

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y MEDICINA MOLECULAR



**EVALUACIÓN DEL AYUNO INTERMITENTE EN LA MODULACIÓN DE LA
NEUROINFLAMACIÓN Y ACTIVIDAD DE LA MICROGLÍA EN UN MODELO DE
CONDUCTA SEMEJANTE AL AUTISMO EN RATONES**

TESIS

**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTORADO EN CIENCIAS
CON ORIENTACIÓN EN BIOLOGÍA MOLECULAR E INGENIERÍA GENÉTICA.**

PRESENTA

M.C. Martín Gerardo García Juárez

MONTERREY, NUEVO LEÓN. A AGOSTO DE 2024.

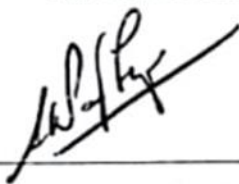
**EVALUACIÓN DEL AYUNO INTERMITENTE EN LA MODULACIÓN DE LA
NEUROINFLAMACIÓN Y ACTIVIDAD DE LA MICROGLÍA EN UN MODELO DE
CONDUCTA SEMEJANTE AL AUTISMO EN RATONES**

Comité de Tesis



Dr. C. Alberto Camacho Morales

Director de tesis



Dr. C. Antonio Ali Pérez Maya

Codirector de tesis



Dra. C. Elsa Nancy Garza Treviño

Miembro de la comisión



Dra. C. Marisela García Hernández

Miembro de la comisión



Dr. C. José Francisco Islas Cisneros

Miembro de la comisión



Dr. med. Felipe Arturo Morales Martínez

Subdirector de estudios de posgrado

AGRADECIMIENTOS

Primero que a nadie; a mis padres y mi hermana por su apoyo emocional, incondicional y económico, ya que gracias a ellos he logrado lo que tengo.

A mi comité de tesis por todas sus aportaciones: **Dr. Camacho** por el proyecto, **Dr. Ali** por estar siempre al pendiente, **Dra. Marisela** por su apoyo, **Dr. Francisco y Dra. Elsa** por sus aportaciones y correcciones. Y como apartado especial a la **Dra. Elvira** por ser un modelo para seguir como persona, investigadora y docente. **Dra. Carmen**, nunca olvidaré sus pláticas y aprecio.

Al **Dr. Octavio** por su ayuda y colaboración con la UNAM.

A mis amigos de Neurometabolismo: **Dr. Roger**, que fue quien me enseñó todo en el laboratorio. **Dra. Larisa**, su gran amistad, **Dr. Luis** por su apoyo en todo lo de estadística, al **MC. Alfredo** por los buenos ratos, **Dr. Daniel**, obviamente a la **LBG. Adamary** y **MCP. César** y futuro neurocirujano, por todo su apoyo académico y personal.

A mis amigos de CIIViM: **Dra. Cynthia**, **MCP. Ali**, **MCP. Julio**, **Dr. Kame**, **Dra. Sonia**, **Dr. Daniel**, **MC Verito**, futura **QCB. Ilse**, **M.C Daniel**.

A mis amigos de la vida, porque sin ellos no la armaba: **Bena**, **Omar**, **Servando**, **Rulo**, **Saúl**, **Hiram**, **David (Honduras)**, **Ernesto**.

A los profesores que me motivaron a hacer el doctorado:

Dra. Carolina Martínez, **Dra. Diana Zarate** y **Dr. Moisés Franco** de Facultad de Ciencias Biológicas

Dr. Pablo Villareal y **Dr. José Gonzáles Salinas** (q.e.p.d) de Facultad de Veterinaria

Y sobre todo estos agradecimientos muy especiales a tres personas que le dieron sentido a todo esto:

Dra. Ana María: gracias por todo su apoyo, por haberme motivado, inspirado y no dejar que me rindiera.

Dra. Tania: mi mejor amiga, la compañera de todo el doctorado, con quien nunca dejé de reír.

Dra. Blanca E. A: por muchas razones, por enseñarme todo lo que sé de bioquímica, por enamorarme de la docencia, de las ganas de enseñar, por mostrarme que es lo que quiero hacer toda la vida.

Por último y más especial a mi **Lisa**, que no entiende ni sabe que dice aquí, pero que sin ella ni siquiera tendría ganas de despertar.

DEDICATORIA

Para mi padre, mi madre y mi hermana.

Para Lisa.

Para mis abuelos.

Para mis amigos del laboratorio: Tania, Cynthia, Vero, Ali, Julio, Adamary, César, Alfredo.

Para mis amigos: Bena, Omar, Saúl, Ernesto, Hiram, David (Honduras), Roger (Mi mentor), Larisa.

Para mis profesores: Dra. Blanca, Dra. Ana, Dra. Marisela, Dr. Ali, Dr. Kame, Dra., Sonia

Para mis Rayados.

FINACIAMIENTO

El financiamiento para desarrollar el presente trabajo se obtuvo del CONAHCYT, como parte de los proyectos Fondo Ciencia Básica 261420 y 255317. Además de la obtención de beca de doctorado del CONACYT para Martín Gerardo García Juárez CVU. 631654

Este trabajo de investigación se llevó a cabo gracias al apoyo económico y de infraestructura del Departamento de Bioquímica y Medicina Molecular de la Facultad de Medicina de la UANL.

ÁREA DE TRABAJO

El presente trabajo se llevó a cabo en el Departamento de Bioquímica y Medicina Molecular de la Facultad de Medicina de la UANL y el Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud (CIDICS), UANL bajo la dirección del Dr. C. Alberto Camacho Morales. Para los análisis del Beta-hidroxibutirato (BHB) se emplearon instalaciones del Laboratorio de Fisiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México y Departamento de Fisiología de la Nutrición, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

Contenido

AGRADECIMIENTOS	1
DEDICATORIA	3
FINACIAMIENTO	4
ÁREA DE TRABAJO	5
ÍNDICE DE TABLAS	10
ÍNDICE DE FIGURAS.....	11
NOMENCLATURA	14
RESUMEN	¡Error! Marcador no definido.
ABSTRACT.....	¡Error! Marcador no definido.
1. INTRODUCCIÓN	18
2. ANTECEDENTES	21
2.1 Trastorno del espectro Autista	21
2.1.1 Regiones del Sistema Nervioso implicadas en las características conductuales de sujetos con TEA.....	25
2.1.1.1 Implicaciones de la Corteza en sujetos con TEA y modelos animales con conducta semejante al TEA.....	25
2.1.1.1.1 Sulco superior temporal	26
2.1.1.1.2 Corteza orbitofrontal	27
2.1.1.1.3 Corteza cingulada: anterior y posterior	28
2.1.1.1.4 Corteza Retroesplénica	30
2.1.1.1.5 Sistema somatosensorial	31
2.1.1.2 Regiones subcorticales.....	32
2.1.1.2.1 Amígdala.....	33
2.1.1.2.2 Hipocampo.....	34
2.1.1.3 Plexo Coroideo.....	35
2.1.1.4 Cerebelo	36
2.2 Alteraciones estructurales del cerebro en el TEA	37

2.2.1 Alteraciones estructurales del cerebro de modelos animales de conducta semejante al TEA .	40
2.2.2 Alteraciones en la conectividad del cerebro en el TEA	40
2.2.3 Alteraciones en la morfología neuronal en sujetos con TEA.....	42
2.3 Etiología.....	43
2.3.1 Factores heredables	43
2.3.1.1 Genética	43
2.3.1.2 Epigenética.....	44
2.3.1.3 Teoría de la disfunción de neurotransmisores en el TEA	44
2.3.1.3.1 Dopamina.....	45
2.3.1.3.2 GABA/Glutamato	46
2.3.1.4 Teoría de la respuesta inflamatoria y Neuroinflamación	47
2.4 Respuesta Inflamatoria.....	48
2.4.1 Respuesta Inflamatoria sistémica aguda	48
2.4.2 Respuesta Inflamatoria sistémica crónica	50
2.4.3 Moléculas inmunomoduladores durante la respuesta inflamatoria	52
2.4.3.1 Las citocinas regulan la respuesta inflamatoria.	57
2.4.4 Acoplamiento metabólico durante la respuesta inflamatoria	59
2.4.5 Respuesta inflamatoria periférica en la enfermedad psiquiátrica y el TEA	61
2.5 Neuroinflamación	62
2.5.1 Inmunidad del Sistema Nervioso	62
2.5.2 Microglía: célula involucrada en la coordinación del sistema inmune cerebral	64
2.5.3 Acoplamiento metabólico en la actividad de la microglía durante la neuroinflamación	66
2.5.3.1 Microglía de fenotipo proinflamatorio M1 y Microglía patogénica utiliza la vía glucolítica	66
2.5.3.2 Microglía de fenotipo reparador M2 emplea la vía de oxidación de ácidos grasos y fosforilación oxidativa	68
2.6 Neuroinflamación en el TEA	70
2.6.1 Neuroinflamación por dieta es mediada por JNK.....	72
2.7 Programación Materna.....	74

2.7.1 Dieta densamente calórica durante la gestación y su impacto en el desarrollo de fenotipos aberrantes en la descendencia	77
2.8 Alternativas farmacológicas y no farmacológicas para el TEA.....	79
2.8.1 Moduladores de la respuesta inflamatoria no farmacológica como alternativa para el tratamiento de TAE.....	80
2.8.1.2 Ayuno intermitente como estrategia no farmacológica en el control del TEA.....	80
2.8.1.2.1 Metabolismo de la glucosa y ácidos grasos durante la alimentación	81
2.8.1.2.2 Metabolismo de la glucosa y ácidos grasos durante el ayuno intermitente.....	81
2.8 Microglía y empleo de cuerpos cetónicos.....	83
2.9 Efecto del ayuno intermitente en el TEA.....	84
3. Justificación	85
4. Hipótesis	86
5. Objetivos.....	87
5.1 Objetivo general.....	87
5.1.1 Objetivos específicos	87
6. Materiales y métodos	88
6.1 Metodología objetivo específico 1.....	88
6.2 Metodología objetivo específico 2.....	88
6.3 Metodología objetivo específico 3.....	88
6.4 Metodología objetivo específico 4.....	89
6.5 Esquema general	89
6.2 Material de Laboratorio	89
6.3 Animales y alojamiento	93
6.4 Elaboración de las dietas.....	93
6.5 Modelo de programación materna en la descendencia	94
6.6 Protocolo de ayuno de día alterno (AIDA) en la descendencia	95
6.7 Medición del peso corporal.....	96
6.8 Evaluación de la conducta semejante al TEA.....	96
6.8.1 Prueba de entierro de canicas (marble burying).....	96

6.8.2 Campo abierto (Open Field Test).....	97
6.8.3 Prueba de sociabilidad de 3 cámaras (Three-Chamber Test).....	98
6.9 Análisis de infiltración de células inmunes en el cerebro de la descendencia	99
6.9.1 Disección del tejido cerebral y recolección de sangre	99
6.9.2 Recuperación de células y digestión enzimática	99
6.9.3 Aislamiento de la Microglía y células inmunes mediante gradiente de Percoll.....	99
6.9.4 Análisis de citometría de flujo de la microglía y células inmunes.....	100
6.10 Cuantificación del BHB.....	100
6.11 Extracción de proteínas, SDS/PAGE e inmunotransferencia	101
6.12 Análisis de la morfología de la microglía en el cerebro de la descendencia por inmunohistoquímica.....	102
6.12.1 Perfusión intracardiaca.....	102
6.12.2 Inmunohistoquímica.....	102
6.12.3 Análisis morfológico de la microglía.....	103
6.13 Modelos biológicos.....	103
6.14 Análisis estadístico.....	103
7. Resultados	105
7.1 AIDA modula el peso corporal y promueve la producción de cuerpos cetónicos.	105
7.2 AIDA mejora la producción de cuerpos cetónicos	106
7.3 AIDA mejora la sociabilidad en la descendencia	107
7.4 La AIDA aumenta la población de microglías CD206+ en la CP de los individuos de control	109
7.5 La AIDA aumenta la microglía en regiones cerebrales asociadas con la interacción social	112
7.6 AIDA disminuyó la señalización de Bip/ATF6/p-JNK en el cerebro.....	114
7.7 AIDA modula cambios en la morfología de microglía de Cx y Hpp.....	116
7.8 El Modelado Biológico Asocia el Ayuno Intermitente y la programación materna con las Interacciones Sociales y variables en la Corteza y el Hipocampo.	118
8. Discusión.....	131
9. Conclusiones.....	137
10. Bibliografía	138

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Clasificación de la severidad del trastorno del espectro autista.	22
Tabla 2. Componentes asociados a las respuestas mediadas por DAMPS y SAMPS	48
Tabla 3. Principales células del sistema inmune que montan la respuesta inflamatoria.	53
Tabla 4. Principales citocinas involucradas en la respuesta inflamatoria	57
Tabla 5. Principales citocinas en sistema nervioso de pacientes con TEA.	71
Tabla 6. Principales tratamientos farmacológico del TEA	79
Tabla 7. Material Biológico y No biológico	89
Tabla 8. Composición de la dieta de cafetería (CAF)	93
Tabla 9. Resultados del análisis de ANOVA dos vías para programación materna con dieta CAF y Ayuno Intermitente de día alterno correspondiente a Figura 38.	121
Tabla 10. Resultados del análisis de ANOVA dos vías para programación materna con dieta CAF y Ayuno Intermitente de día alterno correspondiente a Figura 39.	123
Tabla 11. Resultados del análisis de ANOVA dos vías para programación materna con dieta CAF y Ayuno Intermitente de día alterno correspondiente a Figura 40 y 41.	123
Tabla 12. Resultados del análisis de ANOVA dos vías para programación materna con dieta CAF y Ayuno Intermitente de día alterno correspondiente a Figura 42.	125
Tabla 13. Resultados del análisis de ANOVA dos vías para programación materna con dieta CAF y Ayuno Intermitente de día alterno correspondiente a Figura 43.	126

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Criterios de evaluación del Trastorno del Espectro Autista de acuerdo con el DMSV.	24
Figura 2. Estructuras de la corteza cerebral asociadas con deficiencias del lenguaje y deficiencias motoras en niños con TEA.	26
Figura 3. Anatomía del sulco superior temporal.	27
Figura 4. Región de la corteza orbitofrontal en humanos y ratones.	28
Figura 5. Corteza cingulada anterior (anterior cingulate cortex) y corteza posterior cingulada (posterior cingulate cortex).	28
Figura 6. Anatomía comparada de las regiones anatómicas involucradas en el TEA	28
Figura 7. Comparación anatómica de la corteza retrosplenial (RSC) de humanos y primates no humanos, ratas y ratones.	31
Figura 8. Comparación del homúnculo de ratón y humano	32
Figura 9. Estructura anatómica compara de la amígdala humana y murina	33
Figura 10. Estructura del hipocampo de roedor	35
Figura 11. Plexo Coroideo	36
Figura 12. Anatomía del Cerebelo.	37
Figura 13. Regiones con alteraciones estructurales en el sujeto autista.	38
Figura 14. Diferencias anatómicas del cerebro del sujeto TEA con una escala del tamaño del efecto d de Cohen.	39
Figura 15. Relación entre la conectividad de regiones cerebrales en el paciente TEA	41
Figura 16. Comparación de la conectividad mesolímbica	46

Figura 17. Respuesta inflamatoria aguda	50
Figura 18. Subpoblaciones de linfocitos T CD4.	51
Figura 19. Componentes del sistema inmunológico.	61
Figura 20. Principales rutas metabólicas en linfocitos durante la respuesta inflamatoria.	60
Figura 21. Similitudes y diferencias entre la respuesta inmune en cerebro y periférica.	62
Figura 22. Las células dendríticas (DC) son células derivadas de la médula ósea que actúan como centinelas en las meninges.	64
Figura 23. Clasificación de la Microglía de acuerdo a marcadores de superficie en fenotipo M1 o M2	65
Figura 24. Metabolismo de la microglía.	67
Figura 25. Acumulación de lípidos en la Microglía con perfil inflamatorio.	69
Figura 26. Papel de la microglía y los astrocitos en condiciones fisiológicas y sujetos con TEA.	71
Figura 27. Activación de la vía inflamatoria BIP/ATF6/JNK durante el estrés en retículo (ER stress).	74
Figura 28. Programación materna o hipótesis de Barker.	76
Figura 29. Estrés nutricional y efectos en la progenie.	78
Figura 30. Cambios metabólicos inducidos por el ayuno intermitente	83
Figura 31. Esquema general de trabajo para la realización de los objetivos de tesis	89
Figura 32. Esquema general de programación materna con dieta CAF durante 9 semanas.	95
Figura 33. Esquema general de protocolo de Ayuno Intermitente de Día Alterno	95
Figura 34. Fundamento de prueba de entierro de canicas para evaluación de la conducta repetitiva.	97

Figura 35. Fundamento de prueba de campo abierto para evaluación de la conducta ansiosa	97
Figura 36. Fundamento de prueba de sociabilidad en 3 cámaras para evaluación de la conducta antisocial.	98
Figura 37. Evaluación del peso corporal en progeñe de hembras alimentadas con dieta Control y CAF.	106
Figura 38. El ayuno modula el peso corporal y promueve la producción de Betahidroxibutirato (BHB).	108
Figura 39. El ayuno revierte los comportamientos sociales y de ansiedad.	109
Figura 40. El ayuno intermitente y la programación materna modulan el perfil inmune en plexo coroideo.	112
Figura 41. El ayuno intermitente modula el perfil inmunitario en regiones cerebrales asociadas a la sociabilidad.	114
Figura 42. El ayuno intermitente atenúa el estrés ER y la señalización JNK en la descendencia expuesta a la dieta CAF.	115
Figura 43. El ayuno intermitente modula la morfología de la microglía en las regiones de la corteza y del hipocampo.	117
Figura 44. Modelos de asociación entre el ayuno intermitente y la programación materna con interacciones sociales y variables en la Corteza e Hipocampo	119
Figura 45. Modelos de asociación entre niveles de BHB en plasma y regiones cerebrales de los grupos de estudio.	120
Figura 46. Esquemas de los modelos biológicos.	121

NOMENCLATURA

ADF: Alternate Day Fasting

AIDA: Ayuno Intermitente de día alterno

ATF6: Activación del factor de transcripción 6

ASD: Autism spectrum disorder

BiP: Proteína de unión a inmunoglobulina

BHB: Betahidroxibutirato

C: Progenie control

CA: Campo abierto

CAF: Progenie de madres alimentadas con dieta de cafetería

CAF-AIDA: CAF tratado con ayuno intermitente de día alterno

C-AIDA: Control tratado con ayuno intermitente de día alterno

CP : Choroid plexus

CSF : Cerebrospinal fluid

Cx: Corteza

DSM-5: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders version 5

EC: Entierro de canicas

ER stress: Estrés en el retículo endoplásmico

GM-CSF: Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos

Hpp: Hipocampo

IF: Intermittent Fasting

JNK: quinasas c-Jun N-terminal

MB: Marble burying

OF: Open Field

OMS: organización mundial de la salud

PC : Plexo de la Coroideo

RSA: Corteza retroesplenial agranular

RSG: Corteza retroesplenial granular

SRC: Estrés de Restricción Crónica

St: Striatum o cuerpo estriado

TCS: Three-chamber sociability

TEA: Trastorno del espectro autista

Apo1: Apolipoprotein A1

TLR4: Toll-like receptor 4

TREM2: Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells 2

LDLR: Low-Density-Lipoprotein Receptor

LPL: Lipoprotein Lipase

ABCA1: ATP Binding Cassette Subfamily A Member 1

ABCG1: ATP Binding Cassette Subfamily G Member 1

PPAR (Peroxisome Proliferator Activated Receptors)

RESUMEN

El Trastorno del Espectro Autista (TEA) es un trastorno psiquiátrico caracterizado por comportamientos repetitivos, ansiedad, y una reducida interacción social, los cuales se han asociado con procesos de neuroinflamación y la activación de la microglía. En estudios previos, demostramos que la exposición a dietas occidentales o de cafetería (CAF), ricas en lípidos y carbohidratos, durante la gestación y lactancia (programación materna), induce un perfil proinflamatorio en plasma, activación de la microglía y comportamiento semejante al TEA en la progenie macho. Recientemente se ha evidenciado que el ayuno intermitente de día alterno (AIDA o ADF por sus siglas en inglés Alternate day-fasting) tiene efectos antiinflamatorios. Por ello, evaluamos el impacto del AIDA como una estrategia no farmacológica sobre la neuroinflamación y el comportamiento semejante al TEA en la progenie de madres expuestas a la dieta CAF. Nuestros resultados muestran que la programación materna no afectó los niveles de beta hidroxibutirato (BHB) en plasma, ni en la Corteza (Cx) ni en el Hipocampo (Hpp). Sin embargo, observamos que la progenie CAF + AIDA presentó resistencia a la pérdida de peso, una disminución en la conducta ansiosa, una mayor interacción social, un aumento de microglía CD206+ en el Hpp. Además, se observó que la microglía mostraba diferente complejidad dentro de la Cx (disminución en RSA, aumento en RSG) y estructuras del Hpp (aumento en CA1 y giro dentado). Así mismo, se observó una atenuación de la vía de estrés e inflamación ATF6/p-JNK la Cx y el Hpp. Por otro lado, en los individuos control el AIDA promovió la acumulación de células CD206+ en el plexo coroideo (PC), así como un aumento en los macrófagos CD45+ y linfocitos en la Cx, y acentuó la conducta ansiosa. Finalmente, el modelado biológico identificó que una mayor ramificación de microglía en la Cx y una menor complejidad de microglía en el giro dentado están asociadas con una mayor interacción social. Estos datos subrayan el potencial del ayuno intermitente como un estímulo fisiológico capaz de modular el fenotipo y la morfología de la microglía en el cerebro, promoviendo la sociabilidad en ratones macho.



Dr. C. Alberto Camacho Morales

Director de tesis

ABSTRACT

Autism spectrum disorder (ASD) is a psychiatric condition characterized by reduced social interaction, anxiety and stereotypic behaviors related to neuroinflammation and microglia activation. We demonstrated that maternal exposure to high-energy diets (cafeteria diet or CAF) induced microglia activation, systemic proinflammatory profile, and ASD-like behavior in the offspring. Here, we aimed to identify the effect of Alternate Day Fasting (ADF) as a non-pharmacologic strategy to modulate neuroinflammation and ASD-like behavior in the offspring prenatally exposed to CAF diet. We found that CAF offspring show weight loss resistance to ADF treatment. Also, we did not observe a maternal programming effect over plasma, Cortex (Cx) and Hippocampus (Hpp) levels of beta hydroxybutyrate (BHB). Prenatal exposure to CAF diet promoted defective sociability in the offspring, but notably, ADF improved social interaction, increase the CD206+ microglia cells in the Hpp, modulate microglia complexity in Cx (decrease in RSA, increase in RSG) and increase within Hpp structures such CA1 and dentate gyrus, and induce attenuation of inflammation and ER stress-mediated ATF6/p-JNK pathway in the Cx and Hpp. In control individuals, ADF promoted accumulation of CD206+ microglia cells in Choroid plexus (CP) and increased in CD45+ macrophages cells, lymphocytes in the Cx and promotes anxiety behavior. Finally, biological modeling identified that more ramification of microglia in the Cx and decreased microglia complexity in the dentate gyrus associates to major social interaction. These data highlight the contribution of intermittent fasting as a physiological stimulus capable of modulating microglia phenotype and morphology in the brain, promoting sociability in male mice.



Dr. C. Alberto Camacho Morales

Director de tesis

1. INTRODUCCIÓN

El trastorno del espectro autista (TEA) es una condición neuropsiquiátrica definida por el DSM-V como sujetos que se caracterizan por una conducta repetitiva, ansiosa, agresiva, que presentan un déficit de comunicación verbal y no verbal (Esler & Ruble, 2015). De acuerdo con cifras de la OMS el TEA afecta a 1 de cada 100 personas (Zeidan et al., 2022). Una de las principales etiologías del TEA propone que la inflamación en el cerebro durante el desarrollo embrionario es un evento clave para presentar la patología posterior al nacimiento (Madore et al., 2016). Ya que se ha reportado en pacientes (Xu et al., 2015), muestras post mortem y modelos animales de conducta semejante al TEA que existe a acumulación de una mayor población de células inmunes y citocinas de perfil inflamatorio en regiones cerebrales como corteza prefrontal e hipocampo, que se propone pueden modular la conducta del individuo (J. W. Kim et al., 2018; Siniscalco et al., 2018; Wei et al., 2013).

Esta actividad inflamatoria es mediada por la microglía, célula inmune residente del sistema nervioso, que ante estímulos inducidos por DAMPS o PAMPs adquiere un fenotipo proinflamatorio, históricamente conocido como M1, que se caracteriza por su activación y por la expresión de CD86, molécula de coactivadora de linfocitos. Previamente se creía que el TEA estaba mediado por un fenotipo M1 de la microglía, sin embargo, los mecanismos moleculares y celulares del TEA no han sido esclarecidos por completo, ya que se ha reportado que la microglía no inflamatoria o M2, la cual expresa moléculas como el receptor de manosa CD206, está involucrado en esta patología. Lo que resalta la importancia de determinar el fenotipo de la microglía que se encuentra involucrado en el desarrollo del TEA. En años recientes también se ha identificado una intrincada y cercana asociación de la respuesta inflamatoria en periferia y sistema nervioso a través de estructuras circo ventriculares como el plexo coroideo. Además, se ha demostrado que las células del sistema inmune como células NK, células dendríticas (DC), macrófagos perivasculares y microglía adoptan mecanismos moleculares para favorecer la polarización de pro (M1) a antiinflamatorio (M2) para responder y hacer frente a infecciones y daño externo (Harris, 2017).

Se ha demostrado que el consumo de dietas occidentales como la dieta de cafetería (CAF), las cuales se caracterizan por un alto contenido de lípidos, carbohidratos refinados y baja fibra exacerban la respuesta inflamatoria, y promueven patologías crónico-degenerativas (Rakhra

et al., 2020) y padecimientos mentales, tales como la depresión mayor, la ansiedad, tendencia al suicidio y el trastorno del espectro autista (TEA) (Zahedi et al., 2014). Mediante la activación de la señalización de estrés en retículo (ER-stress) y JNK (Vernia et al., 2013a). Sin embargo, este efecto proinflamatorio mediado por las dietas también se ha observado a través de la programación materna, un fenómeno que implica que todo factor estresante que afecte el metabolismo y fisiología durante el desarrollo fetal repercutirá sobre el metabolismo y fisiología en la etapa adulta. Evidencia experimental y epidemiológica ha demostrado que infecciones por virus, bacterias y hongos principalmente durante el último tercio de la gestación (citomegalovirus, herpes simplex y rubeola, varicela, e infecciones urinarias por *Cándida Vulvovaginitis* generan activación inmune materna y favorecen el desarrollo del TEA (Zerbo et al., 2015).

El mecanismo de cómo la ingesta de dieta occidental durante la gestación modula la respuesta de la microglía y células inmunes en el sistema nervioso y en la de los sujetos susceptibles al TEA no ha sido determinada. Estudios previos demostraron que la ingesta de estas dietas CAF durante la gestación (programación fetal) y lactancia (programación neonatal), o programación materna (cuando incluye ambas etapas) (Faa et al., 2024), provoca que la descendencia presente alteraciones metabólicas, fisiológicas y estructurales asociadas a trastornos psiquiátricos en etapas tempranas de la vida como depresión, ansiedad (Cruz-carrillo et al., 2020) y conducta semejante al TEA a través de la activación de la microglía y el aumento de la quimiocina atrayente de macrófagos MCP1, demostrando que la dieta CAF promueve un perfil proinflamatorio en la progenie de hembras programadas (Maldonado-Ruiz et al., 2022b)

Por ello se evaluará el efecto de la programación materna con dietas de cafetería en la progenie a través del análisis del perfil inmune, vías de estrés e inflamación, y la morfología de la microglía en regiones cerebrales asociadas al TEA, mediante una batería de pruebas conductuales que emulan la conducta observada en los sujetos con TEA. Además, desconocemos si el fenotipo y activación de la microglía y perfil inmune puede modularse a través de estrategias no farmacológicas.

Por lo anterior, en este proyecto se propone el empleo de un protocolo de ayuno intermitente que consiste en periodos de 24 horas de restricción alimenticia seguidos de 24 horas de alimentación llamado Ayuno Intermitente de Día Alterno (AIDA) el cual se ha demostrado favorece la pérdida de peso (Welton, Minty, O'Driscoll, et al., 2020), el aumento de la

producción de cuerpos cetónicos, y modula el perfil inflamatorio favoreciendo la polarización de la microglía (Y. Zhang et al., 2023a). Esto será relevante para generar conocimiento de las bases moleculares de la programación inmunometabólica durante la etapa gestacional y su implicación en el desarrollo de alteraciones conductuales incluidas en sujetos con TEA (Chung & Son, 2020)(Moskowitz & Heim, 2011)(Chung & Son, 2020)(Moskowitz & Heim, 2011).

2. ANTECEDENTES

2.1 Trastorno del espectro Autista

El Trastorno del Espectro Autista (TEA) es una condición psiquiátrica definida por el DSM-5 (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders version 5*) por sujetos con un déficit de comunicación verbal y no verbal con limitada interacción social, quienes se caracterizan por ser individuos que presentan una conducta repetitiva, agresiva, ansiosa y falta de sociabilidad (Lord et al., 2020). La manifestación de esta conducta puede estar asociada a otras condiciones mentales como la depresión y enfermedades neurológicas como la epilepsia (Besag, 2018). Históricamente los signos clínicos de la enfermedad han ido cambiando. El concepto de autismo o “Vida interior” fue definido en 1911 por el médico psiquiatra Eugen Bleuler como un síntoma severo de esquizofrenia, el cual se asociaba a un deseo infantilizado de evitar realidades insatisfactorias y reemplazarlas con fantasías y alucinaciones (Moskowitz & Heim, 2011). No fue hasta 1943 que el psiquiatra austriaco Leo Kanner publicó la primera descripción sistemática de un paciente de 5 años llamado Donald Gray Triplett III, el cual presentaba una conducta agresiva, con déficit de atención, conducta repetitiva. Lo que estableció los primeros criterios de un autismo clásico (Kanner, 1968; Mandy, 2023). El significado de la palabra 'autismo' experimentó un cambio radical a principios de la década de 1960 en Reino Unido, debido al incremento de estudios epidemiológicos y estadísticos, en la psiquiatría y psicología infantil por personajes como Jean Piaget, Lauretta Bender, Leo Kanner, Elwyn James Anthony, Victor Lotter y Michael Rutter (Evans, 2013). El DMS-4 solía indicar que el autismo presentaba síntomas de sociabilidad, lenguaje y aprendizaje más severos que el síndrome de Asperger, en donde por lo general se suele integrar a síntomas moderados de sociabilidad. Sin embargo en 2013 el DSM-5 eliminó las subclasificaciones de la conducta Autista; como síndrome de Asperger, trastorno generalizado del desarrollo no especificado (TGD-NE) y trastorno desintegrativo de la infancia o síndrome de Heller y los unificó como TEA (Gamlin, 2017) en un espectro que va de un grado funcional de conductas atípicas a un grado severo (**Figura 1**) que se involucra la pérdida de la comunicación visual, no verbal, percepción, retraso en las destrezas del lenguaje, movimiento, aprendizaje (Chung & Son, 2020). En la **Tabla 1** se resumen los criterios de diagnóstico para el trastorno del espectro autista de acuerdo con

el DSM 5 y de defectos congénitos y discapacidades del desarrollo (NCBDDD) (Carpenter, 2013).

Tabla 1. Clasificación de la severidad del trastorno del espectro autista de acuerdo al DSM5.

<i>Criterios de Grado 1</i>	<i>Grado 2</i>	<i>Grado 3</i>
<i>Criterios diagnósticos DSM5</i>		
<i>Déficit persistentes en la comunicación social, en la interacción social a través de múltiples contextos como los siguientes</i>	Déficit en la reciprocidad social-emocional. Falla en el establecimiento de conversaciones y Reducido interés afectivo.	Déficit de la comunicación no verbal. Pobre integración verbal de la comunicación y el contacto visual. Pérdida de la interpretación de expresiones visuales
		Déficit en el desarrollo, mantenimiento y en la interpretación de las interacciones. Dificultades para entender contexto social, mantener vínculos afectivos y ausencia de interacción emocional. Discapacidad intelectual y déficit de aprendizaje.
<i>Patrones repetitivos del comportamiento, intereses y actividades.</i>	Patrones repetitivos del movimiento y del habla.	Patrones y actitudes insistentes, inflexible, y establecimiento de rutinas, rituales y costumbres alimenticias. Intolerancia al cambio.
		Angustia y preocupación inusual. Hiperactividad o hipoactividad. Exceso de estímulo sensorial. Incapacidad de adaptación.

Requiere apoyo.	Requiere apoyo substancial.	Depende del apoyo.
-----------------	-----------------------------	--------------------

Los reportes epidemiológicos de la distribución mundial del TEA son poco precisos debido a múltiples factores como la ambigüedad del diagnóstico, falta de información, y escasos estudios epidemiológicos el sector salud de muchos países en vías de desarrollo. En Estados Unidos las cifras de prevalencia han ido en aumento de forma alarmante. En el año 2000 el ADDM (autism and Developmental Deshabilites Monitoring) reportó que 1 de cada 150 sujetos presentaba algún grado de TEA, mientras que para el 2010 esta cifra alcanzó el número de 1 en 68 sujetos, en 2018 las cifras mostraban que la prevalencia era de 1 en 59, en 2020 fue de 1 en 54, en 2023 de 1 en 45 y de acuerdo con Centers for Disease Control and Prevention para 2024 muestran que 1 en 35 sujetos. A nivel mundial los datos son menos precisos ya que muchos países no cuentan con la infraestructura ni logística para las evaluaciones pertinentes. En 2012 se presentaba 1 en cada 166 casos (62-70 casos por cada 10,000 personas, es decir, un aproximado entre el 0.62-1% de la población total (70, 000 millones / 7000 millones) (Elsabbagh et al., 2012). Esta tendencia se ha mantenido para el 2020 de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, ya que estima que 0.62% (50,000,000/8000,000,000), es decir, 1 de cada 160 sujetos presentan algún grado asociado al TEA. Para 2022 esta cifra aumentó a nivel mundial de 1 de cada 100 (Zeidan et al., 2022). En nuestro país los datos varían ya que no existe un registro constante y un sub diagnóstico del TEA. Un estudio de 2014 estima que 1 en 1000 habitantes presenta un grado asociado al TEA (Oro et al., 2014), mientras que, en 2016, un reporte realizado en el estado de Guanajuato estimó que 1 de cada 115 sujetos, es decir 400 mil niños en México presentan algún grado del TEA (Fombonne et al., 2016). En el 2019 el INEGI reportó al Senado de la República (LXIV/1SPO-114-2418/92527) que existen alrededor de 45 mil niños diagnosticados en México. El dato más reciente es en 2020 donde se mencionan los 45 mil niños con estado alterado de la salud mental. Sin embargo, el estado alterado de salud mental incluye padecimientos como autismo, síndrome de Down, esquizofrenia, retraso mental (leve o grave) (Instituto Nacional de Estadística y Geografía, 2020).

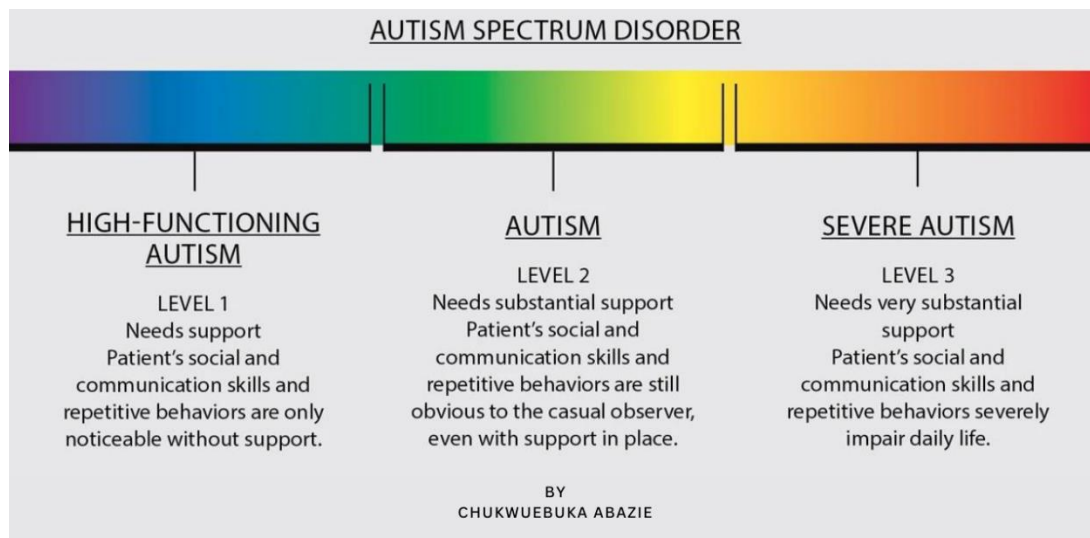


Figura 1. Criterios de evaluación del Trastorno del Espectro Autista de acuerdo con el DMSV. Autism Spectrum Disorder & Consciousness Therapy by Chukwuebuka Abazie

(Alaerts et al., 2016; Di & Biswal, 2016; W. Zhang et al., 2018)(Alaerts et al., 2016; Di & Biswal, 2016; W. Zhang et al., 2018)Esta condición es diagnosticada principalmente en hombres en una relación general de 3:1 (Loomes et al., 2017) Sin embargo existe un umbral dependiendo del grado. Se han reportado relaciones de 7:1 en signos funcionales del espectro (grado 1), 4:1 en signos moderados (grado 2), y 2:1 en signos severos (grado 3) (Nag et al., 2018; Y. Zhang et al., 2020). Además de que la detección temprana en hombres es asociada a que estos presentan una menor interacción social en etapas tempranas y que las mujeres tienden a presentar una mayor interacción social y déficit cognitivo, por lo que pueden ser subdiagnosticadas (Ratto et al., 2018; Y. Zhang et al., 2020). Estas diferencias entre hombres y mujeres se relacionan con factores genéticos (mayor tasa de mutaciones sin sentido y genes con pérdida de la función en pacientes de sexo femenino con TEA. Sin embargo, no se encuentran alteraciones conductuales, lo que fortalece la teoría de una protección en mujeres (Y. Zhang et al., 2020). Esta teoría de protección en mujeres está basada en factores endócrinos (Geschwind., 2014), metabólicos, conectividad y estructura anatómica cerebral (mujeres presentan un incremento en el volumen de la materia blanca del lóbulo temporal, corteza cerebral, corteza cingulada, lóbulo parietal, reducción en la materia gris celebrar (Alaerts et al., 2016; Di & Biswal, 2016; W. Zhang et al., 2018). Estos variables presentes en mujeres con TEA se han observado en hembras de modelos animales (K. C. Kim et al., 2017)(S. J. Jeon et al., 2018). Por lo que nosotros evaluaremos en este estudio el efecto sobre la progenie macho.

A continuación, se describirán a detalle algunas de las regiones cerebrales asociadas a la sociabilidad.

2.1.1 Regiones del Sistema Nervioso implicadas en las características conductuales de sujetos con TEA

Con base en los análisis de la función y estructura cerebral en los sujetos con TEA, se han reportado las siguientes regiones anatómicas como importantes determinantes en el desarrollo de las manifestaciones conductuales como la corteza (Cx), cuerpo estriado (ST) hipocampo (Hpp) y plexo corioideo (CP).

2.1.1.1 Implicaciones de la Corteza en sujetos con TEA y modelos animales con conducta semejante al TEA.

La corteza cerebral (Cx) es una estructura compuesta de diversas láminas de materia gris (somas neuronales) que cubren ambos hemisferios cerebrales, principalmente está formada por la neocorteza quien se divide en cuatro lóbulos: frontal, temporal, parietal y occipital. Korbinian Brodmann en 1909 dividió la neocorteza de acuerdo con la citoarquitectura en 51 áreas (Zilles, 2018) de las cuales algunas se han reportado asociadas al desarrollo o implicadas en la severidad del TEA como lo son: sulco superior temporal, orbitofrontal, cingulada anterior/posterior, área retroesplenial y somatosensorial (**Figura 2**).

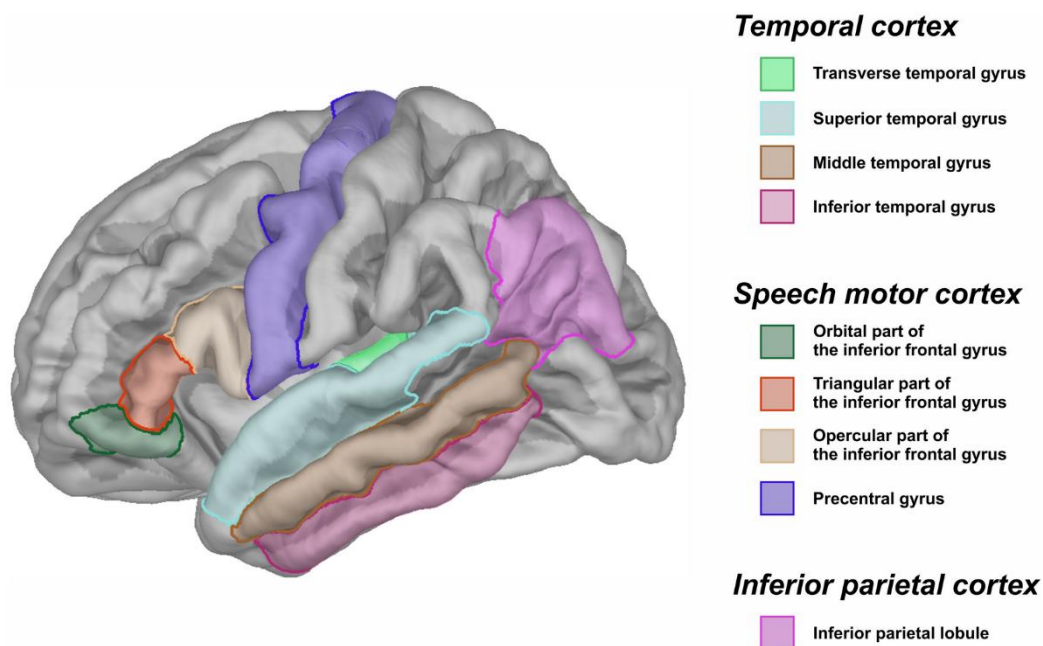


Figura 2. Estructuras de la corteza cerebral asociadas con deficiencias del lenguaje y deficiencias motoras en niños con TEA. Tomado de Arutiunian 2023 (Arutiunian et al., 2023) (Laramée & Boire, 2015)(Laramée & Boire, 2015)

2.1.1.1.1 Sulco superior temporal

El sulco superior temporal o superior temporal sulcus (STS) es el principal sulco de la corteza temporal externa (Ochiai et al., 2004). En humanos separa el giro superior temporal del giro temporal medial en el lóbulo temporal del cerebro (**Figura 3**). Es el primer sulco inferior de la fisura lateral, tiene una estructura asimétrica entre el hemisferio izquierdo y derecho, siendo más largo en el lado izquierdo, pero más profundo en el derecho en el humano (Leroy et al., 2015). El STS está relacionado con la respuesta a estímulos sociales (Haas et al., 2016), muestra una actividad incrementada al estímulo como voces, gestos y emociones. Además, se ha demostrado participa en la integración del lenguaje e integración audiovisual (Campbell, 1990; Hagan et al., 2013). No existe estructura similar en la corteza frontal de los roedores (Laramée & Boire, 2015). Estudios anteriores muestran que existe una hipoperfusión bilateral del flujo sanguíneo en sujetos con autismo, siendo la hipoperfusión del lado derecho asociada con casos de mayor severidad (Barahona-Corrêa et al., 2018).

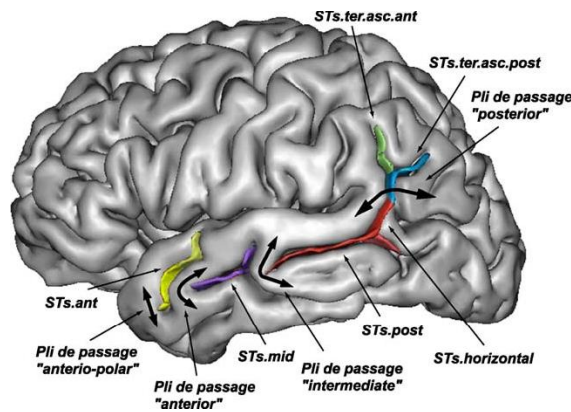


Figura 3. Anatomía del sulco superior temporal. Imagen tomada de Ochiai 2004.

2.1.1.1.2 Corteza orbitofrontal

La corteza orbitofrontal, que en el inglés se le denomina como orbitofrontal cortex (OFC), forma parte de la corteza prefrontal del cerebro que presenta cuatro giros en un complejo de sulcos. Se extiende a lo largo del eje rostro-caudal, el sulco orbital y lateral, está usualmente conectado por el sulco orbital transverso, el cual se extiende por el eje media-lateral (**Figura 4**). De manera medial separa el giro orbital medial del giro recto por el sulco olfatorio. Recibe proyecciones del núcleo dorsal medial del tálamo, y se cree que es responsable de emociones, recompensa y toma de decisiones. Se encuentra por debajo de las orbitas de los ojos. Es también llamada corteza prefrontal ventromedial. Esta región se asocia con múltiples funciones como la toma de decisiones (Banerjee et al., 2020), aprendizaje, apreciación emocional, cambios de comportamiento, comportamiento social (Bechara et al., 2000), y reconocimiento espacial en humanos y procesos de recompensa y aprendizaje visual en humanos y ratones (Liu et al., 2019). La OFC es modulada por la producción de dopamina del área ventral tegmental (Kahnt & Tobler, 2017), se encuentra estrechamente conectada con la amígdala por múltiples vías, en donde se ha observado cooperan para regular la ansiedad (Lindner et al., 2018), y procesos como la conducta resiliente (Kong et al., 2018).

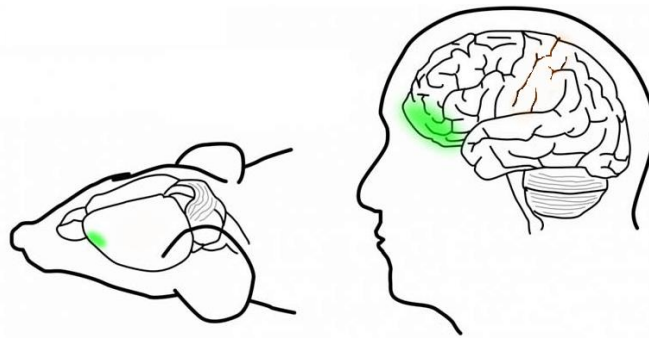


Figura 4. Región de la corteza orbitofrontal en humanos y ratones. Modificado de University of Zurich (Baneerje, Voigt & Helmchen, 2020).

2.1.1.1.3 Corteza cingulada: anterior y posterior

La corteza cingulada es una estructura localizada en la región medial de la corteza, la cual se encuentra limitada en su región ventral por el cuerpo calloso y dorsalmente con la neocorteza mediante el surco cingulado. Esta se divide anatómicamente en dos; la región anterior (anterior cingulate cortex o ACC) y posterior (posterior cingulate cortex o CPC) ambas se subdividen en dorsal y ventral. Anatómicamente la ACC dorsal corresponde al área de Brodmann 24 y 32, mientras que la ACC ventral incluye 33 y 25. Por otro lado, la CPC dorsal contiene el área 31, y la CPC ventral el área 23, interactuando estrechamente con la corteza retrosplenial (área 29 y 30). En humanos la actividad de esta región se asocia en la toma de decisiones en situaciones confusas o contradictoria (Spunt et al., 2012).

(H. Jeon & Lee, 2018; Karau et al., 2011)(López-Ojeda & Hurley, 2022)La corteza cingulada anterior (ACC) es la única región que converge con actividades emocionales y cognitivas, ya que tiene interacción con regiones subcorticales y con la corteza prefrontal(Stevens et al., 2011). Esta región es abundante en neuronas en huso llamadas de von Economo o spindle por su soma fusiforme, las cuales se encuentran asociadas a la interacción social y suicidio(López-Ojeda & Hurley, 2022)(H. Jeon & Lee, 2018; Karau et al., 2011). La ACC se subdivide en ACC dorsal-caudal: la cual conecta con la corteza prefrontal y con la corteza parietal, y se asocia con procesos cognitivos como el aprendizaje y dolor (Kawabata et al., 2023).Por otro lado la ACC ventral-rostral, la cual interactúa con la amígdala, núcleo accumbens, hipotálamo, hipocampo e ínsula anterior (Tang & Leve, 2016) se relaciona con componentes emocionales y motivacionales (Etkin et al., 2011).

La corteza cingulada posterior (CPC) corresponde como anteriormente se mencionó al área de Brodmann 23 (ventral) y 31 (dorsal). Se encuentra localizada posterior a la ACC (**Figura 5**), forma parte de la corteza posteromedial y forma junto con la corteza retrosplenial el giro retrosplenial. En su región dorsal se encuentra el sulco cingulado superior y en la región ventral el cuerpo calloso. Se ha relacionado con funciones como la memoria espacial, motivación y aprendizaje (Leech & Sharp, 2014). Sólo la CPC dorsal se ha visto con una actividad reducida en la interacción con la corteza prefrontal de sujetos con TEA (M.-K. Leung & Lau, 2020).

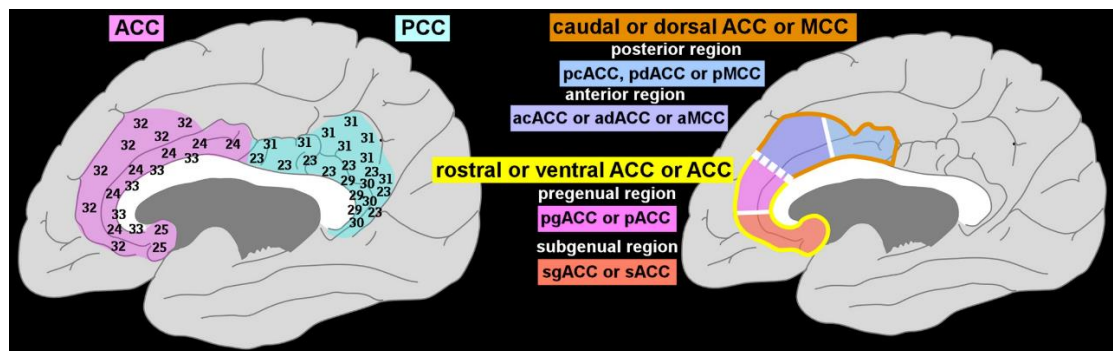


Figura 5. Corteza cingulada anterior (anterior cingulate cortex) y corteza posterior cingulada (posterior cingulate cortex). Diferencias anatómicas entre las regiones correspondientes a las regiones cinguladas. Tomada de The association of genetic variation in CACNA1C with resting-state functional connectivity in youth bipolar disorder

En roedores la ACC (**Figura 6**) forma parte de la corteza prefrontal medial y la CPC ventral o área 23 presenta características de la corteza retrosplenial, considerándose el homólogo de la CPC en cerebros murinos (RSG/RSD) (Lu et al., 2012).

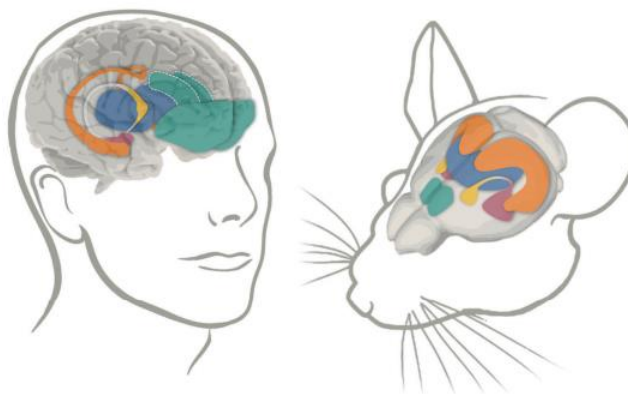


Figura 6. Anatomía comparada de las regiones anatómicas involucradas en el TEA. Verde: Corteza cingulada anterior (ACC) en humanos, Corteza prefrontal medial (CPC) en ratones. Naranja: hipocampo, Azul: tálamo, Morado: amígdala. Modificado de África Flores 2017.

2.1.1.1.4 Corteza Retroesplenial

El área o corteza retroesplenial (RSC) es una región de la corteza que corresponde al área 29 y 30 de Brodmann localizada en la parte inferior del giro cingulado, en lo profundo del sulco del cuerpo calloso. En humanos corresponde al 0.3% de la corteza mientras que en roedores esta implica más de la mitad del área cortical (Milczarek & Vann, 2020). En humanos se encuentra conectada recíprocamente con la corteza cingulada posterior (CCP) y el Hipocampo (Rolls et al., 2023). En roedores la RSG forma parte de la red neuronal por defecto que mantiene la actividad sensorial (Lu et al., 2012). Anatómicamente se divide en una región 30, Agranular (RSA) y una región Granular (RSG) área 29, **Figura 7.** (Tsai et al., 2022b).

En el autismo, se observa una fuerte sobre conectividad en tres conexiones: 1) entre la ínsula anterior y la corteza retroesplenial (SN-DMN), 2) entre la ínsula anterior y el polo frontal (SN-FPN) y 3) entre la corteza prefrontal dorsolateral y la corteza retroesplenial (FPN-DMN). Estas diferencias persisten incluso al controlar la edad. Sin embargo, la conexión sólo la SN-DMN se relaciona con mayores síntomas de internalización en el autismo (Hogeveen et al., 2018). En modelos animales de TEA se ha observado que defectos en la función sináptica excitatoria e inhibitoria en la corteza Agranular Retroesplenial (RSA) promueven un comportamiento repetitivo y falta de sociabilidad en ratones (K. Yang et al., 2021) Modelos animales con deleción de los genes SHANK 2 y 3 dentro de la RSA mostraron una conducta semejante al TEA con una fuerte pérdida de la memoria social y pérdida de la función excitatoria sináptica (Garrido et al., 2022).

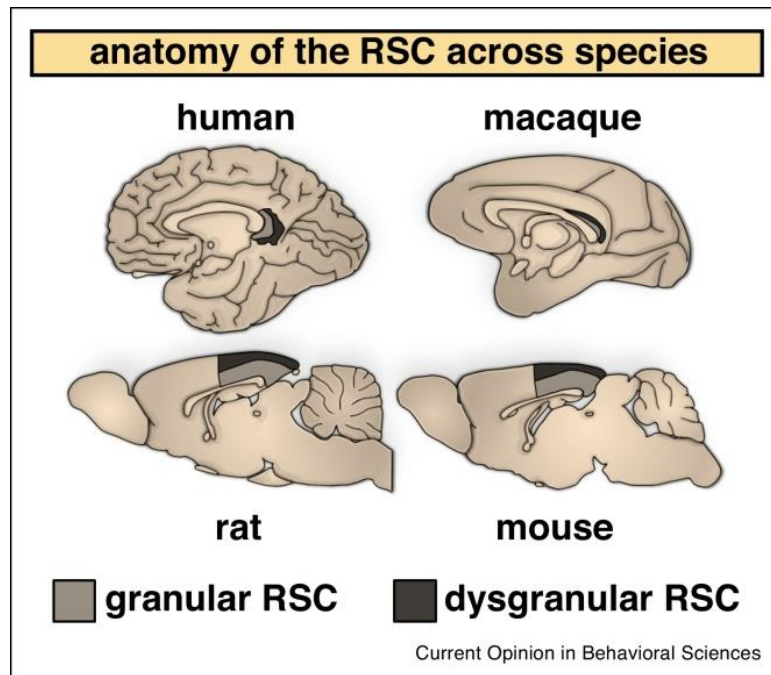


Figura 7. Comparación anatómica de la corteza retroesplenial (RSC) de humanos y primates no humanos, ratas y ratones. Se observa como el RSC cubre el aspecto caudal del CPC y esplenio del cuerpo calloso, mientras que en roedores se ubica dorsalmente y abarca cerca de la mitad del cerebro. En color café la región granular (RSG) y en negro la región agranular (RSA). Tomada de Michal M Milczarek and Seralynne D Vann, 2020.

2.1.1.1.5 Sistema somatosensorial

La corteza somatosensorial es una estructura localizada en el giro post central, que corresponde al área de Brodmann 1, 2, y 3, esta última se subdivide en 3a y 3b (Valchev et al., 2016). El borde rostral de la 3a (S2) se encuentra en el nadir del sulco central, es caudalmente seguido por la 3b (S1), después por el área 1, que ocupa el ápice del giro post central, y 2 que termina en el nadir del sulco post central. Sólo las neuronas del área 3 presentan actividad ante estímulos de sensación (Roux et al., 2018), siendo la 3b la corteza somatosensorial primaria (S1), la cual contienen grupos de neuronas llamadas S1 y fibras conocidas como whinkers (Krupa et al., 2001). La S1 recibe proyecciones del núcleo pulvinar del tálamo e interactúa con la 1 y 2 durante la comunicación y con la 1 durante el reconocimiento de formas y tamaños. Lesiones en esta región suelen afectar la nocicepción, termocepción, y el sentido del tacto ya que reconoce los estímulos propioceptivos en diferentes proporciones según la

región del cuerpo. Estos se representan en la figura distorsionada del homúnculo (humana o murina) que representa las partes del cuerpo basado en la proporción de la región sensorial (S1) a dichas funciones, observando una mayor proporción en el rostro y manos (**Figura 8**). La importancia de esta región en la sociabilidad se demostró en modelos humanos y animales. Un estudio exploratorio en niños con TEA muestra que existe una disminución en la respuesta cortical temprana en la región Somatosensorial 1 en el hemisferio izquierdo (Marco et al., 2012). Además, en modelos animales con la delección del gen que codifica para la proteína de adhesión CNTNAP2 muestran una conducta semejante al TEA asociado a una mayor estimulación de las neuronas de la S1 que comprometen el reconocimiento sensorial del entorno mediado por los bigotes (Balasco et al., 2022).

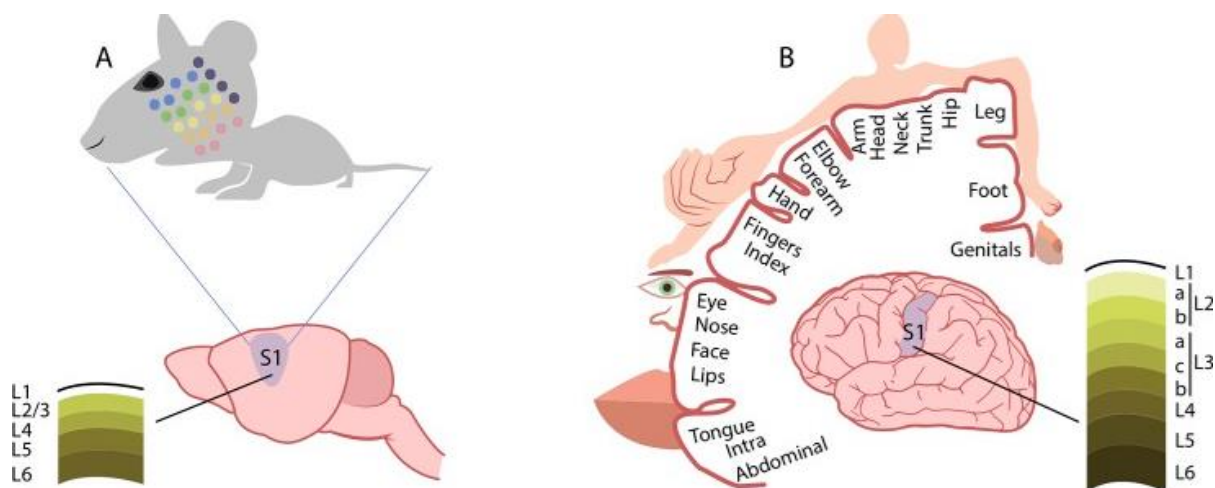


Figura 8. Comparación del homúnculo de ratón y humano. El homúnculo representa las regiones del cuerpo de manera distorsionados según la proporción sensorial involucrada a dichas funciones. Corteza somatosensorial (1). Número de estratos o placas en la región somatosensorial. Tomado de Balasco, Giovanni Provenzano, Front Psychiatry. 2020.

2.1.1.2 Regiones subcorticales

Las regiones subcorticales son estructuras de núcleos neuronales que se localizan en el cerebro medio por debajo de la neocorteza. Estas incluyen estructuras como la amígdala y el cuerpo

estriado dorsal (núcleo caudado y putamen) y ventral (núcleo accumbens, tubérculo olfatorio). A continuación, se describirá brevemente las características anatómicas y su asociación al desarrollo del TEA.

2.1.1.2.1 Amígdala

La amígdala es una estructura de somas neuronales localizada en el lóbulo temporal sobre la región del uncus. Tiene aproximadamente 13 núcleos (**Figura 9**), los cuales se dividen en otros 5 grupos mayores: núcleo basolateral, núcleo cortical, núcleo central, núcleo amigdalóide y amígdala extendida (Birn et al., 2014; Seguin et al., 2021). Forma parte del sistema límbico, su función está relacionada con regular emociones, ansiedad, agresión, miedo, cognición social, comportamiento y memoria. Está implicada en trastornos del sueño, depresión, agresión (Ressler, 2011). En los roedores la amígdala anatómicamente se divide en las regiones del complejo basolateral (BLA), núcleo basal (BA), núcleo lateral (LA). La amígdala central está compuesta por núcleo centro media (CEM), y núcleo centro lateral (CEI) (Figura 4) (Keifer et al., 2015). En un estudio macroestructural de los nueve subnúcleos de la amígdala realizados por resonancia magnética en adolescentes de 12 a 15 años con TEA se observó un aumento del complejo basolateral (BLA) a comparación de los adolescentes con desarrollo típico. Además, este aumento de la BLA correlacionaba positivamente con la severidad de los signos clínicos (Seguin et al., 2021).

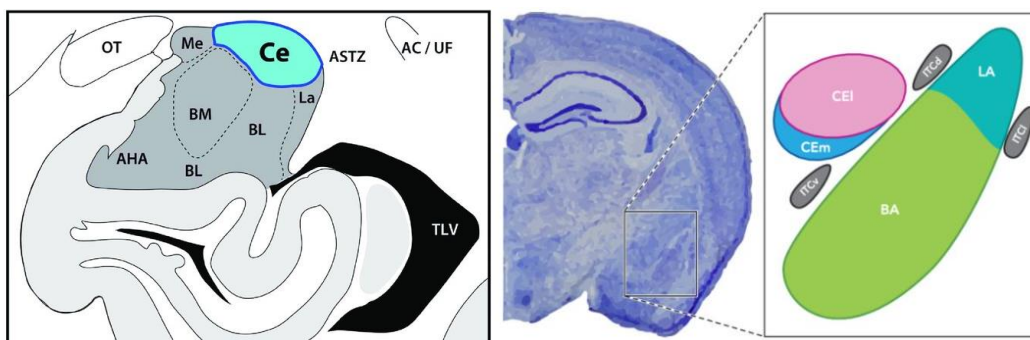


Figura 9. Estructura anatómica compara de la amígdala humana y murina. (A) Amígdala humana núcleo basolateral (BL), núcleo basomedial (BM), núcleo central (CE), núcleo lateral (La), núcleo medial (Me), tracto óptico (OT), cuerno temporal del ventrículo lateral (TLV), fascículo uncino (UF). (B) En ratones las regiones homólogas son el Núcleo basal (BA), Núcleo lateral (LA), Núcleo centromedial (CEM), y núcleo centrolateral (CEI). Modificada de Birn, R., Shackman 2014 (Birn et al., 2014)

2.1.1.2.2 Hipocampo

El hipocampo es una estructura localizada en el lóbulo temporal que posee características citoarquitectónicas corticales (arquicorteza) y subcorticales que son conocidas como formación hipocampal. Es parte de la formación hipocampal la cual incluye el hipocampo propiamente, el giro dentado, subículo, pre y para subículo, y corteza entorrinal.

El hipocampo tiene una estructura en “U”, su forma se le relaciona con un caballo de mar, de ahí su nombre (latín *hippocampus* “monstruo de mar”) (Figura 6). También se le llamó cuerno de carnero (Cornu ammonis), de cuyas iniciales “CA” se nombraron las regiones del hipocampo. Se localiza en el cuerno temporal de cada ventrículo lateral. La formación del hipocampo suele llamarse a esta estructura y estrechamente relacionadas anatómicamente como el giro dentado y el subículo. La formación está dividida en las regiones CA1, CA2, CA3 y CA4 distribuidas en las porciones ventral, intermedia y dorsal. En cortes histológicos se distingue de la corteza del lóbulo temporal por su densidad, una región altamente poblada de células piramidales. Cada región CA tiene histológicamente diversas placas o estratos que contienen conjuntos celulares (piramidal, radia, granular, molecular, oriens, leucosum), que van de 7 a 3 dependiendo la CA. La región CA2 es esencial para la memoria social (Hitti & Siegelbaum, 2014).

La función del hipocampo está estrechamente asociada al circuito límbico que es responsable de regular las emociones. Su región dorsal se correlaciona con la memoria espacial, memoria verbal y aprendizaje (Strien et al., 2009). Mientras que la ventral se integra en el acondicionamiento al miedo y los aspectos afectivos (Fanselow & Dong, 2010). El hipocampo también es prioritario para procesos cognitivos asociados a plasticidad sináptica y la potenciación de memoria a corto y largo plazo (Abe, 2001), mediante su integración con circuitos cerebrales selectivos. Por ejemplo, los circuitos de entrada al hipocampo se destacan el que viene del tálamo a la región CA1, que distribuye la dopamina, serotonina y norepinefrina, cuya actividad y conectividad está implícita en la formación del proceso de memoria (Teixeira et al., 2019) Así como la entrada de fibras de GABA del núcleo septal media al hipocampo. El circuito de salida del hipocampo más grande viene a través de la corteza entorrinal (De CA1 a subículo) que atraviesa de manera unidireccional como asa tri-sináptica entre el giro dentado, CA3 y CA1 (Moser, 2011). Esta ruta unidireccional se aprecia en la imagen siguiente en color verde, azul y rojo (**Figura 10**). Otro es la salida que atraviesa del fórnix al septo lateral.

Pacientes con autismo presentan alteraciones en la conectividad entre diferentes regiones del hipocampo (Micheau et al., 2014).

El hipocampo es de las regiones más involucradas en el TEA. Se ha reportado que sujetos con TEA presentan una reducción en la conectividad entre hipocampo y giro fusiforme asociados al procesamiento visual como procesamiento de rostros y otros aspectos visuales más complejos en el autismo clínico (Neufeld et al., 2023).

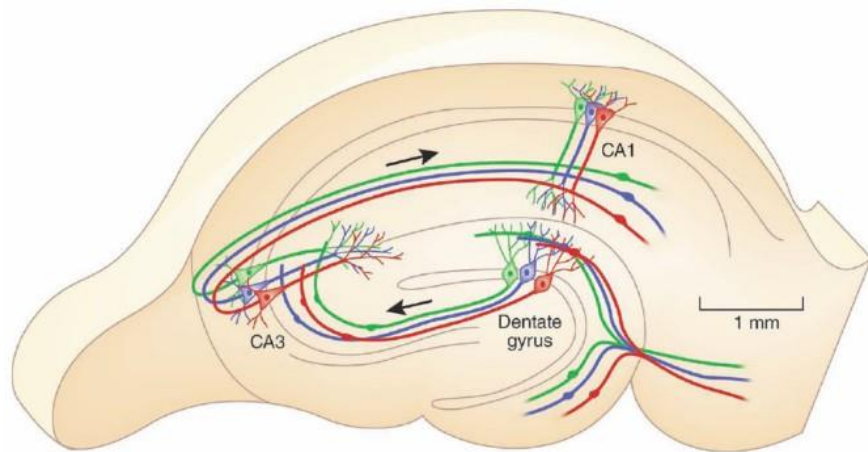


Figura 10. Estructura del hipocampo de roedor. En rojo, azul y verde se muestra el asa tri-sináptica que guía de manera unidireccional las fibras axonales entre el giro dentado, las células piramidales de la CA3 y CA1 que provienen de la corteza entorrinal. Tomado de Moser, Nature, 2010.

2.1.1.3 Plexo Coroideo

El plexo coroideo (PC o CP por sus siglas en inglés chroid plexus) es una estructura de epitelio simple cúbico que revierte la pared de los ventrículos y que se encarga de la producción del líquido cefalorraquídeo. Esta estructura comunica el sistema nervioso y el sistema inmune mediante estructuras adyacentes (**Figura 11**) del parénquima a través de la barrera conocida como Cerebro-líquido cerebroespinal (M. D. Shen, 2018). El rol de esta estructura se ha asociado con enfermedades neurodegenerativas y drenaje linfático (Glymphatic system) (Municio et al., 2023). En relación con el TEA se observó que pacientes con autismo presentan volumen aumentado de los ventrículos, y que existen diferencias de distribución espacial en CP en sujetos con TEA (Bitanihirwe et al., 2022; Levman et al., 2018). Modelos animales de conducta semejante al TEA inducidos por Activación Inmune Materna (MIA por sus siglas en

inglés) muestran un aumento en citocinas como CCL2o Mcp1, así como infiltración de macrófagos en esta estructura (Cui et al., 2020).

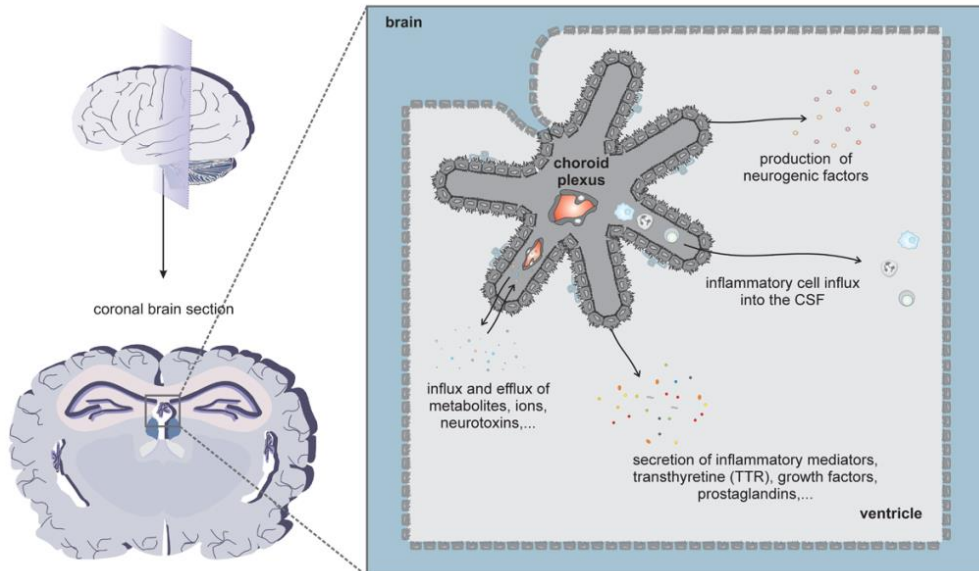


Figura 11. Plexo Coroideo. Una estructura de epitelio simple cúbico que recubre las paredes de los ventrículos y proporciona una barrera en regiones con barrera hematoencefálica ausente. Tomado de Vandenbroucke Roosmarijn E. and Libert Claude. 2015.

2.1.1.4 Cerebelo

El cerebelo es una estructura localizada postero ventral en humano y posterior en roedores, y organizado en tres regiones: anterior, posterior y floculonodular. La primera separada de la segunda por la fisura primaria y la segunda separada por la fisura posterolateral. Estas tres regiones contienen diez lóbulos que se disponen del I-V en el anterior, VI-IX en el posterior y el X en el floculonodular (**Figura 12**). La corteza cerebelar histológicamente contiene varios estratos celulares, de los cuales los más importantes son las células de Purkinje y células granulares. La función principal del cerebelo es la regulación del movimiento, equilibrio, coordinación, postura y aprendizaje motor. Sin embargo, también posee funciones cognitivas como la atención, lenguaje y control emocional. Se ha reportado que la región anterior (I, II, III, IV, y V) están involucradas en funciones motoras, mientras que la región posterior se encarga de la cognición y el afecto (Depping et al., 2018). El cerebelo se comunica con la corteza cerebral a través de una vía de entrada que conecta la región cortical cerebral en el núcleo de

la base del puente con fibras eferentes al cerebro (proyecciones cortico-ponto-cerebelares). Por otro lado, el cerebelo tiene una vía de salida que lleva proyecciones de la corteza cerebelar a la corteza frontal a través (Stoodley & Schmahmann, 2011)eo cerebelar (Stoodley & Schmahmann, 2011). De interés, estudios realizados en humanos con daño cerebelar demostraron que estas personas manifestaban déficit de habilidades sociales y de emociones (Hoche et al., 2017), sugiriendo que defectos en la sociabilidad, conducta obsesiva y problemas de comunicación pudiera estar relacionados con un déficit en la comunicación del circuito cerebelo-cortical (Rogers et al., 2013). En el modelo inducido con Polyinosinic: polycytidylic acid (poly I:C), una molécula que estructuralmente mimetiza un RNA de doble cadena viral, se encontró un déficit de células de Purkinje en los lóbulos VII similares a los encontrados en los sujetos con TEA (L. Shi et al., 2009),

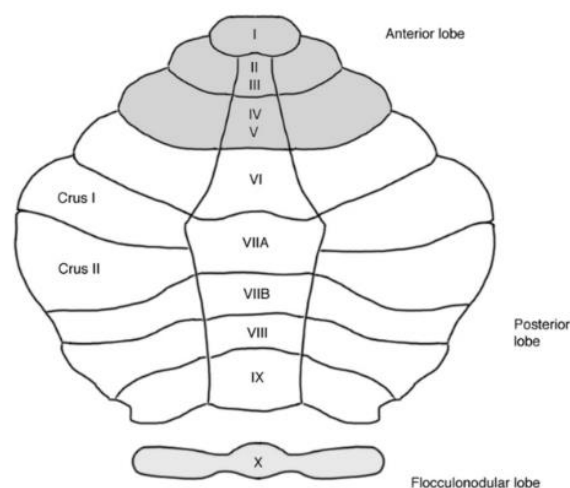


Figura 12. Anatomía del Cerebelo. La región anterior (I, II, II, IV, y V) están involucradas en funciones motoras, mientras que la región posterior se encarga de la cognición y afecto. Tomada de Depping 2018.

2.2 Alteraciones estructurales del cerebro en el TEA

El avance tecnológico en las últimas décadas enfocado a imagen cerebral ha permitido la identificación de variaciones neuroanatómicas en sujetos con TEA respecto a los individuos sanos (**Figura 13**). Se ha observado que sujetos con TEA presentan un aumento en volumen y peso del cerebro, los cuales dependen de la edad, el sexo, la severidad de los signos clínicos y el tipo de análisis de la muestra o el estudio (*in vivo* o postmortem) (Magnetic & Imaging,

2012). En 2020, Westeinde y colaboradores reportaron en mujeres con autismo un incremento en el adelgazamiento del surco interparietal derecho y un volumen reducido del giro orbital derecho. Mientras que en hombres observaron aumento del circuito cortico-estriatal, núcleo caudado y globus palidus (Westeinde et al., 2020). En otro estudio se identificó sobrecrecimiento de la región de la corteza frontal durante el desarrollo posnatal (Alex P. A. Donovan & Basson, 2017).

Social impairment	Communication deficits	Repetitive behaviors
OFC – Orbitofrontal cortex ACC – Anterior cingulate cortex FG – Fusiform gyrus STS – Superior temporal sulcus A – Amygdala mirror neuron regions IFG – Inferior frontal gyrus PPC – Posterior parietal cortex	IFG- Inferior frontal gyrus (Broca's area) STS – Superior temporal sulcus SMA – Supplementary motor area BG – Basal ganglia SN – Substantia nigra Th – Thalamus PN – Pontine nuclei cerebellum	OFC – Orbitofrontal cortex ACC – Anterior cingulate cortex BG – Basal ganglia Th – Thalamus

Figura 13. Regiones con alteraciones estructurales en el sujeto autista. Adaptada de Amaral, Schumann, & Nordahl, 2008

En 2012, Ecker y colaboradores no reportan cambios significativos en el volumen del cerebro. Sin embargo, mostraron por comparación en vóxel un incremento de la materia gris del lóbulo temporal anterior y la región parietal dorsolateral, además de una reducción significativa de la región parietal y occipital comparadas con el control. En este estudio las regiones con una diferencia más significativa fueron cerebelo, ganglio basal, amígdala y lóbulo parietal inferior, corteza cingulada y región prefrontal, así como reducción en la materia blanca (Magnetic & Imaging, 2012). Postema y colaboradores en 2019 realizaron un estudio donde mostraron evidencia de que el cerebro del paciente TEA tiene una estructura asimétrica (**Figura 14**). Ellos encontraron que 1774 individuos con TEA muestran adelgazamiento de la región cortical media frontal, corteza orbitofrontal, área temporal inferior y cingulada. Por otro lado, la región del putamen muestra un incremento en volumen. Estos cambios no tuvieron relación con sexo, grado de autismo, edad o coeficiente intelectual (Postema, 2019).

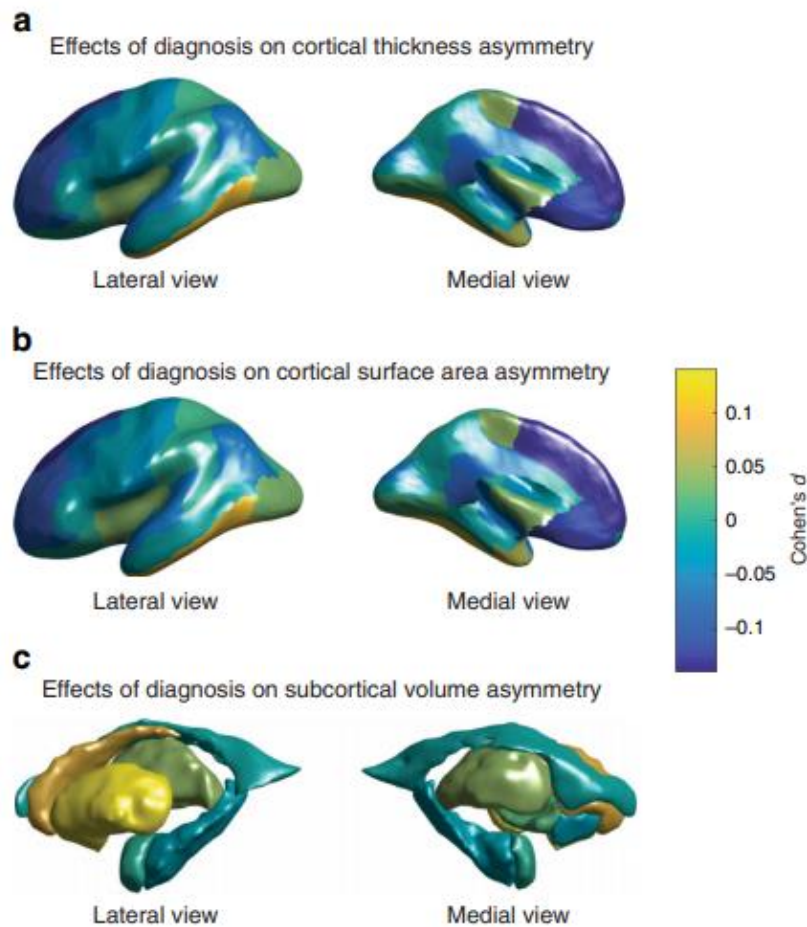


Figura 14. Diferencias anatómicas del cerebro del sujeto TEA con una escala del tamaño del efecto d de Cohen. En la barra se muestra en color azul un valor d de Cohen negativo y representa un incremento en la asimetría. El color amarillo es un valor d de Cohen positivo y representa una reducción en la asimetría. La región cortical (A) y área cortical (B) muestran un adelgazamiento e incremento en la asimetría. Mientras que existe un incremento de volumen en la región subcortical (reducción en la asimetría), principalmente en el putamen (C). Tomado de Postema 2019.

2.2.1 Alteraciones estructurales del cerebro de modelos animales de conducta semejante al TEA

Algunas de las alteraciones estructurales y de conectividad encontradas en las regiones cerebrales del sujeto TEA se han observado en modelos animales con conducta semejante al TEA.

Existen diversos modelos animales de conducta semejante al TEA donde se han reportado alteraciones estructurales. alargamiento de ventrículos(Piontkewitz et al., 2012), pérdida neuronal en hipocampo y corteza prefrontal(X. Zhao et al., 2021). En otro modelo inducido con ácido valproico, una droga utilizada para el tratamiento para la epilepsia durante la gestación, muestra que la progenie presenta alteración en la morfología de la amígdala, así como reducción de neuronas en corteza frontal y cerebelo (H. Zhao et al., 2019). En un modelo de conducta al TEA inducido por mutaciones en el gen FMR1 (Fragile X syndrome), el cual en humanos se relaciona con el TEA, se encontró un mayor tamaño de núcleo caudado, y un menor tamaño de vermis cerebelar posterior, amígdala y giro temporal superior (Gothelf et al., 2009). Uno de los modelos genéticos más ampliamente utilizados en el estudio del TEA es el BTBR (BTBR T+tf/J) en el cual existe una ausencia del cuerpo calloso y una disminución de comisura del hipocampo los cuales se relacionan con la conducta semejante al TEA (Wahlsten et al., 2003). Sin embargo, estudios recientes muestran que modificaciones a este modelo (BTBR TF/ArtRbrc (BTBR/R),) presentan un cuerpo calloso intacto, y una moderada actividad hipocampal, asociado a una acentuación más agresiva de la conducta semejante al TEA (C.-W. Lin et al., 2023) En otros modelos genéticos como OV y AVP (oxitocina y vasopresina), NLGN3 y 4, TSC, CNTNAP2, no se encontraron diferencias anatómicas significativas (Patterson, 2012).

2.2.2 Alteraciones en la conectividad del cerebro en el TEA

La conectividad cerebral es un estudio que nos permite evaluar la conexión y comunicación que existe entre distintas regiones cerebrales. Se divide en tres: estructural, funcional y efectiva (Pawela & Biswal, 2011). Las técnicas más empleadas para estos estudios son la resonancia magnética de imagen (MRI), resonancia magnética funcional (fMRI), electroencefalograma (EEG) y la tomografía por emisión de positrones (TEP). A pesar del avance tecnológico aún existen limitantes en el análisis estructural del cerebro lo que genera reportes no concluyentes e incluso contradictorios acerca de los cambios encontrados en cerebros de individuos con

TEA. Por otro lado, estudios de neuroimagen en pacientes y muestreos post mortem muestran que pacientes con TEA tienen una deficiente conectividad estructural de largo alcance y regional (cortical-cortical) en la corteza frontal (Vissers et al., 2012). En una revisión realizada por Balsters y colaboradores mostró que el incremento en la conectividad funcional entre el cuerpo estriado y la región parietal, así como la reducción entre el esta y la región frontal es fundamental en el desarrollo de la conducta del TEA (Balsters et al., 2018). Otros estudios de conectividad efectiva en individuos con TEA y modelos murinos con conducta semejante al autista sugieren que el volumen del cerebro está relacionado con el decremento de conectividad, específicamente se demuestra reducción de la región anterior del cuerpo calloso y un menor número de conexiones interhemisféricas frontales (Fuccillo, 2016; Schaer et al., 2013). En un estudio reciente se demostró que el comportamiento repetitivo (obsesivo) está estrechamente relacionado a la región del cuerpo estriado en niños con TEA donde la severidad de los signos clínicos está asociada a la hiper conectividad de dos áreas corticales; occipital y frontal del hemisferio izquierdo (**Figura 15**) (Martino et al., 2020).

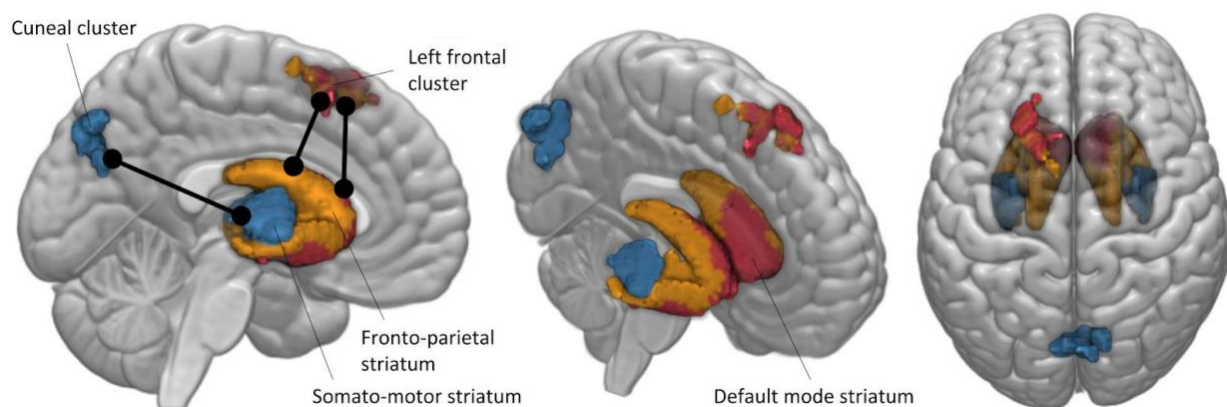


Figura 15. Relación entre la conectividad de regiones cerebrales en el paciente TEA. Se muestra la correlación entre la conectividad funcional intrínseca. Existe una relación positiva entre el cuerpo estriado somato-motor y la corteza occipital (cuneal cluster) en ambos hemisferios (azul) También existe una correlación positiva entre el cuerpo estriado fronto-parietal y el giro frontal superior (amarillo-rojo). Modificado de Martino 2020.

2.2.3 Alteraciones en la morfología neuronal en sujetos con TEA

Se han reportado diversos hallazgos en la morfología y número de las dendritas axonales de las neuronas en muestras posmortem de individuos con TEA y modelos murinos con conducta semejante al autismo. Una revisión reciente muestra que sujetos con TEA tienen una menor ramificación de las dendritas en la región CA4 y CA1 del hipocampo y corteza prefrontal dorsolateral (Barón-Mendoza et al., 2019). También se han mostrado evidencias de una mayor densidad en las conexiones talamocorticales y cortico-corticales, asociadas a crecimiento axonal desregulado, deficiencias en los procesos de muerte celular programada y una reducción en la conectividad debido a un menor grosor de la mielina de la corteza orbital frontal y corteza cingulada anterior (McFadden & Minshew, 2013). En estudios previos se analizaron las diferencias funcionales asociadas al sexo en el sujeto con el TEA, encontrando que en hombres existe una menor actividad en la conectividad neuronal comparados con el control, mientras que las mujeres con TEA presentaban una mayor actividad en la conectividad de diversas regiones lo que implica que los signos clínicos del TEA dependientes de sexo son determinados por la conectividad que se observa en el cerebro. En este estudio se hipotetiza que existen alteraciones de conectividad reportadas: 1) Circuito del sulco superior temporal (STS) el cual es encargado del procesamiento social, conexión amígdala-orbitofrontal y región frontoparietal en hombres, y 2) Deficiente conexión funcional de la corteza cingulada posterior (CPC) en ambos (Alaerts et al., 2016). En modelos animales con delección del gen que codifica para FMR1, localizada en las dendritas de las neuronas muestra cambios en la morfología de la neurona, obteniendo una mayor cantidad de espinas dendríticas largas, y una menor cantidad de espinas dendríticas cortas además de mostrar una morfología inmadura (Martínez-Cerdeño, 2018).

2.3 Etiología

La etiología del desarrollo del TEA en sujetos integra un mecanismo multifactorial, que involucra el metabolismo, la inmunidad, el nivel de neurotransmisores y la contribución genética o epigenéticos.

2.3.1 Factores heredables

2.3.1.1 Genética

Estudios genéticos realizados en pacientes con TEA han detectado algunas de las mutaciones más comunes localizadas en genes que codifican proteínas implicadas en el neurodesarrollo y que se asocian a síndromes neurológicos como el gen TSC1 (esclerosis tuberosa), MECP2, (Síndrome Rett y síndrome X frágil) y (FMR1). Por otro lado, los genes también se han identificado alteraciones génicas en genes que regulan la comunicación sináptica, incluyendo a los que modulan la plasticidad sináptica (CNTAP, NLGN, o NRXN), tráfico de vesículas sinápticas (SYN1, SYN2), transporte de iones (SCN2A), canales de voltaje de calcio (CACNB2), canales de voltaje de potasio (KCNQ3), y GABA (GBRG3) (Sellick et al., 2021). La caracterización de algunos de estos genes, han identificado al gen SHANK (SH3 and multiple ankyrin repeat domains proteins) que regula la plasticidad cerebral. Mutaciones del tipo SHANK2 y SHANK3 en individuos con TEA, inducen un mayor número de conexiones sinápticas en neuronas y sobrecrecimiento axonal (Geschwind., 2014; Mcfadden & Minshew, 2013; Zaslavsky et al., 2019) Adicionalmente, se ha identificado que sujetos autistas se detectaron polimorfismos en el gen del receptor D3 de la dopamina asociados a un mayor volumen del cuerpo estriado y severidad de los signos clínicos. Otros polimorfismos detectados en genes del receptor de dopamina 4 (DR4) y DAT (dopamine transporter (*DAT*) gene) fueron asociados a comportamiento repetitivo en sujetos autistas (Pavál, 2017a). Finalmente, en una revisión realizada por Balasco y colaboradores en 2020, el 90% de sujetos con trastorno del espectro autista presentan experiencias sensitivas atípicas como hipo o hiperreactividad con respuestas anormales al tacto. Reportan que modelos animales con anormalidades sensitivas muestran mutaciones en genes asociados al TEA como Fmr1 (plasticidad sináptica) y celulares como una menor cantidad de neuronas entre el estrato 2/3 (Baldasco et al., 2020).

2.3.1.2 Epigenética

La epigenética son factores del entorno capaces de modular la expresión génica a través de la exposición o compactación de la cromatina, que no modifican la estructura del DNA. Estas modificaciones como la acetilación o metilación de DNA o histonas pueden modular la expresión génica en estadios adultos por el estilo de vida, o ser adquiridos durante la gestación y mantenerse de forma transgeneracional y que están involucrados en el desarrollo de enfermedades psiquiátricas como el TEA (Tremblay & Jiang, 2019) (Ruzicka et al., 2017).

Estudios de metilación de DNA en sujetos con TEA se han reportado diversos cambios en la marca epigenética como la trimetilación de la lisina 4 de la histona 3 (H3K4me3) en la corteza prefrontal (Shulha, 2012). En estudios de genoma completo se encontró que sujetos con TEA muestran un bajo nivel de metilación del gen asociado a la depresión sináptica a largo plazo PRRT1 (Proline-rich transmembrane protein 1) asociado a una reducción en la plasticidad sináptica en tres regiones cerebrales (corteza prefrontal, temporal y cerebelo) (Ladd-Acosta et al., 2014) Se ha reportado que la conducta semejante al TEA inducido con ácido valproico durante la gestación presenta un efecto transgeneracional encontrado hasta la generación F3 (nietos), asociado a defectos en el balance inhibidor excitatorio sináptico en la corteza (Choi et al., 2016). En el modelo de TEA inducido por delección del gen SHANK3 se observó que las metiltransferasas (DNMT), enzimas que transfieren los grupos metilo al DNA, presentan una disminución en la expresión de Dnmt1 y Dnmt3b en corteza, mientras que en el hipotálamo tienen un aumento en la expresión de Dnmt3a y Dnmt3b, lo que sugiere una regulación epigenética región-específica (Srancikova et al., 2021). Finalmente, se ha reportado que hormonas como la oxitocina presentan bajos niveles de metilación a nivel del promotor asociados con una mayor habilidad social y actividad del sulco superior temporal, asociado a mayor volumen de la corteza gris del giro fusiforme (Haas et al., 2016).

2.3.1.3 Teoría de la disfunción de neurotransmisores en el TEA

Clínicamente se ha asociado disfunciones en el transporte de neurotransmisores en la patogénesis del TEA. Los neurotransmisores son mensajeros químicos que se transmiten de las células nerviosas a las células diana a través de vesículas sinápticas durante la sinapsis. Se clasifican en aminoácidos (glutamato, GABA (ácido γ -aminobutírico)), péptidos (oxitocina,

sustancia P) y monoaminas (epinefrina, serotonina, histamina, dopamina). A continuación, mostraremos algunas evidencias que involucran la disfunción dopaminérgica y regulación del GABA/Glutamato involucradas en el desarrollo del TEA.

2.3.1.3.1 Dopamina

En pacientes con un desarrollo típico la liberación de dopamina por neuronas dopaminérgicas regula el sistema de recompensa (circuito mesocorticolímbico) y la función motora (circuito nigroestriatal)(Pavál, 2017b) circuito mesolímbico consiste en neuronas dopaminérgicas del área tegmental ventral (VTA) quienes presentan proyecciones hacia la corteza prefrontal y el cuerpo estriado ventral (núcleo accumbens), estructura involucrada en la fisiopatología de las adicciones. Por otro lado, el circuito nigroestriatal son neuronas de la Sustancia nigra que proyectan hacia el cuerpo estriado dorsal (núcleo caudado-putamen) (Supekar, Kochalka, Schaer, Wakeman, & Qin, 2018). Los individuos con TEA no muestran diferencia en la síntesis de dopamina (Schalbroeck et al., 2021), sin embargo, estos se caracterizan por presentar una menor motivación de socializar (Chevallier et al., 2012) asociado a disfunción en la conectividad del sistema dopaminérgico (Supekar, Kochalka, Schaer, Wakeman, Qin, et al., 2018). Pacientes con TEA se ha demostrado que tienen una menor actividad dopaminérgica (**Figura 16**) en la corteza prefrontal (Ernst et al., 1997). Por otro lado, modelos animales de conducta semejante al TEA muestran que existe un incremento en la densidad del receptor de dopamina D2 en estriado ventral en modelos de conducta semejante al TEA (BTBR, Fmr1^{-/-} y Shank3^{-/-}) (Chhabra et al., 2023). El aumento excesivo en la actividad de los receptores D1 en Sustancia nigra (SNC) y cuerpo estriado dorsal (Std), así como la eliminación de receptores los D2 en Std promueven el déficit en sociabilidad (Lee et al., 2018). Lo que señala la implicación del circuito cortico-estriatal y la expresión de receptores-región dependiente. Además, ratones tratados con Pimozide, un antagonista de la dopamina en SNC presentan comportamiento cíclico (Vaccarino & Franklin, 1982), un patrón de comportamiento también asociado al sistema dopaminérgico observado en el TEA (H. Kim et al., 2016)

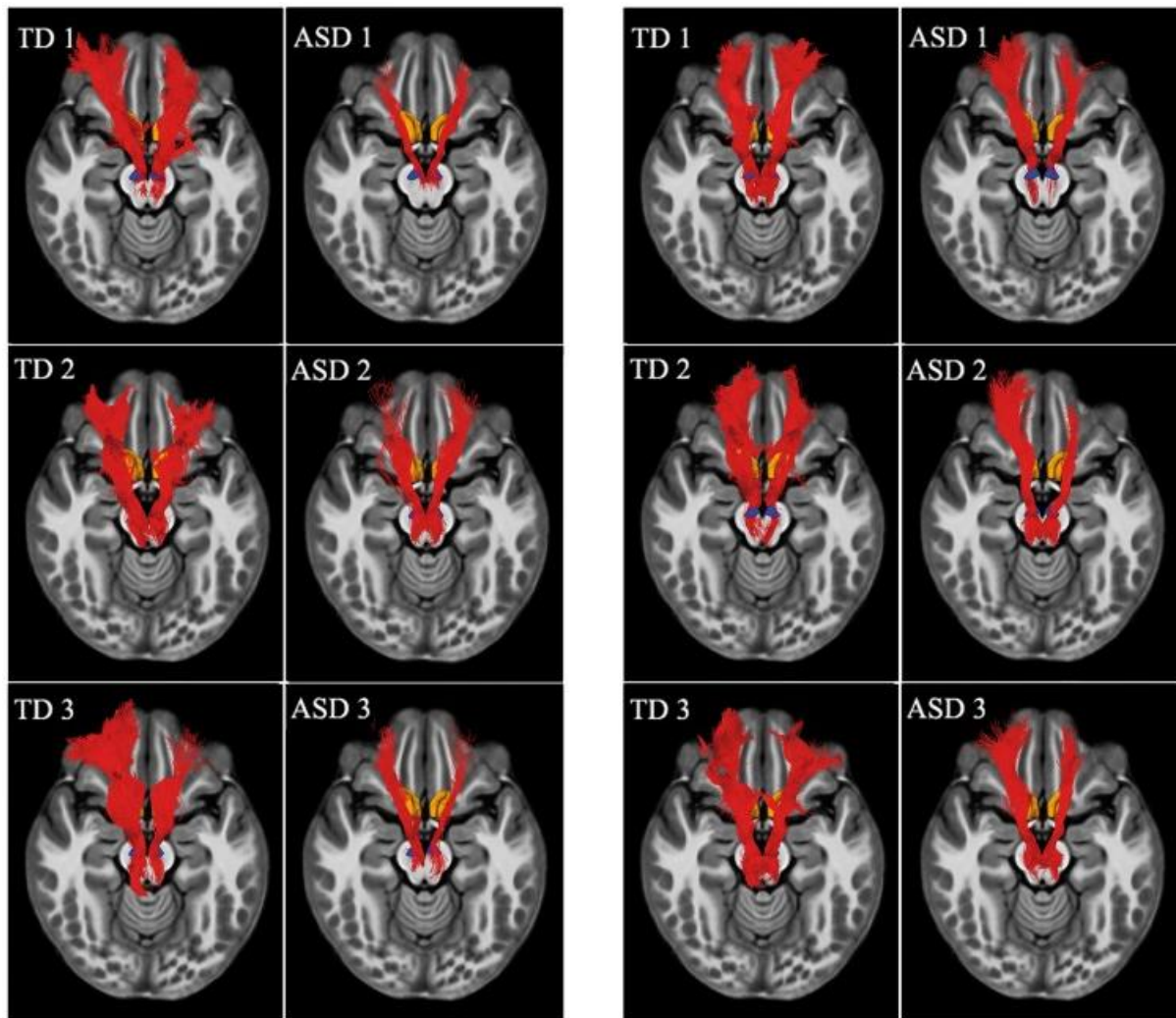


Figura 16. Comparación de la conectividad mesolímbica. El sistema límbico es la principal ruta dopaminérgica, la conexión entre el núcleo accumbens (NAc) y el área tegmental ventral (VTA) es menor en individuos con trastorno del espectro autista. Modificado de Superkar,2018.

2.3.1.3.2 GABA/Glutamato

El equilibrio entre la excitación mediada por el glutamato y la inhibición mediada por el GABA es fundamental para el funcionamiento normal del cerebro y el desbalance de este sistema no ha sido totalmente esclarecido en el desarrollo del TEA (Kolodny et al., 2020). Pacientes con severos signos del TEA y 2 modelos animales de conducta semejante al TEA (Nlgn3 y ácido valproico) mostraron una concentración reducida de glutamato en el cuerpo estriado pero ninguna alteración significativa en los niveles de GABA (Horder et al., 2018b) (Horder et al., 2018a). La relación GABA/Glutamato y el balance E/I depende de la concentración de cloro

intracelular de los transportadores de cloro NKCC1 (Na-K-Cl cotransporter 1)(Chew et al., 2020). La bumetanida, un fármaco diurético que inhibe NKCC1 y favorece el cambio E/I fue administrado a pacientes con TEA en un estudio clínico en fase 3, donde se observó que este reduce el cociente de GABA/Glutamato en la corteza insular y corteza visual promoviendo la mejoría de los signos clínicos (L. Zhang et al., 2020). En modelos de conducta semejante al TEA la bumetanida restaura el perfil electrofisiológico del área CA3 del hipocampo, células de Purkinje en cerebelo, y resTabla el volumen normal del cerebro (Lemonnier et al., 2017). Sujetos con TEA entre 15 y 19 años mostraron un aumento en los niveles de Glutamato, GABA, y una menor en la relación GABA/glutamato, además de un decremento en marcadores de inflamación en sangre (El-Ansary & Al-Ayadhi, 2014)

Estas evidencias proponen que los neurotransmisores como la dopamina y GABA, juegan un papel importante en el desarrollo de las características conductuales en el TEA (Macerollo & Martino, 2013; Marotta et al., 2020). Finalmente, observamos este desbalance en neurotransmisores se relaciona con la respuesta inflamatoria. Por lo que a continuación se desarrollará la teoría de la inflamación en el desarrollo del TEA.

2.3.1.4 Teoría de la respuesta inflamatoria y Neuroinflamación

Recientemente se ha descubierto el papel que juega el sistema inmunológico en la modulación del desarrollo neurológico (Pasciuto et al., 2020) y el desarrollo de enfermedades psiquiátricas como la depresión, la esquizofrenia y el autismo, en donde se reporta una respuesta inflamatoria en el cerebro denominada neuroinflamación (Singhal & Baune, 2017) A continuación de describirá de manera detallada en que consiste el proceso inflamatorio, las moléculas y células involucradas en la respuesta en periferia, sistema nervioso central y neurodesarrollo, y cómo estas señales convergen en el desarrollo de trastornos mentales como el TEA.

2.4 Respuesta Inflamatoria

2.4.1 Respuesta Inflamatoria sistémica aguda

La inflamación es un mecanismo de respuesta a microorganismos, alérgenos o componentes de lesiones tisulares (L. Chen et al., 2018) orquestado por el sistema microvascular (Pober & Sessa, 2015) que favorecen el incremento de la permeabilidad, vasodilatación, y el reclutamiento de componentes celulares y moleculares del sistema inmunológico (Calcina et al., 2016), la cual se divide en dos tipos de respuesta aguda y crónica.

La respuesta inflamatoria inicia luego de la disrupción de la homeostasis vascular por lesión del tejido, y el reclutamiento de componentes del sistema inmune innato por medio de receptores para el reconocimiento de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP's) como TLRs (Toll-like receptors), los cuales como el TLR4 es capaz de reconocer componentes de las bacterias como el lipopolisacárido (LPS) o los ácidos grasos saturados de la dieta (SFAs), (Fessler et al., 2009) Otros como los RLRs (retinoic acid-inducible gene (RIG)-I-like receptors) son capaces de montar una respuesta antiviral (Rehwinkel & Gack, 2020). También esta los CLR (C-type lectin receptors) o NLRs (NOD-like receptors). Por otro lado, los patrones moleculares asociados a daño (DAMPs) son respuestas inducidas por el daño tisular o muerte (necroinflamación) estos componentes son reducidos en la **Tabla 2.** (Mázló et al., 2022)

Tabla 2. Componentes asociados a las respuestas mediadas por DAMPS y SAMPS

<i>DAMP's (Land, 2020a)</i>	<i>Citoplasma</i>	• <i>Uric Acid</i> • <i>S100 proteins</i> • <i>Heat-shock proteins (70, 90)</i> • <i>IL-1</i> • <i>ATP</i>
-----------------------------	-------------------	--

Nucleares	• DNA • RNA • HMGB1 • HMGN1
Mitocondriales	• mtDNA

<i>SAMP's (Kutzner et al., 2019; Land, 2020b)</i>		• TFAM • Formyl peptide • mROS
	Retículo endoplásmico	• Calreticulin
	Membrana	• Syndecans
	T regulatory lymphocyte	• resolvin D1 • resolvin D2 • maresin 1 a • TGFβ

Los DAMPs del tejido afectado activan vías de señalización en células adyacentes al sitio de lesión como citocinas con capacidad quimioatrayente (quimiocinas), que atraerán la llegada de macrófagos específicos del tejido con fenotipo proinflamatorio (M1) y células polimorfonucleares (PMNs) como neutrófilos, así como monocitos que salen de circulación sanguínea por marginación, diapédesis y quimiotaxis (Filippi & Biology, 2017). Los monocitos, macrófagos y dendríticas (DC) son células de linaje mieloide con capacidad presentadora de antígeno (ACP) y una gran capacidad fagocítica. La función de las ACP es fagocitar los patógenos y llevar a cabo dicha presentación a los ganglios linfáticos regionales a las células T (células de linaje linfoide madurado en el timo) (**Figura 17**). Posteriormente los macrófagos reclutados se encargarán de eliminar los restos celulares. Si el estímulo es eliminado, se liberan citocinas que promoverán la diferenciación de fenotipos de regulación como los macrofagos de tipo reparador o antiinflamatorio (M2). Si el factor inmunógeno no se elimina o si los estímulos son persistentes, se desarrolla un desbalance entre la tolerancia y la respuesta de acción que conlleva a montar una respuesta inflamatoria persistente o crónica (Schmid et al., 2017).

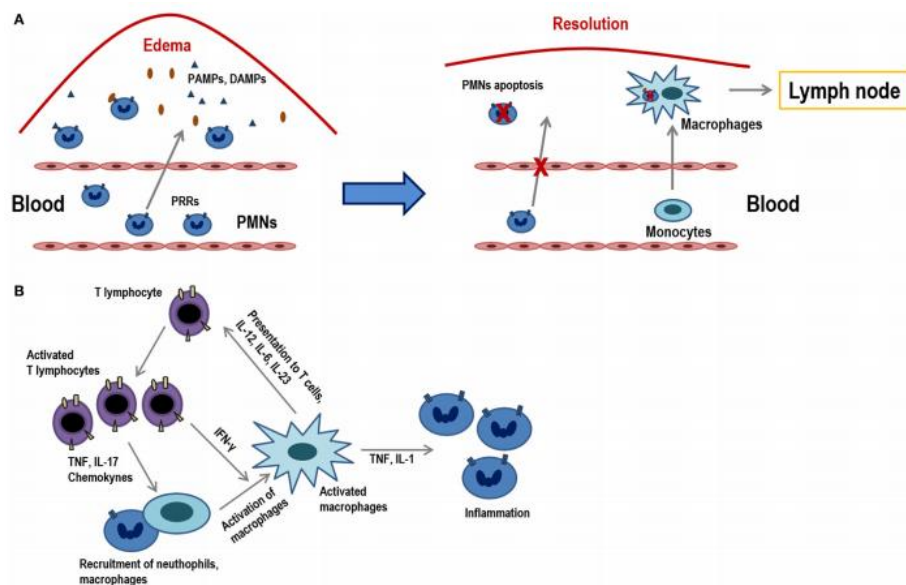


Figura 17. Respuesta inflamatoria aguda. Las células PMNs (polimorfonucleares) son reclutadas una vez se liberan señales asociadas a patógeno (PAMPs) o a daño (DAMPs) por las células del tejido afectado, formando un edema (A), posteriormente son atraídas células presentadoras de antígeno (ACP) quienes llevan el antígeno a las células T en los ganglios regionales (B). La presencia de células inflamatorias en el tejido afectado puede llevar a la reparación del tejido o que la respuesta inflamatoria continúe de manera crónica. Tomada de Moro-García 2018.

2.4.2 Respuesta Inflamatoria sistémica crónica

La inflamación crónica es una respuesta a largo plazo y de menor severidad en la que median células vascular, y células del sistema inmune adaptativo como los linfocitos T y B (Cain et al., 2009). Los linfocitos T son células mediadoras y reguladoras de la respuesta inflamatoria y estas atraviesan por diversos procesos de diferenciación y señalización durante los procesos de inflamación aguda y crónica. Una vez las células T naïve o vírgenes (CD3+) entran en contacto con una célula ACP estás adquieren un marcador de superficie CD4+ (cooperadores o helper) o citotóxico (CD8+) (Rugeles, 2017). Los linfocitos reconocen moléculas de superficie MHC, CD4+/tipo II y CD8+/tipo I. En el caso de los linfocitos T CD4+ estas tienen no presentan marcador por los que se les conoce como Linfocito T 0 (Th0), y dependiendo del estímulo ocurre una diferenciación a diversos subtipos como Th1, Th2, Th9, Th22, Th17, Th folicular (Tfh), Th regulador (Treg) (Zhu & Zhu, 2020).

Por ejemplo, la IL-4 promueve un fenotipo TH1 el cual induce citocinas quimioatrayentes y activadoras de otros linfocitos y macrófagos como TNF alfa, IL-17, IL-12, IL-6, IL-23 lo que desencadena una serie de señalización promotoras o inhibidoras para regular (Hoft et al., 2000). Los linfocitos T CD4⁺ Th1 pueden liberar citocinas (IL-4, IL-5, IL-13) y reclutar linfocitos de perfil Th2 (asociados a respuestas de hipersensibilidad o antiparasitaria) o IL-17 y activar linfocitos Th17 (autoinmunidad) u otros linfocitos de perfil proinflamatorio (Th9, Th22 y Tfh) **(Figura 18)**. (Erik Wambre, Eddie A James, 2013). En la inflamación crónica los linfocitos T CD4 del tipo regulador (Treg) liberan moléculas como TGF- β , IL-27 que promueven la tolerancia y permiten que la respuesta inflamatoria sea persistente.

Por otro lado, el linfocito CD8 es activado a través de tres procesos; estimulación antigénica (directamente de la ACP), estimulación por citocinas (perfil Th1) o indirectamente por CD4⁺ que al ser activadas por la ACP expresan CD40L en su superficie, el cual expresará MHC I en la superficie de la ACP que reconocerá el CD8⁺ (Soong et al., 2014). Luego de su activación ese se encargará de eliminar las células infectadas.

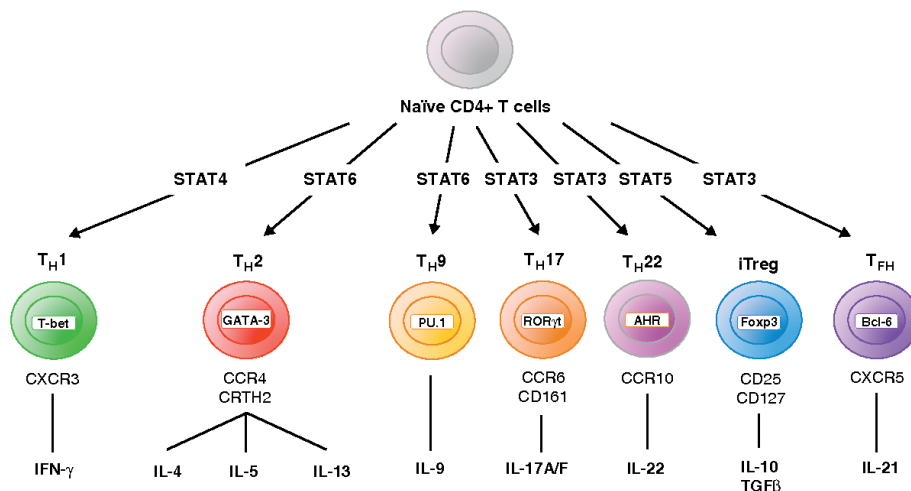


Figura 18. Subpoblaciones de linfocitos T CD4. Dependiendo del estímulo que recibe una célula T virgen o Th0 esta presentará un perfil de liberación de citocinas asociado a la inflamación (Th1, Th2, Th17) principalmente, o un perfil antiinflamatorio o de tolerancia (Treg). Modificado de Wambre 2012.

2.4.3 Moléculas inmunomoduladores durante la respuesta inflamatoria

Como se mencionó anteriormente la respuesta inflamatoria involucra la participación de células del sistema inmune principalmente de tipo innato durante la inflamación aguda como células dendríticas, monocitos, macrófagos, neutrófilos, basófilos y eosinófilos, asesinas naturales (NK), linfocitos $\gamma\delta$. Mientras que durante la inflamación crónica se observan células de la respuesta inmune adquirida como los linfocitos T y subtipos de células T CD4+ y CD8+, resumidas en la siguiente **Tabla 3 y Figura 19** (Dranoff, 2004).

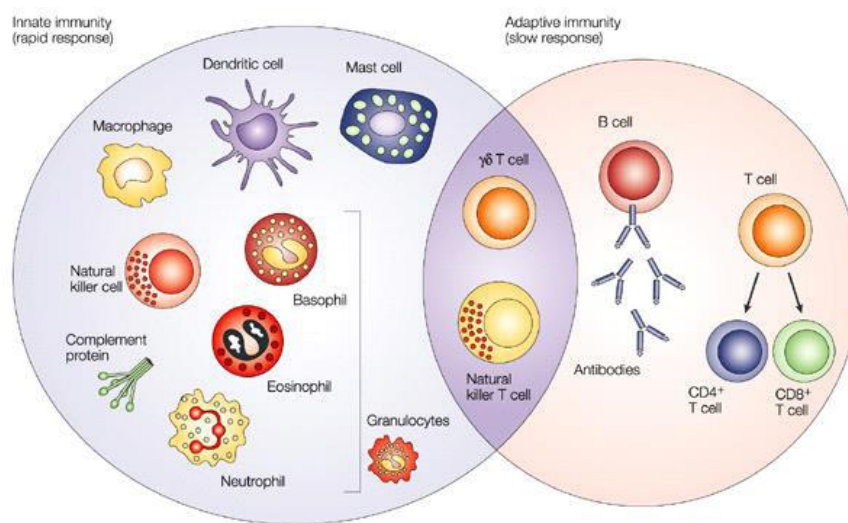


Figura 19. Componentes del sistema inmunológico. El sistema inmune innato principalmente se forma de células polimorfonucleares (neutrófilos, eosinófilos y basófilos), sistema de complemento, y células presentadoras de antígeno como macrófagos, monocitos y células dendríticas. El sistema adaptativo lo forman los linfocitos T y linfocitos B y sus subpoblaciones. Las natural killer (NK), y los linfocitos $\gamma\delta$ forman un vínculo entre ambas respuestas. Tomada de Nature Reviews Dranoff, 2004.

Tabla 3. Principales células del sistema inmune que montan la respuesta inflamatoria.

<i>Linaje</i>	<i>Células</i>	<i>Subpoblación</i>	<i>Función</i>	<i>Referencias</i>
Mieloides	Macrófago	M1	Desencadenan la respuesta inflamatoria al ser activados por DAMPs y PAMPs. Producen citocinas como TNF- α , IL-1 β and IL-6 y quimiocinas. Se caracterizan por producir iNOS (óxido nítrico sintetasa)	(Orecchi et al., 2019)
		M2	Liberación de citocinas como IL-4, IL-13 inducen un perfil caracterizado por Secretar moléculas antiinflamatorias, IL-10 and TGF- β . Se caracterizan por producir Agringase-I (estrés oxidativo).	(Jetten et al., 2013)
	Monocito	Circulación Residentes reguladores (CD204).	Después de un estímulo son reclutados y producen citocinas proinflamatorias en humanos (TNF, IL-12, PD1) y ratones (CX3CR1, CCR2, Ly6C). En ratones monocitos residentes CD204 disminuyen la respuesta inflamatoria.	(Uchida et al., 2020)
	Célula dendrítica	Convencional	La función principal de la DC es presentar antígenos a las células T cooperadoras. Libera citocinas como IL-12 e interferón α . El DC	(Soltani et al., 2020)

Respuesta
innata

Reguladora
(Dcreg)
regulador tiene una función
supresora, secreta factores
inhibitorios como PDL1, TGF-β,
IL-10

Linfoid e	Linfocito asesino naturales (NK)	Humanos Efectores (CD56 ^{high} CD16 [±]) Reguladores D56 ^{low} CD16 ^{high} Ratones Efectores CD11b ^{low} CD27 ^{high}	No reconocen el MHC (carecen de TCR) por lo que su papel en el control de las células tumorales es indispensable. La principal función de los CD56 ^{high} CD16 [±] es la citotoxicidad ya que tienen altos niveles de perforinas. Los reguladores activan o inhiben linfocitos CD8 y NK efectoras a través de la producción de NKG2A. Marcadores de superficie: NK1.1, NKp46	(Lopez-verges et al., 2017)
	Linfocito s γδ	Vδ2 T (reconoce pírofosfato) Vδ1 Vδ3 T cells	Representan del 1- 10% de los linfocitos circulantes. Promueven reparación de tejido e inmunotolerancia. La dieta de cafetería produce dermatitis mediada por células T γδ productoras de IL-17.	(Lei et al., 2020), (Coakley et al., 2020)

		Se dividen en 3 Vδ2 T (reconoce pirofosfato), Vδ1 y Vδ3 T cells reconocen glicoproteínas. (Z. Shi et al., 2020)
Linfocitos T	CD4 naïve, Th0, o virgen.	Se diferencian en otras células cooperadoras como Th1 con el estímulo de IL-12, Th2 con el estímulo de IL-4, o Th17 con IL-17. (Luca Roncati, 2020)
	CD4 Th1	Activa células CD8 a través de CD40/CD40L. Participa en la diferenciación de CD8 de memoria. Es el principal productor de citocinas proinflamatorias (IL-1β, IL-2, IL-12, TNF-α, and IFN-γ). Regula macrófagos. (H. Huang et al., 2006)
	CD4 Th2	Activan la respuesta inflamatoria ante helmintos, participan en la respuesta alérgica y activa la respuesta humoral. Secretan IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-13, and IL-17E (IL-25). Regula eosinófilos. (Nutman & Section, 2016)
	CD4 Th17	Participan en la respuesta autoinmune. Favorece la diferenciación de células T de memoria. Secreta IL-17, IL22, G-

CSF. Regula la función de neutrófilos.

CD4 Treg	Expresan el factor de transcripción Foxp3 en el núcleo y CD25 y CTLA4 en la superficie. Regulan la actividad de los linfocitos en la respuesta inflamatoria. Los Treg naïve se activan cuando la proporción de antígeno/MHC es desbalanceada. Son importantes en la progresión de la inflamación crónica y reprimen la respuesta inflamatoria exacerbada durante el consumo de dietas tipo cafetería.	(Sakaguchi et al., 2020) (Chaudhary et al., 2023)
----------	--	--

CD8	Orquestan la respuesta celular. Eliminan células infectadas y cancerosas. Se activan con citocinas con estímulo antigénico (ACP), citocinas (IL-2) e indirectamente por Th1 con la expresión de MHC I.	(Ekkens et al., 2007) (Chaudhary et al., 2023)
-----	--	---

2.4.3.1 Las citocinas regulan la respuesta inflamatoria.

Las citocinas son péptidos liberados por las células del sistema inmune y otros tipos celulares especializados como fibroblastos o células endoteliales (Krishnaswamy et al., 1999). Estas moléculas modulan la respuesta inflamatoria mediante una señalización autocrina y paracrina (Caldwell et al., 2014). El criterio de clasificación puede variar. Pueden ser clasificadas como citocinas proinflamatorias o antiinflamatorias. A través de mecanismos específicos como aquellas que participan en el reclutamiento de células (quimiocinas) o en la respuesta antiviral (interferones). También aquellas que son secretadas por células del sistema inmune (interleucinas), o concretamente el tipo celular; linfocitos (linfocina), monocitos (monocina). En la siguiente Tabla se resumirán las principales citocinas involucradas en la respuesta inflamatoria clasificadas de acuerdo con su actividad en la respuesta inflamatoria.

Tabla 4. Principales citocinas involucradas en la respuesta inflamatoria

<i>Tipo</i>	<i>Citocina</i>	<i>Actividad</i>	<i>Función</i>	<i>Fuente</i>
<i>Interferones</i>	IFN γ	Promueven la respuesta antiviral, activa Macrófagos, induce Th1, activa NK.		(Ashley et al., 2019)
	IFN α	Promueve células dendríticas		
	MCP-1	Su principal función es la de reclutar monocitos.		(Taghavi et al., 2019)
<i>Quimiocinas</i>	CXCL-8 /IL-8	Quimioatrayente del neutrófilos	Proinflamatorias	(Banisor et al., 2005)
	CCL3	Quimioatrayente de PMNs, pirógeno.		(Melo et al., 2009)

<i>Interleucinas</i>	TNF α	Activa MAPK y la vía de NF κ B	(Ting & Bertrand, 2016; Wajant & Scheurich, 2011)
	IL-1 β	Activa células T, regula la inflamación en la autoinmunidad, induce ciclooxygenasas.	(Dinarello, 2018)
	IL-1 α	Activa TNF α	
	IL-2	Diferenciación, supervivencia, activación y potenciación de T, expansión y activación de NK. En dosis bajas regula la activación y supervivencia de Treg, promueve tolerancia.	(Perry, 2018; Ye et al., 2018)
	IL-4	Activa el perfil Th1 de CD8	(Renkema et al., 2016)
	IL-6	Perfil ambiguo, como miosina tiene perfil antiinflamatorio, suprime TNF e IL-1. Como citocina induce IL-10.	(Fuster & Walsh, 2014)
	IL-12	Es producida por ACP activas durante la activación de T naïve. Activa DC y NK, produce perfil Th1. Está involucrada en la autoinmunidad.	(Sun et al., 2016)

IL-17	Incrementa la expresión de quimiocinas, TNF, IL-6. Se encuentra altamente expresada en enfermedades autoinmunes.	(Coakley et al., 2020)
IL-18	Junto con IL-12 induce la producción de IFN γ en NK.	
IL-4	Activa las células Th1, diferencia células B en plasmáticas. Inhibe perfil de macrófagos M1 y promueve el perfil M2.	(Renkema et al., 2016)
IL-10	Disminuye Th1, MHC II, inhibe NF κ B, TNF	(Kany et al., 2019)
TGF- β	Inhibe proliferación de células T autoreactivos, activa Treg. Junto con IL-6 induce la diferenciación de Th17.	(Shomyseh Sanjabi, 2010)

Antinflamatorias

2.4.4 Acoplamiento metabólico durante la respuesta inflamatoria

Otra característica observada durante la modulación y regulación de la respuesta inflamatoria es el papel del metabolismo mitocondrial. Se ha reportado que linfocitos efectores CD4⁺ durante el estadio no diferenciado (Th1) presentan un metabolismo que implica la fosforilación oxidativa (OXPHOS) (Hsiao & Hoppel, 2018). Por otro lado, ante un estímulo proinflamatorio estos presentan un mayor empleo de la vía de glucólisis (aumento de receptores (GLUTs) y oxidación de lípidos, debido a que son una fuente más rápida para la producción de ATP. Por otra parte, el fenotipo T regulador (antinflamatorio o supresor) se ha reportado tiene una mayor metabolismo asociado a la fosforilación oxidativa (OXPHOS) y oxidación de ácidos grasos, ya que PD-1 y CTLA4 son capaces de inhibir la glucólisis (Patsoukis et al., 2015) Esto se confirma con estudios donde la administración de α -cetoglutarato es capaz de revertir el fenotipo de linfocitos T reguladores (antinflamatorios) en linfocitos de respuesta Th1 (proinflamatoria),

debido a un switch metabólico asociado a la acumulación y síntesis de ácidos grasos (Matias et al., 2021) (**Figura 20**) (Moro-garcía et al., 2018). Sin embargo, esta reprogramación metabólica también se ha observado en linfocitos senescentes con una disfunción del metabolismo mitocondrial y un aumento de la glucólisis, donde se favorece la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS). En el caso de las células mieloides del sistema innato también se ha reportado que macrófagos M1 es caracterizado por potencializar la glucólisis, incrementar la síntesis de ácidos grasos, y bloquear el ciclo del ácido cítrico lo que conlleva a disfunciones celulares afectando la función de la célula y generando tolerancia (Zubair et al., 2021) Por otro lado, el metabolismo implícito en el M2 es definido por aumentar la fosforilación oxidativa y reducir la glucólisis (Harris, 2017). Lo que indica que el metabolismo y sus intermediarios metabólicos podrían interferir en el desarrollo y mantenimiento de la respuesta inflamatoria en condiciones de homeostasis y durante el proceso patológico a patógenos y condiciones psiquiátricas. A continuación, detallamos el efecto de la respuesta inflamatoria en enfermedades psiquiátricas.

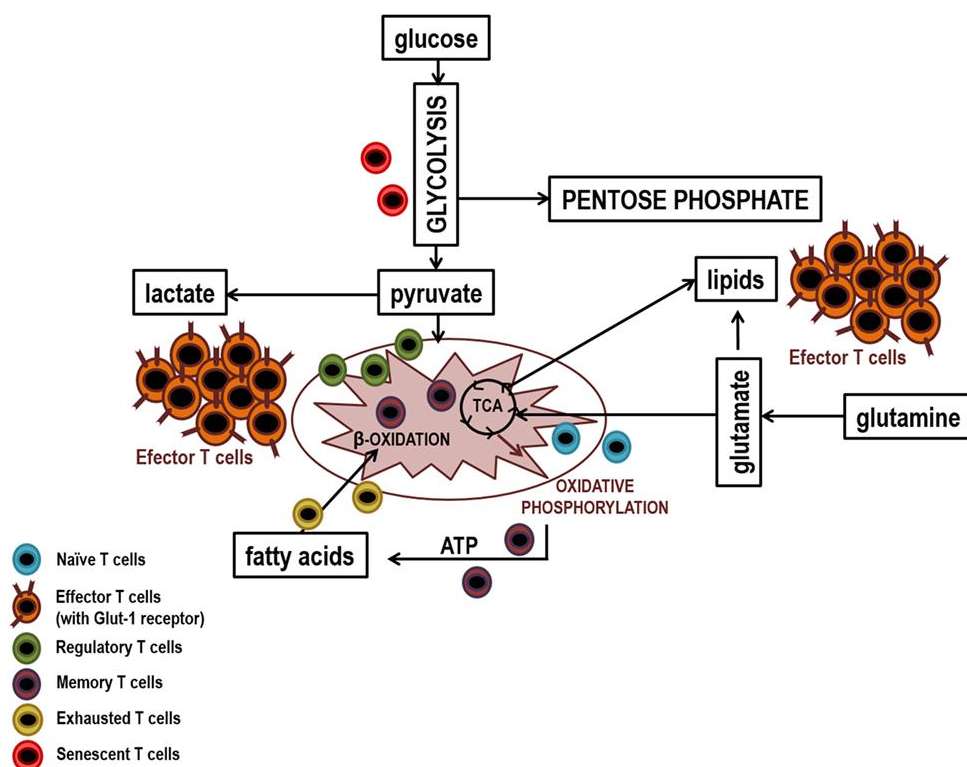


Figura 20 Principales rutas metabólicas en linfocitos durante la respuesta inflamatoria. Los linfocitos naïve utilizan la fosforilación oxidativa. Las células de memoria y linfocitos exhaustos ruta de ácidos grasos. Linfocitos senescentes la glicolisis y los linfocitos efectores la vía de lactato.

2.4.5 Respuesta inflamatoria periférica en la enfermedad psiquiátrica y el TEA

En ganador del premio Nobel en 1927, Julius Wagner-Jauregg propuso la participación del sistema inmune en el desarrollo de la enfermedad psiquiátrica. La neuroinflamación es un proceso que involucra la respuesta inflamatoria periférica en el sistema nervioso (Lurie, 2018). Consiste en una respuesta inflamatoria de tipo crónico (Najjar et al., 2013). Y se asocia con el desarrollo de enfermedades neurológicas y mentales como la depresión, la ansiedad, esquizofrenia y dolor. Como se mencionó antes, los factores como el estrés en etapas del desarrollo o infecciones durante la gestación (PANDA) imprimen un fenotipo proinflamatorio en la microglía (Lurie, 2018). Se ha encontrado evidencia de como incrementan los niveles de citocinas inflamatorias en circulación de pacientes con psicosis. Sin embargo, el papel de la neuroinflamación en cerebro no es claro. (Mondelli et al., 2017). Reportes en sangre de pacientes con TEA se ha encontrado un nivel mayor de citocinas proinflamatorias como GM-CSF, TNF- α , IL-1 β e IL-6, INF- γ , e IL-13 (Xu et al., 2015). Se ha demostrado que distintos fármacos que disminuyen la inflamación (inhibidores de TNF e IL-1 β) muestran mejoría clínica en enfermedades mentales. En un estudio realizado en 2020 encontraron que pacientes con depresión muestran un mayor número de neutrófilos, CD4, monocitos, IL-6 y proteína C reactiva (Lynall et al., 2019). De interés, en individuos con depresión resistente al tratamiento con antidepresivos y no tratados con medicación exhiben una mayor expresión en sangre de IL-1, IL-6, TNF, P2RX7, CCL2, CXCL12, proteína C reactiva (CRP), alpha-2-macroglobulin (A2M), acquaporin-4 (AQP4), ISG15, STAT1 y USP-18, así como bajos niveles del receptor de glucocorticoides (Cattaneo et al., 2020). Estas evidencias demuestran claramente, la presencia de perfiles de inflamación a nivel cerebral en regiones importantes para el control conductual. Además, se ha reportado que ratones bajo estrés psicosocial tienen una mayor activación de microglía en hipocampo, NAc, amígdala, núcleo paraventricular y corteza prefrontal (Calcina et al., 2016). En otro estudio realizado en muestras posmortem encontraron que existe un aumento de IL-6 y TNF en individuos que tenían depresión, además se reportó un incremento en activación de microglía, pero un menor número de astrocitos y oligodendrocitos. La reducción de astrocitos se relacionó con la pérdida de la integridad de la BBB (Enache et al., 2019).

2.5 Neuroinflamación

Hasta hace algunos años el cerebro se consideraba un órgano inmunoprivilegiado ya que se creía que los antígenos en circulación sanguínea, y las células del sistema inmune en periferia no tenían acceso al parénquima debido a las barreras físicas, la falta de conexión con el sistema periférico a través de la vía linfática, y que las células de la microglía (célula encargada de la respuesta inmune en cerebro) tenía una menor expresión de MHC II (Louveau et al., 2015). Sin embargo, ahora se conoce que en condiciones fisiológicas existe presencia de células T de memoria, células NK, macrófagos, monocitos y células dendríticas (DC), en circulación cerebral y meninges, las cuales poseen un perfil regulador que conectan el sistema inmune periférico y local (Negi & Das, 2017).

2.5.1 Inmunidad del Sistema Nervioso

El cerebro anatómicamente es una estructura cerrada protegida por el fluido cerebroespinal y las meninges (duramadre, piamadre, aracnoides). Su principal protección ante los patógenos está fundamentada en la separación entre su circulación y la circulación periférica por tres barreras: barrera hematoencefálica o blood brain barrier (BBB), barrera hemato-fluido cerebroespinal o blood-cerebrospinal fluid (CSF) barrier (BCSFB), barrera sangre-aracnoides o blood-arachnoid barrier (BAB) (Engelhardt & Sorokin, 2009). La más importante es la BBB ya que ésta separa la sangre del espacio del fluido intersticial (ISF), y controla el flujo bidireccional del fluido intersticial (ISF) a través del endotelio vascular. Otro mecanismo de protección es el sistema linfático conocido como sistema glinfático (glial cell-supported lymphatic), el cual drena el exceso de fluido y solutos del líquido cefalorraquídeo al fluido intersticial (ISF) y el fluido cerebroespinal (CSF), los cuales son conducidos al espacio subaracnoideo y después dentro del cerebro a los espacios perivenosos, finalmente hacia el espacio linfático cervical (Jessen et al., 2016). Una vez que el patógeno atraviesa las barreras físicas, las células de la unidad neurovascular o NVU (Neurovascular Unit) regulan la entrada al parénquima. La NVU está constituida por células endoteliales, pericitos, astrocitos, macrófagos perivasculares, neuronas y microglía (Bell et al., 2020). En condiciones de homeostasis los pericitos restringen la entrada de las células inmunes inhibiendo la función de las células T, activando las Treg a través de la producción de TGF β y ácido retinoico, y reteniendo los linfocitos en el espacio perivascular.

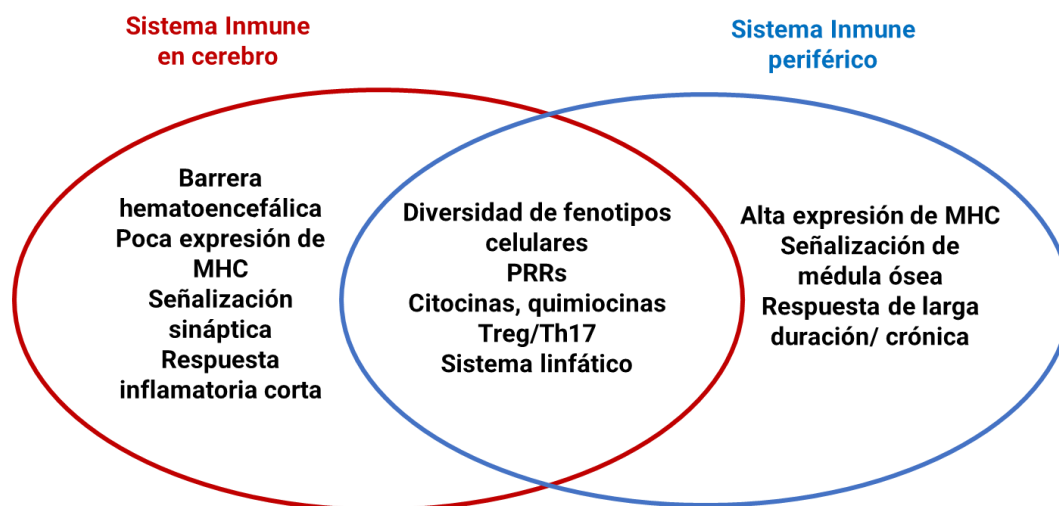


Figura 21. Similitudes y diferencias entre la respuesta inmune en cerebro y periférica. El Sistema nervioso posee barreras físicas como la barrera hematoencefálica (BBB), una menor expresión de MHC II, un sistema linfático no convencional. Adaptada de Negi 2018.

Los patógenos pueden invadir y tener acceso al parénquima nervioso de diversas maneras. Una vez que llegan al nervio olfatorio, después de atravesar la barrera entre el tejido epitelial y el tejido conectivo (vía mucosa-nasal), se diseminan a lo largo del nervio olfatorio hasta el bulbo olfatorio, meninges y espacio subaracnoideo. Estando ahí, pueden ingresar a sitios que no poseen barrera hematoencefálica (BBB), ya que la barrera hematoencefálica es una región como anteriormente se mencionó, formada por células endoteliales y pie de astrocitos, que sólo es permeable durante el proceso inflamatorio (**Figura 21**). Uno de estos sitios que carecen de BBB es el plexo coroideo, el cual es el encargado de la producción del líquido cefalorraquídeo, el cual posee una barrera hemato-fluido cerebroespinal (BCFSB), que sólo está formada por células endoteliales con mayor permeabilidad (C.E. Johanson et al 2017).

Otra forma de ingreso de patógenos al cerebro es utilizando a las células inmune periféricas como un caballo de troya, las cuales pueden atravesar por el espacio extracelular vía células endoteliales de la BBB (Santiago-tirado & Doering, 2017). Algunos virus y priones ingresan de forma directa al parénquima vía axonal, viajan de manera retrograda ascendente por axones de neuronas motoras sensitivas, como el Herpes virus que viaja por el nervio trigémino, y priones por el nervio vago. Existe un sistema de vigilancia inmunológico para la detección de

patógenos en meninges y plexo coroideo el cual se ha reportado que es orquestado por las células dendríticas (DC) derivadas de la médula ósea (**Figura 22**). Estas reconocen a los patógenos y los llevan a los nódulos linfáticos cervicales.

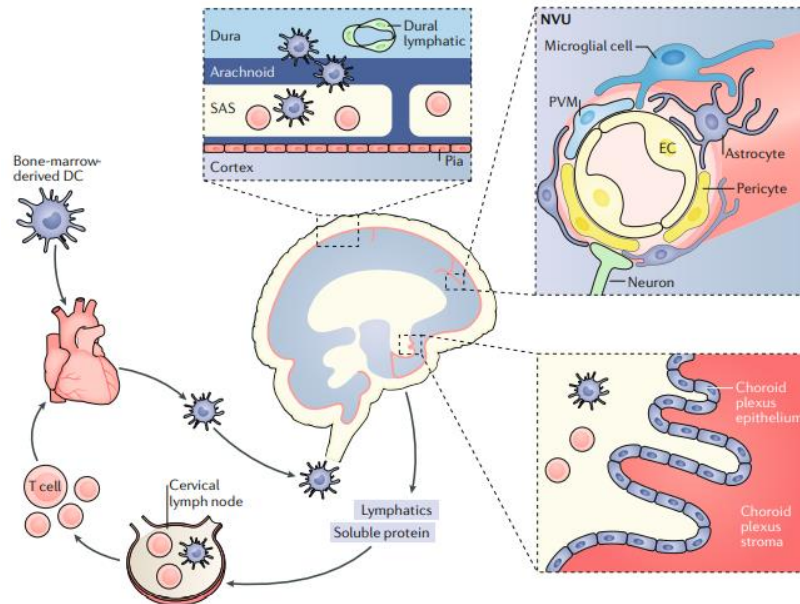


Figura 22. Las células dendríticas (DC) son células derivadas de la médula ósea que actúan como centinelas en las meninges. Una vez ocurre un estímulo por parte de la microglía, astrocitos, células endoteliales y macrófagos perivascuales (unidad neurovascular), estas atraviesan la barrera hematoencefálica. Llegan a nódulos cervicales a través del líquido cefalorraquídeo (CFS). Células endoteliales (EC), macrófagos perivascuales (PVM), espacio subaracnoideo (SAS). Tomada de Forrester, 2018.

2.5.2 Microglía: célula involucrada en la coordinación del sistema inmune cerebral

Sin embargo, ya estando en el parénquima, la microglía y los macrófagos perivascuales son la primera línea de defensa, juntos promueven la disrupción de la BBB y permiten el acceso de otras células inflamatorias. La microglía es una célula derivada de linaje mieloide que forma parte del conjunto de células que forman el tejido nervioso. Durante el desarrollo fetal, las células progenitoras de la microglía migran al cerebro del saco vitelino en el día E8.5. Evidencia reciente muestra que la maduración de la microglía es regulada por linfocitos T CD4 residentes del cerebro (Pasciuto et al., 2020). Una vez madura, la microglía contribuye al desarrollo de la unidad neurovascular y de la BBB durante el desarrollo fetal. Además,

contribuye a la maduración de células gliales y neuronales, y regula procesos como la poda sináptica. Bajo condiciones normales la microglía se encuentra ramificada, en estado de reposo expresa bajos niveles de MHC I y II. En estado activado la microglía inicia la secreción de citocinas (IL-1, IL-6, TNF, MCP-1, RANTES), quimiocinas para reclutar linfocitos, sobre expresa receptores de reconocimiento de patógenos en superficie como TLRs, receptores de fagocitosis (CR3, CR4), y moléculas co-estimuladores como B7.1, CD40, CD80 y CD86 para inducir proliferación y producción de citocinas por las células T. Los productos de la microglía activa viajan por circulación, los cuales pueden ser transportados en el fluido cerebroespinal (CSF) por el sistema linfático de las meninges hacia los nódulos linfáticos (Forrester et al., 2018).

Históricamente al igual que otros macrófagos la microglía se clasifica en dos fenotipos: M1 o proinflamatorio el cual se caracteriza por expresar CD16, CD32, así como la glicoproteína de superficie CD86, el cual participa como ligando de CD38 en la co-estimulación de la respuesta T. Y el fenotipo antiinflamatorio, de reparación o M2 que se caracteriza por la expresión de TGF β , IL-10, y el receptor de manosa CD206 como se observa en la **Figura 23** (J. Wang et al., 2023). Se ha detectado otro tipo de microglía relacionado con enfermedades neurodegenerativas y neurológicas: Microglía asociada a fenotipo neurodegenerativo o MGnD (neurodegenerative phenotype) y microglía asociada a enfermedades o disease-associated microglía (DAM) caracterizado por la expresión de TREM2. Una vez iniciado el proceso neuro inflamatorio, como mecanismo regulador la microglía expresa receptores inductores de muerte como FAS que causan muerte celular regulada en células T. En condiciones fisiológicas el cerebro cuenta con una gran población de células T de tipo regulador, las cuales son las principales encargadas de montar los mecanismos de tolerancia (Negi & Das, 2017).

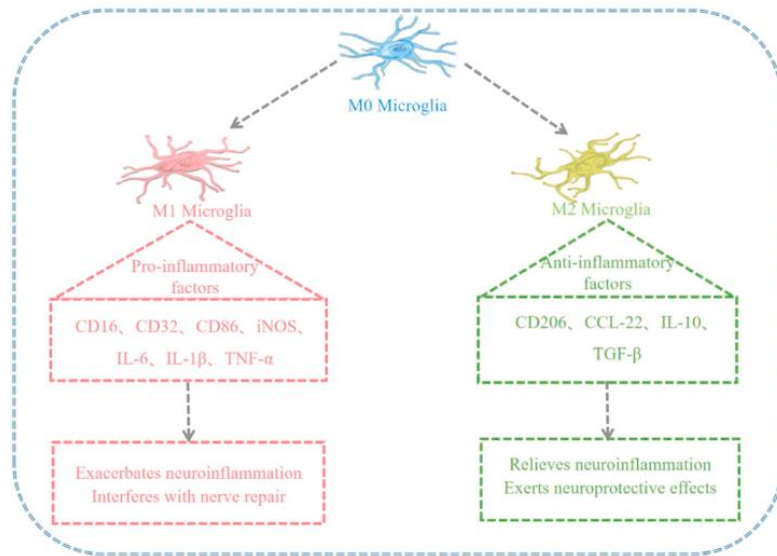


Figura 23. Clasificación de la Microglía de acuerdo a marcadores de superficie en fenotipo M1 o M2 (J. Wang et al., 2023)

2.5.3 Acoplamiento metabólico en la actividad de la microglía durante la neuroinflamación

Como se mencionó anteriormente, la microglía en estado inactivo, vigilante o residente posee diversas características; una de ellas es un perfil metabólico que utiliza la oxidación de ácidos grasos como ruta metabólica para generar energía, y que una vez recibe un estímulo de activación, sufre una reprogramación metabólica que la conduce a la utilización de la glucólisis aerobia (Harry et al., 2020). Se realizó un estudio donde se sugiere que dicha polarización es dependiente de la actividad de la Histona H2K27me3 (Orihuela et al., 2016). Estos mecanismos integran el acoplamiento metabólico para una respuesta eficiente.

2.5.3.1 Microglía de fenotipo proinflamatorio M1 y Microglía patogénica utiliza la vía glucolítica

Anteriormente se mencionó que durante la inflamación las células con perfil inflamatorio como linfocitos TH1 y macrófagos, compensan las demandas incrementadas de energía con una mayor expresión de transportadores de glucosa (GLUTs), la cual aumenta la captación de glucosa. Recordemos que la glucólisis es la ruta metabólica que convierte la glucosa en piruvato a través de 10 reacciones catalíticas que, junto con el metabolismo del piruvato, ciclo de Krebs y cadena transportadora de electrones forman la respiración aeróbica, la cual genera alrededor de 36 moléculas de ATP, 2 de ATP por glicolisis y 34 por fosforilación oxidativa

(Harry et al., 2020). En particular, la microglía expresa una alta concentración de proteínas transportadoras de glucosa, GLUT 1, 3, 5 (glucose transporter 1, 3 y 5). En condiciones fisiológicas de respuesta ante un patógeno la microglía activa utiliza el metabolismo de la glucosa para la generación de ROS y NADH necesarios para generar óxido nítrico (NO) por la enzima óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) y la NADPH oxidase enzymatic complex (NOX2), los cuales emplea para la eliminación de patógenos (Baillet et al., 2017). La función mitocondrial, la disponibilidad de la glucosa y la tasa de glicolisis conduce a un perfil inflamatorio a través de expresión génica regulada a nivel transcripcional y postranscripcional. La evidencia sugiere que mayores niveles de glucosa conducen a la transcripción de genes proinflamatorios por diversos mecanismos como la formación de proteínas modificadas y lípidos, producto de las no reacciones enzimáticas durante la glucólisis como los AGE (glycation end-products). También se ha reportado la sensibilidad a correpresores como CtbP (C-terminal binding protein) y NADH (nicotinamide adenine dinucleotide) que regulan la formación del inflamosoma (Ghosh et al., 2019). En macrófagos periféricos y microglía se ha encontrado que la privación de glucosa y oxígeno, así como la inhibición de la vía glucolítica altera la respuesta inflamatoria. Otros estudios muestran que la inhibición de la glicolisis disminuye la inflamación a través de la inhibición de NFκB (Yahfoufi et al., 2018). Sin embargo, se ha reportado que después de 24 horas de privación de glucosa, puede restablecer su respuesta inflamatoria a través del uso de otras vías metabólicas, principalmente utilizando ácidos grasos (F. Wang et al., 2019). Durante el estado glucolítico ocurre un decremento de la función mitocondrial, por la inducción del óxido nítrico (Afridi et al., 2020). Se ha reportado que en enfermedades neurodegenerativas como Alzheimer la microglía adquiere un fenotipo conocido como patogénico (MHC-II+/IFN-I+/TREM2+/L1+) el cual se caracteriza por una mayor producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) por aumento de la NADPH oxidase enzymatic complex (NOX2) (Rangan et al., 2022). Además, libera fragmentos de mitocondria al espacio extracelular que activan astrocitos de perfil A1[138] y un subfenotipo de Linfocitos CD4 Eomes+ que propagan la neurotoxicidad (C. Zhang et al., 2023) Los mecanismos resumidos en la **Figura 24**.

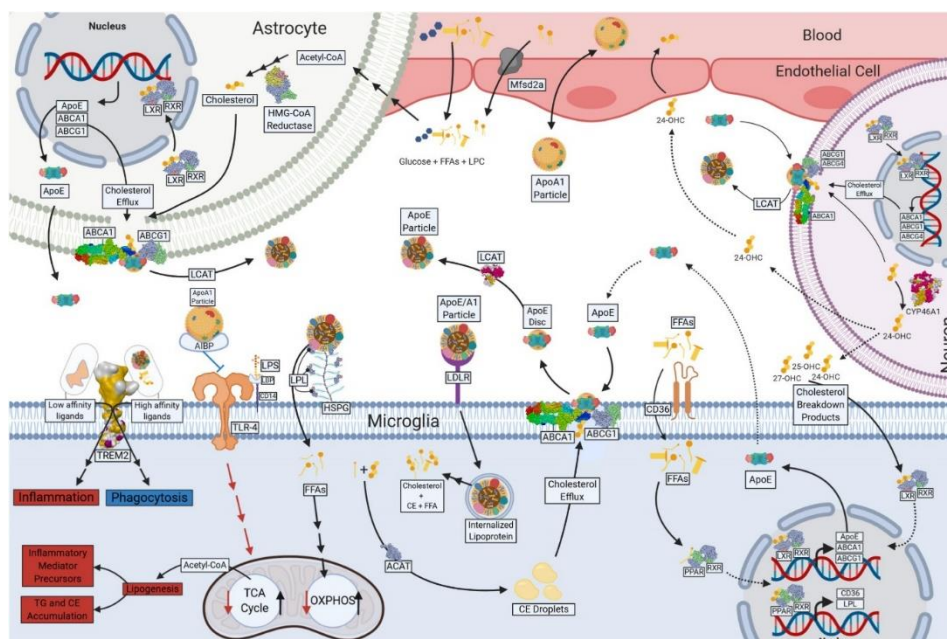


Figura 24. Metabolismo de la microglía. La microglía internaliza los lípidos transportados por los astrocitos (ApoE) unido a TREM2, TLR-4 LDLR y LPL y ácidos grasos libres a (PPARS) que regulan el flujo del colesterol a través de ABCG1 Y ABCA1, lo cual favorece a un metabolismo oxidativo y funciones antiinflamatorias. Imagen tomada de (Loving et al., 2020)

2.5.3.2 Microglía de fenotipo reparador M2 emplea la vía de oxidación de ácidos grasos y fosforilación oxidativa

Como se mencionó anteriormente la microglía en reposo utiliza la ruta metabólica de la oxidación de ácidos grasos (Harry et al., 2020). Estos son internalizados a través de la BBB en lipoproteínas acarreadoras como Apo1 (Apolipoprotein A1), siendo los astrocitos son la mayor fuente de productores de acarreadores de lípidos (ApoE), estas partículas lipídicas son liberadas por las ApoE e interactúan con TLR4, TREM2 (Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells 2), LDLR (Low-Density-Lipoprotein Receptor) y LPL (Lipoprotein Lipase) en la superficie de la microglía, quienes se unen a los transportadores ABCA1 (ATP Binding Cassette Subfamily A Member 1) y ABCG1 (ATP Binding Cassette Subfamily G Member 1) las cuales regulan el flujo de colesterol (**Figura 25**). Los ácidos grasos libres entran a la célula a través de proteínas trasportadoras como SLC27, que los conducen al citosol unidos a la acil coenzima A (acil CoA R-CO-SCoA) y luego son internalizados a la membrana mitocondrial interna (Black et al., 2017). También actúan como ligando para los receptores PPAR (Peroxisome Proliferator Activated Receptors), los cuales conducen a un cambio en la

transcripción de genes que regulan el flujo de colesterol (ABCG1 Y ABCA1) y el consumo de lípidos (LPL y CD36). De manera fisiológica los ácidos grasos libres y la glucosa proveen de energía a las neuronas y la glía, sin embargo, bajo condiciones de ayuno o inanición estos son utilizados a través de la beta oxidación es un proceso catalítico en cuatro reacciones que separa dos carbonos del extremo carboxilo de los ácidos grasos para generar 14 moléculas de ATP. El consumo de ácidos grasos, fosfolípidos y colesterol favorecen un metabolismo oxidativo y funciones antiinflamatorias. Por otro lado, en condiciones patológicas existe una polarización de fenotipo debido a un menor consumo de lípidos por parte de la microglía, que conlleva a un menor número de ligando de TREM2, un mayor uso de la glucolisis, un incremento del perfil inflamatorio y una mayor acumulación de lípidos. Beckers y colaboradores sugieren que la pérdida de MFP2 (multifunctional protein 2) una enzima que participa en la beta oxidación de ácidos grasos en peroxisomas en microglía de ratones transgénicos conduce al desarrollo de problemas motores asociado a una mayor proliferación de la microglía en cerebro(Beckers et al., 2019). Además, una microglía proinflamatoria no funcional (senescente), acumula una gran cantidad de lípidos que impide una correcta respuesta para fagocitar (Figura 25) (Loving et al., 2020). Lo que conlleva una acumulación excesiva de balsas lipídicas en la microglía favorece un fenotipo proinflamatorio patogénico asociado a enfermedades metabólicas e inflamatorias relacionado con una disminución en un tipo de autofagia denominado lipofagia (Q. Li et al., 2023)

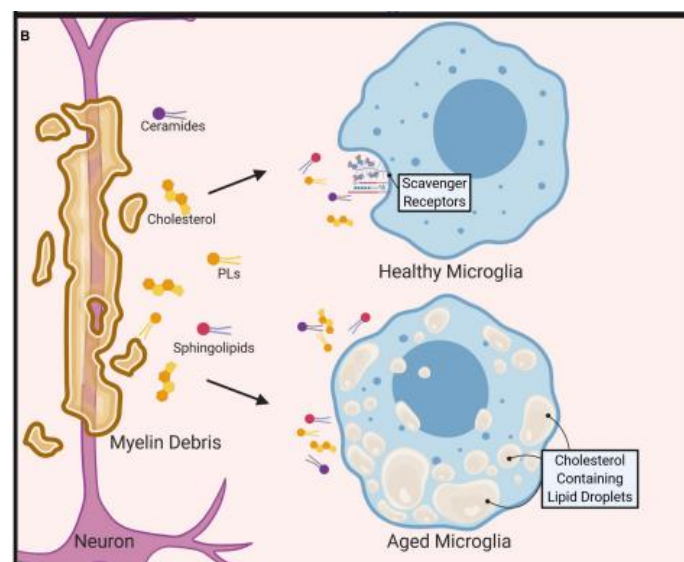


Figura 25. Acumulación de lípidos en la Microglía con perfil inflamatorio. La microglía con perfil inflamatorio o envejecido retiene lípidos como colesterol, ceramidas y esfingolípidos que

no le permiten realizar un proceso de fagocitos eficiente. Imagen modificada de (Loving et al., 2020)

2.6 Neuroinflamación en el TEA

Diversos estudios se han publicado para determinar el papel que juega el sistema inmune y la neuroinflamación en el desarrollo del TEA. En un estudio de 2015 se encontró que pacientes con TEA presentan un nivel mayor de citocinas proinflamatorias como GM-CSF, TNF- α , IL-1 β e IL-6, INF- γ , e IL-13 en sangre (Xu et al., 2015), además muestras postmortem de pacientes con TEA señalan un mayor población de linfocitos en cúmulos perivascuales en diversas regiones cerebrales, principalmente neocorteza, ganglio basal, cerebelo, y leptomeninges. De esos linfocitos fue un mayor porcentaje de células T, a comparación de las B, y un mayor número de CD8, a comparación de CD4. En este estudio señalan que la formación de vesículas citotóxicas derivadas de astrocitos facilita la permeabilidad de la barrera sangre fluido cerebroespinal (BCSFB) (Distasio et al., 2019). También se ha reportado un incremento de citocinas de perfil Th1 como IL-1 β , IL-6, IL-17 y TNF- α , en regiones cerebrales que modulan la conducta autista, tales como el hipocampo (Siniscalco et al., 2018). Como se ha mencionado antes, la microglía es la principal responsable de la respuesta inflamatoria en cerebro, y se ha reportado juega un papel importante en el desarrollo del TEA (J. W. Kim et al., 2018). Se ha mostrado evidencia de que las células de la microglía y los astrocitos modifican la conductividad de las neuronas y la función sináptica en el sujeto TEA (**Figura 26**). En una revisión realizada por Matta y colaboradores en 2019, se mostró que existe una mayor proporción de microglía activa que astrocitos en cerebros autistas. Esto asociado a que los astrocitos de manera fisiológica regulan la permeabilidad de la Barrera BBB y BSCFB al reclutamiento de otras células del sistema inmune (Michinaga & Koyama, 2019). También se mostró que la microglía activa genera una disfunción de la sinapsis glutamatérgica. Y que altos niveles de TNF α e IL-1 β generan deficiencias cognitivas (Matta et al., 2019).

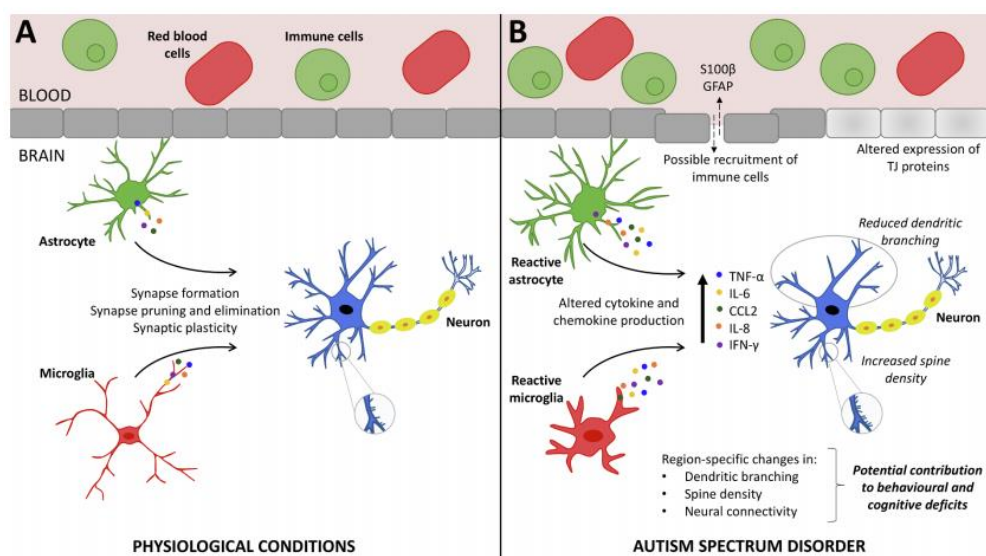


Figura 26. Papel de la microglía y los astrocitos en condiciones fisiológicas y sujetos con TEA. Bajo condiciones fisiológicas la microglía y los astrocitos regulan las funciones sinápticas como lo es la poda sináptica y los estímulos de eliminación de células muertas. En TEA, los astrocitos y la microglía activa favorecen la disrupción de la barrera hematoencefálica y el incremento de TNF- α , IL-6, CCL2, IL-8 y células del sistema inmune, que ocasionan una mayor citotoxicidad, excitabilidad y disfunción de la conductividad sináptica. Tomada de Matta 2019.

Tabla 5. Principales citocinas en sistema nervioso de pacientes con TEA. Adaptada de Matta y colaboradores 2019.

Citocina	Muestra	Comentario	Región
TNF α	Suero, CSF	Incrementada	Corteza cerebral frontal
TGF β 1	Tejido nervioso	Incrementada	Giro cingulado anterior, giro frontal medial, Cerebelo
IL-6	Tejido nervioso	Incrementada	Cerebelo

IL-1β	Tejido nervioso	Incrementada	Corteza cerebral frontal
GM-CSF	Tejido nervioso	Incrementada	Corteza cerebral frontal
IFN-γ	Tejido nervioso	Incrementada	Corteza cerebral frontal
IL-10	Tejido nervioso	Incrementada	Giro cingulado anterior
MCP-1	Tejido nervioso	Incrementada	Giro cingulado anterior, giro frontal medial,
IL-8	Tejido nervioso	Incrementada	Corteza cerebral frontal

Evidencias muestran que la sobre actividad de la microglía conduce a un incremento de la poda sináptica, disfunción de la actividad neuronal y al desarrollo de un comportamiento depresivo, ansiedad y distanciamiento social (Stein et al., 2017). Sumando a lo anterior, un estudio realizado por Jyonouchi y colaboradores, publicado en febrero de 2020, reporta que el metabolismo de las células en sujetos con TEA está estrechamente relacionado a su perfil inflamatorio. Ellos encontraron marcadores de la cadena transportadora de electrones como la máxima capacidad respiratoria (MRC), la capacidad de reserva (RC) fueron aumentados en células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de sujetos autistas. Estos parámetros fueron correlacionados con altos radios de IL-1 β /IL-10. Sus resultados indican que cambios en la función mitocondrial son debidos a cambios adaptativos o una actividad mitocondrial disfuncional (Jyonouchi et al., 2019).

2.6.1 Neuroinflamación por dieta es mediada por JNK

Recientes investigaciones muestran que la neuroinflamación también puede ser estimulada por la dieta alta en calorías (Prada et al., 2005). Se ha reportado ampliamente que una de las vías

involucradas durante el consumo de dietas occidentales o de cafetería es la vía de JNK (Just Another kinase). Esta vía se encuentra mediada por el estrés en el retículo endoplásmico (ER stress) a través de la integración de la vía Bip/ATF6 y la fosforilación de JNK (c-Jun N-terminal). La respuesta al mal plegamiento de proteínas (UPR) en el retículo endoplásmico es mediado por el aumento de la chaperona Bip (binding immunoglobulin protein), la cual en condiciones de homeostasis se localiza en el lumen del retículo endoplásmico uniéndose a polipéptidos recién sintetizados para mantener su correcto plegamiento y facilitando su traslocación en el retículo. Durante el estrés, aumentan los niveles de Bip, la falta de afinidad debido al mal plegamiento evita la traslocación de las proteínas por el ER y favorece la acumulación y degradación. Sin embargo, la acumulación excesiva conduce a la disociación de Bip de IRE1 (Inositol-Requiring Enzyme 1), PERK (Protein Kinase RNA-like ER Kinase) y ATF6 (Activating Transcription Factor 6) (Adams et al., 2019; Cyr & Hebert, 2009) cuya subunidad citosólica es traslocada al aparato de Golgi donde es cortada para actuar como factor de transcripción. El aumento de ATF6 y IRE1 promueve la activación de JNK (c-Jun N-terminal) a través de TRAF2 (TNF Receptor-Associated Factor 2) (Siegmond et al., 2022). La consecuente fosforilación de c-jun conlleva a la señalización de I κ B α /NF κ B promoviendo a su vez la expresión de citoquinas proinflamatorias como IL-1 β y TNF α (Guo et al., 2020; Sano & Reed, 2013), promoviendo una respuesta inflamatoria (Guo et al., 2020; Sano & Reed, 2013). Se ha observado una expresión génica relacionada con los genes de estrés UPR/ER en regiones cerebrales como la Cx de pacientes con TEA (Crider et al., 2017). Este efecto inducido de la dieta sobre la inflamación no sólo se ha descrito cuando el sujeto directamente consume la dieta, sino también a través de la gestación (**Figura 27**).

En 2019, Maldonado y colaboradores reportaron que ratas alimentadas con dieta alta en carbohidratos y grasas durante la preñez, generaba la activación de la microglía en las crías y un perfil inflamatorio en cerebro y (Maldonado-Ruiz et al., 2019). El efecto del entorno materno sobre la fisiología, metabolismo y conducta de las crías se ha estudiado recientemente. La programación fetal es proceso que describe como los estímulos ocurridos al feto durante la gestación (como el estrés metabólico, el estrés nutricional), genera trastornos de la conducta como la depresión y la adicción, durante la etapa adulta de las crías (Montalvo-martínez et al., 2018). En un estudio aún no publicado se evaluó el efecto de la dieta de cafetería (CAF) durante gestación y lactancia de ratones C57B6, sobre la conducta de su descendencia. Se demostró que los hijos de madres alimentadas con CAF mostraban problemas de sociabilidad y ansiedad.

Además, se observó que presentaban un aumento de volumen en corteza somatosensorial y decremento en volumen de cerebelo, así como un marcado aumento de citocinas proinflamatorias como MCP-1 y TNF α en sangre y tejido nervioso (Roger Maldonado, 2020).

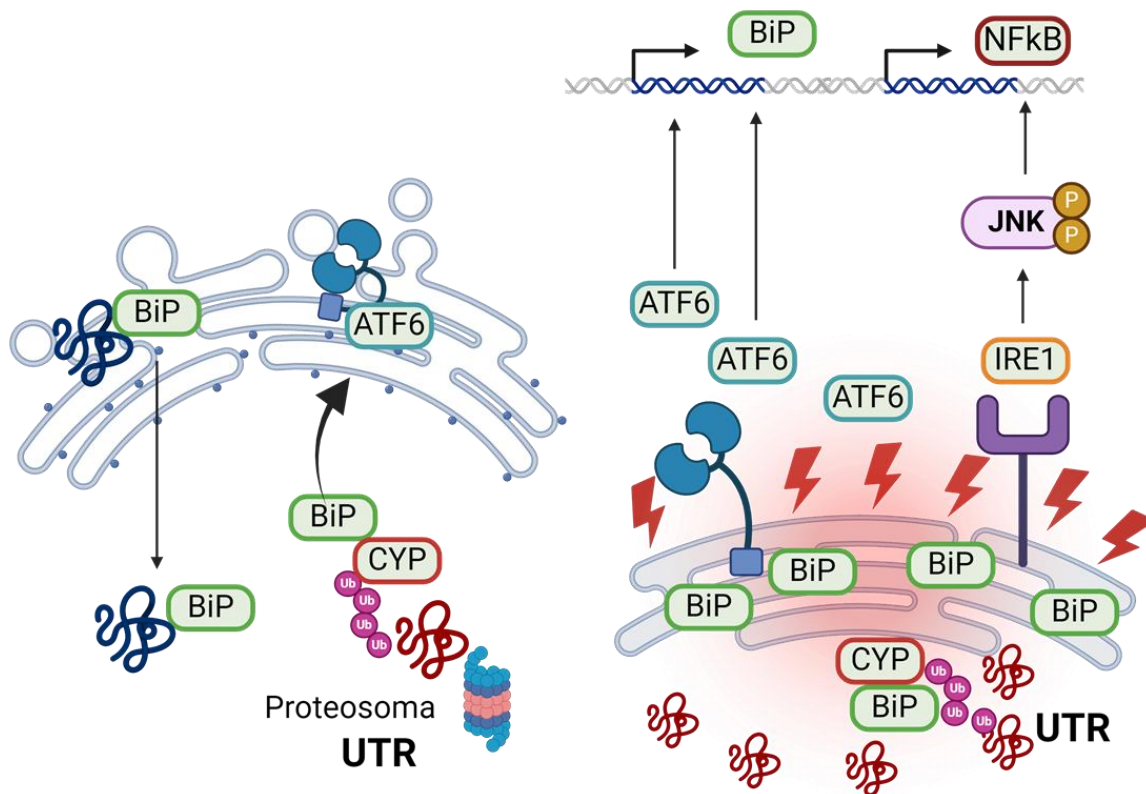


Figura 27. Activación de la vía inflamatoria BIP/ATF6/JNK durante el estrés en retículo (ER stress). Durante condiciones de homeostasis BIP favorece la traslocación a través del ER de los péptidos recién sintetizados. Durante un plegamiento de proteínas esta activa ATF6 que en el núcleo promueve una mayor transcripción de BIP así como activación de JNK a través de IRE1.

2.7 Programación Materna

La programación Materna es todo estímulo o factor que afecte la función metabólica y la fisiológica durante la etapa fetal o neonatal que repercutirá en la función metabólica y fisiológica durante la etapa adulta. Esta puede ser clasificada el Programación Fetal (durante

la gestación) y Programación neonatal (lactancia). A esta teoría también se le conoce como de origen fetal o hipótesis de Barker, ya que en 1986 el inglés David James Purslove Barker propuso que existe una relación entre la nutrición prenatal, el crecimiento fetal desproporcionado y la enfermedad de las arterias coronarias en la edad adulta (Barker, 1995). Esta teoría que en sus inicios mostró muchos retracts, a lo largo de los años se ha logrado su aceptación al demostrarse una estrecha relación que existe entre las condiciones traumáticas sufridas en mujeres embarazadas y la salud de sus generaciones posteriores (**Figura 28**).

Uno de los casos más conocidos en el que se implica la nutrición materna en el desarrollo de patologías en la descendencia es el reportado en las mujeres neerlandesas durante el invierno del hambre o *Hongerwinter* (neerlandés), entre el periodo de 1944 y 1945 durante la ocupación de los países bajos por las potencias del eje alemán durante la segunda guerra mundial. Se tiene evidencia de que mujeres que lograron su embarazo durante este invierno, reportaron falta de alimento durante el primer tercio de la gestación y tuvieron hijos con mayores índices de diabetes y obesidad en la edad adulta. Mientras que las que lo sufrieron en el último tercio de la gestación tuvieron hijos de menor tamaño al nacimiento y menor complexión, además ambos desarrollaban trastornos mentales como esquizofrenia, trastornos de personalidad, y problemas de sociabilidad (Schulz, 2010). Además, datos epidemiológicos también confirman que en una segunda cohorte de mujeres judías que estuvieron embarazadas durante los holocaustos, su descendencia desarrolló desordenes psiquiátricos que no desarrollaron aquellas generaciones de supervivientes cuyas mujeres no estuvieron gestantes en los campos de concentración. Así mismo se han reportado casos en Suecia, China, Grecia, Finlandia, Bangladesh, Rusia donde la descendencia de mujeres gestantes durante eventos traumáticos como guerras, hambrunas y crisis económicas, presentan alteraciones como obesidad, hipertensión, diabetes y trastornos mentales como la esquizofrenia, y problemas de sociabilidad (L.H. Lumey, Aryeh D. Stein, 2011). Estas evidencias confirman de manera contundente que estímulos externos de naturaleza alimentaria o social afectan de manera negativa el desarrollo del producto en gestación durante el embarazo de la madre, que se manifiesta en patologías metabólicas, inmunes y conductuales de su descendencia.

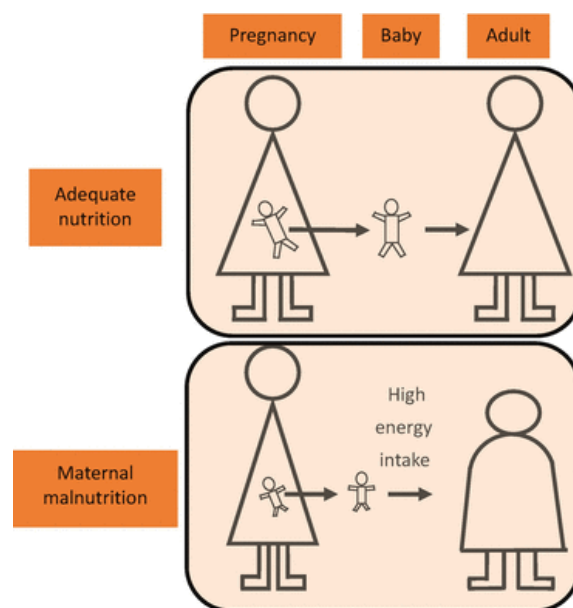


Figura 28. Programación Materna o hipótesis de Barker. Un ejemplo de programación fetal donde una inadecuada alimentación durante el embarazo repercute en tamaño del niño al nacimiento, y en el desarrollo de obesidad y síndrome metabólico en la edad adulta. Tomada de The Barker Hypothesis (Edwards, 2017).

El efecto aberrante de la programación materna por estímulos externos ha sido replicado en modelos animales que incluyen a los primates no humanos, ratas y ratones. En estos modelos, se ha observado que la exposición a estrés, cambios súbitos de temperatura o exposición a dietas bajas o altas en calorías, promueven alteraciones fisiológicas y metabólicas en generaciones posteriores, que repercuten en la conducta (Laura M. Glynn, Mariann A. Howland, 2018). Los mecanismos moleculares y celulares que determinan los efectos metabólicos, inmunes o conductuales en la descendencia durante la programación fetal, no han sido totalmente esclarecidos. Estudios recientes sugieren que factores la exposición a estímulos externos puede modular mecanismos genéticos (mutaciones en el DNA), o epigenéticos (herencia epigenética transgeneracional) selectivos contribuyendo al establecimiento de los fenotipos fisiológicos aberrantes (Edwards, 2017; Montalvo-martínez et al., 2018). Dada la complejidad y el número de los estímulos externos a los cuales podría estar expuesto una madre y el producto en desarrollo durante la etapa gestacional, nuestro proyecto se enfocará en el efecto de la nutrición como un mecanismo determinante en el establecimiento de fenotipos aberrantes en la descendencia.

También se conoce que estímulos externos pueden modular la conectividad de las regiones dopaminérgicas a través de mecanismos epigenéticos. De interés, reportes del año 1988 describieron que hijos nacidos de madres expuestas a infección con estreptococos durante la gestación, desarrollaron alteraciones de la conducta que incluían disfunción en la sociabilidad y patrones repetitivos. A esta enfermedad psiquiátrica se le llamó trastorno pediátrico neuropsiquiátrico autoinmune asociado a estreptococo o PANDA (Pediatric Autoimmune Neuropsychiatric Disorders Associated with Streptococci) (Education, 2020). Estudios posteriores demostraron que la infección durante el embarazo produce los cambios en la conducta de estos individuos. Se observó la presencia de anticuerpos anti el receptor de la dopamina 3 (DR3) en el cuerpo estriado, lo que causaba las alteraciones del comportamiento (Pavál, 2017a).

2.7.1 Dieta densamente calórica durante la gestación y su impacto en el desarrollo de fenotipos aberrantes en la descendencia

Uno de los factores más importantes que repercuten en el desarrollo programación fetal y posnatal de la descendencia es la exposición a un tipo de dieta específico. Se conoce que un desbalance en el aporte de macro y micronutrientes (Mousa & Naqash, 2019), baja calidad de la leche materna y una deficiencia de ácido fólico favorece anormalidades congénitas en el producto en gestación y desarrollo (Greenberg & Bell, 2011; J. Yang et al., n.d.). Por ejemplo, deficiencias en la ingesta calórica repercute en parámetros clínicos de los infantes como el peso y talla al nacimiento, supervivencia infantil (Richard I. Lowensohn, 2016). De interés para el presente proyecto, el consumo elevado de calorías en la etapa gestacional está relacionado con patologías como el síndrome metabólico, diabetes y enfermedad cardiovascular en la temprana y adulta (**Figura 29**) (Brenseke et al., 2013).

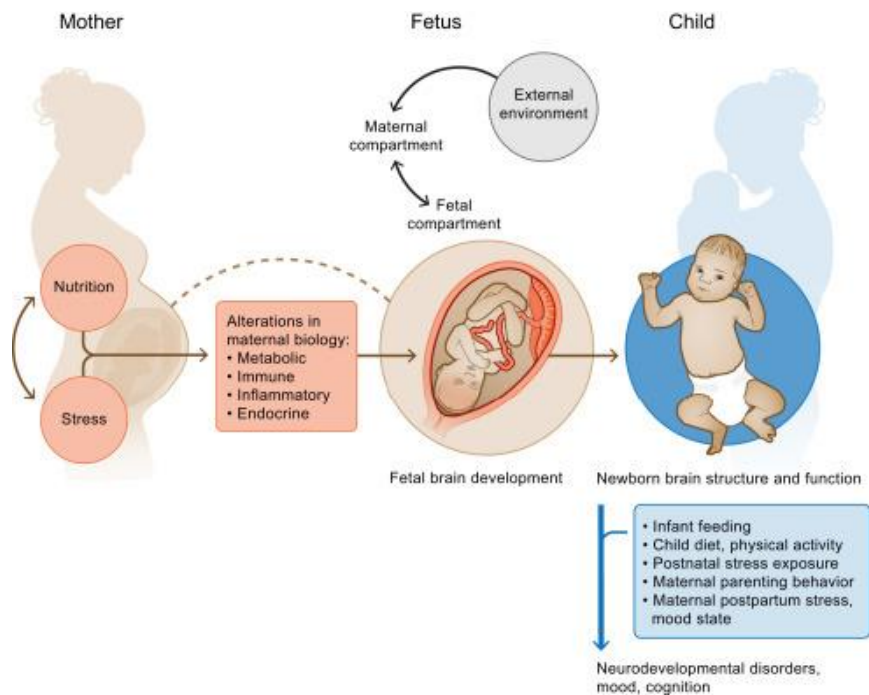


Figura 29. Estrés nutricional y efectos en la progeñe. Estímulos nutricionales durante la gestación causa alteraciones metabólicas, inmunológicas, inflamatorias y endocrinas en el feto, que conducen a una deficiencia cognitiva en la progeñe, como trastornos de la conducta. Tomado de (Lindsay et al., 2018).

Algunas otras investigaciones han demostrado que la exposición a dietas de alta cantidad calórica durante la gestación y lactancia no sólo repercuten en parámetros fisiopatológicos de la progeñe (Damasceno et al., 2016), sino que conllevan a alteraciones metabólicas y fisiológicas que afectan el desarrollo del cerebro y su conectividad (Lindsay et al., 2018). Este estrés prenatal asociado a la alta ingesta calórica se asocia a un posterior trastornos cognitivo y de la conducta (Figura 22) como la adicción y la esquizofrenia (Sarker et al., 2019). En otros estudios se ha observado que ratones de la cepa C57BJ alimentados con dieta de cafetería (basada en hábitos nutricionales comunes en la población de Norteamérica), durante la gestación, presenta una conducta con problemas de sociabilidad semejante al TEA en su descendencia (Roger Maldonado, 2020).

2.8 Alternativas farmacológicas y no farmacológicas para el TEA

A lo largo de los años, se han propuesto tratamientos farmacológicos y no farmacológicos del TEA que se enfocan en controlar los signos más alarmantes de la patología tales como la agresividad. La mayoría de ellos modula la conducta bloqueando la actividad de la dopamina y serotonina. En la Tabla siguiente se resume el tipo de terapia, el fármaco, su función y el mecanismo de acción (Defilippis & Wagner, 2016).

Tabla 6. Principales tratamientos farmacológico del TEA

<i>Terapia</i>	<i>Tratamiento</i>	<i>Función y empleo</i>	<i>Mecanismo de acción</i>
<i>Psicosocial</i>	Cognitivo-conductual	Alternativa	Desconocida
<i>Antipsicóticos atípicos</i>	Risperidona, Aripiprazol, Olanzapina, Lurasidona	Controla la agresividad, se utiliza también en la ansiedad y la esquizofrenia.	Antagonistas de dopamina y serotonina.
<i>Antipsicóticos típicos</i>	Haloperidol	Utilizado en múltiples Enfermedades psiquiátricas. Parte de los medicamentos esenciales. Causa multitud de efectos secundarios como disquinesia tardía permanente.	Antagonista de receptores D2 de dopamina con alta afinidad.
<i>Antidepresivos</i>	Receptadores de serotonina	Utilizados como ansiolíticos y antidepresivos.	Inhiben los transportadores de serotonina.

2.8.1 Moduladores de la respuesta inflamatoria no farmacológica como alternativa para el tratamiento de TAE

Como se mencionó a lo largo de los párrafos anteriores, el sistema inmune tiene una amplia participación en la etiología de los trastornos mentales. Por lo que modular la respuesta inflamatoria es una diana importante en la búsqueda de nuevas terapias. Es por ello por lo que proponemos el uso de un tratamiento no farmacológico.

2.8.1.2 Ayuno intermitente como estrategia no farmacológica en el control del TEA

El ayuno intermitente (AI) o Intermittent fasting (IF) es un protocolo de alimentación que consiste en intercalar periodos de restricción de alimento con periodos de alimentación ad libitum (ventana abierta). Existen principalmente tres variantes de ayuno intermitente los cuales difieren en el tiempo de la ventana abierta, así como el tiempo y consumo de calorías durante el periodo de ayuno. Alimentación de tiempo restringido (ATR o TRE) por sus siglas en inglés *Time Restricted Eating*. Son protocolos que tienen periodos con ventana abierta de 6 a 12 horas en los que no existe límite de consumo y periodos de restricción alimenticia que van de las 14 a 20 horas. Ayuno Intermitente de Día Alterno (AIDA) o Alternate Day-Fasting (AIDA). El AIDA consiste en alternar periodos de 24 horas de restricción alimenticia intercalado con 24 horas de alimentación. Dieta 5:2 donde se alteran dos días de restricción no necesariamente consecutivos alternando con 5 días de alimentación ad libitum. Existen diversos reportes acerca de estos 3 tipos de ayuno intermitente sin embargo se ha demostrado ciertas diferencias como lo son que el ATR es más práctico y fácil de adaptar para ser aplicado de manera terapéutica (Schuppelius et al., 2021). Se ha reportado que este protocolo promueve la reducción de peso corporal, modulan la respuesta metabólica e inmune reduciendo fenotipos de monocitos proinflamatorios asociados a patologías (Janssen et al., 2023; Y. Kim et al., 2022). Sin embargo, estudios recientes reportan que el AIDA muestra un mayor efecto sobre la reducción de peso y mejoramiento de marcadores de función metabólica (A Meta-Analysis Comparing the Effectiveness of Alternate Day Fasting, the 5:2 Diet, and Time-Restricted Eating for Weight Loss, n.d.; Welton, Minty, Willms, et al., 2020) e inmune en comparación con el ATR y la restricción calórica tradicional (Elortegui Pascual et al., 2023)

2.8.1.2.1 Metabolismo de la glucosa y ácidos grasos durante la alimentación

Durante la alimentación los macronutrientes como carbohidratos, lípidos y proteínas de la dieta son digeridos en el intestino delgado. En el caso de los carbohidratos estos son digeridos por enzimas (sacarasa, maltasa y amilasa pancreática) que generan productos finales como la glucosa, que son absorbidos y transportados a la sangre. El aumento en sangre de la glucosa estimula la liberación de insulina por las células beta del páncreas, la cual se une a receptores de glucosa en la membrana de las células (Glut1), hepatocitos (Glut2), músculo (Glut4, dependiente de insulina) para permitir su internalización. Al ingresar la glucosa es fosforilada para formar la glucosa 6 fosfato, lo que desencadena una serie de reacciones conocida como glucólisis que finalmente conllevan a la producción de piruvato el cual es descaboxilado (3 carbonos) genera acetato (2 carbonos) que al unirse a la coenzima A forma Acetil CoA, el ingresa al ciclo de Krebs en el cual se condensa con oxalacetato para formar el citrato, genera intermediarios reducidos que posteriormente irán a la cadena transportadora de electrones para la fosforilación oxidativa (OXPHOS).

En el caso de los lípidos la emulsificación en el duodeno por los ácidos biliares permite la digestión a ácidos grasos libres, colesterol, monoacil glicerol los cuales se ensamblan en el aparato de Golgi de los enterocitos para la formación de los quilomicrones y su distribución hacia tejidos periféricos principalmente el hígado. La generación excesiva de energía no utilizada genera la desviación de intermediarios de ciclo de Krebs debido a la disminución de oxalacetato y acumulación de citrato mitocondrial inhibe la glucólisis vía PFK1 y ciclo de Krebs donde la movilización del citrato al citoplasma permite la polimerización del acetil coenzima A carboxilasa quien incorpora carbono a partir de HCO_3 para la formación de mevalonato, lo que permite la síntesis de palmitato y posteriormente la formación de HMG-CoA, intermediario en la síntesis de colesterol y cuerpos cetónicos (en condiciones de ayuno). Por otra parte, el acil CoA grasa y glicerol 3-fosfato (intermediario de la glucólisis) permite la síntesis de triacilgliceroles.

2.8.1.2.2 Metabolismo de la glucosa y ácidos grasos durante el ayuno intermitente.

Posterior a la última ingesta de alimentos la glucosa (postprandial) aumenta en sangre formando un pico de glucosa entre los 15 min y las 2 horas. Después comienza la absorción de la glucosa en los tejidos a las 2 o 3 horas postprandiales, aumento de la glucólisis. De 4 a 13 horas después de la alimentación ocurre la glucogenólisis y una vez disminuyen los niveles de

glucógeno comienza la movilización de ácidos grasos libres entre las 8-10 horas para su oxidación en la mitocondria del hígado (beta oxidación) y formar Acetil CoA e ingresar al ciclo de Krebs. Los bajos niveles de ATP y el aumento en AMP (aumentar la tasa de AMP/ ATP) **(Figura 30-1)** promueve la activación de AMPK y PARPα consecutiva para mejorar la oxidación de lípidos, promoviendo ácidos grasos libres (FFA) ingesta y oxidación beta mitocondrial para producir Acetil CoA **(Figura 30 2-3)**. El aumento en la oxidación de los ácidos grasos (lipólisis) inhibe la glucólisis y la lipogénesis de novo **(Figura 30 -7)**, promueve la acumulación de Acetil CoA, disminución del oxalacetato, lo que conlleva a la acumulación de acetil- CoA y la condensación de dos moléculas de Acetil CoA por la enzima tiolasa para formar Acetoacetil CoA, posteriormente esta última es dividida por la hidroximetil glutaril Coenzima A sintasa 2 en beta-hidroxibet-metilglutaril Coenzima A, que se reduce en acetoacetato. Finalmente, la beta-hidroxibutirato deshidrogenasa cataliza la reducción del acetoacetato en betahidroxibutirato (reducción del grupo cetona a hidroxilo) **(Figura 30-5)**. Este no se encuentra activo, por lo que requiere ser revertido a acetoacetato para generar Acetil CoA (cetólisis). Órganos como el hígado carecen de tioferasa y son dependientes de glucosa. Por otro lado, órganos como el cerebro pueden emplear como fuente de energía los cuerpos cetónicos ya que atraviesan la barrera hematoencefálica y proveen de energía a las células nerviosas que expresan en la membrana receptores para el BHB (Jayashankar et al., 2023b).

Por otro lado, el hígado genera glucosa (gluconeogénesis) a partir de la catálisis del lactato a piruvato (Ciclo de Cori), y la transaminación de aminoácidos (glutamina por glutaminólisis) y Alanina por ciclo de Cahill) en intermediarios como el α -cetoglutarato. En un estudio realizado en humanos se reportó que el ayuno intermitente de alterno (AIDA) promueve la disminución de peso, porcentaje de grasa visceral, induce un pronunciado cambio en la composición corporal, aumenta la sensibilidad a la insulina y disminuye la tasa metabólica basal, presión sanguínea y porcentaje de grasa subcutánea. Modulando 4 (GLUT4), Piruvato quinasa (Pk), Glucógeno sintasa, Glicógeno fosforilasa, Akt, AMPKα, Proteína quinasa C, Ácido graso translocasa (CD36), Diacilglicerol O-aciltransferasa 1 (DGAT 1), Triglicérido adiposo (GLAT), Perilipina (2), perilipina 3 (PLIN3), perilipina 5 (PLIN5). Sin embargo, no observaron cambios significativos en porcentaje de respiración Mitocondrial, consumo de oxígeno, niveles de ROS, concentraciones de carnitina, permeabilidad de la membrana mitocondrial, prueba de sensibilidad ADP y capacidad de respiración oxidativa (Ingersen et al., 2022).

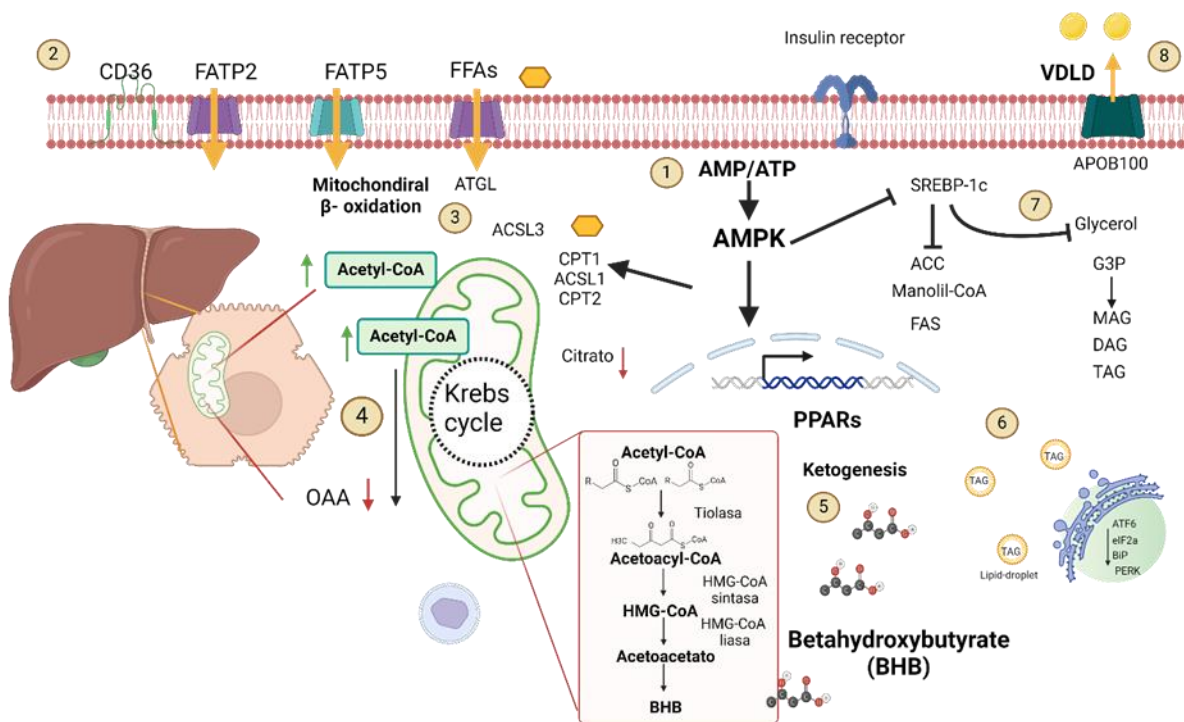


Figura 30. Cambios metabólicos inducidos por el ayuno intermitente. La falta de alimentación promueve un aumento en la relación AMP/ATP que conlleva a la activación de AMPK (1), el aumento en la captación de los ácidos grasos libres (2), se activa la lanzadera de carnitina por PPARα (3), la beta oxidación de los lípidos en mitocondria (4), el aumento de Acetil-CoA, la reducción de oxalacetato conlleva a la cetogénesis (5), se disminuye estrés en retículo, se promueve autofagia (6) se inhibe la lipogénesis de novo (7) y se favorece la salida de lípidos (8).

2.8 Microglía y empleo de cuerpos cetónicos

La microglía también puede metabolizar el acetoacetato y el ácido beta-hidroxibutírico, principal componente de los cuerpos cetónicos producidos durante el ayuno o la dieta cetogénica. Se sabe que una vez existe una reducción en los niveles de glucosa en sangre, se activan rutas metabólicas alternativas para la producción de energía como los cuerpos cetónicos, una condición de homeostasis llamada cetosis. En condiciones de cetosis la microglía expresa MCT1 y 2 (monocarboxylic 2 transporters) para captar estos cuerpos cetónicos (Bernier et al., 2020). Evidencia sugiere que el ácido betahidroxibutírico inhibe la activación de la microglía y la producción de citocinas proinflamatorias como IL-1β. TNFα e IL-6, además de reducir la producción de especies de oxígeno (ROS) y el nitrito (Xudong et al., 2011). Además se ha demostrado que el ácido betahidroxibutirato también inhibe la

desacetilación de histonas y activa los receptores GRp109A de la microglía (Jayashankar et al., 2023c), lo que suprime la activación de la misma en un modelo de lesión cerebral y cambia su perfil inflamatorio a un perfil M2 neuro protector (Ghosh et al., 2019).

2.9 Efecto del ayuno intermitente en el TEA

Existen pocos reportes sobre su efecto en la respuesta inflamatoria. Mesalhy Aly presentó en una revisión corta donde muestra que el ayuno intermitente además de la reducción de peso puede regular la inflamación a través de atenuación de citocinas de perfil Th1 y células del sistema inmune, y mejorar el metabolismo de la glucosa, así como reducir la presión sanguínea (Aly, 2014). Algunos estudios han empezado a identificar efectos directos del ayuno intermitente en el control del TEA. Reportes clínicos muestran que una dieta cetogénica redujo las crisis epilépticas de un paciente con TEA asociado a la producción de BHB (Napoli et al., 2014). Los pocos estudios realizados demuestran que la mejoría de los parámetros fisiológicos en el ayuno es debido al decremento de los niveles de glucosa y su metabolismo, y aumenta la producción y utilización de cuerpos cetónicos, que como se mostró anteriormente, tienen un efecto desinflamatorio en cerebro (Iii et al., 2018; Y. B. Leung et al., 2020). Por otro lado, sólo existe una evidencia del efecto del ayuno intermitente en el comportamiento semejante autista de modelos animales. Cabral-Costa y colaboradores evaluaron el efecto del ayuno intermitente en un modelo murino con de haploinsuficiencia de PTEN, una proteína comúnmente mutada en el TEA. Ellos observaron que los ratones con TEA mostraban mayor aumento de volumen del cerebro, pero no reportaron cambios en el volumen, ni presencia de células inmunes en hipocampo. Por otro lado, el ayuno intermitente rescataba el fenotipo conductual, mejorando la memoria de reconocimiento al miedo (Andreotti et al., 2018). Debido a la poca evidencia hasta ahora es necesario indagar en los mecanismos involucrados en el ayuno intermitente sobre la respuesta inflamatoria en otros modelos de TEA.

3. Justificación

El TEA (trastorno del espectro autista) se caracteriza por conductas asociales que están estrechamente relacionadas con la neuroinflamación, un proceso que puede ser exacerbado por la exposición a dietas ricas en carbohidratos y lípidos, como la dieta de cafetería (CAF). Nuestros estudios previos han demostrado que la progenie de hembras alimentadas con dieta CAF durante la gestación (programación materna) exhibe comportamientos asociales, ansiosos y repetitivos (similares al TEA), un perfil proinflamatorio en plasma, y activación de la microglía en cerebro. No obstante, el impacto específico de la programación materna con dieta CAF sobre el fenotipo de la microglía aún no se ha esclarecido. Además, no se dispone de una estrategia no farmacológica efectiva que pueda revertir la activación de la microglía y la neuroinflamación asociada con conductas asociales. En este proyecto se caracterizará el fenotipo M1/M2 de la microglía en regiones cerebrales involucradas en la sociabilidad, y explorar si el ayuno intermitente de día alterno puede actuar como una estrategia no farmacológica para revertir la activación de la microglía, promover la polarización, cambios en la plasticidad y la conducta semejante al TEA en la progenie de hembras programadas con dieta CAF durante la gestación y lactancia.

4. Hipótesis

El ayuno intermitente revierte la conducta semejante al autismo en la descendencia de madres expuestas a dieta de cafetería durante gestación y lactancia mediante el cambio en el fenotipo M1/M2

5. Objetivos

5.1 Objetivo general

Evaluar el efecto del Ayuno Intermitente de día alterno (AIDA) sobre la conducta semejante al autismo, y caracterizar el fenotipo M1/M2 de la microglía en regiones cerebrales asociadas a la sociabilidad en un modelo de programación materna inducido con dieta CAF

5.1.1 Objetivos específicos

- Determinar el efecto de la programación materna inducido por dieta CAF sobre el desarrollo de conducta semejante al autismo en la descendencia.
- Determinar el efecto del Ayuno Intermitente (AI) sobre la conducta semejante al autismo en el modelo de programación por dieta CAF.
- Caracterizar el fenotipo M1/M2 de la microglía en regiones asociadas a la sociabilidad en la descendencia de madres programadas.
- Evaluar el efecto del ayuno Intermitente (AI) sobre el fenotipo M1/M2 de la microglía en regiones asociadas a la sociabilidad en la descendencia de madres programadas

6. Materiales y métodos

6.1 Metodología objetivo específico 1. Para llevar a cabo el modelo de programación materna se alimentó con dieta de cafetería por 9 semanas (3 antes, 3 durante, y 3 después de la gestación) a hembras C57BJ6. Como grupo control se tomaron hembras alimentadas con dieta estándar control durante cruce, gestación y lactancia. Se identificó el efecto sobre la conducta semejante al autismo (TEA) en la progenie de hembras alimentadas con dieta CAF y control mediante tres pruebas de conducta (sociabilidad en tres cámaras, enterramiento de canicas, campo abierto) Posterior a esto se realizó el sacrificio y toma de muestra.

6.2 Metodología objetivo específico 2. Se realizó un protocolo de ayuno intermitente de día alterno (AIDA) en la progenie de hembras control y hembras con programación materna, el cual tuvo una duración de 5 semanas. Y que consistió en alternar 24 horas de alimentación a libre acceso con 24 horas de alimentación restringida. Con acceso disponible al agua. Se evaluó el peso por semana de cada individuo. Después de las 5 semanas se identificó el efecto sobre la progenie CAF y control intervenidas con ayuno intermitente mediante tres pruebas de conducta sociabilidad en tres cámaras, enterramiento de canicas, campo abierto. Posterior a esto se realizó el sacrificio y toma de muestra.

6.3 Metodología objetivo específico 3. Después del sacrificio se tomó plexo coroideo y regiones cerebrales asociadas a la sociabilidad como hipocampo, cuerpo estriado, y cortezas localizadas mediante coordenadas estereotáxicas. La primera cohorte de cerebros se seleccionó para la medición de beta-hidroxibutirato (BHB). De este se tomaron muestras para la evaluación de marcadores de inflamación y estrés del retículo (ER stress). Posteriormente se utilizó otra cohorte para la digestión del tejido y la selección de las células por gradiente de densidad para la identificación de poblaciones por marcadores de superficie: NK: N1.1(CD161+), Dendríticas (CD11c+), Microglía (CD45 low + CD11b+) Microglía M1 (CD86+) Microglía (CD206+), Macrófagos (CD45 high CD11b+), Linfocitos (CD45+ CD11b -). Otra cohorte Adicionalmente se tomó cerebro completo para la realización de cortes de las regiones cerebrales asociadas a la sociabilidad mediante inmunohistoquímicas utilizando perfusión cardiaca para la fijación del cerebro.

6.4 Metodología objetivo específico 4. Después del protocolo de ayuno intermitente se realizaron tres cohortes. Uno para la obtención del plexo coroideo y regiones cerebrales asociadas a la sociabilidad (hipocampo, cuerpo estriado, y corteza) para la medición de beta-hidroxibutirato (BHB y la evaluación de marcadores de inflamación y estrés del retículo. Posteriormente se utilizó otra cohorte para la identificación de poblaciones por marcadores de superficie. Finalmente, otra cohorte para la realización de cortes para inmunohistoquímicas.

6.5 Esquema general

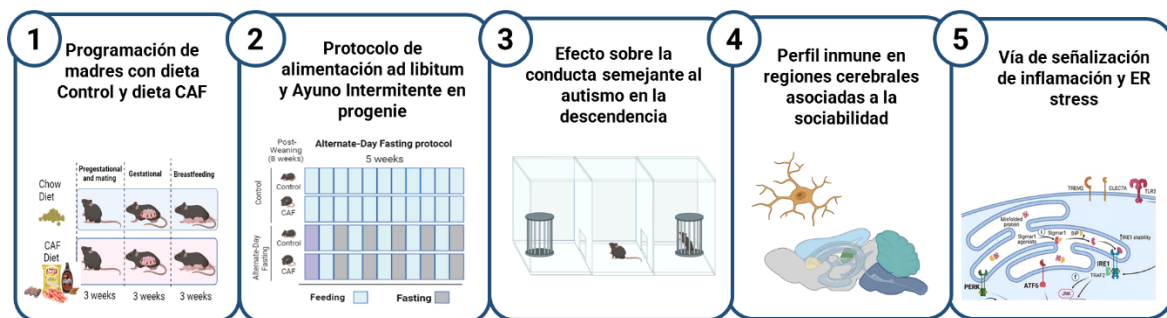


Figura 31. Esquema general de trabajo para la realización de los objetivos de tesis.

Para la realización de los objetivos específicos anteriormente desglosados se realizó la siguiente estrategia experimental donde primero se realizó la programación de madres con dieta Chow (control) y dieta de cafetería (CAF) **(1)**. Se realizó a la par el protocolo de ayuno intermitente en la progeñe de ambos grupos **(2)**. Consecuentemente se evaluó la conducta semejante al TEA con la batería de pruebas que se describirán en el apartado de la metodología **(3)**. Para los objetivos específicos de la evaluación del fenotipo se aislaron las células inmunes para citometría e inmunohistoquímica **(4)** y se analizaron por último la vía de señalización de inflamación y estrés de retículo ATF6/JNK, así como análisis de modelos biológicos **(5)**.

6.2 Material de Laboratorio

Tabla 7. Material Biológico y No biológico

Reactivos	No. Cat.	Aplicación	Concentración	Proveedor
No Biológico	Comida estándar para roedor	5001		LabDiet

Albúmina sérica bovina	sc- 2323	Preparación de anticuerpos	10%	Santa Cruz Biotechnology, Texas, USA
Pentobarbital sódico	Q- 7833- 215	Sacrificio	150 mg/kg	PiSA Agropecuaria, Jalisco, México
Estuche de disección.		Disección		
Mouse Brain Atlas, Paxinos y Watson.		Localizació n de coordenadas estereotáxic as		
Colagenasa I	N0002 779	Digestión	2 mg/mL	NB6, Nordmark Biochemicals
Disipasa II	D4693- 1G	Digestión	2 mg/mL	Sigma-Aldrich
cloruro de calcio (CaCl ₂)	10043- 52-4	Digestión	Solución 1mM	Sigma-Aldrich
Percoll	P1644-	Gradiente de densidad	100ML	Sigma-Aldrich

anti-NK1.1	550627	Citometría	1:100	PK136, Biolegend
Anti-IgG2a κ- ACP isotype	553932	Citometría	1:100	BD Pharmingen
anti-CD11c	557401	Citometría	1:100	HL3, BD Pharmingen
Anti-IgG1 λ1-PE isotype	553954	Citometría	1:100	BD Pharmingen
anti-CD45 Purified Rat 30- F11	553076	Citometría	1:100	BD Pharmingen
Anti-IgG2b κ-PE- Cy 5 isotype	553990	Citometría	1:100	BD Pharmingen
anti-CD11b (Clone 130- M1/70.15.11.5) 113- 796		Citometría	1:100	Miltenyl Biotec
anti-CD86	561870	Citometría	1:100	GL-1, Biolegend
anti-CD206	141703	Citometría	1:100	MRR, Biolegend

	Kit para inmunohistoquímica	KitAB 64264			
	anti-Iba1 primario (EPR16589)	ab178847	Inmunohistoquímica	1:2,000	abcam, Cambridge, MA, USA
	kit de ensayo de hidroxibutirato beta	ab83390	Medición de cuerpos cetónicos		abcam, Cambridge, MA, USA
Biológico	Ratones macho de 8 semanas C57BL6(Distribuidos en 3 cohortes)				
	Ratones hembra de 8 semanas C57BL6 (Distribuidos en 3 cohortes)				
	Ratones macho pie de cría de 8 semanas C57BL6 (Distribuidos en 3 cohortes)				

6.3 Animales y alojamiento

Todos los experimentos se realizaron con ratones C57Bl6 de 8 semanas de edad. Los animales fueron manejados de acuerdo con la Guía de NIH para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (NIH Publications No. 80-23, revisada en 1996) y la guía NOM-062-ZOO-1999 para el cuidado y uso de animales de laboratorio, y registrados con el Comité de Cuidado de la Universidad Autónoma de Nuevo León y Facultad de Medicina (B120-00,004). Seguimos la Declaración de Basilea para implementar los principios éticos de reemplazo, reducción y refinamiento de modelos animales experimentales. Todos los esfuerzos se hicieron para minimizar el número de animales utilizados y su sufrimiento. Los ratones fueron alojados individualmente en jaulas de estilo plexiglás, mantenidos a 20-23 °C en un ciclo de 12 h de luz/oscuridad. Los ratones tuvieron acceso a agua y alimentación de forma ad libitum con excepción de aquellos bajo protocolo de ayuno intermitente de día alterno (AIDA).

6.4 Elaboración de las dietas

La fórmula estándar de la dieta chow contenía 57% de carbohidratos, 13% de lípidos y 30% de proteínas, y 290 mg de sodio, densidad calórica = 3,35 kcal/g (Lab Diet, St. Louis, MO 63144, 5001, Estados Unidos). La dieta de la cafetería (CAF) estaba compuesta de chocolate líquido, galletas, tocino, papas fritas, paté de cerdo en una proporción de 1:1:1:1:2, incluyendo 39% de carbohidratos, 49% de lípidos, 12% de proteínas y 290 mg de sodio, densidad calórica = 372 kcal/g [34-36].

Tabla 8. Composición de la dieta de cafetería (CAF)

<i>Galletas Marías</i>	200 g
<i>Papitas “Sabritas Original”</i>	200 g
<i>Chocolate líquido Hershey’s</i>	200 g
<i>Tocino Fud</i>	200 g
<i>Pate de cerdo Swan</i>	400 g
<i>Polvo de pellets de comida estándar</i>	200 g

**372 kcal/100 g distribuidos en:*

39% carbohidratos

49% lípidos

12% proteínas

6.5 Modelo de programación materna en la descendencia

Para la elaboración del modelo de programación materna se utilizaron hembras (n=46) y machos (n=15) C57BL/6 alojados en grupos de 5 animales en caso de las hembras y de 3 por caja en los machos durante 10 días para adaptación y aclimatación. Durante este tiempo estos fueron alimentados con dieta estándar chow y al agua ad libitum. Luego del periodo de adaptación, las hembras (n=46) fueron aleatorizadas en dos protocolos dietéticos diferentes: programación control y programación materna con dieta CAF.

En el grupo CAF las hembras C57BL/6 de 8-10 semanas de edad fueron alimentadas durante 9 semanas con una dieta tipo occidental o dieta de cafetería (CAF) (n=26). Estas 9 semanas incluyeron tres semanas de adaptación y cruce, tres de gestación y tres de lactancia. Durante las primeras tres semanas, fueron dos de adaptación y una de cruce donde las hembras fueron apareadas con machos de 12-14 semanas de edad de 30-35 g C57BL/6 (3 hembras por macho). Durante los 2-4 días de cruce los machos también tuvieron acceso a la dieta CAF. El día 1 de gestación será determinado por la presencia del tapón vaginal, en caso de presentar las 3 hembras el tapón vaginal se retira el macho. La progenie macho (CON n=52; CAF n=52) de madres expuestas a la comida (n=20) o CAF (n=26) fueron destetadas al día 21 (**Figura 32**). El sexado se realizará entre el día 21 y 23 post nacimiento, las hembras control se utilizaron para pie de cría, y la progenie hembra CAF fue descartada. Para la programación control, las madres se alimentaron con dieta control chow durante las 9 semanas (CON, n=20) [37-41]. Las crías macho de las madres programadas con dieta CAF y control se mantendrán con alimento estándar chow y agua ad libitum a partir del destete. A las 8 semanas de nacimiento las crías macho se agruparon en cuatro grupos: progenie macho de madres con dieta control (n = 26), progenie de madres control + protocolo de ayuno de día alterno (AIDA) (n=26), progenie macho de madres expuestas a dieta CAF (n=26), y progenie de madres CAF + AIDA (n = 26)

(ver abajo para el protocolo de AIDA). El fenotipado conductual en la descendencia se realizó a los 40 días postnatales (ver abajo para detalles y **Figura32** para diseño experimental).

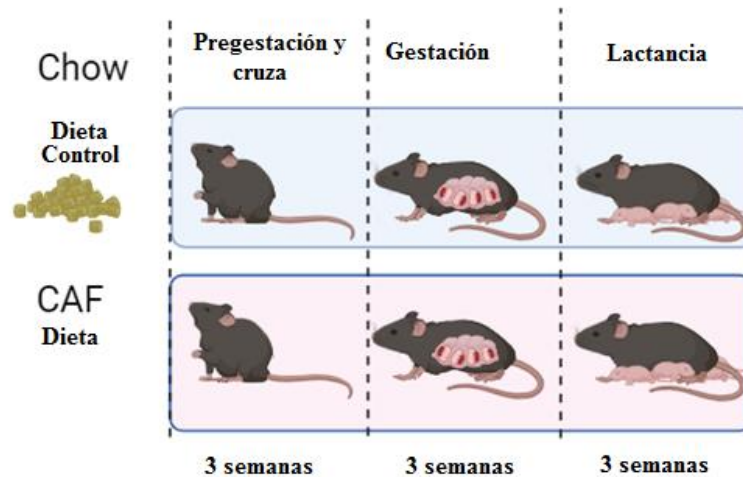


Figura 32. Esquema general de programación materna con dieta CAF durante 9 semanas.

6.6 Protocolo de ayuno de día alterno (AIDA) en la descendencia

El protocolo AIDA para la progenie control macho (n=26) y la descendencia de madres CAF (n=26) se realizó de la siguiente manera: se alternaron 24 horas de alimentación ad libitum con dieta chow seguida por 24 horas de restricción alimenticia durante 5 semanas. Realizando la alternancia de la alimentación y ayuno a las 15:00 horas +/- 1 hora (**Figura 33**). Ver más abajo para más detalles y la Figura1A para el diseño experimental.

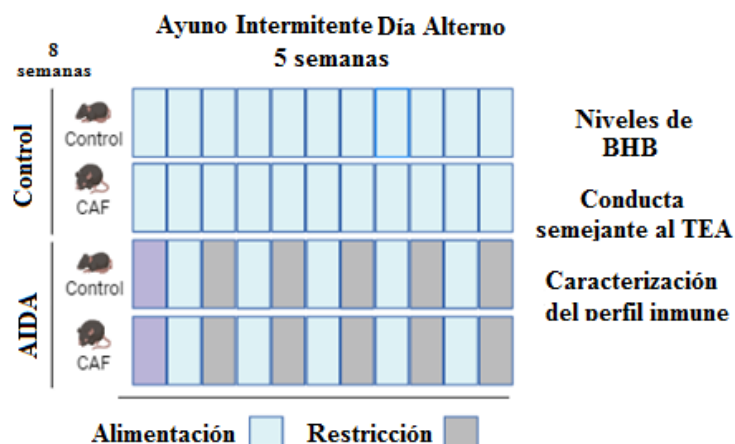


Figura 33. Esquema general de protocolo de Ayuno Intermitente de Día Alterno

6.7 Medición del peso corporal.

Para evaluar el efecto del ayuno intermitente (AIDA) se pesaron a los ratones en una báscula marca LIDERT con pantalla retroiluminada LCD con límite de peso de 200 Gramos al día 0 (inicio del protocolo de ayuno), tomando mediciones cada 7 días durante las 5 semanas del protocolo para los grupos control y con ayuno. Este se tomó a la misma hora y previo a la alternancia en los protocolos de alimentación.

6.8 Evaluación de la conducta semejante al TEA

Se realizó un análisis individual del comportamiento animal de la descendencia macho en tres cohortes: la primera se asignó para realizar análisis de citometría de flujo ($n = 14$) para cada grupo, la segunda para cuantificar los niveles plasmáticos de BHB y análisis de western blot ($n = 7$) para cada grupo, y el tercero para el análisis inmunohistoquímico ($n=5$) para cada grupo.

Para el fenotipado conductual los ratones estuvieron colocados de manera individual por caja desde el destete en condiciones de agua a libre acceso con ciclos de luz y oscuridad de 12 horas. Cada una de las pruebas se realizarán con un día de separación para los grupos control. Los grupos de ayuno intermitente realizaron las pruebas el día de restricción alimenticia. Para la evaluación utilizamos la prueba de entierro de canicas (marble burying o MB), la prueba de campo abierto (Open field o OF) y el ensayo de sociabilidad en tres cámaras (Three-chamber sociability o TCS).

6.8.1 Prueba de entierro de canicas (marble burying)

La conducta semejante al TEA se diagnosticó según los métodos descritos anteriormente. Para la evaluación de la conducta repetitiva se llenaron cajas de plástico con una capa de aserrín de 5 cm de grosor realizada bajo el protocolo estandarizado por Maldonado-Ruiz. Dieciséis canicas de vidrio (15 mm de diámetro y 5.3g de peso) del mismo color se colocaron de manera equidistantes dispuestas en 5 filas de 4 canicas cada una en la superficie de una arena (26 cm x 48 cm x 20 cm). Los machos fueron colocados en la esquina de la jaula que no tenía canicas, lo más lejos posible de las filas. Después de 30 minutos se contó el número de canicas que quedaron sin enterrar (**Figura 34**). Se tomaron como enterradas las canicas que fueron cubiertas en sus dos terceras partes. El aserrín de la cama fue reemplazado después de cada prueba.

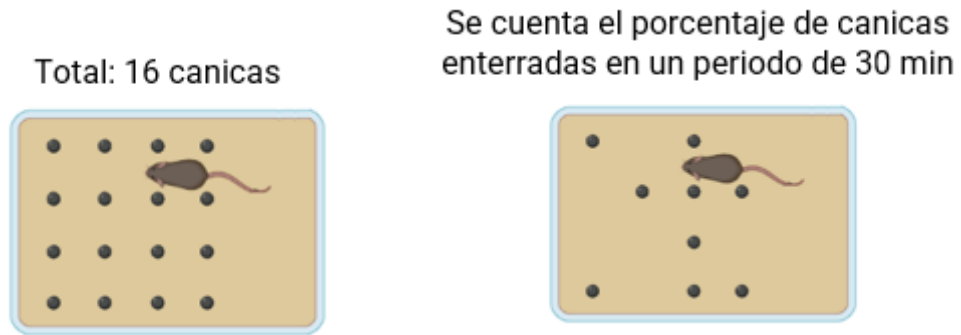
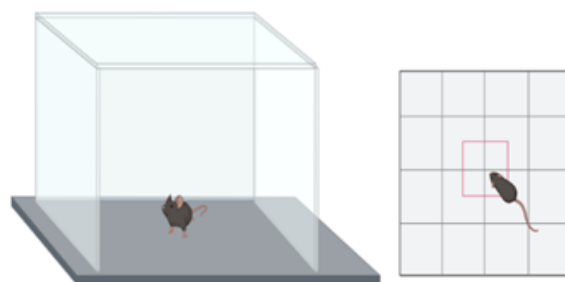


Figura 34. Fundamento de prueba de entierro de canicas para evaluación de la conducta repetitiva

6.8.2 Campo abierto (Open Field Test)

Para la evaluación de la conducta ansiosa y la actividad locomotora se realizó la prueba de campo abierto (OF) la cual consiste en coloca a la cría macho de las hembras programadas en el centro de una arena de policarbonato de 50cm x 50cm x 50cm de tamaño. Estos se tomaron por la cola y fueron colocados en el centro y se les permitió explorar la arena durante 10 minutos y se analizó con el software ToxTrac_v2.92 (**Figura 35**). Luego de los cuales los ratones fueron devueltos a sus jaulas de origen y el área de campo abierto. Entra cada prueba se limpió con 70% de alcohol etílico. Cuantificamos la distancia total recorrida, el porcentaje de inactividad, el tiempo pasado en el centro y en los bordes de la arena [7].



Se cuantifica el recorrido, el tiempo que se pasa en las orillas y centro durante 10 minutos

Figura 35. Fundamento de prueba de campo abierto para evaluación de la conducta ansiosa.

6.8.3 Prueba de sociabilidad de 3 cámaras (Three-Chamber Test)

Para evaluar la interacción social se evaluó la preferencia del sujeto de estudio entre un objeto (no social) u otro individuo (interacción con sujeto desconocido). Para esta prueba se empleó la metodología estandarizada por Maldonado-Ruíz la cual consiste en lo siguiente:

Esta prueba consistió en tres etapas: habituación, exploración y sociabilidad. Donde los sujetos experimentales (control y con protocolo de ayuno) no tendrán acceso a la cámara hasta el día de la prueba. Para la fase de habituación los ratones de estudio se colocaron con las dos puertas cerradas durante 10 minutos en la cámara central de una arena dividida en tres compartimientos de (50 cm × 35 cm × 30 cm). Durante la fase de exploración se permitió al sujeto de estudio recorrer las 3 cámaras durante 10 min. Antes de la prueba de sociabilidad el ratón se colocó en la cámara central con las puertas cerradas. Para la fase de sociabilidad el sujeto desconocido se colocó dentro de un cilindro de plástico transparente de forma aleatoria en una de las dos cámaras de los extremos. En la cámara opuesta se colocó una cámara igual pero vacía (objeto). Una vez se colocó el sujeto desconocido y el objeto vacío se abrieron las puertas y se le permitió al sujeto de estudio recorrer libremente las 3 cámaras durante 10 min. Se realizó una videograbación y se cuantificó el tiempo de interacción del sujeto de estudio con el sujeto desconocido y el objeto (**Figura 36**).

Los sujetos desconocidos nunca tuvieron contacto con los ratones de estudio previo a la prueba. Estos fueron criados de manera independiente en grupos de 2 o 3 ratones. Para habitar a los ratones desconocidos al cilindro se colocaron en esta durante 10 minutos 5 días previos a la prueba.

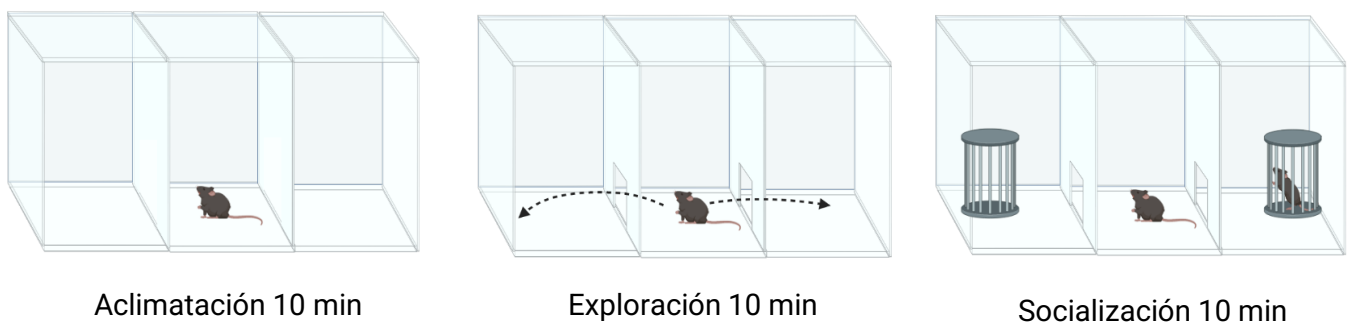


Figura 36. Fundamento de prueba de sociabilidad en 3 cámaras para evaluación de la conducta antisocial. Los ratones se exponen durante 10 minutos en la región central de la arena, posteriormente se le permite explorar las tres cámaras, y finalmente se expone a un objeto inanimado y un sujeto desconocido.

6.9 Análisis de infiltración de células inmunes en el cerebro de la descendencia

6.9.1 Disección del tejido cerebral y recolección de sangre

La primera cohorte de la descendencia de madres programadas fue sacrificada éticamente para realizar los análisis de citometría de flujo ($n=28$). Los ratones fueron sacrificados usando dislocación cervical, y se recuperó Plexo coroideo (CP) y Corteza (Cx), Cuerpo Estriado (St) e Hipocampo (Hpp) los cuales fueron seleccionados y aislados de acuerdo con las coordenadas estereotáxicas del Atlas de cerebro de ratón Paxinos y Franklin [44]. Se obtuvo un grupo de 7 ratones ($\text{pool}=7$) por cada región cerebral (Cx, St, Hpp) y CP, los cuales se mantuvieron en PBS1X estéril y frío (solución salina amortiguada con fosfato, 1X, pH 7,4) para posteriormente ser cortados en trozos pequeños ($1\text{-}2\text{ mm}^3$) en placas de Petri, para facilitar la digestión de los tejidos. Cada conjunto (pool) fue lavado con PBS1X y centrifugado a $1200g$ 10 min a 4°C , luego se recogió el sobrenadante y se digirió el tejido como se menciona a continuación.

6.9.2 Recuperación de células y digestión enzimática

La digestión enzimática de los pool de CP, Cx, St y Hpp se realizó utilizando una solución con colagenasa I (2 mg/mL NB6, Nordmark Biochemicals, No. Cat: N0002779) y dispasa II (2 mg/mL Sigma-Aldrich, No. Cat. D4693-1G) diluida en PBS1X. Utilizamos cloruro de calcio (CaCl_2) (Sigma 10043-52-4) 2 mM para la activación. El tejido fue cortado en trozos pequeños y mezclado en solución con enzimas e incubado durante 25 min a 37°C , agitando 60 rpm . Después de la digestión, los grupos se lavaron con PBS1X y se centrifugaron a 1200 g 10 min a 4°C , luego se eliminó el sobrenadante. El pellet se recogió para realizar el gradiente de Percoll.

6.9.3 Aislamiento de la Microglía y células inmunes mediante gradiente de Percoll

Después de la digestión enzimática, preparamos una solución de percoll isotónico (SIP) utilizando nueve partes (v/v) de Percoll (Sigma-Aldrich, número de catálogo P1644-100ML) a una parte (v/v) de PBS 10X. Luego utilizamos el SIP para elaborar 6 ml de gradiente del 70% (siete partes (v/v) de SIP a tres partes (v/v) de PBS1X) y 6 ml de gradiente del 40% (cuatro partes (v/v) de SIP a seis partes (v/v) de PBS1X) para cada grupo. Las muestras se resuspendieron en 1 ml de gradiente del 70% y luego se añadieron lentamente los 5 ml restantes a la parte superior del tubo. Los 6 ml del gradiente del 40% se colocaron muy lentamente y con cuidado para no romper el gradiente de densidad. Finalmente, añadimos 1 ml de PBS1X. Las

muestras se centrifugaron 1200 g 45 min a 4 °C (la centrífuga no debe tener freno o aceleración). Una vez centrifugada, la mielina fue descartada de la parte superior del gradiente. Retiramos 4 ml y 3 ml se recogieron de la interfaz y lo colocamos en un segundo tubo falcon de 15 ml. Se añadieron 15 ml de PBS1X y se centrifugó a 1200g 10 min a 4 °C. El pellet se resuspendió en 100 µl de PSB1X para el análisis de citometría de flujo.

6.9.4 Análisis de citometría de flujo de la microglía y células inmunes

Las células aisladas de la interfase del gradiente se incubaron con anticuerpos primarios teñidos 1:300 diluidos en PBS1X. Los anticuerpos conjugados con fluorocromo utilizados para la tinción de la superficie incluyen: anti-NK1.1 (PK136, Biolegend, No. 550627), Anti-IgG2a κ -ACP isotype (BD Pharmingen, No. 553932), anti-CD11c (HL3, BD Pharmingen, No. 557401), Anti-IgG1 λ 1-PE isotype (BD Pharmingen, No. 553954), anti-CD45 (30-F11, BD Pharmingen Purified Rat No. 553076), Anti-IgG2b κ -PE-Cy 5 isotype (BD Pharmingen, No. 553990), anti-CD11b (Clone M1/70.15.11.5, Order.no 130-113-796, Miltenyl Biotec), anti-CD86 (GL-1, Biolegend, No. 561870), Anti-IgG2a κ -ACP isotype (BD Pharmingen, No. 550882), anti-CD206 (MRR, Biolegend, No. 141703). Para cada anticuerpo, las células se incubaron durante 15 min. Los anticuerpos fueron conjugados con Allophycocyanin (APC) para luz roja (650 y 660 nm), Fluorescein IsoTioCyanate (FITC) para luz ver (494 y 520 nm), Phycoerythrin (PE) a 574 nm, Phycoerythrin + cyanine 7 dye (PE-Cy7) la cual se excita a luz azul (488 nm), verde (532 nm) y amarilla (561 nm) según la conveniencia del panel para ser medidos por el citómetro BD Accuri 6. Se compara la intensidad de la fluorescencia (histogramas), se procesaron muestras de grupo en un solo lote con el mismo panel de anticuerpos y se analizaron con el software Flowjo.

6.10 Cuantificación del BHB

Se asignó la segunda cohorte de ratones para realizar cuantificación plasmática de BHB y western blot: Control (n= 7) Control + AIDA (n=7), CAF (n=7) CAF + AIDA (n= 7). Se obtuvieron regiones plasmáticas y cerebrales (Cx, Hpp, St) como se describe. Las muestras de plasma fueron homogeneizadas con ácido perclórico 4M por 5 min y centrifugadas 13.000 g 2 min a 4 °C, pH 6-8 se ajustó con hidróxido de potasio 2M y el centrifugado 13.000g 2 min a 4 °C. Los niveles de BHB plasmáticos fueron cuantificados por el kit de ensayo de hidroxibutirato beta (Cat. ab83390). Los niveles plasmáticos de BHB se midieron por

absorbancia UV-Vis a 450 nm utilizando un lector de espectrofotómetros Epoch Microplate Biotek.

6.11 Extracción de proteínas, SDS/PAGE e inmunotransferencia

Para el análisis de western blot, las 7 muestras de Cx, Hpp, St de cada grupo (Control, Control + AIDA, CAF y CAF + AIDA) de la segunda cohorte de ratones fueron homogeneizadas en tampón RIPA frío-hielo (1% IGEPAL, 0,5% desoxicolato de sodio, 0,1% dodecil de sodio, 1 mM fluoruro de sodio, 2 mM ortovanadato de sodio en solución salina amortiguada con fosfato) que contiene un cóctel inhibidor de la proteasa (Complete, Roche Applied Science) en un TissueLyser (Qiagen). Los lisados de proteínas se incubaron en hielo durante 30 minutos, se centrifugaron a 17.400 g durante 15 minutos a 4 °C, y el sobrenadante se transfirió a un nuevo tubo. La concentración de proteínas se cuantificó utilizando el reactivo de Folin (kit de ensayo de proteínas DC, Bio-Rad, Hercules, CA, USA). Las muestras de proteínas (40 µg) se separaron en geles SDS-poliacrilamida al 10% y se transfirieron a membranas de difluoruro de polivinilideno (PVDF) (Hybond-P, Amersham, GE Healthcare, Chicago, IL, USA) utilizando un sistema de electroblotting húmedo (Bio-Rad). Las membranas se bloquearon durante 1 h con un 5% de leche seca sin grasa y se incubaron con anticuerpos primarios diluidos en solución de bloqueo durante la noche. Los anticuerpos primarios fueron: JNK, p-JNK (Merck Millipore, Burlington, MA, USA), ATF6, BiP y GAPDH (Santa Cruz Biotechnology). Las membranas se lavaron tres veces con TBS-T durante 10 minutos y luego se incubaron con anticuerpos secundarios conjugados con peroxidasa de rábano picante (anti-conejo de cabra o anti-cabra de conejo) durante 1,5 h a temperatura ambiente. La cuantificación y digitalización de banda se realizó utilizando un reactivo de detección quimio luminiscente (Millipore, MA, USA) en un densitómetro ChemiDoc MP y procesado por el software Image Lab (Bio-Rad). Un valor de uno se asignó arbitrariamente al grupo de control, que se utilizó como referencia para las otras condiciones. La intensidad de la banda se normalizó utilizando la expresión de proteína GAPDH como control de carga. Los resultados se reportan como proteína de interés/proteína doméstica para ATF6 y BiP o relación proteína fosforilada/total para JNK.

6.12 Análisis de la morfología de la microglía en el cerebro de la descendencia por inmunohistoquímica

6.12.1 Perfusión intracardiaca

La tercera cohorte de ratones fue la siguiente: Control (n= 5), Control + AIDA (n=5), CAF (n=5) CAF + AIDA (n=5), se asignó para realizar inmunohistoquímica de la morfología de la microglía en regiones cerebrales asociadas a la sociabilidad. Los ratones fueron sacrificados por sobredosis de pentobarbital (PiSA Agropecuaria) vía intraperitoneal (i.p). Se realizó una disección cutánea desde la región abdominal hasta la parte superior del tórax, exponiendo el corazón. Luego, el ventrículo izquierdo del corazón fue perforado siguiendo su ápice y se hizo un corte en la aurícula derecha y se perfundió con una bomba de infusión (Fisher Scientific GP1000) a un caudal de 10 mL/min con PBS 0,1 M + heparina (10 U/mL). Posteriormente, la solución de lavado se cambió a la solución de fijación incluyendo 4% de paraformaldehído (PFA) en 0,1 M PBS durante 25 min, siguiendo el mismo flujo. Se aisló el cerebro y se almacenaron muestras a 4 °C en 4% de PFA durante 24 h y se cambió a una solución de sacarosa al 10%, 20% y al 30%+ 0,1 M PBS soluciones de criopreservación.

6.12.2 Inmunohistoquímica

Los cerebros de los grupos Control (n= 5), Control + AIDA (n=5), CAF (n=5) CAF + AIDA (n=5) fueron cortados con un criostato (Leica Biosystems, Alemania) a 30-40 µm de secciones coronales para Cx, St y Hpp con las siguientes coordenadas estereotáxicas: ML: 2,5 mm AP: 2,5 mm DV: 3,2 mm y se recogieron en una solución PBS de 0,1 M. Para evaluar la morfología de la microglía, se realizó inmunotinción en secciones flotantes libres. Brevemente, se recuperaron 30-40 µm de secciones coronales en buffer de citrato pH 6,0 por 20 min y se realizaron 3 lavados/5 min con PBS 1X + 0,01% entre 20 (PBST). Luego, se bloquearon las secciones con 200µl de solución de peroxidasa (KitAB64264) durante 10 minutos a temperatura ambiente seguido de 3 lavados /5 min con PBST e incubado con anti-Iba1 primario (EPR16589 ab178847) en PBST (1:300) y se incubaron durante la noche a las 4 °C. Se lavaron 3 secciones con PBST y se incubaron con 200µl de Biotinilado Polivalente de cabra (KitAB64264) durante 10 min. Se lavaron 3 secciones con PBST y se incubaron con estreptavidina (AB64264) durante 10 min. Las secciones se enjuagaron y se expusieron a 200 µl 1:50 3,3 -Diaminobenzidina (DAB) en sustrato DAB (KitAB64264) por 10 min. Finalmente, se montaron secciones en rebanadas recubiertas de poli-L-lisina y se analizaron bajo un

microscopio Brightfield e Imager A2 Zeiss. Los controles negativos consistieron en eliminar el anticuerpo primario para el procedimiento. Se tomaron micrografías fotográficas en 10 y 40 objetivos (2 cortes por ratón) para cuantificar el número total de células positivas de Iba1.

6.12.3 Análisis morfológico de la microglía

Para la medición de los parámetros morfológicos de las microglía (50-60 células individuales por grupo) para determinar el número de ramas (Branches), puntos finales (Puntos finales) y uniones (Uniones) de procesos que se originan del soma de cada célula en microfotografía y para cada grupo usando ImageJ y plugins (FFT bandpass filter, unsharp mask y close) a todas las imágenes binarias y esqueletizadas en Fiji. [45]

6.13 Modelos biológicos

Se realizó un análisis de regresión lineal para observar el efecto de variables independientes en un modelo biológico utilizando datos de las pruebas de comportamiento y características de la morfología de la microglía número de ramas (Branches), puntos finales (Puntos finales) y uniones (Uniones) en corteza e hipocampo) sobre las variables dependientes (interacción social) para predecir la fuerza de la asociación entre la programación materna, el ayuno intermitente, la interacción social y la complejidad de la morfología de la microglía. Los análisis de correlación se basaron en modelos de regresión lineal presentados como coeficiente beta (B) e intervalo de confianza del 95% (IC del 95%). Un valor p 0,05 se consideró estadísticamente significativo. Estos análisis se realizaron en R estudio versión 3.6.3 con la siguiente ecuación: $Lm(\text{Interacción social} \sim \text{Grupo} * \text{características de morfología microglial})$. R Equipo Central (2023). *_R: Un Lenguaje y Ambiente para la Estadística Computing_*. R Fundación para la Computación Estadística, Viena, Austria. & It; <https://www.R-project.org/>>.

6.14 Análisis estadístico

Los datos fueron analizados usando GraphPad Prism 8.4.3 (GraphPad 264 Software, Inc., San Diego, CA, Estados Unidos). Las pruebas de normalidad se realizaron con D Agostino-Pearson, Anderson-Darling y Shapiro-Wilk, y Kolmogorov Smirnov. Las comparaciones multigrupo se realizaron utilizando un ANOVA dos colas y la prueba de Tukey como poshoc. Los datos con distribución no normal (prueba de enterramiento de canicas) se analizaron con la prueba de Friedman. Las barras de error indican error estándar de la media (ESM). Las

diferencias se consideraron estadísticamente significativas (*) $P < 0,05$, d (**) $P < 0,01$, (***) $P < 0,001$.

7. Resultados

7.1 AIDA modula el peso corporal y promueve la producción de cuerpos cetónicos.

En este proyecto se evaluó el efecto del Ayuno Intermitente de Día Alterno (AIDA) en la descendencia de madres expuestas a la dieta control (chow) y CAF durante un protocolo de 5 semanas donde se observó que en los grupos control (Control y CAF) no se observó diferencia de peso durante las 5 semanas. Mientras que el AIDA promueve una disminución de peso significativa en los ratones comparando el peso inicial con el peso a la 5^o semana durante el estado de restricción alimenticia: Control (+10%) CAF (+12%) Control + AIDA (-20%) CAF + AIDA (-7%) (**Figura 37 A**). Se observó que la descendencia de madres CAF presentó una menor pérdida de peso respecto al control con ayuno (Control + AIDA). La descendencia de madres CAF con AIDA fueron resistentes a la pérdida de peso en las mediciones de la 1^o, 3^o y 5^o, que corresponden a mediciones en ayuno (**Figura 37 D**). También observamos un patrón diferente entre los grupos Control y CAF tratados con AIDA en la pérdida. El Control + AIDA durante la restricción alimenticia muestra más pérdida de peso durante la primera semana, luego muestra un período de adaptación en la segunda semana donde no se observa diferencia en la pérdida de peso, y finalmente vuelve a perder peso durante la tercera semana (**Figura 37 C**). Mientras que el grupo CAF+ AIDA muestra una adaptación al AIDA ya que con el tiempo existe una reducción progresiva en perder peso (**Figura 37D**). Por otro lado, encontramos el mismo patrón de aumento de peso en ambos grupos tratados con AIDA durante el día de alimentación. En particular los ratones de progenie CAF presentan una menor ganancia de peso durante la primera semana. Sin embargo, durante la segunda semana no observamos diferencia entre ambos. Mostrando la misma tendencia a tener una disminución en la ganancia de peso durante los períodos de alimentación.

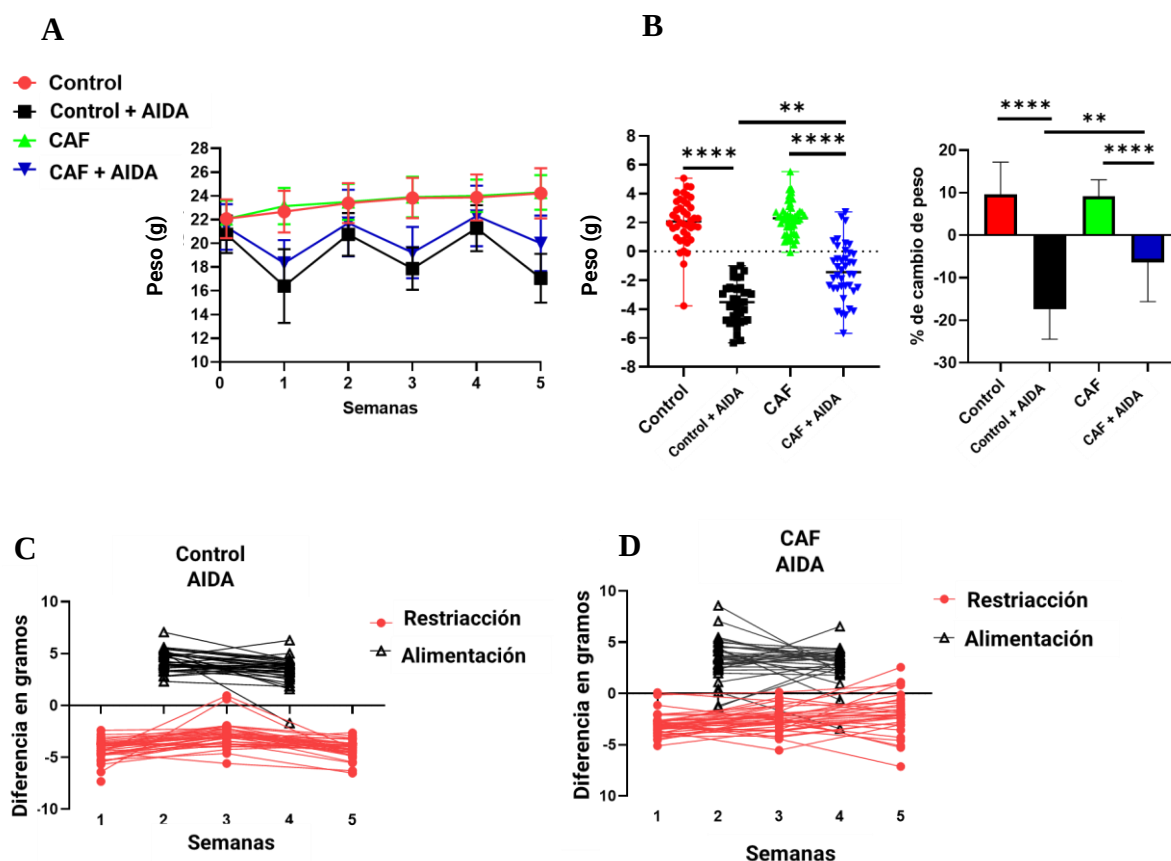


Figura 37. Evaluación del peso corporal en progenie de hembras alimentadas con dieta Control y CAF. Cambio de peso corporal durante 5 semanas de AIDA (**A**). Comparación de peso al día uno y al término del protocolo (**B**) Patrones de cambio de peso en día de alimentación y día de restricción alimenticia en la progenie CAF (**C**) y Control (**D**).

7.2 AIDA mejora la producción de cuerpos cetónicos

Como se describió anteriormente durante el ayuno aumentan los niveles de beta-hidroxibutirato (BHB) producidos en el hígado. Para evaluar el efecto del AIDA se midió los niveles de BHB en la descendencia de madres expuestas a dieta control y dieta CAF durante la gestación (**Figura 38A**). Se observó que la descendencia de Control y CAF expuesta a AIDA mostró un aumento de los niveles plasmáticos de BHB en comparación con la descendencia de Control o CAF (**Figura 38B**). No se observaron cambios en los niveles de BHB en la descendencia de Cx y Hpp de Control + AIDA y CAF + AIDA en comparación con la descendencia de control o CAF (**Figura 38C y D**). Estos resultados sugieren que la descendencia expuesta a la dieta CAF durante el desarrollo (programación materna) no presenta alteraciones en la producción de BHB en el plasma en respuesta al AIDA.

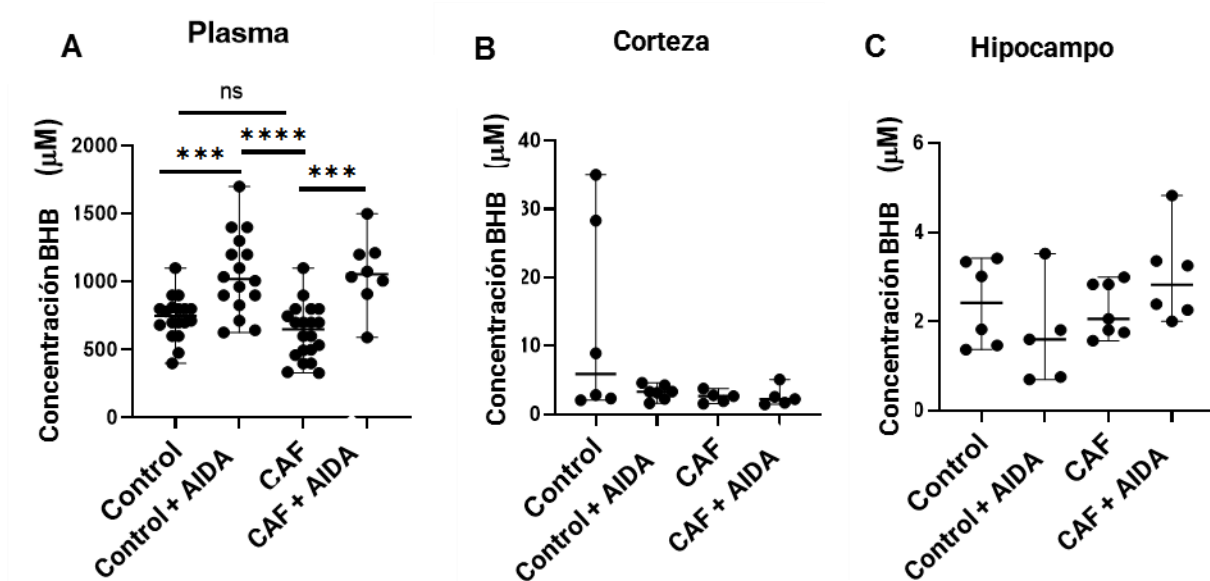


Figura 38. El ayuno modula el peso corporal y promueve la producción de Betahidroxibutirato (BHB). (A) Programación materna y protocolo de ayuno alterno. Cuantificación de los niveles plasmáticos de beta-hidroxibutirato (B), Corteza (C) e Hipocampo (D). Las diferencias se evaluaron mediante ANOVA unidireccional. El resultado representa el error estándar medio de la media. Análisis estadístico. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

7.3 AIDA mejora la sociabilidad en la descendencia

Los individuos con TEA muestran una conducta repetitiva, ansiosa y una incapacidad para socializar. Es por ello por lo que se determinó el efecto de la AIDA sobre el comportamiento similar al TEA de la descendencia expuesta a la dieta CAF. Inicialmente evaluamos el comportamiento obsesivo-repetitivo utilizando la prueba de entierro de canicas. Los gráficos de violín mostraron que los individuos expuestos a la dieta Control integraban dos poblaciones de sujetos enterrando entre el 20% y el 75% de canicas. (**Figura 39A**). Por otro lado, el grupo Control + AIDA mostró dos poblaciones que tuvieron hasta un 20% más de canicas enterradas (47-97%) en comparación con los individuos de control (**Figura 39A**). Los individuos expuestos a la dieta CAF integraron tres poblaciones de sujetos, enterrando el 10%, el 47% y el 95% de las canicas totales. Sin embargo, el grupo CAF + AIDA mostró un 28% más de canicas enterradas en comparación con individuos con CAF (**Figura 39A**). Señalando que los ratones con ayuno muestran una mayor conducta repetitiva.

A continuación, identificamos si la descendencia macho de CAF tratada con AIDA muestra cambios en la conducta ansiosa. Los resultados no mostraron cambios en la tasa de movilidad en ratones de grupos control o CAF expuestos al AIDA en comparación con sujetos control o CAF (**Figura 39B**). Sin embargo, observamos que la AIDA en individuos control mostró disminución en la actividad (**Figura 39C**), y distancia recorrida (**Figura 39D**), mientras que los individuos CAF mostraron aumento en la actividad (**Figura 39C**) y distancia recorrida (**Figura 39D**) en comparación con los sujetos Control + AIDA. Al igual que nuestros hallazgos recientes, la descendencia expuesta a la dieta CAF durante el desarrollo experimentó un aumento en el tiempo que pasó en las esquinas cuando se la comparó con los individuos de control (**Figura 39E**). Por el contrario, los ratones CAF + AIDA no modificaron la velocidad de actividad, la distancia recorrida y la tasa de inmovilidad en comparación con los sujetos descendientes de CAF (**Figura 39 B - D**). Para ser precisos, los ratones CAF + AIDA mostraron una disminución significativa en el tiempo pasado en las esquinas en comparación con los descendientes de CAF (**Figura 39E**). Estos datos sugieren que la AIDA disminuyó el comportamiento de ansiedad en la descendencia de la CAF.

Finalmente, abordamos el efecto de la AIDA sobre la interacción social en ratones expuestos a la dieta CAF durante la gestación. Encontramos que los machos control pasaron más tiempo (+20,75 segundos) interactuando con el sujeto desconocido, mientras que los individuos CAF mostraron una menor interacción social (-60,71 segundos) (**Figura 39 F, G**). Notablemente, la descendencia de CAF expuesta a AIDA recuperó la interacción social de -60.71 a 76.25 segundos (**Figura 39F**), lo cual se correlaciona con menos tiempo pasado con el objeto inanimado (**Figura 39G**) (-51.98 segundos) comparado con la descendencia de CAF (+4 segundos). Estos resultados confirmaron que el ayuno mejora la sociabilidad en ratones expuestos a la dieta CAF durante el desarrollo.

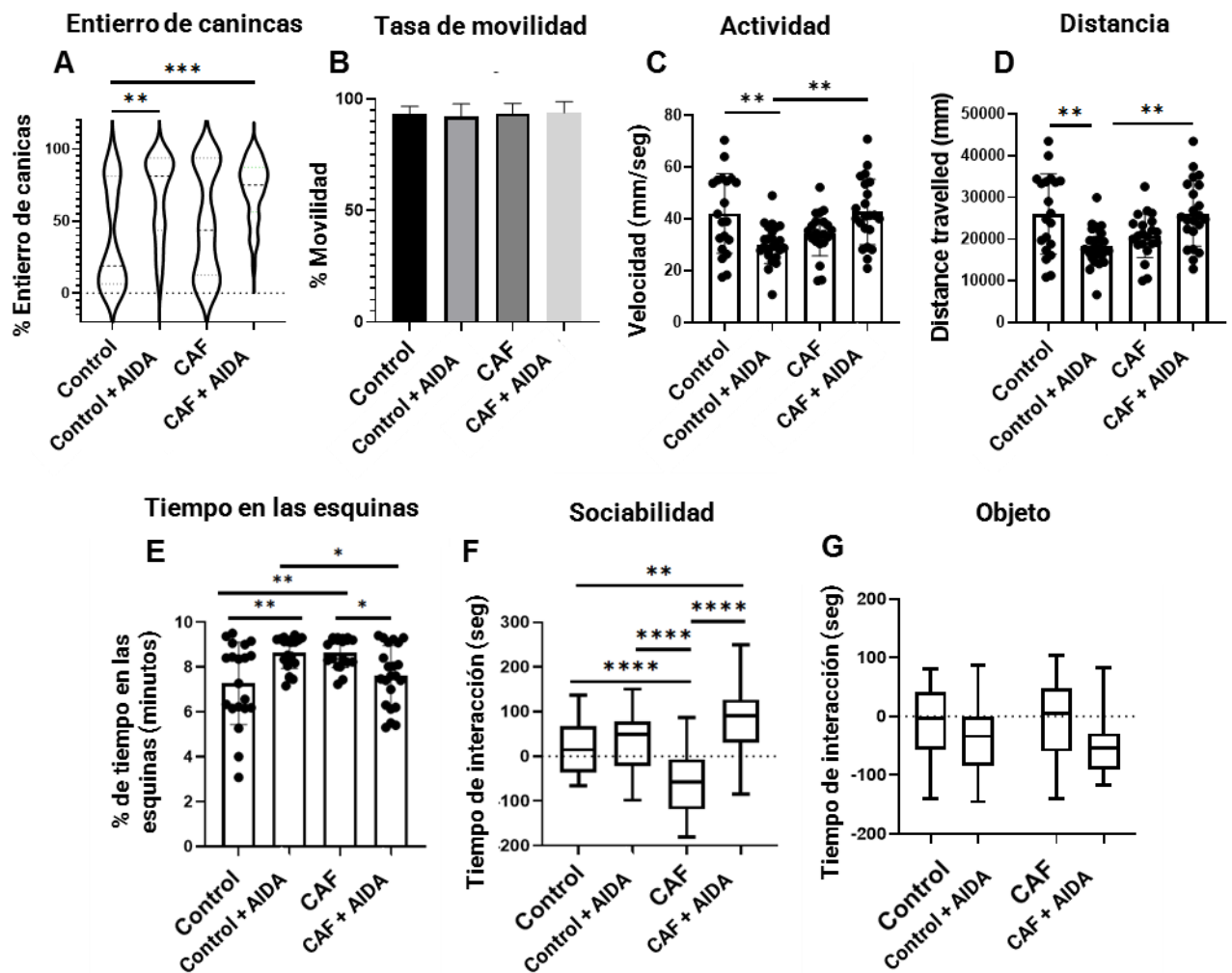


Figura 39. El ayuno revierte los comportamientos sociales y de ansiedad. (A) Efecto del ayuno intermitente en el comportamiento repetitivo: enterrar mármol. Comportamiento ansioso y función locomotora. (B) Tasa de movilidad, (C) Actividad, (D) Distancia recorrida, (E) Tiempo en la esquina y (F) Tiempo de Interacción social, o (G) Tiempo de interacción con el objeto. Las diferencias se evaluaron utilizando ANOVA unidireccional. El resultado representa el error estándar medio de la media. Análisis estadístico * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

7.4 La AIDA aumenta la población de microglías CD206+ en la CP de los individuos de control

Los defectos de sociabilidad encontrados en los individuos con TEA se correlacionan con un incremento en el perfil proinflamatorio de la microglía en diversas regiones del cerebro (Codagnone et al., 2015; Cui et al., 2020; Maldonado-Ruiz et al., 2022a; M. D. Shen, 2018; 109

Shin Yim et al., 2017; Thabault et al., 2022). Por otro lado, se ha reportado que el AIDA favorece la polarización de la microglía (Ciaffi et al., 2021; C. Huang et al., 2022; Polito et al., 2023; Stekovic et al., 2019; Traba et al., 2017) Por ello nosotros determinamos el efecto de la AIDA en el número de células microglía en el CP (plexo coroideo) de la descendencia expuesta a la dieta CAF durante el desarrollo. Inicialmente, centramos nuestro análisis en las células inmunes que están en comunicación sistémica con el cerebro, como las células NK (CD161+) (Kurioka et al., 2018), las células dendríticas de ratón (CD11c+) (Immig et al., 2015) los macrófagos perivascuales de ratón (CD45 high /CD11b+) (Giuseppe Faraco, Laibaik Park, Josef Anrather, 2018) y también, la microglía de ratón (CD45 low/CD11b+)(Jurga et al., 2020). La Figura 38 A muestra histogramas representativos de las poblaciones y fenotipos analizados en la CP (**Figura 40 A**). Se encontró que la programación control + AIDA no promovió cambios significativos en el número de NK (CD161+) (**Figura 40B**), células dendríticas (CD11c+) (**Figura 40 C**), macrófagos (CD45 high /CD11b+) (**Figura 40D**), o linfocitos (CD45 +/CD11b-) (**Figura 40E**), en la descendencia expuesta a la dieta Control o CAF durante el desarrollo. Notablemente, encontramos que la AIDA aumentó el número de células de microglía (CD45 low/CD11b+) (**Figura 40F**), y un aumento robusto en las células de microglía CD206+ en el CP de la descendencia de control, mientras que no se encontraron cambios en la descendencia expuesta a la dieta de CAF (**Figura 40G**). Además, no se encontraron cambios en las células de microglía CD86+ en el CP después de la exposición a AIDA en los grupos CAF y de control (Figura 38H).

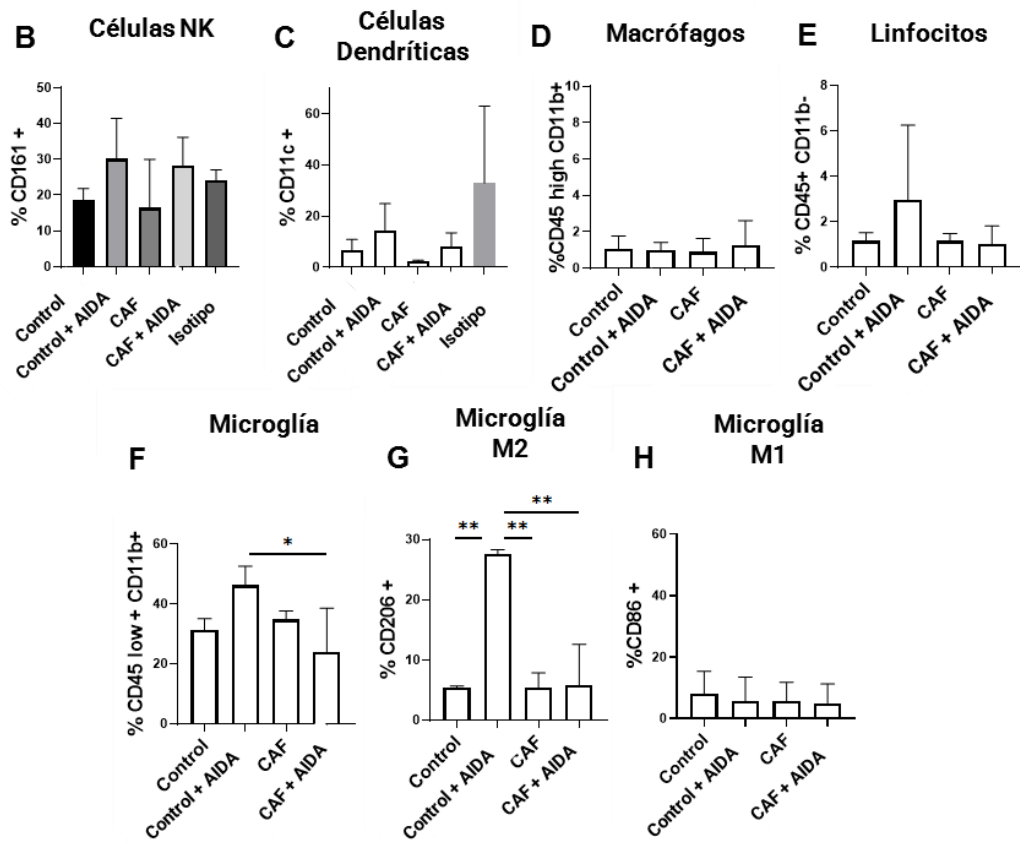
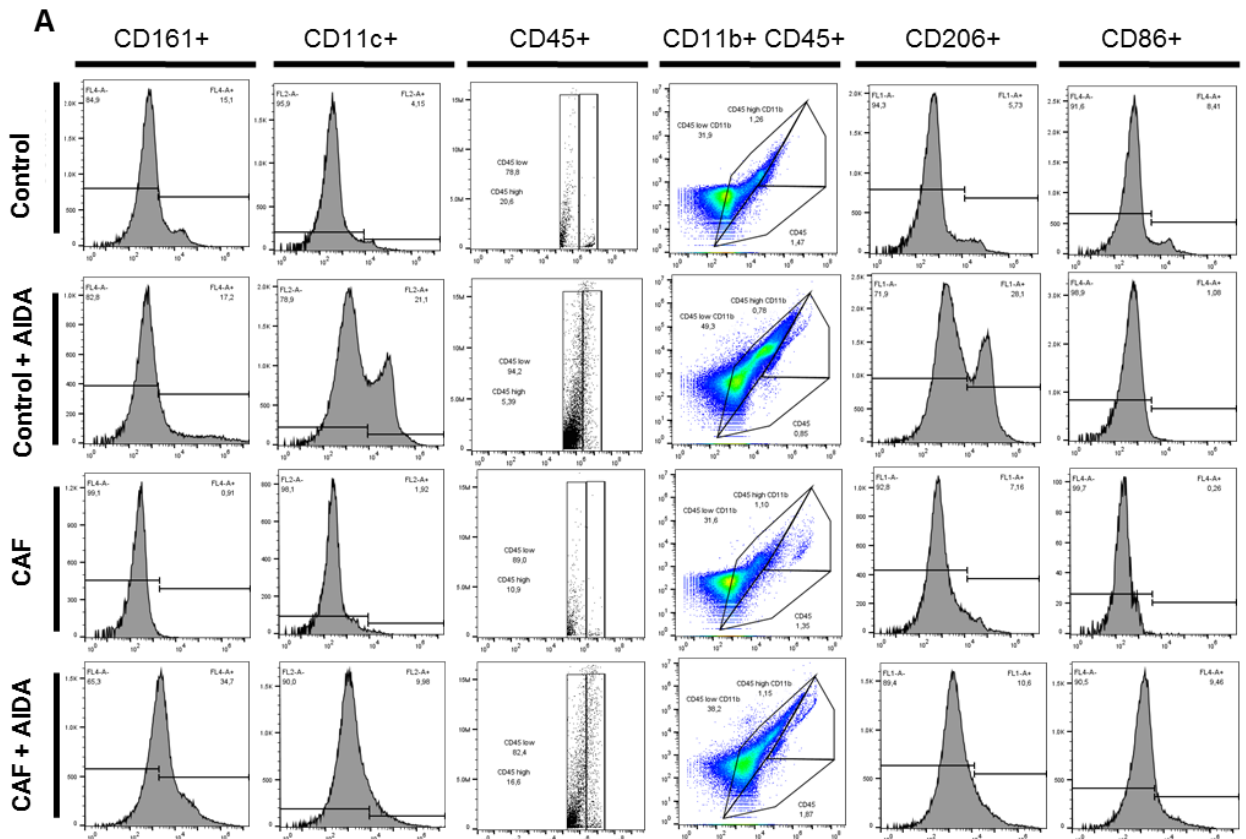


Figura 40. El ayuno intermitente y la programación materna modulan el perfil inmune en plexo coroideo. (A) Histograma representativo del análisis de citometría de flujo para evaluar el efecto del ayuno intermitente en la población de células inmunitarias en el plexo coroides. (B) Análisis gráfico de la acumulación de células NK, (C) Células dendríticas, (D) Macrófagos, (E) Linfocitos, (F) Microglía total, (G) CD86+ Microglía, (H) CD206+ Microglía. Las diferencias se evaluaron mediante ANOVA unidireccional. El resultado representa el error estándar medio de la media. Análisis estadístico. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

7.5 La AIDA aumenta la microglía en regiones cerebrales asociadas con la interacción social

A continuación, determinamos el efecto de la AIDA en el perfil de las células inmunitarias de la microglía en las regiones cerebrales vinculadas a la interacción social como la Cx, St y Hpp. Inicialmente, caracterizamos las células de microglía seleccionando células CD45 high/CD11b+ (macrófagos), CD45 low/CD11b+ (microglía) (Müller et al., 2015; Rangaraju et al., 2018). Observamos que la AIDA promovió un aumento en el número de células CD45+ en Cx de la descendencia Control y CAF (**Figura 41A**). Además, EL AIDA promovió un aumento de macrófagos (CD45 high/CD11b+) (**Figura 41B**) y linfocitos (CD45+/CD11b-) células (**Figura 41C**) en la Cx de descendencia control. No se encontraron cambios en las microglías CD45low/CD11b+/CD206+ o CD45low/CD11b+/CD86+ en la Cx de individuos prenatalmente expuestos a la dieta de control o CAF (**Figura 41D -F**). Además, no se observaron diferencias significativas en el St de individuos expuestos a AIDA y nacidos de madres expuestas a comida o dieta CAF (**Figura 41L -P**).

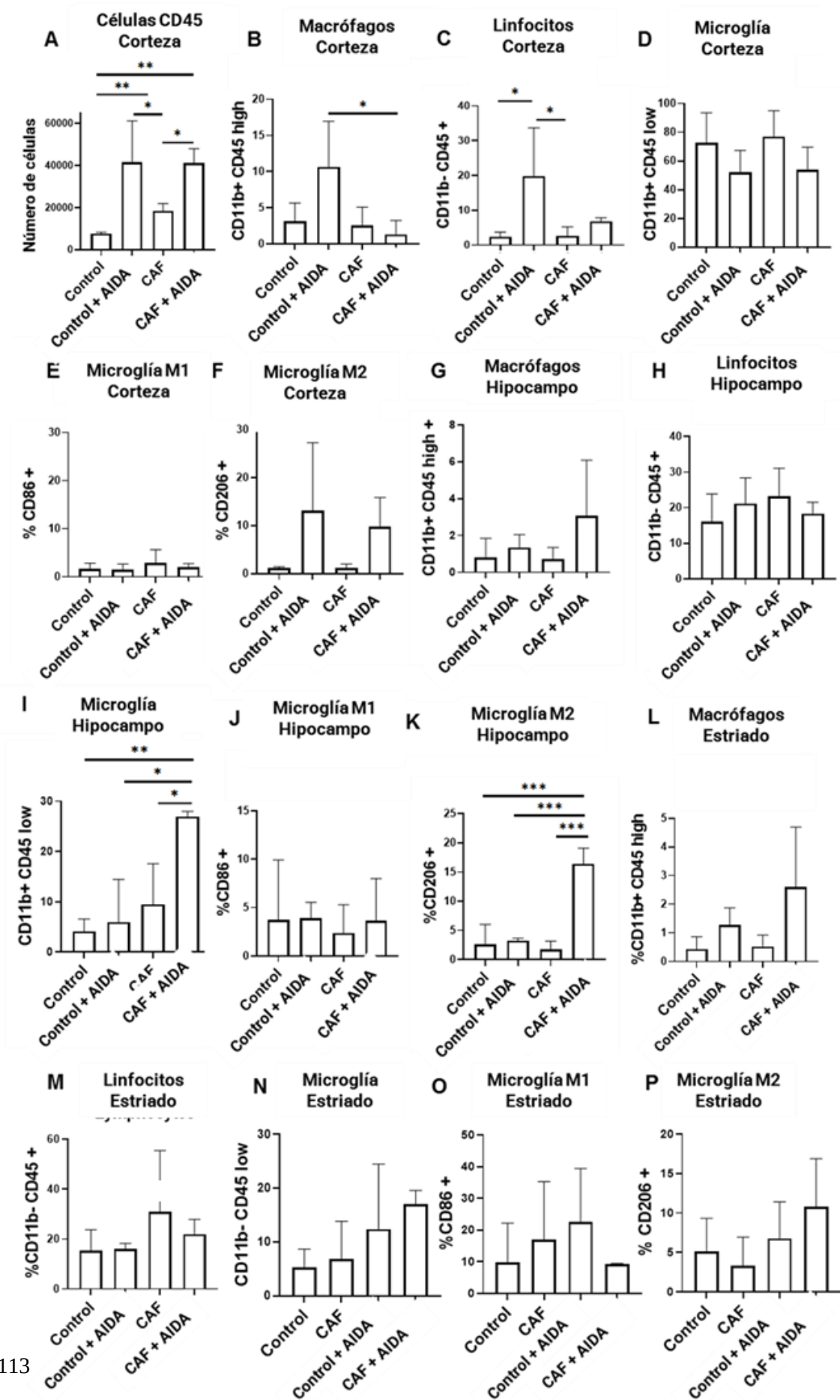


Figura 41. El ayuno intermitente modula el perfil inmunitario en regiones cerebrales asociadas a la sociabilidad. (A) Efecto del ayuno intermitente y de la programación materna de CAF en las regiones cerebrales asociadas a la interacción social en el número total de células CD45+, (B) macrófagos, (C) linfocitos, (D) población de microglías, (E) CD86+ microglía, (F) CD206+ microglía en la Corteza. (G) macrófagos, (H) linfocitos, (I) población de microglías, (J) CD86+ microglía, (K) microglía CD206+ en hipocampo. (L) Macrófagos (M) Linfocitos, (N) Microglía (O) Microglía CD86 (P) CD206 en Cuerpo Estriado. Las diferencias se evaluaron mediante ANOVA unidireccional. El resultado representa el error estándar medio de la media. Análisis estadístico. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

7.6 AIDA disminuyó la señalización de Bip/ATF6/p-JNK en el cerebro

Se evaluó el efecto del ayuno intermitente en la señalización Bip/ATF6/p-JNK, un marcador potencial de la vía inflamatoria y ER stress: BIP-ATF6 p-JNK. Descubrimos que la descendencia expuesta a la dieta CAF durante el desarrollo gestacional mostraba un aumento en los niveles de proteínas de Bip, ATF6 y p-JNK en la Cx (**Figura 42A, C**) y Hpp (**Figura 42B, D**) en comparación con los individuos de control, lo que implica que la programación materna induce estrés en el retículo de las células de estas regiones cerebrales e inflamación mediada por JNK. Notablemente, la descendencia de CAF expuesta a AIDA disminuyó eficientemente los niveles de ATF6 y p-JNK tanto en Cx (**Figura 42C**) como en Hpp (**Figura 42D**). Estos resultados sugieren que la AIDA redujo la expresión de señalización de ATF6/p-JNK en la descendencia prenatalmente expuesta a la dieta CAF.

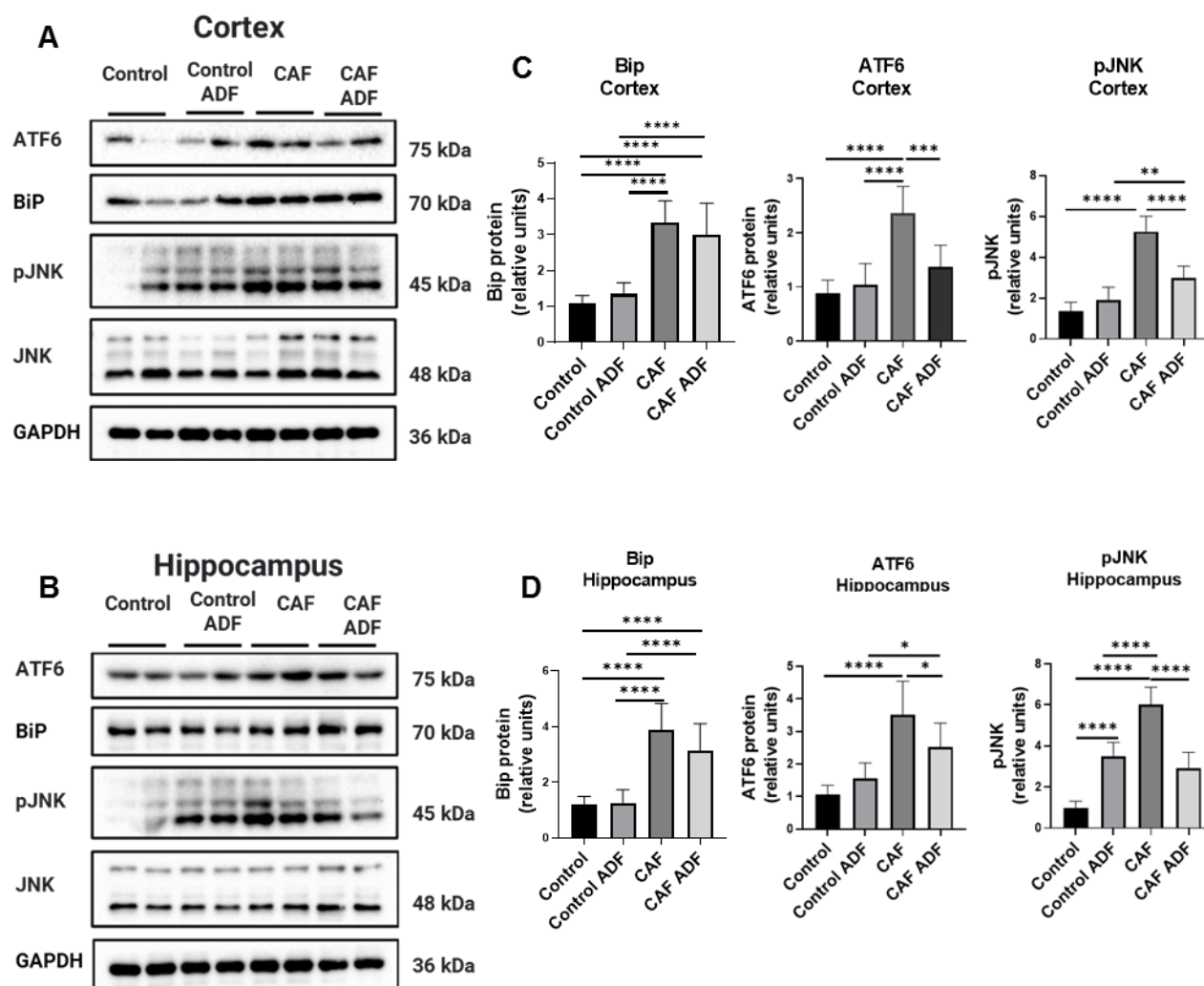


Figura 42. El ayuno intermitente atenúa el estrés ER y la señalización JNK en la descendencia expuesta a la dieta CAF. **(A)** Expresión de los niveles proteicos de ATF6 (Factor de transcripción activador 6), BiP (Proteína de unión a inmunoglobulina) y p-JNK (c-Jun N-terminal fosforilada) en la corteza e **(B)** hipocampo. **(C)** Cuantificación densitométrica de la relación proteína/proteína doméstica para ATF6 y BiP, y relación proteína fosforilada/total para JNK en Corteza. **(D)** Cuantificación densitométrica en hipocampo. El resultado representa el error estándar medio de la media. Análisis estadístico. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

7.7 AIDA modula cambios en la morfología de microglía de Cx y Hpp

Se evaluó el efecto de la AIDA sobre los cambios en la morfología de la microglía en Cx y Hpp de la descendencia. El área retrosplenial (RSC) cubre la corteza superficial medio-caudal asociada con recuerdos de miedo y aspectos motivacionales del aprendizaje, la cual es subdividida en corteza retrosplenial granular (RSG) vs área retrosplenial Agranular (RSA). El RSG recibe entradas directas del hipocampo dorsal CA1 y tiene conexiones con los núcleos talámico dorsal lateral y dorsal anterior, subículo y postículo (Balcerek et al., 2021; Tsai et al., 2022a) El RSA está interconectado con los núcleos talámico medial anterior y posterior lateral, y las cortezas prefrontales (Tsai et al., 2022a). Observamos un aumento en el número de ramas (**Figura 43B**), puntos finales (**Figura 43C**) y uniones (**Figura 43D**) en RSA en la descendencia expuesta a la dieta CAF en comparación con individuos de Control, Control + AIDA o CAF + AIDA. Además, RSG mostró más ramas (**Figura 43E**), puntos finales (Figura 41F) y uniones (Figura 41G) en individuos de Control o CAF expuestos a AIDA. El análisis de la corteza somatosensorial no muestra diferencias importantes entre grupos (**Figura 3SA, B y C**). Además, la región hipocampal CA1 mostró una disminución en el número de ramas (**Figura 43H**), puntos finales (**Figura 43I**) y uniones (**Figura 43J**), en la descendencia de madres expuestas a CAF en comparación con individuos de Control o CAF + AIDA. Se encontró un aumento en el número de ramas (**Figura 43K**), puntos finales (**Figura 43L**) y uniones (Figura 41M) en los individuos CA2 de control expuestos a individuos AIDA o CAF. Además, la región CA3 de las crías de CAF mostró un aumento en el número de ramas (Figura 41N) y puntos finales (**Figura 43O**), en comparación con los individuos de control expuestos a AIDA. Finalmente, la descendencia de CAF expuesta a AIDA mostró un aumento en el número de ramas (**Figura 43Q**), puntos finales (**Figura 43R**), y uniones (**Figura 43S**), en el giro dentado comparado con CAF y descendencia de control o descendencia de control expuesta a AIDA.

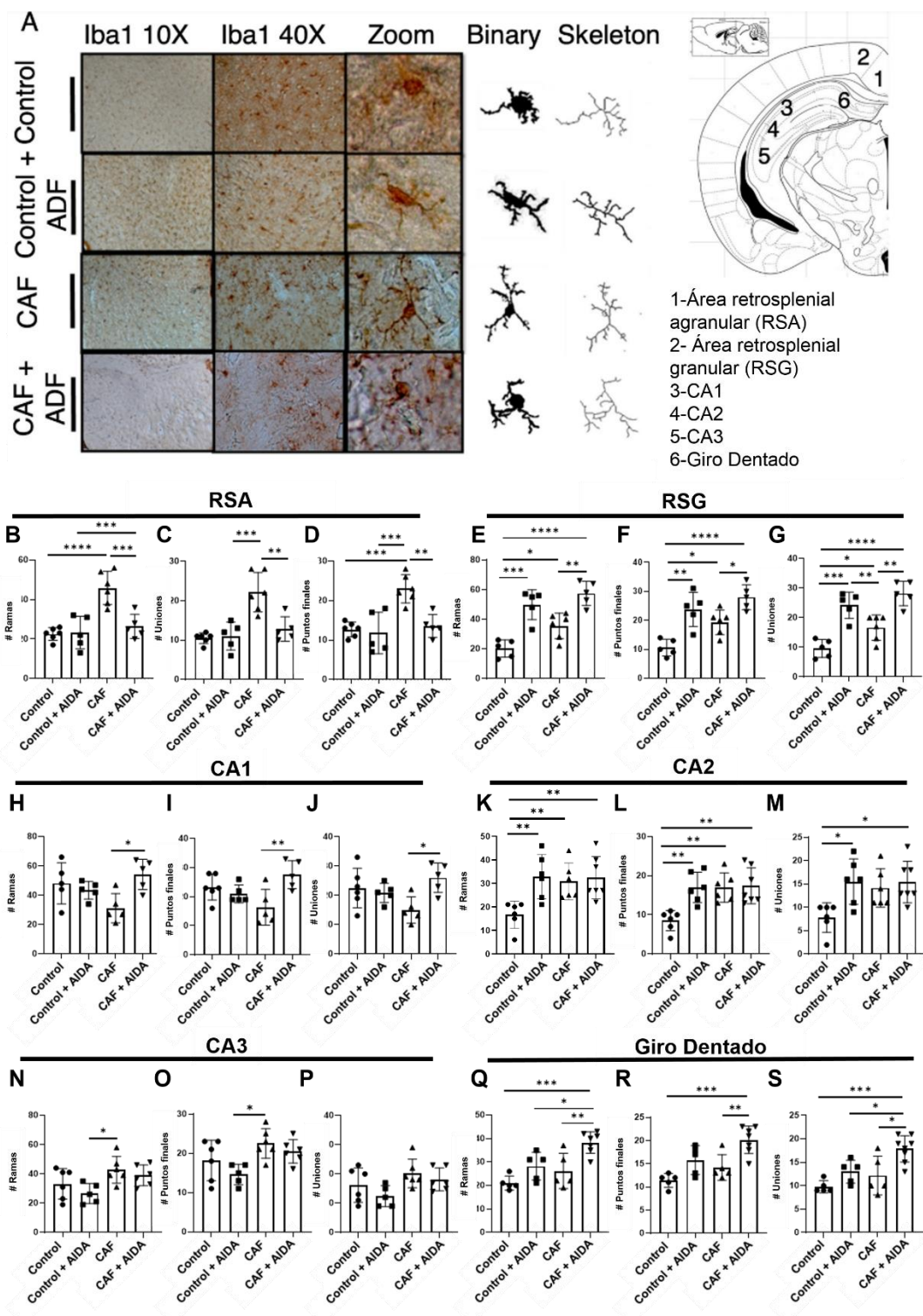


Figura 43. El ayuno intermitente modula la morfología de la microglía en las regiones de la corteza y del hipocampo. Coordenadas del manual de cirugía estereotáxica de las regiones cerebrales de ratón (ML:2.5mm AP: -2.5 mm DV:3.2 mm) y un análisis binario y de skeleton de la Corteza Agranular Retroesplenial (RSA) (A) Número de ramas de la microglía en la

corteza de la RSA **(B)** puntos finales **(C)** uniones **(D)**. Análisis de la morfología de RSG; ramas **(E)** puntos finales **(F)** uniones **(G)**. Análisis de la morfología de CA1; ramas **(H)** puntos finales **(I)** uniones **(J)**. Análisis de la morfología de CA2; ramas **(K)** puntos finales **(L)** uniones **(M)**. Análisis de la morfología de CA3; ramas **(N)** puntos finales **(O)** uniones **(P)**. Análisis de la morfología del Giro dentado; ramas **(Q)** puntos finales **(R)** uniones **(S)**. Las diferencias se evaluaron utilizando ANOVA de una vía. El resultado representa el error estándar medio de la media.

7.8 El Modelado Biológico Asocia el Ayuno Intermitente y la programación materna con las Interacciones Sociales y variables en la Corteza y el Hipocampo.

Se realizó un modelo biológico para predecir la fuerza de la asociación entre la programación materna, el ayuno intermitente, la interacción social y la complejidad de la morfología de la microglía. La gráfica del mapa de calor de los grupos y las características morfológicas de la microglía mostraron que el valor de intensidad que representa la dirección de la dependencia de la interacción es positivo (azul) o negativo (rojo) **(Figura 44A)**. Se encontró una correlación positiva entre la morfología de la microglía y la sociabilidad en el RSG de individuos control (Figura 42A). Además, se identificó una correlación negativa entre la morfología de la microglía y la sociabilidad en el CA1, CA2 y CA3 y el giro dentado **(Figura 44A)**. Luego enfocamos nuestro modelado biológico en las dos regiones principales del cerebro donde el AIDA mostró un efecto mayor, el RSG y el giro dentado **(Figura 44B)**. Se encontró que en la descendencia de control que muestra más interacción social se asoció con menos puntos finales en la microglía de RSG **(Figura 44C)**. Cabe destacar que la descendencia de CAF con menor tiempo de interacción social se asoció con un aumento en el número de ramas **(Figura 44D)**, puntos finales **(Figura 44E)** y uniones **(Figura 44F)** en el giro dentado. Además, observamos una diferencia entre el efecto AIDA en RSG. El ayuno promueve la sociabilidad asociada con mayor complejidad de microglía en Control, mientras que en CAF observamos el efecto opuesto **(Figura 44C)**. En el giro dentado, más interacciones sociales se asocian con menos complejidad en Control (Figura 42D - F). De forma gráfica se muestra como el aumento en complejidad de la microglía se asocia con mayor sociabilidad en corteza, mientras que en giro dentado esta se correlaciona con menor complejidad **(Figura 46 A)**.

Además, la disminución del tiempo pasado en las esquinas se asoció a una menor acumulación de BHB en Cx y Hpp. Se observó el efecto contrario durante el ayuno intermitente, tal como

se observó más acumulación de BHB asociada con aumento de BHB en plasma (**Figura 45 y Figura 46B**).

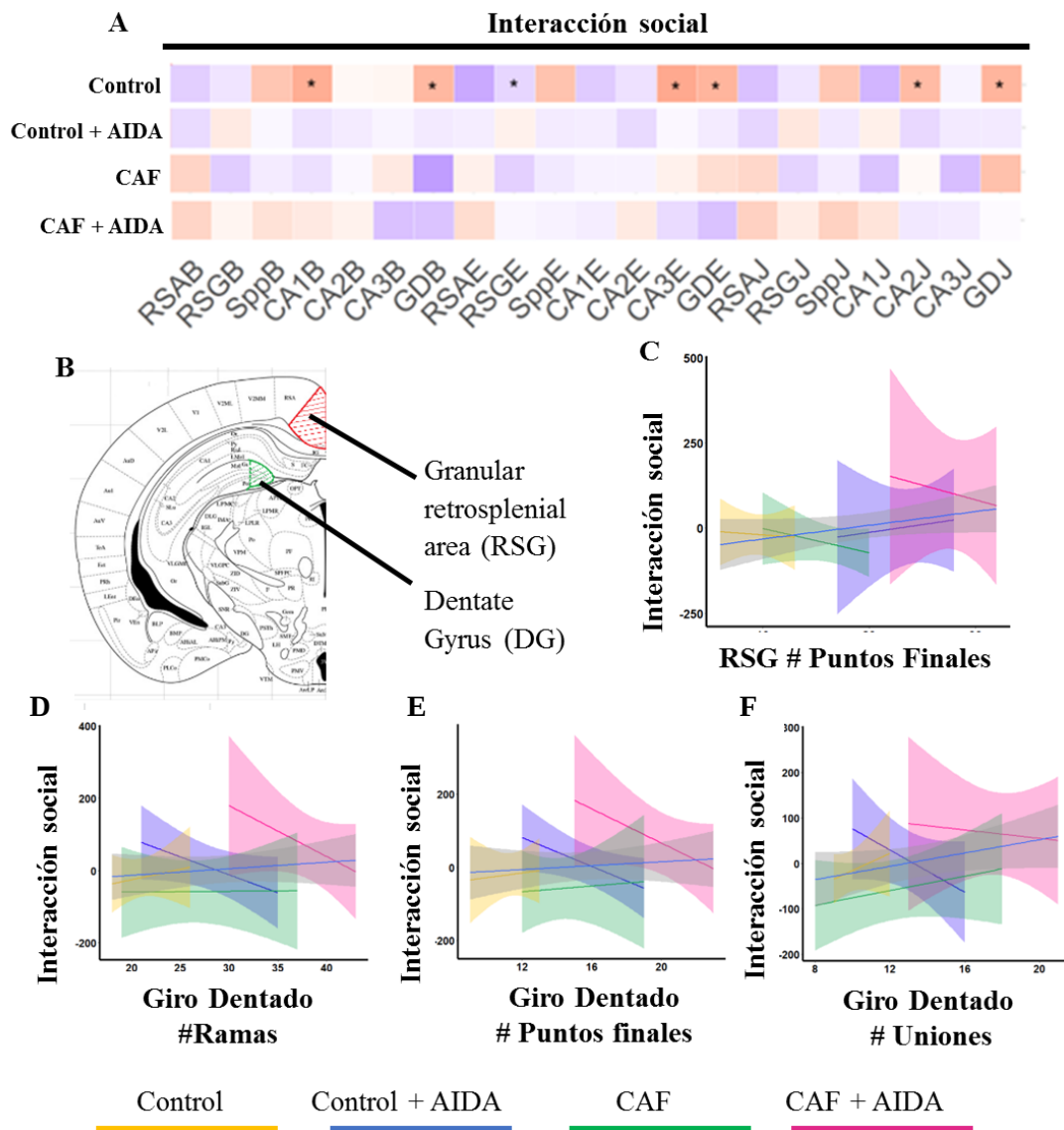


Figura 44. Modelos de asociación entre el ayuno intermitente y la programación materna con interacciones sociales y variables en la Corteza e Hipocampo. (A) Un mapa de calor de grupos y características morfológicas de microglías. **(B)** Anatomía de la corteza retrosplenial granular (RSG) en rojo y Giro Dentado (DG) en verde. Coordenadas estereotácticas cerebrales del ratón (ML: 2,5 mm AP: -2,5 mm DV: 3,2 mm). **(C)** Asociación Análisis entre grupos de estudio Control (amarillo) Control + AIDA (azul) CAF (verde) CAF+ AIDA (púrpura), Tiempo de interacción social en segundos (eje Y), Puntos finales de la corteza retrosplenial

granular $R^2 = 0.7289$ $p = 0.006193$ **(D)** Ramas de giro dentado $R^2 = 0.5836$ $p = 0.04781$ **(E)** Puntos finales de giro dentado $R^2 = 0.6139$ $p = 0.3114$ **(F)** Uniones de giro dentado $R^2 = 0.47117$ $p = 0.138$.

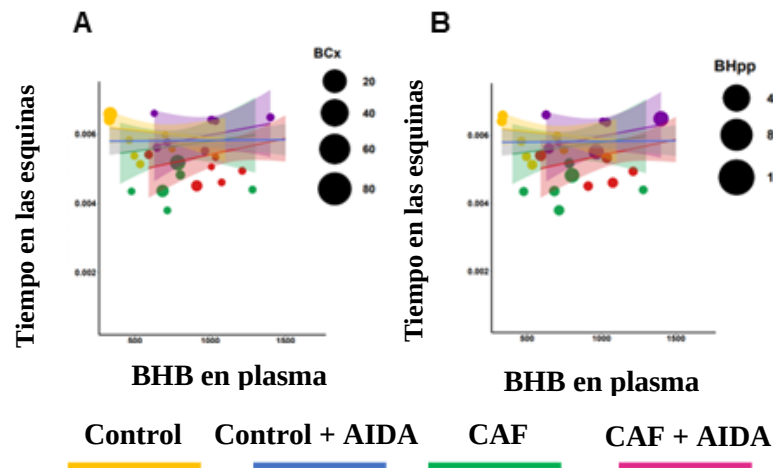


Figura 45. Modelos de asociación entre niveles de BHB en plasma y regiones cerebrales de los grupos de estudio. (Control = verde Control + ADF = púrpura CAF = amarillo + ADF = rojo), prueba de comportamiento de ansiedad (eje Y), característica de morfología de microglía (eje X) segunda característica de morfología de microglía (Tamaño de las esferas). **(A)** Plasma BHB vs Corteza BHB $p = 0.0007342$ **(B)** Plasma BHB vs Hipocampo BHB $p = 0.02382$.

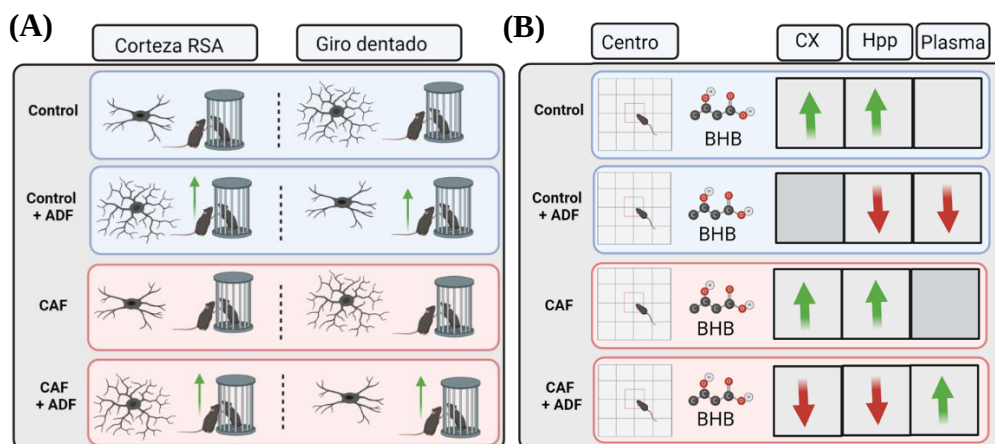


Figura 46. Esquemas de los modelos biológicos. (A) Representación de los análisis multivariantes entre interacción social y ramificación de la microglía entre corteza RSA y Giro dentado. **(B)** Representación de los análisis multivariantes entre tiempo en las esquinas y los niveles de BHB en plasma y regiones cerebrales. Color azul = progenie control y control + ADF (AIDA). Color rojo= grupo CAF y CAF + ADF (AIDA).

Tabla 9. Resultados del análisis de ANOVA dos vías para programación materna con dieta CAF y Ayuno Intermitente de día alterno correspondiente a Figura 38.

MODELO	FUENTE DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	VALOR DE F	VALOR AJUSTADO DE P
PLASMA BHB	Diet	1	82014	82014	F (1, 60) = 1.376	P=0.2453
	Fasting	1	1711232	1711232	F (1, 60) = 28.72	P<0.0001
	Interacción	1	102123	102123	F (1, 60) = 1.714	P=0.1955
CX BHB	Diet	1	960.2	960.2	F (1, 24) = 2.704	P=0.1131
	Fasting	1	36.17	36.17	F (1, 24) = 0.1018	P=0.7524
	Interacción	1	496.4	496.4	F (1, 24) = 1.398	P=0.2487
HPP BHB	Diet	1	2.115	2.115	F (1, 20) = 2.426	P=0.1350
	Fasting	1	0.00091	0.00091	F (1, 20) = 0.001044	P=0.9745
	Interacción	1	3.235	3.235	F (1, 20) = 3.711	P=0.0684

Tabla 10. Resultados del análisis de ANOVA dos vías para programación materna con dieta CAF y Ayuno Intermitente de día alterno correspondiente a Figura 39.

MODELO	FUENTE DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	VALOR DE F	VALOR AJUSTADO DE P
ACTIVIDAD	Diet	1	131.4	131.4	F (1, 79) = 0.9814	P=0.3249
	Fasting	1	80.69	80.69	F (1, 79) = 0.6024	P=0.4400
	Interacción	1	2237	2237	F (1, 79) = 16.70	P=0.0001
DISTANCIA RECORRIDA	Diet	1	34551203	34551203	F (1, 84) = 0.7067	P=0.4029
	Fasting	1	29217449	29217449	F (1, 84) = 0.5976	P=0.4417
	Interacción	1	922322342	922322342	F (1, 84) = 18.86	P<0.0001
TIEMPO EN LAS ESQUINAS	Diet	1	0.5734	0.5734	F (1, 79) = 0.3732	P=0.5430
	Fasting	1	0.5665	0.5665	F (1, 79) = 0.3687	P=0.5454
	Interacción	1	30.22	30.22	F (1, 79) = 19.67	P<0.0001
TIEMPO CON EL OBJETO	Diet	1	74.71	74.71	F (1, 125) = 0.02186	P=0.8827
	Fasting	1	31391	31391	F (1, 125) = 9.186	P=0.0030
	Interacción	1	824.4	824.4	F (1, 125) = 0.2412	P=0.6242
SOCIABILIDAD	Diet	1	16729	16729	F (1, 124) = 3.813	P=0.0531

	Fasting	1	194458	194458	F (1, 124) = 44.32 P<0.0001
	Interacción	1	125809	125809	F (1, 124) = 28.68 P<0.0001

Tabla 11. Resultados del análisis de ANOVA dos vías para programación materna con dieta CAF y Ayuno Intermitente de día alterno correspondiente a Figura 40 y 41.

MODELO	FUENTE DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	DE MEDIA DE CUADRADOS	VALOR DE F	VALOR AJUSTADO DE P
CP MICROGLIA	Diet	1	258.5	258.5	F (1, 8) = 3.774 P=0.0880	
	Fasting	1	13.44	13.44	F (1, 8) = 0.1962 P=0.6696	
CP CD206	Interacción	1	495.4	495.4	F (1, 8) = 7.230 P=0.0275	
	Diet	1	257	257	F (1, 5) = 24.50 P=0.0043	
	Fasting	1	277.2	277.2	F (1, 5) = 26.43 P=0.0036	
	Interacción	1	261.5	261.5	F (1, 5) = 24.93 P=0.0041	
CX CD45	Diet	1	91785282	91785282	F (1, 10) = 0.9569 P=0.3510	
	Fasting	1	2738111400	2738111400	F (1, 10) = 28.55 P=0.0003	
	Interacción	1	106315393	106315393	F (1, 10) = 1.108 P=0.3172	
	Diet	1	77.87	77.87	F (1, 9) = 6.049 P=0.0362	

	Fasting	1	32.03	32.03	F (1, 9) = P=0.1492 2.488
	Interacción	1	61.19	61.19	F (1, 9) = P=0.0571 4.754
CX LINFOCITOS	Diet	1	133.9	133.9	F (1, 9) = P=0.1195 2.959
	Fasting	1	372.4	372.4	F (1, 9) = P=0.0185 8.226
	Interacción	1	140.6	140.6	F (1, 9) = P=0.1118 3.107
HPP MICROGLIA	Diet	1	520.9	520.9	F (1, 8) = P=0.0052 14.43
	Fasting	1	279.6	279.6	F (1, 8) = P=0.0238 7.747
	Interacción	1	182.7	182.7	F (1, 8) = P=0.0546 5.062
HPP CD206	Diet	1	113.3	113.3	F (1, 8) = P=0.0018 21.07
	Fasting	1	176.8	176.8	F (1, 8) = P=0.0004 32.87
	Interacción	1	147.4	147.4	F (1, 8) = P=0.0008 27.40

Tabla 12. Resultados del análisis de ANOVA dos vías para programación materna con dieta CAF y Ayuno Intermitente de día alterno correspondiente a Figura 42.

MODELO	FUENTE DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD	DE SUMA CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	DE VALOR DE F	VALOR AJUSTADO DE P
CX BIP	Diet	1	30.26	30.26	F (1, 28) = 94.21	P<0.0001
	Fasting	1	0.01361	0.01361	F (1, 28) = 0.04238	P=0.8384
	Interacción	1	0.6612	0.6612	F (1, 28) = 2.058	P=0.1624
CX ATF6	Diet	1	6.57	6.57	F (1, 28) = 43.48	P<0.0001
	Fasting	1	1.378	1.378	F (1, 28) = 9.118	P=0.0054
	Interacción	1	2.622	2.622	F (1, 28) = 17.35	P=0.0003
CX JNK	Diet	1	49.35	49.35	F (1, 28) = 131.3	P<0.0001
	Fasting	1	5.814	5.814	F (1, 28) = 15.46	P=0.0005
	Interacción	1	16.33	16.33	F (1, 28) = 43.43	P<0.0001
HPP BIP	Diet	1	42.16	42.16	F (1, 28) = 80.45	P<0.0001
	Fasting	1	0.8878	0.8878	F (1, 28) = 1.694	P=0.2037
	Interacción	1	1.324	1.324	F (1, 28) = 2.527	P=0.1231

HPPATF6	Diet	1	23.41	23.41	F (1, 28) = 49.33	P<0.0001
	Fasting	1	0.5382	0.5382	F (1, 28) = 1.134	P=0.2960
	Interacción	1	4.523	4.523	F (1, 28) = 9.530	P=0.0045
HPP JNK	Diet	1	39.96	39.96	F (1, 28) = 84.62	P<0.0001
	Fasting	1	0.6844	0.6844	F (1, 28) = 1.449	P=0.2387
	Interacción	1	64.18	64.18	F (1, 28) = 135.9	P<0.0001

Tabla 13. Resultados del análisis de ANOVA dos vías para programación materna con dieta CAF y Ayuno Intermitente de día alterno correspondiente a Figura 43.

MODEL	FUENTE DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	VALOR DE F	VALOR AJUSTADO DE P
RSA RAMAS	Diet	1	960	960	F (1, 18) = 20.86	P=0.0002
	Fasting	1	478.6	478.6	F (1, 18) = 10.40	P=0.0047
	Interacción	1	552.8	552.8	F (1, 18) = 12.01	P=0.0028
RSA PUNTOS FINALES	Diet	1	200.8	200.8	F (1, 18) = 16.04	P=0.0008
	Fasting	1	143.7	143.7	F (1, 18) = 11.48	P=0.0033
	Interacción	1	99.3	99.3	F (1, 18) = 7.932	P=0.0114

RSA UNIONES	Diet	1	247.3	247.3	F (1, 18) = P=0.0003 19.95
	Fasting	1	107.2	107.2	F (1, 18) = P=0.0087 8.648
	Interacción	1	132.8	132.8	F (1, 18) = P=0.0042 10.71
RSG RAMAS	Diet	1	684	684	F (1, 17) = P=0.0061 9.819
	Fasting	1	3459	3459	F (1, 17) = P<0.0001 49.66
	Interacción	1	77.33	77.33	F (1, 17) = P=0.3068 1.110
RSG PUNTOS FINALES	Diet	1	218.2	218.2	F (1, 17) = P=0.0040 11.06
	Fasting	1	623.7	623.7	F (1, 17) = P<0.0001 31.62
	Interacción	1	26.81	26.81	F (1, 17) = P=0.2598 1.359
RSG UNIONES	Diet	1	159.7	159.7	F (1, 17) = P=0.0060 9.835
	Fasting	1	890.8	890.8	F (1, 17) = P<0.0001 54.84
	Interacción	1	12.27	12.27	F (1, 17) = P=0.3969 0.7552
CA1 RAMAS	Diet	1	48.05	48.05	F (1, 16) = P=0.5178 0.4374
	Fasting	1	414	414	F (1, 16) = P=0.0700 3.769
	Interacción	1	966.1	966.1	F (1, 16) = P=0.0091 8.794

CA1 PUNTOS FINALES	Diet	1	0.1449	0.1449	F (1, 17) = P=0.9371 0.006421
	Fasting	1	102.5	102.5	F (1, 17) = P=0.0479 4.543
	Interacción	1	238.9	238.9	F (1, 17) = P=0.0047 10.58
CA1 UNIONES	Diet	1	6.9	6.9	F (1, 17) = P=0.6163 0.2605
	Fasting	1	112.8	112.8	F (1, 17) = P=0.0547 4.259
	Interacción	1	210.4	210.4	F (1, 17) = P=0.0118 7.942
CA2 RAMAS	Diet	1	294.6	294.6	F (1, 21) = P=0.0481 4.404
	Fasting	1	490.8	490.8	F (1, 21) = P=0.0132 7.337
	Interacción	1	330.3	330.3	F (1, 21) = P=0.0374 4.938
CA2 PUNTOS FINALES	Diet	1	124	124	F (1, 21) = P=0.0082 8.532
	Fasting	1	124	124	F (1, 21) = P=0.0082 8.532
	Interacción	1	101.3	101.3	F (1, 21) = P=0.0153 6.973
CA2 UNIONES	Diet	1	61	61	F (1, 21) = P=0.0764 3.472
	Fasting	1	124	124	F (1, 21) = P=0.0147 7.060
	Interacción	1	63.81	63.81	F (1, 21) = P=0.0704 3.633

CA3 RAMAS	Diet	1	695.6	695.6	F (1, 19) = P=0.0064 9.395
	Fasting	1	154.5	154.5	F (1, 19) = P=0.1649 2.087
	Interacción	1	10.67	10.67	F (1, 19) = P=0.7084 0.1441
CA3 ENDPOINTS	Diet	1	149.6	149.6	F (1, 19) = P=0.0047 10.26
	Fasting	1	44.27	44.27	F (1, 19) = P=0.0976 3.036
	Interacción	1	3.506	3.506	F (1, 19) = P=0.6295 0.2405
CA3 UNIONES	Diet	1	136.3	136.3	F (1, 19) = P=0.0225 6.169
	Fasting	1	47.51	47.51	F (1, 19) = P=0.1589 2.151
	Interacción	1	4.459	4.459	F (1, 19) = P=0.6583 0.2018
DG RAMAS	Diet	1	314.5	314.5	F (1, 18) = P=0.0043 10.66
	Fasting	1	500.7	500.7	F (1, 18) = P=0.0006 16.97
	Interacción	1	32.13	32.13	F (1, 18) = P=0.3105 1.089
DG PUNTOS FINALES	Diet	1	68.68	68.68	F (1, 18) = P=0.0067 9.390
	Fasting	1	144	144	F (1, 18) = P=0.0003 19.69
	Interacción	1	3.204	3.204	F (1, 18) = P=0.5164 0.4381

DG UNIONES	Diet	1	73	73	F (1, 19) = P=0.0074 8.979
	Fasting	1	108.6	108.6	F (1, 19) = P=0.0017 13.36
	Interacción	1	8.449	8.449	F (1, 19) = P=0.3208 1.039

8. Discusión

En este estudio, hemos avanzado en la comprensión del papel del ayuno intermitente en la plasticidad de las microglías y su impacto en el comportamiento social y de ansiedad en la descendencia de ratones programados con una dieta CAF durante la gestación y lactancia. Descubrimos que el AIDA mejora la sociabilidad en la descendencia de ratones expuestos prenatalmente a la dieta CAF. Además, observamos que el AIDA promueve un aumento significativo en el número de células de la microglía, especialmente aquellas que expresan el marcador CD206+ en el Hpp de la descendencia expuesta a la dieta CAF. Es notable que el AIDA incrementó el número de ramas, puntos finales y ramificaciones de la microglía en el hipocampo CA1 y giro dentado de estos ratones.

A nivel molecular, el AIDA redujo la expresión de la vía ATF6/p-JNK en la Cx y el Hpp de la descendencia expuesta a la dieta CAF. Sin embargo, no se observó efecto sobre BIP, ya que esta se expresa como mecanismo regulador ante el estrés en el retículo, y se ha vinculado con efecto antiinflamatorio, por lo que el efecto del AIDA probablemente se encuentre río debajo de la señalización entre esta ATF6 y JNK (Panayi & Corrigan, 2008; J. Shen et al., 2002). Observamos que la complejidad de la microglía cambia con efecto de grupo y tratamiento, además de la región cerebral, observando una disminución de complejidad en CAF + AIDA en RSA, pero aumento de la misma en RSG, o aumento en CA1 y Giro dentado, pero con tendencia a disminuir en CA3, o sin efecto en CA2. Una vez realizado el modelado biológico confirmamos que el tiempo de interacción social se asocia está inversamente relacionado con la ramificación en la Cx, mientras que un aumento en la ramificación de la microglía en corteza se asocia con una mayor sociabilidad, en giro dentado observamos lo contrario, a menor complejidad más sociabilidad. Estos resultados subrayan el papel del AIDA en la plasticidad y proliferación de la microglía en el Hpp, lo que puede mejorar el comportamiento social en la descendencia masculina expuesta prenatalmente a la dieta CAF.

Se ha demostrado que la programación materna inducida por dietas con alto contenido energético establece una predisposición a comportamientos aberrantes en la descendencia, incluyendo adicción (Camacho et al., 2017; Cruz-carrillo et al., 2020; Montalvo-Martínez, Cruz-Carrillo, Maldonado-Ruiz, Cárdenas-Tueme, et al., 2022; Montalvo-Martínez, Cruz-Carrillo, Maldonado-Ruiz, Trujillo-Villarreal, et al., 2022), depresión (Cinquina et al., 2020; de la Garza et al., 2019; Trujillo-Villarreal et al., 2021), ansiedad (Cinquina et al., 2020; de la

Garza et al., 2019; Thompson et al., 2017) y comportamientos relacionados con el TEA (Maldonado-Ruiz et al., 2022a). En este estudio, evaluamos el efecto del ayuno intermitente sobre el comportamiento social en la descendencia expuesta a dieta CAF durante la gestación. La progenie de madres alimentadas con dieta CAF mostró resistencia a la pérdida de peso cuando fue sometida al protocolo de ayuno intermitente durante las 5 semanas. Se ha demostrado que el ayuno de día alterno modula diversos marcadores metabólicos y facilita la pérdida de peso en comparación con otros protocolos de ayuno, debido al aumento en la lipólisis durante los periodos de restricción alimenticia. Esta resistencia a la pérdida de peso se ha reportado en humanos y está asociada con la acumulación de triacilglicerol en los adipocitos (Muir et al., 2017) y el aumento de balsas lipídicas debido a la expresión de perilipinas 2 (PLIN2) en tejido adiposo e hígado (McManaman et al., 2013).

Confirmamos que la AIDA durante 5 semanas aumentó los niveles plasmáticos de BHB en la descendencia expuesta prenatalmente a dietas Control o CAF. Sin embargo, no encontramos cambios en los niveles de BHB en la Cx, ni en el Hpp. Estudios previos han mostrado que el ayuno de dos a tres días aumenta la concentración de BHB en el lóbulo occipital en humanos (Pan et al., 2000) y eleva los niveles de BHB en la corteza en modelos inducidos por estrés agudo (Son et al., 2021) y durante la reperusión tras isquemia transitoria (Lehto et al., 2022). Además, la administración exógena de BHB acumula altas concentraciones en el hipocampo (X. Wang et al., 2020). En nuestro estudio, la falta de cambios en los niveles de BHB en la corteza y el hipocampo durante el AIDA podría atribuirse a la degradación del BHB por las células nerviosas (Achanta & Rae, 2017; LaManna et al., 2009; A.-L. Lin et al., 2015; Pan et al., 2002; White et al., 2021). Ya que se ha reportado que, en condiciones de cetosis, el consumo de glucosa en la corteza y el cerebelo se reduce y se favorece el consumo de BHB (LaManna et al., 2009).

Nuestro modelado biológico sugiere que el AIDA en la progenie expuesta a la dieta CAF disminuyó el tiempo pasado en las esquinas (indicador de comportamiento ansioso) y aumentó la sociabilidad. Este modelo sugiere que la disminución del tiempo que los descendientes de CAF pasaron en las esquinas se asocia con una menor acumulación de BHB en la Cx y el Hpp. Curiosamente, observamos el efecto opuesto durante el ayuno intermitente, donde una mayor acumulación de BHB en plasma se asoció con una mayor sociabilidad y menor tiempo en las esquinas. De hecho, la administración crónica de BHB en ratas muestra efectos ansiolíticos (Ari et al., 2016), mejora la sociabilidad en ratones CD57Bl/6 (Kraeuter et al., 2020) e invierte el déficit cognitivo al restablecer el flujo sanguíneo hipocámpal (Z. Wang et al., 2023). En

consecuencia, una dieta cetogénica en ratones aumentó los niveles plasmáticos de BHB y mejoró la sociabilidad (Leclercq et al., 2020).

Investigaciones recientes muestran que el BHB, junto con el ayuno intermitente, podrían modular varias redes fisiológicas que mejoran la interacción social. Por ejemplo, el BHB puede inhibir el inflamósoma receptor 109A (GPR109a) acoplado a proteínas G (Jayashankar et al., 2023a), promover la expresión del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) en el hipocampo (E. Hu et al., 2020), normalmente disminuida en individuos con interacción social y ansiedad defectuosas (Lucon-Xiccato et al., 2023) y modular el ecosistema de microbiota (X. Hu et al., 2023), la que se encuentra estrechamente relacionada con la sociabilidad a través del eje hipotálamo-pituitario-suprarrenal (HPA) (Wu et al., 2021). Estos hallazgos sugieren que la AIDA aumenta el BHB en plasma y potencialmente en el cerebro, lo que mejora la sociabilidad y disminuye la ansiedad en ratones expuestos prenatalmente a dietas de alta energía. Esto subraya que la concentración de BHB cerebral depende de factores como la localización anatómica, las condiciones patológicas u homeostáticas, la duración de los protocolos de ayuno y las dietas.

Un hallazgo clave de nuestro estudio es que el AIDA modula las poblaciones y la morfología de las microglías. El ayuno intermitente ha demostrado ser efectivo para reducir las citocinas proinflamatorias (Ciaffi et al., 2021; Lavin et al., 2011; Traba et al., 2017), promover la polarización de los macrófagos al fenotipo M2 (C. Huang et al., 2022) e inhibir la activación reactiva de la microglía *in vitro* (Polito et al., 2023). Previamente se informó que la descendencia expuesta a la dieta CAF durante la gestación y lactancia desarrolló defectos en la sociabilidad, los cuales se correlaciona con microglía activa en la corteza somatosensorial (Maldonado-Ruiz et al., 2022). En este estudio, investigamos si la AIDA puede disminuir la activación microglial y mejorar la sociabilidad en la descendencia. Observamos un aumento en la población de microglías CD206+ en el plexo coroideo (PC) de la descendencia control expuesta a AIDA. También identificamos un aumento en la población de microglías CD206+ en el hipocampo, una región subcortical estrechamente relacionada con el establecimiento y mantenimiento de la sociabilidad (Rubin et al., 2014).

El marcador CD206 se ha expresado principalmente en microglía con perfil antiinflamatorio o reparador (Hellström Erkenstam et al., 2016; Y. Zhang et al., 2023). Estas microglías reparadoras, conocidas históricamente como fenotipo M2, muestran un aumento en el número

de ramas, lo cual está asociado con su respuesta a los cambios ambientales o desafíos patogénicos para restablecer la vigilancia dentro del parénquima cerebral (Lier et al., 2021). Nuestros datos inmunohistoquímicos confirmaron un aumento en el número de ramas, puntos finales y uniones de microglía en el giro dentado de la descendencia sometida a AIDA. Según nuestros modelos biológicos, la mayor complejidad y ramificación en la descendencia de CAF en la corteza retrosplenial se asocia con una menor interacción social, mientras que la exposición de los descendientes de CAF a AIDA mostró una mayor ramificación en el giro dentado, lo cual se asocia con una mayor interacción social. Estudios previos sugieren que la ramificación de la microglía puede estar relacionada con su estado de activación y capacidad para restaurar la homeostasis durante estímulos neuroinflamatorios o condiciones patogénicas (Cai et al., 2022). Por ejemplo, un aumento en el número de ramas y uniones de microglías en la corteza prefrontal está asociado con alteraciones del funcionamiento espacial y la memoria en ratas (Hinwood et al., 2012). También se ha reportado que un aumento en el número de ramas y uniones de la microglía en el fórnix se asocia con el deterioro cognitivo en ratones (Cárdenas-Tueme et al., 2022).

Otros estudios han documentado que la microglía ramificada en el CA3 y el giro dentado del hipocampo en ratones promueve efectos neuroprotectores (Vidal-Itriago et al., 2022). Además, un estudio en ratas tratadas con electroacupuntura mostró que la microglía ramificada, que se asemeja a un "fenotipo M2" en el hipocampo CA1, mejoró el comportamiento espacial y la actividad en estas ratas (Xie et al., 2021). De manera similar, los ratones sometidos a Estrés de Restricción Crónica (SRC) mostraron sumisión social acompañada de un aumento en las células microgliales CD206+ y una disminución en la ramificación de la microglía (Piirainen et al., 2021). Por el contrario, una disminución en las poblaciones de microglías CD206+ codificadas para comportamiento similar a la ansiedad (Z. Li et al., 2014). Esta evidencia sugiere que la plasticidad regional de la microglía en el cerebro está relacionada con la mejora del comportamiento. Nuestros datos indican que la AIDA mejora la sociabilidad en la descendencia prenatalmente expuesta a la dieta CAF, correlacionándose con una acumulación de microglías CD206+ en el giro dentado del hipocampo.

Adicionalmente, el AIDA modula el estrés metabólico intracelular a través de la vía de señalización ATF6/pJNK (Bideyan et al., 2021; Vernia et al., 2013), lo que podría influir en la polarización del fenotipo macrófago M1 y en la inflamación metabólica (Solinas & Becattini, 2017). La señalización Bip/TF6 integra la Respuesta Proteica Desplegada (UPR) para mantener

el equilibrio del plegamiento proteico en el retículo endoplásmico (RE). La UPR se activa cuando las proteínas mal plegadas se acumulan en el RE, desencadenando el estrés del retículo y la inflamación metabólica a través de la vía Bip/ ATF6/ JNK. Tanto nuestros estudios como otros han demostrado que roedores expuestos a dietas de alta energía desarrollan neuroinflamación metabólica y estrés en el RE en el hipotálamo (Belegri et al., 2017; Camacho et al., 2012; Delint-Ramirez et al., 2015; Diaz et al., 2015; Guaraldi & Shea, 2018). Estudios *in vivo* e *in vitro* han mostrado que el consumo de una dieta alta en grasas (HFD) y ácidos grasos saturados, como el palmitato, activa el estrés en el RE y promueve la neuroinflamación en el hipotálamo y el hipocampo, mediada por JNK (Nakandakari et al., 2019; Nogueiras & Sabio, 2021). Además, las madres alimentadas con dietas obesogénicas durante la gestación producen descendencia con un aumento en la señalización de JNK en el hipotálamo (N. Chen et al., 2021; Fisher et al., 2012; Park et al., 2020; Westermeier et al., 2014).

Nuestros resultados también mostraron que el AIDA revirtió el aumento del estrés en el remediado por la señalización BATF6/JNK en la Cx y el Hpp de la descendencia CAF. Además, el AIDA redujo el estrés oxidativo en la corteza y el hipocampo, mejoró la memoria y el aprendizaje (L. Li et al., 2013), y disminuyó la señalización de JNK en ratones acelerados por senescencia P8 (SAMP8) (Tajes et al., 2010). Esta evidencia demuestra que el ayuno intermitente reduce la inflamación al inducir cambios en el perfil inmune y al disminuir la vía de señalización ATF6/JNK en las regiones cerebrales de ratones expuestos prenatalmente a la dieta CAF.

Finalmente, nuestro modelado biológico confirmó que un mayor tiempo de interacciones sociales en la descendencia control se asoció con un menor número de puntos finales en la microglía de la corteza retrosplenial granular (RSC). Proponemos que una mayor complejidad microglial en la corteza se asocia con alteraciones en el trabajo espacial, la memoria y el estrés crónico (Hinwood et al., 2012, 2013). Se observaron interacciones selectivas entre patrones morfológicos de microglía en la Cx y el Hpp. Por ejemplo, un mayor tiempo de interacción social se asoció con un aumento de la complejidad de la microglía en la corteza cerebral de la descendencia de CAF, mientras que la exposición a AIDA en la descendencia se asoció con una menor ramificación en el giro dentado, correlacionándose con una mayor sociabilidad. Estudios previos han confirmado que la complejidad de la microglía en el giro dentado promueve los efectos neuroprotectores (Vidal-Itriago et al., 2022). Se espera que la

complejidad se asocie a una microglía con ramificación más corta, similar a un estado activado, lo que está relacionado con la neuroinflamación.

9. Conclusiones

Nuestro estudio confirma que el AIDA mejora la sociabilidad en la descendencia de hembras expuestas a una dieta de cafetería durante gestación y lactancia. Proporcionamos evidencia que apoya la noción de que el AIDA mejora la conducta semejante al TEA disminuyendo la ansiedad y promoviendo la interacción social, aumenta en el porcentaje de la microglía CD206+ en el Hpp, atenúa la neuroinflamación y estrés del retículo a través de las vías ATF6 y p-JNK en la Cx y el Hpp, y 4) modula la complejidad de la microglía en Cx e Hpp, donde existe una relación de que a una menor ramificación de la microglía en la Giro dentado y un aumento en la complejidad de la microglía en la corteza RSA existe una mayor interacción social.

El presente estudio subraya la relevancia de la modulación de los fenotipos de la microglía y la plasticidad inducida por el AIDA durante los períodos críticos de desarrollo que favorecen las interacciones sociales. Estos hallazgos sugieren que el AIDA podría representar una estrategia prometedora para el tratamiento futuro de trastornos psiquiátricos como el TEA.

..

10. Bibliografía

- A meta-analysis comparing the effectiveness of alternate day fasting, the 5:2 diet, and time-restricted eating for weight loss.* (n.d.). Retrieved November 2, 2023, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36349432/>
- Abe, K. (2001). *Modulation of Hippocampal Long-Term Potentiation by the Amygdala : A Synaptic Mechanism Linking Emotion and Memory.* 22, 18–22.
- Achanta, L. B., & Rae, C. D. (2017). β -Hydroxybutyrate in the Brain: One Molecule, Multiple Mechanisms. *Neurochemical Research*, 42(1), 35–49. <https://doi.org/10.1007/s11064-016-2099-2>
- Afridi, R., Kim, J., Rahman, H., & Suk, K. (2020). *Metabolic Regulation of Glial Phenotypes : Implications in Neuron – Glia Interactions and Neurological Disorders.* 14(February), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fncel.2020.00020>
- Alaerts, K., Swinnen, S. P., & Wenderoth, N. (2016). *Sex differences in autism : a resting-state fMRI investigation of functional brain connectivity in males and females.* March, 1002–1016. <https://doi.org/10.1093/scan/nsw027>
- Alex P. A. Donovan, A. P. A., & Basson, M. A. (2017). The neuroanatomy of autism – a developmental perspective. *Journal of Anatomy*, 44(August 2016), 4–15. <https://doi.org/10.1111/joa.12542>
- Aly, S. M. (2014). *Role of Intermittent Fasting on Improving Health and Reducing Diseases.* 8(3), 9–10.
- Andreotti, D. Z., Mello, N. P., Scavone, C., & Camandola, S. (2018). Intermittent fasting uncovers and rescues cognitive phenotypes in PTEN neuronal haploinsufficient mice. *Scientific Reports*, May, 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26814-6>
- Ari, C., Kovács, Z., Juhasz, G., Murdun, C., Goldhagen, C. R., Koutnik, A. P., Poff, A. M., Kesi, S. L., & D’Agostino, D. P. (2016). Exogenous Ketone Supplements Reduce Anxiety-Related Behavior in Sprague-Dawley and Wistar Albino Glaxo/Rijswijk Rats. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 9, 137. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2016.00137>
- Arutiunian, V., Gomozova, M., Minnigulova, A., Davydova, E., Pereverzeva, D., Sorokin, A., Tyushkevich, S., Mamokhina, U., Danilina, K., & Dragoy, O. (2023). Structural brain abnormalities and their association with language impairment in school-aged children with

- Autism Spectrum Disorder. *Scientific Reports*, 13(1), 1172. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-28463-w>
- Ashley, C. L., Abendroth, A., Mcsharry, B. P., & Slobedman, B. (2019). *Interferon-Independent Innate Responses to Cytomegalovirus*. 10(December), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02751>
- Baillet, A., Hograindleur, M., El Benna, J., Grichine, A., Berthier, S., Morel, F., & Paclet, M. (2017). Unexpected function of the phagocyte NADPH oxidase in supporting hyperglycolysis in stimulated neutrophils: key role of 6-phosphofructo-2-kinase. *The FASEB Journal*, 31(2), 663–673. <https://doi.org/10.1096/fj.201600720R>
- Balasco, L., Pagani, M., Pangrazzi, L., Chelini, G., Viscido, F., Chama, A. G. C., Galbusera, A., Provenzano, G., Gozzi, A., & Bozzi, Y. (2022). Somatosensory cortex hyperconnectivity and impaired whisker-dependent responses in *Cntnap2*^{-/-} mice. *Neurobiology of Disease*, 169, 105742. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2022.105742>
- Balasco, L., Provenzano, G., & Bozzi, Y. (2020). *Sensory Abnormalities in Autism Spectrum Disorders : A Focus on the Tactile Domain , From Genetic Mouse Models to the Clinic*. 10(January), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2019.01016>
- Balcerek, E., Włodkowska, U., & Czajkowski, R. (2021). Retrosplenial cortex in spatial memory: focus on immediate early genes mapping. *Molecular Brain*, 14(1), 172. <https://doi.org/10.1186/s13041-021-00880-w>
- Balsters, J. H., Mantini, D., & Wenderoth, N. (2018). NeuroImage Connectivity-based parcellation reveals distinct cortico-striatal connectivity fingerprints in Autism Spectrum Disorder. *NeuroImage*, 170(February 2017), 412–423. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2017.02.019>
- Banerjee, A., Parente, G., Teutsch, J., Lewis, C., Voigt, F. F., & Helmchen, F. (2020). *Value-guided remapping of sensory circuits by lateral orbitofrontal cortex in reversal learning*. Laboratory of Neural Circuit Dynamics Brain Research Institute , University of Zürich
Current Address : Biosciences Institute , Newcastle University , † Corres.
- Banisor, I., Leist, T. P., & Kalman, B. (2005). *Involvement of β -chemokines in the development of inflammatory demyelination*. 14, 1–14. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-2-7>
- Barahona-Corrêa, J. B., Velosa, A., Chainho, A., Lopes, R., & Oliveira-Maia, A. J. (2018). Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation for Treatment of Autism Spectrum Disorder:

- A Systematic Review and Meta-Analysis. *Frontiers in Integrative Neuroscience*, 12. <https://doi.org/10.3389/fnint.2018.00027>
- Barker, P. (1995). *Fetal origins of coronary heart disease*. 311.
- Barón-Mendoza, I., Del Moral-Sánchez, I., Martínez-Marcial, M., García, O., Garzón-Cortés, D., & González-Arenas, A. (2019). Dendritic complexity in prefrontal cortex and hippocampus of the autistic-like mice C58/J. *Neuroscience Letters*, 703, 149–155. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2019.03.018>
- Bechara, A., Damasio, H., & Damasio, A. R. (2000). *Emotion , Decision Making and the Orbitofrontal Cortex*. 295–307.
- Beckers, L., Geric, I., Stroobants, S., Beel, S., Damme, P. Van, Hooge, R. D., & Baes, M. (2019). *Microglia lacking a peroxisomal β -oxidation enzyme chronically alter their inflammatory profile without evoking neuronal and behavioral deficits*. 3, 1–15.
- Belegri, E., Rijnsburger, M., Eggels, L., Unmehopa, U., Scheper, W., Boelen, A., & la Fleur, S. E. (2017). Effects of Fat and Sugar, Either Consumed or Infused toward the Brain, on Hypothalamic ER Stress Markers. *Frontiers in Neuroscience*, 11, 270. <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00270>
- Bell, A. H., Miller, S. L., Castillo-Melendez, M., & Saunders, N. R. (2020). *The Neurovascular Unit: Effects of Brain Insults During the Perinatal Period*. 13(January), 1–19. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.01452>
- Bernier, L., Weilingner, N. L., York, E. M., Kamyabi, A., & Macvicar, B. A. (2020). Microglial metabolic flexibility supports immune surveillance of the brain parenchyma. *Nature Communications*. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15267-z>
- Besag, F. M. C. (2018). *Epilepsy in patients with autism : links , risks and treatment challenges*. 1–10.
- Bideyan, L., Nagari, R., & Tontono, P. (2021). Hepatic transcriptional responses to fasting and feeding. *Genes & Development*, 35(9–10), 635–657. <https://doi.org/10.1101/gad.348340.121>
- Birn, R. M., Shackman, A. J., Oler, J. A., Williams, L. E., McFarlin, D. R., Rogers, G. M., Shelton, S. E., Alexander, A. L., Pine, D. S., Slattery, M. J., Davidson, R. J., Fox, A. S., &

- Kalin, N. H. (2014). Evolutionarily conserved prefrontal-amygdalar dysfunction in early-life anxiety. *Molecular Psychiatry*, 19(8), 915–922. <https://doi.org/10.1038/mp.2014.46>
- Bitanirwe, B. K. Y., Lizano, P., & Woo, T.-U. W. (2022). Deconstructing the functional neuroanatomy of the choroid plexus: an ontogenetic perspective for studying neurodevelopmental and neuropsychiatric disorders. *Molecular Psychiatry*, 27(9), 3573–3582. <https://doi.org/10.1038/s41380-022-01623-6>
- Black, P. N., Ahowesso, C., Montefusco, D., Saini, N., & Concetta, C. (2017). *Fatty Acid Transport Proteins: Targeting FATP2 as a Gatekeeper Involved in the Transport of Exogenous Fatty Acids*. 7(4), 612–622. <https://doi.org/10.1039/C6MD00043F>.
- Brenseke, B., Prater, M. R., Bahamonde, J., & Gutierrez, J. C. (2013). *Current Thoughts on Maternal Nutrition and Fetal Programming of the Metabolic Syndrome*. 2013.
- Cai, Y., Liu, J., Wang, B., Sun, M., & Yang, H. (2022). Microglia in the Neuroinflammatory Pathogenesis of Alzheimer's Disease and Related Therapeutic Targets. *Frontiers in Immunology*, 13, 856376. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.856376>
- Cain, D., Kondo, M., Chen, H., & Kelsoe, G. (2009). Effects of Acute and Chronic Inflammation on B-Cell Development and Differentiation. *Journal of Investigative Dermatology*, 129(2), 266–277. <https://doi.org/10.1038/jid.2008.286>
- Calcia, M. A., Bonsall, D. R., Bloomfield, P. S., Selvaraj, S., Barichello, T., & Howes, O. D. (2016). *Stress and neuroinflammation : a systematic review of the effects of stress on microglia and the implications for mental illness*. 1637–1650. <https://doi.org/10.1007/s00213-016-4218-9>
- Caldwell, A. B., Cheng, Z., & Vargas, J. D. (2014). *functions of TNF Network dynamics determine the autocrine and paracrine signaling functions of TNF*. 2120–2133. <https://doi.org/10.1101/gad.244749.114>
- Camacho, A., Montalvo-Martinez, L., Cardenas-Perez, R. E., Fuentes-Mera, L., & Garza-Ocañas, L. (2017). Obesogenic diet intake during pregnancy programs aberrant synaptic plasticity and addiction-like behavior to a palatable food in offspring. *Behavioural Brain Research*, 330, 46–55. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.05.014>
- Camacho, A., Rodriguez-Cuenca, S., Blount, M., Prieur, X., Barbarroja, N., Fuller, M., Hardingham, G. E., & Vidal-Puig, A. (2012). Ablation of PGC1 beta prevents mTOR

- dependent endoplasmic reticulum stress response. *Experimental Neurology*, 237(2), 396–406. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2012.06.031>
- Campbell, H. (1990). Sensitivity to eye gaze in prosopagnosic patients and monkeys with superior temporal sulcus ablation. *Psychology, Experimental*, 0(5).
- Cárdenas-Tueme, M., Trujillo-Villarreal, L. Á., Ramírez-Amaya, V., Garza-Villarreal, E. A., Camacho-Morales, A., & Reséndez-Pérez, D. (2022). Fornix volumetric increase and microglia morphology contribute to spatial and recognition-like memory decline in ageing male mice. *NeuroImage*, 252, 119039. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2022.119039>
- Carpenter, L. (2013). DSM-5 Autism Spectrum Disorder GUIDELINES & CRITERIA EXEMPLARS. *Perspectives in Pragmatics, Philosophy and Psychology*, February, 1–7.
- Cattaneo, A., Ferrari, C., Turner, L., Mariani, N., Enache, D., Hastings, C., Kose, M., Lombardo, G., McLaughlin, A. P., Nettis, M. A., Nikkheslat, N., Sforzini, L., Worrell, C., Zajkowska, Z., Cattane, N., Lopizzo, N., Mazzelli, M., Pointon, L., Cowen, P. J., ... Drevets, W. C. (2020). Whole-blood expression of inflammation- and glucocorticoid-related mRNAs correctly separates treatment-resistant depressed patients from drug-free and responsive patients in the BIODIP study. *Translational Psychiatry*, 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41398-020-00874-7>
- Chaudhary, S., Rai, R., Pal, P. B., Tedesco, D., Singhi, A. D., Monga, S. P., Grakoui, A., Iyer, S. S., & Raeman, R. (2023). Western diet dampens T regulatory cell function to fuel hepatic inflammation in nonalcoholic fatty liver disease. In *bioRxiv: the preprint server for biology*. <https://doi.org/10.1101/2023.03.23.533977>
- Chen, L., Deng, H., Cui, H., Fang, J., Zuo, Z., Deng, J., Li, Y., Wang, X., & Zhao, L. (2018). Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*, 9(6), 7204–7218. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.23208>
- Chen, N., Zhang, Y., Wang, M., Lin, X., Li, J., Li, J., & Xiao, X. (2021). Maternal obesity interrupts the coordination of the unfolded protein response and heat shock response in the postnatal developing hypothalamus of male offspring in mice. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 527, 111218. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.mce.2021.111218>
- Chevallier, C., Kohls, G., Troiani, V., Brodtkin, E. S., & Schultz, R. T. (2012). The social motivation theory of autism. *Trends in Cognitive Sciences*, 16(4), 231–239. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2012.02.007>

- Chew, T. A., Orlando, B. J., Zhang, J., Latorraca, N. R., Wang, A., Hollingsworth, S. A., Chen, D., & Dror, R. O. (2020). *Structure and mechanism of the cation-chloride cotransporter NKCC1*. 572(7770), 488–492. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1438-2>. Structure
- Chhabra, S., Nardi, L., Leukel, P., Sommer, C. J., & Schmeisser, M. J. (2023). Striatal increase of dopamine receptor 2 density in idiopathic and syndromic mouse models of autism spectrum disorder. *Frontiers in Psychiatry*, 14. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2023.1110525>
- Choi, C. S., Gonzales, E. L., Kim, K. C., Yang, S. M., Kim, J., Mabunga, D. F., Cheong, J. H., Han, S., & Bahn, G. H. (2016). The transgenerational inheritance of autism-like phenotypes in mice exposed to valproic acid during pregnancy. *Nature Publishing Group, August*, 1–11. <https://doi.org/10.1038/srep36250>
- Chung, S., & Son, J.-W. (2020). Visual Perception in Autism Spectrum Disorder: A Review of Neuroimaging Studies. *Soa--Ch'ongsoryon Chongsin Uihak = Journal of Child & Adolescent Psychiatry*, 31(3), 105–120. <https://doi.org/10.5765/jkacap.200018>
- Ciaffi, J., Mitselman, D., Mancarella, L., Brusi, V., Lisi, L., Ruscitti, P., Cipriani, P., Meliconi, R., Giacomelli, R., Borghi, C., & Ursini, F. (2021). The Effect of Ketogenic Diet on Inflammatory Arthritis and Cardiovascular Health in Rheumatic Conditions: A Mini Review. *Frontiers in Medicine*, 8, 792846. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.792846>
- Cinquina, V., Calvigioni, D., Farlik, M., Halbritter, F., Fife-Gernedl, V., Shirran, S. L., Fuszard, M. A., Botting, C. H., Pouillet, P., Piscitelli, F., Máté, Z., Szabó, G., Yanagawa, Y., Kasper, S., Di Marzo, V., Mackie, K., McBain, C. J., Bock, C., Keimpema, E., & Harkany, T. (2020). Life-long epigenetic programming of cortical architecture by maternal “Western” diet during pregnancy. *Molecular Psychiatry*, 25(1), 22–36. <https://doi.org/10.1038/s41380-019-0580-4>
- Coakley, J. D., Breen, E. P., Moreno-olivera, A., Al-harbi, A. I., Melo, A. M., Connell, B. O., Mcmanus, R., Doherty, D. G., & Ryan, T. (2020). *Innate Lymphocyte Th1 and Th17 Responses in Elderly Hospitalised Patients with Infection and Sepsis*.
- Codagnone, M. G., Podestá, M. F., Uccelli, N. A., & Reinés, A. (2015). Differential Local Connectivity and Neuroinflammation Profiles in the Medial Prefrontal Cortex and Hippocampus in the Valproic Acid Rat Model of Autism. *Developmental Neuroscience*, 37(3), 215–231. <https://doi.org/10.1159/000375489>

- Cruz-carrillo, G., Montalvo-martínez, L., Cárdenas-tueme, M., Bernal-vega, S., Maldonado-ruiz, R., Reséndez-pérez, D., Rodríguez-ríos, D., Lund, G., & Garza-ocañas, L. (2020). *Fetal Programming by Methyl Donors Modulates Central Inflammation and Prevents Food Addiction-Like Behavior in Rats*. 14(June), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00452>
- Cui, J., Shipley, F. B., Shannon, M. L., Alturkistani, O., Dani, N., Webb, M. D., Sugden, A. U., Andermann, M. L., & Lehtinen, M. K. (2020). Inflammation of the Embryonic Choroid Plexus Barrier following Maternal Immune Activation. *Developmental Cell*, 55(5), 617-628.e6. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2020.09.020>
- Damasceno, D. C., Dallaqua, B., Iessi, I. L., Volpato, G. T., & Campos, K. E. (2016). Impact of Maternal Over-nutrition during Pregnancy on Maternal Oxidative Stress and Fetal Skeletal / Visceral Anomalies of the Rats. *Journal of Nutritional Disorders & Therapy*, 6(1), 1–5. <https://doi.org/10.4172/2161->
- de la Garza, A. L., Garza-Cuellar, M. A., Silva-Hernandez, I. A., Cardenas-Perez, R. E., Reyes-Castro, L. A., Zambrano, E., Gonzalez-Hernandez, B., Garza-Ocañas, L., Fuentes-Mera, L., & Camacho, A. (2019). Maternal Flavonoids Intake Reverts Depression-Like Behaviour in Rat Female Offspring. *Nutrients*, 11(3). <https://doi.org/10.3390/nu11030572>
- Defilippis, B. M., & Wagner, K. D. (2016). *Treatment of Autism Spectrum Disorder in Children and Adolescents*. 46(2).
- Delint-Ramirez, I., Maldonado Ruiz, R., Torre-Villalvazo, I., Fuentes-Mera, L., Garza Ocañas, L., Tovar, A., & Camacho, A. (2015). Genetic obesity alters recruitment of TANK-binding kinase 1 and AKT into hypothalamic lipid rafts domains. *Neurochemistry International*, 80, 23–32. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2014.11.002>
- Depping, M. S., Schmitgen, M. M., Kubera, K. M., & Wolf, R. C. (2018). *Cerebellar Contributions to Major Depression*. 9(November), 1–5. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2018.00634>
- Di, X., & Biswal, B. B. (2016). Similarly Expanded Bilateral Temporal Lobe Volumes in Female and Male Children With Autism Spectrum Disorder. *Biological Psychiatry. Cognitive Neuroscience and Neuroimaging*, 1(2), 178–185. <https://doi.org/10.1016/j.bpsc.2015.11.006>

- Diaz, B., Fuentes-Mera, L., Tovar, A., Montiel, T., Massieu, L., Martínez-Rodríguez, H. G., & Camacho, A. (2015). Saturated lipids decrease mitofusin 2 leading to endoplasmic reticulum stress activation and insulin resistance in hypothalamic cells. *Brain Research*, 1627, 80–89. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2015.09.014>
- Dinareello, C. A. (2018). *Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity*. 281(1), 8–27. <https://doi.org/10.1111/imr.12621>.Overview
- Distasio, M. M., Nagakura, I., Nadler, M. J., & Anderson, M. P. (2019). *T Lymphocytes and Cytotoxic Astrocyte Blebs Correlate across Autism Brains*. <https://doi.org/10.1002/ana.25610>
- Dranoff, G. (2004). *Cytokines In Cancer Cancer Therapy*. 4(January). <https://doi.org/10.1038/nrc1252>
- Education, C. (2020). *PANDAS : Pediatric Autoimmune Neuropsychiatric Disorders Associated with Streptococcal Infection*. 120(8).
- Edwards, M. (2017). The Barker Hypothesis. *Springer, Cham, Handbook o*.
- Ekkens, M. J., Shedlock, D. J., Jung, E., Troy, A., Pearce, E. L., Shen, H., & Pearce, E. J. (2007). *Th1 and Th2 Cells Help CD8 T-Cell Responses*. 75(5), 2291–2296. <https://doi.org/10.1128/IAI.01328-06>
- El-Ansary, A., & Al-Ayadhi, L. (2014). GABAergic/glutamatergic imbalance relative to excessive neuroinflammation in autism spectrum disorders. *Journal of Neuroinflammation*, 11(1), 189. <https://doi.org/10.1186/s12974-014-0189-0>
- Elortegui Pascual, P., Rolands, M. R., Eldridge, A. L., Kassis, A., Mainardi, F., Lê, K.-A., Karagounis, L. G., Gut, P., & Varady, K. A. (2023). A meta-analysis comparing the effectiveness of alternate day fasting, the 5:2 diet, and time-restricted eating for weight loss. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 31 Suppl 1(Suppl 1), 9–21. <https://doi.org/10.1002/oby.23568>
- Elsabbagh, M., Divan, G., Koh, Y., Kim, Y. S., Kauchali, S., Marcín, C., Montiel-nava, C., Patel, V., Paula, C. S., Wang, C., Yasamy, M. T., & Fombonne, E. (2012). *Global Prevalence of Autism and Other Pervasive Developmental Disorders*. April, 160–179. <https://doi.org/10.1002/aur.239>

- Enache, D., Pariante, C. M., & Mondelli, V. (2019). Brain , Behavior , and Immunity Markers of central inflammation in major depressive disorder : A systematic review and meta-analysis of studies examining cerebrospinal fluid , positron emission tomography and post-mortem brain tissue. *Brain Behavior and Immunity*, 81(December 2018), 24–40. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2019.06.015>
- Engelhardt, B., & Sorokin, L. (2009). The blood–brain and the blood–cerebrospinal fluid barriers: function and dysfunction. *Seminars in Immunopathology*, 31(4), 497–511. <https://doi.org/10.1007/s00281-009-0177-0>
- Erik Wambre, Eddie A James, and W. W. K. (2013). *Characterization of CD4+ T cell subsets in allergy*. 24(6), 700–706. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2012.07.009>.Characterization
- Ernst, M., Zametkin, A., Matochik, J., Pascualvaca, D., & Cohen, R. (1997). Low medial prefrontal dopaminergic activity in autistic children. *The Lancet*, 350(9078), 638. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)63326-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)63326-0)
- Etkin, A., Egner, T., & Kalisch, R. (2011). Emotional processing in anterior cingulate and medial prefrontal cortex. *Trends in Cognitive Sciences*, 15(2), 85–93. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2010.11.004>
- Evans, B. (2013). How autism became autism: The radical transformation of a central concept of child development in Britain. In *History of the human sciences* (Vol. 26, Issue 3, pp. 3–31). <https://doi.org/10.1177/0952695113484320>
- Faa, G., Fanos, V., Manchia, M., Van Eyken, P., Suri, J. S., & Saba, L. (2024). The fascinating theory of fetal programming of adult diseases: A review of the fundamentals of the Barker hypothesis. *Journal of Public Health Research*, 13(1). <https://doi.org/10.1177/22799036241226817>
- Fanselow, M. S., & Dong, H.-W. (2010). Are the Dorsal and Ventral Hippocampus Functionally Distinct Structures? *Neuron*, 65(1), 7–19. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.11.031>
- Fessler, M. B., Rudel, L. L., & Brown, J. M. (2009). Toll-like receptor signaling links dietary fatty acids to the metabolic syndrome. *Current Opinion in Lipidology*, 20(5), 379–385. <https://doi.org/10.1097/MOL.0b013e32832fa5c4>
- Filippi, M., & Biology, C. (2017). *Mechanism of Diapedesis: Importance of the Transcellular Route*. 1–24. <https://doi.org/10.1016/bs.ai.2015.09.001>.Mechanism

- Fisher, R. E., Steele, M., & Karrow, N. A. (2012). Fetal programming of the neuroendocrine-immune system and metabolic disease. *Journal of Pregnancy*, 2012, 792934. <https://doi.org/10.1155/2012/792934>
- Fombonne, E., Marcin, C., Manero, A. C., Bruno, R., Diaz, C., Villalobos, M., Ramsay, K., & Nealy, B. (2016). Prevalence of Autism Spectrum Disorders in Guanajuato, Mexico: The Leon survey. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 46(5), 1669–1685. <https://doi.org/10.1007/s10803-016-2696-6>
- Forrester, J. V., Mcmenamin, P. G., & Dando, S. J. (2018). CNS infection and immune privilege. *Nature Reviews Neuroscience*, 19(november). <https://doi.org/10.1038/s41583-018-0070-8>
- Fuccillo, M. V. (2016). *Striatal Circuits as a Common Node for Autism Pathophysiology*. 10(February). <https://doi.org/10.3389/fnins.2016.00027>
- Fuster, J. J., & Walsh, K. (2014). *The Good , the Bad , and the Ugly of interleukin- 6 signaling*. 33(13), 1425–1427.
- Gamlin, C. (2017). When Asperger’s Disorder Came Out. *Psychiatria Danubina*, 29(Suppl 3), 214–218.
- Garrido, D., Beretta, S., Grabrucker, S., Bauer, H. F., Bayer, D., Sala, C., Verpelli, C., Roselli, F., Bockmann, J., Proepper, C., Catanese, A., & Boeckers, T. M. (2022). Shank2/3 double knockout-based screening of cortical subregions links the retrosplenial area to the loss of social memory in autism spectrum disorders. *Molecular Psychiatry*, 27(12), 4994–5006. <https://doi.org/10.1038/s41380-022-01756-8>
- Geschwind., D. M. W. and D. H. (2014). *Sex differences in autism spectrum disorders*. 26(2), 146–153. <https://doi.org/10.1097/WCO.0b013e32835ee548>.Sex
- Ghosh, S., Castillo, E., Frias, E., Swanson, R. A., Francisco, S., Affairs, V., & Francisco, S. (2019). *Bioenergetic regulation of microglia*. 66(6), 1200–1212. <https://doi.org/10.1002/glia.23271>.Bioenergetic
- Giuseppe Faraco, Laibaik Park, Josef Anrather, and C. I. (2018). Brain perivascular macrophages: characterization and functional roles in health and disease. *Physiology & Behavior*, 176(5), 139–148. <https://doi.org/10.1007/s00109-017-1573-x>.Brain
- Gothelf, D., Furfaro, J. A., Hoeft, F., Eckert, M. A., Hall, S. S., Hara, R. O., Erba, H. W., Ringel, J., Hayashi, K. M., Patnaik, S., Golianu, B., Helena, C., Thompson, P. M., Piven, J., &

- Reiss, A. L. (2009). *Neuroanatomy of Fragile X Syndrome Is Associated with Aberrant Behavior and the Fragile X Mental Retardation Protein (FMRP)*. 63(1), 40–51. <https://doi.org/10.1002/ana.21243>.Neuroanatomy
- Greenberg, J. A., & Bell, S. J. (2011). *Folic Acid Supplementation and Pregnancy : More Than Just Neural Tube Defect Prevention*. 4(2), 52–59. <https://doi.org/10.3909/riog0157>
- Guaraldi, M., & Shea, T. B. (2018). A High-fat and High-Cholesterol Diet Potentiates Oxidative Damage in Hippocampus of Mice Lacking Apolipoprotein E. *The Open Neurology Journal*, 12, 12–18. <https://doi.org/10.2174/1874205X01812010012>
- Haas, B. W., Filkowski, M. M., Cochran, R. N., Denison, L., Ishak, A., & Nishitani, S. (2016). *Epigenetic modification of OXT and human sociability*. 1–8. <https://doi.org/10.1073/pnas.1602809113>
- Hagan, C. C., Woods, W., Johnson, S., Green, G. G. R., & Young, A. W. (2013). *Involvement of Right STS in Audio-Visual Integration for Affective Speech Demonstrated Using MEG*. 8(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070648>
- Harris, R. A. (2017). *Macrophage Metabolism As Therapeutic Target for Cancer , Atherosclerosis , and Obesity*. 8(March). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00289>
- Harry, G. J., Childers, G., Giridharan, S., & Hernandez, I. L. (2020). *An association between mitochondria and microglia effector function : what do we think we know ?* 150–165. <https://doi.org/10.20517/2347-8659.2020.07>
- Hellström Erkenstam, N., Smith, P. L. P., Fleiss, B., Nair, S., Svedin, P., Wang, W., Boström, M., Gressens, P., Hagberg, H., Brown, K. L., Sävman, K., & Mallard, C. (2016). Temporal Characterization of Microglia/Macrophage Phenotypes in a Mouse Model of Neonatal Hypoxic-Ischemic Brain Injury. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 10, 286. <https://doi.org/10.3389/fncel.2016.00286>
- Hinwood, M., Morandini, J., Day, T. A., & Walker, F. R. (2012). Evidence that microglia mediate the neurobiological effects of chronic psychological stress on the medial prefrontal cortex. *Cerebral Cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 22(6), 1442–1454. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhr229>
- Hinwood, M., Tynan, R. J., Charnley, J. L., Beynon, S. B., Day, T. A., & Walker, F. R. (2013). *Chronic Stress Induced Remodeling of the Prefrontal Cortex: Structural Re-Organization*

- of Microglia and the Inhibitory Effect of Minocycline. *Cerebral Cortex*, 23(8), 1784–1797. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhs151>
- Hitti, F. L., & Siegelbaum, S. A. (2014). The hippocampal CA2 region is essential for social memory. *Nature*, 508(7494), 88–92. <https://doi.org/10.1038/nature13028>.The
- Hoche, F., Guell, X., Sherman, J. C., Vangel, M. G., & Schmahmann, J. D. (2017). *Cerebellar contribution to social cognition*. 15(6), 732–743. <https://doi.org/10.1007/s12311-015-0746-9>.Cerebellar
- Hoft, D. F., Schnapp, A. R., Eickhoff, C. S., & Roodman, S. T. (2000). *Involvement of CD4 α Th1 Cells in Systemic Immunity Protective against Primary and Secondary Challenges with Trypanosoma cruzi*. 68(1), 197–204.
- Hogeveen, J., Krug, M. K., Elliott, M. V., & Solomon, M. (2018). Insula-Retrosplenial Cortex Overconnectivity Increases Internalizing via Reduced Insight in Autism. *Biological Psychiatry*, 84(4), 287–294. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2018.01.015>
- Horder, J., Petrinovic, M. M., Mendez, M. A., Bruns, A., Takumi, T., Spooren, W., Barker, G. J., Künnecke, B., & Murphy, D. G. (2018a). Glutamate and GABA in autism spectrum disorder — a translational magnetic resonance spectroscopy study in man and rodent models. *Translational Psychiatry*, 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41398-018-0155-1>
- Horder, J., Petrinovic, M. M., Mendez, M. A., Bruns, A., Takumi, T., Spooren, W., Barker, G. J., Künnecke, B., & Murphy, D. G. (2018b). Glutamate and GABA in autism spectrum disorder—a translational magnetic resonance spectroscopy study in man and rodent models. *Translational Psychiatry*, 8(1), 106. <https://doi.org/10.1038/s41398-018-0155-1>
- Hsiao, C.-P., & Hoppel, C. (2018). Analyzing mitochondrial function in human peripheral blood mononuclear cells. *Analytical Biochemistry*, 549, 12–20. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2018.03.003>
- Hu, E., Du, H., Shang, S., Zhang, Y., & Lu, X. (2020). Beta-Hydroxybutyrate Enhances BDNF Expression by Increasing H3K4me3 and Decreasing H2AK119ub in Hippocampal Neurons. *Frontiers in Neuroscience*, 14. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.591177>
- Hu, X., Xia, K., Dai, M., Han, X., Yuan, P., Liu, J., Liu, S., Jia, F., Chen, J., Jiang, F., Yu, J., Yang, H., Wang, J., Xu, X., Jin, X., Kristiansen, K., Xiao, L., Chen, W., Han, M., & Duan, S. (2023). Intermittent fasting modulates the intestinal microbiota and improves obesity

- and host energy metabolism. *NPJ Biofilms and Microbiomes*, 9(1), 19. <https://doi.org/10.1038/s41522-023-00386-4>
- Huang, C., Wang, J., Liu, H., Huang, R., Yan, X., Song, M., Tan, G., & Zhi, F. (2022). Ketone body β -hydroxybutyrate ameliorates colitis by promoting M2 macrophage polarization through the STAT6-dependent signaling pathway. *BMC Medicine*, 20(1), 148. <https://doi.org/10.1186/s12916-022-02352-x>
- Huang, H., Hao, S., Li, F., & Xiang, J. (2006). *CD 4 + Th 1 cells promote CD 8 + Tc 1 cell survival , memory response , tumor localization and therapy by targeted delivery of interleukin 2 via acquired pMHC I complexes*. 148–159. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2006.02452.x>
- Iii, A. G. M., Leeuwenburgh, C., & Mattson, M. P. (2018). *Flipping the Metabolic Switch: Understanding and Applying Health Benefits of Fasting*. 26(2), 254–268. <https://doi.org/10.1002/oby.22065>.Flipping
- Immig, K., Gericke, M., Menzel, F., Merz, F., Krueger, M., Schiefenhövel, F., Lösche, A., Jäger, K., Hanisch, U.-K., Biber, K., & Bechmann, I. (2015). CD11c-positive cells from brain, spleen, lung, and liver exhibit site-specific immune phenotypes and plastically adapt to new environments. *Glia*, 63(4), 611–625. <https://doi.org/10.1002/glia.22771>
- Ingersen, A., Helset, H. R., Calov, M., Chabanova, E., Harreskov, E. G., Jensen, C., Hansen, C. N., Prats, C., Helge, J. W., Larsen, S., & Dela, F. (2022). Metabolic effects of alternate-day fasting in males with obesity with or without type 2 diabetes. *Frontiers in Physiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.1061063>
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2020). *Estadísticas a propósito del Día Internacional de las personas con discapacidad (datos nacionales)*. 713/21, 1–5.
- Janssen, H., Kahles, F., Liu, D., Downey, J., Koekkoek, L. L., Roudko, V., D’Souza, D., McAlpine, C. S., Halle, L., Poller, W. C., Chan, C. T., He, S., Mindur, J. E., Kiss, M. G., Singh, S., Anzai, A., Iwamoto, Y., Kohler, R. H., Chetal, K., ... Swirski, F. K. (2023). Monocytes re-enter the bone marrow during fasting and alter the host response to infection. *Immunity*, 56(4), 783-796.e7. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.immuni.2023.01.024>

- Jayashankar, S. S., Tajul Arifin, K., & Nasaruddin, M. L. (2023a). β -Hydroxybutyrate Regulates Activated Microglia to Alleviate Neurodegenerative Processes in Neurological Diseases: A Scoping Review. *Nutrients*, 15(3). <https://doi.org/10.3390/nu15030524>
- Jayashankar, S. S., Tajul Arifin, K. T., & Nasaruddin, M. L. (2023b). β -Hydroxybutyrate Regulates Activated Microglia to Alleviate Neurodegenerative Processes in Neurological Diseases: A Scoping Review. *Nutrients*, 15(3), 524. <https://doi.org/10.3390/nu15030524>
- Jayashankar, S. S., Tajul Arifin, K. T., & Nasaruddin, M. L. (2023c). β -Hydroxybutyrate Regulates Activated Microglia to Alleviate Neurodegenerative Processes in Neurological Diseases: A Scoping Review. *Nutrients*, 15(3), 524. <https://doi.org/10.3390/nu15030524>
- Jeon, H., & Lee, S. (2018). *From Neurons to Social Beings : Short Review of the Mirror Neuron System Research and Its Socio-Psychological and Psychiatric Implications*. 16(1), 18–31.
- Jeon, S. J., Gonzales, E. L., Mabunga, D. F. N., Valencia, S. T., Kim, D. G., Kim, Y., Adil, K. J. L., Shin, D., Park, D., & Shin, C. Y. (2018). Sex-specific Behavioral Features of Rodent Models of Autism Spectrum Disorder. *Experimental Neurobiology*, 27(5), 321–343. <https://doi.org/10.5607/en.2018.27.5.321>
- Jessen, N. A., Sofie, A., Munk, F., & Lundgaard, I. (2016). *The Glymphatic System – A Beginner’s Guide*. 40(12), 2583–2599. <https://doi.org/10.1007/s11064-015-1581-6>.The
- Jetten, N., Verbruggen, S., Gijbels, M. J., & Post, M. J. (2013). *Anti-inflammatory M2 , but not pro-inflammatory M1 macrophages promote angiogenesis in vivo*. <https://doi.org/10.1007/s10456-013-9381-6>
- Jurga, A. M., Paleczna, M., & Kuter, K. Z. (2020). Overview of General and Discriminating Markers of Differential Microglia Phenotypes. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 14(August), 1–18. <https://doi.org/10.3389/fncel.2020.00198>
- Jyonouchi, H., Geng, L., Rose, S., & Bennuri, S. C. (2019). *Variations in Mitochondrial Respiration Differ in IL-1 β / IL-10 Ratio Based Subgroups in Autism Spectrum Disorders*. 10(February), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2019.00071>
- Kahnt, X. T., & Tobler, P. N. (2017). *Dopamine Modulates the Functional Organization of the Orbitofrontal Cortex*. 37(6), 1493–1504. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2827-16.2016>

- Kanner, L. (1968). Autistic disturbances of affective contact. *Acta Paedopsychiatrica*, 35(4), 100–136.
- Kany, S., Vollrath, J. T., & Relja, B. (2019). *Cytokines in Inflammatory Disease*. 1–31.
- Karau, R., Faustmann, P. M., Dermietzel, R., Scho, A., & Bru, M. (2011). *Neuroanatomical Correlates of Suicide in Psychosis : The Possible Role of von Economo Neurons*. 6(6), 1–6. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020936>
- Kawabata, R., Yamanaka, H., Kobayashi, K., Oke, Y., Fujita, A., Oku, Y., Yao, I., & Koga, K. (2023). The Anterior Cingulate Cortex is Critical for Acute Stress-induced Hypersensitivity in Mice. *Neuroscience*, 523, 47–60. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2023.05.010>
- Keifer, O. P., Hurt, R. C., Ressler, K. J., & Marvar, P. J. (2015). *The Physiology of Fear : Reconceptualizing the Role of the Central Amygdala in Fear Learning*. 78, 389–401. <https://doi.org/10.1152/physiol.00058.2014>
- Kim, H., Lim, C.-S., & Kaang, B.-K. (2016). Neuronal mechanisms and circuits underlying repetitive behaviors in mouse models of autism spectrum disorder. *Behavioral and Brain Functions*, 12(1), 3. <https://doi.org/10.1186/s12993-016-0087-y>
- Kim, J. W., Hong, J. Y., & Bae, S. M. (2018). *Microglia and Autism Spectrum Disorder : Overview of Current Evidence and Novel Immunomodulatory Treatment Options*. 16(3), 246–252.
- Kim, K. C., Cho, K. S., Yang, S. M., Gonzales, E. L., Valencia, S., Eun, P. H., Choi, C. S., Mabunga, D. F., Kim, J.-W., Noh, J. K., Kim, H. J., Jeon, S. J., Han, S.-H., Bahn, G. H., & Shin, C. Y. (2017). Sex Differences in Autism-Like Behavioral Phenotypes and Postsynaptic Receptors Expression in the Prefrontal Cortex of TERT Transgenic Mice. *Biomolecules & Therapeutics*, 25(4), 374–382. <https://doi.org/10.4062/biomolther.2016.242>
- Kim, Y., Lee, Y., Lee, M. N., Nah, J., Yun, N., Wu, D., & Pae, M. (2022). Time-restricted feeding reduces monocyte production by controlling hematopoietic stem and progenitor cells in the bone marrow during obesity. *Frontiers in Immunology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1054875>
- Kolodny, T., Schallmo, M., Gerdts, J., Edden, R. A. E., Bernier, R. A., & Murray, S. O. (2020). Concentrations of Cortical <scp>GABA</scp> and Glutamate in Young Adults With

- Autism Spectrum Disorder. *Autism Research*, 13(7), 1111–1129. <https://doi.org/10.1002/aur.2300>
- Kong, F., Ma, X., You, X., & Xiang, Y. (2018). *The resilient brain : psychological resilience mediates the effect of amplitude of low-frequency fluctuations in orbitofrontal cortex on subjective well-being in young healthy adults*. April, 755–763. <https://doi.org/10.1093/scan/nsy045>
- Kraeuter, A.-K., Mashavave, T., Suvana, A., van den Buuse, M., & Sarnyai, Z. (2020). Effects of beta-hydroxybutyrate administration on MK-801-induced schizophrenia-like behaviour in mice. *Psychopharmacology*, 237(5), 1397–1405. <https://doi.org/10.1007/s00213-020-05467-2>
- Krishnaswamy, G., Kelley, J. I. M., Yerra, L., Smith, J. K., & Chi, D. S. (1999). *Human Endothelium as a Source of Multifunctional Cytokines : Molecular Regulation and Possible Role in Human Disease*. 104.
- Krupa, D. J., Matell, M. S., Brisben, A. J., Oliveira, L. M., & Nicolelis, M. A. L. (2001). Behavioral Properties of the Trigeminal Somatosensory System in Rats Performing Whisker-Dependent Tactile Discriminations. *The Journal of Neuroscience*, 21(15), 5752–5763. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-15-05752.2001>
- Kurioka, A., Cosgrove, C., Simoni, Y., van Wilgenburg, B., Geremia, A., Björkander, S., Sverremark-Ekström, E., Thurnheer, C., Günthard, H. F., Khanna, N., Walker, L. J., Arancibia-Cárcamo, C. V., Newell, E. W., Willberg, C. B., Klenerman, P., Aubert, V., Battegay, M., Bernasconi, E., Böni, J., ... Uhlig, H. (2018). CD161 defines a functionally distinct subset of pro-inflammatory natural killer cells. *Frontiers in Immunology*, 9(APR), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00486>
- Kutzner, L., Rund, K. M., Ostermann, A. I., Hartung, N. M., Galano, J.-M., Balas, L., Durand, T., Balzer, M. S., David, S., & Schebb, N. H. (2019). Development of an Optimized LC-MS Method for the Detection of Specialized Pro-Resolving Mediators in Biological Samples. *Frontiers in Pharmacology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00169>
- Ladd-Acosta, C., Hansen, K. D., Briem, E., Fallin, M. D., Kaufmann, W. E., & Feinberg, A. P. (2014). Common DNA methylation alterations in multiple brain regions in autism. *Molecular Psychiatry*, 19(8), 862–871. <https://doi.org/10.1038/mp.2013.114>

- LaManna, J. C., Salem, N., Puchowicz, M., Erokwu, B., Koppaka, S., Flask, C., & Lee, Z. (2009). Ketones suppress brain glucose consumption. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 645, 301–306. https://doi.org/10.1007/978-0-387-85998-9_45
- Land, W. G. (2020a). Use of DAMPs and SAMPs as Therapeutic Targets or Therapeutics: A Note of Caution. *Molecular Diagnosis & Therapy*, 24(3), 251–262. <https://doi.org/10.1007/s40291-020-00460-z>
- Land, W. G. (2020b). Use of DAMPs and SAMPs as Therapeutic Targets or Therapeutics: A Note of Caution. *Molecular Diagnosis & Therapy*, 24(3), 251–262. <https://doi.org/10.1007/s40291-020-00460-z>
- Laramée, M., & Boire, D. (2015). *Visual cortical areas of the mouse: comparison of parcellation and network structure with primates*. 8(January), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fncir.2014.00149>
- Laura M. Glynn, Mariann A. Howland, and M. F. (2018). Maternal programming: Application of a developmental psychopathology perspective. *Dev Psychopathol*, 30(3), 905–919. <https://doi.org/10.1017/S0954579418000524>.Maternal
- Lavin, D. N., Joesting, J. J., Chiu, G. S., Moon, M. L., Meng, J., Dilger, R. N., & Freund, G. G. (2011). Fasting induces an anti-inflammatory effect on the neuroimmune system which a high-fat diet prevents. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 19(8), 1586–1594. <https://doi.org/10.1038/oby.2011.73>
- Leclercq, S., Le Roy, T., Furgieue, S., Coste, V., Bindels, L. B., Leyrolle, Q., Neyrinck, A. M., Quoilin, C., Amadieu, C., Petit, G., Dricot, L., Tagliatti, V., Cani, P. D., Verbeke, K., Colet, J.-M., Stärkel, P., de Timary, P., & Delzenne, N. M. (2020). Gut Microbiota-Induced Changes in β -Hydroxybutyrate Metabolism Are Linked to Altered Sociability and Depression in Alcohol Use Disorder. *Cell Reports*, 33(2), 108238. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.108238>
- Lee, Y., Kim, H., Kim, J.-E., Park, J.-Y., Choi, J., Lee, J.-E., Lee, E.-H., & Han, P.-L. (2018). Excessive D1 Dopamine Receptor Activation in the Dorsal Striatum Promotes Autistic-Like Behaviors. *Molecular Neurobiology*, 55(7), 5658–5671. <https://doi.org/10.1007/s12035-017-0770-5>
- Leech, R., & Sharp, D. J. (2014). *The role of the posterior cingulate cortex in cognition and disease*. 2013, 12–32. <https://doi.org/10.1093/brain/awt162>

- Lehto, A., Koch, K., Barnstorf-Brandes, J., Viel, C., Fuchs, M., & Klein, J. (2022). β -Hydroxybutyrate Improves Mitochondrial Function After Transient Ischemia in the Mouse. *Neurochemical Research*, 47(11), 3241–3249. <https://doi.org/10.1007/s11064-022-03637-6>
- Lei, L., Qian, H., Yang, X., Zhang, X., Zhang, D., Dai, T., Guo, R., Shi, L., Cheng, Y., Zhang, B., Zhou, X., Hu, J., & Guo, Y. (2020). *The phenotypic changes of $\gamma\delta$ T cells in COVID-19 patients*. May, 1–4. <https://doi.org/10.1111/jcmm.15620>
- Lemonnier, E., Villeneuve, N., Sonie, S., Serret, S., Rosier, A., Roue, M., Brosset, P., Viellard, M., Bernoux, D., Rondeau, S., & Thummler, S. (2017). *Effects of bumetanide on neurobehavioral function in children and adolescents with autism spectrum disorders*. 7(3), e1056-9. <https://doi.org/10.1038/tp.2017.10>
- Leroy, F., Cai, Q., Bogart, S. L., Dubois, J., Coulon, O., Monzalvo, K., & Fischer, C. (2015). *New human-specific brain landmark : The depth asymmetry of superior temporal sulcus*. 112(4). <https://doi.org/10.1073/pnas.1412389112>
- Leung, M.-K., & Lau, W. K.-W. (2020). *Resting-state abnormalities of posterior cingulate in autism spectrum disorder* (pp. 139–159). <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2020.04.010>
- Leung, Y. B., Cave, N. J., Heiser, A., Edwards, P. J. B., Godfrey, A. J. R., & Wester, T. (2020). *Metabolic and Immunological Effects of Intermittent Fasting on a Ketogenic Diet Containing Medium-Chain Triglycerides in Healthy Dogs*. 6(January), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00480>
- Levman, J., Vasung, L., MacDonald, P., Rowley, S., Stewart, N., Lim, A., Ewenson, B., Galaburda, A., & Takahashi, E. (2018). Regional volumetric abnormalities in pediatric autism revealed by structural magnetic resonance imaging. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 71, 34–45. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2018.08.001>
- L.H. Lumey, Aryeh D. Stein, and E. S. (2011). Prenatal Famine and Adult Health. *Annu Rev Public Health*. <https://doi.org/10.1146/annurev-publhealth-031210-101230>.Prenatal
- Li, L., Wang, Z., & Zuo, Z. (2013). Chronic Intermittent Fasting Improves Cognitive Functions and Brain Structures in Mice. *PLOS ONE*, 8(6), e66069.
- Li, Q., Zhao, Y., Guo, H., Li, Q., Yan, C., Li, Y., He, S., Wang, N., & Wang, Q. (2023). Impaired lipophagy induced-microglial lipid droplets accumulation contributes to the buildup of

- TREM1 in diabetes-associated cognitive impairment. *Autophagy*, 19(10), 2639–2656. <https://doi.org/10.1080/15548627.2023.2213984>
- Li, Z., Ma, L., Kuleshkaya, N., Võikar, V., & Tian, L. (2014). Microglia are polarized to M1 type in high-anxiety inbred mice in response to lipopolysaccharide challenge. *Brain, Behavior, and Immunity*, 38, 237–248. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2014.02.008>
- Lier, J., Streit, W. J., & Bechmann, I. (2021). Beyond activation: Characterizing microglial functional phenotypes. *Cells*, 10(9), 1–13. <https://doi.org/10.3390/cells10092236>
- Lin, A.-L., Zhang, W., Gao, X., & Watts, L. (2015). Caloric restriction increases ketone bodies metabolism and preserves blood flow in aging brain. *Neurobiology of Aging*, 36(7), 2296–2303. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2015.03.012>
- Lin, C.-W., Ellegood, J., Tamada, K., Miura, I., Konda, M., Takeshita, K., Atarashi, K., Lerch, J. P., Wakana, S., McHugh, T. J., & Takumi, T. (2023). An old model with new insights: endogenous retroviruses drive the evolution toward ASD susceptibility and hijack transcription machinery during development. *Molecular Psychiatry*, 28(5), 1932–1945. <https://doi.org/10.1038/s41380-023-01999-z>
- Lindner, P., Flodin, P., Larm, P., Budhiraja, M., & Savic-berglund, I. (2018). *Amygdala-orbitofrontal structural and functional connectivity in females with anxiety disorders, with and without a history of conduct disorder*. January, 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19569-7>
- Lindsay, K. L., Buss, C., Wadhwa, P. D., & Entringer, S. (2018). The interplay between nutrition and stress in pregnancy: implications for fetal programming of brain development. *Biological Psychiatry*. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2018.06.021>
- Liu, D., Deng, J., Zhang, Z., Zhang, Z., & Sun, Y. (2019). *Orbitofrontal control of visual cortex gain promotes visual associative learning*.
- Loomes, R., Hull, L., & Mandy, W. P. L. (2017). What Is the Male-to-Female Ratio in Autism Spectrum Disorder? A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, 56(6), 466–474. <https://doi.org/10.1016/j.jaac.2017.03.013>
- López-Ojeda, W., & Hurley, R. A. (2022). Von Economo Neuron Involvement in Social Cognitive and Emotional Impairments in Neuropsychiatric Disorders. *The Journal of*

- Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*, 34(4), 302–306.
<https://doi.org/10.1176/appi.neuropsych.20220136>
- Lopez-verges, S. L., Falk, C. S., Gismondi, A., & Santoni, A. (2017). *Role of Distinct natural Killer Cell Subsets in Anticancer Response*. 8(March), 1–8.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00293>
- Lord, C., Brugha, T. S., Charman, T., Cusack, J., Dumas, G., Frazier, T., Jones, E. J. H., Jones, R. M., Pickles, A., State, M. W., Taylor, J. L., & Veenstra-vanderweele, J. (2020). Autism spectrum disorder. *Nature Reviews Disease Primers*. <https://doi.org/10.1038/s41572-019-0138-4>
- Louveau, A., Harris, T. H., & Kipnis, J. (2015). Revisiting the Mechanisms of CNS Immune Privilege. *Trends in Immunology*, 36(10), 569–577.
<https://doi.org/10.1016/j.it.2015.08.006>
- Loving, B. A., Bruce, K. D., Francis, G. A., Evans, R. D., Ouimet, M., & Bruce, K. D. (2020). *Lipid and Lipoprotein Metabolism in Microglia*. 11(April), 1–20.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00393>
- Lu, H., Zou, Q., Gu, H., Raichle, M. E., Stein, E. A., & Yang, Y. (2012). *Rat brains also have a default mode network*. 109(10), 3979–3984. <https://doi.org/10.1073/pnas.1200506109>
- Luca Roncati, B. L. (2020). *The «moonlighting protein» able to explain the Th1 immune lockdown in severe COVID-19* ✱. January.
- Lucon-Xiccato, T., Tomain, M., D’Aniello, S., & Bertolucci, C. (2023). bdnf loss affects activity, sociability, and anxiety-like behaviour in zebrafish. *Behavioural Brain Research*, 436, 114115. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2022.114115>
- Lurie, D. I. (2018). *An Integrative Approach to Neuroinflammation in Psychiatric disorders and Neuropathic Pain*. 7–9. <https://doi.org/10.1177/1179069518793639>
- Lynall, M., Turner, L., Bhatti, J., Cavanagh, J., Boer, P. De, Mondelli, V., Jones, D., Drevets, W. C., Cowen, P., Harrison, N. A., Pariante, C. M., Pointon, L., Clatworthy, M. R., & Bullmore, E. (2019). Peripheral blood cell-stratified subgroups of inflamed depression. *Biological Psychiatry*. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2019.11.017>
- Macerollo, A., & Martino, D. (2013). *Pediatric Autoimmune Neuropsychiatric Disorders Associated with Streptococcal Infections (PANDAS): An Evolving Concept*.

- Magnetic, A. M., & Imaging, R. (2012). *Brain Anatomy and Its Relationship to Behavior in Adults With Autism Spectrum Disorder*. 69(2), 195–209.
- Maldonado-Ruiz, R., Marcela, C., Montalvo-mart, L., Vidaltamayo, R., Garza-ocañas, L., & Res, D. (2019). *Priming of Hypothalamic Ghrelin Signaling and Microglia Activation Exacerbate Feeding in Rats ' Offspring Following Maternal Overnutrition*.
- Maldonado-Ruiz, R., Trujillo-Villarreal, L. A., Montalvo-Martínez, L., Mercado-Gómez, O. F., Arriaga-Ávila, V., Garza-Ocañas, L., Ortiz-López, R., Garza-Villarreal, E. A., Guevara-Guzmán, R., & Camacho-Morales, A. (2022a). MCP-1 Signaling Disrupts Social Behavior by Modulating Brain Volumetric Changes and Microglia Morphology. *Molecular Neurobiology*, 59(2), 932–949. <https://doi.org/10.1007/s12035-021-02649-7>
- Maldonado-Ruiz, R., Trujillo-Villarreal, L. A., Montalvo-Martínez, L., Mercado-Gómez, O. F., Arriaga-Ávila, V., Garza-Ocañas, L., Ortiz-López, R., Garza-Villarreal, E. A., Guevara-Guzmán, R., & Camacho-Morales, A. (2022b). MCP-1 Signaling Disrupts Social Behavior by Modulating Brain Volumetric Changes and Microglia Morphology. *Molecular Neurobiology*, 59(2), 932–949. <https://doi.org/10.1007/s12035-021-02649-7>
- Mandy, W. (2023). The old and the new way of understanding autistic lives: Reflections on the life of Donald Triplett, the first person diagnosed as autistic. *Autism*, 27(7), 1853–1855. <https://doi.org/10.1177/13623613231194476>
- Marco, E. J., Khatibi, K., Hill, S. S., Siegel, B., Arroyo, M. S., Dowling, A. F., Neuhaus, J. M., Sherr, E. H., Hinkley, L. N. B., & Nagarajan, S. S. (2012). Children With Autism Show Reduced Somatosensory Response: An <sc>MEG</sc> Study. *Autism Research*, 5(5), 340–351. <https://doi.org/10.1002/aur.1247>
- Marotta, R., Risoleo, M. C., Messina, G., Parisi, L., Carotenuto, M., Vetri, L., & Roccella, M. (2020). The Neurochemistry of Autism. *Brain Sciences*, 1–18.
- Martínez-Cerdeño, V. (2018). *Dendrite and spine modifications in autism and related neurodevelopmental disorders in patients and animal models*. 77(4), 393–404. <https://doi.org/10.1002/dneu.22417>.Dendrite
- Martino, A. Di, Team, P., & Platform, N. N. (2020). *Hyper-connectivity of the striatum related to restricted and repetitive behaviors ' severity in children with ASD*. 1–16.
- Matias, M. I., Yong, C. S., Foroushani, A., Goldsmith, C., Mongellaz, C., Sezgin, E., Levental, K. R., Talebi, A., Perrault, J., Rivière, A., Dehairs, J., Delos, O., Bertand-Michel, J.,

- Portais, J.-C., Wong, M., Marie, J. C., Kelekar, A., Kinet, S., Zimmermann, V. S., ... Dardalhon, V. (2021). Regulatory T cell differentiation is controlled by α KG-induced alterations in mitochondrial metabolism and lipid homeostasis. *Cell Reports*, 37(5), 109911. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109911>
- Matta, S. M., Hill-yardin, E. L., & Crack, P. J. (2019). Brain , Behavior , and Immunity The influence of neuroinflammation in Autism Spectrum Disorder. *Brain Behavior and Immunity*, 79(October 2018), 75–90. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2019.04.037>
- Mázló, A., Jenei, V., Burai, S., Molnár, T., Bácsi, A., & Koncz, G. (2022). Types of necroinflammation, the effect of cell death modalities on sterile inflammation. *Cell Death & Disease*, 13(5), 423. <https://doi.org/10.1038/s41419-022-04883-w>
- Mcfadden, K., & Minshew, N. J. (2013). *Evidence for dysregulation of axonal growth and guidance in the etiology of ASD*. 7(October), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2013.00671>
- McManaman, J. L., Bales, E. S., Orlicky, D. J., Jackman, M., MacLean, P. S., Cain, S., Crunk, A. E., Mansur, A., Graham, C. E., Bowman, T. A., & Greenberg, A. S. (2013). Perilipin-2-null mice are protected against diet-induced obesity, adipose inflammation, and fatty liver disease. *Journal of Lipid Research*, 54(5), 1346–1359. <https://doi.org/10.1194/jlr.M035063>
- Melo, D., José, M., Manvailer, J., Resende, R., Kanashiro, A., Malvar, C., Carla, A., Roth, J., Emília, G., & Souza, P. (2009). CCL3 / MIP-1 α is not involved in the LPS-induced fever and its pyrogenic activity depends on CRF. *Brain Research*, 1269, 54–60. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2009.03.003>
- Micheau, J., Vimeney, A., Normand, E., & Mulle, C. (2014). *Impaired Hippocampus-Dependent Spatial Flexibility and Sociability Represent Autism-Like Phenotypes in GluK2 Mice*. 1069, 1059–1069. <https://doi.org/10.1002/hipo.22290>
- Michinaga, S., & Koyama, Y. (2019). *Dual Roles of Astrocyte-Derived Factors in Regulation of Blood-Brain Barrier Function after Brain Damage*. 1–22. <https://doi.org/10.3390/ijms20030571>
- Milczarek, M. M., & Vann, S. D. (2020). The retrosplenial cortex and long-term spatial memory: from the cell to the network. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, 32, 50–56. <https://doi.org/10.1016/j.cobeha.2020.01.014>

- Mondelli, V., Vernon, A. C., Turkheimer, F., Dazzan, P., & Pariante, C. M. (2017). Review Brain microglia in psychiatric disorders. *The Lancet Psychiatry*, 0366(17), 1–9. [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(17\)30101-3](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(17)30101-3)
- Montalvo-Martínez, L., Cruz-Carrillo, G., Maldonado-Ruiz, R., Cárdenas-Tueme, M., Bernal-Vega, S., Garza-Ocañas, L., Ortiz-López, R., Reséndez-Pérez, D., & Camacho-Morales, A. (2022). Maternal high-dense diet programs interferon type I signaling and microglia complexity in the nucleus accumbens shell of rats showing food addiction-like behavior. *Neuroreport*, 33(12), 495–503. <https://doi.org/10.1097/WNR.0000000000001784>
- Montalvo-Martínez, L., Cruz-Carrillo, G., Maldonado-Ruiz, R., Trujillo-Villarreal, L. A., Cardenas-Tueme, M., Viveros-Contreras, R., Ortiz-López, R., & Camacho-Morales, A. (2022). Transgenerational Susceptibility to Food Addiction-Like Behavior in Rats Associates to a Decrease of the Anti-Inflammatory IL-10 in Plasma. *Neurochemical Research*, 47(10), 3093–3103. <https://doi.org/10.1007/s11064-022-03660-7>
- Montalvo-martínez, L., Maldonado-ruiz, R., Cárdenas-tueme, M., Reséndez-pérez, D., & Camacho, A. (2018). *Maternal Overnutrition Programs Central Inflammation and Addiction-Like Behavior in Offspring*. 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/8061389>
- Moro-garcía, M. A., Mayo, J. C., Sainz, R. M., Alonso-arias, R., Vida, C., & Alonso-arias, R. (2018). *Influence of Inflammation in the Process of T Lymphocyte Differentiation: Proliferative, Metabolic, and Oxidative Changes*. 9(March). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00339>
- Moser, E. I. (2011). The multi-laned hippocampus. *Nature Publishing Group*, 14(4), 407–408. <https://doi.org/10.1038/nn.2783>
- Moskowitz, A., & Heim, G. (2011). Eugen Bleuler’s Dementia praecox or the group of schizophrenias (1911): a centenary appreciation and reconsideration. *Schizophrenia Bulletin*, 37(3), 471–479. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbr016>
- Mousa, A., & Naqash, A. (2019). *Macronutrient and Micronutrient Intake during Pregnancy : An Overview of Recent Evidence*. 1–20. <https://doi.org/10.3390/nu11020443>
- Muir, L. A., Baker, N. A., Washabaugh, A. R., Neeley, C. K., Flesher, C. G., DelProposto, J. B., Geletka, L. M., Ghaferi, A. A., Finks, J. F., Singer, K., Varban, O. A., Lumeng, C. N., & O’Rourke, R. W. (2017). Adipocyte hypertrophy-hyperplasia balance contributes to

- weight loss after bariatric surgery. *Adipocyte*, 6(2), 134–140.
<https://doi.org/10.1080/21623945.2017.1287639>
- Müller, A., Brandenburg, S., Turkowski, K., Müller, S., & Vajkoczy, P. (2015). Resident microglia, and not peripheral macrophages, are the main source of brain tumor mononuclear cells. *International Journal of Cancer*, 137(2), 278–288.
<https://doi.org/10.1002/ijc.29379>
- Municio, C., Carrero, L., Antequera, D., & Carro, E. (2023). Choroid Plexus Aquaporins in CSF Homeostasis and the Glymphatic System: Their Relevance for Alzheimer's Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(1).
<https://doi.org/10.3390/ijms24010878>
- Nag, H. E., Nordgren, A., Anderlid, B.-M., & Nærland, T. (2018). Reversed gender ratio of autism spectrum disorder in Smith-Magenis syndrome. *Molecular Autism*, 9(1), 1.
<https://doi.org/10.1186/s13229-017-0184-2>
- Najjar, S., Pearlman, D. M., Alper, K., Najjar, A., & Devinsky, O. (2013). *Neuroinflammation and psychiatric illness*.
- Nakandakari, S. C. B. R., Muñoz, V. R., Kuga, G. K., Gaspar, R. C., Sant'Ana, M. R., Pavan, I. C. B., da Silva, L. G. S., Morelli, A. P., Simabuco, F. M., da Silva, A. S. R., de Moura, L. P., Ropelle, E. R., Cintra, D. E., & Pauli, J. R. (2019). Short-term high-fat diet modulates several inflammatory, ER stress, and apoptosis markers in the hippocampus of young mice. *Brain, Behavior, and Immunity*, 79, 284–293.
<https://doi.org/10.1016/j.bbi.2019.02.016>
- Napoli, E., Dueñas, N., & Giulivi, C. (2014). *Potential therapeutic use of the ketogenic diet in autism spectrum disorders*. 2(June), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fped.2014.00069>
- Negi, N., & Das, B. K. (2017). *CNS: Not an immunoprivileged site anymore but a virtual secondary lymphoid organ*. 0185(September).
<https://doi.org/10.1080/08830185.2017.1357719>
- Neufeld, J., Maier, S., Revers, M., Reisert, M., Kuja-Halkola, R., Tebartz van Elst, L., & Bölte, S. (2023). Reduced brain connectivity along the autism spectrum controlled for familial confounding by co-twin design. *Scientific Reports*, 13(1), 13124.
<https://doi.org/10.1038/s41598-023-39876-y>

- Nogueiras, R., & Sabio, G. (2021). Brain JNK and metabolic disease. *Diabetologia*, 64(2), 265–274. <https://doi.org/10.1007/s00125-020-05327-w>
- Nutman, T. B., & Section, H. I. (2016). *Looking beyond the induction of Th2 responses to explain immunomodulation by helminths.* 37(6), 304–313. <https://doi.org/10.1111/pim.12194>
- Ochiai, T., Grimault, S., Scavarda, D., Roch, G., Hori, T., Rivie, D., & Re, J. (2004). *Sulcal pattern and morphology of the superior temporal sulcus.* 22, 706–719. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2004.01.023>
- Orecchioni, M., Ghosheh, Y., Pramod, A. B., & Ley, K. (2019). *Macrophage Polarization : Different Gene Signatures in M1 (LPS +) vs . Classically and M2 (LPS –) vs . Alternatively Activated Macrophages.* 10(May), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01084>
- Orihuela, R., Mcpherson, C. A., & Harry, G. J. (2016). *Microglial M1/M2 polarization and metabolic states.* 649–665. <https://doi.org/10.1111/bph.13139>
- Oro, A. B., Esmer, C., & Navarro-Calvillo, M. E. (2014). Autism Spectrum Disorders in Mexico. In V. B. Patel, V. R. Preedy, & C. R. Martin (Eds.), *Comprehensive Guide to Autism* (pp. 2469–2482). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4788-7_162
- Pan, J. W., de Graaf, R. A., Petersen, K. F., Shulman, G. I., Hetherington, H. P., & Rothman, D. L. (2002). [2,4-13 C₂]-beta-Hydroxybutyrate metabolism in human brain. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism : Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 22(7), 890–898. <https://doi.org/10.1097/00004647-200207000-00014>
- Pan, J. W., Rothman, D. L., Behar, K. L., Stein, D. T., & Hetherington, H. P. (2000). Human Brain β -Hydroxybutyrate and Lactate Increase in Fasting-Induced Ketosis. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 20(10), 1502–1507. <https://doi.org/10.1097/00004647-200010000-00012>
- Panayi, G. S., & Corrigan, V. M. (2008). *BiP, An Anti-Inflammatory ER Protein, is a Potential New Therapy for the Treatment of Rheumatoid Arthritis* (pp. 212–220). <https://doi.org/10.1002/9780470754030.ch16>

- Park, S., Jang, A., & Bouret, S. G. (2020). Maternal obesity-induced endoplasmic reticulum stress causes metabolic alterations and abnormal hypothalamic development in the offspring. *PLoS Biology*, 18(3), e3000296. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000296>
- Pasciuto, E., Burton, O. T., Roca, C. P., Fitzgerald, D. C., Dooley, J., Liston, A., Pasciuto, E., Burton, O. T., Roca, C. P., Lagou, V., Rajan, W. D., & Theys, T. (2020). Microglia Require CD4 T Cells to Complete the Fetal- to-Adult Transition. *Cell*, 182(3), 625-640.e24. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.06.026>
- Patsoukis, N., Bardhan, K., Chatterjee, P., Sari, D., Liu, B., Bell, L. N., Karoly, E. D., Freeman, G. J., Petkova, V., Seth, P., Li, L., & Boussiotis, V. A. (2015). PD-1 alters T-cell metabolic reprogramming by inhibiting glycolysis and promoting lipolysis and fatty acid oxidation. *Nature Communications*, 6(1), 6692. <https://doi.org/10.1038/ncomms7692>
- Patterson, P. H. (2012). *Modeling Autistic Features in Animals*. 69(1), 1–14. <https://doi.org/10.1203/PDR.0b013e318212b80f.Modeling>
- Pavál, D. (2017a). *A Dopamine Hypothesis of Autism Spectrum Disorder*. 355–360. <https://doi.org/10.1159/000478725>
- Pavál, D. (2017b). *A Dopamine Hypothesis of Autism Spectrum Disorder*. *Developmental Neuroscience*, 39(5), 355–360. <https://doi.org/10.1159/000478725>
- Pawela, C., & Biswal, B. (2011). *Brain Connectivity: A New Journal Emerges*. 1(1), 1–2. <https://doi.org/10.1089/brain.2011.0020>
- Perry, J. S. A. (2018). *The effects of interleukin-2 on immune response regulation*. 35(1), 79–119. <https://doi.org/10.1093/imammb/dqw021.The>
- Piirainen, S., Chithanathan, K., Bisht, K., Piirsalu, M., Savage, J. C., Tremblay, M.-E., & Tian, L. (2021). Microglia contribute to social behavioral adaptation to chronic stress. *Glia*, 69(10), 2459–2473. <https://doi.org/10.1002/glia.24053>
- Piontkewitz, Y., Arad, M., & Weiner, I. (2012). Tracing the development of psychosis and its prevention: What can be learned from animal models. *Neuropharmacology*, 62(3), 1273–1289. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2011.04.019>
- Pober, J. S., & Sessa, W. C. (2015). *Inflammation and the Blood Microvascular System*. 1–11.

- Polito, R., La Torre, M. E., Moscatelli, F., Cibelli, G., Valenzano, A., Panaro, M. A., Monda, M., Messina, A., Monda, V., Pisanelli, D., Sessa, F., Messina, G., & Porro, C. (2023). The Ketogenic Diet and Neuroinflammation: The Action of Beta-Hydroxybutyrate in a Microglial Cell Line. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4). <https://doi.org/10.3390/ijms24043102>
- Postema, M. C. (2019). *Altered structural brain asymmetry in autism spectrum disorder in a study of 54 datasets*. 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13005-8>
- Prada, P. O., Zecchin, H. G., Gasparetti, A. L., Torsoni, M. A., Ueno, M., Hirata, A. E., Corezola do Amaral, M. E., Höer, N. F., Boschero, A. C., & Saad, M. J. A. (2005). Western diet modulates insulin signaling, c-Jun N-terminal kinase activity, and insulin receptor substrate-1ser307 phosphorylation in a tissue-specific fashion. *Endocrinology*, 146(3), 1576–1587. <https://doi.org/10.1210/en.2004-0767>
- Rakhra, V., Galappaththy, S. L., Bulchandani, S., & Cabandugama, P. K. (2020). Obesity and the Western Diet: How We Got Here. *Missouri Medicine*, 117(6), 536–538.
- Rangan, P., Lobo, F., Parrella, E., Rochette, N., Morselli, M., Stephen, T.-L., Cremonini, A. L., Tagliafico, L., Persia, A., Caffa, I., Monacelli, F., Odetti, P., Bonfiglio, T., Nencioni, A., Pigliautile, M., Boccardi, V., Mecocci, P., Pike, C. J., Cohen, P., ... Longo, V. D. (2022). Fasting-mimicking diet cycles reduce neuroinflammation to attenuate cognitive decline in Alzheimer's models. *Cell Reports*, 40(13), 111417. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.111417>
- Rangaraju, S., Raza, S. A., Li, N. X., Betarbet, R., Dammer, E. B., Duong, D., Lah, J. J., Seyfried, N. T., & Levey, A. I. (2018). Differential Phagocytic Properties of CD45^{low} Microglia and CD45^{high} Brain Mononuclear Phagocytes—Activation and Age-Related Effects. *Frontiers in Immunology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00405>
- Ratto, A. B., Kenworthy, L., Yerys, B. E., Bascom, J., Wieckowski, A. T., White, S. W., Wallace, G. L., Pugliese, C., Schultz, R. T., Ollendick, T. H., Scarpa, A., Seese, S., Register-Brown, K., Martin, A., & Anthony, L. G. (2018). What About the Girls? Sex-Based Differences in Autistic Traits and Adaptive Skills. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 48(5), 1698–1711. <https://doi.org/10.1007/s10803-017-3413-9>
- Rehwinkel, J., & Gack, M. U. (2020). RIG-I-like receptors: their regulation and roles in RNA sensing. *Nature Reviews Immunology*, 20(9), 537–551. <https://doi.org/10.1038/s41577-020-0288-3>

- Renkema, K. R., Lee, J. Y., Lee, Y. J., Hamilton, S. E., Hogquist, K. A., & Jameson, S. C. (2016). *IL-4 sensitivity shapes the peripheral CD8 + T cell pool and response to infection*. 1319–1329. <https://doi.org/10.1084/jem.20151359>
- Ressler, K. J. (2011). Amygdala Activity, Fear, and Anxiety: Modulation by Stress. *Biol Psychiatry*, 67(12), 1117–1119. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2010.04.027>. Amygdala
- Richard I. Lowensohn, D. D. S. (2016). Current Concepts of Maternal Nutrition. *OBSTETRICAL AND GYNECOLOGICAL SURVEY*, 71(7).
- Rogers, T. D., Mckimm, E., Dickson, P. E., Goldowitz, D., Blaha, C. D., Mittleman, G., Mostofsky, S. H., Marko, M. K., & Hopkins, J. (2013). *Is autism a disease of the cerebellum? An integration of clinical and pre-clinical research EVIDENCE THAT CEREBELLUM IS INVOLVED IN AUTISM*. 7(May), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2013.00015>
- Rolls, E. T., Wirth, S., Deco, G., Huang, C., & Feng, J. (2023). The human posterior cingulate, retrosplenial, and medial parietal cortex effective connectome, and implications for memory and navigation. *Human Brain Mapping*, 44(2), 629–655. <https://doi.org/10.1002/hbm.26089>
- Roux, F., Durand, J., Taylor, J., & Carson, R. (2018). *Functional architecture of the somatosensory homunculus detected by electrostimulation*. 5, 941–956. <https://doi.org/10.1113/JP275243>
- Rubin, R. D., Watson, P. D., Duff, M. C., & Cohen, N. J. (2014). The role of the hippocampus in flexible cognition and social behavior. *Frontiers in Human Neuroscience*, 8. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2014.00742>
- Rugeles, M. T. (2017). *Role of Different Subpopulations of CD8 + T Cells during Hiv exposure and infection*. 8(August), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00936>
- Ruzicka, W. B., Medical, H., & Hospital, M. (2017). *Epigenetic Mechanisms in the Pathophysiology of Psychotic Disorders*. 23(3), 212–222. <https://doi.org/10.1097/HRP.000000000000048>. Epigenetic
- Sakaguchi, S., Mikami, N., Wing, J. B., Tanaka, A., Ichiyama, K., & Ohkura, N. (2020). *Regulatory T Cells and Human Disease*. 541–566.

- Sandquist, I., & Kolls, J. (2018). *Update on regulation and effector functions of Th17 cells*. 7(0), 1–8. <https://doi.org/10.12688/f1000research.13020.1>
- Santiago-tirado, F. H., & Doering, T. L. (2017). *False friends : Phagocytes as Trojan horses in microbial brain infections*. 1–7.
- Sarker, G., Litwan, K., Kas, R., & Peleg-raibstein, D. (2019). *Maternal overnutrition during critical developmental periods leads to different health adversities in the offspring : relevance of obesity , addiction and schizophrenia*. 1–17. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-53652-x>
- Schaer, M., Ottet, M., Scariati, E., Dukes, D., Franchini, M., Eliez, S., Jeong, J., & State, W. (2013). Decreased frontal gyrification correlates with altered connectivity in children with autism. *Frontiers in Human Neuroscience*, i(November), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2013.00750>
- Schalbroeck, R., van Velden, F. H. P., de Geus-Oei, L.-F., Yaqub, M., van Amelsvoort, T., Booij, J., & Selten, J.-P. (2021). Striatal dopamine synthesis capacity in autism spectrum disorder and its relation with social defeat: an [18F]-FDOPA PET/CT study. *Translational Psychiatry*, 11(1), 47. <https://doi.org/10.1038/s41398-020-01174-w>
- Schmid, T., Falter, L., Weber, S., Müller, N., & Molitor, K. (2017). *Chronic Inflammation Increases the Sensitivity of Mouse Treg for TNFR2 Costimulation*. 8(November), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01471>
- Schulz, L. C. (2010). *The Dutch Hunger Winter and the developmental origins of health and disease*. 107(39), 16757–16758. <https://doi.org/10.1073/pnas.1012911107>
- Schuppelius, B., Peters, B., Ottawa, A., & Pivovarov-Ramich, O. (2021). Time Restricted Eating: A Dietary Strategy to Prevent and Treat Metabolic Disturbances. *Frontiers in Endocrinology*, 12, 683140. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.683140>
- Seguin, D., Pac, S., Wang, J., Nicolson, R., Martinez-Trujillo, J., & Duerden, E. G. (2021). Amygdala subnuclei development in adolescents with autism spectrum disorder: Association with social communication and repetitive behaviors. *Brain and Behavior*, 11(8). <https://doi.org/10.1002/brb3.2299>
- Sellick, T., Ure, A., & Williams, K. (2021). Repetitive and restricted behaviours and anxiety in autism spectrum disorder: protocol for a systematic review and meta-analysis. *Systematic Reviews*, 10(1), 303. <https://doi.org/10.1186/s13643-021-01830-2>

- Shen, J., Chen, X., Hendershot, L., & Prywes, R. (2002). ER Stress Regulation of ATF6 Localization by Dissociation of BiP/GRP78 Binding and Unmasking of Golgi Localization Signals. *Developmental Cell*, 3(1), 99–111. [https://doi.org/10.1016/S1534-5807\(02\)00203-4](https://doi.org/10.1016/S1534-5807(02)00203-4)
- Shen, M. D. (2018). Cerebrospinal fluid and the early brain development of autism. *Journal of Neurodevelopmental Disorders*, 10(1), 39. <https://doi.org/10.1186/s11689-018-9256-7>
- Shi, Z., Wu, X., Yu, S., Huynh, M., Jena, P. K., Nguyen, M., Wan, Y.-J. Y., & Hwang, S. T. (2020). Short-Term Exposure to a Western Diet Induces Psoriasiform Dermatitis by Promoting Accumulation of IL-17A–Producing $\gamma\delta$ T Cells. *Journal of Investigative Dermatology*, 140(9), 1815–1823. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2020.01.020>
- Shin Yim, Y., Park, A., Berrios, J., Lafourcade, M., Pascual, L. M., Soares, N., Yeon Kim, J., Kim, S., Kim, H., Waisman, A., Littman, D. R., Wickersham, I. R., Harnett, M. T., Huh, J. R., & Choi, G. B. (2017). Reversing behavioural abnormalities in mice exposed to maternal inflammation. *Nature*, 549(7673), 482–487. <https://doi.org/10.1038/nature23909>
- Shomyseh Sanjabi, L. A. Z. (2010). Anti- and Pro-inflammatory Roles of TGF- β , IL-10, and IL-22 In Immunity and Autoimmunity. 9(4), 447–453. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2009.04.008>.Anti-
- Shulha, H. P. (2012). Epigenetic Signatures of Autism. *Archives of General Psychiatry*, 69(3), 314. <https://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2011.151>
- Siegmund, D., Wagner, J., & Wajant, H. (2022). TNF Receptor Associated Factor 2 (TRAF2) Signaling in Cancer. *Cancers*, 14(16). <https://doi.org/10.3390/cancers14164055>
- Singhal, G., & Baune, B. T. (2017). Microglia : An Interface between the Loss of Neuroplasticity and Depression. 11(September), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00270>
- Siniscalco, D., Schultz, S., Brigida, A. L., & Antonucci, N. (2018). Inflammation and Neuro-Immune Dysregulations in Autism Spectrum Disorders. 1–14. <https://doi.org/10.3390/ph11020056>
- Solinas, G., & Becattini, B. (2017). JNK at the crossroad of obesity, insulin resistance, and cell stress response. *Molecular Metabolism*, 6(2), 174–184. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2016.12.001>

- Soltani, S., Mahmoudi, M., & Farhadi, E. (2020). Dendritic Cells Currently under the Spotlight ; Classification and Subset Based upon New Markers. *Immunological Investigations*, 00(00), 1–16. <https://doi.org/10.1080/08820139.2020.1783289>
- Son, H., Baek, J. H., Kang, J. S., Jung, S., Chung, H. J., & Kim, H. J. (2021). Acutely increased β -hydroxybutyrate plays a role in the prefrontal cortex to escape stressful conditions during the acute stress response. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 554, 19–24. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2021.03.062>
- Soong, R., Song, L., Trieu, J., Lee, S. Y., He, L., Tsai, C., Wu, T., & Hung, C. (2014). *Direct T Cell Activation via CD40 Ligand Generates High Avidity CD8 + T Cells Capable of Breaking Immunological Tolerance for the Control of Tumors*. 9(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093162>
- Spunt, R. P., Lieberman, M. D., Cohen, J. R., & Eisenberger, N. I. (2012). *The Phenomenology of Error Processing : The Dorsal ACC Response to Stop-signal Errors Tracks Reports of Negative Affect*. 1753–1765.
- Srancikova, A., Reichova, A., Bacova, Z., & Bakos, J. (2021). Gene expression levels of DNA methyltransferase enzymes in *Shank3* -deficient mouse model of autism during early development. *Endocrine Regulations*, 55(4), 234–237. <https://doi.org/10.2478/enr-2021-0025>
- Stein, D. J., Vasconcelos, M. F., Albrechet-souza, L., & Benedetto, B. Di. (2017). *Microglial Over-Activation by Social Defeat Stress Contributes to Anxiety-*. 11(October). <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2017.00207>
- Stekovic, S., Hofer, S. J., Tripolt, N., Aon, M. A., Royer, P., Pein, L., Stadler, J. T., Pendl, T., Prietl, B., Url, J., Schroeder, S., Tadic, J., Eisenberg, T., Magnes, C., Stumpe, M., Zuegner, E., Bordag, N., Riedl, R., Schmidt, A., ... Madeo, F. (2019). Alternate Day Fasting Improves Physiological and Molecular Markers of Aging in Healthy, Non-obese Humans. *Cell Metabolism*, 30(3), 462-476.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2019.07.016>
- Stevens, F. L., Hurley, R. A., & Taber, K. H. (2011). Anterior Cingulate Cortex: Unique Role in Cognition and Emotion. *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*, 23(2), 121–125. <https://doi.org/10.1176/jnp.23.2.jnp121>

- Stoodley, C. J., & Schmahmann, J. D. (2011). *Evidence for topographic organization in the cerebellum of motor control versus cognitive and affective processing*. 46(7), 831–844. <https://doi.org/10.1016/j.cortex.2009.11.008>.Evidence
- Strien, N. M. Van, Cappaert, N. L. M., & Witter, M. P. (2009). *The anatomy of memory : an interactive overview of the parahippocampal – hippocampal network*. 10(APRIL), 272–282. <https://doi.org/10.1038/nrn2614>
- Sun, L., He, C., Nair, L., Yeung, J., Egwuagu, C. E., & Section, M. I. (2016). *Interleukin 12 (IL-12) Family Cytokines: Role in Immune Pathogenesis and Treatment of CNS Autoimmune Disease*. 75(2), 249–255. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2015.01.030>.Interleukin
- Supekar, K., Kochalka, J., Schaer, M., Wakeman, H., & Qin, S. (2018). *Deficits in mesolimbic reward pathway underlie social Interaction impairments in children with autism*. 2795–2805. <https://doi.org/10.1093/brain/awy191>
- Supekar, K., Kochalka, J., Schaer, M., Wakeman, H., Qin, S., Padmanabhan, A., & Menon, V. (2018). Deficits in mesolimbic reward pathway underlie social Interaction impairments in children with autism. *Brain*. <https://doi.org/10.1093/brain/awy191>
- Taghavi, Y., Hassanshahi, G., Kounis, N. G., & Koniari, I. (2019). *Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1 / CCL2) in diabetic retinopathy: latest evidence and clinical considerations*. 1, 451–462.
- Tajes, M., Gutierrez-Cuesta, J., Folch, J., Ortuño-Sahagun, D., Verdaguer, E., Jiménez, A., Junyent, F., Lau, A., Camins, A., & Pallàs, M. (2010). Neuroprotective role of intermittent fasting in senescence-accelerated mice P8 (SAMP8). *Experimental Gerontology*, 45(9), 702–710. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2010.04.010>
- Tang, Y., & Leve, L. D. (2016). *A translational neuroscience perspective on mindfulness meditation as a prevention strategy*. <https://doi.org/10.1007/s13142-015-0360-x>
- Teixeira, C. M., Rosen, Z. B., Suri, D., Sun, Q., Hersh, M., Dincheva, I., Morgan, A. A., Spivack, S., Krok, A. C., Lambe, E. K., Siegelbaum, S. A., & Ansorge, M. S. (2019). *Hippocampal 5-HT input regulates memory formation and Schaffer collateral excitation*. 98(5), 992–1004. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.04.030>.Hippocampal
- Thabault, M., Turpin, V., Maisterrena, A., Jaber, M., Egloff, M., & Galvan, L. (2022). Cerebellar and Striatal Implications in Autism Spectrum Disorders: From Clinical Observations to

- Animal Models. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(4). <https://doi.org/10.3390/ijms23042294>
- Thompson, J. R., Valleau, J. C., Barling, A. N., Franco, J. G., DeCapo, M., Bagley, J. L., & Sullivan, E. L. (2017). Exposure to a High-Fat Diet during Early Development Programs Behavior and Impairs the Central Serotonergic System in Juvenile Non-Human Primates. *Frontiers in Endocrinology*, 8, 164. <https://doi.org/10.3389/fendo.2017.00164>
- Ting, A. T., & Bertrand, M. J. M. (2016). More to Life than NF- κ B in TNFR1 Signaling. *Trends in Immunology*, xx(8), 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.it.2016.06.002>
- Traba, J., Geiger, S. S., Kwarteng-Siaw, M., Han, K., Ra, O. H., Siegel, R. M., Gius, D., & Sack, M. N. (2017). Prolonged fasting suppresses mitochondrial NLRP3 inflammasome assembly and activation via SIRT3-mediated activation of superoxide dismutase 2. *The Journal of Biological Chemistry*, 292(29), 12153–12164. <https://doi.org/10.1074/jbc.M117.791715>
- Tremblay, M. W., & Jiang, Y. (2019). DNA Methylation and Susceptibility to Autism Spectrum Disorder. *Annual Review of Medicine*, 70(1), 151–166. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-120417-091431>
- Trujillo-Villarreal, L. A., Romero-Díaz, V. J., Marino-Martínez, I. A., Fuentes-Mera, L., Ponce-Camacho, M. A., Devenyi, G. A., Mallar Chakravarty, M., Camacho-Morales, A., & Garza-Villarreal, E. E. (2021). Maternal cafeteria diet exposure primes depression-like behavior in the offspring evoking lower brain volume related to changes in synaptic terminals and gliosis. *Translational Psychiatry*, 11(1), 53. <https://doi.org/10.1038/s41398-020-01157-x>
- Tsai, T.-C., Yu, T.-H., Hung, Y.-C., Fong, L.-I., & Hsu, K.-S. (2022a). Distinct Contribution of Granular and Agranular Subdivisions of the Retrosplenial Cortex to Remote Contextual Fear Memory Retrieval. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 42(5), 877–893. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1303-21.2021>
- Tsai, T.-C., Yu, T.-H., Hung, Y.-C., Fong, L.-I., & Hsu, K.-S. (2022b). Distinct Contribution of Granular and Agranular Subdivisions of the Retrosplenial Cortex to Remote Contextual Fear Memory Retrieval. *The Journal of Neuroscience*, 42(5), 877–893. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1303-21.2021>

- Uchida, Y., Nishitai, G., Kikuchi, K., Shibuya, T., Asano, K., & Tanaka, M. (2020). CD204-positive monocytes and macrophages ameliorate septic shock by suppressing proinflammatory cytokine production in mice. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 23, 100791. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2020.100791>
- Vaccarino, F. J., & Franklin, K. B. J. (1982). Dopamine mediates ipsi- and contraversive circling elicited from the substantia nigra. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 17(3), 431–434. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(82\)90300-8](https://doi.org/10.1016/0091-3057(82)90300-8)
- Valchev, N., Gazzola, V., Avenanti, A., Keysers, C., Campus, C., & Scientifico, C. (2016). *Primary somatosensory contribution to action observation brain activity — combining fMRI and cTBS. January*, 1205–1217. <https://doi.org/10.1093/scan/nsw029>
- Vernia, S., Cavanagh-Kyros, J., Barrett, T., Jung, D. Y., Kim, J. K., & Davis, R. J. (2013a). Diet-induced obesity mediated by the JNK/DIO2 signal transduction pathway. *Genes & Development*, 27(21), 2345–2355. <https://doi.org/10.1101/gad.223800.113>
- Vernia, S., Cavanagh-Kyros, J., Barrett, T., Jung, D. Y., Kim, J. K., & Davis, R. J. (2013b). Diet-induced obesity mediated by the JNK/DIO2 signal transduction pathway. *Genes & Development*, 27(21), 2345–2355. <https://doi.org/10.1101/gad.223800.113>
- Vidal-Itriago, A., Radford, R. A. W., Aramideh, J. A., Maurel, C., Scherer, N. M., Don, E. K., Lee, A., Chung, R. S., Graeber, M. B., & Morsch, M. (2022). Microglia morphophysiological diversity and its implications for the CNS. *Frontiers in Immunology*, 13, 997786. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.997786>
- Vissers, M. E., Cohen, M. X., & Geurts, H. M. (2012). Neuroscience and Biobehavioral Reviews Brain connectivity and high functioning autism : A promising path of research that needs refined models , methodological convergence , and stronger behavioral links. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 36(1), 604–625. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2011.09.003>
- Wahlsten, D., Metten, P., & Crabbe, J. C. (2003). Survey of 21 inbred mouse strains in two laboratories reveals that BTBR T/+ tf/tf has severely reduced hippocampal commissure and absent corpus callosum. *Brain Research*, 971(1), 47–54. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(03\)02354-0](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(03)02354-0)
- Wajant, H., & Scheurich, P. (2011). TNFR1-induced activation of the classical NF-??B pathway. *FEBS Journal*, 278(6), 862–876. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2011.08015.x>

- Wang, F., Zhang, S., Vuckovic, I., Jeon, R., Lerman, A., Folmes, C. D., Dzeja, P. P., Herrmann, J., Clinic, M., Core, C. M., Clinic, M., & Clinic, M. (2019). *Glycolytic Stimulation is not a Requirement for M2 Macrophage Differentiation*. 28(3), 463–475. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.08.012>. Glycolytic
- Wang, J., He, W., & Zhang, J. (2023). A richer and more diverse future for microglia phenotypes. *Heliyon*, 9(4), e14713. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14713>
- Wang, X., Song, Y., Chen, J., Zhang, S., Le, Y., Xie, Z., Ouyang, W., & Tong, J. (2020). Subcutaneous administration of β -hydroxybutyrate improves learning and memory of sepsis surviving mice. *Neurotherapeutics: The Journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, 17(2), 616–626. <https://doi.org/10.1007/s13311-019-00806-4>
- Wang, Z., Li, T., Du, M., Zhang, L., Xu, L., Song, H., & Zhang, J. (2023). β -hydroxybutyrate improves cognitive impairment caused by chronic cerebral hypoperfusion via amelioration of neuroinflammation and blood-brain barrier damage. *Brain Research Bulletin*, 193, 117–130. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2022.12.011>
- Welton, S., Minty, R., O'Driscoll, T., Willms, H., Poirier, D., Madden, S., & Kelly, L. (2020). Intermittent fasting and weight loss: Systematic review. *Canadian Family Physician Medecin de Famille Canadien*, 66(2), 117–125. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32060194>
- Welton, S., Minty, R., Willms, H., Poirier, D., Madden, S., & Kelly, L. (2020). *Intermittent fasting and weight loss Jeûne intermittent et perte de poids Revue systématique*. 66, 117–125.
- Westeinde, A. Van, Cauvet, É., Toro, R., Kuja-halkola, R., Neufeld, J., Mevel, K., & Bölte, S. (2020). *Sex differences in brain structure: a twin study on restricted and repetitive behaviors in twin pairs with and without autism*. 1–20.
- Westermeier, F., Sáez, P. J., Villalobos-Labra, R., Sobrevia, L., & Farías-Jofré, M. (2014). Programming of fetal insulin resistance in pregnancies with maternal obesity by ER stress and inflammation. *BioMed Research International*, 2014, 917672. <https://doi.org/10.1155/2014/917672>

- White, H., Heffernan, A. J., Worrall, S., Grunsfeld, A., & Thomas, M. (2021). A Systematic Review of Intravenous β -Hydroxybutyrate Use in Humans - A Promising Future Therapy? In *Frontiers in medicine* (Vol. 8, p. 740374). <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.740374>
- Wu, W.-L., Adame, M. D., Liou, C.-W., Barlow, J. T., Lai, T.-T., Sharon, G., Schretter, C. E., Needham, B. D., Wang, M. I., Tang, W., Ousey, J., Lin, Y.-Y., Yao, T.-H., Abdel-Haq, R., Beadle, K., Gradinaru, V., Ismagilov, R. F., & Mazmanian, S. K. (2021). Microbiota regulate social behaviour via stress response neurons in the brain. *Nature*, 595(7867), 409–414. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03669-y>
- Xie, L., Liu, Y., Zhang, N., Li, C., Sandhu, A. F., Williams, G. 3rd, Shen, Y., Li, H., Wu, Q., & Yu, S. (2021). Electroacupuncture Improves M2 Microglia Polarization and Glia Anti-inflammation of Hippocampus in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Neuroscience*, 15, 689629. <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.689629>
- Xu, N., Li, X., & Zhong, Y. (2015). *Inflammatory Cytokines : Potential Biomarkers of Immunologic Dysfunction in Autism Spectrum Disorders*. 2015.
- Xudong, X., Qing, Z., Jianqi, T., & Zhenfeng, R. (2011). D- β -hydroxybutyrate inhibits microglial activation in a cell activation model in vitro. *Journal of Medical Colleges of PLA*, 26(3), 117–127. [https://doi.org/10.1016/S1000-1948\(11\)60042-7](https://doi.org/10.1016/S1000-1948(11)60042-7)
- Yahfoufi, N., Alsadi, N., Jambi, M., & Matar, C. (2018). *The Immunomodulatory and Anti-Inflammatory Role*. 1–23. <https://doi.org/10.3390/nu10111618>
- Yang, J., Kang, Y., Cheng, Y., Zeng, L., & Yan, H. (n.d.). *Maternal Dietary Patterns during Pregnancy and Congenital Heart Defects : A Case-Control Study*.
- Yang, K., Shi, Y., Du, X., Wang, J., Zhang, Y., Shan, S., Yuan, Y., Wang, R., Zhou, C., Liu, Y., Cai, Z., Wang, Y., Fan, L., Xu, H., Yu, J., Cheng, J., Li, F., & Qiu, Z. (2021). SENP1 in the retrosplenial agranular cortex regulates core autistic-like symptoms in mice. *Cell Reports*, 37(5), 109939. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109939>
- Ye, C., Brand, D., & Zheng, S. G. (2018). *Targeting IL-2 : an unexpected effect in treating immunological diseases*. April 2017, 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41392-017-0002-5>
- Zahedi, H., Kelishadi, R., Heshmat, R., Motlagh, M. E., Ranjbar, S. H., Ardalan, G., Payab, M., Chinian, M., Asayesh, H., Larijani, B., & Qorbani, M. (2014). Association of Junk Food Consumption with Mental Health in a National Sample of Iranian Children and

- Zaslavsky, K., Zhang, W., Mccready, F. P., Rodrigues, D. C., Deneault, E., Loo, C., Zhao, M., Ross, P. J., Hajjar, J. El, Romm, A., Thompson, T., Piekna, A., Wei, W., Wang, Z., Khattak, S., Mufteev, M., Pasceri, P., Scherer, S. W., Salter, M. W., & Ellis, J. (2019). SHANK2 mutations associated with autism spectrum disorder cause hyperconnectivity of human neurons. *Nature Neuroscience*, 22(April). <https://doi.org/10.1038/s41593-019-0365-8>
- Zeidan, J., Fombonne, E., Scora, J., Ibrahim, A., Durkin, M. S., Saxena, S., Yusuf, A., Shih, A., & Elsabbagh, M. (2022). Global prevalence of autism: A systematic review update. *Autism Research*, 15(5), 778–790. <https://doi.org/10.1002/aur.2696>
- Zhang, C., Raveney, B., Takahashi, F., Yeh, T., Hohjoh, H., Yamamura, T., & Oki, S. (2023). Pathogenic Microglia Orchestrate Neurotoxic Properties of Eomes-Expressing Helper T Cells. *Cells*, 12(6), 868. <https://doi.org/10.3390/cells12060868>
- Zhang, L., Huang, C., Dai, Y., Luo, Q., Ji, Y., Wang, K., Deng, S., Yu, J., Xu, M., Du, X., Tang, Y., Shen, C., Feng, J., Sahakian, B. J., & Lin, C. (2020). Symptom improvement in children with autism spectrum disorder following bumetanide administration is associated with decreased GABA / glutamate ratios. *Translational Psychiatry*. <https://doi.org/10.1038/s41398-020-0692-2>
- Zhang, W., Groen, W., Mennes, M., Greven, C., Buitelaar, J., & Rommelse, N. (2018). Revisiting subcortical brain volume correlates of autism in the ABIDE dataset: effects of age and sex. *Psychological Medicine*, 48(4), 654–668. <https://doi.org/10.1017/S003329171700201X>
- Zhang, Y., Li, N., Li, C., Zhang, Z., Teng, H., Wang, Y., Zhao, T., Shi, L., Zhang, K., Xia, K., Li, J., & Sun, Z. (2020). Genetic evidence of gender difference in autism spectrum disorder supports the female-protective effect. *Translational Psychiatry*, 10(1), 4. <https://doi.org/10.1038/s41398-020-0699-8>
- Zhang, Y., Liu, K., Li, Y., Ma, Y., Wang, Y., Fan, Z., Li, Y., & Qi, J. (2023a). D-beta-hydroxybutyrate protects against microglial activation in lipopolysaccharide-treated mice and BV-2 cells. *Metabolic Brain Disease*, 38(3), 1115–1126. <https://doi.org/10.1007/s11011-022-01146-7>

- Zhang, Y., Liu, K., Li, Y., Ma, Y., Wang, Y., Fan, Z., Li, Y., & Qi, J. (2023b). D-beta-hydroxybutyrate protects against microglial activation in lipopolysaccharide-treated mice and BV-2 cells. *Metabolic Brain Disease*, 38(3), 1115–1126. <https://doi.org/10.1007/s11011-022-01146-7>
- Zhao, H., Wang, Q., Yan, T., Zhang, Y., Xu, H., Yu, H., Jiang, Y., Li, X., Zhou, H., & Zhang, Y. Q. (2019). Maternal valproic acid exposure leads to neurogenesis defects and autism-like behaviors in non-human primates. *Translational Psychiatry*, 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41398-019-0608-1>
- Zhao, X., Mohammed, R., Tran, H., Erickson, M., & Kentner, A. C. (2021). Poly (I:C)-induced maternal immune activation modifies ventral hippocampal regulation of stress reactivity: prevention by environmental enrichment. *Brain, Behavior, and Immunity*, 95, 203–215. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2021.03.018>
- Zhu, X., & Zhu, J. (2020). CD4 T Helper Cell Subsets and Related Human Immunological Disorders. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(21), 8011. <https://doi.org/10.3390/ijms21218011>
- Zilles, K. (2018). Brodmann: a pioneer of human brain mapping—his impact on concepts of cortical organization. *Brain*, 141(11), 3262–3278. <https://doi.org/10.1093/brain/awy273>
- Zubair, K., You, C., Kwon, G., & Kang, K. (2021). Two Faces of Macrophages: Training and Tolerance. *Biomedicines*, 9(11), 1596. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9111596>