



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
METROPOLITANA
UNIDAD – IZTAPALAPA
CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
POSGRADO
Maestría en Biología experimental**



**Papel de las especies reactivas de oxígeno
producidas por NADPH-Oxidasa en el proceso
neuroinflamatorio inducido por daño excitotóxico**

Para obtener el grado de:

Maestra en Biología Experimental

PRESENTA

Q.F.B Grecia Sánchez Evangelista

Comité tutorial:

Director: Dr. Julio Morán Andrade

Co-directora: Dra. Beatriz Gómez González

Asesora: Dra. Mina Konigsberg Fainstein

Noviembre /2021

Carta de confidencialidad

Ciudad de México, a 3 de Noviembre de 2021

Comisión Académica del Posgrado

Presente

La que suscribe Grecia Sánchez Evangelista alumna con número de Matrícula 2192802254, de la maestría en Biología Experimental de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAM-I), manifiesto mi compromiso de mantener de forma confidencial y de no utilizar, divulgar o difundir por ningún medio, en beneficio propio o de terceros, la información, la documentación y datos de toda índole a los que tenga acceso y reciba con motivo del proyecto de investigación: "Papel de las especies reactivas de oxígeno producidas por NADPH-Oxidasa en el proceso neuroinflamatorio inducido por daño excitotóxico" a desarrollar en la Universidad Autónoma Metropolitana y en el Instituto de fisiología Celular, lo anterior en términos del artículo 6, fracción V, de los Lineamientos para el Acceso a la Información de la Universidad Autónoma Metropolitana. Esta obligación subsistirá incluso después de haber obtenido el grado.

Así mismo reconozco que toda información o dato obtenido dentro del proyecto que desarrolle pertenece a la Universidad Autónoma Metropolitana.

En caso de que contravenga este compromiso, la Universidad se reserva el derecho de ejercer las acciones civiles y penales que procedan y en consecuencia, asumo cualquier responsabilidad por el manejo indebido o sin la previa autorización expresa de la UAM-I de la referida información o resultados, así como por los eventuales perjuicios que pudiese ocasionarse a esta Casa de Estudios.



Grecia Sánchez Evangelista

Declaración de originalidad

La que suscribe Grecia Sánchez Evangelista, alumna del posgrado Biología Experimental, de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, de la Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa y autora de la tesis o idónea comunicación de resultados titulada: “Papel de las especies reactivas de oxígeno producidas por NADPH-Oxidasa en el proceso neuroinflamatorio inducido por daño excitotóxico”, Declaro que:

1. La tesis o idónea comunicación de resultados que presento ante “el H. Jurado” para lo obtención del grado de Maestra en Biología Experimental es de mi autoría y original creación, producto del resultado de mi trabajo de investigación personal e individual; el cual cuenta con las correspondientes citas textuales del material bibliográfico utilizado y con el debido otorgamiento de los créditos autorales.
2. En la tesis o idónea comunicación de resultados no he reproducido párrafos completos; ilustraciones, fotografías, diagramas, cuadros y tablas, sin otorgamiento del crédito autoraly fuente correspondiente.
3. En consecuencia, relevo de toda responsabilidad a la Universidad Autónoma Metropolitana de cualquier demanda o reclamación que llegara a formular alguna persona física o moral que se considere con derecho sobre la tesis o idónea comunicación de resultados, respondiendo por la autoría y originalidad de la misma, asumiendo todas las consecuencias económicas y jurídicas si ésta no fuese de mi creación.

La presente declaración de originalidad se firma en la Ciudad de México el 3 de noviembre de 2021.

Atentamente



Grecia Sánchez Evangelista

El presente trabajo fue realizado bajo la tutoría del Dr. Julio Morán del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM, la Dra. Beatriz Gómez y la Dra. Mina Konigsberg de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa.

El Programa de Maestría en Biología Experimental de la Universidad Autónoma Metropolitana pertenece al Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del CONACYT, registro 001481, en el Nivel Consolidado, y cuenta con apoyo del mismo Consejo, clave DAFCYT-2003IMPTNNN0020.

Número de registro de la beca otorgada por CONACYT: 757153

MIEMBROS DEL JURADO

1. Dra. Mina Königsberg Fainstein

Departamento: Ciencias de la Salud, DCBS, UAM-I

2. Dra. Gabriela Hurtado Alvarado

Instituto de investigaciones Biomédicas, UNAM

3. Dra. Adriana Alarcón Aguilar

Departamento: Ciencias de la Salud DCBS, UAM-I

4. Dr. Diego Rolando Hernández Espinosa

Departamento de Neurobiología, Universidad de Pittsburgh

El jurado designado por la Comisión Académica del Posgrado en Biología Experimental de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana aprobó la Tesis titulada: “Papel de las especies reactivas de oxígeno producidas por NADPH-Oxidasa en el proceso neuroinflamatorio inducido por daño excitotóxico”

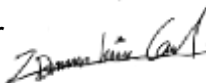
Presidente: Dra. Mina Königsberg Fainstein



Secretaria: Dra. Gabriela Hurtado Alvarado



Vocal1: Dra. Adriana Alarcón Aguilar



Vocal2: Dr. Diego Rolando Hernández Espinosa



Vo. Bo del Comité tutorial

Director: Dr. Julio Morán Andrade

Adscripción: Investigador Titular C , Laboratorio de Neuropatología Molecular, Instituto de Fisiología Celular, UNAM



Correo electrónico: jmoran@ifc.unam.mx

Co-directora: Dra. Beatriz Gómez González

Adscripción: Profesor-Investigador Titular C, Departamento de Biología de la Reproducción, DCBS, UAM-I



Correo Electrónico: bgomez@izt.uam.mx

Asesora: Dra. Mina Konigsberg Fainstein

Adscripción: Profesor-Investigador titular C, Departamento: Ciencias de la Salud, DCBS, UAM-I



Correo Electrónico: mkf@xanum.uam.mx

Abreviaturas

ADN: Ácido desoxirribonucleico
AMPA: Ácido α -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico
DAMP: Patrones moleculares asociados a daño
DUOX: Oxidasas duales
FAD: Flavín adenín dinucleótido
FADD: Proteína Fas asociada a dominio de muerte
GluR: receptores de glutamato
iGluR: Receptores ionotrópicos de glutamato
IL-1 β : Interleucina 1 beta
IL-18: Interleucina 18
MOMP: Permeabilidad de la membrana externa mitocondrial
NADPH: Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NK: Natural killer
NLR: Receptores ricos en repeticiones de leucina tipo
NMDA: N-metil-D-aspartato
NOD NLRP3: Receptor tipo NRL similar a proteína 3
NOX: NADPH oxidasa
NOX2: NADPH oxidasa 2
O₂^{-•}: Anión superóxido
PAMP: Patrones moleculares asociados a patógenos
PKC: Proteína cinasa C
ROS: Especies reactivas de oxígeno
SNC: Sistema nervioso central
TAK1: Transforming growth factor β (TGF- β) activated kinase 1
TLR: Receptor tipo Toll

Resumen

La excitotoxicidad es un fenómeno que ocurre en respuesta a la sobre activación de receptores glutamatérgicos. Este fenómeno se ha descrito en enfermedades neurodegenerativas y en afectaciones agudas como las lesiones cerebrales traumáticas y los accidentes cerebrovasculares. La señalización glutamatérgica durante la excitotoxicidad promueve la pérdida de la homeostasis del Ca^{2+} , que cataliza, entre otros eventos, la sobreproducción de especies reactivas del oxígeno (ROS) provenientes de la mitocondria y de complejos enzimáticos como las NADPH oxidasas (NOX). Las NOX constituyen una familia formada por 7 homólogos que se encuentran ampliamente distribuidas en diferentes regiones del sistema nervioso central SNC. Dos de estos homólogos, NOX2 y NOX4, se activan en células gliales en respuesta al daño en el (SNC). Se sabe que la actividad de las NOX en células gliales participa en la excitotoxicidad, contribuyendo al mantenimiento del estrés oxidante por un largo periodo de tiempo como en el caso de las enfermedades neurodegenerativas. Recientemente se ha descrito que las células gliales expresan receptores glutamatérgicos ionotrópicos y metabotrópicos que pueden participar en la excitotoxicidad. Por otra parte, también se sabe que la actividad de las NOX son piezas fundamentales de la la neuroinflamación. Poco se sabe acerca de la respuesta inflamatoria mediada por la activación de receptores glutamatérgicos gliales, por lo que el presente trabajo se centra en describir el papel de la microglia y la astrogliia en la excitotoxicidad, así como la contribución de los receptores glutamatérgicos gliales en el desarrollo de la neuroinflamación inducida por daño excitotóxico.

Abstract

Excitotoxicity occurs in response to the overactivation of glutamate receptors. Excitotoxicity is involved in neurodegenerative diseases and in acute brain diseases, such as brain injury and stroke. Glutamatergic signaling during excitotoxicity initiates with the loss of Ca^{2+} homeostasis that promotes, among other events, the overproduction of reactive oxygen species (ROS) from mitochondria and some enzyme complexes such as NADPH oxidases (NOX). NOX constitute a family of seven homologues widely distributed in the nervous system. Two of these isoforms, NOX2 and NOX4, are activated in glial cells in response to damage to the CNS, contributing to the inflammatory response. It has been suggested that glial NOX activity participates in excitotoxicity by contributing to the maintenance of oxidative stress in several models of neural damage such as neurodegenerative diseases. Recently, it has been found that glial cells express ionotropic and metabotropic glutamate receptors. The present study focuses on describing the role of glutamate in microglia and astroglia during excitotoxicity, as well as the contribution of glial glutamatergic receptors in the development of neuroinflammation induced by excitotoxicity.

Índice

1. Introducción	11
1.1 Papel de las especies reactivas de oxígeno en la muerte celular	11
1.1.1 NADPH oxidasas	11
1.2 Daño excitotóxico en Sistema Nervioso Central	14
1.3 Papel de la glía en la respuesta inflamatoria	17
1.3.1 Neuroinflamación	19
1.3.2 Inflamasomas	20
1.3.2.1 El inflamasoma NLRP3	20
1.3.2.2 Inflamasoma NLRP3, especies reactivas de oxígeno y NADPH oxidasa	21
1.4 Muerte celular programada inducida por inflamación	23
1.4.1 Piroptosis	23
2. Antecedentes	25
3. Justificación	26
4. Pregunta de investigación	27
5. Hipótesis	27
6. Objetivo General	27
7. Objetivos Particulares	27
8. Discusión	27
9. Conclusión	29
10. Perspectivas	30
11. Referencias Bibliográficas	31
12. Anexos	39

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Papel de las especies reactivas del oxígeno en la muerte celular

Se sabe que las concentraciones elevadas de ROS desencadenan respuestas de estrés que conducen a la detención del ciclo celular, apoptosis y senescencia celular. En condiciones extremas, tanto el ADN, como las proteínas y lípidos pueden sufrir un daño estructural y funcional por acción de las especies reactivas. Actualmente sabemos que el estrés oxidante se asocia a las enfermedades neurodegenerativas, el evento vascular cerebral, la hipertensión arterial sistémica y la aterosclerosis (Magnani *et al.*, 2019; Barua *et al.*, 2019).

En los sistemas biológicos, el estrés oxidante se produce por perturbaciones en el equilibrio de los sistemas antioxidantes y prooxidantes (Sies 2015; Burton *et al.*, 2011). Se han descrito diferentes fuentes de ROS en las células eucariontes. Entre ellas se encuentran las enzimas que producen ROS como productos secundarios, como ocurre con la xantina oxidasa; por otro lado, existen enzimas que sintetizan ROS como producto principal y exclusivo, como en el caso de la familia de las NADPH oxidasas (Ma *et al.*, 2017; Breitenbach *et al.*, 2018). Otras fuentes de ROS incluyen procesos metabólicos que las generan de manera secundaria, como es el caso del metabolismo energético, el cual involucra a la cadena de transporte de electrones en la mitocondria, que es una de las fuentes de ROS más importantes en las células. En el caso de la excitotoxicidad, se han identificado a las NADPH oxidasas y a la mitocondrial como las fuentes principales de ROS.

1.1.1 NADPH oxidasas

Las NOX son complejos enzimáticos cuya subunidad catalítica transfiere electrones del NADPH al oxígeno molecular, produciendo anión superóxido. Dependiendo de la subunidad catalítica y las subunidades reguladoras, se identifican, en mamíferos, siete diferentes complejos homólogos: NOX1, 2, 3, 4 y 5 y las oxidasas duales 1 y 2 (DUOX1, DUOX2) (Buvelot *et al.*, 2019). La estructura de las enzimas NOX conserva

propiedades que son comunes en todos los homólogos enzimáticos. Todas las subunidades catalíticas presentan un dominio COOH-terminal con sitios de unión a NADPH y FAD⁺ y seis hélices- α transmembranales con dos grupos prostéticos hemo (Bedard *et al.*, 2007) (Figura 1). La activación de las NOX, con excepción de NOX-4, está mediada por interacciones proteína-proteína, como es el caso de las NOX-1, 2 y 3 ó por calcio, como ocurre con la NOX-5 y las DOUX 1 y 2 (Brandes *et al.*, 2014).

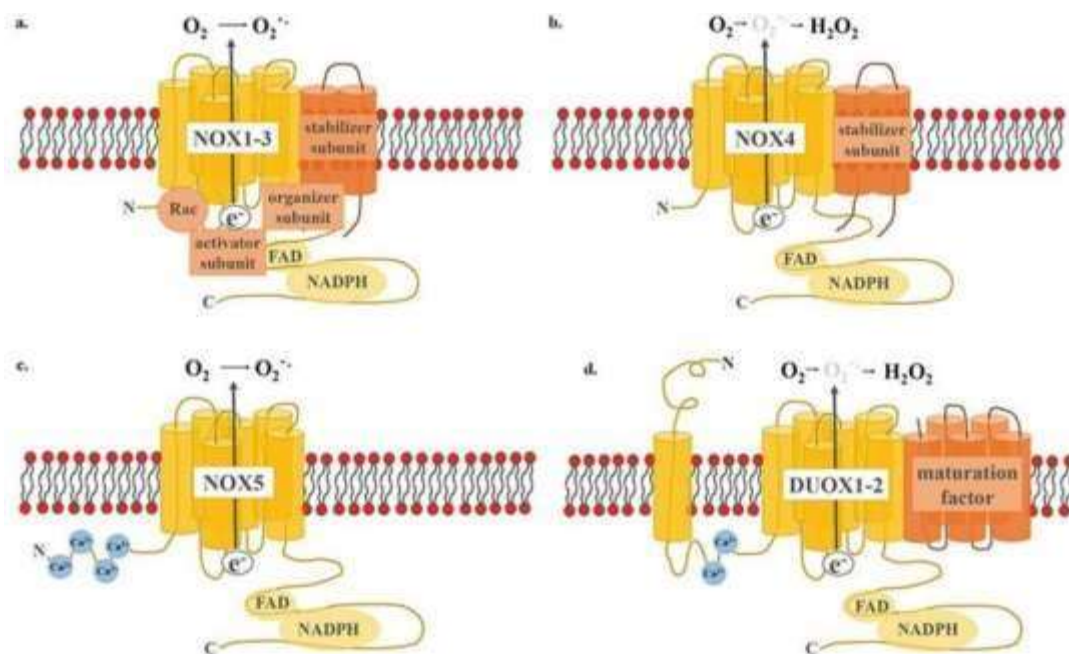


Figura 1. Isoformas de la NADPH oxidasa y subunidades asociadas. La NADPH oxidasa está conformada por la subunidad estabilizadora p22phox, p47phox subunidad organizadora, p67 subunidad activadora, p40 subunidad reguladora y Rac proteína de unión dependiente a GTP. *Activación del complejo dependiente de la interacción proteína-proteína:* (a) NOX 1-3 síntesis superóxido ($O_2^{\bullet-}$), (b) NOX-4 producción de peróxido de hidrógeno por la actividad enzimática de la enzima superóxido dismutasa. *Activación dependiente de calcio:* (c) La NOX-5 cataliza la formación de $O_2^{\bullet-}$ mientras que las DUOX 1-2 (d) sintetizan peróxido de hidrógeno por la dismutación del superóxido (Buvelot *et al.*, 2019)

Las NOX pueden producir superóxido (NOX1-3 y 5) o peróxido de hidrógeno (NOX4,

DUOX 1-2). Los siete miembros de la familia comparten un centro catalítico formado por distintos dominios: la deshidrogenasa, los dominios transmembranales que captan sustratos y los grupos prostéticos donde se realiza la transferencia de electrones. La transferencia se lleva a cabo secuencialmente desde el NADPH citosólico al FAD⁺, que se encuentra en el dominio deshidrogenasa unido covalentemente y que está regulado por el dominio de activación de p67phox, posteriormente al grupo hemo interno y externo en el dominio transmembrana, finalmente al O₂ extracelular produciendo superóxido o peróxido de hidrógeno, respectivamente (Bedard *et al.*, 2007; Magnani *et al.*, 2019). (Figura 1).

De entre los siete homólogos, se sabe que la NOX2 tiene un papel crucial en la muerte celular. La NOX2 (también conocida como gp91phox) se describió por primera vez en neutrófilos y macrófagos, sin embargo, se encuentra presente en prácticamente todas las células, incluyendo cardiomiocitos (Matsuno *et al.*, 2012), hepatocitos (Eun *et al.*, 2017), células del músculo liso (Briones *et al.*, 2011), y neuronas (Cooney *et al.*, 2013). La caracterización de su activación y estructura ha servido como referencia en el estudio de los otros tipos de NOX (Bedard *et al.*, 2007).

La activación de NOX-2 depende de la translocación de las subunidades reguladoras multidominio PHOX en el citosol (p47phox, p67phox, p40phox) así como de proteínas de unión a nucleótidos de guanina de bajo peso molecular (Rho GTPasa, Rac1 o Rac2). De ellas, la p47phox se fosforila permitiendo la asociación al heterómero p22phox/gp91phox (NOX-2) anclado a la membrana, formando la oxidasa activa, seguido de la reducción del oxígeno a anión superóxido (Gao *et al.*, 2012; Panday *et al.*, 2015) (Figura 1).

La activación de la NOX-2 no solo forma parte fundamental de la respuesta inflamatoria mediada por la microglia (Barua *et al.*, 2019). Además, se sabe que tiene otros papeles en el sistema nervioso ya que participa en procesos relacionados con la maduración neuronal y también se relaciona con la muerte celular. El estrés oxidante asociado al

aumento en la actividad de las NOX se ha visto implicado en diferentes patologías, tales como la enfermedad de Alzheimer (Ganguly *et al.*, 2021), la esclerosis múltiple (Hu *et al.*, 2021) y el accidente cerebro vascular (Carbone *et al.*, 2015).

El sistema nervioso requiere condiciones oxidativas para la diferenciación celular, se sabe que las ROS actúan sobre el factor de crecimiento nervioso (NGF). Se ha identificado la función de la NOX2 y de las ROS como moduladores durante el desarrollo del cerebelo. Mientras que la NOX2 presenta expresión constante a diferentes días postnatales, la generación de ROS es diferencial en distintas edades y regiones en las capas del cerebelo (Coyoy *et al.*, 2013). Las ROS desempeñan un papel importante en el desarrollo de las neuronas granulares de cerebelo ya que modulan la morfogénesis axonal, probablemente mediado por la NOX2 que se localiza principalmente en filopodios y conos de crecimiento (Olguín *et al.*, 2015).

Por otro lado, las NOX juegan un papel crucial en el desarrollo y progresión de los trastornos del SNC, por lo cual la inhibición catalítica de estas enzimas podría resultar en una estrategia terapéutica para el tratamiento de diversas patologías. Existen diferentes compuestos que inhiben la actividad de las NOX mediante distintos mecanismos de acción, por ejemplo, el difenileniodonio (DPI) y la apocinina bloquean el acoplamiento de p47phox al complejo funcional de NOX. Otros compuestos, como el AEBSF, impiden el acoplamiento de los componentes citosólicos p47phox y p67phox a la membrana. Existen compuestos más selectivos como el péptido Gp91ds-tat que inhibe a la NOX-2 al unirse a p47phox e impide la formación del complejo enzimático. Finalmente, otro compuesto selectivo es el Vas 2870, el cual inhibe la translocación de p47phox a la membrana (Barua *et al.*, 2019; Kim *et al.*, 2017; Brandes *et al.*, 2014; Dedard *et al.*, 2007).

1.2 Daño excitotóxico en sistema nervioso central

El glutamato es el neurotransmisor excitador más abundante del SNC de los vertebrados (Dong *et al.*, 2009). Bajo condiciones fisiológicas, el glutamato interviene

en diversos procesos como la migración y la regulación de la supervivencia celular durante el desarrollo del cerebro (Cheung *et al.*, 1998).

La actividad sináptica mediada por el glutamato ocurre a través de receptores selectivos (GluR) que pueden funcionar como canales iónicos (receptores ionotrópicos, iGluR) o estar acoplados a proteínas G (receptores metabotrópicos, mGluR). Existen diferentes subtipos de receptores ionotrópicos que se distinguen por su preferencia a los agonistas NMDA, kainato y AMPA (Hansen *et al.*, 2017). También se han identificado tres grupos de receptores metabotrópicos (Crupi *et al.*, 2019).

El término excitotoxicidad fue usado originalmente por Olney en 1986 para definir la capacidad que tiene el glutamato y otros compuestos relacionados, para inducir muerte neuronal (Olney, 1986). Previamente se había reportado que altas dosis de glutamato producían cambios patológicos en los cerebros de roedores y primates (Olney, 1969; Olney, *et al.*, 1972). Posteriormente se encontró que la exposición incrementada a glutamato resultaba ser letal para las neuronas tanto *in vivo* como *in vitro* (Coyle *et al.*, 1981; McGeer and McGeer, 1982). Ahora se sabe que el daño excitotóxico se asocia a enfermedades neurodegenerativas, isquemia cerebral, lesiones cerebrales traumáticas, hipoglucemia y estado epiléptico, entre otros.

Varios estudios han demostrado que la inhibición del receptor NMDA reduce marcadamente el daño excitotóxico asociado a una reducción en los niveles de calcio intracelular y a la generación de ROS (Yang *et al.*, 2018).

La sobre estimulación de los receptores sinápticos por la exposición prolongada al glutamato o al NMDA induce una serie de eventos que incluye un influjo de iones sodio, potasio y calcio extracelular, así como edema celular y una disfunción mitocondrial (Armada *et al.*, 2020). Durante este proceso, previo a la muerte neuronal, ocurre una pérdida de las estructuras post-sinápticas (Pregnotato *et al.*, 2019). Cheung y colaboradores (1988) primero demostraron que el aumento en las concentraciones extracelulares de glutamato en cultivos primarios de neuronas corticales provocaba la muerte por necrosis y apoptosis. Más adelante se encontró que otros tipos de muerte pueden presentarse dependiendo del contexto y las condiciones fisiopatológicas.

Uno de los procesos más críticos en la muerte neuronal por excitotoxicidad, es el aumento de la concentración de calcio citosólico (Krasil'nikova, *et al.*, 2019) mediado principalmente por los receptores AMPA y NMDA, así como los receptores metabotrópicos que estimulan la liberación de calcio proveniente del retículo endoplásmico. La mitocondria juega un papel esencial en la regulación de calcio a través del uniportador de calcio mitocondrial (Armada *et al.*, 2020). Bajo condiciones excitotóxicas, la desregulación del calcio conduce a la despolarización de la membrana mitocondrial alterando la producción de ATP y generando una producción alta de ROS, lo que deja a las neuronas en un estado oxidante con baja energía (Figura 2) (Mattson, 2004; Christensen *et al.*, 2019).

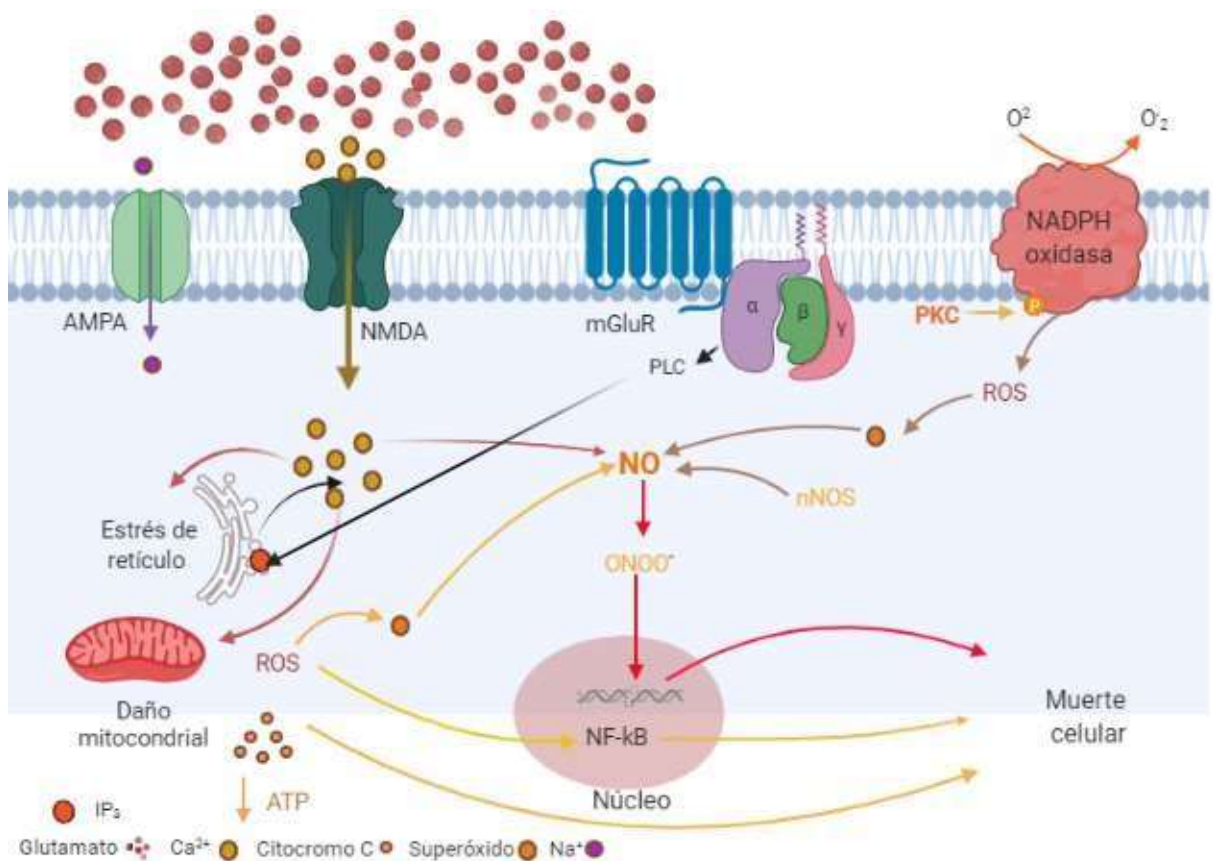


Figura 2. Mecanismos responsables del daño excitotóxico. La sobreactivación de los

receptores de glutamato conduce a la desregulación homeostática del calcio, al incremento en la producción de ROS (provenientes de la mitocondria o de la NADPH oxidasa) y de óxido nítrico. También ocurre un estrés de retículo y una disfunción mitocondrial. Todo esto culmina con la muerte celular.

Se sabe que un incremento de calcio y un incremento de ROS favorecen la permeabilidad del poro de transición de la membrana mitocondrial, lo que conlleva a una falla energética y esto a su vez promueve aún más la producción de ROS, generándose un círculo vicioso; lo que finalmente lleva a la liberación de factores proapoptóticos que inician el proceso de muerte (Dong *et al.*, 2009).

Por otra parte, las neuronas también producen óxido nítrico en respuesta a la activación de GluR, el cual puede reaccionar con el anión superóxido produciendo peroxinitrito. El peroxinitrito es una especie reactiva, que daña las membranas e induce a la activación de enzimas involucradas en el catabolismo de biomoléculas y la inhibición de la síntesis de proteínas por lo que el dalo que produce peroxinitrito depende de la intensidad y duración de la condición excitotóxica (Mattson, 2004; Brown 2010).

Recientemente se demostró que las NOX se activan durante el proceso excitotóxico y que juegan un papel crítico en la muerte neuronal inducida por distintas condiciones, incluida la activación de los receptores glutamatérgicos (Brennan *et al.*, 2009; Girouard *et al.*, 2009; Guemez *et al.*, 2011; Hernández-Espinosa *et al.*, 2019). Los mecanismos particulares de las NOX involucrados en el proceso se desconocen a detalle. Se sabe que distintas condiciones de muerte las NOX se activan por lo que la eliminación genética o inhibición farmacológica reducen marcadamente la muerte neuronal, incluida la inducida por excitotoxicidad (Coyoy *et al.*, 2008; Hernández-Enríquez *et al.*, 2011).

1.3. Papel de la glía en la respuesta inflamatoria

La respuesta inmune innata en el SNC está regulada principalmente por la microglía, que son los macrófagos residentes de cerebro (Rojo *et al.*, 2014). La microglía en

reposeo presenta una morfología ramificada que se encuentra constantemente sensando el ambiente. Las células de la microglía están involucradas en el desarrollo y supervivencia neuronal (Subhramanyam *et al.*, 2019) y son capaces de activarse en respuesta a condiciones adversas como infecciones y lesiones tisulares locales (Voet *et al.*, 2018). La activación de la microglía desencadena la liberación de mediadores inflamatorios por la polarización hacia el fenotipo proinflamatorio. Adicionalmente, la activación promueve la liberación de aminoácidos excitadores como el ácido glutámico, aspártico y quinolínico (Strunecka *et al.*, 2018).

Bajo condiciones inflamatorias, la microglía expresa dos fenotipos ampliamente conocidos, M1 (proinflamatorio) y M2 (antiinflamatorio) (Orihuela *et al.*, 2016). La expresión de estos fenotipos y la inflamación *per se* tienen la finalidad de proteger al parénquima cerebral frente al daño cerebral. La activación de la microglía en enfermedades neurodegenerativas presenta un fenotipo conocido como microglía asociada a la enfermedad (DAM, por sus siglas en inglés), el cual se diferencia de la microglía activa en la inflamación por otras causas. La activación de DAM puede ser protectora y conformar la respuesta inicial (Voet *et al.*, 2018); sin embargo, esta respuesta inflamatoria puede contribuir a agravar esas enfermedades por su cronicidad y recurrencia a largo plazo (Sousa *et al.*, 2018).

Los astrocitos son un tipo de células gliales que desempeñan diversas funciones en el SNC. Entre éstas, destaca la capacidad de responder ante estímulos de daño por la activación de receptores de reconocimiento a patrones (PPR) que desencadenan parte de la respuesta inflamatoria. Esto lleva a una condición conocida como astrogliosis, cuya señalización puede exacerbar la inflamación, liberar mediadores inflamatorios y/o promover la respuesta antiinflamatoria (Sofroniew *et al.*, 2015).

Al igual que la microglía, los astrocitos expresan diferentes fenotipos en respuesta al daño celular. El fenotipo A1 tiene capacidad neurotóxica y el A2 ejerce una respuesta neuroprotectora (Giovannoni *et al.*, 2020). Las vías de señalización reguladas por la activación de los astrocitos frente a estímulos inflamatorios en distintas patologías convergen en reguladores transcripcionales, como el NFκB (Linnerbauer *et al.*, 2020).

1.3.1 Neuroinflamación

Se sabe que el SNC dañado desarrolla un proceso inflamatorio como parte de la respuesta inmune innata, la cual tiene como fin limitar el daño y recuperar la homeostasis (Dantzer *et al.*, 2003) para promover la regeneración del tejido neural (Yang *et al.*, 2019). La neuroinflamación se presenta en la mayoría de las patologías del SNC, actuando como efector en respuesta a la neurodegeneración.

Después de una lesión traumática, los marcadores inflamatorios aumentan en el parénquima cerebral, proceso que es seguido de una cascada inmunológica que puede tener efectos dañinos o de reparación. Inmediatamente después del daño los dos principales tipos celulares en activarse son la microglía y los astrocitos (Goshi *et al.*, 2020). La detección de marcadores inflamatorios ha servido como estrategia en el diagnóstico y eficacia terapéutica (Gilhus *et al.*, 2019).

Recientemente, se ha reportado que las neuronas también son capaces de sintetizar citocinas, factores neurotróficos y proteasas asociadas a la respuesta inflamatoria. Parte de esas respuestas parece estar regulada por neurotransmisores y por la activación de receptores similares al dominio de oligomerización de unión a nucleótidos (NOD) (Hoffman *et al.*, 2020).

Se sabe que la muerte por excitotoxicidad promueve una respuesta inflamatoria que induce a su vez una muerte secundaria a la muerte neuronal inicial. Por ejemplo, la señalización mediada por IL-1 β induce un proceso de muerte neuronal asociado a la respuesta inflamatoria, posterior a la muerte inicial inducida por glutamato (Song *et al.*, 2017). Un proceso inflamatorio desregulado en el SNC contribuye a la pérdida de la homeostasis del glutamato, potencializando así la excitotoxicidad original, generando un sistema de retroalimentación que lleva a un incremento de la muerte neuronal (Pregolato *et al.*, 2019). Por lo que existe una estrecha relación entre la excitotoxicidad y la neuroinflamación.

La respuesta inmune innata se regula por los PRR, que se expresan en células gliales, macrófagos y oligodendrocitos y que pueden estar acoplados a la membrana (como receptores tipo Toll) o localizados en el citoplasma (como receptores tipo Nod- NLR).

La activación de los receptores NRL conduce al ensamblaje y activación de complejos citosólicos, llamados inflamasomas, que permiten la maduración de citocinas proinflamatorias (Singhal *et al.*, 2014). Dichas citocinas se desplazan a diferentes sitios causando cambios funcionales y estructurales. En la mayoría de las células, las señales extracelulares pueden activar al factor NF- κ B que controla procesos tales como estadios inflamatorios, la apoptosis, la respuesta inmune y la supervivencia celular (Shabab *et al.*, 2016).

1.3.2. Inflamasomas

Entre los elementos del sistema inmune que contribuyen de manera fundamental a la respuesta inflamatoria se encuentran los inflamasomas. Los inflamasomas son complejos multiproteicos con capacidad de desencadenar la respuesta inmune innata al detectar señales de daño. Los inflamasomas presentan receptores de reconocimiento a patrones intracelulares divididos en dos categorías: los receptores ricos en repeticiones de leucina denominados NLR (NLRP1 en neuronas, NLRP2 en astrocitos, NLRP3 en microglía y NLRC4 en microglía y astrocitos), y los miembros de la familia PYHIN (AIM2 y IFI16), capaces de detectar DAMP (Patrones Moleculares Asociados a Daño) y PAMP (Patrones Moleculares Asociados a Patógenos) (Freeman *et al.*, 2017; Lang *et al.*, 2018).

1.3.2.1 El inflamasoma NLRP3

El aumento en la expresión y la activación del inflamasoma NLRP3 en el SNC se relaciona con la detección de agentes patógenos intracelulares o cambios en el microambiente celular. Su activación conduce a la maduración de las citocinas proinflamatorias IL-1 β e IL-18 dependiente de la activación de caspasa-1, la cual se ha asociado recientemente a la muerte celular denominada piroptosis (Song *et al.*, 2017). La activación del inflamasoma ocurre por diferentes agonistas incluidos patógenos, toxinas y señales endógenas. Sin embargo, existe evidencia que sugiere otros mecanismos de activación, los cuales pueden ser regulados tanto a nivel transcripcional como postranscripcional. La señal de cebado resulta en la transcripción

de componentes que desencadenan la activación de NF- κ B, el cual conduce al aumento de la transcripción de pro IL-1 β , ligandos para TLR y de proteínas activadoras de caspasa (Sutterwala, 2014).

Otra vía de activación del inflamasoma NLRP3 es la mediada por PAMPs y DAMPs (Pennisi *et al.*, 2016), así como por cambios en la homeostasis celular, tales como la disminución en las concentraciones intracelulares de potasio, la desestabilización endosomal, la liberación de cathepsina al citosol, la oxidación del ADN mitocondrial, el flujo de Ca²⁺, la activación de receptores sensibles a ATP, la activación de la cinasa TAK1, la desubiquitinación de NLRP3 (Baroja *et al.*, 2014; Yang *et al.*, 2018) y la producción ROS que durante el proceso inflamatorio es producido por las NOX (Figura 3) (Egea *et al.*, 2017).

El ensamblaje del inflamasoma resulta de la oligomerización de sensores que regulan el reclutamiento y activación de la procaspasa 1. Durante el proceso inflamatorio, la IL-1 β se produce en su forma inactiva (proIL-1 β); sin embargo, para su procesamiento requiere la escisión por la caspasa 1 (Zhang *et al.*, 2017), proceso que se observa en la lesión cerebral traumática después de la activación del inflamasoma NLRP3 (Dinarello, 2018). La producción de IL-1 β se ha descrito principalmente en células epiteliales, neutrófilos, monocitos, macrófagos, células B y células NK (Latz *et al.*, 2013).

1.3.2.2. Inflamasoma NLRP3, especies reactivas de oxígeno y NADPH oxidasa

Los inflamasomas, específicamente aquellos con receptores tipo NLRP y AIM-2, regulan la respuesta inmune innata, siendo el inflamasoma NLRP3 el más estudiado (Heneka *et al.*, 2018). Se ha observado una sobreexpresión del inflamasoma NLRP3 tanto en modelos murinos como en muestras *post-mortem* de cerebros humanos después de un evento de traumatismo encefálico; además, el grado de expresión se relaciona con la gravedad de la lesión (Ma *et al.*, 2017).

El aumento de la actividad de NOX se relaciona con la progresión de enfermedades del SNC, tanto agudas como crónicas (Barua *et al.*, 2019). La inhibición de NOX2 favorece la neuroprotección al reducir eventos apoptóticos, daño oxidante y neuroinflamación (Guemez *et al.*, 2009). En modelos de daño excitotóxico en animales deficientes de NOX-2 se observa que la microglía presenta características morfológicas diferentes en comparación con los animales silvestres, lo que demuestra la participación de la NOX en el establecimiento de la respuesta inflamatoria (Guemez *et al.*, 2011).

ROS son uno de los mecanismos que desencadenan la activación y oligomerización del inflamasoma en respuesta a estímulos exógenos y endógenos. Se sabe que la producción de ROS por NOX activa a la caspasa-1 y promueve de esta forma la producción de IL-1 β en la microglía (Zhang *et al.*, 2017; Huang *et al.*, 2018). Se ha propuesto que esta regulación pudiera deberse a que el NLRP3 presenta un enlace disulfuro conservado que une el dominio PYD y el dominio de sitio de unión a nucleótidos, el cual tiene alta sensibilidad a cambios redox (Abais *et al.*, 2015). Otros trabajos proponen que las ROS producidas por la mitocondria son las responsables de la activación del inflamasoma, esto asociado a la disfunción mitocondrial y la subsecuente producción de IL-1 β (Yang *et al.*, 2019).

La expresión de NOX-2 y la síntesis de ROS están implicadas en la activación del fenotipo M1 de la microglía (Nayernia *et al.*, 2014; Huang *et al.*, 2018; Yauger *et al.*, 2019). La activación del inflamasoma NLRP3 en neuronas, se asocia con la muerte celular apoptótica, mediada por ROS provenientes de las NOX (Baroja *et al.*, 2014).

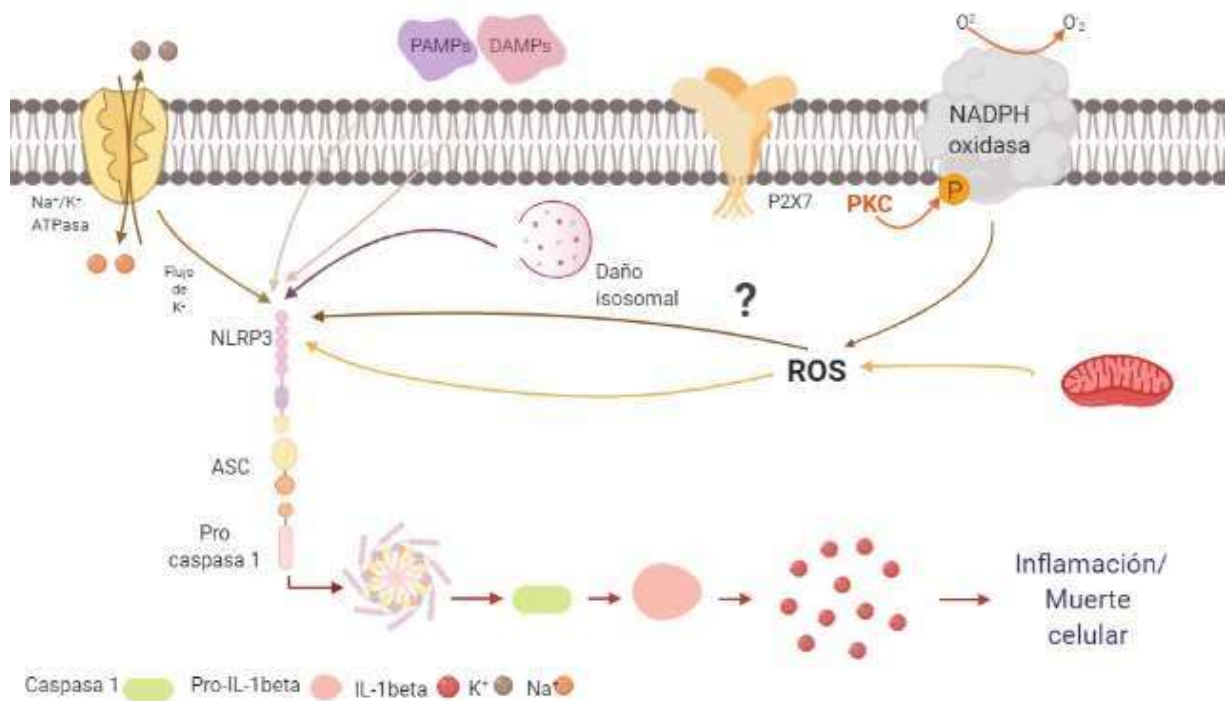


Figura 3. Activación del inflamasoma NLRP3 . La activación del inflamasoma se lleva a cabo por diferentes estímulos: flujo de iones, señales mediadas por receptores para DAMPs y PAMPs, ROS, daño lisosomal, ATP extracelular.

1.4. Muerte celular programada inducida por inflamación

La muerte celular programada (MCP) es un mecanismo celular esencial para mantener la homeostasis. Existen distintos tipos de muerte celular programada que incluyen a la apoptosis, la autofagia, y la piroptosis (Galluzzi *et al.*, 2018). Este último se asocia a los procesos inflamatorios y se caracteriza por la formación de poros y ruptura de membrana, dando como resultado la liberación del contenido intracelular (Lee *et al.*, 2019).

1.4.1. Piroptosis

La piroptosis es un tipo de muerte celular inflamatoria que ha sido relacionada con diversas patologías del SNC, tanto crónicas como agudas. Una de sus principales características es la ruptura de la membrana celular por la formación de poros. En cultivos

celulares de oligodendocitos y microglia, en modelos de esclerosis múltiple (McKenzie *et al.*, 2018), se ha observado la formación de estructuras denominadas aros de fuego que se forman por la translocación de los extremos N-terminales de las gasderminas, las principales proteínas efectoras de la piroptosis (Broz *et al.*, 2019).

Se ha descrito la participación preferencial de la gasdermina D en la piroptosis, cuya activación se realiza por escisión proteolítica mediada por caspasas; por lo que se dice que pueden seguir dos mecanismos: el de la vía canónica, que corresponde a la participación de caspasa 1, y la no canónica, por la participación de la caspasa 11 (Tsuchiya. 2020; Zheng *et al.*, 2020). Las proteasas de la familia de la caspasa 1 que regulan la escisión de la proteína gasdermina-D, así como la maduración de IL-1 β e IL-18 (principales productos del inflammasoma NLRP3), han servido como marcadores para caracterizar este nuevo tipo de muerte celular (Zhang *et al.*, 2019).

La oligomerización de los extremos funcionales de las gasderminas en la superficie membranal forma poros que disipan los gradientes iónicos celulares produciendo un aumento en la presión osmótica, flujo de agua, edema celular y lisis. Esto último lleva a la liberación de elementos intracelulares y mediadores inflamatorios como citocinas proinflamatorias provenientes de la activación del inflammasoma, así como de proteínas solubles como la enzima lactato deshidrogenasa (LDH), proteínas nucleares y nucleótidos como el ATP que actúan sobre receptores purinérgicos relacionados con la activación del inflammasoma NLRP3 en células aledañas (McKenzie *et al.*, 2019; Bergsbaken *et al.*, 2009; Kovacs *et al.*, 2017; Tsuchiya, 2021)

En estudios de microscopía confocal, también se ha identificado la condensación tanto nuclear como de cromatina, daño y fragmentación de ADN así como la despolarización mitocondrial en este tipo de muerte (McKenzie *et al.*, 2020). Sin embargo, a pesar de la importancia que tiene este tipo de muerte, aún falta información para entender por completo los mecanismos moleculares y celulares involucrados y constituye un tema de investigación de interés tanto básico como clínico.

2. ANTECEDENTES

La muerte secundaria al evento escitotóxico está mediada por un aumento intracelular temprano de calcio y de ROS. A pesar de que la mitocondria ha figurado clásicamente como la principal fuente de ROS durante el daño escitotóxico, se ha visto que la inhibición de otras fuentes enzimáticas de ROS aumenta la viabilidad celular en cultivos de neuronas tratados con glutamato (Sabogal *et al.*, 2019). En una investigación realizada por nuestro grupo, se demostró, en un modelo *in vivo*, la participación de NOX2 en la muerte celular secundaria al daño escitotóxico (Gomez *et al.*, 2011). De igual manera, nuestro grupo reportó que la NOX2 participa en la muerte de neuronas granulares del cerebelo inducida por estaurosporina, lo que sugirió que las NOX pueden estar involucradas en otros mecanismos de muerte (Gomez *et al.*, 2009).

Más recientemente encontramos que las NOX no solo son determinantes en la muerte neuronal secundaria al proceso escitotóxico, sino que también están involucradas en la modulación de la regulación de la respuesta inflamatoria secundaria al daño escitotóxico en un modelo *in vivo* (Hernández-Espinosa *et al.*, 2019). Algunas evidencias permiten proponer que en la respuesta inflamatoria, las NOX podrían mediar parcialmente la regulación de la activación del inflamasoma NLRP3 (Ma *et al.*, 2017).

Aunque existe evidencia de la participación del inflamasoma NLRP3 en la determinación de la respuesta inmune innata en el SNC, particularmente en la microglía (Abais *et al.*, 2015), aún se desconoce el mecanismo fino de su regulación en neuronas, incluyendo el papel de las ROS provenientes de las NOX en las propias neuronas y de cómo esto influye en la muerte neuronal.

Si bien la activación de receptores glutamatérgicos neuronales durante la excitotoxicidad ha sido ampliamente comprendida, recientemente se demostró que las células gliales expresan receptores a glutamato cuya activación podría influir en la respuesta inflamatoria (Nasser *et al.*, 2007). Esta respuesta está orquestada

principalmente por la microglía y sugiere su participación durante la excitotoxicidad neuronal.

3. Justificación

Las enfermedades del SNC, tanto agudas (isquemias por hemorragia, traumatismo o infarto cerebral) como crónicas (enfermedades de Alzheimer, Parkinson y esclerosis lateral amiotrófica) representan una de las principales causas de discapacidad y muerte a nivel mundial. El proceso inflamatorio subyacente a estas lesiones tiene como fin la limitación del daño y la remoción de detritos celulares; sin embargo, la desregulación del proceso asociado al daño puede promover una respuesta inflamatoria aguda o crónica que en ocasiones es más dañino que el evento nocivo inicial.

La maduración y liberación de IL-1 β por parte del inflamasoma NLRP3 (Song *et al.*, 2017). es un proceso altamente regulado, En diversos modelos se asocia el aumento de IL-1 β con la muerte neuronal durante la neuroinflamación (Liu *et al.*, 2018; Zhao *et al.*, 2020). Actualmente se desconoce el mecanismo fino por el cual se regula la producción de IL-1 β ; sin embargo, existe evidencia de que las ROS (Abais *et al.*, 2015; Yang *et al.*, 2019) juegan un papel principal en dicho proceso. Las ROS provenientes de las NOX participan en la señalización de diversos procesos celulares, por lo que es necesario determinar el grado de participación de estas enzimas en la regulación de la producción de IL-1 β , tanto en la microglía como las neuronas mismas. Por otro lado, se ha identificado la presencia de receptores glutamatérgicos en la glía, particularmente en la microglía (Zinni *et al.*, 2021; Franco *et al.*, 2020; Liang *et al.*, 2010), y no está claro si los aminoácidos excitadores producidos en la muerte excitotóxica primaria en conjunto con la respuesta inflamatoria temprana, podrían participar de alguna forma en la muerte neuronal secundaria a través de su interacción con los receptores gliales ionotrópicos y metabotrópicos. Tampoco está claro que papel podrían jugar las NOX en este proceso.

4. Pregunta de Investigación

¿Qué efecto ejercen las ROS provenientes de la NOX sobre la activación del inflamasoma NLRP3 en neuronas granulares de cerebelo en condiciones del daño excitotóxico?

5. Hipótesis

Bajo condiciones de excitotoxicidad, las ROS sintetizadas por la NOX, participan en los mecanismos de señalización que regulan la activación del inflamasoma NLRP3 en cultivos de neuronas granulares de cerebelo.

6. Objetivo General

Determinar la participación de las ROS producidas por la NOX en la activación del inflamasoma NLRP3 en un modelo de excitotoxicidad en neuronas granulares de cerebelo.

7. Objetivos Particulares

- Determinar efecto de la activación del inflamasoma NLRP3 sobre la viabilidad de cultivos primarios de neuronas granulares de cerebelo (NGC) tratados con glutamato.
- Caracterizar el mecanismo por el cual, las ROS provenientes de las NOX regulan la producción de IL-1 β en el daño excitotóxico de NGC.
- Determinar el tipo de muerte asociado a la activación del inflamasoma NLRP3 en neuronas granulares de cerebelo.

8. Discusión

Durante la excitotoxicidad se generan diferentes fenómenos tras la activación de los receptores glutamatérgicos neuronales. Este proceso excitotóxico se ha descrito en enfermedades neurodegenerativas y en lesiones cerebrales donde se ha asociado con la progresión de la muerte neuronal (Hernández-Espinosa *et al.*, 2019).

Entre los eventos que se presentan en este proceso destacan la desregulación de la homeostasis del calcio intracelular y, particularmente, la producción de ROS.

Se sabe que la mitocondria participa en la generación de ROS; sin embargo, se han descrito otras fuentes, como las NOX, que se activan durante diferentes condiciones como la excitotoxicidad. Este complejo enzimático se expresa en neuronas, astroglia y microglía (Barua *et al.*, 2019; Cooney *et al.*, 2013). La iniciación de la excitotoxicidad ocurre principalmente por la activación de receptores ionotrópicos del tipo NMDA localizados en las neuronas. Interesantemente, se ha reportado la expresión de receptores glutamatérgicos en astrocitos (Palygin *et al.*, 2011; Kato *et al.*, 2005; Kou *et al.*, 2019) y microglía (Zinni *et al.*, 2021; Franco *et al.*, 2020; Liang *et al.*, 2010), donde se podría regular la respuesta secundaria al daño excitotóxico inicial. En este trabajo se realizó una búsqueda bibliográfica sobre el papel de las ROS en la excitotoxicidad y la regulación del glutamato en la respuesta de las células gliales resultante del daño excitotóxico.

Los receptores glutamatérgicos microgliales se asocian con procesos involucrados en la respuesta inflamatoria. El receptor NMDA microglial regula la activación del factor de transcripción NFκB (Mirgan *et al.*, 2011), modula los cambios morfológicos característicos del fenotipo proinflamatorio (Raghunatha *et al.*, 2020) y de componentes del inflammasoma ((Tsoka *et al.*, 2019). Así mismo, puede favorecer la respuesta antiinflamatoria por activación del receptor mGluR5 (Carvalho *et al.*, 2019) y de mGluR3 (Zinni *et al.*, 2021).

En la astroglia las funciones de los receptores glutamatérgicos son variadas e incluyen actividades neuroprotectoras (Turati *et al.*, 2020; Corti *et al.*, 2007), activación de vías de señalización como Pi3/Akt (Cavallo *et al.*, 2019;), PLC-PI3 (Paquet *et al.*, 2013), regulación de la homeostasis del Ca²⁺ (Bradley *et al.*, 2011; Sun *et al.*, 2013; Kato *et al.*, 2005; Kou *et al.*, 2019; Yamaya *et al.*, 2002; Abedi *et al.*, 2017), liberación (Lee *et al.*, 2013) e inhibición (Obara *et al.*, 2015) de la captura de glutamato y liberación de quimiocinas proinflamatorias (Sühs *et al.*, 2016).

Con estos hallazgos se concluye que durante la excitotoxicidad existe una respuesta inicial mediada por receptores glutamatérgicos ionotrópicos en las neuronas que inducen la activación de la NOX y la generación de ROS, lo que junto con otros eventos simultáneos, como la activación del receptor tipo NOD y el inflamasoma, llevan a la muerte neuronal. La muerte neuronal induce una respuesta inflamatoria, la cual es orquestada principalmente por la microglia, y la astroglia, la que puede ser regulada a su vez por la NOX y la activación de los receptores glutamatérgicos metabotrópicos localizados en las células gliales.

9. Conclusión

El proceso excitotóxico genera desregulaciones iónicas, así como la producción de ROS provenientes de la mitocondria o de la activación de la NADPH oxidasa. En este trabajo buscamos integrar dos procesos complejos, excitotoxicidad y neuroinflamación, explicando cómo es que las neuronas y las células gliales responden a la activación de los receptores glutamatérgicos. El tipo de respuesta glutamatérgica observada en los tres tipos celulares difiere en gran medida; en las neuronas induce muerte, en la microglia regula la respuesta inflamatoria, mientras que en la astroglia las funciones son diversas. Esta regulación glutamatérgica en neuronas y células gliales contribuye al progreso del daño excitotóxico mediado por las ROS de origen mitocondrial y de las NOX que se presenta en enfermedades neurodegenerativas y en daño agudo cerebral. Por lo que su estudio podría tener aplicaciones terapéuticas.

10. Perspectivas

En el proceso inflamatorio es ampliamente conocido el papel de la microglía como principal regulador además de la modulación que ejerce sobre la activación de la astrología. Se sabe que las neuronas expresan receptores de reconocimiento a patrones que se encuentran en las células gliales y que al activarse desencadenan la respuesta inmunológica caracterizada por la liberación de mediadores inflamatorios. Por lo que es indispensable conocer cómo se modulan dichos receptores en las neuronas cuando se encuentran bajo condiciones de excitotoxicidad donde uno de los procesos representativos, es la generación de ROS que pueden provenir de la NADPH oxidasa. Por lo que resulta interesante saber cómo es que la activación de la NADPH oxidasa neuronal se relaciona con la activación de uno de los receptores del tipo NOD, el inflamasoma NRLP3, que se sabe se encuentra en neuronas. Uno de los mecanismos de activación del inflamasoma es el que se relaciona con las ROS, por lo que tendría que evaluarse la expresión de la NADPH oxidasa, así como su actividad catalítica y la consiguiente formación de superóxido. Una forma de evaluar la activación del inflamasoma es cuantificando las concentraciones las interleucinas inflamatorias 1 β y 18 que requieren de la escisión catalítica mediada por la actividad de la caspasa 1. Se sabe que la muerte neuronal es uno de los eventos que subyacen tras la excitotoxicidad por lo que sería necesario conocer si el tipo de muerte celular que se estaría desarrollando es por apoptosis o la muerte celular del tipo inflamatorio.

11. REFERENCIAS

- Abais, J. M., Xia, M., Zhang, Y., Boini, K. M., & Li, P. L. (2015). Redox regulation of NLRP3 inflammasomes: ROS as trigger or effector?. *Antioxidants & redox signaling*, 22(13), 1111–1129. <https://doi.org/10.1089/ars.2014.5994>
- Abedi, Z., Khaza'ai, H., Vidyadaran, S., & Mutalib, M. (2017). The Modulation of NMDA and AMPA/Kainate Receptors by Tocotrienol-Rich Fraction and A-Tocopherol in Glutamate-Induced Injury of Primary Astrocytes. *Biomedicines*, 5(4), 68. <https://doi.org/10.3390/biomedicines5040068>
- Angelova, P. R., & Abramov, A. Y. (2018). *Role of mitochondrial ROS in the brain: from physiology to neurodegeneration*. *FEBS Letters*, 592(5), 692–702. doi:10.1002/1873-3468.12964
- Armada-Moreira, A., Gomes, J. I., Pina, C. C., Savchak, O. K., Gonçalves-Ribeiro, J., Rei, N., ... Vaz, S. H. (2020). *Going the Extra (Synaptic) Mile: Excitotoxicity as the Road Toward Neurodegenerative Diseases*. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 14.
- Baroja, A., Martín, F., Gomez, A. et al. (2014). The NLRP3 inflammasome is released as a particulate danger signal that amplifies the inflammatory response. *Nat Immunol* 15, 738–748. doi:10.1038/ni.2919
- Barua, S., Kim, J. Y., Yenari, M. A., & Lee, J. E. (2019). The role of NOX inhibitors in neurodegenerative diseases. *IBRO reports*, 7, 59–69. doi:10.1016/j.ibror.2019.07.1721
- Bedard, K., & Krause, K.-H. (2007). *The NOX Family of ROS-Generating NADPH Oxidases: Physiology and Pathophysiology*. *Physiological Reviews*, 87(1), 245– 313. doi:10.1152/physrev.00044.2005
- Bergsbaken, T., Fink, S. L., & Cookson, B. T. (2009). Pyroptosis: host cell death and inflammation. *Nature reviews. Microbiology*, 7(2), 99–109. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2070>
- Bradley, S. J., & Challiss, R. A. (2011). Defining protein kinase/phosphatase isoenzymic regulation of mGlu α receptor-stimulated phospholipase C and Ca $^{2+}$ responses in astrocytes. *British journal of pharmacology*, 164(2b), 755–771. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01421.x>
- Brandes, R. P., Weissmann, N., & Schröder, K. (2014). *Nox family NADPH oxidases: Molecular mechanisms of activation*. *Free Radical Biology and Medicine*, 76, 208– 226. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2014.07.046
- Breitenbach, M., Rinnerthaler, M., Weber, M., Breitenbach-Koller, H., Karl, T., Cullen, P., ... Hasek, J. (2018). *The defense and signaling role of NADPH oxidases in eukaryotic cells*. *Wiener Medizinische Wochenschrift*. doi:10.1007/s10354-018- 0640-4
- Brennan AM, Suh SW, Won SJ, et al. (2009). NADPH oxidase is the primary source of superoxide induced by NMDA receptor activation. *Nat Neurosci*;12:857Y63
- Briones AM, Tabet F, Callera GE, Montezano AC, Yogi A, He Y, Quinn MT, Salices M, Touyz RM. (2011). Differential regulation of Nox1, Nox2 and Nox4 in vascular smooth muscle cells from WKY and SHR. *J Am Soc Hypertens*. 2011 May-Jun;5(3):137-53. doi: 10.1016/j.jash.2011.02.001. PMID: 21419746.
- Brown GC. Nitric oxide and neuronal death. *Nitric Oxide*. 2010 Nov 1;23(3):153-65. doi: 10.1016/j.niox.2010.06.001.
- Broz, P., Pelegrín, P., & Shao, F. (2019). *The gasdermins, a protein family executing cell death and inflammation*. *Nature Reviews Immunology*, 20(3), 143–

157. doi:10.1038/s41577-019-0228-2

- Burton, G. J., & Jauniaux, E. (2011). Oxidative stress. Best practice & research. Clinical obstetrics & gynaecology, 25(3), 287–299. doi:10.1016/j.bpobgyn.2010.10.016
- Buvelot, H., Jaquet, V., & Krause, K.-H. (2019). *Mammalian NADPH Oxidases*. *NADPH Oxidases*, 17–36. doi:10.1007/978-1-4939-9424-3_2
- Carbone, F., Teixeira, P. C., Braunersreuther, V., Mach, F., Vuilleumier, N., & Montecucco, F. (2015). Pathophysiology and Treatments of Oxidative Injury in Ischemic Stroke: Focus on the Phagocytic NADPH Oxidase 2. *Antioxidants & redox signaling*, 23(5), 460–489. <https://doi.org/10.1089/ars.2013.5778>
- Cavallo, D., Landucci, E., Gerace, E., Lana, D., Ugolini, F., Henley, J. M., ... Pellegrini-Giampietro, D. E. (2019). *Neuroprotective effects of mGluR5 activation through the PI3K/Akt pathway and the molecular switch of AMPA receptors*. *Neuropharmacology*, 107810. doi:10.1016/j.neuropharm.2019.107810
- Cheung, N., Pascoe, C., Giardina, S., John, C & Beart, P. (1998). Micromolar L-glutamate induces extensive apoptosis in an apoptotic-necrotic continuum of insult-dependent, excitotoxic injury in cultured cortical neurons. *Neuropharmacology*, 37, 1419–1429. Doi: 10.1016/s0028-3908(98)00123-3
- Christensen, I., Lu, B., Yang, N., Huang, K., Wang, P., & Tian, N. (2019). The Susceptibility of Retinal Ganglion Cells to Glutamatergic Excitotoxicity Is Type-Specific. *Frontiers in neuroscience*, 13, 219. doi:10.3389/fnins.2019.00219
- Cooney, S.J., Bermudez-Sabogal, S.L. & Byrnes, K.R. (2013). Cellular and temporal expression of NADPH oxidase (NOX) isoforms after brain injury. *J Neuroinflammation* 10, 917 <https://doi.org/10.1186/1742-2094-10-155>
- Corti, C., Battaglia, G., Molinaro, G., Rizzo, B., Pittaluga, A., Corsi, M., ... Bruno, V. (2007). The Use of Knock-Out Mice Unravels Distinct Roles for mGlu2 and mGlu3 Metabotropic Glutamate Receptors in Mechanisms of Neurodegeneration/Neuroprotection. *Journal of Neuroscience*, 27(31), 8297–8308. doi:10.1523/jneurosci.1889-07.2007
- Coyle, J. T., Bird, S. J., Evans, R. H., Gulley, R. I., Nadler, J. V., Nicjclas, W. J., and Olney, J. W. (1981). Excitatory amino acid neurotoxins: selectivity and mechanisms of action. *Neurosci. Res. Prog. Bulletin* 19:33 1-427.
- Coyoy, A., Olguín-Albuérne, M., Martínez-Briseño, P., & Morán, J. (2013). *Role of reactive oxygen species and NADPH-oxidase in the development of rat cerebellum*. *Neurochemistry International*, 62(7), 998–1011. doi:10.1016/j.neuint.2013.03.009
- Coyoy, A., Valencia, A., Guemez-Gamboa, A., & Morán, J. (2008). *Role of NADPH oxidase in the apoptotic death of cultured cerebellar granule neurons*. *Free Radical Biology and Medicine*, 45(8), 1056–1064. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2008.06.027
- Crupi, R., Impellizzeri, D., & Cuzzocrea, S. (2019). *Role of Metabotropic Glutamate Receptors in Neurological Disorders*. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 12. doi:10.3389/fnmol.2019.00020
- Dantzer R, Wollman EE. Relationships between the brain and the immune system. *J Soc Biol*. 2003;197(2):81-8.
- Dinarello C. A. (2018). Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. *Immunological reviews*, 281(1), 8–27. doi:10.1111/imr.12621
- Dong, X. X., Wang, Y., & Qin, Z. H. (2009). Molecular mechanisms of excitotoxicity and their relevance to pathogenesis of neurodegenerative diseases. *Acta pharmacologica Sinica*, 30(4), 379–387. doi.org/10.1038/aps.2009.24

Egea, J., Fabregat, I., Frapart, Y. M., Ghezzi, P., Görlach, A., Kietzmann, T., ... Daiber, A. (2017). European contribution to the study of ROS: A summary of the findings and prospects for the future from the COST action BM1203 (EU-ROS). *Redox biology*, 13, 94–162. doi:10.1016/j.redox.2017.05.007

Eun, H.S., Cho, S.Y., Joo, J.S. *et al.* (2017) Gene expression of NOX family members and their clinical significance in hepatocellular carcinoma. *Sci Rep* 7, 11060. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11280-3>

Franco, R., Rivas-Santisteban, R., Casanovas, M., Lillo, A., Saura, C. A., & Navarro, G. (2020). Adenosine A2A Receptor Antagonists Affects NMDA Glutamate Receptor Function. Potential to Address Neurodegeneration in Alzheimer's Disease. *Cells*, 9(5), 1075. <https://doi.org/10.3390/cells9051075>

Freeman, L., Guo, H., David, C. N., Brickey, W. J., Jha, S., & Ting, J. P. (2017). NLR members NLRC4 and NLRP3 mediate sterile inflammasome activation in microglia and astrocytes. *The Journal of experimental medicine*, 214(5), 1351–1370. <https://doi.org/10.1084/jem.20150237>

Gao, H. M., Zhou, H., & Hong, J. S. (2012). NADPH oxidases: novel therapeutic targets for neurodegenerative diseases. *Trends in pharmacologicalsciences*, 33(6), 295–303. doi:10.1016/j.tips.2012.03.008

Galluzzi, L., Vitale, I., Aaronson, S. A., Abrams, J. M., Adam, D., Agostinis, P., ... Andrews, D. W. (2018). *Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018*. *Cell Death & Differentiation*, 25(3), 486–541. doi:10.1038/s41418-017-0012-4

Ganguly, U., Kaur, U., Chakrabarti, S. S., Sharma, P., Agrawal, B. K., Saso, L., & Chakrabarti, S. (2021). Oxidative Stress, Neuroinflammation, and NADPH Oxidase: Implications in the Pathogenesis and Treatment of Alzheimer's Disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2021, 7086512. <https://doi.org/10.1155/2021/7086512>

Gilhus, N. E., & Deuschl, G. (2019). *Neuroinflammation — a common thread in neurological disorders*. *Nature Reviews Neurology*. doi:10.1038/s41582-019-0227-8

Giovannoni, F., & Quintana, F. J. (2020). The Role of Astrocytes in CNS Inflammation. *Trends in immunology*, 41(9), 805–819. <https://doi.org/10.1016/j.it.2020.07.007>

Goshi, N., Morgan, R.K., Lein, P.J. *et al.* A primary neural cell culture model to study neuron, astrocyte, and microglia interactions in neuroinflammation. *J Neuroinflammation* 17, 155 (2020). <https://doi.org/10.1186/s12974-020-01819-z>

Guemez, A., & Moran, J. (2009). NOX2 Mediates Apoptotic Death Induced by Staurosporine but Not by Potassium Deprivation in Cerebellar Granule Neurons. *Journal of Neuroscience Research*. 87:2531–2540.

Guemez, A., Estrada, A., Montiel, T., Páramo, B., Massieu, L., & Morán, J. (2011). Activation of NOX2 by the Stimulation of Ionotropic and Metabotropic Glutamate Receptors Contributes to Glutamate Neurotoxicity In Vivo Through the Production of Reactive Oxygen Species and Calpain Activation. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*. 70(11), 1020–1035, doi.org/10.1097/NEN.0b013e3182358e4e

Hansen, K. B., Yi, F., Perszyk, R. E., Menniti, F. S., & Traynelis, S. F. (2017). NMDA Receptors in the Central Nervous System. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 1677, 1–80. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7321-7_1

Heneka, M.T., McManus, R.M. & Latz, E.(2018). Inflammasome signalling in brain functionand neurodegenerative disease. *Nat Rev Neurosci* 19, 610–621.

doi.org/10.1038/s41583-018-0055-7

Hernández, R., Massieu, L., Montiel, T., & Morán, J. (2019). Role of NADPH oxidase-2 in the progression of the inflammatory response secondary to striatum excitotoxic damage. *Journal of neuroinflammation*, 16(1), 91. doi:10.1186/s12974-019-1478-4

Hernández-Enríquez, B., Guemez-Gamboa, A., & Morán, J. (2011). *Reactive oxygen species are related to ionic fluxes and volume decrease in apoptotic cerebellar granule neurons: role of NOX enzymes*. *Journal of Neurochemistry*, no– no. doi:10.1111/j.1471-4159.2011.07231.x

Hoffman, C., & Aballay, A. (2019). Role of neurons in the control of immune defense. *Current opinion in immunology*, 60, 30–36. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2019.04.005>

Hu, C. F., Wu, S. P., Lin, G. J., Shieh, C. C., Hsu, C. S., Chen, J. W., Chen, S. H., Hong, J. S., & Chen, S. J. (2021). Microglial Nox2 Plays a Key Role in the Pathogenesis of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *Frontiers in immunology*, 12, 638381. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.638381>

Huang, W. Y., Lin, S., Chen, H. Y., Chen, Y. P., Chen, T. Y., Hsu, K. S., & Wu, H. M. (2018). NADPH oxidases as potential pharmacological targets against increased seizure susceptibility after systemic inflammation. *Journal of neuroinflammation*, 15(1), 140. doi:10.1186/s12974-018-1186-5

Kato, H., Narita, M., Miyatake, M., Yajima, Y., & Suzuki, T. (2005). *Role of neuronal NR2B subunit-containing NMDA receptor-mediated Ca²⁺ influx and astrocytic activation in cultured mouse cortical neurons and astrocytes*. *Synapse*, 59(1), 10–17. doi:10.1002/syn.20213

Kim, J. Y., Park, J., Lee, J. E., & Yenari, M. A. (2017). NOX Inhibitors - A Promising Avenue for Ischemic Stroke. *Experimental neurobiology*, 26(4), 195–205. <https://doi.org/10.5607/en.2017.26.4.195>

Kovacs, S. B., & Miao, E. A. (2017). Gasdermins: Effectors of Pyroptosis. *Trends in cell biology*, 27(9), 673–684. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2017.05.005>

Krasil'nikova, I., Surin, A., Sorokina, E., Fisenko, A., Boyarkin, D., Balyasin, M., & Pinelis, V. (2019). Insulin Protects Cortical Neurons Against Glutamate Excitotoxicity. *Frontiers in neuroscience*, 13, 1027. doi:10.3389/fnins.2019.01027

Lang, Y., Chu, F., Shen, D., Zhang, W., Zheng, C., Zhu, J., & Cui, L. (2018). Role of Inflammasomes in Neuroimmune and Neurodegenerative Diseases: A Systematic Review. *Mediators of inflammation*, 2018, 1549549. doi:10.1155/2018/1549549

Latz, E., Xiao, T. S., & Stutz, A. (2013). Activation and regulation of the inflammasomes. *Nature reviews. Immunology*, 13(6), 397–411. doi:10.1038/nri3452

Lee, K. H., & Kang, T. B. (2019). The Molecular Links between Cell Death and Inflammasome. *Cells*, 8(9), 1057. <https://doi.org/10.3390/cells8091057>

Liang, J., Takeuchi, H., Jin, S., Noda, M., Li, H., Doi, Y., ... Suzumura, A. (2010). *Glutamate induces neurotrophic factor production from microglia via protein kinase C pathway*. *Brain Research*, 1322, 8–23. doi:10.1016/j.brainres.2010.01.083

Linnerbauer, M., Wheeler, M. A., & Quintana, F. J. (2020). *Astrocyte Crosstalk in CNS Inflammation*. *Neuron*. doi:10.1016/j.neuron.2020.08.012

Liu, W., Chen, Y., Meng, J., Wu, M., Bi, F., Chang, C., ... Zhang, L. (2018). *Ablation of caspase-1 protects against TBI-induced pyroptosis in vitro and in vivo*. *Journal of Neuroinflammation*, 15(1). doi:10.1186/s12974-018-1083-y

Ma, M. W., Wang, J., Zhang, Q., Wang, R., Dhandapani, K. M., Vadlamudi, R. K., & Brann, D. W. (2017). *NADPH oxidase in brain injury and neurodegenerative disorders*.

Molecular Neurodegeneration, 12(1). doi:10.1186/s13024-017-0150-7

Magnani, F., & Mattevi, A. (2019). *Structure and mechanisms of ROS generation by NADPH oxidases*. *Current Opinion in Structural Biology*, 59, 91–97. doi:10.1016/j.sbi.2019.03.001

Matsuno, K., Iwata, K., Matsumoto, M., Katsuyama, M., Cui, W., Murata, A., ... Yabe-Nishimura, C. (2012). *NOX1/NADPH oxidase is involved in endotoxin-induced cardiomyocyte apoptosis*. *Free Radical Biology and Medicine*, 53(9), 1718–1728. [10.1016/j.freeradbiomed.2012.08.590](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2012.08.590)

Mattson, M. P. (2004). *Mechanisms of Excitotoxicity and Excitoprotection*. *Excitotoxicity in Neurological Diseases*, 103–133. doi:10.1007/978-1-4419-8959-8_7

Mattson, M. P. (2019). Excitotoxicity. *Stress: Physiology, Biochemistry, and Pathology*, 125–134. doi:10.1016/b978-0-12-813146-6.00011-4

McGeer, P. L. and McGeer, E. G. (1982). Kainic acid: the neurotoxic breakthrough. *CRC Crit. Rev. Toxicol.*10:1-26

McKenzie BA, Dixit VM, Power C.(2020). Fiery Cell Death: Pyroptosis in the Central Nervous System. *Trends Neurosci*;43(1):55-73. doi: 10.1016/j.tins.2019.11.005.

McKenzie, B. A., Mamik, M. K., Saito, L. B., Boghozian, R., Monaco, M. C., Major, E. O., ... Power, C. (2018). *Caspase-1 inhibition prevents glial inflammasome activation and pyroptosis in models of multiple sclerosis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(26), E6065–E6074. doi:10.1073/pnas.1722041115

Nasser, Y., Keenan, C. M., Ma, A. C., McCafferty, D.-M., & Sharkey, K. A. (2007). *Expression of a functional metabotropic glutamate receptor 5 on enteric glia is altered in states of inflammation*. *Glia*, 55(8), 859–872. doi:10.1002/glia.20507

Nayernia, Z., Jaquet, V., & Krause, K. H. (2014). New insights on NOX enzymes in the central nervous system. *Antioxidants & redox signaling*, 20(17), 2815–2837. doi:10.1089/ars.2013.5703

Obara-Michlewska, M., Ruszkiewicz, J., Zielińska, M., Verkhatsky, A., & Albrecht, J. (2015). *Astroglial NMDA receptors inhibit expression of Kir4.1 channels in glutamate-overexposed astrocytes in vitro and in the brain of rats with acute liver failure*. *Neurochemistry International*, 88, 20–25. doi:10.1016/j.neuint.2014.10.006

Olguín-Albuérne, M., & Morán, J. (2015). *ROS Produced by NOX2 Controls In Vitro Development of Cerebellar Granule Neurons Development*. *ASN Neuro*, 7(2), 175909141557871. doi:10.1177/1759091415578712

Olney, J. W. (1969). Brain lesion, obesity and other disturbances in mice treated with monosodium glutamate. *Science* 164:7 19-72 1.

Olney, J. W. (1986). Inciting excitotoxic cytocide among central neurons. *Adv. Exp. Med. Biol.*203:63 1-645.

Olney, J. W., SHARPE, L. G., and FEIGIN, R. D. (1972). Glutamate-induced brain damage in infant primates. *J. Neuropathol. Expr. Neurol.* 31:464-488.

Orihuela, R., McPherson, C. A., & Harry, G. J. (2016). Microglial M1/M2 polarization and metabolic states. *British journal of pharmacology*, 173(4), 649–665. <https://doi.org/10.1111/bph.13139>

Palygin, O., Lalo, U., & Pankratov, Y. (2011). Distinct pharmacological and functional properties of NMDA receptors in mouse cortical astrocytes. *British journal of pharmacology*, 163(8), 1755–1766. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01374.x>

Panday, A., Sahoo, M., Osorio, D. et al. (2015). NADPH oxidases: an overview from structure to innate immunity-associated pathologies. *Cell Mol Immunol* 12, 5–23. doi.org/10.1038/cmi.2014.89

Paquet, M., Ribeiro, F. M., Guadagno, J., Esseltine, J. L., Ferguson, S. S., & Cregan,

- S. P. (2013). Role of metabotropic glutamate receptor 5 signaling and homer in oxygen glucose deprivation-mediated astrocyte apoptosis. *Molecular brain*, 6, 9. <https://doi.org/10.1186/1756-6606-6-9>
- Pennisi, M., Crupi, R., Di Paola, R., Ontario, L., Bella, R., Calabrese, E, Crea, R., Cuzzocrea, S & Calabrese, V. (2016). Inflammasomes, Hormesis, and Antioxidants in Neuroinflammation: Role of NLRP3 in Alzheimer Disease. *Journal of Neuroscience Research*, 95:1360–1372. doi.org/10.1002/jnr.23986
- Pregolato, S., Chakkarapani, E., Isles, A. R., & Luyt, K. (2019). Glutamate Transport and Preterm Brain Injury. *Frontiers in physiology*, 10, 417. [doi:10.3389/fphys.2019.00417](https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00417)
- Raghunatha, P., Vosoughi, A., Kauppinen, T. M., & Jackson, M. F. (2020). *Microglial NMDA receptors drive pro-inflammatory responses via PARP-1/TRMP2 signaling*. *Glia*. [doi:10.1002/glia.23790](https://doi.org/10.1002/glia.23790)
- Sabogal-Guáqueta, A. M., Hobbie, F., Keerthi, A., Oun, A., Kortholt, A., Boddeke, E., & Dolga, A. (2019). *Linalool attenuates oxidative stress and mitochondrial dysfunction mediated by glutamate and NMDA toxicity*. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 118, 109295. [doi:10.1016/j.biopha.2019.109295](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109295)
- Serrano, F., Kolluri, N. S., Wientjes, F. B., Card, J. P., & Klann, E. (2003). *NADPH oxidase immunoreactivity in the mouse brain*. *Brain Research*, 988(1-2), 193–198. [doi:10.1016/s0006-8993\(03\)03364-x](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(03)03364-x)
- Shabab, T., Khanabdali, R., Moghadamtousi, S. Z., Kadir, H. A., & Mohan, G. (2016). *Neuroinflammation pathways: a general review*. *International Journal of Neuroscience*, 127(7), 624–633. [doi:10.1080/00207454.2016.1212854](https://doi.org/10.1080/00207454.2016.1212854)
- Sies H. (2015). Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. *Redox biology*, 4, 180–183. [doi:10.1016/j.redox.2015.01.002](https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.01.002)
- Singhal, G., Jaehne, E. J., Corrigan, F., Toben, C., & Baune, B. T. (2014). Inflammasomes in neuroinflammation and changes in brain function: a focused review. *Frontiers in neuroscience*, 8, 315. <https://doi.org/10.3389/fnins.2014.00315>
- Sofroniew MV. Astrocyte barriers to neurotoxic inflammation [published correction appears in *Nat Rev Neurosci*. 2015 Jun;16(6):372]. *Nat Rev Neurosci*. 2015;16(5):249-263. [doi:10.1038/nrn3898](https://doi.org/10.1038/nrn3898)
- Song, L., Pei, L., Yao, S., Wu, Y., & Shang, Y. (2017). NLRP3 Inflammasome in Neurological Diseases, from Functions to Therapies. *Frontiers in cellular neuroscience*, 11, 63. [doi:10.3389/fncel.2017.00063](https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00063)
- Sousa, C., Golebiewska, A., Poovathingal, S. K., Kaoma, T., Pires-Afonso, Y., Martina, S., Coowar, D., Azuaje, F., Skupin, A., Balling, R., Biber, K., Niclou, S. P., & Michelucci, A. (2018). Single-cell transcriptomics reveals distinct inflammation-induced microglia signatures. *EMBO reports*, 19(11), e46171. <https://doi.org/10.15252/embr.201846171>
- Strunecka, A., Blaylock, R. L., Patocka, J., & Strunecky, O. (2018). Immunoexcitotoxicity as the central mechanism of etiopathology and treatment of autism spectrum disorders: A possible role of fluoride and aluminum. *Surgical neurology international*, 9, 74. [doi:10.4103/sni.sni_407_17](https://doi.org/10.4103/sni.sni_407_17)
- Subhramanyam, C. S., Wang, C., Hu, Q., & Dheen, S. T. (2019). *Microglia-mediated neuroinflammation in neurodegenerative diseases*. *Seminars in Cell & Developmental Biology*. [doi:10.1016/j.semcdb.2019.05.004](https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2019.05.004)
- Sühs, K.-W., Gudi, V., Eckermann, N., Fairless, R., Pul, R., Skripuletz, T., & Stangel, M. (2016). *Cytokine regulation by modulation of the NMDA receptor on astrocytes*. *Neuroscience Letters*, 629, 227–233. [doi:10.1016/j.neulet.2016.07.016](https://doi.org/10.1016/j.neulet.2016.07.016)

- Sutterwala, F. S., Haasken, S., & Cassel, S. L. (2014). Mechanism of NLRP3 inflammasome activation. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1319(1), 82–95. doi:10.1111/nyas.12458
- Tsoka, P., Barbisan, P. R., Kataoka, K., Chen, X. N., Tian, B., Bouzika, P., Miller, J. W., Paschalis, E. I., & Vavvas, D. G. (2019). NLRP3 inflammasome in NMDA-induced retinal excitotoxicity. *Experimental eye research*, 181, 136–144. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2019.01.018>
- Tsuchiya K. (2021). Switching from Apoptosis to Pyroptosis: Gasdermin-Elicited Inflammation and Antitumor Immunity. *International journal of molecular sciences*, 22(1), 426. <https://doi.org/10.3390/ijms22010426>
- Tsuchiya, K. (2020). *Inflammasome-associated Cell Death: Pyroptosis, Apoptosis, and Physiological Implications. Microbiology and Immunology*. doi:10.1111/1348-0421.12771
- Voet, S., Prinz, M., & van Loo, G. (2018). *Microglia in Central Nervous System Inflammation and Multiple Sclerosis Pathology. Trends in Molecular Medicine*. doi:10.1016/j.molmed.2018.11.005
- Yamaya, Y., Yoshioka, A., Saiki, S., Yuki, N., Hirose, G., & Pleasure, D. (2002). Type-2 astrocyte-like cells are more resistant than oligodendrocyte-like cells against non-N-methyl-D-aspartate glutamate receptor-mediated excitotoxicity. *Journal of Neuroscience Research*, 70(4), 588–598. doi:10.1002/jnr.10425
- Yang, X., Zhang, H., Wu, J., Yin, L., Yan, L. J., & Zhang, C. (2018). Humanin Attenuates NMDA-Induced Excitotoxicity by Inhibiting ROS-dependent JNK/p38 MAPK Pathway. *International journal of molecular sciences*, 19(10), 2982. <https://doi.org/10.3390/ijms19102982>
- Yauger, Y. J., Bermudez, S., Moritz, K. E., Glaser, E., Stoica, B., & Byrnes, K. R. (2019). Iron accentuated reactive oxygen species release by NADPH oxidase in activated microglia contributes to oxidative stress in vitro. *Journal of neuroinflammation*, 16(1), 41. doi:10.1186/s12974-019-1430-7
- Zeng, X., Ren, H., Zhu, Y., Zhang, R., Xue, X., Tao, T., & Xi, H. (2018). *Gp91phox (NOX2) in Activated Microglia Exacerbates Neuronal Damage Induced by Oxygen Glucose Deprivation and Hyperglycemia in an in Vitro Model. Cellular Physiology and Biochemistry*, 783–797. doi:10.1159/000494243
- Zhang, D., Qian, J., Zhang, P., Li, H., Shen, H., Li, X., & Chen, G. (2019). *Gasdermin D serves as a key executioner of pyroptosis in experimental cerebral ischemia and reperfusion model both in vivo and in vitro. Journal of Neuroscience Research*. doi:10.1002/jnr.24385
- Zhang, X., Liu, P., Zhang, C., Chiewchengchol, D., Zhao, F., Yu, H., ... Luo, H. R. (2017). Positive Regulation of Interleukin-1 β Bioactivity by Physiological ROS-Mediated Cysteine S-Glutathionylation. *Cell reports*, 20(1), 224–235. doi:10.1016/j.celrep.2017.05.070
- Zhang, X., Zhang, B., Zhu, J., Zhou, Z., & Cui, L. (2020). *Regulation of microglia by glutamate and its signal pathway in neurodegenerative diseases. Drug Discovery Today*. doi:10.1016/j.drudis.2020.04.001
- Zhang, Y., Bhavnani, B.R. (2005). Glutamate-induced apoptosis in primary cortical neurons is inhibited by equine estrogens via down-regulation of caspase-3 and prevention of mitochondrial cytochrome c release. *BMC Neurosci* 6, 13. doi.org/10.1186/1471-2202-
- Zhang, Z., Liu, W., Huang, Y., Luo, L., Cai, X., Liu, Y., Ai, L., Yan, J., Lin, S., & Ye, J.

(2020). NLRP3 Deficiency Attenuates Secondary Degeneration of Visual Cortical Neurons Following Optic Nerve Injury. *Neuroscience bulletin*, 36(3), 277–288. <https://doi.org/10.1007/s12264-019-00445-x>

Zhao, Z., Wang, Y., Zhou, R., Li, Y., Gao, Y., Tu, D., ... Yakel, J. L. (2020). A novel role of NLRP3-generated IL-1p in the acute-chronic transition of peripheral lipopolysaccharide-elicited neuroinflammation: implications for sepsis-associated neurodegeneration. *Journal of Neuroinflammation*, 17(1). doi:10.1186/s12974-020-1728-5

Zheng, Z., & Li, G. (2020). Mechanisms and Therapeutic Regulation of Pyroptosis in Inflammatory Diseases and Cancer. *International journal of molecular sciences*, 21(4), 1456. <https://doi.org/10.3390/ijms21041456>.

Zinni, M., Mairesse, J., Pansiot, J., Fazio, F., Iacovelli, L., Antenucci, N., Orlando, R., Nicoletti, F., Vaiman, D., & Baud, O. (2021). mGlu3 receptor regulates microglial cell reactivity in neonatal rats. *Journal of neuroinflammation*, 18(1), 13. <https://doi.org/10.1186/s12974-020-02049-z>

Anexos

Se anexa información del artículo elaborado como parte del proceso de evaluación para obtener el grado de Maestra en Biología experimental.

Tipo de artículo: Revisión bibliográfica

Título: “Contribution of glial glutamatergic receptors to excitotoxicity-induced neuroinflammation”

Tópico: Homeostasis celular redox

Autores: Grecia Sánchez-Evangelista, Mina Königsberg, Beatriz Gómez-González y Julio Morán

Revista: Antioxidants



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00236

Matrícula: 2192802254

Papel de las especies reactivas de oxígeno producidas por NADPH-Oxidasa en el proceso neuroinflamatorio inducido por daño excitotóxico

Con base en la Legislación de la Universidad Autónoma Metropolitana, en la Ciudad de México se presentaron a las 11:00 horas del día 4 del mes de noviembre del año 2021 POR VÍA REMOTA ELECTRÓNICA, los suscritos miembros del jurado designado por la Comisión del Posgrado::

DRA. MINA KONIGSBERG FAINSTEIN
DRA. ADRIANA ALARCON AGUILAR
DR. DIEGO ROLANDO HERNANDEZ ESPINOSA
DRA. GABRIELA HURTADO ALVARADO



Bajo la Presidencia de la primera y con carácter de Secretaria la última, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRA EN BIOLOGIA EXPERIMENTAL

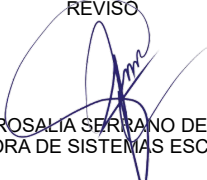
DE: GRECIA SANCHEZ EVANGELISTA

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

Aprobar

Acto continuo, la presidenta del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.


GRECIA SANCHEZ EVANGELISTA
ALUMNA

REVISÓ

MTRA. ROSALIA SERRANO DE LA PAZ
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTORA DE LA DIVISIÓN DE CBS


DRA. SARA LUCIA CAMARGO RICALDE

PRESIDENTA


DRA. MINA KONIGSBERG FAINSTEIN

VOCAL


DRA. ADRIANA ALARCON AGUILAR

VOCAL


DR. DIEGO ROLANDO HERNANDEZ
ESPINOSA

SECRETARIA


DRA. GABRIELA HURTADO ALVARADO

El presente documento cuenta con la firma –autógrafa, escaneada o digital, según corresponda- del funcionario universitario competente, que certifica que las firmas que aparecen en esta acta – Temporal, digital o dictamen- son auténticas y las mismas que usan los c.c. profesores mencionados en ella