inducida por la obesidad

Los macrófagos son las células con mayor participación en el proceso de inflamación inducida por la obesidad, en el AT se produce la diferenciación de monocitos a macrófago. La acumulación de estas células inmunes no es suficiente para que se lleve a cabo la inflamación del tejido, el evento clave para que ocurra es la polarización de los macrófagos con un fenotipo antiinflamatorio, M2 a un fenotipo proinflamatorio, M1. Por lo que la identidad celular de “macrófago” es necesaria para que se produzca la inflamación del tejido adiposo. Wensveen et al.(2015).

Se ha demostrado que en condiciones normales hay presencia de macrófagos en el AT y se definen como F4/80+ CD11b, su proporción aumenta durante la obesidad, pero además en estado de ayuno o pérdida de peso sigue existiendo estas células por lo que la presencia de macrófagos no es solo indicativa de enfermedad, sino que forman parte del estado fisiológico normal del organismo y de su papel en el mantenimiento de la homeostasis. Tateya et al.(2013).

Recientemente se han descrito dos nuevos marcadores de macrófagos, CLE5A y CD1631L, en el tejido adiposo humano visceral y subcutáneo, estos depósitos de grasas participan en la inflamación inducida por la obesidad alterando la composición de los subconjuntos de macrófagos en el ATM. En el tejido adiposo subcutáneo hay mayor proporción de macrófagos M2 y adipocitos de mayor tamaño al contrario que en el visceral, este hecho demuestra que el tejido adiposo subcutáneo participa en la remodelación del tejido adiposo. Además de los marcadores ya conocidos de M1 y M2, CD11d y CD206 respectivamente, el marcador CLEC5A presenta características proinflamatorias, expresa altos niveles de TFN y CD11c, las condiciones de hipoxia y los factores inflamatorios inducen la expresión de este marcador mientras que la IL-10 lo inhibe, por otra parte, el marcador CD1631L muestra características antiinflamatorias y una regulación positiva hacia IL-10. Girón-Ulloa et al.(2020).

5.2.1 Infiltración celular en el tejido adiposo: M1 y M2

La capacidad de adaptación a las diferentes señales ambientales de los monocitos y macrófagos radica en las versatilidad y heterogeneidad que presentan estas células, los monocitos durante la obesidad se infiltran en el tejido adiposo para diferenciarse en macrófagos. Diferentes estudios mostraron que durante el proceso de inflamación las grandes fuentes de secreción de citocinas son producidas por los macrófagos, en particular M1. Durante este proceso se producen mecanismos protectores por parte de los macrófagos M2, a través de citocinas; IL-4, estimulada por las Th2 IL-13, IL-1 β , IL-10 entre otras para mantener el correcto funcionamiento del tejido adiposo mientras que los macrófagos M1 producen altos niveles de citocinas proinflamatorias IFN- γ , TNF, estimuladas por Th1, IL-12, IL-6 para inducir inflamación. Además, los macrófagos M1 expresan óxido nítrico sintasa inducible (iNOS), especies reactivas de oxígeno (ROS). Chinetti-Gbaguidi y Staels (2011).

Además de los macrófagos diferentes subpoblaciones celulares interactúan con ellos y con el AT provocando la inflamación crónica de bajo grado característica de la obesidad. La participación de tan diferentes tipos celulares marca la importancia y complejidad que tiene la inflamación del AT en estado obeso. Durante la DIO se produce una acumulación acentuada de grasa en los adipocitos, posteriormente se acumulan neutrófilos, células NK, macrófagos, eosinófilos, células B y T (Fig.5.2). Tateya et al. (2013).

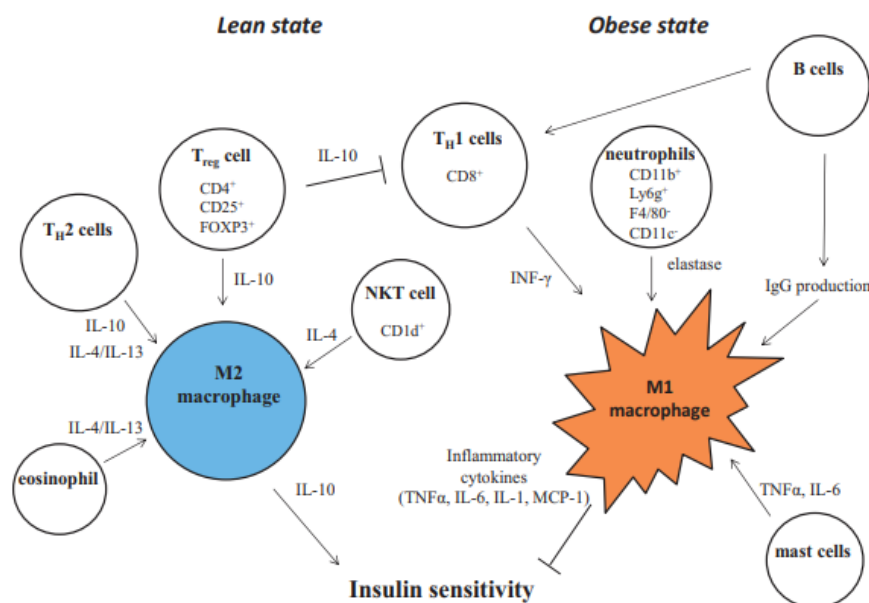


Figura 5.2: Interacción de las células inmunitarias en el control del equilibrio M1/M2. Imagen obtenida de Tateya et al. (2013).

Para estudiar el mecanismo por el cual se produce la inflamación se examinaron los antígenos de superficie de las células que intervienen en este proceso. Las células T CD4+ y células T reg (CD25+, Foxp3, CD4+) están presentes en condiciones no inflamatorias, luego en condiciones obesas se ha demostrado que los marcadores CD4+ y CD8+ de células T están aumentados, a la vez que se produce la expresión de CD8+ hay un ascenso en el número de T reg. Hay evidencias en ratones tratados con anticuerpos CD8 que inducen a la infiltración de macrófagos y en ratones CD8 nulos en los que había una mejoría en la acumulación de macrófagos activados clásicamente. Tateya et al. (2013).

Las células B se acumulan con anterioridad a las células T y los macrófagos, se ha demostrado que las células B tienen efectos en la activación de los macrófagos M1, células T y en la producción de inmunoglobulina G patógena mediante el metabolismo asociada a la glucosa. Se ha evidenciado que hay una disminución en la inflamación de ratones obesos que presentaban células B nulas, ya que estos ratones mostraban una mejoría en la inflamación del AT, en la secreción de citocinas proinflamatorias de células B y T al compararlos con ratones salvajes, este hecho mejoró el porcentaje de Treg antiinflamatorias. Por otro lado, la participación de los eosinófilos a través de la IL-4 interviene en la activación de macrófagos antiinflamatorios en el AT, además la presencia o ausencia de estas células están relacionadas con el mantenimiento o el aumento de grasa. Tateya et al. (2013).

Adicionalmente, la infiltración de neutrófilos tiene lugar con la DIO ya que en condiciones no obesas la proporción de estas es baja. Estas células inducen elastasa, la inhibición de esta enzima en los neutrófilos de ratones con obesidad mejoró la inflamación mediante la disminución de macrófagos en el tejido adiposo. Así mismo los neutrófilos pueden ser usados para conocer estado de obesidad a través de la enzima mieloperoxiada, un marcador de neutrófilos, la cual aumenta en mujeres obesas. La intrusión de mastocitos en el tejido adiposo fue detectada en ratones obesos, ya que estos inducen la inflamación a través de la secreción de IFN- γ e IL-6. Se evidenció que la falta de mastocitos en ratones produjo una disminución en el peso, y en la secreción de citocinas y quimiocinas involucradas en el proceso inflamación inducida por la obesidad. Así mismo, se comprobó la relación entre estas células y el

marcador de actividad de mastocito, la triptasa sérica, que se relaciona con un aumento de la grasa corporal del individuo y predomina en el sexo masculino en condiciones de obesidad, Por último, las NKT también son otro tipo celular infiltrado en el tejido adiposo, participan en la activación de los M2 de macrófagos mediante la señalización de IL-4/STAT6. Tateya et al. (2013) Periyalil et al. (2013).

En un estudio se ha puesto en evidencia cómo la inhibición de CD1d puede modificar las respuestas inmunitarias de NKT alterando el equilibrio en las células presentadoras de antígenos (APC) de los macrófagos M1 y M2. Las células NKT a través de CD1d reconoce antígenos lipídicos además muestran un doble papel ya que pueden secretar citocinas proinflamatorias o antiinflamatorias en respuesta a Th1 y Th2 dependiendo del fenotipo del macrófago que active a NKT. Los macrófagos M2 inhiben la inflamación mediante la activación de NKT, pero durante la obesidad se produce una inhibición de los M2 y de CD1d causando la alteración en la capacidad de presentar antígenos por parte de los macrófagos M2, que con lleva al cambio de fenotipo de M2 a M1. El tipo de respuestas inmunitarias de NKT y APC se ve afectadas por la expresión de CD1d junto con la presentación de antígenos y el tipo de antígeno. La secreción de IFN- α por las iNKT es influenciada por las citocinas IL-18 e IL-12 de los macrófagos M1 de ahí que las NKT liberen citocinas proinflamatorias, mientras que los M2 a través de la secreción de IL-10 puede inhibir a IFN- α de las NKT. Por tanto, la inhibición de CD1d va a provocar cambios en las respuestas inmunitarias en la que participa NKT contribuyendo a la inflamación en el tejido adiposo. H. Zhang et al.(2018).

Además de la acumulación de células proinflamatorias al mismo tiempo ocurre una disminución de factores antiinflamatorios, como ocurre con las ILC2 que disminuye en el AT de individuos obesos, al igual que ocurre con las células T reg y los eosinófilos. Esto provoca la inhibición de las funciones celulares para mantener las condiciones homeostáticas correctas. Wensveen et al.(2015).

Los macrófagos participan en la infiltración de células inmunitarias mediante las quimiocinas, que son proteínas que participan en el reclutamiento celular. Dentro de las quimiocinas se pueden distinguir dos grandes grupos; los ligandos de quimiocina CXC (CXCL) con su receptor de quimiocina CXCR y el ligando de quimiocina CC (CCL) con el receptor de quimiocina CCR, un ejemplo es la CCL2 también conocida

como proteína quimioatrayente de monocitos (MCP-1). Se ha probado que la expresión de MCP-1 en el tejido adiposo promueve la infiltración de macrófagos mientras que el bloqueo de su receptor CCR2 o de la propia quimiocina reduce la inflamación del tejido adiposo. El proceso por el que actúa la MCP-1 ocurre a través de los adipocitos que han aumentado su tamaño durante la obesidad, este cambio atrae a monocitos hacia el tejido adiposo que se diferencian a macrófagos produciendo citocinas proinflamatorias (Fig.5.3). Varios estudios demuestran el rol de la vía de señalización AMPC- CCR2 en la inflamación del tejido adiposo, por el que se suministran monocitos con carencia del receptor a ratones receptores cuyos resultados muestran una reducción en la acumulación de macrófagos del tejido adiposo de dichos ratones. Otro receptor que induce la expresión de MCP-1 es el CCR5, el cual influye en la inflamación por verse aumentado durante la obesidad, también se ha evidencia que la inhibición genética de este inhibe la infiltración de macrófagos en el tejido adiposo. Tateya et al. (2013).

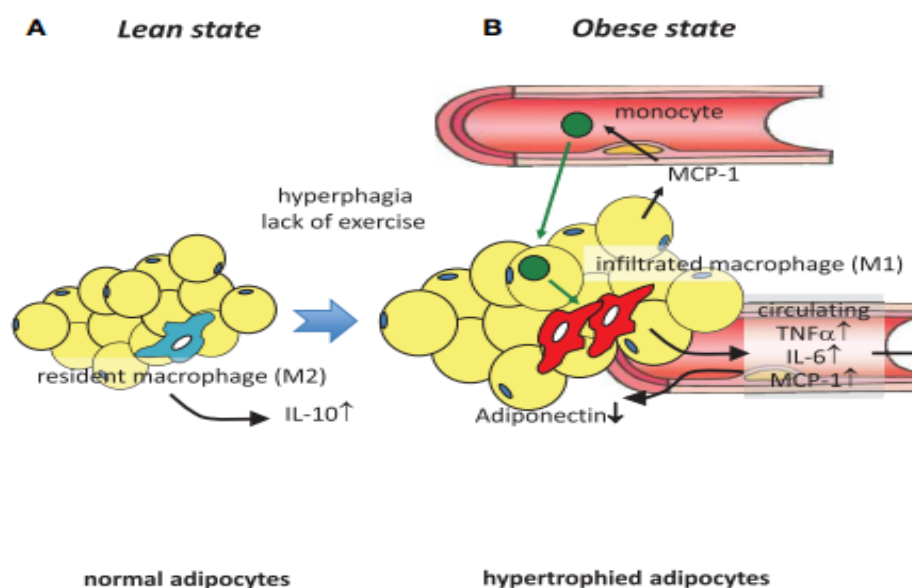


Figura 5.3: Actuación de MPC-1 en el reclutamiento de macrófagos. Imagen obtenida de Tateya et al.(2013).

5.2.2. Mecanismos y factores que activan la inflamación en el tejido adiposo.

Durante el desarrollo de la inflamación participan una infinidad de mecanismos y factores con la finalidad de inducir la infiltración de macrófagos en el tejido adiposo para producir un cambio en el fenotipo de los macrófagos antiinflamatorios residentes a un fenotipo proinflamatorio causando así la inflamación crónica de bajo grado característica de la obesidad.

El metabolismo celular es un factor clave en el comportamiento celular, el tipo de microambiente en que se encuentren las células inmunitarias marcará las funciones de cada una de ellas. Los diferentes ácidos grasos y el metabolismo van a inducir el fenotipo macrófagos, ácidos grasos saturados y metabolismo glucolítico inducen un fenotipo M1 mientras que los insaturados y un metabolismo oxidativo inducen un fenotipo M2. Estudios in vitro muestran la necesidad de cebado por IFN- γ o LPS de los FFA para que puedan inducir la secreción de citocinas en los macrófagos, por tanto, es necesario la polarización de macrófagos para que el ácido graso libre pueda actuar como intermediario proinflamatorio. Durante el desarrollo de la obesidad, los adipocitos pueden secretar enzimas que actúan como mediadores proinflamatorios, como el ácido araquidónico y los leucotrienos. Wensveen et al. (2015) Castoldi et al. (2016).

La ingesta total de grasas en una dieta con alto contenido en grasas es relevante en la obesidad, pero el tipo de ácido graso puede condicionar los procesos inflamatorios y metabólicos. Los PUFA son ácidos grasos poliinsaturados entre ellos se encuentra el omega 6 con propiedades proinflamatorias y el omega 3 con antiinflamatorias. Se asocia una mayor tendencia a padecer enfermedades metabólicas con una mayor ingesta de omega 6: omega 3. Los ácidos grasos de la serie omega-3 pueden mejorar los efectos en la inflamación y la adiposidad ya que se oxidan en vez de almacenarse en el tejido adiposo de manera que sería de interés modificar la proporción de FFA en la dieta con la finalidad de reducir la proporción omega-6: omega-3 debido a que los ácidos grasos inducen a la activación de factores o mecanismos inflamatorios. Aunque solo la reducción de estos ácidos grasos no es suficiente para paliar los efectos que causa la obesidad, se necesitan más estudios para comprenderlo. Un ejemplo de ello se muestra con el oleato que activa a los macrófagos M2 y los M1 se ven influenciados por el palmito, es decir la activación de oleato y palmito media las respuestas inflamatorias en macrófagos del tejido adiposo. Enos et al. (2014) Pardo et al. (2015).

Por otra parte, en condiciones de obesidad se produce la activación de vías de señalización como los inflamasomas y los TLR mediante las moléculas de patrón molecular asociadas al daño, como lipoproteínas de baja densidad oxidadas o por PAMP como el lipopolisacárido, ambos mecanismos participan en la polarización de los macrófagos por medio de la activación de las vías STAT1, caspasa-1 y NF- κ B que producen IL-1 β (Fig.5.4). El inflamasoma está constituido por caspasa -1,

una proteína con funciones apoptóticas que contiene un dominio de reclutamiento y activación de caspasas (ASC) y por receptores NLR, que comparten analogía con los receptores de dominio de oligomerización de unión a nucleótidos (NOD). Dichos receptores son los encargados de reconocer a los diferentes patógenos como infecciones bacterianas y víricas e infecciones por hongos o parásitos. Una característica destacable del inflamasoma es su capacidad de reconocimiento ante cualquier estímulo interno y catalogarlo como señal de peligro. El papel clave del inflamasoma en el proceso de inflamación se debe a la activación de la caspasa -1 que secreta citocinas proinflamatorias siendo, IL-18 e IL-1 β . Castoldi et al. (2016) Tateya et al. (2013).

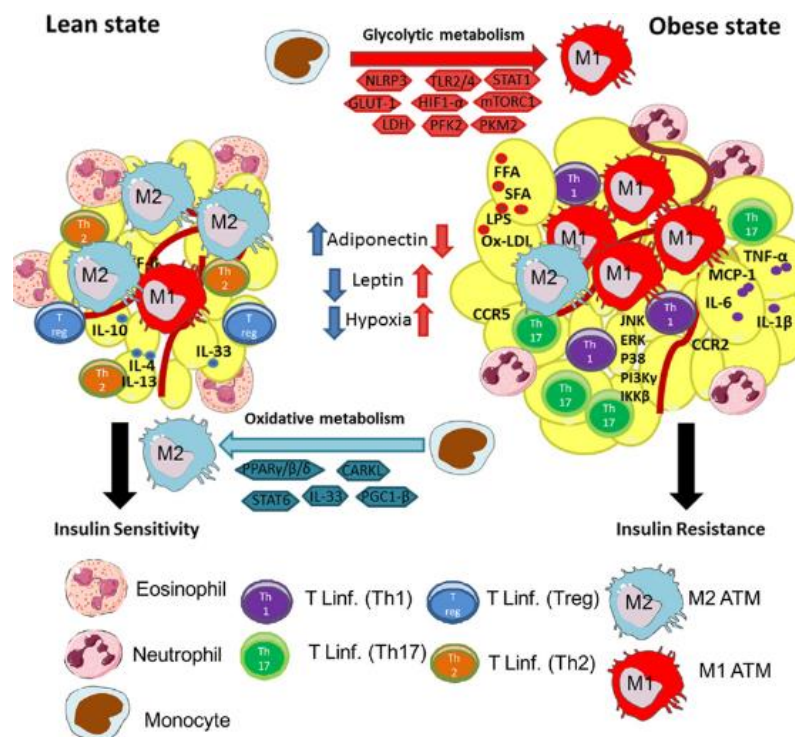


Figura 5.4: Esquema sobre la inflamación inducida por la obesidad en el tejido adiposo. Imagen obtenida de Castoldi et al. (2016).

La función de NLRP3 está demostrada en este proceso ya que su expresión en el AT se relaciona con la secreción de IL-1 β y el peso corporal, algunos estudios manipulan a ratones inhibidos para NLRP3 que detectan a lípidos, en concreto a ceramidas como una marca de peligro y activaba a la caspasa-1 la cual secreta IL-1 β incitando a las células T. También, la inhibición de la caspasa-1 mejora la actividad de los adipocitos. Algunos factores incitadores en la activación del inflamasoma son el exceso FFA, colesterolina, una proporción alta de ceramida, especies reactivas de oxígeno (ROS) y

desechos celulares que quedan tras la apoptosis. Es de mencionar la función quimioatrayente del inflamasoma que facilita la infiltración a los macrófagos, en concreto la IL-1 β junto con MPC-1 son las encargadas de la migración de macrófagos al tejido adiposo. Los macrófagos infiltrados rodean a los adipocitos necróticos, es de interés mencionar que los adipocitos han sufrido una transformación en su tamaño durante la obesidad por la acumulación desmesurada de lípidos este es un evento clave que se produce en condiciones obesas. Dichos macrófagos rodean a los adipocitos y forman un complejo denominado, estructura en forma de corona (CLS) a su vez los macrófagos secretan citocinas proinflamatorias IL-6, IL-1 β e TNF- α entre otras que participan en la inflamación crónica de bajo grado que induce la obesidad. Estas citocinas secretadas participan en un ciclo de muerte celular para los adipocitos, de infiltración para los macrófagos e inhibición en la maduración de preadipocitos a adipocitos y oponiéndose a la atenuación de ácidos grasos libres en la circulación. El ciclo vuelve a comenzar con la muerte celular de los adipocitos por hipertrofia, infiltración de macrófagos y secreción de citocinas. Tateya et al.(2013) Periyalil et al.(2013).

Algunos estudios han demostrado los efectos antiinflamatorios y antioxidantes que muestran componentes naturales encontrados en plantas con usos farmacéuticos en la inflamación, como es el caso de las saponinas del rizoma de *Panax japonicus*, en concreto Chikusetu saponina Iva (CS). El tratamiento suministrado consistió en cuatro dietas diferentes, una con alimentación normal (ND) y tres altas en grasas a las que a dos se añade CS en cantidades distintas 50mg y 100mg; (HFD), (HFD+CS-L) y (HFD+CS-H). El objetivo de este estudio era comprobar en qué medida CS actúa en la inflamación del tejido adiposo inducida por una HDF. En primer lugar, se observa una mejora en los niveles de triglicéridos y colesterol de los ratones tratados con CS. En segundo lugar, se evidencio los efectos beneficiosos de CS en el proceso de inflamación inducida por HDF, para ello se mide la expresión de genes involucrados en la inflamación, TNF- α , MPC-1, IL-1 β y caspasa-1. Los resultados mostraron diferencias significativas entre las ND y las HFD, incluso dentro de las HFD las dietas con el tratamiento de CS mostraron diferencias con una disminución en la expresión de las proteínas proinflamatorias dependiente de la dosis, esto indica el efecto inhibidor de CS sobre la inflamación por HDF. Yuan et al. (2017).

En la misma línea el estudio ha demostrado cómo afecta CS en la inflamación, se investigó el papel del inflamasoma. IL-1 β y la caspasa-1 ambas proteínas forman parte del inflamasoma por tanto estudiar los componentes restantes, NLRP3 y ASC demostraría si CS inhibe a este complejo proteico. Los resultados muestran diferencias significativas entre los ratones con ND y HFD y entre los ratones con tratamientos CS-L y CS-H, en estos últimos los niveles de expresión de NLRP3, ASC, caspasa-1 y IL-1 β disminuyen llegando incluso a mostrar la misma expresión que las ND con ello se llega a la conclusión que CS mejora la inflamación mediante la inhibición de los componentes del inflamasoma (Fig.5.5). Por otro lado, se quiso estudiar la formación de piroptosoma ASC inducido por LPS y ATP tras la activación del inflamasoma. La piroptosis depende de la caspasa -1 y es una forma de muerte celular programada en el que las células piroptóticas estimulan a los macrófagos para secretar IL-1 β , en ambos resultados el tratamiento con CS inhibe la activación del inflamasoma que inhibe la formación de piroptosoma ASC y la piroptosis. Yuan et al., 2017).

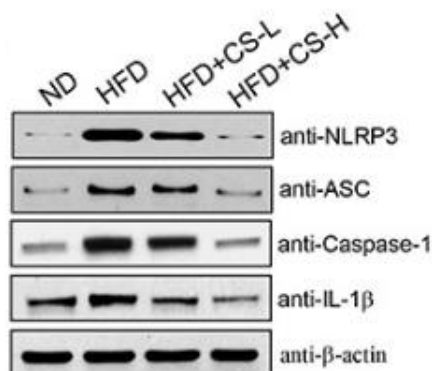


Figura 5.5: Expresión de proteínas del inflamasoma tratadas con diferentes dietas. Imagen obtenida de Yuan et al. (2017).

Como conclusión en esta investigación queda demostrado el papel de CS en la inhibición de la inflamación inducida por HFD, en concreto en los componentes del inflamasoma y la producción de caspasa-1 e IL-1 β . Un mecanismo por el cual se activa la caspasa-1 y se produce IL-1 β es ASC en la activación del inflamasoma, CS participa en la inhibición de la formación de piroptosomas y por tanto en la secreción de IL-1 β bloqueando la inflamación de tejido adiposo, por lo que se puede afirmar que CS puede usarse como fármaco inhibidor de factores inflamatorios. Yuan et al. (2017).

Es de destacar la influencia de las vías de señalización de la insulina en la inflamación del tejido adiposo, hay vías o moléculas que participan principalmente en el control de la insulina, pero su presencia en el mecanismo de inflamación inducido por la obesidad es crucial, como mTOR o PI3K. mTOR altera su metabolismo celular dependiendo de las condiciones del microambiente, actúa sobre distintos tipos celulares incluidos los macrófagos. La delección mTOR en los cajeros automáticos reduce la migración celular al AT y esta vía produce la inhibición del inflammasoma, en concreto de la caspasa-1 por consiguiente reduce la secreción de IL-1 β e IL-18. La maduración de los linfocitos T para inducir respuesta Th1 es fundamental en la activación de los macrófagos M1 en el AT, en condiciones obesas la activación de Th1 está regulada por mTOR que participa en la maduración de linfocitos T hacia un fenotipo Th1. PI3K es también otro importante sensor metabólico en las células inmunes que participa tanto en la resistencia a la insulina como en el desarrollo de la obesidad. Castoldi et al. (2016).

Se ha visto que la actividad de PI3K γ promueve la infiltración de neutrófilos en el AT y como consecuencia aumenta el fenotipo de M1. Para comprobarlo se estudiaron marcadores y genes específicos de macrófagos M1 y M2, se usaron ratones *db/db* como control y ratones *db/db- PI3K γ* en los que PI3K γ estaba bloqueado. Los resultados no muestran diferencias significativas entre la expresión de marcadores de macrófagos, pero si se muestran diferencias significativas en la expresión de MCP-1, CCR2 y MIP-1 α que están relacionados con la activación de M1 que disminuyen en el grupo con PI3K γ bloqueada y también en el aumento significativo en la expresión genes involucrados en la activación de M2, MMP9, FIZZ-1 e Arg-1 que están aumentado en el grupo con PI3K γ bloqueada (Fig.5.6). Por esta razón la actividad de PI3K γ es necesaria para la infiltración de neutrófilos en el tejido adiposo, pero hay evidencias de que su bloqueo mejora la obesidad inducida por la dieta a través de mecanismos como el aumento de lipólisis y la reducción de la inflamación del tejido adiposo. Estudios en ratones han demostrado que la eliminación de PI3K γ reduce la obesidad inducida por la dieta en parte por un mecanismo dependiente de la leptina. Breasson et al. (2018).

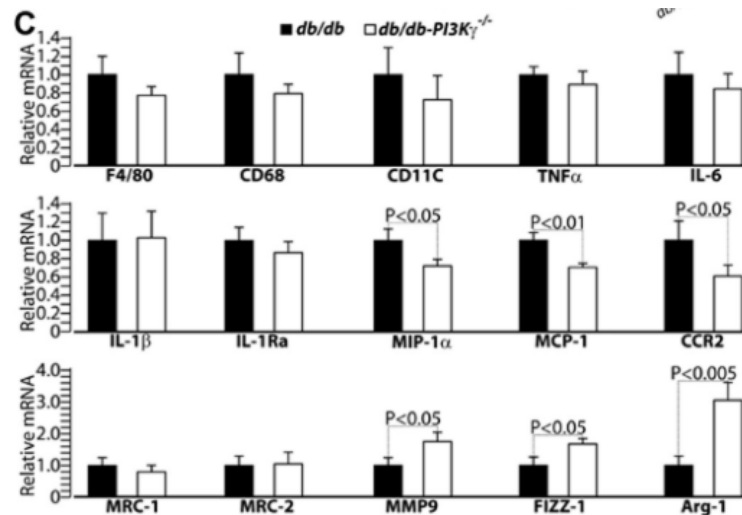


Figura 5.6: Expresión de marcadores y genes de macrófagos M1 y M2. Imagen obtenida de Breasson et al.(2018)

Los receptores tipo Toll son otro mecanismo involucrado en la inflamación del AT a través del reconocimiento de DAMP y PAMP e inician una cascada de respuestas inflamatorias en el organismo. La expresión de TLR puede activar a células inmunitarias regulando la inflamación y la polarización de los macrófagos residentes en el tejido adiposo. Los eosinófilos participan en el control de distintas respuestas fisiológicas sobre todo en respuestas inmunes de tipo Th2. La expresión de TLR es baja en eosinófilos, aunque TLR7 es el receptor dominante en estas células mientras que TLR8 no llega a ser expresado. En una investigación se quiso demostrar la función y expresión de TLR en las células eosinofílicas en función del estímulo, LPS o ácido palmítico, puede inducir fenotipo M1 o M2. Yoon et al. (2019).

Se trabaja con células eosinofílicas diferenciadas con butirato (dEol-1) y eosinófilos maduros diferenciados de células C34+, los resultados muestran una mayor expresión de TLR3, TLR4 y TLR7 en células dEol-1. De estos TLR se quiso estudiar cual induce la regulación de citocinas que participan en la respuesta inmune para ello se trató con ligando específicos, LPS y ácido palmítico, se encontró una mayor expresión de IL-6, IL-13, IL-1 β e IL-5 en las células dEol-1 tratadas con LPS y ácido palmítico que en los ligandos de TLR3 y TLR7. Por tanto, TLR4 es el encargado de activar a los eosinófilos a través de LPS y el ácido palmítico. Junto a estos resultados se demostró que los eosinófilos expresan TLR4 y modular los microambientes detectados por los TLR4 contribuyen a la polarización de los macrófagos, de tal manera que los eosinófilos tratados con LPS mostraban un perfil de citocinas proinflamatorio a los tratados con

ácido palmítico, para resaltar más esta idea, se observaron los marcadores de macrófagos M1 y M2, los de M1 estaban aumentados en las células estimuladas con LPS, mientras que los marcadores de M2 aumentaron en las células estimuladas por el ácido palmítico. Yoon et al. (2019).

La activación de TLR-4 y de TLR-2 aumenta después de una ingesta de alimentos ricos en grasas. Los adipocitos liberan esos FFA en exceso que activa la vía TLR4 induciendo la expresión de genes proinflamatorios, como TNF α , por tanto, la activación de M1. Se produce un circuito entre los macrófagos y los adipocitos que está mediado por TNF α y los FFA en el que los macrófagos activados por FFA secretan TNF α por medio de la señalización TLR4, la secreción de TNF α aumenta la movilización de FFA en los adipocitos. Hay evidencias de que la expresión de TLR4 y TLR2 es significativamente menor en macrófagos M2 que en macrófagos M1 por lo que su presencia lleva a los macrófagos hacia un fenotipo M1. Se puede afirmar que los macrófagos dependen de TLR para su activación y polarización. Periyalil et al. (2013) Tateya et al. (2013).

La activación de los TLR por la secreción de FFA inicia una secuencia de respuestas inflamatorias que está controlada por NF-KB. Estos receptores junto con la señalización Wnt aumentan la secreción de citocinas proinflamatorias por lo que la interacción entre la señalización Wnt y TLR juega un papel importante en la inducción de factores proinflamatorios. La señalización Wnt, en condiciones normales participa en el control homeostático del organismo y la adipogénesis, pero cuando se produce un ascenso en la proporción de los FFA la señalización Wnt provoca una proliferación anormal del tejido adiposo que conduce a la inflamación. Esta asociación entre TLR y Wnt provoca un cambio en los macrófagos residentes en el tejido adiposo de un fenotipo M2 a M1. Investigar la inhibición farmacológica de TLR podría ser una futura terapia para reducir la inflamación producida por una dieta alta en grasas. Aamir et al. (2020).

El compuesto Pyrogallol-phloroglucinol-6,6-biecol (PPB) muestra efectos antiinflamatorios y antioxidantes y para conocer los posibles efectos sobre la polarización de macrófagos y la inflamación inducida por una dieta alta en grasas se realiza un estudio en ratones DIO y en ratones *ob/ob* con deficiencia de leptina. Los resultados del estudio muestran una disminución en la infiltración de macrófagos en

el AT en los ratones tratados con PPB junto con una disminución de las citocinas TFN- α e IL-6. También se estudió el papel de leptina en la infiltración de macrófagos para ello se tratan ratones *ob/ob* con saline, con leptina y con PPB, el marcador de macrófagos M1 CD86 muestra una mayor expresión en ratones *ob/ob* saline que en ratones salvajes y en ratones con PPB y leptina disminuye. La expresión de CD206, marcador de M2 aumento en los ratones salvajes en comparación con ratones *ob/ob* saline y aumento en los ratones tratados con leptina y PPB. La expresión de TFN- α e IL-6 aumenta en los grupos *ob/ob* saline y se reduce en los tratados con leptina y PPB. Además de mejorar la polarización de macrófagos y la inflamación PPB atenúa los mecanismos de lipogénesis y adipogénesis en el tejido adiposo, la expresión de PPAR γ se muestra reducida en los grupos tratados con PPB o leptina. El uso de PPB muestra efectos positivos en la inflamación del tejido adiposo además de restablecer la sensibilidad a la leptina. Son et al. (2019).

Otro compuesto con efectos sobre la inflamación del tejido adiposo es el gamma-tocotrienol (γ T3), su presencia mejora la acumulación de grasa inducida por HDF, mitiga la inflamación del tejido ya que se reduce la infiltración de macrófagos y la acumulación de macrófagos con un fenotipo M1 mediante la inhibición en la vía de señalización NF-KB. Zhao et al. (2015).

Junto con las citocinas se conocen otras moléculas que contribuyen al mantenimiento de estado inmunológico y al metabolismo del AT conocidos como mediadores lipídicos. Los eicosanoides son proteínas que la mayoría de células inmunitarias pueden sintetizarlos, los adipocitos también expresan receptores de eicosanoides, prostanoïdes y leucotrienos. Los prostanoïdes participan en la diferenciación de adipocitos y en la regulación lipídica, la prostaglandina E2 (PGE2) es un tipo de prostanoïde que regula la lipólisis y participa como mediador en la activación de PPAR. Otro mediador importante que participa en la homeostasis lipídica y en la regulación del metabolismo del AT es el sistema endocannabinoide, además la inhibición de este sistema provoca un incremento de la concentración de grasa. Masoodi et al. (2015).

Se ha investigado el rol de la PGE2 y su receptor EP4 el cual actúa inhibiendo la activación de macrófagos suprimiendo la secreción de citocinas y quimiocinas proinflamatorias. En el estudio trataron ratones *db/db* con un agonista selectivo de EP4 y ratones *db/db* sin agonista con el objetivo de conocer el papel de EP4 en la

señalización de la inflamación inducida por la obesidad. Los resultados muestran una disminución en el número de macrófagos infiltrados y en el tamaño de los adipocitos en el grupo de ratones tratados con el agonista de EP4, así como la expresión de citocinas y quimiocinas proinflamatorias TNF- α , IL-6, MCP-1, IP-10 disminuyó en este grupo de ratones. La polarización de los macrófagos hacia un fenotipo M2 se vio aumentada en ratones tratados con el agonista de EP4, los marcadores CD163 y el receptor de la manosa se encontraban aumentados en dichos ratones. Se quiso evidenciar cómo actuaba PGE2 en la activación de PPAR para ello midieron la expresión de PPAR α y PPAR γ ambos receptores nucleares estaban aumentados en el tratamiento con el agonista, pero especialmente PPAR δ es el receptor nuclear inducido por IL-4 e IL-13 que estaría involucrado en la señalización de EP4 hacia un fenotipo M2. Por tanto, se podría afirmar que la activación de EP4 mejora la polarización de macrófagos M1 a M2 en parte a la señalización de PGE2-EP4 la cual inhibe MCP-1 con ello la infiltración de macrófagos en el tejido adiposo y a la secreción de adiponectina por parte de EP4. Yasui et al. (2015).

En la misma línea otro estudio se interesa por la activación de EP4 en la inflamación de los islotes pancreáticos ya que la proporción de M1/M2 se redujo significativamente en los ratones tratados con el agonista de EP4 por lo que la activación de EP4 inhibe la inflamación al alterar el fenotipo de los macrófagos inflamatorios. Los resultados muestran un cambio en la polarización de los macrófagos de M1 a M2 y cambios en la funcionalidad de los macrófagos pancreáticos en los grupos con el tratamiento agonista de EP4. En definitiva, la señalización de EP4 es crucial en la inflamación del tejido adiposo y en la resistencia a la insulina inducida por la obesidad. Yasui-Kato et al. (2020).

Como se menciona en apartados anteriores la estimulación en la ingesta de los alimentos se produce por la hormona grelina, su forma inactiva desacil grelina participa en la acumulación de lípidos y en la inhibición de la inflamación del tejido adiposo. Durante la obesidad se produce un incremento de la enzima aromatasa en la glándula mamaria creando un ambiente tumoral. El objetivo de este estudio fue examinar el efecto de la forma inactiva de la grelina sobre los macrófagos del tejido adiposo para expresar la aromatasa en el estroma adiposo. En condiciones de obesidad el nivel de aromatasa asciende por la inflamación crónica de bajo grado característico de condiciones obesas. PGE2 y TNF- α inducen la expresión de

aromatasa en el estroma adiposo. La grelina inhibe a IL-1 β y TNF- α estimulados por LPS en macrófago, su forma inactiva reduce la inflamación del tejido adiposo, tiene efectos sobre los adipocitos y participa en la polarización de los macrófagos. Los hallazgos del estudio muestran la inhibición de TNF- α y PGE2 por la desacilgrelina y polariza los macrófagos hacia un fenotipo M2 ya que se aprecian diferencias significativas entre en el marcador de M2, CD206 y M, CD11d induciendo la polarización hacia un fenotipo antiinflamatorio. La desacilgrelina participa en la inhibiendo de factores procedentes de macrófagos que aumentan la expresión de de aromatasa en condiciones de obesidad, los cuales pueden ser impulsores claves de la aromatasa asociada en el cáncer de mama. Au et al. (2017).

Además de una dieta alta en grasas algunos estudios se han interesado por otros factores que podrían contribuir a la obesidad e inducir la inflamación crónica de bajo grado característica, uno de ellos es el sueño fragmentado. Esta alteración contribuye a diferentes trastornos metabólicos como la resistencia a la insulina y la inflamación del tejido adiposo. La fragmentación del sueño provoca la activación de un complejo enzimático la NADPH oxidasa que produce en grandes cantidad ROS, molécula que interviene en el daño celular oxidativo. Se estudia si la actividad o inhibición de Nox2 afecta a la inflamación del tejido adiposo. Para ello se trabajan con ratones salvajes y ratones Nox2 nulos en condiciones de sueño normal y sueño fragmentado, los resultados muestran un aumento significativo en la proporción de macrófagos en el AT de ratones salvajes expuesto a sueño fraccionado, pero no hay diferencias significativas en ratones con Nox2 nulo. Para saber qué tipo de macrófago parecía aumentar se estudia los marcadores de M1, CD11 y M2, CD206. La fragmentación del sueño aumenta los niveles de marcadores M1 mientras que los M2 se encuentran reducidos esto puede deberse a que la fragmentación del sueño induce la expresión de Nox2 que produce ROS, que es una molécula expresada por los macrófagos M1 en la inflamación del tejido adiposo. S. X. L. Zhang et al. (2014).

5.3. Activación y regulación en la polarización de macrófagos en el tejido adiposo.

La activación de los macrófagos viene definida en dos estados de polarización, los macrófagos M1 o activados clásicamente y los macrófagos M2 o activados alternativamente. Tateya et al. (2013).

5.3.1. Vías de activación proinflamatorias

La activación de los macrófagos M1 tiene lugar a través de varias vías, IKK β /NF- κ B, JNK/AP1 y JAK/STAT. JNK que está formada por JNK1 y JNK2 y el equilibrio entre dos isoformas que determinará la función de JNK en el tejido adiposo graso. JNK1 participa en la inflamación inducida por la obesidad por medio de la expresión de citocinas en tejido adiposo, el bloqueo de JNK1 y JNK2 en ratones parece mejorar la inflamación del tejido adiposo. Tateya et al. (2013) Castoldi et al. (2016)

SOCS3, IL-1 β y TFN- α son expresados por los macrófagos M1 y participan en el control del factor nuclear κ B (NF- κ B), por otra parte, PI3K que promueven la producción de óxido nítrico. A su vez la secreción de NF- κ B, PI3K y el IFN- γ y TRL inducen la formación de iNos, molécula de interés en los M1 Castoldi et al. (2016).

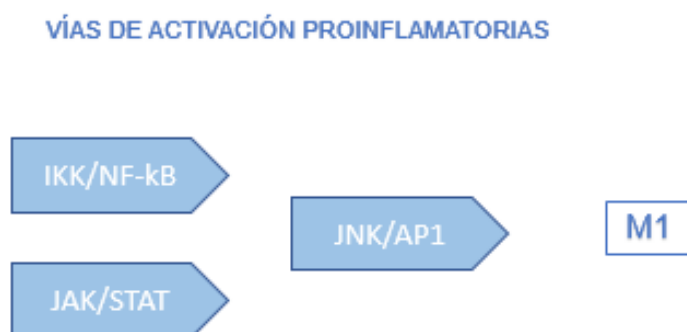


Figura 5.7: Esquema de las diferentes vías proinflamatorias en la activación

5.3.2. Vías de activación antiinflamatorias.

Los receptores activados por proliferador de peroxisomas, PPAR- α , PPAR- β y PPAR- γ son importantes reguladores de factores de transcripción que se encargan de regular el metabolismo lipídico y glucolítico en adipocitos. Es más, a través de su activación los receptores nucleares inducen vías encargadas de la regulación de las respuestas inflamatorias. Como ocurre con PPAR- γ el cual induce la activación alternativa de los macrófagos mediante el metabolismo oxidativo. Esta evidencia se recalca más cuando la deficiencia, delección o la actividad antagonista de los receptores PPAR- γ muestran efectos adversos en la inflamación. Sin embargo, los agonistas de PPAR- γ presentan efectos inhibidores para TFN- α , en LPL, y activan la captación de ácidos grasos y la oxidación β por consiguiente inhiben la inflamación. IL-4 mejora la activación y expresión de PPAR- γ a través de relación de PPAR- γ y STAT6, en respuesta al

estímulo STAT6 y PPAR γ -1 β se activan la oxidación de ácidos grasos en macrófagos. Chinetti-Gbaguidi y Staels, (2011) Periyalil et al. (2013).

La metilación del ADN es otro mecanismo que regula la polarización de los macrófagos hacia un fenotipo alternativo, al regular epigenéticamente el promotor de PPAR γ . A través de la inhibición de la enzima metiltransferasa 1 se produce el bloqueo de la metilación del ADN en el promotor PPAR γ que induce la activación de macrófagos con fenotipo M2 y una disminución de la inflamación del tejido adiposo. Wang et al. (2016).

Por otro lado, la activación de otros receptores induce la activación alternativa de macrófagos como el receptor de glucocorticoides (GR) y el receptor de mineralocorticoides (MR). GR expresa CD36, CD163, IL-10 e IL-1 de tipo II y un aumento de la homeostasis antioxidante induciendo un fenotipo único M2. Otro receptor nuclear involucrado en la activación de M2 es el factor 4 similar a Krüppel (KLF4), este receptor nuclear se inhibe por LPS y se activa por IL-4. La expresión de ARNm de KLF4 está asociada a la expresión de marcadores de M2 y adiponectina. La proteína quinasa activada por AMP (AMPK) es otra molécula que participa en la activación de M2 a través de la pérdida de las subunidades β reguladoras. Chinetti-Gbaguidi y Staels (2011) Tateya et al. (2013).

VÍAS DE ACTIVACIÓN ANTIINFLAMATORIAS

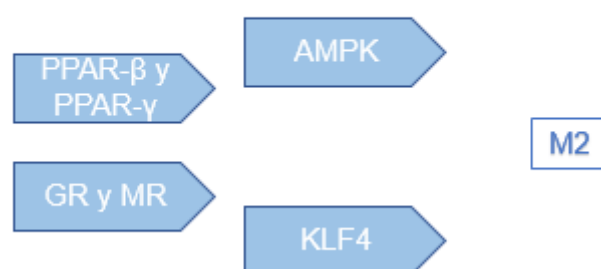


Figura 5.8: Esquema de las diferentes vías antiinflamatorias en la activación

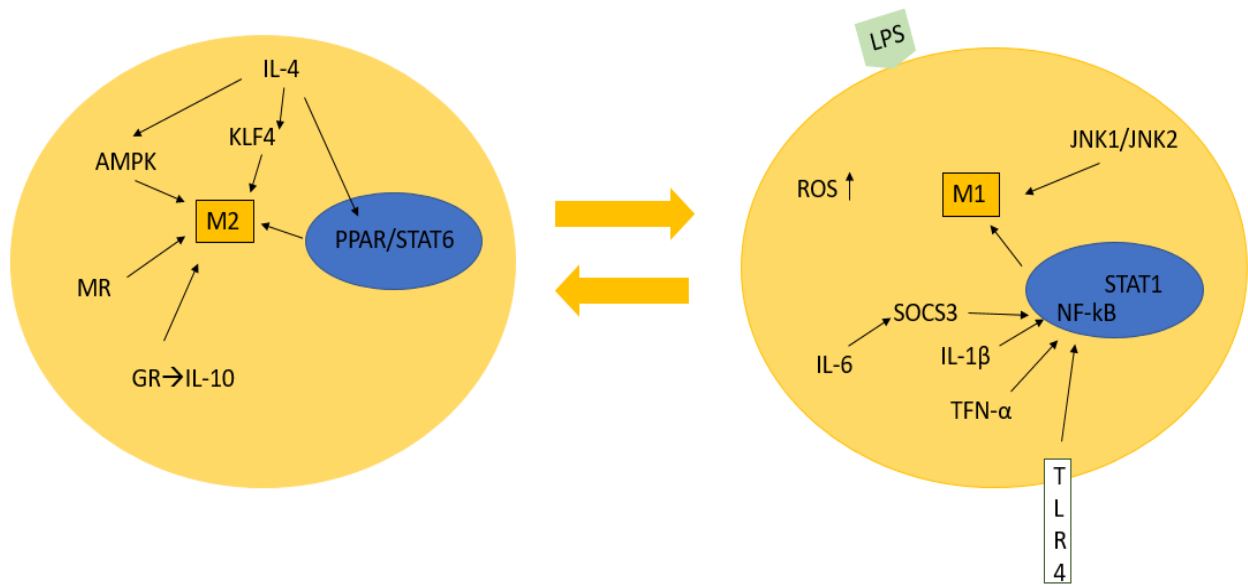


Figura 5.9: Conexión vías de activación pro y antiinflamatorias

5.3.3. Mecanismos de regulación en la polarización de macrófagos M1 y M2

Existen gran cantidad de mecanismos involucrados en la polarización de los macrófagos que activan o inhiben las vías de señalización inflamatorias induciendo un fenotipo antiinflamatorio o proinflamatorio.

Ciertas células inmunes como monocitos, macrófagos o adipocitos pueden secretar microvesículas que participan en la comunicación intercelular. Se ha estudiado la posibilidad de que las microvesículas derivadas de adipocitos tengan la capacidad de polarizar los macrófagos residentes en el tejido adiposo. Esta polarización está mediada por moléculas de ARN, en este caso, miR-155 se traspasa desde los adipocitos a los macrófagos induciendo la polarización de M1. miR-155 actúa sobre SOCS1 e inhibe la vía de señalización JAK/STAT. Dentro de la familia de STAT, STAT1, induce fenotipo M1 por el factor de transcripción de IFN- α mientras que STAT6, el factor de transcripción de la IL-4 induce fenotipo M2. La investigación trata micro vesículas derivadas de los adipocitos (ADM) con una dieta normal y con HDF en macrófagos, los resultados de muestran que ADM con una dieta alta en grasas induce la activación de los macrófagos M1 en comparación con la dieta normal a través del contenido de miR-155. Este micro ARN disminuye la expresión de la proteína SOCS en ADM HFD en comparación con ADM con dieta normal, además se estudia los efectos en la expresión de STAT1 que aumenta en los AMD HDF y STAT 6 que disminuye en los AMD HFD. También se estudió la relación Arg1:iNOS usado

como índice de macrófagos funcionales, el cual se redujo en las AMD tratadas con HDF en comparación con ADM de dieta normal. Por tanto, se demuestra la interacción adipocitos-macrófono y que las ADM inducen la polarización de macrófagos a M1 a través de miR-155 que inhibe SOCS1 y regula la vía de señalización JAK/STAT. Y. Zhang et al. (2016).

Mir-223 es otro micro ARN involucrado en la activación de los macrófagos su deficiencia provoca un aumento de los factores inflamatorios e induce la infiltración de macrófagos en el tejido adiposo hecho relacionado con el aumento de MPC-1 por consiguiente, la inflamación del tejido adiposo. Esto se evidencio al estimular macrófagos miR-233 -/- con LPS o IL-4, la estimulación con LPS provoca una mayor expresión de 1L-1 β y TFN- α en comparación a los tratados con IL-4 que disminuyen Arg1 y PPAR γ , estos resultados demuestran el papel regulador de miR-133 en la polarización de los macrófagos. Zhuang et al. (2012).

El exceso de ácidos grasos afecta a dos procesos básicos de las células, la autofagia y a la cadena respiratoria mitocondrial. Aunque la función principal de la autofagia es la eliminación de sustancias u organismos infecciosos se ha visto la aplicación de un papel importante en la respuesta inmune en este caso la regulación en la polarización de macrófagos. Para comprobarlo se utilizan ratones con el gen para la autofagia bloqueado, *Atg5*, y con HDF, se muestra que la deficiencia autofágica provoca una disminución de los marcadores de antiinflamatorios y un aumento de los proinflamatorio, es más la estimulación con LPS en estos ratones mostro un aumento significativamente mayor de IL-6 y TFN- γ que los tratadas solo con HDF, en definitiva el deterioro de autofagia por la obesidad estimula la polarización de macrófagos hacia un fenotipo M1 y la inhibición del fenotipo M2. Liu et al. (2015) Park et al. (2016).

Por otro lado, la alteración de la cadena respiratoria mitocondrial con lleva la elevación de especies reactivas de oxígeno El estrés oxidativo participa en la polarización de los macrófagos del AT por medio de la enzima catalasa endógena que regula el cambio de fenotipo de los macrófagos AT. Se estudia el efecto de inhibición de la catalasa endógena en macrófagos para ello se tratan ratones salvajes y ratones knockout de catalasa con una dieta normal y otra HDF, los resultados evidencian una mayor infiltración de macrófagos en los ratones CKO HDF que en los ratones salvajes con dieta normal, se produce un aumento en el número de estructuras en forma de corona

propio del fenotipo M1. Para conocer más en profundidad la actuación de la catalasa en la polarización de macrófagos, analizaron marcadores para M1 y M2, la expresión de CD11c y citocinas proinflamatorias aumentaron en los ratones CKO HDF mientras que la expresión de CD206 y citosinas antiinflamatorias disminuyó en ratones CKO en ambas alimentaciones lo que sugiere la función reguladora de la catalasa endógena en la polarización de los macrófagos a través de la vía de señalización JNK. Liu et al. (2015) Park et al. (2016).

De igual manera el estrés del retículo contribuye a la activación de los macrófagos del tejido adiposo a través de la enzima IRE1 α alterando el equilibrio M1/M2, la sobrecarga de ácidos grasos activa el sensor metabólico del estrés del retículo. Se ha demostrado que la inhibición de IRE1 α estimula la proporción de macrófagos antiinflamatorios mientras que la presencia de IRE1 α detecta los estímulos inmunológicos que provoca la obesidad y conduce a un estado inflamatorio mediante la polarización de los macrófagos del tejido adiposo de un fenotipo M2 a M1. Shan et al. (2017).

Los factores de transcripción participan en la regulación de la polarización de macrófagos. El factor de nuclear de las células T activadas (NFAT) están relacionadas con la regulación de genes inductores en células inmunitarias, en respuesta a Th1 NFAT estimula la producción de citocinas proinflamatorias sin embargo en respuestas Th2 se reduce la expresión de factores antiinflamatorios. Existen varios NFAT, NFATc3 y NFATc4 activan TRL y estimulan a macrófagos la producción de citocinas. Pero NFATc3 es el único capaz de responder al estímulo de LPS y activar a su vez iNOS en macrófagos. Se estudia si NFATc3 actúa como un regulador positivo en la inflamación inducida por la obesidad. Se utilizan ratones NFATc3^{-/-} y ratones salvajes ambos tratados con una dieta normal y otra HDF, la expresión de citocinas inflamatorias disminuyó en los tratamientos de ratones NFATc3^{-/-} en comparación con los salvajes con dietas HDF. Para saber cómo altera la deficiencia de NFATc3 al fenotipo de macrófagos midieron la expresión de marcadores de macrófagos *ex vivo* inducidos por LPS o IFN α o con IL-4 para inducir un fenotipo u otro. Los resultados muestran la necesidad de NFATc3 para la diferenciación hacia un fenotipo M1, ya que la expresión de IL-1 β e TNF α se muestra disminuida en los ratones NFATc3^{-/-} en comparación con los ratones salvajes, al contrario de lo que ocurre en la expresión de Arg-1 y PPAR γ que se muestra aumentada en los ratones NFATc3^{-/-}. Ante las

evidencias se puede afirmar que la vía NF- κ B induce la polarización de macrófagos hacia un fenotipo M1, por lo que inhibir este factor nuclear mejoraría la infiltración de macrófagos M1 por ende la inflamación inducida por la obesidad. Hu et al. (2018).

El fenotipo de los macrófagos está marcado por el microambiente en el que se encuentran, la obesidad además de provocar resistencia a la insulina también es un factor de riesgo en la aparición de cánceres. Los macrófagos M2 en este contexto cancerígeno muestran características tumorales al participar en el crecimiento tumoral y en la infiltración de células cancerosas, mientras que los macrófagos M1 muestran propiedades antitumorales. Se ha estudiado la interacción entre los adipocitos y las células de cáncer de próstata tratadas con, *Trichomonas vaginalis*. En condiciones obesas aumenta la secreción de CCL2 producida por los adipocitos estimulando la infiltración de macrófagos hacia el tejido adiposo acción que agrava la virulencia del cáncer. El estudio ha probado los efectos de la expresión de CCL2, IL-4, IL-6 e IL-13 en los adipocitos tratados con estas células cancerígenas que inducen la polarización de macrófagos hacia un fenotipo M2. En consecuencia, la infección por *Trichomonas* agrava el cáncer de próstata en condiciones obesas al inducir la polarización de M2. Chung et al. (2020).

Por último, hay indicios que muestran una relación entre AMPc y la polarización de los macrófagos mediante la vía CREB/CRTC se induce la expresión de un fenotipo M2 y la inhibición de la citocina IL-10 por parte de AMPc bloquea la polarización hacia un fenotipo M1. Además, a través de AMPc la prostaglandina E2 induce la expresión de macrófagos M2. Luan et al. (2015).

Recientemente se ha descrito un tipo de adipocina en condiciones obesas que muestra funciones antiinflamatorias la lipocalina 2. Esta participa en el control de la inflamación a través de la regulación de los factores de transcripción. La estimulación por parte de LPS aumenta la proporción de lipocalina 2 además de otros mecanismos que incrementan la inflamación del tejido adiposo como TLR4 y la vía de señalización NF- κ B. La deficiencia de lipocalina 2 provoca la polarización de los macrófagos hacia un fenotipo M1 a la vez que inhibe la expresión de marcadores de M2. Esta polarización de los macrófagos se lleva a cabo por la activación de NF- κ B/STAT3 que son estimulados por LPS. Por lo que la deficiencia de lipocalin 2 controla la activación

de las vías de señalización proinflamatorias en la obesidad inducida por la dieta alta en grasas. Guo et al. (2014).

A continuación, se muestran algunos fármacos con características antiinflamatorias que participan en la polarización de los macrófagos y en la inflamación del tejido adiposo.

Tabla 5.1: Fármacos que muestran acciones sobre la inflamación del tejido adiposo y las vías que la regulan.

FÁRMACO	ACCIÓN	CITA
Flavonoides de manzana, floretina y florizina	Polarización de macrófagos de un fenotipo M1 a M2 a través de la actividad de PPAR. Floretina muestra más efectos antiinflamatorios junto con una disminución las adipocinas inflamatorias que florizina.	Liddle et al. (2020)
Metformina	Reducción de la inflamación y la polarización de los macrófagos de un fenotipo M1 a M2 dependiente de la proteína quinasa activada por AMP (AMPK)	Jing et al. (2018)
Triterpenos de <i>Salvia miltiorrhiza</i>	Mejora la inflamación por medio de la polarización de los macrófagos de un fenotipo proinflamatorio a uno antiinflamatoria mediado por la AMPK.	Leng et al. (2017)
Saponina Iva de Chikusetsu	Bloqueo de la activación de NLRP3 a través de la inhibición de TNF- γ , IL-1 β y la vía de señalización NF-Kb. Por lo tanto, altera la polarización de un fenotipo M1 a M2.	Yuan et al. (2017)

6.CONCLUSIONES

En la presente revisión bibliográfica se ha llegado a la conclusión de que los macrófagos M1 y M2 son las células inmunes que median la inflamación crónica que induce la obesidad. Sus funciones y los procesos que producen se relacionan con el fenotipo que poseen, siendo M1 proinflamatorio y mediando una respuesta de

manutención de inflamación crónica con el tiempo y M2 antiinflamatoria y mediando una resolución y final de la respuesta inflamatoria.

1. En condiciones normales los macrófagos muestran un fenotipo M2, pero en un ambiente rico en ácidos grasos presentan un fenotipo M1.
2. El cambio de genotipo o activación de los macrófagos suele venir dado a través de los factores proinflamatorios producidos en condiciones de obesidad y quimiocinas que producen un efecto llamada de los macrófagos a los lugares de inflamación.
3. Las vías reguladoras del proceso de polarización son principalmente PPAR, NF-Kb, JNK y STAT. Estas pueden ser activadas por fármacos o por componentes alimenticios como flavonoides o triterpenos.

7.BIBLIOGRAFÍA

- AAMIR, K., KHAN, H. U., SETHI, G., HOSSAIN, M. A., & ARYA, A. (2020). Wnt signaling mediates TLR pathway and promote unrestrained adipogenesis and metaflammation: Therapeutic targets for obesity and type 2 diabetes. *Pharmacological Research*, 152, 104602.
- AU, C. C., DOCANTO, M. M., ZAHID, H., RAFFAELLI, F.-M., FERRERO, R. L., FURNESS, J. B., & BROWN, K. A. (2017). Des-acyl ghrelin inhibits the capacity of macrophages to stimulate the expression of aromatase in breast adipose stromal cells. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 170, 49–53.
- BREASSON, L., SARDI, C., BECATTINI, B., ZANI, F., & SOLINAS, G. (2018). PI3Ky ablation does not promote diabetes in db/db mice, but improves insulin sensitivity and reduces pancreatic β -cell apoptosis. *The FASEB Journal*, 32(1), 319–329.
- CASTOLDI, A., NAFFAH DE SOUZA, C., CÂMARA, N. O. S., & MORAES-VIEIRA, P. M. (2016). The macrophage switch in obesity development. *Frontiers in Immunology*, 6, 637.
- CHINETTI-GBAGUIDI, G., & STAELS, B. (2011). Macrophage polarization in metabolic disorders: functions and regulation. *Current Opinion in Lipidology*,

- CHUNG, H.-Y., KIM, J.-H., HAN, I.-H., & RYU, J.-S. (2020). Polarization of M2 Macrophages by Interaction between Prostate Cancer Cells Treated with *Trichomonas vaginalis* and Adipocytes. *The Korean Journal of Parasitology*, 58(3), 217–227.
- DONG, J., DONG, Y., CHEN, F., MITCH, W. E., & ZHANG, L. (2016). Inhibition of myostatin in mice improves insulin sensitivity via irisin-mediated cross talk between muscle and adipose tissues. *International Journal of Obesity*, 40(3), 434–442.
- ENOS, R. T., VELÁZQUEZ, K. T., MCCLELLAN, J. L., CRANFORD, T. L., WALLA, M. D., & MURPHY, E. A. (2014). Reducing the dietary omega-6: omega-3 utilizing α -linolenic acid; not a sufficient therapy for attenuating high-fat-diet-induced obesity development nor related detrimental metabolic and adipose tissue inflammatory outcomes. *PloS One*, 9(4), e94897.
- GIRÓN-ULLOA, A., GONZÁLEZ-DOMÍNGUEZ, E., KLIMEK, R. S., PATIÑO-MARTÍNEZ, E., VARGAS-AYALA, G., SEGOVIA-GAMBOA, N. C., CAMPOS-PEÑA, V., RODRÍGUEZ-ARELLANO, M. E., MERAZ-RÍOS, M. A., & CAMPOS-CAMPOS, S. F. (2020). Specific macrophage subsets accumulate in human subcutaneous and omental fat depots during obesity. *Immunology and Cell Biology*, 98(10), 868–882.
- GUO, H., JIN, D., & CHEN, X. (2014). Lipocalin 2 is a regulator of macrophage polarization and NF- κ B/STAT3 pathway activation. *Molecular Endocrinology*, 28(10), 1616–1628.
- HU, L., HE, F., HUANG, M., PENG, M., ZHOU, Z., LIU, F., & DAI, Y.-S. (2018). NFATc3 deficiency reduces the classical activation of adipose tissue macrophages. *Journal of Molecular Endocrinology*, 61(3), 79–89.
- JING, Y., WU, F., LI, D., YANG, L., LI, Q., & LI, R. (2018). Metformin improves obesity-associated inflammation by altering macrophages polarization. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 461, 256–264.
- LENG, J., CHEN, M., ZHOU, Z., LU, Y., WEN, X., & YANG, J. (2017). Triterpenoids-

- Enriched Extract from the Aerial Parts of *Salvia miltiorrhiza* Regulates Macrophage Polarization and Ameliorates Insulin Resistance in High-Fat Fed Mice. *Phytotherapy Research*, 31(1), 100–107.
- LIDDLE, D. M., KAVANAGH, M. E., WRIGHT, A. J., & ROBINSON, L. E. (2020). Apple Flavonols Mitigate Adipocyte Inflammation and Promote Angiogenic Factors in LPS-and Cobalt Chloride-Stimulated Adipocytes, in Part by a Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ -Dependent Mechanism. *Nutrients*, 12(5), 1386.
- LIU, K., ZHAO, E., ILYAS, G., LALAZAR, G., LIN, Y., HASEEB, M., TANAKA, K. E., & CZAJA, M. J. (2015). Impaired macrophage autophagy increases the immune response in obese mice by promoting proinflammatory macrophage polarization. *Autophagy*, 11(2), 271–284.
- LUAN, B., YOON, Y.-S., LE LAY, J., KAESTNER, K. H., HEDRICK, S., & MONTMINY, M. (2015). CREB pathway links PGE2 signaling with macrophage polarization. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(51), 15642–15647.
- MASOODI, M., KUDA, O., ROSSMEISL, M., FLACHS, P., & KOPECKY, J. (2015). Lipid signaling in adipose tissue: Connecting inflammation & metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1851(4), 503–518.
- PARDO, V., GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, Á., GUIJAS, C., BALSINDE, J., & VALVERDE, Á. M. (2015). Opposite cross-talk by oleate and palmitate on insulin signaling in hepatocytes through macrophage activation. *Journal of Biological Chemistry*, 290(18), 11663–11677.
- PARK, Y. S., UDDIN, M. J., PIAO, L., HWANG, I., LEE, J. H., & HA, H. (2016). Novel role of endogenous catalase in macrophage polarization in adipose tissue. *Mediators of Inflammation*, 2016.
- PERIYALIL, H. A., GIBSON, P. G., & WOOD, L. G. (2013). *Immunometabolism in obese asthmatics: are we there yet?* *Nutrients* 5, 3506–3530.
- SHAN, B., WANG, X., WU, Y., XU, C., XIA, Z., DAI, J., SHAO, M., ZHAO, F., HE, S., & YANG, L. (2017). The metabolic ER stress sensor IRE1 α suppresses alternative activation of macrophages and impairs energy expenditure in obesity. *Nature*

Immunology, 18(5), 519–529.

- SON, M., OH, S., CHOI, J., JANG, J. T., CHOI, C. H., PARK, K. Y., SON, K. H., & BYUN, K. (2019). Attenuation of inflammation and leptin resistance by pyrogallol-phloroglucinol-6, 6-bieckol on in the brain of obese animal models. *Nutrients*, 11(11), 2773.
- TATEYA, S., KIM, F., & TAMORI, Y. (2013). Recent advances in obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Frontiers in Endocrinology*, 4, 93.
- WANG, X., CAO, Q., YU, L., SHI, H., XUE, B., & SHI, H. (2016). Epigenetic regulation of macrophage polarization and inflammation by DNA methylation in obesity. *JCI Insight*, 1(19).
- WENSVEEN, F. M., VALENTIĆ, S., ŠESTAN, M., TURK WENSVEEN, T., & POLIĆ, B. (2015). The “Big Bang” in obese fat: Events initiating obesity-induced adipose tissue inflammation. *European Journal of Immunology*, 45(9), 2446–2456.
- YASUI-KATO, M., PATLADA, S., YOKODE, M., KAMEI, K., & MINAMI, M. (2020). EP4 signalling is essential for controlling islet inflammation by causing a shift in macrophage polarization in obesity/type 2 diabetes. *Diabetes and Vascular Disease Research*, 17(4), 1479164120945675.
- YASUI, M., TAMURA, Y., MINAMI, M., HIGUCHI, S., FUJIKAWA, R., IKEDO, T., NAGATA, M., ARAI, H., MURAYAMA, T., & YOKODE, M. (2015). The prostaglandin E2 receptor EP4 regulates obesity-related inflammation and insulin sensitivity. *PLoS One*, 10(8), e0136304.
- YOON, J., UM, H.-N., JANG, J., BAE, Y.-A., PARK, W.-J., KIM, H. J., YOON, M.-S., CHUNG, I. Y., & JUNG, Y. (2019). Eosinophil activation by Toll-like receptor 4 ligands regulates macrophage polarization. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 7, 329.
- YUAN, C., LIU, C., WANG, T., HE, Y., ZHOU, Z., DUN, Y., ZHAO, H., REN, D., WANG, J., & ZHANG, C. (2017). Chikusetsu saponin IVa ameliorates high fat diet-induced inflammation in adipose tissue of mice through inhibition of NLRP3 inflammasome activation and NF-κB signaling. *Oncotarget*, 8(19), 31023.

- ZHANG, H., XUE, R., ZHU, S., FU, S., CHEN, Z., ZHOU, R., TIAN, Z., & BAI, L. (2018). M2-specific reduction of CD1d switches NKT cell-mediated immune responses and triggers metaflammation in adipose tissue. *Cellular & Molecular Immunology*, 15(5), 506–517.
- ZHANG, M., SHENG, S., ZHANG, W., ZHANG, J., ZHANG, Z., ZHANG, M., HATCH, G. M., & CHEN, L. (2018). MiR27a Promotes the Development of Macrophage-like Characteristics in 3T3-L1 Preadipocytes. *International Journal of Biological Sciences*, 14(11), 1599.
- ZHANG, S. X. L., KHALYFA, A., WANG, Y., CARRERAS, A., HAKIM, F., NEEL, B. A., BRADY, M. J., QIAO, Z., HIROTSU, C., & GOZAL, D. (2014). Sleep fragmentation promotes NADPH oxidase 2-mediated adipose tissue inflammation leading to insulin resistance in mice. *International Journal of Obesity*, 38(4), 619–624.
- ZHANG, Y., MEI, H., CHANG, X., CHEN, F., ZHU, Y., & HAN, X. (2016). Adipocyte-derived microvesicles from obese mice induce M1 macrophage phenotype through secreted miR-155. *Journal of Molecular Cell Biology*, 8(6), 505–517.
- ZHAO, L., KANG, I., FANG, X., WANG, W., LEE, M. A., HOLLINS, R. R., MARSHALL, M. R., & CHUNG, S. (2015). Gamma-tocotrienol attenuates high-fat diet-induced obesity and insulin resistance by inhibiting adipose inflammation and M1 macrophage recruitment. *International Journal of Obesity*, 39(3), 438–446.
- ZHUANG, G., MENG, C., GUO, X., CHERUKU, P. S., SHI, L., XU, H., LI, H., WANG, G., EVANS, A. R., & SAFE, S. (2012). A novel regulator of macrophage activation: miR-223 in obesity-associated adipose tissue inflammation. *Circulation*, 125(23), 2892–2903.