



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS
DE HIDALGO**



**FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS Y BIOLÓGICAS
“DR IGNACIO CHÁVEZ”
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**FACTOR ACTIVADOR DE CÉLULAS B Y SU RELACIÓN CON
BIOMARCADORES DE INFLAMACIÓN Y DISFUNCIÓN ENDOTELIAL
EN PACIENTES CON OBESIDAD**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS DE LA SALUD**

P R E S E N T A:

**DIANA CAROLINA VILLALPANDO SÁNCHEZ
QUÍMICA FARMACOBIOLOGA**

DIRECTORAS DE TESIS:

**MARTHA EVA VIVEROS SANDOVAL
DOCTORA EN CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS
UMSNH**

**ANEL GÓMEZ GARCÍA
DOCTORA EN FARMACOLOGÍA
IMSS**

MORELIA, MICHOACÁN, MÉXICO. JULIO DE 2018

ÍNDICE

Relación de cuadros.....	iv
Relación de figuras	v
Relación de anexos.....	vi
Abreviaturas.....	vii
Resumen.....	x
Abstract.....	xii
1. Introducción.....	1
2. Antecedentes.....	2
2.1. Obesidad.....	2
2.2. Tejido adiposo visceral.....	4
2.3. Inflamación asociada a obesidad.....	6
2.3.1. Perfiles inflamatorios TH1/ TH2/ TH17.....	8
2.3.2. Citocinas TH1.....	8
2.3.2.1. Interferón gamma (IFN- γ).....	8
2.3.2.2. Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α).....	9
2.3.2.3. Interleucina - 6 (IL-6).....	10
2.3.2.4. Interleucina - 2 (IL-2).....	10
2.3.3. Citocinas TH2.....	11
2.3.3.1. Interleucina - 4 (IL-4).....	11
2.3.3.2. Interleucina - 10 (IL-10).....	12
2.3.4. Citocinas TH17.....	12
2.3.4.1. Interleucina - 17A (IL-17A).....	12

2.4. Disfunción endotelial.....	13
2.4.1. Factor von Willebrand (FvW).....	14
2.4.2. Ligando soluble CD40 (sCD40L).....	14
2.5. Factor activador de células B (BAFF).....	16
3. Justificación.....	19
4. Planteamiento del problema.....	20
5. Objetivos.....	21
5.1. Objetivo general.....	21
5.2. Objetivos específicos.....	21
6. Hipótesis.....	21
7. Material y métodos.....	21
7.1. Tipo de estudio.....	21
7.2. Diseño del estudio.....	22
7.3. Universo de trabajo.....	22
7.4. Tamaño de muestra.....	23
7.5. Criterios de selección.....	24
7.6. Variables del estudio.....	25
7.7. Descripción operacional de las variables.....	26
7.8. Descripción operativa del estudio.....	31
7.9. Procesamiento de los datos.....	41
7.10. Análisis estadístico.....	41
8. Resultados.....	42
8.1. BAFF sérico en pacientes con OB, SP y NP.....	47
8.2. Evaluación de DFE mediante los biomarcadores: FvW y sCD40L, en pacientes con OB, SP y NP.....	48

8.3. Correlación de BAFF con citocinas $T_{H1}/T_{H2}/T_{H17}$, biomarcadores de DFE, HOMA-IR, y marcadores antropométricos en pacientes con OB, SP y NP.....	50
9. Discusión.....	54
9.1. BAFF sérico en pacientes con OB, SP y NP.....	60
9.2. Evaluación de DFE mediante los biomarcadores: FvW y sCD40L, en pacientes con OB, SP y NP.....	61
9.3. Correlación de BAFF con citocinas $T_{H1}/T_{H2}/T_{H17}$, biomarcadores de DFE, HOMA-IR, y marcadores antropométricos en pacientes con OB, SP y NP.....	63
10. Conclusiones.....	67
11. Perspectivas.....	68
12. Bibliografía.....	69
Anexos.....	81

RELACIÓN DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación de obesidad por IMC y circunferencia de cintura.....	3
Cuadro 2. Características clínicas y bioquímicas de los pacientes de acuerdo a su IMC.	43
Cuadro 3. Frecuencia de alteraciones clínicas en los pacientes en estudio.....	44
Cuadro 4. Características antropométricas de los pacientes de acuerdo a su IMC.....	45
Cuadro 5. Biomarcadores de inflamación en los pacientes de acuerdo a su IMC.....	46
Cuadro 6. Análisis de regresión lineal para variables que predicen BAFF.....	53

RELACIÓN DE FIGURAS

Figura 1.	Depósitos de tejido adiposo blanco en el organismo.....	4
Figura 2.	Tejido adiposo visceral.....	5
Figura 3.	Células inmunes reclutadas a TAV visceral durante el progreso de la OB.....	6
Figura 4.	Gen codificante del Factor activador de células B (BAFF)	17
Figura 5.	Vías de amplificación mediadas por BAFF.....	18
Figura 6.	Inmunoensayo por Absorción Ligado a Enzima (ELISA).....	34
Figura 7.	Cytometric Bead Array (CBA) – Citometría de flujo.....	39
Figura 8.	Esquema del estudio.....	42
Figura 9.	Citocinas TH1/TH2/TH17 en los sujetos en estudio, de acuerdo a su IMC.....	46
Figura 10.	Factor activador de células B (BAFF) en los sujetos de acuerdo a su IMC.....	47
Figura 11.	Factor von Willebrand (FvW) de los sujetos, de acuerdo a su IMC.....	48
Figura 12.	Ligando soluble CD40 (sCD40L) en sujetos, de acuerdo a su IMC.....	49
Figura 13.	Frecuencia de disfunción endotelial (DFE) en los sujetos de estudio.....	49
Figura 14.	Correlación entre BAFF y citocinas TH1/TH2/TH17 en los pacientes en estudio.....	50
Figura 15.	Correlación entre BAFF, biomarcadores de DFE e índice HOMA-IR, en los pacientes en estudio.....	51
Figura 16.	Correlación entre BAFF y marcadores antropométricos de obesidad en los pacientes en estudio.....	52

RELACIÓN DE ANEXOS

Anexo 1.	Carta de consentimiento informado.....	81
Anexo 2.	Hoja de recolección de datos.....	86

ABREVIATURAS

AGL	Ácidos Grasos Libres
BAFF	Factor Activador de Células B
BLyS	Estimulador de Linfocitos B
CD	Cúmulo de Diferenciación
CE	Células Endoteliales
CBA	Arreglos Citométricos por Perlas
CMH	Complejo Mayor de Histocompatibilidad
CPA	Célula Presentadora de Antígenos
DFE	Disfunción Endotelial
DM2	Diabetes Mellitus tipo 2
DRG	Dieta Rica en Grasas
ELISA	Inmunoensayo Ligado a Enzimas
EO	Estrés Oxidativo
EROs	Especies Reactivas de Oxígeno
FvW	Factor von Willebrand
GATA	Familia de Factores de Transcripción
GLUT	Transportador de Glucosa
HDL-c	Colesterol Ligado a Lipoproteínas de Alta Densidad
HOMA-IR	Modelo Homeostático para Evaluación de Resistencia a la Insulina
IFN- γ	Interferón gamma
Ig	Inmunoglobulina
IL-1 β	Interleucina 1 β

IL-2	Interleucina 2
IL-4	Interleucina 4
IL-6	Interleucina 6
IL-10	Interleucina 10
IL-17A	Interleucina 17A
IMC	Índice de Masa Corporal
IMF	Intensidad Media de Fluorescencia
IRS-1	Sustrato ligado al Receptor de la Insulina tipo 1
GC	Grasa Corporal
LB	Linfocito B
LC	Linfocito Citotóxico
LDL-c	Colesterol Ligado a Lipoproteínas de Baja Densidad
LT	Linfocito T
LPS	Lipopolisacárido
M ϕ	Macrófagos
M ₁	Macrófagos Clásicamente Activado
M ₂	Macrófagos Alternativamente Activado
MCP-1	Proteína Quimiotáctica de Monocitos tipo 1
NK	Linfocitos Natural Killer
NP	Normopeso
OB	Obesidad
OCDE	Organización para la Cooperación y Desarrollo Económicos
OMS	Organización Mundial de la Salud
PAI-1	Inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1

PCR	Proteína C Reactiva
PG	Peptidoglucano
RI	Resistencia a la Insulina
RCV	Riesgo Cardiovascular
sCD40L	Ligando Soluble CD40
SM	Síndrome Metabólico
SP	Sobrepeso
STAT	Transductor de Señal Activador de la Transcripción
T _H	Linfocito T Cooperador
T _{H1}	Linfocitos T Cooperadores perfil 1
T _{H2}	Linfocitos T Cooperadores perfil 2
T _{H17}	Linfocitos T Cooperadores perfil 17
TAB	Tejido Adiposo Blanco
TAC	Tejido Adiposo Café
TASC	Tejido Adiposo Subcutáneo
TAV	Tejido Adiposo Visceral
TG	Triglicéridos
TNF- α	Factor de Necrosis Tumoral Alfa
TGF- β	Factor de Crecimiento Transformante Beta
TNFSF	Súperfamilia de Ligandos TNF

RESUMEN

FACTOR ACTIVADOR DE CÉLULAS B (BAFF) Y SU RELACIÓN CON BIOMARCADORES DE INFLAMACIÓN Y DISFUNCIÓN ENDOTELIAL EN PACIENTES CON OBESIDAD.

Introducción: La obesidad(OB) es una enfermedad sistémica caracterizada por remodelado del tejido adiposo que desencadena un estado inflamatorio crónico de bajo grado, el cual se manifiesta por la expresión de biomarcadores pro-inflamatorios que correlacionan positivamente con el proceso de disfunción endotelial(DFE) y resistencia a la insulina(RI). Se ha vinculado al factor activador de células B(BAFF) con el desarrollo de RI, proponiendo su papel en la inflamación crónica asociada a OB.

Objetivo. Evaluar la asociación entre BAFF y biomarcadores de inflamación y DFE en pacientes con OB.

Material y métodos: Estudio transversal comparativo. A tres grupos de pacientes (Normopeso, Sobrepeso y Obesidad), se les realizó: exploración física y recolección de sangre venosa para: biometría hemática, química sanguínea (glucosa, triglicéridos, colesterol total, HDL-c y LDL-c), citocinas $T_H1/T_H2/T_H17$, biomarcadores de DFE (FvW, sCD40L), insulina y BAFF.

Resultados: BAFF incrementó significativamente en función al IMC ($p<0.0001$). Se presentó diferencia estadísticamente significativa entre individuos OB y NP, para IL-2(3.58 ± 5.64 vs 3.69 ± 1.39 ; $p=0.003$), IL-6(5.45 ± 3.02 vs 6.47 ± 7.58 ; $p=0.019$), IL-10(5.96 ± 4.19 vs 4.80 ± 1.88 ; $p<0.0001$), IL-17A(13.35 ± 10.28 vs 8.83 ± 4.91 ; $p=0.025$) y TNF- α (6.97 ± 9.45 vs 4.58 ± 1.18 ; $p<0.0001$). BAFF correlacionó positivamente con citocinas inflamatorias T_H1 : TNF- α ($r=0.463$; $p=0.022$), T_H2 : con IL-10($r=0.471$; $p=0.016$), T_H17 : con IL-17A($r=0.451$; $p=0.030$); y presentó asociación negativa y estadísticamente significativa con FvW($r=0.615$; $p<0.0001$). BAFF correlacionó negativamente con índice HOMA-IR en

OB($r = -0.666$; $p = 0.008$); y positivamente con marcadores de OB: IMC($r = 0.671$; $p < 0.0001$), %GC($r = 0.535$; $p = 0.001$) y C. cintura($r = 0.632$; $p < 0.0001$).

Conclusiones: Cifras séricas de BAFF incrementan en OB. BAFF correlacionó significativamente con marcadores de DFE e inflamación, aunque no con RI en OB.

Palabras clave: BAFF, inflamación, disfunción endotelial, sobrepeso, obesidad.

ABSTRACT

B CELL ACTIVATING FACTOR (BAFF) AND ITS RELATIONSHIP WITH INFLAMMATION AND ENDOTHELIAL DISFUNCTION MARKERS IN OBESE PATIENTS.

Introduction: Obesity(OB) is a systemic disease, characterized by fat tissue remodeling that triggers a low-grade chronic inflammatory state, which is manifested by the expression of pro-inflammatory biomarkers that correlate with endothelial dysfunction(DE) and insulin resistance(IR). BAFF has been linked with IR development, suggesting its role in the chronic inflammatory state related to OB.

Objective: To evaluate the association between BAFF and inflammation and ED biomarkers in OB patients.

Methods: Cross-sectional comparative study. Three groups of patients (Normal-weight, Overweight and Obesity) underwent physical examination and venous blood collection: blood count, blood chemistry (glucose, triglycerides, total cholesterol, HDL-c and LDL-c) T_H1/T_H2/T_H17 cytokines, ED markers (vWF, sCD40L), insulin and BAFF.

Results: Serum BAFF increased significantly with BMI($p < 0.0001$). There were statistically significant differences between OB and NW individuals for IL-2(3.58 ± 5.64 vs 3.69 ± 1.39 ; $p = 0.003$), IL-6(5.45 ± 3.02 vs 6.47 ± 7.58 ; $p = 0.019$), IL-10(5.96 ± 4.19 vs 4.80 ± 1.88 ; $p < 0.0001$), IL-17A(13.35 ± 10.28 vs 8.83 ± 4.91 ; $p = 0.025$) and TNF- α (6.97 ± 9.45 vs 4.58 ± 1.18 ; $p < 0.0001$). BAFF correlated positively with T_H1 cytokines: TNF- α ($r = 0.463$; $p = 0.022$), T_H2: IL-10($r = 0.471$; $p = 0.016$), T_H17: IL-17A($r = 0.451$; $p = 0.030$); and correlated negatively with vWF($r = 0.615$; $p < 0.0001$). BAFF also correlated negatively with HOMA-IR in OB patients ($r = -0.666$; $p = 0.008$); and positively with OB markers: IMC($r = 0.671$; $p < 0.0001$), %body fat (%BF) ($r = 0.535$; $p = 0.001$) and waist circumference($r = 0.632$; $p < 0.0001$).

Conclusions: BAFF serum concentrations increase in OB. BAFF correlated positive and statistically significant with ED and systemic inflammation markers, although it did not with IR in OB individuals.

Key words: BAFF, Inflammation, Endothelial dysfunction, Overweight, Obesity.

1. INTRODUCCIÓN

La obesidad es actualmente considerada "la epidemia del siglo XXI", ya que su velocidad de diseminación no se ha visto limitada a países económicamente desarrollados, ni condicionada por edad, etnia o situación social; este problema de salud pública es sustancialmente más serio en nuestro país, debido a que México presenta hoy en día, la mayor prevalencia de individuos adultos con sobrepeso y obesidad, en el mundo.

La obesidad, es considerada un factor independiente de riesgo cardiovascular, debido a que el incremento en el depósito graso compromete la estructura y funcionamiento del tejido en que se aloja; sin embargo, el riesgo se ve incrementado al encontrarse frecuentemente asociada a comorbilidades como Hipertensión arterial, dislipidemia y Diabetes Mellitus tipo 2, que predisponen al sujeto obeso a desarrollar complicaciones de mayor severidad.

El daño vascular asociado a obesidad, frecuentemente se ve vinculado a un estado de deterioro sistémico y disfunción endotelial, mediado por la inflamación crónica de bajo grado que se presenta como respuesta al remodelado constante del tejido adiposo. Recientes estudios han reportado la participación del Factor activador de células B, como citocina clave en la exacerbación inflamatoria, así como en el desarrollo de resistencia a la insulina; por lo que estudiar su comportamiento en relación al proceso inflamatorio y de deterioro vascular en pacientes con sobrepeso y obesidad, resulta prioritario para prevenir complicaciones cardiovasculares futuras, en nuestro país.

2. ANTECEDENTES

2.1. OBESIDAD

La obesidad (OB) es una enfermedad sistémica, crónica y multicausal, no exclusiva de países económicamente desarrollados, que involucra a todos los grupos etarios, distintas etnias y todas las clases sociales(1). Esta enfermedad ha alcanzado proporciones epidémicas a nivel mundial, motivo por el que la Organización Mundial de la Salud (OMS) la ha denominado como “la epidemia del siglo XXI”(2).

Las proporciones epidémicas de la OB continúan diseminándose alarmantemente, de acuerdo con los datos de la Organización para la Cooperación y Desarrollo Económicos (OCDE), hace veinte años, sólo una de cada diez personas en el mundo presentaba OB, sin embargo, recientemente estas cifras han ido en aumento, sin miras a un retroceso(3).

En México, la frecuencia combinada de sobrepeso (SP) y OB en mujeres oscila en un 76%, de la población, así como un 70% para el caso de los hombres. Estas cifras han mostrado un importante incremento respecto a lo reportado a finales de los años 80's (290%); por lo que, en nuestro país, más de 7 de cada 10 adultos mayores a 20 años presentan SP, y de estos, cerca de la mitad padece OB. Por lo que actualmente México se encuentra posicionado como el país con mayor prevalencia de SP y OB en el mundo(4).

La OMS define la OB como una acumulación anormal o excesiva de grasa, que puede ser perjudicial para la salud y clasifica como OB a todos aquellos individuos que presenten un Índice de masa corporal (IMC) igual o superior a 30 Kg/m².

El IMC es un indicador simple de la relación peso/talla de un individuo, y desde hace décadas ha venido siendo ampliamente utilizado para evaluar la OB en población mundial. Este se calcula con la ecuación de Quetelet, dividiendo el peso de una persona (kg) entre el cuadrado de su talla (m). La OMS estratifica el normopeso (NP), SP y OB de la siguiente manera:

Cuadro 1. Clasificación de obesidad por IMC y circunferencia de cintura.

	IMC (kg/m ²)	Clase de OB	Riesgo de enfermedad	
			Hombre <90 cm Mujer <85 cm	Hombre ≥90 cm Mujer ≥85 cm
Bajo peso	<18.5		-	-
Normopeso	18.5 - 24.9		-	-
Sobrepeso	25.0 - 29.9		Aumentado	Alto
Obesidad	30.0 - 34.9	I	Alto	Muy alto
	35.0 - 39.9	II	Muy alto	Muy alto
Obesidad extrema	>40.0	III	Extremadamente alto	Extremadamente alto

Fuente: OMS(2); Barrera-Cruz et al(5); Berber et al(6).

Múltiples estudios epidemiológicos han vinculado a la OB con el desarrollo de complicaciones cardiovasculares como aterosclerosis(7), enfermedad coronaria(8), falla cardiaca congestiva(8,9), fibrilación auricular(10) e infarto agudo al miocardio(5,7).

Es considerada también como un factor independiente de riesgo cardiovascular (RCV), debido a que el excesivo depósito de grasa compromete la estructura y funcionamiento del tejido en que se aloja; además de su papel incrementando el riesgo cardiometabólico por asociación a comorbilidades como hipertensión, dislipidemia, intolerancia a la glucosa, inflamación y disfunción endotelial(12).

Desde hace algunas décadas, se ha observado que la distribución de la grasa corporal influye más sobre el RCV asociado a OB, que la proporción total de la misma, considerando que individuos con OB abdominal, presentan mayor RCV respecto aquellos con OB periférica(13).

2.2. TEJIDO ADIPOSO VISCERAL

El tejido adiposo corporal, o más recientemente denominado órgano adiposo, se encuentra compuesto por dos tipos de tejido graso que colaboran en el almacenamiento de la energía proveniente de los lípidos, a partir de la cual, realizan funciones fundamentales para el organismo; el tejido adiposo café (TAC) participa en la termogénesis, más activamente durante la infancia, sin embargo también se encuentra presente (aunque en menor proporción) en la edad adulta, mientras que al tejido adiposo blanco (TAB) se le han atribuido importantes funciones metabólicas y más recientemente, endócrinas a lo largo de la vida(14).

El TAB se encuentra localizado en múltiples depósitos distribuidos por todo el organismo, en la región peri-renal, epicárdica, pulmonar, peri-adventicia así como la médula ósea; sin embargo, los dos depósitos más abundantes de TAB son el tejido adiposo subcutáneo (TASC) y el tejido adiposo visceral (TAV) (Figura 1) (15).

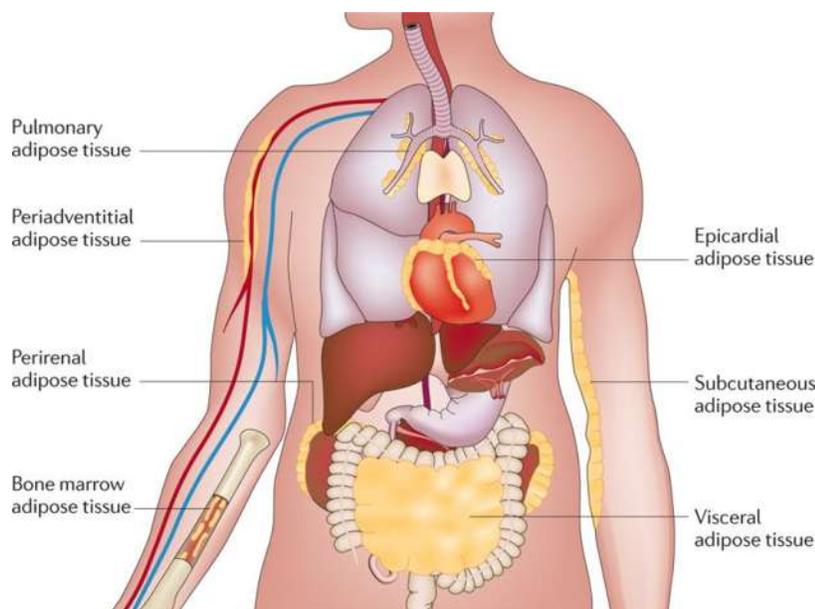


Figura 1. Depósitos de tejido adiposo blanco en el organismo.

Fuente: Ouchi, et al(15).

El TASC se encuentra localizado bajo la piel, principalmente en la región supra-abdominal, escapular y gluteofemoral; en este se encuentra almacenada aproximadamente un 80-90% de

la grasa corporal total. Mientras que el TAV se compone por los depósitos intra-abdominales que se encuentran rodeando las vísceras en la región omental y mesentérica, los cuales constituyen un 6-20% de la masa grasa total, con mayor proporción en hombres que en mujeres(16).

Existen diferencias fundamentales entre TASC y TAV, ya que el primero es considerado el amortiguador natural para el exceso de ingesta energética con gasto limitado, éste actúa como un regulador metabólico en el que los ácidos grasos libres (AGL) provenientes de la dieta, son almacenados en forma de triglicéridos (TG) en el interior del adipocito. Sin embargo, en condiciones de OB, la capacidad de almacenamiento energético del TASC se ve frecuentemente superada, por lo que el exceso graso comienza a almacenarse en otros depósitos, principalmente el TAV(13).

Además de los adipocitos, el TAV, se encuentra compuesto por múltiples tipos celulares, como pre-adipocitos, células endoteliales, fibroblastos y células inmunitarias, que desempeñan un papel homeostático fundamental en el remodelado del tejido, así como la regulación de la inflamación(17).

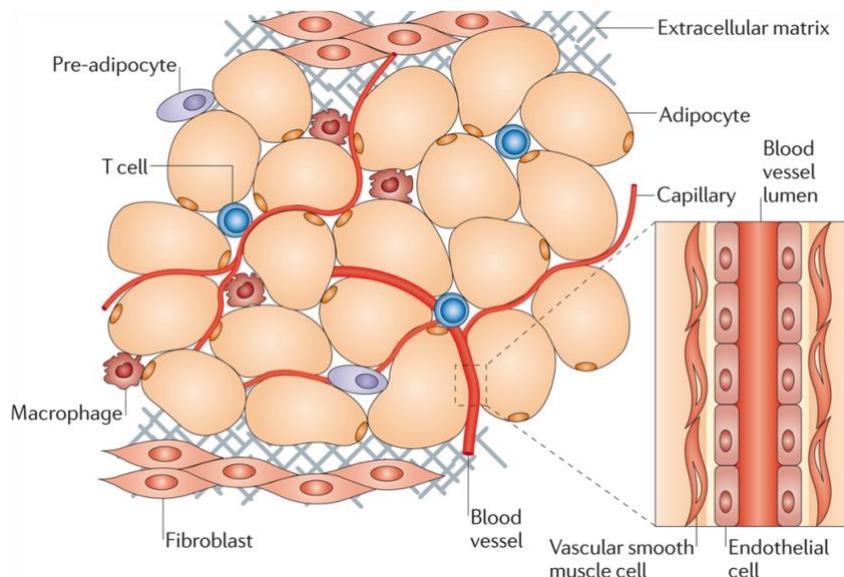


Figura 2. Tejido adiposo visceral.

Fuente: Wensveen, et al(17).

2.3. INFLAMACIÓN ASOCIADA A OBESIDAD

El TAV de individuos delgados se encuentra principalmente poblado por eosinófilos y células NK, los cuales son la principal fuente de IL-4, citocina que promueve la polarización de los macrófagos ($M\phi$) residentes, hacia un fenotipo M_2 (alternativamente activado), capaz de liberar IL-10, que promueve el estado homeostático y anti-inflamatorio característico de los sujetos NP(17).

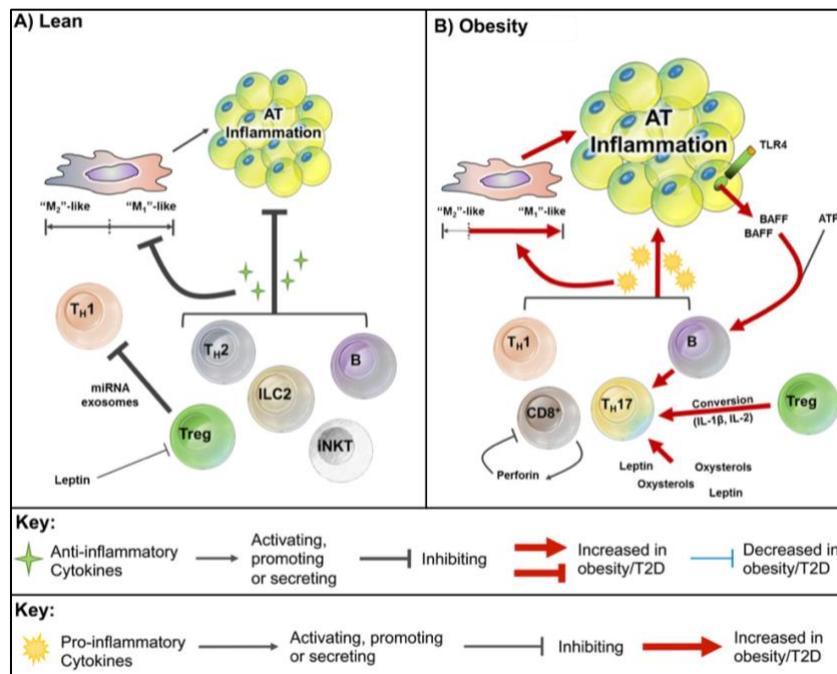


Figura 3. Células inmunes reclutadas a tejido adiposo visceral durante el progreso de la obesidad.

Fuente: Ip, et al(18).

Sin embargo, al ir ganando masa grasa, se promueve un incremento en los $M\phi$ residentes de TAV, ya que éstos se encargan de reclutar mayor cantidad de leucocitos circulantes (mediante la liberación de quimiocinas como MCP-1), cooperar con los adipocitos en la acumulación de lípidos (internalizando LDL-c por medio de sus transportadores de AG como CD36), así como de fagocitar células en proceso de necrosis a causa de la hipoxia en el tejido. Las condiciones oxidativas, inflamatorias e hipóxicas presentes en TAV durante la OB,

promueven la polarización de los M₂ residentes, hacia un perfil M₁ (clásicamente activado) caracterizado por el incremento en la expresión y liberación de TNF- α , IL-1 β , PAI-1 así como especies reactivas de oxígeno (EROs) creando un microambiente "obesogénico"(19). Se han descrito otros estímulos promotores de polarización M₁, principalmente mediada por AGL y citocinas perfil T_H1(19). También se ha reportado incremento en la afluencia de otras células inmunes a TAV durante la OB, principalmente linfocitos T cooperadores CD4⁺ (T_H), T citotóxicos CD8⁺ (L_C), linfocitos B (LB), neutrófilos, entre otros(18).

Así pues, el modelo de "plasticidad" M₁-M₂ es modulado por el microambiente propio del tejido, así como estímulos celulares, ya que, los macrófagos perfilados hacia un fenotipo M₂ se activan por un perfil de citocinas tipo T_H2 (IL-4 e IL-13), mientras que los M₁ requieren de citocinas tipo T_H1 (IFN- γ , TNF- α e IL-6) (19).

2.3.1 PERFILES INFLAMATORIOS T_H1/ T_H2/ T_H17

En los años 80's, con el advenimiento de la inmunología molecular, Coffman y Mosmann propusieron el modelo inflamatorio T_H1/T_H2, esclareciendo el importante concepto de las interacciones recíprocas entre subtipos de células T cooperadoras (T_H). Este modelo tiene por idea central que cada subtipo T_H posee la capacidad de estimular un grupo de funciones coordinadas anti-patógenos promoviendo el desarrollo de más células de su mismo subtipo, mientras que inhibe el desarrollo de el subgrupo opuesto, así como sus funciones efectoras(20).

En su descripción inicial, se consideró a las células T_H1 esenciales para la inmunidad humoral, cooperando con L_C y promoviendo una respuesta mediada por anticuerpos de isotipo G (IgG). Las células T_H1 son promovidas por IL-12 (vía STAT 4) e IFN- γ (vía STAT 1), lo que produce la expresión del factor transcripcional T-bet y la secreción de IFN- γ , citocina característica de este perfil(21,22).

Mientras que las células T_H2 son inducidas por IL-4 (vía STAT 6) lo que sobre-regula la transcripción de GATA 3, promoviendo la secreción de citocinas como: IL-4, IL-5 e IL-13, así como la producción de anticuerpos isotipo E (IgE)(22).

El posterior descubrimiento de las células T reguladoras (T_{reg}) y T_H17 complementó el escenario de diferenciación T_H(23).

2.3.2. CITOCINAS T_H1

2.3.2.1. Interferón gamma (IFN- γ)

Los interferones (IFNs) fueron descubiertos inicialmente como agentes interferentes de replicación viral, éstos se clasifican de acuerdo a la especificidad de su receptor y homología de secuencia en tipo I (IFN- α , IFN- β , IFN- ω e IFN- τ), los cuales son producidos en mayor

medida por células hematopoyéticas y fibroblastos; y tipo II (IFN- γ) cuya estructura no manifiesta relación a los interferones tipo I, se une a distinto receptor y se encuentra codificado en un locus distinto. IFN- γ es producido por LT_{H1} , L_C , LB , NK , NKT y CPA . La producción de IFN- γ es mediada principalmente por IL-12 e IL-18, y es inhibida como respuesta a IL-4, IL-10 y TGF- β (24,25).

IFN- γ ejerce su efecto al interaccionar con el receptor IFNGR (vía JAK1 - STAT 1), mediando la transcripción de proteínas asociadas a la respuesta inmune(26); es considerado la citocina característica del perfil T_{H1} y en condiciones de OB, se ha reportado su papel asociado a otras citocinas T_{H1} - M_1 (TNF- α , IL-12) en la promoción del estado inflamatorio(27). Además, se ha sugerido su papel en la patogenia vascular promoviendo el incremento en la producción de moléculas de adhesión, quimiocinas y CMH II; así como incrementando la capacidad de presentación antigénica por CE y $M\phi$ (28).

2.3.2.2. Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α)

TNF- α es una citocina miembro de la súper familia de ligandos TNF (19 proteínas transmembrana tipo II, caracterizadas por contener dominio de homología TNF en su región C-terminal) que posee importantes propiedades pro-inflamatorias tanto en la respuesta innata como adaptativa. Se ha reportado su expresión constitutiva en múltiples linajes celulares, principalmente macrófagos, monocitos, LT, adipocitos y fibroblastos(29,30)

Además de su papel en la inmunidad, el incremento en la expresión de TNF- α en condiciones de OB, tanto animal como humana, ha sido reportado desde finales de la década de los años 90's(31,32), sugiriendo su papel en el desarrollo de RI, al inhibir la actividad tirosina cinasa de IRS-1 promoviendo la fosforilación de sus residuos Serina. Se ha sugerido también, que TNF- α participa incrementando la producción de AGL en TAV, estimulando la lipólisis mediante la señalización con TNF- α RI promoviendo (vía MAP - JNK cinasas) la accesibilidad de sustrato a la lipasa de ácidos grasos. Otros reportes han demostrado disminución estadísticamente significativa en expresión de IRS-1 y GLUT-4 mediada por TNF- α (29).

2.3.2.3. Interleucina - 6 (IL-6)

IL-6 es una proteína perteneciente a una familia de citocinas de topología tetra-helicoidal(33), es producida por casi todos los subtipos leucocitarios y células estromales en respuesta a estímulos mediados por IL-1 β Y TNF- α . Durante su descripción inicial, a IL-6 se atribuyeron funciones como promover la expansión y activación linfocitaria, así como la regulación de la respuesta inflamatoria de fase aguda; sin embargo, recientemente se ha asociado al desarrollo de complicaciones vasculares, metabolismo lipídico, RI, actividad mitocondrial, entre otras(34).

Se estima que aproximadamente una tercera parte de la IL-6 circulante proviene de TAV(33) y se ha considerado que el incremento en su secreción durante condiciones de OB contribuye a promover el estado de disfunción metabólica. Sin embargo su papel en RI aún resulta controversial, si bien en algunos estudios realizados en modelos animales, la administración de IL-6 disminuye la capacidad de la insulina de inhibir la producción hepática de glucosa, otros han reportado que su deficiencia incrementa la RI en ratones sometidos a DRG; por lo que actualmente se sugiere que las distintas vías de señalización empleadas por IL-6, así como su origen (muscular o graso) podrían ser las responsables de este comportamiento pleiotrópico (15)(35,36).

2.3.2.4. Interleucina - 2 (IL-2)

IL-2 es una citocina encargada de promover la expansión y activación linfocitaria, en condiciones basales es producida en órganos linfoides secundarios por linfocitos T_H, y en menor proporción T_C, NK, NKT; se ha reportado su producción incrementada durante el proceso de presentación antigénica.

IL-2 señala mediante el factor transcripcional STAT 5 e influencia la diferenciación de linfocitos T_H en sus distintas subpoblaciones (T_{H1}, T_{H2}, T_{H17}, T_{reg}). En caso de T_{H1}, el contacto con IL-2 promueve el incremento en la producción de IL-12R y T-bet, lo que a su vez se traduce en la expresión aumentada de IFN- γ . Por otra parte, al interactuar con T_{H2} IL-2 induce la sobre-regulación de IL-4R incrementando notablemente la producción de

citocinas T_H2 (IL-4, IL-5 e IL-13). Sin embargo, a diferencia de los perfiles T_H1 y T_H2 , IL-2 inhibe la diferenciación T_H17 mediante la activación de STAT 5, que compite con STAT 3 para la unión al gen *Il17*, limitando la respuesta a IL-6; mientras que la polarización Treg es IL-2 dependiente(37).

Diversos estudios clínicos han reportado el incremento en las cifras plasmáticas de IL-2 asociadas a complicaciones vasculares, principalmente en patologías isquémicas y de angina inestable, reafirmando su papel en la activación LT(38).

2.3.3. CITOCINAS T_H2

2.3.3.1. Interleucina - 4 (IL-4)

IL-4 es una citocina que funciona como potente regulador inmunitario, es principalmente producida por mastocitos, eosinófilos, basófilos y T_H2 . Fue inicialmente descrita como un factor promotor de mitosis para LB, aunque también se ha descrito su papel promoviendo la supervivencia leucocitaria, reparación tisular y homeóstasis mediante la activación de M2.

IL-4 ejerce sus funciones mediante la activación del factor transcripcional STAT 6, el cual se dimeriza y trasloca al núcleo celular, promoviendo la transcripción de GATA 3, así como CMH II y cambio de isotipo a IgE en LB.

Recientemente se le han atribuido funciones en el metabolismo, principalmente relacionadas con la fosforilación de IRS-1 e IRS-2 favoreciendo la sensibilidad celular al efecto de la insulina(39). Otros reportes han sugerido que el aumento en su expresión promueve la tolerancia a la glucosa, así como se ha visto involucrada en el metabolismo de lípidos, regulando la liberación de adipocinas y AGL in vitro y modelo animal(40).

2.3.3.2. Interleucina - 10 (IL-10)

IL-10 es una citocina caracterizada por sus propiedades anti-inflamatorias, cuyo papel central consiste en limitar la respuesta inmune frente a patógenos, previniendo el daño en el hospedero, así como las patologías auto-inmunes.

IL-10 fue inicialmente descrita como una citocina T_H2 , aunque recientemente se ha vinculado con un perfil de tolerancia Treg; es producida principalmente por células del sistema inmune adaptativo T_H1 , T_H2 , T_H17 y T_{reg} , L_C , y $LB(41)$. IL-10 ejerce su efecto al señalizar con IL-10R vía STAT 3; su papel en relación al proceso inflamatorio asociado a OB aún es debatible, debido a que se han reportado cifras elevadas de esta citocina en relación al IMC, así como significativamente disminuidas en condiciones de SM, reportándose una disminución significativa al incluir la actividad física en el estilo de vida de los sujetos en estudio(42).

2.3.4. CITOCINAS T_H17

2.3.4.1. Interleucina - 17A (IL-17A)

IL-17 es una familia de seis proteínas (IL-17A - IL-17F) que comparten alto grado de homología molecular, siendo IL-17A la citocina expresada mayoritariamente en respuesta a estímulos sinérgicos mediados por IL-6 - TGF- β (43,44), o TNF- α - IL-23 vía IL-1 dependiente(45).

Se ha reportado la producción de IL-17A en células de origen mieloide (eosinófilos, neutrófilos, monocitos(46)), linfoide (promoviendo la secreción de quimiocinas CXCL8, CXCL6, CXCL1, ICAM-1 y GM-CSF(20)), así como en adipocitos humanos(47) y animales(46). Además, se han descrito concentraciones séricas estadísticamente superiores de IL-17A en sujetos OB respecto NP(47)(48); sugiriendo su papel en la regulación de adipogénesis y funciones metabólicas características de adipocitos maduros(47) de TAV respecto a TASC(47).

2.4. DISFUNCIÓN ENDOTELIAL

En condiciones homeostáticas, como respuesta a diversos estímulos mecánicos y químicos, el endotelio sintetiza y libera una gran cantidad de moléculas vasoactivas y moduladoras de crecimiento que se encargan de mediar el correcto funcionamiento vascular, regulando la trans migración leucocitaria, proliferación de células musculares, tono vascular y equilibrio pro-trombótico/ trombolítico(49).

Sin embargo, diversos estímulos pro-inflamatorios han sido vinculados al desarrollo de disfunción endotelial (DFE), principalmente adipocinas(50) y citocinas T_H1 (IL-1 β , IL-6, IFN- γ , TNF- α)(51); creando un estado de deterioro constante y progresivo en la pared vascular, que culmina con la pérdida parcial o total del equilibrio en la liberación de moléculas pro-trombóticas y anti-fibrinolíticas, producidas por la célula endotelial (CE).

Debido a que el endotelio regula múltiples funciones vasculares, a la fecha no existe un único marcador para evaluar la DFE *in vivo*, por ello la evaluación de una o más de estas funciones, es una potencial forma de evaluar su integridad. Un acercamiento común es la cuantificación plasmática de los marcadores de activación endotelial, como moléculas solubles de adhesión vascular (FvW, sCD40L), marcadores del estado pro-trombótico/ trombolítico (FvW, FT, PAI-1) y mediadores inflamatorios (PCR, IL-1 β , IL-6, TNF- α)(50)(52).

La DFE es hoy en día considerada un evento clave en el proceso de aterogénesis, siendo demostrado su papel como predecesor del desarrollo clínicamente detectable de las ECV.

Se ha descrito que los mismos eventos metabólico-inflamatorios asociadas a la OB que provocan DFE, interaccionan con receptores de superficie plaquetaria promoviendo su activación por múltiples vías; principalmente TNF- α (53), FvW y moléculas derivadas del EO(54). Durante este estado de activación exacerbada, la síntesis de mediadores plaquetarios (PAF-4, RANTES, serotonina, histamina, ADP y Ca^{+2}) se ve incrementada, lo cual se refleja en el aumento en el tamaño celular; de esta manera, determinar el volumen plaquetario medio (VPM) resulta una forma accesible de estimar activación plaquetaria.

Otras moléculas producidas en respuesta al estado inflamatorio crónico asociado a la OB, son el Factor von Willebrand y la fracción soluble del ligando CD40L, los cuales vinculan la interacción endotelio-plaquetaria, y sus elevadas cifras sanguíneas participan en la perpetuación del estado de DFE.

2.4.1. Factor von Willebrand (FvW)

El FvW es una glicoproteína de alto peso molecular que desempeña un papel vital en la hemostasia, sus principales funciones consisten en regular la adhesión plaquetaria a la pared vascular, promover la agregación inter-plaquetaria y servir como una proteína transportadora para el Factor VIII de la coagulación, estabilizando su estructura en circulación plasmática y protegiéndolo de la proteólisis. Es producido selectivamente por células endoteliales (CE) y en menor proporción por plaquetas (15%)(55).

Estudios *in vitro* han identificado diversos estímulos promotores para la expresión de FvW (trombina, histamina, radical superóxido, TNF- α , IL-6, IL-8), mientras que, el incremento en circulación y su papel como biomarcador de DFE han sido reportado en condiciones de OB, RI, SM y DM2(56–59) .

FvW es considerado además un importante predictor de ECV debido a su papel en la formación de trombos arteriales, ya que se ha sugerido que las altas concentraciones de esta molécula de agregación celular, así como el estado de DFE subyacente, contribuyen al desarrollo y progresión de la lesión aterosclerótica, pudiendo así derivar en un episodio oclusivo, como es el infarto agudo de miocardio(55).

2.4.2. Ligando soluble CD40 (sCD40L)

El ligando CD40, es miembro de la familia del TNF, expresado preferencialmente en la superficie de LT CD4⁺ activados, plaquetas y CE. Este ligando también puede ser escindido

de la superficie celular y liberado en forma soluble, biológicamente activa (sCD40L) que circula sistémicamente (60).

Durante la última década, se han establecido las interacciones de éste ligando inmunomodulador y se ha descrito su papel funcionando como un vínculo entre inflamación, aterosclerosis y trombosis(61). La expresión de sCD40L es inducida por estímulos inflamatorios (IL-1, TNF- α , IFN- γ) y de activación plaquetaria (trombina, colágena), vinculando al factor de transcripción NF- κ B en la regulación su expresión.

Steven et al(62) sugieren en su estudio, que la deficiencia de sCD40L en DFE asociada a OB resulta en la mejora del estado endotelial, disminución de la inflamación, activación plaquetaria y estrés oxidativo; demostrando que en pacientes OB, el incremento en las cifras séricas de sCD40L contribuye al aumento la expresión de genes pro-inflamatorios y liberación de IL-6 e IFN- γ .

Se ha reportado el aumento en la expresión de sCD40L en otras patologías como DM2 y SM, asociando las altas cifras de glucosa sérica con un incremento en su producción(63). Así como en pacientes con HTA, por lo que se sugiere su participación en la regulación del tono vascular(64,65), mediante el reclutamiento de células inmunológicas a la región adventicia, grasa perivascular, así como promoviendo la agregación plaquetaria y activación del sistema de coagulación(66).

Otros estudios han sugerido la participación de sCD40L en la estabilización de trombos ricos en plaquetas, inhibiendo la re-endotelización de los vasos dañados, y exacerbando el proceso de activación celular (67); promoviendo así, la trombosis arterial(66), aneurisma aórtico y síndrome coronario agudo(66).

2.5. FACTOR ACTIVADOR DE CÉLULAS B (BAFF)

B-cell activating factor (BAFF) ó Factor activador de células B, es una proteína transmembrana tipo II de 285 aminoácidos, perteneciente a la súper familia de ligandos TNF (TNFSF13B, CD257) que puede encontrarse anclada a la membrana de múltiples subtipos celulares o en forma de citocina soluble, al ser escindida proteolíticamente por proteasas tipo furina(68).

BAFF fue descubierto simultaneamente por varios grupos de investigación(69) a finales de los años 90's, por lo que a lo largo del tiempo ha sido denominado de forma diferente: BLyS(70), TALL-1(71), THANK(72), zTNF-4, TNFSF20(73). Inicialmente se describió su expresión y secreción por células de origen mieloide(69), tales como monocitos, macrófagos, mastocitos, basófilos(74) neutrófilos(75) y células dendríticas(76); sin embargo, recientemente se ha reportado su expresión en otros linajes celulares, como LT(77), CE(78) y más recientemente, adipocitos, en distintos estadios de diferenciación(79).

El gen codificante para BAFF (Figura 4) se encuentra localizado en el cromosoma 13q33.3; este consiste en 5 intrones y 6 exones, de los cuales: el 1 codifica para el dominio transmembrana, el 2 para el sitio de procesamiento de furina, mientras que los exones 3-6 codifican para el dominio de homología TNF. El promotor BAFF puede activarse por múltiples factores de transcripción, incluyendo la familia NFAT y NF- κ B (por la vía no canónica)(80).

Son multiples los estímulos que promueven la expresión de BAFF en distitnos tipos celulares, ésta se encuentra principalmente modulada por citocinas pro-inflamatorias tipo T_H1(IFN- γ (81), TNF- α (82)(79)), algunas moléculas bacterianas (LPS, PG(68)), EROs (H₂O₂(83)), DRG(84) e IL-10(85); mientras su regulación negativa se ha descrito vía IL-4 dependiente o mediante la administración del antioxidante N-acetil-cisteína(83).

Para llevar a cabo sus diversas funciones, BAFF interactúa con los receptores presentes en sus moléculas diana. Comparte mayor afinidad con BAFF-R (TNFRSF13C/ CD268), el cual se encuentra presente en LB, LT, Mφ y células plasmáticas, aunque también se han reportado interacciones de menor afinidad con los receptores BCMA (B cell maturation antigen/ TNFRSF17) y TACI (Transmembrane activation and calcium modulator and cyclophilin ligand interactor/ TNFRSF13B) principalmente estimulando LB en sus estadios previos de diferenciación(68,86).

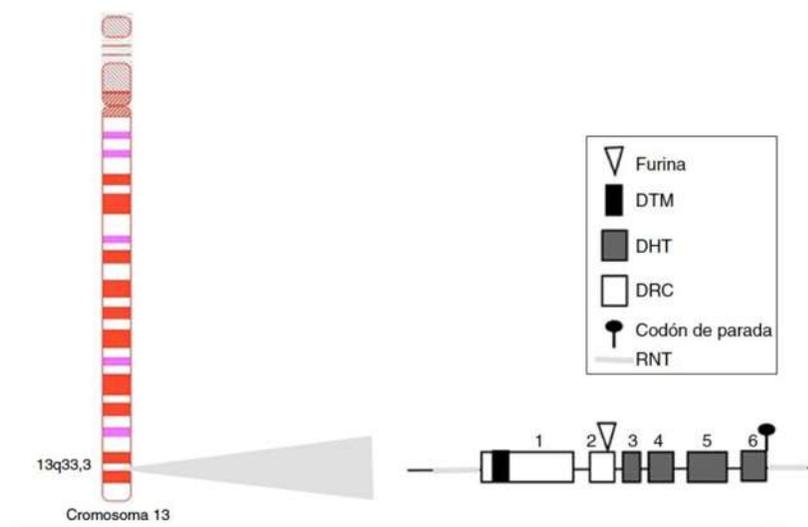


Figura 4. Gen codificante del Factor activador de células B (BAFF).

Fuente: Ospina, et al(80).

BAFF es conocido por su papel mediando la proliferación, diferenciación y supervivencia de LB (tipo 2) vía Bcl-2(87) (88); así como la promoviendo la producción de Ab y el cambio de isotipo(85). Debido a que múltiples células pueden liberar BAFF en forma soluble, recientemente se le ha atribuido también un papel importante mediando la proliferación(89) y polarización de LT CD4⁺ naïve hacia perfiles Th1/ Th17, dependiendo el contexto inflamatorio en el que la estimulación se lleve a cabo(90). BAFF se ha asociado además con importantes padecimientos inmunitarios, ya que la inhibición de su expresión lleva a la disminución de LB maduros, así como de Ac, condicionando a una respuesta inmunológica deficiente; mientras que su sobre-expresión ha sido vinculada con hiperplasia de LB,

producción de auto-Ac (anti-ADNdc, anti-SSA) y manifestaciones autoinmunes (Lupus eritematoso sistémico, Sjögren, Artritis reumatoide) (Figura 5)(80).

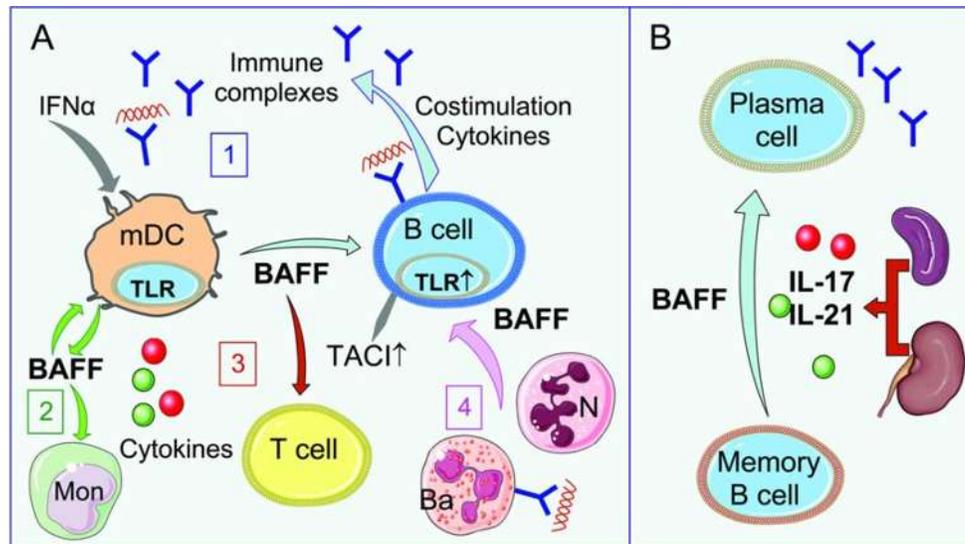


Figura 5. Vías de amplificación mediadas por el Factor activador de células B (BAFF).

Fuente: Davidson, et al(74).

Por otra parte, estudios realizados en tejido adiposo han reportado la expresión y secreción de BAFF en adipocitos humanos(79), más significativamente en aquellos localizados en TAV, por lo que su papel estimulando adipogénesis ha sido recientemente sugerido(78). Müller et al(91) evaluaron la expresión de BAFF en TAV humano durante diferenciación pre-adipocitaria, reportando que BAFF se expresa en adipocitos maduros *in vivo* y durante diferenciación adipocitaria *ex vivo*.

En TAV se ha reportado también el papel de BAFF sobre-regulando la expresión de TNF- α , IL-6 y MCP-1, así como incrementando la esteatosis hepática en modelo animal(92) y disminuyendo la internalización de glucosa *in vitro*; ésto último se ha visto acompañado por el incremento en la fosforilación de residuos Serina(307) en IRS-1 de manera análoga al funcionamiento descrito para TNF- α (93). En su estudio, Bienertova et al(94) reportaron cifras mayores de BAFF en pacientes OB respecto no-OB, así como asociación de su concentración sérica con marcadores antropométricos de OB (IMC, %GC, CC) y hábitos alimenticios; en una población de individuos adultos, caucásicos de Europa central.

3. JUSTIFICACIÓN

Debido a su alta prevalencia y al grado de discapacidad que genera, la OB se ha convertido en un grave problema de salud pública en México; esta patología, disminuye la calidad de vida de los individuos que la padecen, afectando principalmente a grupos poblacionales en edad productiva, lo que se ve reflejado en un incremento en los costos de salud.

Una de las consecuencias clínicas más relevantes de la OB, es la agresión crónica al endotelio que deriva en un proceso de disfunción. Este estado de DFE, es considerado el principal evento desencadenante en el desarrollo de patologías vasculares, donde la inflamación subclínica, desempeña un papel vinculante y fundamental.

En población europea, se ha reportado asociación entre IMC y las cifras séricas de BAFF; mientras que, en modelos animales, se ha sugerido su papel promoviendo la expresión de citocinas inflamatorias perfil TH1 en TAV, además de correlacionar con mayores cifras de glucemia; lo que sugiere su papel vinculando la inflamación asociada a la OB, con el desarrollo de RI.

De esta manera, aunque se ha propuesto el papel del BAFF en el desarrollo de RI, así como su participación en la exacerbación del estado inflamatorio asociado a OB, determinaciones séricas de ésta citocina, no han sido realizadas en población mexicana, por lo que llevarlas a cabo resulta de importancia para la mejor comprensión de su comportamiento, permitiéndonos evaluar si es que existe diferencia en sus cifras séricas respecto al IMC, así como si manifiesta algún comportamiento de asociación a biomarcadores clásicos de inflamación sistémica y DFE.

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La OB supone hoy en día un problema sanitario de primera magnitud, ésta es una enfermedad metabólica caracterizada por agresión crónica al endotelio y asociada a un riesgo incrementado de enfermedad vascular prematura. Esto deriva en un proceso de DFE, el cual juega un papel primordial en el desarrollo de complicaciones vasculares y precede a las evidencias clínicas más tempranas de aterosclerosis.

Varios estudios han demostrado la relación entre DFE y RI en condiciones de OB, donde además se ha observado un estado inflamatorio crónico subyacente. El mecanismo por el que la RI conduce a DFE es complejo e incluye la participación activa mediadores inflamatorios asociados al incremento en la OB abdominal.

Recientemente se ha reportado la producción de BAFF en TAV, resaltando que su expresión se ve incrementada bajo condiciones pro-inflamatorias. Además, al ser una molécula perteneciente a la superfamilia del TNF, se le ha relacionado con el desarrollo de RI; sin embargo, a la fecha no existen estudios realizados en población mexicana, que permitan establecer las concentraciones séricas basales de esta molécula, ni tampoco se ha establecido la relación que pudiese existir entre esta y biomarcadores inflamatorios o de DFE.

Lo que lleva al planteamiento de la siguiente pregunta de investigación:

¿Existe asociación entre las cifras séricas de BAFF y biomarcadores de inflamación y disfunción endotelial en pacientes con normopeso, sobrepeso y obesidad?

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Evaluar la asociación entre factor activador de células B (BAFF) y biomarcadores de inflamación y disfunción endotelial en pacientes con obesidad.

5.2. Objetivos específicos

- Determinar el BAFF sérico en pacientes con obesidad, sobrepeso y normopeso.
- Evaluar la disfunción endotelial mediante los biomarcadores: FvW y sCD40L, en pacientes con obesidad, sobrepeso y normopeso.
- Correlacionar el BAFF sérico con los valores de citocinas T_H1/T_H2/T_H17 (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, TNF- α , IFN- γ), biomarcadores de disfunción endotelial (FvW, sCD40L), índice HOMA-IR, y marcadores antropométricos (IMC, C. Cintura, %GC, %MM) en pacientes con obesidad, sobrepeso y normopeso.

6. HIPÓTESIS

Existe una correlación positiva entre el factor activador de células B (BAFF), los biomarcadores de inflamación y de disfunción endotelial, en pacientes con obesidad.

7. MATERIAL Y MÉTODOS

7.1. Tipo de estudio:

Estudio observacional, transversal y comparativo.

7.2. Diseño del estudio:

Estudio comparativo para investigar la asociación entre BAFF sérico, citocinas inflamatorias y biomarcadores de disfunción endotelial.

Se formaron 3 grupos de pacientes:

- Grupo NP: Personas con normopeso.
- Grupo SP: Pacientes con sobrepeso.
- Grupo OB: Pacientes con obesidad.

7.3. Universo de trabajo:

7.3.1. Para el Grupo NP:

Personas con peso normal ($18.5 \leq \text{IMC} < 25 \text{ Kg/m}^2$) acompañantes de los pacientes que asistieron a consulta en la Unidad de Medicina Familiar No. 80 (UMF No.80) del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), o estudiantes de la la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez” (FCMB) de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH), durante el periodo comprendido de junio a noviembre de 2017.

7.3.2. Para el Grupo SP:

Pacientes con sobrepeso ($25 \leq \text{IMC} < 30 \text{ Kg/m}^2$) que acudieron a consulta a la UMF No.80 - IMSS, o estudiantes de la FCMB - UMSNH, durante el periodo comprendido de junio a noviembre de 2017.

7.3.3. Para el Grupo OB:

Pacientes con obesidad ($30 \leq \text{IMC} < 40 \text{ Kg/m}^2$) que acudieron a consulta a la UMF No.80 - IMSS, o estudiantes de la FCMB - UMSNH, durante el periodo comprendido de junio a noviembre de 2017.

7.4 Tamaño de muestra:

Se calculó con la ecuación de diferencia de proporciones(95) de la siguiente manera:

$$n = \left[\frac{Z_{\alpha} \sqrt{2\pi_1(1 - \pi_1)} - Z_{\beta} \sqrt{\pi_1(1 - \pi_1) + \pi_2(1 - \pi_2)}}{\pi_1 - \pi_2} \right]^2$$

$$n = \left[\frac{(1.96) \sqrt{2(0.7)(1 - 0.7)} - (-1.645) \sqrt{0.7(1 - 0.7) + 0.3(1 - 0.3)}}{0.7 - 0.3} \right]^2$$

$$n = \left[\frac{(1.96) \sqrt{(1.4)(0.3)} - (-1.645) \sqrt{0.7(0.3) + 0.3(0.7)}}{0.4} \right]^2$$

$$n = \left[\frac{(1.96) \sqrt{(0.42)} - (-1.645) \sqrt{0.21 + 0.21}}{0.4} \right]^2$$

$$n = \left[\frac{(1.27) + (1.07)}{0.4} \right]^2$$

$$n = [5.85]^2 = 34 \text{ Pacientes por grupo.}$$

Donde:

$$Z_{\alpha} = (\alpha = 0.05) = 1.96$$

$$Z_{\beta} = (\beta \approx 0.10) \approx -1.645$$

π_1 = proporción estimada de concentraciones de BAFF altas en el grupo con OB (0.7)

π_2 = proporción de estimada de concentraciones de BAFF altas en el grupo sin OB (0.3)

$\pi_1 - \pi_2$ = diferencia entre proporción de grupo con OB – proporción de grupo sin OB (0.7-0.3)

7.5. Criterios de selección:

7.5.1. Criterios de inclusión:

Se incluyó a todas aquellas personas con las siguientes características:

- Hombre o mujer.
- Edad comprendida entre 18 - 50 años.
- Que desearon participar en el estudio y otorguen su consentimiento por escrito.
- Que acudieron a la UMF N°80 - IMSS o a la FCMB - UMSNH.
- Para el grupo NP: $18.5 \leq \text{IMC} < 25 \text{ Kg/m}^2$.
- Para el grupo SP: $25 \leq \text{IMC} < 30 \text{ Kg/m}^2$.
- Para el grupo OB: $30 \leq \text{IMC} < 40 \text{ Kg/m}^2$.

7.5.2. Criterios de no inclusión:

No se incluyó en el presente estudio todos aquellos individuos que:

- Presentaron un IMC fuera de los parámetros establecidos ($18.5 > \text{IMC} > 40 \text{ Kg/m}^2$).
- Se encontraban en tratamiento farmacológico y/o anti-inflamatorio al momento de la toma de muestra, o lo estuvieron en algún momento durante las dos semanas previas a ésta.
- Hubiesen sido vacunados, o presentado procesos infecciosos en el mes previo a la toma de muestra.
- Contaran con diagnóstico previo de patología tiroidea, hipertensión arterial, diabetes mellitus, enfermedad cardiovascular, enfermedad autoinmune y/o inmunodeficiencia.

7.5.3. Criterios de exclusión:

Únicamente fueron excluidos del estudio aquellas personas que:

- Se consideraron dentro del grupo NP pero presentaron una o más alteraciones metabólicas (glucemia basal alterada, hipercolesterolemia, dislipoproteinemia y/o hipertrigliceridemia).
- Decidieron retirarse voluntariamente del estudio.

7.6. Variables del estudio:

7.6.1. Variables independientes:

- Insulina, citocinas $T_H1/T_H2/T_H17$ (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17-A, TNF- α , IFN- γ), biomarcadores de disfunción endotelial (FvW, sCD40L), marcadores antropométricos (peso, talla, IMC, %GC, %Masa magra, C. Cintura, C. Cadera), glucosa, triglicéridos, colesterol total, HDL-c, LDL-c.

7.6.2. Variables dependientes:

- Factor activador de células B (BAFF).

7.7. Descripción operacional de las variables:

Variable:	Definición conceptual:	Definición operacional:	Tipo de variable:	Unidad de medida:
Edad	Término que se utiliza para hacer mención al tiempo que ha vivido una persona.	Cifra obtenida de la historia clínica, expresada en años.	Cuantitativa continua	Años
Sexo	Se refiere al género masculino o femenino, de la persona que participa en el estudio.	1: Masculino 2: Femenino	Catagórica	Masculino, Femenino
Tensión arterial	Fuerza que ejerce la sangre contra las paredes arteriales a medida que circula por ellas y es bombeada por el corazón.	Cifra obtenida con baumanómetro, expresada en milímetros de mercurio.	Cuantitativa continua	Milímetros de mercurio
Peso corporal	Es una magnitud vectorial, que se define como la fuerza con la cual un cuerpo actúa sobre un punto de apoyo, a causa de su atracción por la fuerza de gravedad.	Cifra obtenida del impedanciómetro, expresada en kilogramos.	Cuantitativa continua	Kilogramos.
Talla	Estatura o longitud del cuerpo humano desde la planta de los pies a la parte superior del cráneo.	Cifra obtenida del impedanciómetro, expresada en metros.	Cuantitativa continua	Metros.
Circunferencia de cintura	Circunferencia ubicada en el punto medio entre la última costilla y la parte superior de la cresta iliaca.	Cifra obtenida por una cinta métrica de fibra de vidrio, expresada en centímetros.	Cuantitativa continua	Centímetros

Circunferencia de cadera	Circunferencia en la zona más amplia localizada por encima de las nalgas.	Cifra obtenida por una cinta métrica de fibra de vidrio, expresada en centímetros.	Cuantitativa continua	Centímetros
Índice cintura/cadera	Medida antropométrica específica para medir los niveles de grasa intraabdominal. Es la relación matemática resultante de dividir el perímetro de cintura entre el de cadera.	Cifra obtenida de la relación circunferencia de cintura/circunferencia de cadera.	Cuantitativa continua	Sin unidades
Índice de masa corporal	Método que permite una clasificación sencilla de la obesidad. Es la relación existente entre el peso y la talla de una persona.	Cifra que se obtiene al dividir el peso corporal (kg) entre la talla al cuadrado (m ²).	Cuantitativa continua	Kilogramos sobre metros cuadrados
Grasa corporal	Tejido graso compuesto por adipocitos. Incluye grasa metabólicamente inactiva, subcutánea y visceral.	Cifra obtenida del impedanciómetro, expresada en porcentaje.	Cuantitativa continua	Porcentaje
Masa magra	Tejido libre de grasa en el que quedan incluidos todos los componentes funcionales del organismo, incluyendo huesos, músculos, tejido nervioso y agua extracelular.	Cifra obtenida del impedanciómetro, expresada en porcentaje.	Cuantitativa continua	Porcentaje
Glucosa	Carbohidrato obtenido de los alimentos, así como de su producción endógena en hígado y riñones por medio de la glucogenólisis y gluconeogénesis.	Cifra obtenida por estudios de laboratorio clínico, expresada en miligramos por decilitro.	Cuantitativa continua	Miligramos por decilitro

Colesterol total	Principal esteroles del organismo y precursor de todos los demás esteroides corporales. Se encuentra formando parte de membranas celulares, lipoproteínas, ácidos biliares y hormonas esteroideas.	Cifra obtenida por estudios de laboratorio clínico, expresada en miligramos por decilitro.	Cuantitativa continua	Miligramos por decilitro
Triglicéridos	Principal grasa transportada por el organismo recibe el nombre de su estructura química.	Cifra obtenida por estudios de laboratorio clínico, expresada en miligramos por decilitro.	Cuantitativa continua	Miligramos por decilitro
Colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad	Lipoproteínas que transportan el colesterol desde los tejidos del cuerpo hasta el hígado.	Cifra obtenida por estudios de laboratorio clínico, expresada en miligramos por decilitro.	Cuantitativa continua	Miligramos por decilitro
Colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad	Macromoléculas circulantes derivadas del procesamiento lipolítico de las VLDL por acción de lipasas extracelulares, principalmente la lipasa lipoproteica.	Cifra obtenida por estudios de laboratorio clínico, expresada en miligramos por decilitro.	Cuantitativa continua	Miligramos por decilitro
Insulina	Hormona sintetizada en las células-β del páncreas, responsable del control metabólico de la glucosa y regulación actividades hipoglucémicas como la gluconeogénesis y glucogenólisis.	Cifra obtenida por kit ELISA, expresada en microunidades internacionales por mililitro.	Cuantitativa continua	Microunidades internacionales por mililitro

HOMA-IR	Homeostatic model assessment, es un método empleado para evaluar la RI, relacionando las concentraciones séricas de glucosa e insulina.	Cifra obtenida al multiplicar glucosa por insulina (mg/dL) y dividir el resultado, entre 405.	Cuantitativa continua	Sin unidades
Interleucina-2	Factor de crecimiento y diferenciación para linfocitos T, regula sus respuestas mediante su acción sobre los LTregs.	Cifra obtenida por citometría de flujo, expresada en picogramos por mililitro.	Cuantitativa continua	Picogramos por mililitro
Interleucina-4	Principal estímulo para el desarrollo de linfocitos T _H 2 a partir de cooperadores CD4 ⁺ .	Cifra obtenida por citometría de flujo, expresada en picogramos por mililitro.	Cuantitativa continua	Picogramos por mililitro
Interleucina-6	Citocina que participa en la inmunidad innata y adaptativa, sintetizada por fagocitos mononucleares y células endoteliales en respuesta a otras citocinas como IL-1 y TNF- α .	Cifra obtenida por citometría de flujo, expresada en picogramos por mililitro.	Cuantitativa continua	Picogramos por mililitro
Interleucina-10	Citocina que actúa como inhibidor de los macrófagos, participando así en el control de las reacciones inmunes innatas	Cifra obtenida por citometría de flujo, expresada en picogramos por mililitro.	Cuantitativa continua	Picogramos por mililitro
Interleucina-17A	Citocina sintetizada por la subpoblación de linfocitos T CD4 ⁺ , estimula las células endoteliales y a los macrófagos para que sinteticen IL-1 y TNF- α .	Cifra obtenida por citometría de flujo, expresada en picogramos por mililitro.	Cuantitativa continua	Picogramos por mililitro

Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α)	Principal mediador de la respuesta inflamatoria aguda, producida por macrófagos, linfocitos T y NK, su producción se ve incrementada como respuesta al estímulo con IFN- γ .	Cifra obtenida por citometría de flujo, expresada en picogramos por mililitro.	Cuantitativa continua	Picogramos por mililitro
Interferón gamma (IFN- γ .)	Principal citocina producida por linfocitos NK, CD4 ⁺ y CD8 ⁺ , característica de la subpoblación TH1, activadora de macrófagos que tiene funciones fundamentales en la inmunidad innata y adaptiva.	Cifra obtenida por citometría de flujo, expresada en picogramos por mililitro.	Cuantitativa continua	Picogramos por mililitro
Factor von Willebrand	Glicoproteína que circula en la sangre unida al factor VIII de la coagulación y que facilita la formación del trombo plaquetario por medio de la formación de puentes con la glicoproteína IB.	Cifra obtenida por kit ELISA, expresada en microgramos por mililitro.	Cuantitativa continua	Microgramos por mililitro
Ligando soluble CD40	Complejo formado por proteína transmembrana y molécula de adherencia tisular, perteneciente a la familia TNF, tiene papel clave en la respuesta T dependiente de linfocitos B.	Cifra obtenida por kit ELISA, expresada en nanogramos por mililitro.	Cuantitativa continua	Nanogramos por mililitro
Factor activador de células B	Citocina perteneciente a la familia TNF que tiene importantes efectos sobre el desarrollo, activación, supervivencia, y diferenciación de linfocitos B, así como papel importante en la inmunidad humoral.	Cifra obtenida por kit ELISA, expresada en picogramos por mililitro.	Cuantitativa continua	Picogramos por mililitro

7.8. Descripción operativa del estudio:

A cada paciente que reunió los criterios de selección y aceptó participar en el estudio previa lectura y firma del consentimiento informado (Anexo I), se le citó en la Clínica de Obesidad UMF No.80 – IMSS o el Laboratorio de Biología Vascular y Hemostasia FCMB - UMSNH, para realizar:

7.8.1. Historia clínica:

Interrogatorio dirigido al paciente (Anexo II) con la finalidad de obtener: datos de identificación, antecedentes patológicos personales, frecuencia de consumo de fármacos ó aplicación de vacunas, así como hábitos y estilo de vida.

7.8.2. Exploración física:

Que incluyó la evaluación antropométrica de:

- **Peso corporal (kg):** Se determinó con ropa ligera, sin zapatos ni calcetines, utilizando un monitor de composición corporal Omron® HBF514-CLA.
- **Talla (m):** Con estadímetro calibrado, en posición erecta, con talones juntos y los pies separados en ángulo de 60°, la cabeza en plano horizontal de Francfort (línea imaginaria que une el borde superior del conducto auditivo con la órbita), brazos libres a los costados, y las palmas apuntando hacia las caderas.
- **Circunferencia de Cintura (cm):** En el punto medio entre el margen inferior de la última costilla palpable y el borde superior de la cresta iliaca, con cinta métrica que aporte 100g de tensión constante, al finalizar una espiración normal, con la pared abdominal relajada y previo ayuno(96).
- **Circunferencia de Cadera (cm):** En la porción más amplia de las nalgas, con cinta métrica colocada en orientación paralela al suelo(96).
- **Índice de Masa Corporal (kg/m²):** Calculado con la ecuación de Quetelet(97).
- **Porcentaje de Grasa corporal y Masa magra (%):** Se determinó con ropa ligera, sin

zapatos ni calcetines, con espalda recta y brazos estirados trazando un ángulo de 90° respecto al cuerpo, utilizando un monitor de composición corporal Omron® HBF514-CLA.

- Tensión Arterial (mmHg): Se determinó en brazo izquierdo descubierto, apoyado a la altura del corazón, estando sentado con la espalda recta y pies apoyados contra el suelo luego de reposo mínimo de 5 min, con un baumanómetro de mercurio calibrado(98).

7.8.3. Toma de muestra sanguínea:

La muestra sanguínea fue obtenida por punción en vena periférica bajo el siguiente protocolo: Asepsia de la región con torundas alcoholadas, aplicación de torniquete (cinta de látex) en el tercio distal del brazo seleccionado, punción con aguja 0.8 x 38 mm en la vena mediana preferentemente y obtención de 12 mL de sangre por presión negativa en tubos Vacutainer® respetando la jerarquía de llenado; obteniendo así un tubo de tapón azul con citrato de sodio como anticoagulante (3mL), dos de tapón rojo sin anticoagulante (3 mL cada uno) y uno de tapón lila con EDTA como anticoagulante (3mL).

7.8.3.1. Procesamiento de muestra sanguínea:

Tubo anticoagulado con EDTA (Tapón lila):

- Tubo I: Fue trasladado directamente al laboratorio de la UMF No.80 – IMSS para la realización de biometría hemática completa (28 parámetros) en equipo XN-1000 Sysmex®.

Tubos no anticoagulados (Tapón rojo):

- Tubo II: Se centrifugó a 3500 rpm durante 15 minutos en el laboratorio clínico de la UMF N°80, el suero obtenido fue trasladado en frío al laboratorio de Investigación clínica del CIBIMI para determinación de glucosa, triglicéridos, colesterol total, c-LDL y c-HDL, en equipo KontroLab ES-218®.

- Tubo III: Se centrifugó a 3500 rpm durante 15 minutos en el laboratorio clínico de la UMF N°80, el suero obtenido fue dividido en tres alícuotas que se trasladaron en frío al laboratorio de Investigación clínica del CIBIMI para ser congeladas a -80°C por un plazo no mayor a seis meses, hasta su utilización en la determinación de BAFF e insulina con estuches comerciales por la técnica de *Inmunoensayo por Absorción Ligado a Enzima* (ELISA) y citocinas Th1/Th2/Th17 por *Cytometric Bead Array* (CBA) – *Citometría de flujo*.

Tubo anticoagulado con Citrato de sodio (Tapón azul):

- Tubo IV: Se centrifugó a 3500 rpm durante 15 minutos en el laboratorio clínico de la UMF N°80, el plasma obtenido fue dividido en dos alícuotas que se trasladaron en frío al Laboratorio de Biología Vascular y Hemostasia FCMB - UMSNH para ser congeladas a -80°C por un plazo no mayor a seis meses, hasta su utilización en la cuantificación de FvW y sCD40L con estuches comerciales por la técnica de *Inmunoensayo por Absorción Ligado a Enzima* (ELISA).

7.8.3.2. Determinación de biomarcadores por técnica ELISA:

Inmunoensayo por Absorción Ligado a Enzima (ELISA): Es un protocolo diseñado para la detección e identificación de sustancias tales como péptidos, anticuerpos y hormonas. Este parte de una microplaca recubierta de anticuerpos (Ac) específicamente dirigidos al analito (Ag) que se espera encontrar en la muestra, lo que permite la formación de un complejo Ac-Ag, que es posteriormente inmovilizado en la superficie sólida por medio de un segundo anticuerpo biotinilado (Ac-Ag-Ac). Este complejo se identifica por acción de una peroxidasa (estreptavidina-peroxidasa) que se vincula al anticuerpo secundario y promueve la formación de un compuesto colorido cuantificable, que estará presente en relación proporcional a la cantidad de analito encontrado en la muestra.

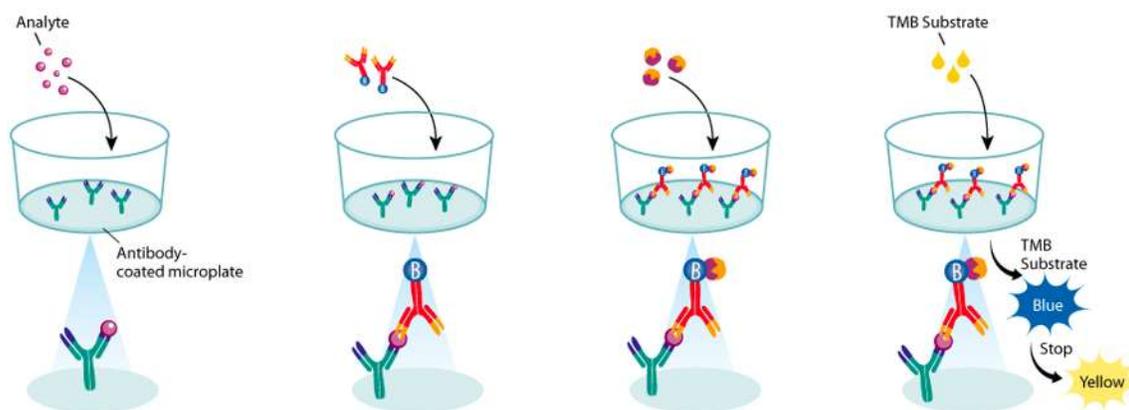
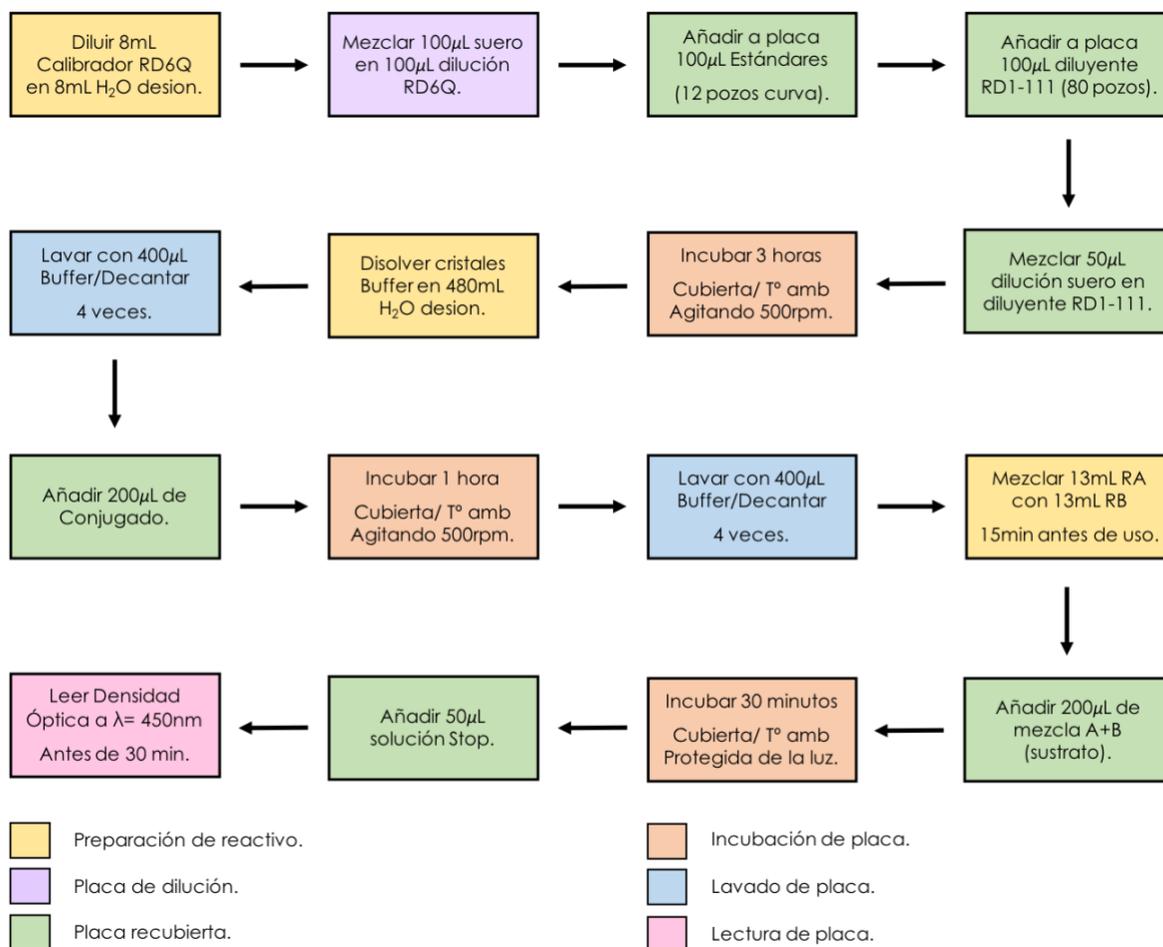


Figura 6. Inmunoensayo por Absorción Ligado a Enzima (ELISA).

Fuente: R&D Systems.

- Factor Activador de Células B (BAFF)

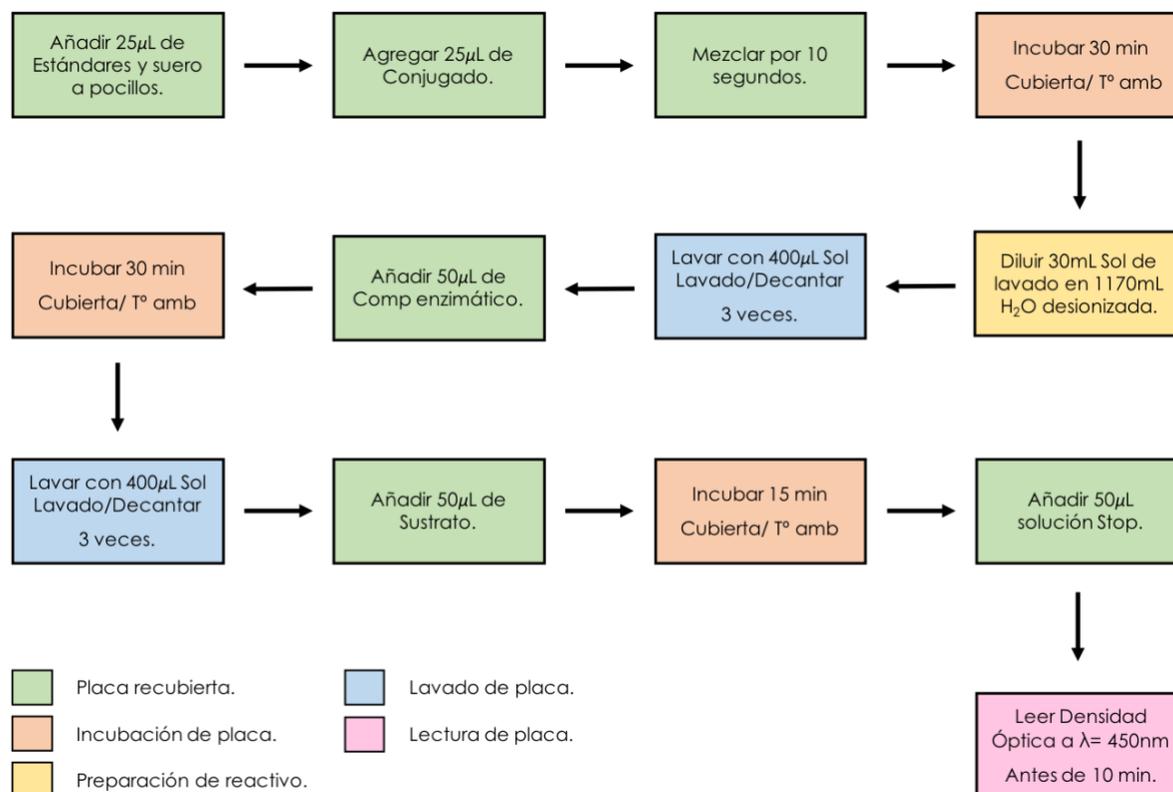
Esta citocina fue determinada con estuches comerciales Quantikine ELISA - Human BAFF/BLyS/TNFSF13B – R&D Systems®, de acuerdo al siguiente protocolo de trabajo.



La lectura de densidad óptica fue realizada por duplicado antes de transcurridos los 30 minutos posteriores a la terminación del ensayo, a una longitud de onda de 450 nm en lector de microplaca Thermo spectra rainbow - Tecan®. Se calculó el promedio de lectura y a éste se sustrajo el valor del estándar cero. Los resultados fueron interpolados en una curva logística de cuatro parámetros (4-PL) construida a partir de las lecturas ópticas obtenidas para los marcadores de concentración conocida provistos por el estuche.

- Insulina.

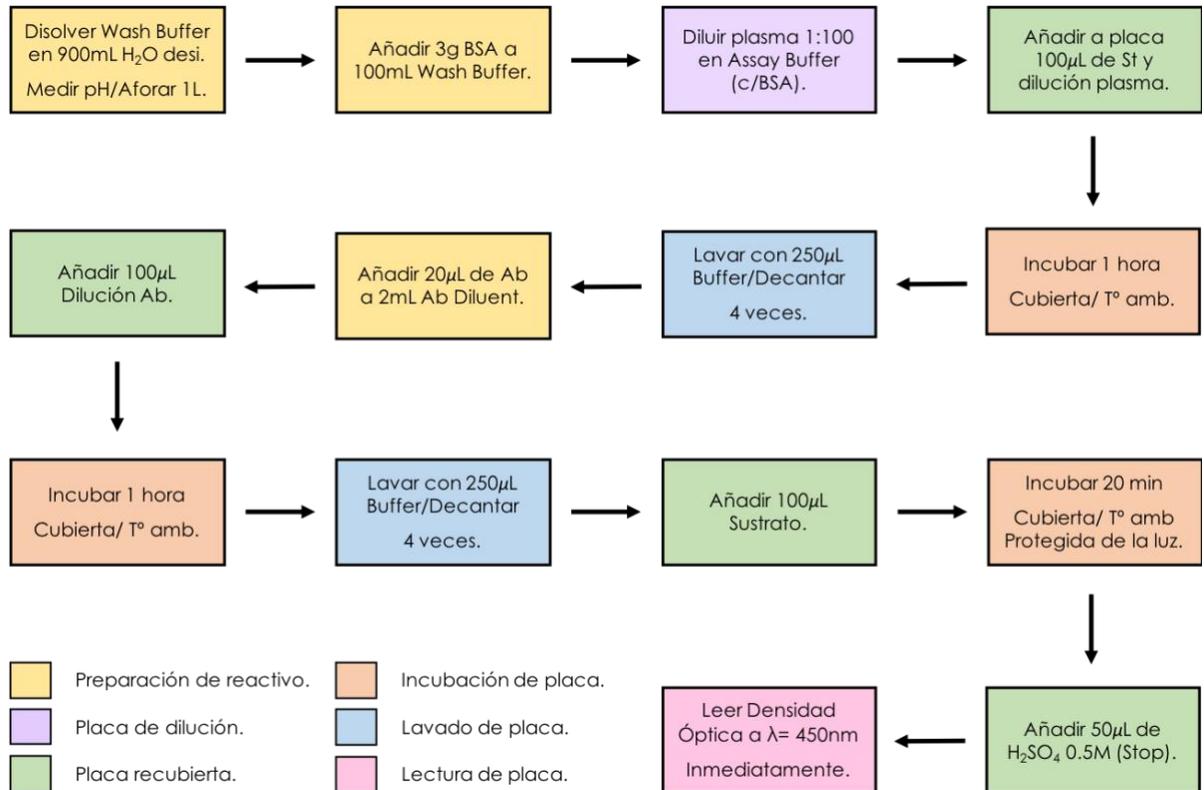
Esta hormona fue cuantificada utilizando estuches comerciales Insulin ELISA - DRG®, de acuerdo al siguiente esquema de trabajo.



La lectura de densidad óptica fue realizada por duplicado antes de transcurridos los 10 minutos posteriores a la adición de solución “Stop”, a una longitud de onda de 450 nm en lector de microplaca Thermo spectra rainbow - Tecan®. Fue calculado el promedio de lectura y los resultados se interpolaron en una curva estándar de comportamiento lineal construida a partir de las lecturas ópticas obtenidas para los marcadores de concentración conocida provistos por el estuche.

- Factor Von Willebrand.

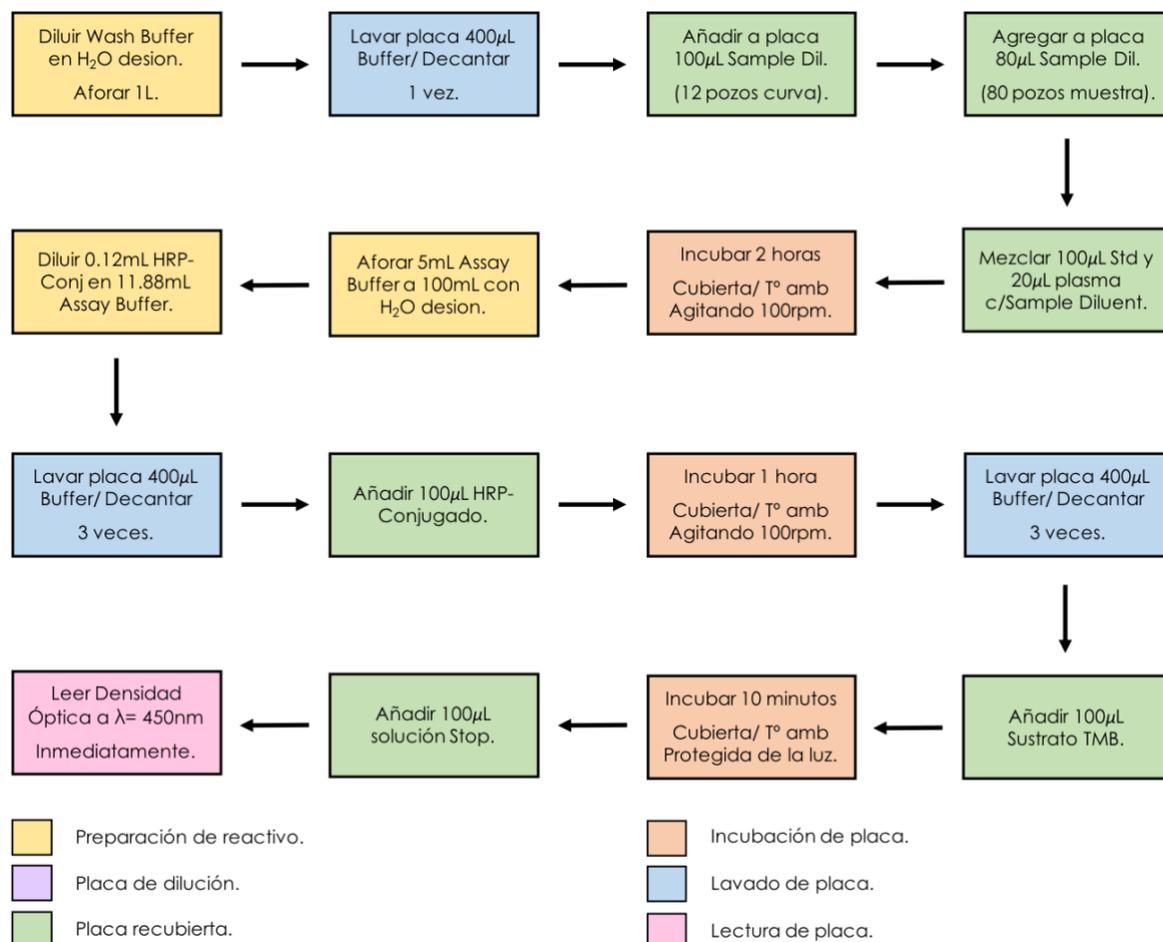
La fracción soluble de esta glucoproteína fue determinada con estuches comerciales Imubind vWF ELISA – Sekisui Diagnostics®, de acuerdo al siguiente protocolo de trabajo.



La lectura de densidad óptica fue realizada por duplicado inmediatamente después de añadir la solución “Stop”, a una longitud de onda de 450 nm en lector de microplaca Thermo spectra rainbow - Tecan®. Se calculó el promedio de lectura y a éste se sustrajo el valor del estándar cero. Los resultados fueron interpolados en una curva logística de cuatro parámetros (4-PL) construida a partir de las lecturas ópticas obtenidas para los marcadores de concentración conocida provistos por el estuche.

- Ligando soluble CD40.

La fracción soluble de esta glucoproteína fue determinada con estuches comerciales Human sCD40L - Platinum ELISA High sensitivity - Enzo®, de acuerdo al siguiente esquema de trabajo.



La lectura de densidad óptica fue realizada por duplicado inmediatamente después de la finalización del ensayo, a una longitud de onda de 450 nm en lector de microplaca Thermo spectra rainbow - Tecan®. Se calculó el promedio de lectura y a éste se sustrajo el valor del estándar cero. Los resultados fueron interpolados en una curva logística de cuatro parámetros (4-PL) construida a partir de las lecturas ópticas obtenidas para los marcadores de concentración conocida provistos por el estuche.

7.8.3.3. Determinación de biomarcadores por técnica CBA:

Cytometric Bead Array (CBA) – Citometría de flujo: Es un método que permite la captura de uno o más analitos solubles con perlas de tamaño y fluorescencia conocidos, haciendo posible su detección por citometría de flujo. En este ensayo cada perla de captura se encuentra conjugada a un anticuerpo específico que, al entrar en contacto con el analito, forma complejos detectables con un segundo anticuerpo conjugado a un fluorocromo específico, lo que provee señales fluorescentes cuantificables por citometría de flujo, directamente proporcionales a la concentración del analito en la muestra.

Para determinar citocinas humanas $T_H1/T_H2/T_H17$, siete poblaciones de perlas con distinta intensidad de fluorescencia (APC) se encuentran recubiertas con anticuerpos de captura específicos para IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, TNF- α e IFN- γ ; éstas son mezcladas para formar una “Matriz de perlas” la cual es resuelta en el canal rojo de un citómetro de flujo. Durante el ensayo las perlas se ponen en contacto con muestras y son incubadas con anticuerpos conjugados a ficoeritrina (PE). La intensidad de fluorescencia en PE del complejo perla-analito-anticuerpo, revela la concentración de cada citocina.

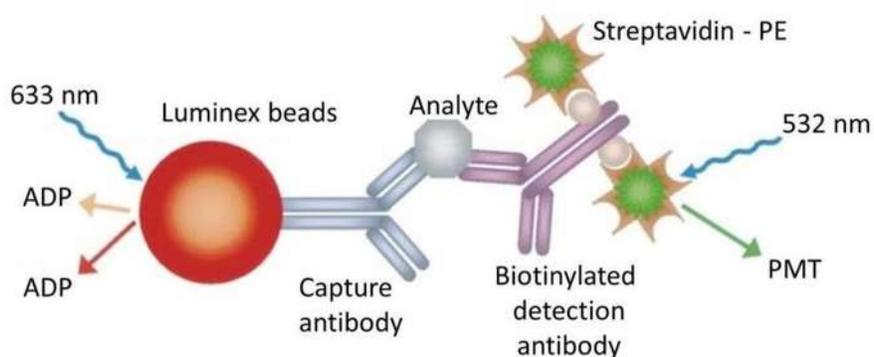
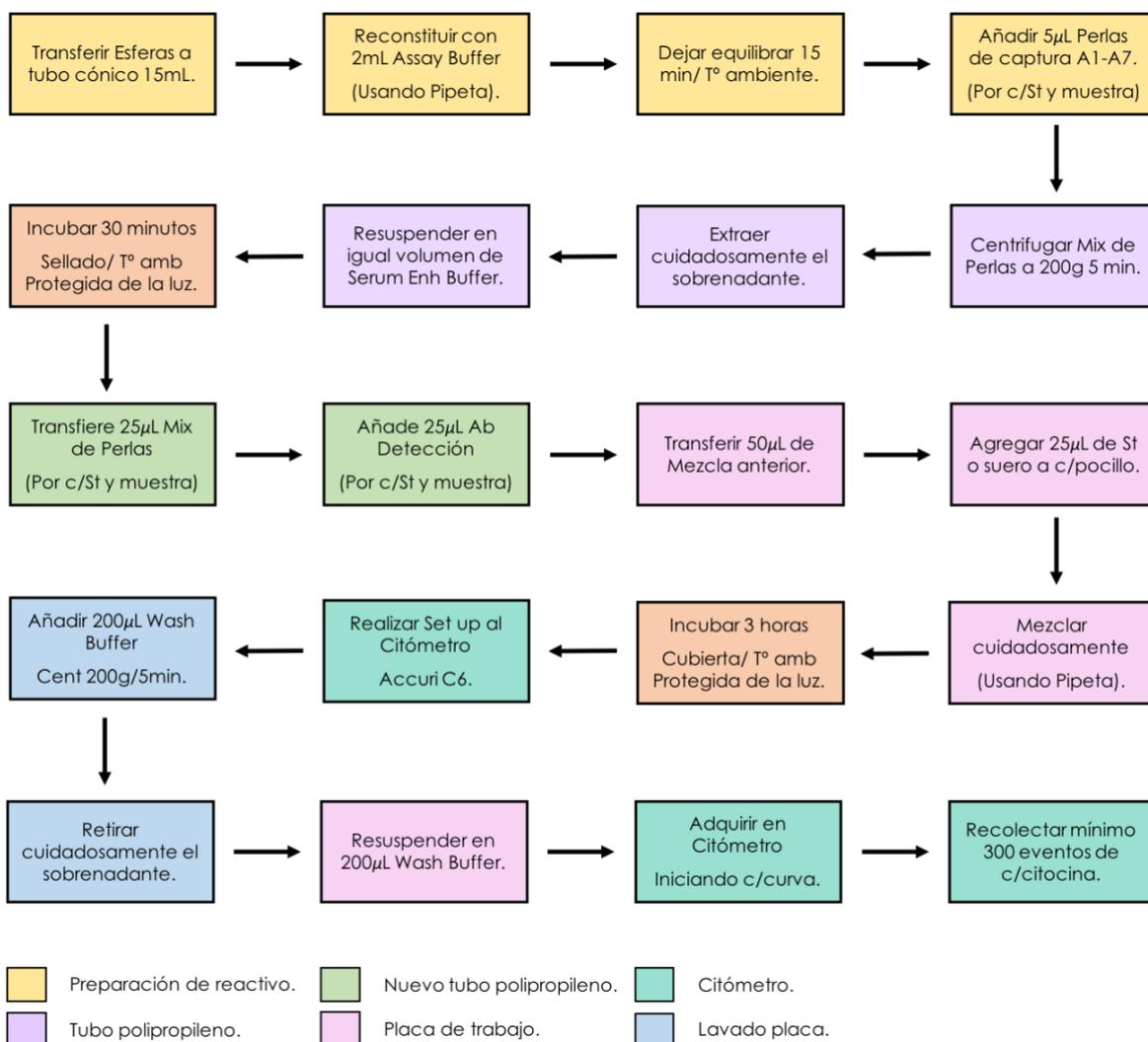


Figura 7. Cytometric Bead Array (CBA) – Citometría de flujo.

Fuente: R&D Systems.

Las citocinas $T_H1/T_H2/T_H17$ (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, TNF- α e IFN- γ) fueron cuantificadas con estuches comerciales Cytometric Bead Array (CBA) – Human $T_H1/T_H2/T_H17$ Cytokine kit - BD® de acuerdo al siguiente protocolo de trabajo.



Las perlas fueron identificadas en FSC-H/SSC-H y sus fluorescencias en FL-3 (670LP), mientras que las citocinas reportadas por los anticuerpos conjugados a PE se resolvieron en el detector FL-2 (585/40nm) de un Citómetro de flujo – Accuri C6 BD®. Se calculó la intensidad media de fluorescencia (IMF) para cada citocina y a ésta se sustrajo el valor del estándar cero. Los resultados fueron interpolados en una curva logística de cuatro parámetros (4-PL) construida a partir de las IMF obtenidas para los marcadores de concentración

conocida provistos por el estuche, con ayuda del Software para procesamiento de datos FCAP Array 3.0 BD®.

7.9. Procesamiento de los datos:

Para el análisis estadístico se realizó un vaciado de los resultados obtenidos a una base de datos en el paquete SPSS versión 23.0 para Mac.

7.10. Análisis estadístico:

Se realizó la prueba Kolmogorov-Smirnov con corrección de Lilliefors para evaluar la normalidad de los datos y de acuerdo a su comportamiento, las variables numéricas continuas se expresaron en media \pm desviación estándar o mediana con rango intercuartílico, respectivamente; mientras que las variables categóricas se mostraron en frecuencias.

Para el contraste de las concentraciones de BAFF, biomarcadores de inflamación y disfunción endotelial entre grupos, se realizaron ANOVA de una vía con post-hoc Tukey y Kruskal Wallis con U de Mann-Whitney, para muestras independientes.

Mientras que, para estimar la asociación entre BAFF sérico y biomarcadores de inflamación, disfunción endotelial, índice HOMA-IR y marcadores antropométricos, se llevaron a cabo correlaciones de Pearson, Spearman y análisis de regresión lineal múltiple. Se consideró significancia estadística un valor de $P < 0.05$.

8. RESULTADOS

Durante el periodo comprendido de junio a noviembre del 2017, fueron reclutados 166 individuos, de los cuales 25 no se incluyeron en el estudio, debido a que, durante el interrogatorio refirieron tener diagnóstico de alguna patología, o encontrarse en tratamiento farmacológico con antiinflamatorios; tampoco se incluyó a aquellos que durante la exploración física presentaron un IMC fuera del rango establecido ($18.5 > \text{IMC} > 40 \text{ Kg/m}^2$), o acudieron sin el ayuno necesario para la toma de muestra sanguínea.

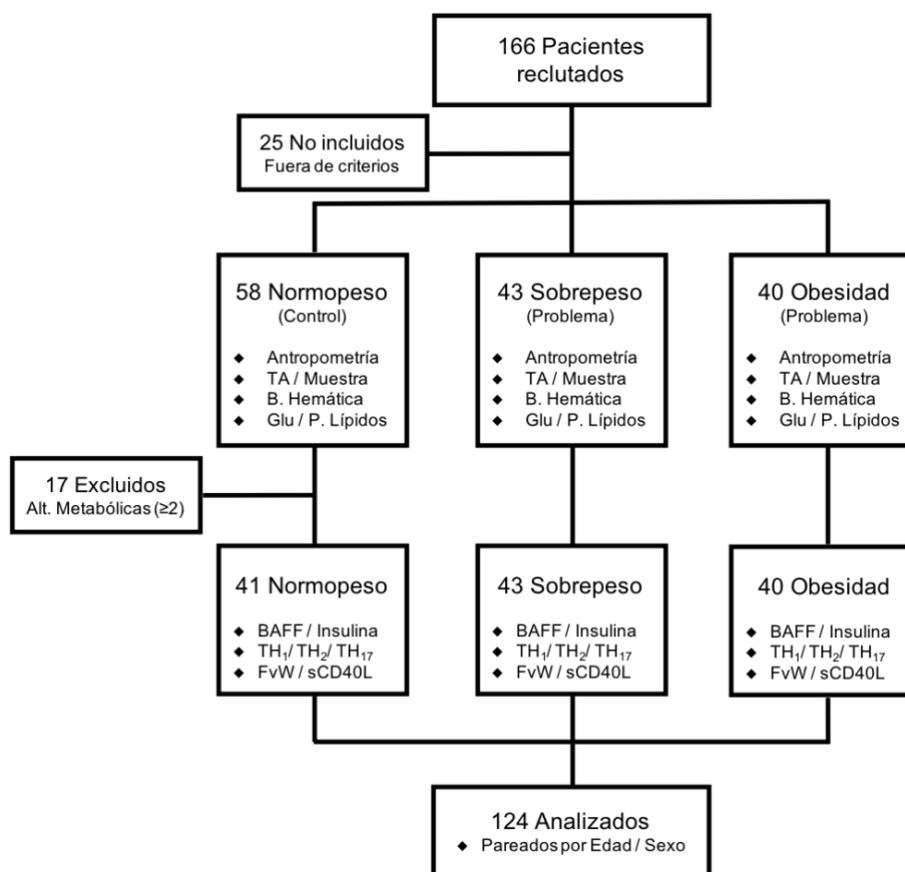


Figura 8. Esquema del estudio.

Los 141 sujetos restantes, fueron incluidos al estudio y clasificados de acuerdo a su IMC en los grupos: **Normopeso (NP)**, **Sobrepeso (SP)** y **Obesidad (OB)**, respectivamente. Sin embargo, 17 individuos del grupo NP fueron excluidos por presentar dos o más alteraciones

metabólicas (glucemia >100mg/dL, CT >200 mg/dL, HDL-c <50 mg/dL mujeres o <40 mg/dL hombres, LDL-c >100 mg/dL y/o TG >150 mg/dL) que imposibilitaran su participación como sujetos de referencia. Por lo que finalmente, se analizaron 124 pacientes, pareados por edad (± 2 años) y sexo (Figura 8); cuyas características clínicas y bioquímicas se muestran en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Características clínicas y bioquímicas de los pacientes de acuerdo a su IMC.

Variable	Normopeso n = 41	Sobrepeso n = 43	Obesidad n = 40	p
Edad (años)	33.88 \pm 9.53	35.19 \pm 8.96	35.53 \pm 8.96	0.692
PAS (mmHg)	105.14 \pm 10.44	110.48 \pm 11.47 ⁹	116.47 \pm 8.84 [‡]	0.0001 ^Φ
PAD (mmHg)	68.11 \pm 6.56 ⁰	73.10 \pm 9.17 ⁹	77.94 \pm 6.41 [‡]	0.0001 ^Φ
Glucosa (mg/dL)	85.88 \pm 9.75	90.61 \pm 8.95	94.19 \pm 9.80 [‡]	0.001 ^Φ
TG (mg/dL)	86.64 \pm 42.53 ⁰	140.84 \pm 94.83	157.68 \pm 58.49 [‡]	0.0001 ^Φ
CT (mg/dL)	164.45 \pm 26.65	175.86 \pm 32.62	182.00 \pm 33.50 [‡]	0.037*
HDL-c (mg/dL)	48.86 \pm 10.26	44.37 \pm 8.38	41.65 \pm 7.05 [‡]	0.001*
LDL-c (mg/dL)	97.83 \pm 22.83	103.31 \pm 31.16	110.89 \pm 33.45	0.140
Insulina (μ UI/mL)	10.94 \pm 10.30	15.65 \pm 11.05 ⁹	26.96 \pm 16.22 [‡]	0.0001 ^Φ
HOMA-IR	2.33 \pm 2.18 ⁰	3.64 \pm 2.66 ⁹	6.42 \pm 4.11 [‡]	0.0001 ^Φ

PAS: Presión arterial sistólica; PAD: Presión arterial diastólica; TG: Triglicéridos; CT: Colesterol total; HDL-c: Colesterol asociado a lipoproteínas de alta densidad; LDL-c: Colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad; HOMA-IR: Homeostasis model assessment - Insulin resistance

*Prueba ANOVA de una vía para medidas independientes con post-hoc Tukey.

^ΦPrueba de Kruskal-Wallis con U de Mann-Whitney. p<0.05

[‡]Obesidad vs Normopeso ⁹Sobrepeso vs Obesidad ⁰Normopeso vs Sobrepeso.

Al evaluar las variables clínicas y bioquímicas, se observó homogeneidad (intra e intergrupo) respecto a la edad de los individuos estudiados (p>0.05). Además, pudo apreciarse un incremento proporcional y estadísticamente significativo en las cifras de presión arterial (p<0.0001), glucosa sérica (p<0.001), perfil de lípidos (excepto LDL-c), insulina (p<0.0001) y HOMA-IR (p<0.0001) en relación al IMC de los individuos en estudio. Las cifras promedio de glucosa, colesterol total y HDL-c, se encontraron dentro del rango de normalidad para

todos los grupos; mientras que en SP y OB la insulina, LDL-c y HOMA-IR se encontraron por encima de los límites recomendables, así como los triglicéridos en el caso de OB.

El Cuadro 3 muestra la frecuencia en las alteraciones clínicas y bioquímicas de los individuos de acuerdo a su IMC. En éste puede observarse la presencia de obesidad abdominal aún en los individuos considerados con normopeso (13% cintura, 30%ICC); así como la baja frecuencia de hipertensión en los sujetos obesos (9%). Respecto al perfil metabólico, se aprecia una alta frecuencia de dislipidemia en los individuos NP (39% HDL-c, 44% LDL-c) a pesar de incluirse en este grupo a sujetos que no presentaron más de una alteración metabólica. Esta misma anomalía en los valores de HDL-c y LDL-c se observó en los sujetos con SP (42% HDL-c, 47%LDL-c) y OB (61% HDL-c, 50%LDL-c) aunada a hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia en ambos casos. Destacó también la importante frecuencia de resistencia a la insulina en todos los grupos, siendo más prevalente en el caso de los sujetos con SP (47%) y OB (89%).

Cuadro 3. Frecuencia de alteraciones clínicas y bioquímicas en los pacientes en estudio.

Variable	Normopeso n (%)	Sobrepeso n (%)	Obesidad n (%)
C. Cintura \geq 90(H) y 85(M) cm	5 (13%)	26 (62%)	40 (100%)
ICC \geq 0.9(H) y 0.85(M)	12 (30%)	18 (43%)	26 (68%)
TAS \geq 130 o TAD \geq 85 mmHg	0 (0%)	5 (12%)	3 (9%)
Glucosa \geq 100 mg/dL	2 (5%)	4 (9%)	11 (28%)
Triglicéridos \geq 150 mg/dL	4 (10%)	11 (26%)	20 (50%)
Colesterol Total \geq 200 mg/dL	2 (5%)	11 (26%)	12 (30%)
HDL-c $<$ 40(H) y 50(M) mg/dL	16 (39%)	18 (42%)	23 (61%)
LDL-c \geq 100 mg/dL	17 (44%)	20 (47%)	20 (50%)
HOMA-IR \geq 2.4	6 (17%)	20 (47%)	31 (89%)

H: Hombre; M: Mujer.

En el Cuadro 4 se resumen las características antropométricas de los sujetos en estudio, de acuerdo a su IMC. En donde, como era de esperarse, se muestran diferencias estadísticamente significativas entre grupos, respecto a parámetros indicadores de obesidad general: peso ($p<0.0001$), %GC ($p<0.0001$) y %MM ($p=0.012$); así como de obesidad abdominal: C. cintura ($p<0.0001$), C. cadera ($p<0.0001$) e ICC ($p<0.0001$).

Cuadro 4. Características antropométricas de los pacientes en estudio de acuerdo a su IMC.

Variable	Normopeso n = 41	Sobrepeso n = 43	Obesidad n = 40	p
Peso (kg)	61.51 ± 7.87 ⁰	73.72 ± 8.05 ⁹	96.91 ± 15.29 [‡]	0.0001 ^Φ
Talla (m)	1.66 ± 0.08	1.65 ± 0.08 ⁹	1.70 ± 0.09	0.037*
IMC (kg/m ²)	22.303 ± 1.56 ⁰	26.93 ± 1.36 ⁹	33.53 ± 3.30 [‡]	0.0001 ^Φ
C. cintura (cm)	79.60 ± 6.37 ⁰	89.05 ± 5.93 ⁹	106.61 ± 10.04 [‡]	0.0001*
C. cadera (cm)	96.80 ± 6.03 ⁰	104.67 ± 6.02 ⁹	116.82 ± 8.92 [‡]	0.0001 ^Φ
ICC	0.82 ± 0.06	0.85 ± 0.07 ⁹	0.91 ± 0.07 [‡]	0.0001*
GC (%)	28.47 ± 7.39 ⁰	34.43 ± 7.17 ⁹	39.58 ± 7.40 [‡]	0.0001*
MM (%)	31.96 ± 6.16	29.50 ± 5.29	27.34 ± 4.30 [‡]	0.012

IMC; Índice de masa corporal; GC: Grasa corporal; MM: Masa magra.

*Prueba ANOVA de una vía para medidas independientes con post-hoc Tukey.

^ΦPrueba de Kruskal-Wallis con U de Mann-Whitney. $p<0.05$

[‡]Obesidad vs Normopeso ⁹Sobrepeso vs Obesidad ⁰Normopeso vs Sobrepeso.

El Cuadro 5 muestra las cifras séricas/plasmáticas de biomarcadores de inflamación en los pacientes estudiados, donde resalta la diferencia estadísticamente significativa entre individuos OB y NP, para IL-2 ($3.58 ± 5.64$ vs $3.69 ± 1.39$; $p=0.003$), IL-6 ($5.45 ± 3.02$ vs $6.47 ± 7.58$; $p=0.019$), IL-10 ($5.96 ± 4.19$ vs $4.80 ± 1.88$; $p<0.0001$), IL-17A ($13.35 ± 10.28$ vs $8.83 ± 4.91$; $p=0.025$) y TNF- α ($6.97 ± 9.45$ vs $4.58 ± 1.18$; $p<0.0001$). Estas mismas diferencias pudieron observarse entre sujetos OB y SP con excepción de IL-2 ($3.58 ± 5.64$ vs $3.13 ± 1.18$; $p>0.05$), mientras que, entre los individuos SP y NP los parámetros inflamatorios manifestaron un comportamiento homogéneo en todos los casos ($p>0.05$).

Cuadro 5. Biomarcadores de inflamación en los pacientes de acuerdo a su IMC.

Variable	Normopeso n = 41	Sobrepeso n = 43	Obesidad n = 40	p
IL-2 (pg/mL)	3.69 ± 1.39	3.13 ± 1.18	3.58 ± 5.64 [‡]	0.003 ^Φ
IL-4 (pg/mL)	6.45 ± 1.13	6.42 ± 1.35	6.44 ± 2.20	0.562
IL-6 (pg/mL)	6.47 ± 7.58	4.30 ± 1.32 ⁹	5.45 ± 3.02 [‡]	0.019 ^Φ
IL-10 (pg/mL)	4.80 ± 1.88	4.73 ± 0.72 ⁹	5.96 ± 4.19 [‡]	0.0001 ^Φ
IL-17A (pg/mL)	8.83 ± 4.91	11.49 ± 12.48 ⁹	13.35 ± 10.28 [‡]	0.025 ^Φ
TNF-α (pg/mL)	4.58 ± 1.18	4.95 ± 1.20 ⁹	6.97 ± 9.45 [‡]	0.0001 ^Φ
IFN-γ (pg/mL)	0.85 ± 0.07	0.86 ± 0.10	0.85 ± 0.06	0.217
VPM (fL)	10.76 ± 0.81	10.72 ± 0.98	10.53 ± 2.08	0.797

IL-2: Interleucina 2; IL-4: Interleucina 4; IL-6: Interleucina 6; IL-10: Interleucina 10; IL-17A: Interleucina 17A; TNF-α: Factor de necrosis tumoral alfa; IFN-γ: Interferón gamma; VPM: Volumen plaquetario medio.

^ΦPrueba de Kruskal-Wallis con U de Mann-Whitney. p<0.05

[‡]Obesidad vs Normopeso ⁹Sobrepeso vs Obesidad ^θNormopeso vs Sobrepeso.

La Figura 9 muestra la concentración media de citocinas TH1/TH2/TH17 en suero de los sujetos estudiados, de acuerdo a su IMC.

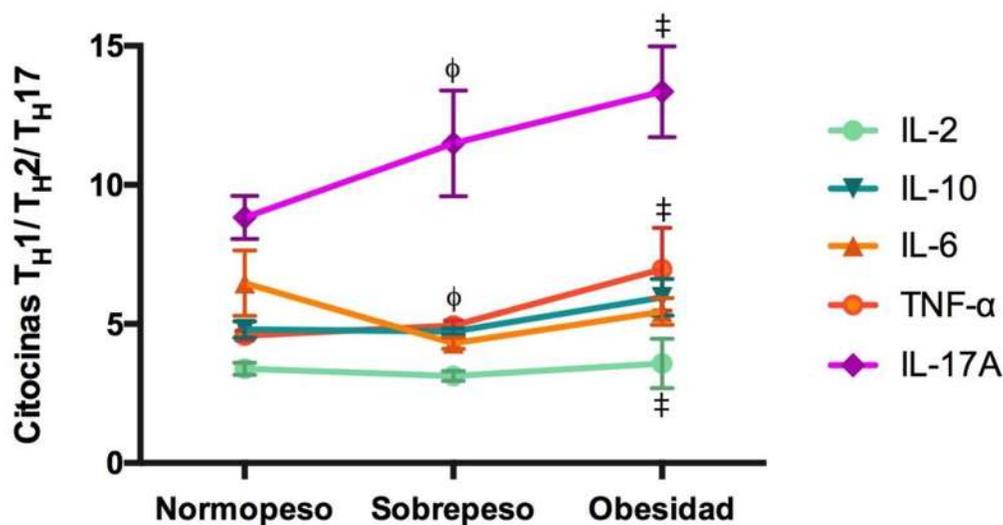


Figura 9. Citocinas TH1/TH2/TH17 en los sujetos en estudio, de acuerdo a su IMC.

El resto de los resultados se presenta en función a los objetivos específicos planteados al llevar a cabo el presente estudio.

8.1. BAFF sérico en pacientes con obesidad, sobrepeso y normopeso.

La Figura 10 muestra las cifras séricas de BAFF en pacientes con OB, SP y NP; donde se observa un incremento en la concentración circulante de esta molécula en función al aumento de IMC, existiendo así, diferencia estadísticamente significativa entre individuos OB vs SP ($p=0.029$), OB vs NP ($p<0.0001$) y SP vs NP ($p=0.028$).

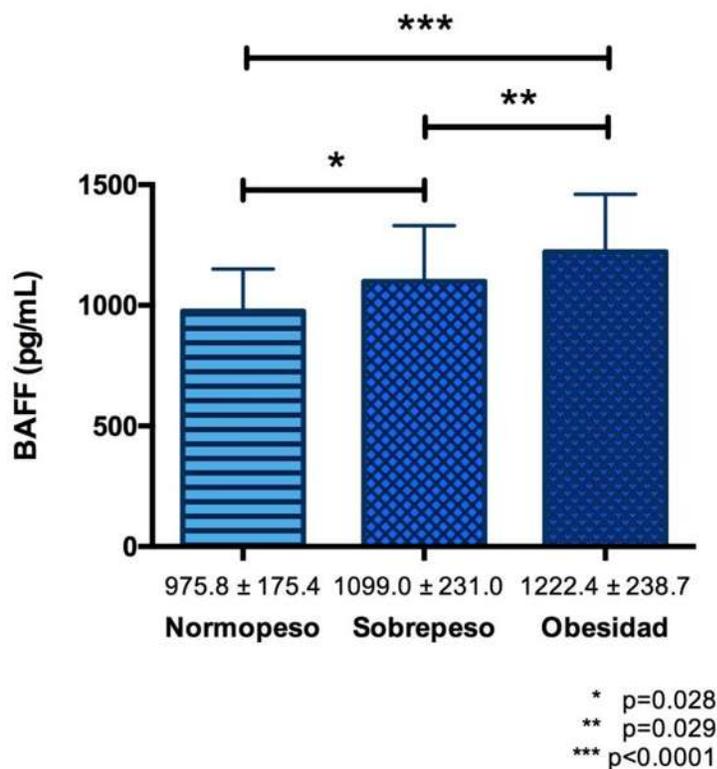


Figura 10. Factor activador de células B (BAFF) en los sujetos de estudio, de acuerdo a su IMC.

8.2. Evaluación de Disfunción endotelial mediante los biomarcadores: FvW y sCD40L, en pacientes con obesidad, sobrepeso y normopeso.

La Figura 11 muestra los valores plasmáticos de FvW en individuos con OB, SP y NP; donde puede observarse mayor presencia circulante de esta molécula de adhesión celular en individuos con SP ($p < 0.0001$) y OB ($p < 0.0001$) respecto a aquellos con NP, mientras que no existió diferencia estadísticamente significativa entre sujetos SP y OB ($p > 0.05$).

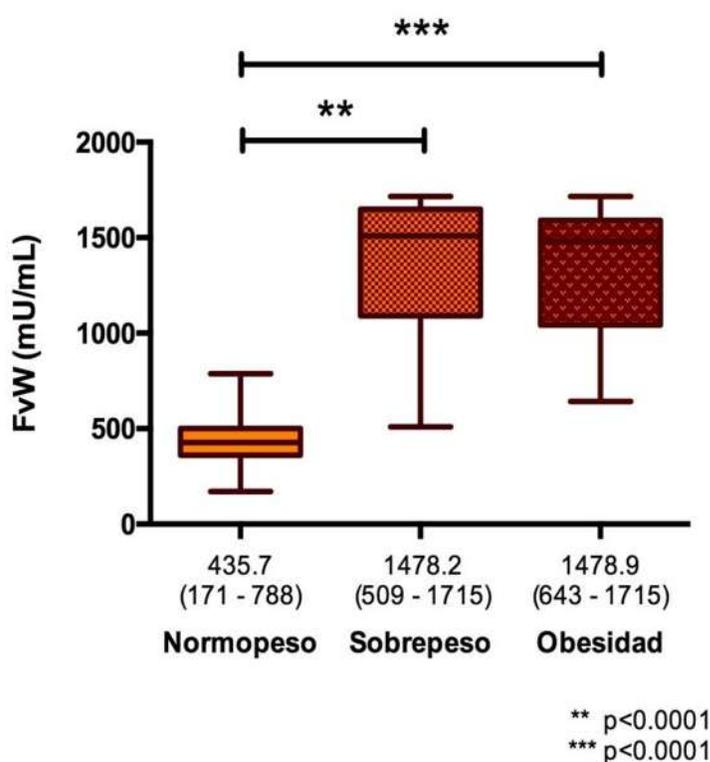


Figura 11. Factor von Willebrand (FvW) de los sujetos en estudio, de acuerdo a su IMC.

En la Figura 12 se muestran las cifras plasmáticas de sCD40L de acuerdo al IMC de los sujetos estudiados; en ella se observa la ausencia de diferencias estadísticamente significativas en la cantidad soluble de esta molécula en individuos con OB, SP y NP ($p > 0.05$).

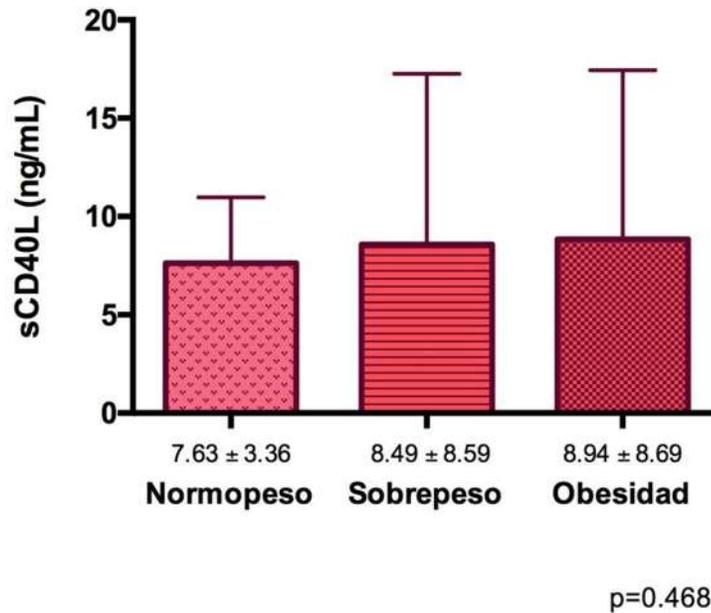


Figura 12. Ligando soluble CD40 (sCD40L) en sujetos de estudio, de acuerdo a su IMC.

Al evaluar la distribución por cuartil de éstas dos moléculas de adhesión celular, se evidenció la presencia de DFE en un 7% de la población (n=2 OB, n=6 SP, n=1 NP) cuyos valores para FvW y sCD40L se encontraron por encima del percentil 75, Figura 13.

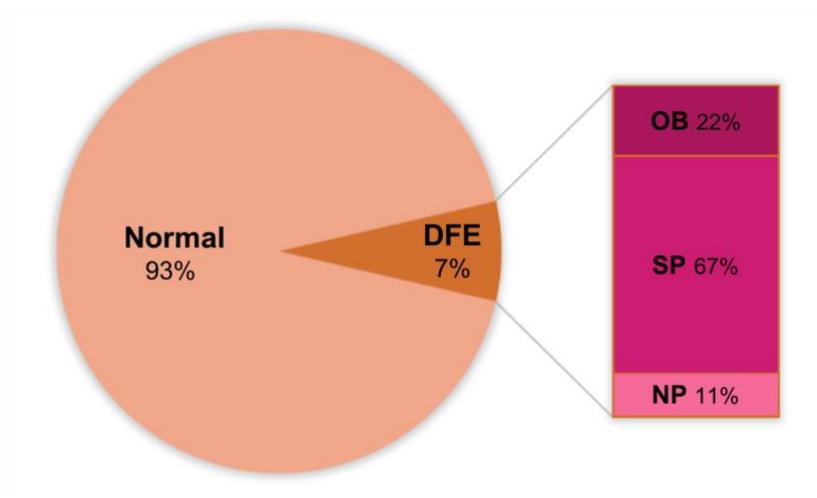


Figura 13. Frecuencia de disfunción endotelial (DFE) en los sujetos de estudio.

8.3. Correlación de BAFF sérico con citocinas $T_H1/T_H2/T_H17$, biomarcadores de DFE, HOMA-IR y marcadores antropométricos en pacientes con obesidad, sobrepeso y normopeso.

Respecto a la asociación entre BAFF y citocinas inflamatorias T_H1 , se presentó correlación positiva y estadísticamente significativa con $TNF-\alpha$ ($r=0.463$; $p=0.022$) (Figura 14, A), y en individuos OB, con $IFN-\gamma$ ($r=0.680$; $p=0.003$); no se presentó asociación significativa con $IL-6$ ($r=-0.728$; $p=0.568$) (Figura 14, B). Mientras que, para las citocinas T_H2 , BAFF correlacionó positivamente con $IL-10$ ($r=0.471$; $p=0.016$) (Figura 14, C) y en sujetos NP, con $IL-4$ ($r=0.591$; $p=0.032$); mientras que mostró correlación negativa y significativa con $IL-2$ ($r=-0.452$; $p=0.029$) (Figura 14, D). En cuanto al perfil T_H17 , BAFF presentó correlación positiva y estadísticamente significativa con $IL-17A$ ($r=0.451$; $p=0.030$).

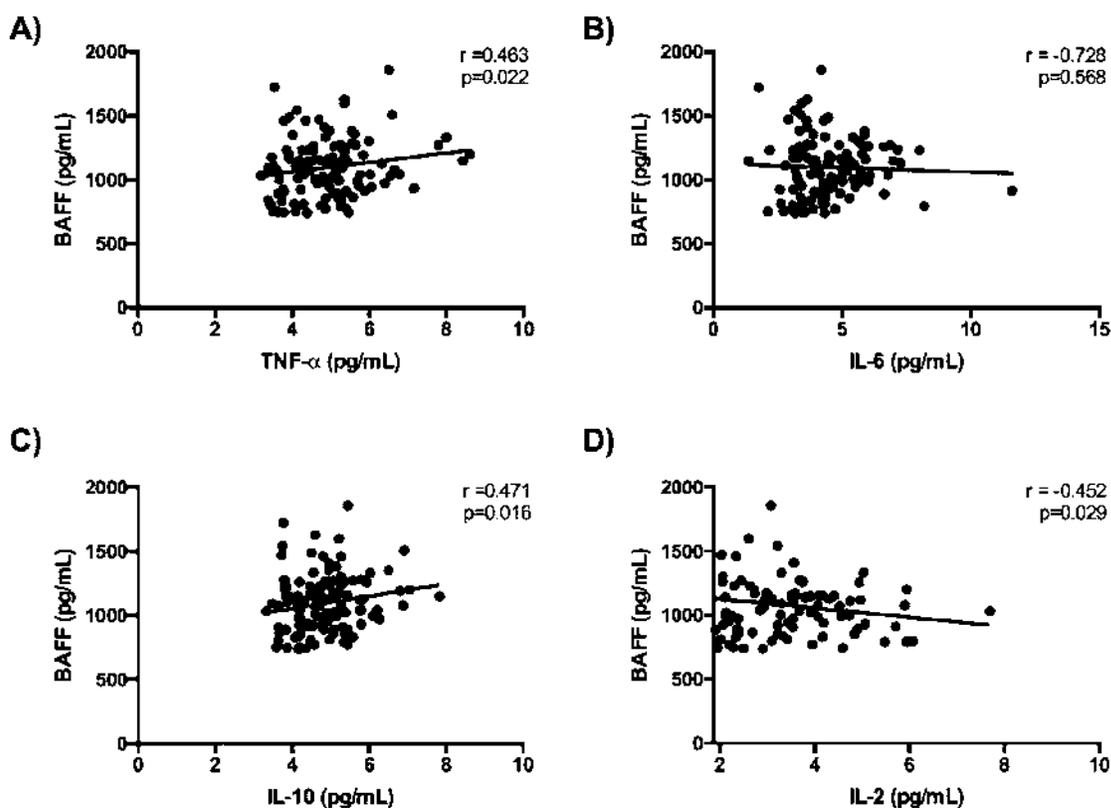


Figura 14. Correlación entre Factor activador de células B (BAFF) y citocinas $T_H1/T_H2/T_H17$ en los pacientes en estudio.

En cuanto a la asociación de BAFF y biomarcadores de DFE, se presentó asociación negativa y estadísticamente significativa con FvW ($r=0.615$; $p<0.0001$) (Figura 15, A), mientras que BAFF no correlacionó con sCD40L ($r= -0.297$; $p=0.371$) (Figura 15, B).

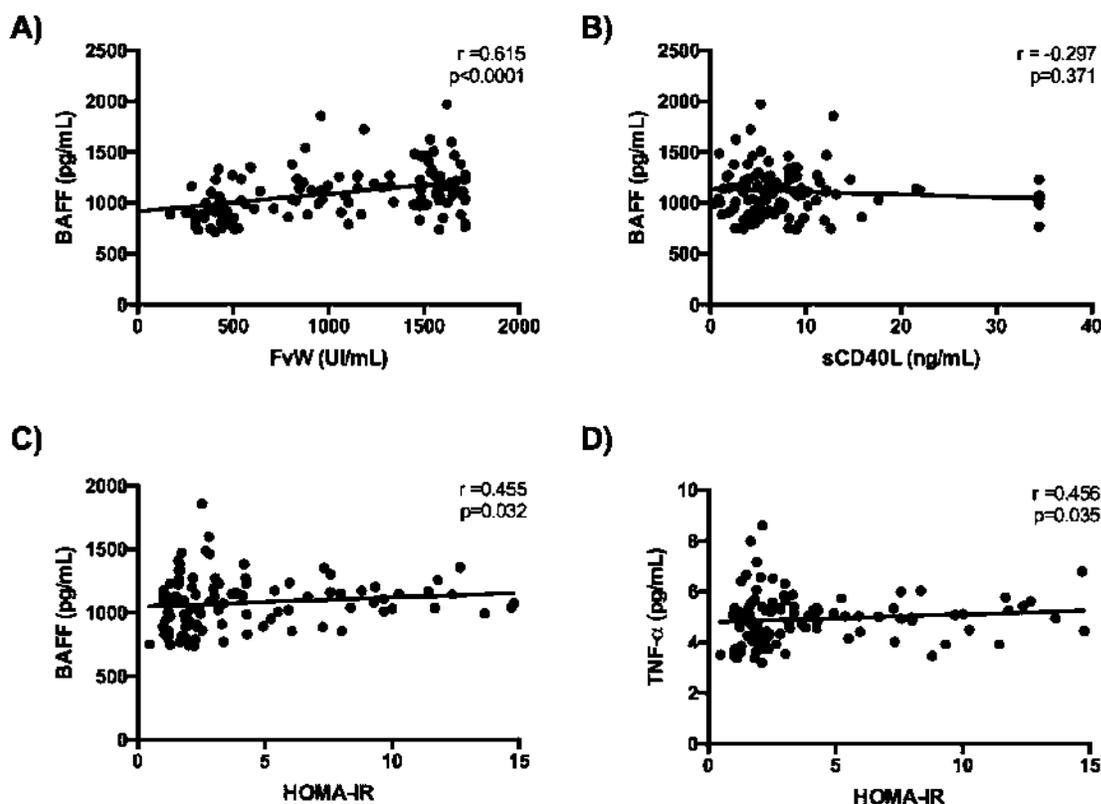


Figura 15. Correlación entre Factor activador de células B (BAFF), biomarcadores de disfunción endotelial e índice HOMA, en los pacientes en estudio.

BAFF mostró además correlación positiva y estadísticamente significativa con índice HOMA-IR en los sujetos estudiados ($r= 0.455$; $p=0.032$) (Figura 15, C); mientras que se encontró una magnitud de asociación muy similar entre este mismo índice y TNF- α ($r= 0.456$; $p=0.035$) (Figura 15, D).

En la Figura 16 se muestra la correlación existente entre BAFF y marcadores antropométricos de obesidad en los individuos estudiados; en donde se observó un comportamiento creciente y estadísticamente significativo de BAFF en función al incremento en la adiposidad tanto

general: IMC ($r=0.671$; $p<0.0001$)(Figura 16, A), %GC ($r=0.535$; $p=0.001$) (Figura 16, B) como abdominal: C. cintura ($r=0.632$; $p<0.0001$) (Figura 16, C). Así como una asociación negativa estadísticamente significativa, con el tejido magro ($r=-0.462$; $p=0.019$) (Figura 16, D).

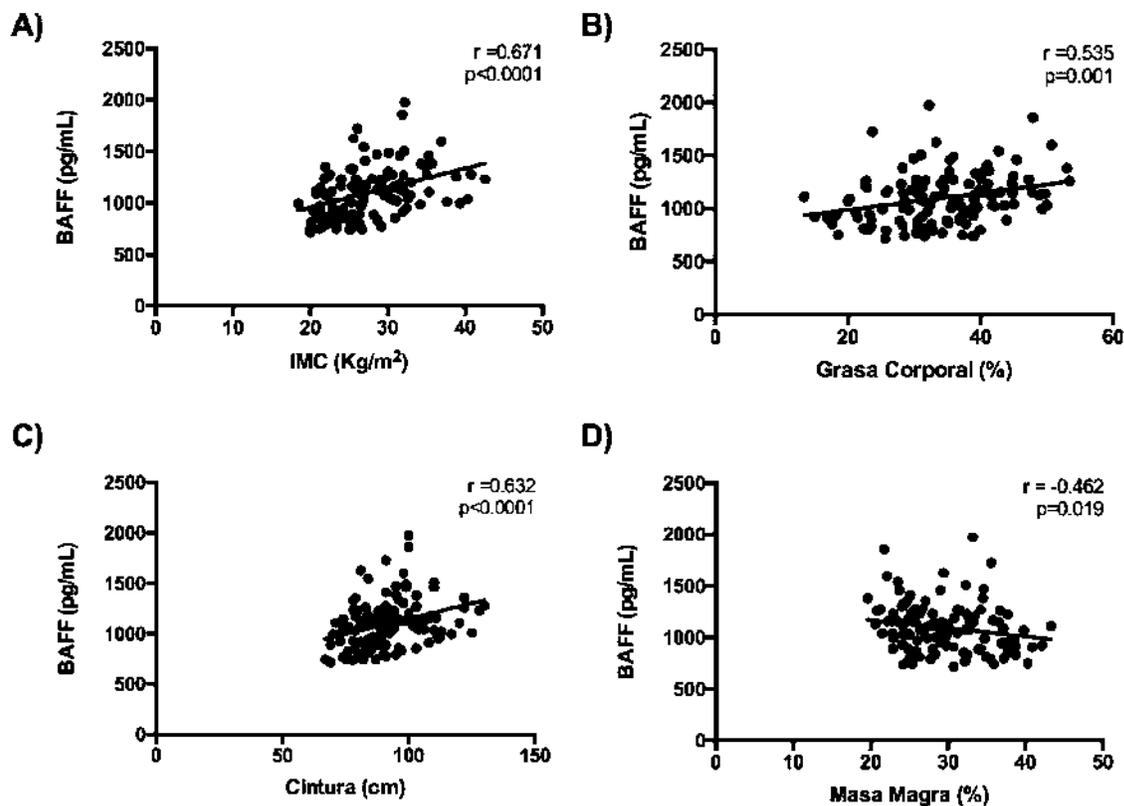


Figura 16. Correlación entre Factor activador de células B (BAFF) y marcadores antropométricos de obesidad en los pacientes en estudio.

El Cuadro 6 muestra el análisis de regresión lineal, ajustado por edad y sexo, para las variables que mejor explican las concentraciones de BAFF: FvW, IL-17A y %GC ($R^2=0.190$, $F=6.340$, $p=0.001$). IFN- γ , TNF- α , IL-10, IL-6, IL-4, IL-2, sCD40L e insulina resultaron excluidas.

Cuadro 6. Análisis de regresión lineal para variables que predicen BAFF.

Variable	β	t	p
Incluidas:			
FvW	0.104	0.262	0.011*
IL-17A	5.528	0.221	0.033*
GC	4.636	0.209	0.043*
No Incluidas:			
IFN- γ	0.610	0.584	0.561
TNF- α	0.830	0.808	0.421
IL-10	-0.070	-0.065	0.948
IL-6	-0.022	-0.216	0.830
IL-4	0.112	1.104	0.273
IL-2	-0.138	-1.336	0.185
sCD40L	-0.115	-1.129	0.262
Insulina	-0.022	-0.206	0.838

FvW: Factor von Willebrand; IL-17A: Interleucina 17A; GC: Grasa corporal; IFN- γ : Interferón gamma; TNF- α : Factor de necrosis tumoral alfa; IL-10: Interleucina 10; IL-6: Interleucina 6; IL-4: Interleucina 4; IL-2: Interleucina 2; sCD40L: Ligando soluble CD40.

*Análisis de regresión lineal. $p < 0.05$

9. DISCUSIÓN

En el presente estudio, encontramos diferencia estadísticamente significativa entre grupos respecto a glucosa sérica, TG, CT y HDL-c, observando un incremento en sus cifras en relación al aumento de IMC, a excepción de HDL-c, que presentó un comportamiento inverso (Cuadro 2). Esto era de esperarse, debido a que el exceso TAV promueve un estado de lipólisis acelerada, que vierte a circulación una gran cantidad de ácidos grasos libres (AGL), conocidos inductores de RI en células hepáticas y musculares, lo que a su vez desencadena las vías sintéticas de glucosa, hipertrigliceridemia por re-esterificación, aumento de LDL-c y déficit de HDL-c(99)(13). Sin embargo, si bien este era un estado metabólico esperado para los sujetos SP y OB, resultó sorprendente encontrar una importante frecuencia de dislipoproteinemia (39% HDL-c, 44% LDL-c), RI (17%) y OB abdominal (13%) en individuos NP (Cuadro 3), lo que sugiere la activación de estas vías desde estadios más tempranos de incremento en la adiposidad. Varias de éstas características coinciden con lo reportado por Mathew et al(100) para un fenotipo de individuos delgados metabólicamente obesos, por lo que podríamos encontrarnos frente a un estado de transición epidemiológica.

Al evaluar los resultados de biomarcadores de inflamación, resaltó el comportamiento homogéneo de las citocinas T_H1 (IL-2, IL-6, TNF- α), T_H2 (IL-10) y T_H17 (IL-17A) en los individuos NP y SP, observándose diferencias estadísticamente significativa únicamente respecto a los sujetos OB (Cuadro 5); esto llama la atención debido a que, al contrario de lo esperado, el estado de inflamación crónico no mostró un crecimiento gradual en función al incremento de IMC, sino que éste se manifestó con claridad hasta que la OB fue consolidada.

Respecto al perfil T_H2 , contrario a lo esperado, no se observó diferencia estadísticamente significativa respecto a las cifras séricas de IL-4 en individuos NP y SP respecto a OB (Cuadro 5), sin embargo, los valores observados concuerdan con los reportados por Godoy et al(101) en Argentina, para una población de adultos clínicamente sanos (8.2 ± 3.9 pg/mL). Esta observación además tiene sentido si se toma en consideración que las cifras de IL-10

tampoco se encontraron significativamente elevadas en sujetos NP, sino que, contrario a lo hipotetizado, éstas fueron mayores en sujetos OB; IL-10 presentó además, cifras muy similares a TNF- α , lo que permite evidenciar que su liberación no se ve limitada a un perfil T_{H2} en dónde IL-4 promueve su liberación (vía STAT6), si no que también es producida para prevenir respuestas inmunes exacerbadas, reduciendo así la capacidad pro-inflamatoria M1 y evidenciando el papel de retroalimentación regulatorio promovido no sólo por la respuesta T_{H2}, sino también T_{H1} (vía STAT4) y T_{H17} (ROR- γ t)(102). Las cifras encontradas para IL-10 por nuestro grupo de trabajo son considerablemente mayores a las reportadas por Schmidt et al(27) e inferiores a las reportadas por Jung et al(103), para un grupo de individuos OB en edad similar, sometidos a tratamiento para pérdida de peso, en Alemania (1.43 ± 0.86 pg/mL) y Korea del Sur (12.02 ± 4.44 pg/mL) respectivamente, sin embargo esto podría deberse a las características antropométricas propias de la población, ya que se ha descrito que los individuos asiáticos presentan mayor cantidad de TAV que caucásicos y afroamericanos(16).

Mientras que, en cuanto al perfil T_{H1}, las cifras de IL-2 reportadas en nuestra investigación se encontraron significativamente elevadas en pacientes OB respecto a NP (Cuadro 5), lo cual, pone de manifiesto el estado promotor de expansión linfocitaria (tanto T como B) encontrado en el organismo de individuos OB, acompañado del evidente proceso de presentación antigénica folicular en contexto del CMH clase II; sin embargo, resulta difícil discriminar entre la existencia, de un estado de presentación tolerigénico, de uno T estimulante (LT CD4⁺ y CD8⁺) en donde, de ser el caso la OB podría ser abordada como una enfermedad de carácter auto-inmunitario tal como lo sugieren Winer et al(104) en sus investigaciones. Por otra parte, al evaluar las cifras de IL-2 en los individuos OB estudiados por nuestro grupo de trabajo, respecto a las reportadas por Schmidt et al(27) para población Alemana (1.64 ± 1.15 pg/mL), pudimos apreciar que en población mexicana, ésta citocina se encuentra presente a concentraciones que duplican los valores séricos de otras etnias en el mundo, lo cual podría en parte, justificar la importante predisposición de nuestra población al desarrollo de complicaciones asociadas a la OB respecto a otros países.

Se observaron también, valores significativamente más altos de IL-6 en los pacientes NP respecto a OB, siendo el grupo SP el que presentó menor cantidad circulante de esta citocina

(Cuadro 5); lo anterior resultó muy llamativo debido a que se esperaba un comportamiento creciente para IL-6 en función al IMC, tal como ha sido descrito en innumerables reportes científicos(105) (106) (107), sin embargo, Mauer et al(108) sugieren el papel anti-inflamatorio de IL-6, proponiendo que en modelos celulares, durante condiciones inflamatorias tales como la abundancia de AGL o estimulación por LPS, IL-6 limita la expresión de citocinas pro-inflamatorias, además de aumentar la respuesta de los macrófagos a IL-4, promoviendo la polarización de éstos hacia un fenotipo M2, disminuyendo así los estímulos pro-inflamatorios y la RI. Si bien, debido a la suposición generalmente aceptada de que IL-6 desempeña un papel pro-inflamatorio cuya concentración sérica correlaciona positivamente con la OB(109) existen más estudios que respaldan esta nueva teoría, en donde ratones deficientes para IL-6 desarrollan RI asociada a OB,(110) así como otros donde la inactivación en señalización de IL-6 promueve RI(111); por lo que el presente estudio podría ser uno de los primeros reportes en pacientes humanos en el que las cifras circulantes manifiesten un comportamiento similar a lo sugerido por estos grupos de investigadores. Respecto a las cifras encontradas por nuestro grupo de trabajo, éstas coinciden con las reportadas por Biswas et al(112) para el grupo control de un estudio en Infarto agudo al Miocardio (7.5 ± 4.4 pg/mL), en India; mientras que son mayores que las reportadas por Bachmayer et al(106) para OB en Alemania (3 ± 3 pg/mL).

El IFN- γ ha sido descrito como la citocina prototipo de la respuesta inflamatoria tipo T_H1(28), múltiples estudios describen su papel mediando la polarización macrofágica hacia un fenotipo M1 secretor de IL-6 y TNF- α (18,113); se ha planteado que durante el proceso de OB existe una importante afluencia linfocitaria (principalmente LT: CD8⁺, CD4⁺ T_H1; y LB), al foco de inflamación en TAV donde éstos y los M1, rodean a los adipocitos hipóxicos y disfuncionales, en forma de una "corona" donde se concentra el ambiente pro-inflamatorio que promueve el desarrollo de RI(17,114)(15). Sin embargo, a pesar del importante papel de IFN- γ en la exacerbación del proceso inflamatorio T_H1 asociado a la OB, en el presente estudio sus cifras séricas no se vieron significativamente incrementadas en función al aumento en el IMC (Cuadro 5); observando que la concentración de ésta citocina en pacientes OB, fue considerablemente inferior a la reportada para individuos OB en Alemania

(4.79 ± 0.62 pg/mL) (27); lo que resalta la existencia en nuestra población, de un proceso inflamatorio T_H1 mediado principalmente por otras citocinas de este fenotipo, como pudiese ser TNF- α .

Al analizar las cifras de TNF- α , pudimos observar que, de acuerdo a lo anteriormente hipotetizado, éstas se encontraron significativamente elevadas en individuos OB respecto a SP y NP (Cuadro 5); resultando además incrementadas respecto a lo reportado por Bachmayer et al(106) (4 ± 3 pg/mL) y Schmidt et al(27) (3.39 ± 0.70 pg/mL) en estudios similares realizados en población OB de Alemania. Lo anterior, concuerda con múltiples reportes que describen el aumento de TNF- α en relación a la adiposidad en el organismo, estableciendo su papel en la estimulación de la vía canónica de NF- κ B (TAK1-IKK / I κ B α -P / RelA-p50)(115), actuando como inductor de la expresión de IL-1 β , IL-6 e incluso el mismo TNF- α (116), y estableciendo así, un ciclo auto-perpetuante del estado inflamatorio asociado a OB(15)(117)(79). Se ha reportado además, el papel de IFN- γ , AGL, triglicéridos, IL-6, IL-12(15) y BAFF(93), incrementando la expresión de TNF- α por adipocitos y M1.

Por otra parte, si bien se evidenció la presencia de un perfil inflamatorio T_H1 en los pacientes analizados, al evaluar la respuesta **TH17** resultó evidente que para nuestra población en estudio, es ésta la que se encuentra desempeñando un papel fundamental en la exacerbación del estado inflamatorio asociado a la OB.

Las cifras reportadas para IL-17A fueron significativamente mayores en los individuos OB respecto a SP y NP. Además, en pacientes con adiposidad incrementada (SP y OB), su concentración sérica se elevó en magnitud cercana al doble, respecto al resto de las citocinas perfil T_H1 y T_H2 (Figura 8). Lo anterior concuerda con lo reportado por Sumarac et al(48) en Serbia para una población de mujeres OB en edad similar a la de nuestro grupo de estudio, en donde refirieron concentraciones séricas de IL-17A estadísticamente mayores en mujeres OB (16 pg/mL) respecto a NP, sin encontrar diferencia significativa respecto a citocinas de perfil T_H1 como IFN o IL-12. Mientras que Zapata et al(47) reportaron mayor expresión estadísticamente significativa, de IL-17A en TAV de mujeres con OB mórbida respecto a

TASC, así como respecto a TAV y TASC de mujeres NP, mientras que IL-6 manifestó un comportamiento inverso, con mayor expresión en TASC respecto a TAV tanto en mujeres OB, como NP.

Los estudios de Bettelli (118), Mangan (119) y Veldhoen (120) demostraron que la sinergia entre IL-6 y TGF- β es necesaria para una óptima producción de IL-17A, ya que TGF- β individualmente sólo estimula la polarización hacia LT_{regs}. Sutton et al(121) sugieren que TNF- α e IL-23 también se encargan de aumentar la producción de IL-17A vía IL-1 dependiente; mientras que, IL-17A promueve a su vez, la expresión de IFN- γ (122). Los anteriores reportes(20), respaldan nuestros hallazgos respecto a las elevadas cifras de IL-17A si tenemos en cuenta las concentraciones de TNF- α e IL-6 encontradas en los pacientes OB; con la finalidad de evaluar ésta relación se buscó la correlación entre IL-17A y TNF- α ($r=0.585$; $p<0.0001$) así como IL-6 ($r=0.471$; $p=0.017$), resultando estadísticamente significativas en ambos casos; sin embargo, al no cuantificar TGF- β e IL-23 como parte del panel de biomarcadores inflamatorios, sólo podemos sugerir cautelosamente esta relación.

Por otra parte, a pesar de estar descrita la relación entre IL-17A e IFN- γ (que se corroboró al encontrar correlación positiva, estadísticamente significativa ($r=0.475$; $p=0.015$) entre ellas) resulta comprensible que los pacientes OB no presentaran cifras elevadas de IFN- γ , si tomamos en cuenta su corta edad, así como el tiempo de evolución de la patología, ya que en el presente estudio únicamente se incluyeron sujetos OB sin comorbilidades asociadas, por lo que podría ser sólo cuestión de tiempo para que se manifiesten estas alteraciones en el perfil inflamatorio tipo T_{H1}.

Zúñiga et al(123) sugieren el papel de IL-17A regulando la adipogénesis y las funciones metabólicas en adipocitos maduros. En su estudio, al tratar adipocitos en diferenciación *in vitro* con IL-17A, observaron una importante disminución en la diferenciación de precursores, así como en la capacidad de almacenamiento y acúmulo de lípidos, consistente con la reducción en el número de adipocitos maduros y función normal adipocitaria. Si bien IL-17A no inhibió el ingreso de AGL, ni incrementó significativamente la lipólisis en

adipocitos maduros, sugieren que esta contribuye a la homeóstasis glucémica desde antes que se desarrolle la OB, ya que los adipocitos cultivados en ausencia de IL-17A presentaron mayor sensibilidad a la insulina. Se reporta además, que IL-17A inhibió la inducción de genes cuya expresión es característica de adipocitos maduros (lipasa, proteína de unión a ácidos grasos, y GLUT-4). Al evaluar las cifras de glucosa sérica en relación a IL-17A observamos que existe entre éstas correlación positiva, estadísticamente significativa ($r=0.449$; $p=0.032$), por lo que, el modelo propuesto por Zúñiga, podría ser el mecanismo subyacente del incremento en la producción de ésta citocina, en nuestra población de estudio. Esta hipótesis se ve reforzada si observamos el incremento en la frecuencia de hiperglucemia basal en los sujetos SP (9%) respecto a los OB (28%), en donde podría ser el estímulo mediado por IL-17A, así como la disminución en expresión de GLUT-4 en los adipocitos, uno de los mecanismos causales para el incremento en las concentraciones séricas de glucosa en función al incremento de masa grasa.

Por otra parte, Endo et al(124) evaluaron el incremento en la expresión de la enzima Acetil-CoA carboxilasa 1 (clave para la catálisis dependiente de ATP de Acetil-CoA hacia Malonil-CoA, encargada de regular el metabolismo de ácidos grasos) en condiciones de OB, y describieron su papel en la regulación de ROR- γ T, promoviendo así la expresión de IL-17A, y por consecuencia, la polarización hacia un perfil T_H17.

El resto de la discusión se presenta en función a los objetivos específicos planteados al llevar a cabo el presente estudio.

9.1. BAFF sérico en pacientes con obesidad, sobrepeso y normopeso.

Al evaluar las concentraciones séricas de BAFF en los pacientes en estudio, pudimos observar su incremento estadísticamente significativo al aumentar el IMC (Figura 9); esto concuerda con lo reportado por Bienertova et al(94) para una población de adultos OB de Europa central (1007 ± 211 pg/mL). Sin embargo, es importante señalar que ellos reportaron diferencias estadísticamente significativa en las cifras de BAFF por sexo, encontrándose incrementadas en suero de mujeres OB respecto a varones OB, así como respecto a no-OB de ambos sexos, mientras que en nuestro estudio, no observamos esta diferencia. Además, su investigación fue realizada en sujetos considerablemente más OB, sin embargo la similitud en las cifras séricas de BAFF podría estar justificada, ya que se ha descrito que la etnia con menor capacidad de acúmulo graso en VAT, es precisamente la caucásica(16).

9.2. Evaluación de Disfunción endotelial mediante los biomarcadores: FvW y sCD40L, en pacientes con obesidad, sobrepeso y normopeso.

La DFE es una manifestación caracterizada por el incremento en la producción de formas solubles de moléculas de adhesión celular (FvW, sCD40L)(50) que llevan al tejido endotelial hacia un estado pro-trombótico y anti-fibrinolítico(125). Diversos estímulos pro-inflamatorios ha sido sugeridos en este proceso de activación endotelial, principalmente de tipo **Th1**: IL-1 β , IL-6, TNF- α e IFN- γ . En modelos animales se ha evaluado una participación fundamental de IFN- γ (28) e IL-6 estimulando al endotelio vascular adyacente al sitio de inflamación, volviéndolo más adherente para leucocitos intra-vasculares mediante la promoción de moléculas de adhesión celular(20).

En nuestra población estudiada, se reportó una frecuencia de DFE del 7% (Figura 12), lo cual concuerda con lo hipotetizado si se toman en consideración la edad y progresión de la OB; esta observación gana fuerza, si se resalta que los principales estímulos descritos para activación endotelial son mediados por IFN- γ e IL-6, que, en ambos casos, carecieron de incremento estadísticamente significativo para los individuos OB estudiados; mientras que, los pocos casos de DFE observados podrían atribuirse a la acción de TNF- α , ya que múltiples estudios han demostrado su efecto sobre CE induciendo la expresión de genes pro-coagulantes, promoviendo así, el estado de patogénesis vascular(126,127).

Respecto a las cifras de los biomarcadores empleados para evaluar la DFE, se observó un incremento estadísticamente significativo en los valores plasmáticos de FvW en individuos SP y OB respecto a NP (Figura 10), lo que resalta la importancia del aumento en el tejido adiposo, aún en bajo grado (como en SP), para comprometer el correcto funcionamiento del endotelio vascular, las concentraciones reportadas por nuestro grupo de trabajo para esta molécula de adhesión y agregación celular concuerdan con lo reportado por Gungor et al(128) para una población con bajo riesgo cardiovascular y alta frecuencia de OB, en Turquía (1499 ± 70.2 mU/mL), mientras que se encontraron ligeramente incrementados

respecto a lo reportado por Lippi et al(129) para una población no diabética de individuos dislipidémicos en Italia (1080mU/mL).

En cuanto a los valores de sCD40L, no se encontró incremento estadísticamente significativo en función al aumento en el IMC (Figura 11), si bien la concentración plasmática de esta molécula concuerda con lo reportado por Unek et al(130) para un grupo de individuos OB en Turquía (9.4 ± 1.01 ng/mL), las cifras de nuestra población en estudio, se encontraron considerablemente incrementadas respecto a lo reportado por Angelico et al(131) en sujetos con síndrome metabólico de Italia (4.11 ± 1.64 ng/mL), esto también podría explicar el incremento en el riesgo a desarrollar complicaciones vasculares de nuestra población en estudio, respecto a otras etnias en el mundo. Sin embargo, para evaluar más acertadamente el comportamiento de la pared vascular, resultaría conveniente evaluar un panel más completo de biomarcadores, por lo que esto consiste en una limitante del presente estudio.

Por otra parte, vale la pena resaltar que una de las actividades atribuidas a IL-17A es la secreción de quimiocinas atrayentes de neutrófilos y linfocitos (CXCL8, CXCL6, CXCL1), GM-CSF e ICAM-1(46); por lo que, debido a la importante participación de estos subtipos leucocitarios en patologías vasculares como la aterosclerosis, el estímulo mediado por IL-17A pudiese encontrarse favoreciendo el desarrollo de complicaciones vasculares subsecuentes, en individuos con SP y OB. Ésta hipótesis se ve respaldada por las conclusiones del estudio realizado por Taleb et al(132) evaluando el papel de IL-17A en aterosclerosis, donde sugieren que el incremento conjunto de IL-17A, IL-10 y bajas cifras de IFN- γ , son probablemente la mejor combinación para limitar el progreso de la lesión aterosclerótica y lograr la estabilización de la placa. Sin embargo, enfatizan en que, la producción abundante y conjunta de IL-17A e IFN- γ , podría encontrarse exacerbando el progreso de la lesión, inestabilizando la placa y promoviendo el daño vascular.

9.3. Correlación de BAFF sérico con citocinas TH1/ TH2/ TH17, biomarcadores de DFE, HOMA-IR, y marcadores antropométricos en pacientes con obesidad, sobrepeso y normopeso.

Debido a que recientemente se ha establecido el papel de BAFF como citocina estrechamente vinculada al incremento de adiposidad visceral en individuos OB; uno de los principales objetivos planteados al llevar a cabo el presente estudio, consistió en evaluar su comportamiento, en relación a los biomarcadores inflamatorios y de DFE característicos de esta patología.

De tal manera, que la correlación positiva y estadísticamente significativa entre BAFF e IFN- γ en individuos OB, concuerda con nuestra hipótesis inicial, debido a que IFN- γ es el principal estímulo inductor de la respuesta inflamatoria tipo TH1, que si bien no se encontró significativamente elevado en individuos OB, desempeña un papel fundamental en la estimulación de LB; por lo que su incremento en relación a BAFF, podría encontrarse describiendo una participación sinérgica en la promoción de cambio de isotipo en Ac, así como en la liberación de IgG(133).

Otras citocinas características de la respuesta inflamatoria TH1, son TNF- α e IL-6; diversos estudios en modelo celular han reportado el incremento en su expresión, al estimular adipocitos con BAFF(93), sin embargo, esto sólo justifica la correlación positiva y estadísticamente significativa entre BAFF y TNF- α (Figura 13, A), mientras que no refleja la ausencia de asociación entre BAFF e IL-6 (Figura 13, B). Lo anterior nos lleva a sugerir, que en nuestra población de estudio, IL-6 podría encontrarse mediando la polarización hacia un perfil inflamatorio TH17, ya que se ha descrito su participación estimulando del factor de transcripción ROR- γ t(120); o bien, ejerciendo un papel inmuno-modulador, asociado a la restricción de citocinas pro-inflamatorias, como lo sugieren Mauer et al(108).

Este papel de retroalimentación regulatorio también es mediado por IL-10, ya que se ha descrito su participación en la prevención de respuestas inmunes exacerbadas durante

procesos inflamatorios consolidados, tanto de perfil T_H1 , como $T_H17(102)$; por lo tanto, la asociación positiva y estadísticamente significativa entre BAFF e IL-10 (Figura 13, C) podría encontrarse reflejando la capacidad auto-regulatoria del sistema inmunológico frente al estado de inflamación crónica característico de los individuos OB.

Por otra parte, la correlación positiva y estadísticamente significativa entre BAFF e IL-2 (Figura 13, D), podría justificarse si se considera la participación esencial de IL-2 en la estimulación de LT, así como en la expansión clonal de células efectoras, en este contexto, diversas investigaciones(90) han demostrado el papel estimulante de IL-2 en la producción y liberación de BAFF por células mononucleares, principalmente LT $CD8^+$ y células NK(134), mediante los factores de transcripción NF-AT y NF- κ B.

BAFF presentó también asociación estadísticamente significativa con IL-17A, sin embargo esto era de esperarse, debido a que distintos estudios llevados a cabo en condiciones de auto-inmunidad, han descrito el papel de BAFF promoviendo la polarización linfocitaria tanto hacia un perfil T_H1 , como $T_H17(90)$. Sin embargo, en este sentido son múltiples las vías que median la relación entre BAFF e IL-17A, otra de ellas, es su estrecha interacción en placas de Peyer; ya que tanto la señalización de BAFF-R como IL-17AR, requieren de la proteína adaptadora Act 1, por lo que su participación en una vía, la "secuestra" de la otra, incrementando así la retención de LB en centro germinal, lo que promueve la maduración en la afinidad del Ac (hacia un isotipo IgA, IgG)(120). Si bien este es un mecanismo común de inmunidad adaptativa, la producción de auto-anticuerpos IgG2c se ha asociado a RI, vinculándolos con alteraciones en el metabolismo de glucosa(135), así como promoviendo la progresión de la placa de ateroma(136).

Respecto a la asociación entre BAFF y biomarcadores de DFE, se encontró correlación positiva y estadísticamente significativa entre BAFF y FvW (Figura 14, A), esto podría justificarse debido a que se ha descrito la participación activa de células inmunes mediando procesos de daño vascular, principalmente macrófagos, LT y LB (tipo 2), y al ser BAFF un importante estímulo de supervivencia celular vinculado al proceso anti-apoptótico linfocitario, es de esperarse que su liberación por CE, estromales o incluso por los mismos macrófagos en

el medio se encuentre incrementada en asociación a conocidos biomarcadores de daño endotelial, como FvW(136,137).

Por otra parte, la correlación positiva y estadísticamente significativa entre BAFF sérico e índice HOMA-IR (Figura 14, C), resultó concordante con lo inicialmente hipotetizado, debido a que múltiples estudios han reportado la asociación entre las elevadas cifras de BAFF y RI. Los mecanismos a través de los cuales, BAFF pudiese encontrarse mediando el desarrollo esta patología, sugieren su participación indirecta, mediante el estímulo de distintos linajes celulares para producir respuestas inflamatorias tipo TH1/TH17; o directa, al producir RI *per se*.

De esta manera, en modelos de ratón alimentados con DRG, Winer et al(135) han reportado que los LB2 reclutados a VAT (cuya sobrevida se ve promovida por BAFF) secretan una mayor cantidad de IgG2c, las cuales condicionan un metabolismo alterado de glucosa. Mientras que Hamada et al(93) describieron su papel aumentando el tiempo de asimilación de glucosa, así como promoviendo la expresión de TNF- α e IL-6 en adipocitos. Así pues, Kawasaki et al(92) en modelo BAFF-knock out, reportaron mejoría en tolerancia a la glucosa respecto al grupo control, mientras que Kim et al(84) observaron este mismo efecto, acompañado de incremento en expresión adipocitaria de genes que codifican para GLUT-4 y GLUT-1. Por otra parte, en modelo *in vitro* Hamada et al(93) observaron cómo el tratamiento con BAFF promovió el incremento en la fosforilación de la serina 307 de IRS-1 aunado a disminución en la fosforilación de tirosina.

En el presente estudio, se encontró además, correlación positiva y estadísticamente significativa entre las cifras séricas de BAFF y marcadores de OB (IMC, %GC y CC) (Figura 15, A,B,C), así como asociación negativa también significativa estadísticamente, entre BAFF circulante y %MM (Figura 15, D). Lo anterior, concuerda por lo reportado por Bienertova et al(94) respecto a la CC ($r=0.657$; $p<0.05$) de mujeres con OB mórbida, no siendo así en el caso de los hombres; mientras que el comportamiento predicho para BAFF en su modelo de regresión lineal en función al IMC y %GC refleja un papel similar para su población, que para la nuestra. Sin embargo, vale la pena resaltar que nuestras asociaciones fueron hechas

en muestra mixta de hombres y mujeres jóvenes, sin comorbilidades asociadas, pareados por edad y sexo; esto además de que nuestras magnitudes de asociación entre variables antropométricas y BAFF fueron considerablemente mayores a las reportadas para esta población caucásica de Europa central; por lo que podemos afirmar que en población mexicana, BAFF es una citocina cuya concentración sérica incrementa en asociación a OB *per se*, observando su aumento en forma proporcional al incremento en tejido graso de distribución general ($r=0.535$, $p=0.001$) y más significativamente al localizado en la región abdominal ($r=0.632$, $p<0.0001$). Lo anterior concuerda además, con los reportes de producción de BAFF por adipocitos humanos(79), más significativamente aquellos localizados en TAV(91), así como su papel estimulando adipogénesis(78) realizados por múltiples equipos de investigación.

Por último, en el modelo de regresión lineal observamos que FvW, IL-17A y %GC (Cuadro 6) son las variables que mejor predicen las cifras de BAFF en nuestra población de estudio; esto aporta información muy valiosa, ya que resalta la importancia en la producción de BAFF por adipocitos, así como células inmunes infiltrantes del tejido graso. Resalta también, el papel del perfil T_H17 mediando en mayor magnitud el estado inflamatorio de bajo grado asociado a OB, en relación a T_H1 , como ha sido clásicamente descrito para población mexicana durante estas últimas décadas. Además, encontrar influencia de FvW sobre BAFF, permite resaltar la importancia de la adiposidad y la inflamación asociada sobre el deterioro vascular, comprometiendo su correcto funcionamiento.

Por lo tanto, los anteriores resultados aunados al presente modelo, nos permiten aceptar la hipótesis establecida al iniciar el presente estudio, corroborando que BAFF es una citocina cuya participación en esta compleja constelación de biomarcadores, se ve asociada a inflamación y DFE en pacientes OB.

10. CONCLUSIONES

BAFF es una citocina producida por adipocitos y células inmunes infiltrantes de TAV, cuya concentración sistémica se ve incrementada significativamente en función al aumento de IMC en población mexicana.

La DFE es un evento precedente al desarrollo clínicamente detectable de complicaciones vasculares, que se encontró presente en una baja proporción de adultos jóvenes mexicanos con OB, SP y NP.

Las cifras de BAFF muestran un incremento sistémico asociado al aumento de citocinas inflamatorias, principalmente perfil T_{H17} , aunque también T_{H1} ; así como a descritos biomarcadores de daño endotelial y obesidad, en una población de adultos jóvenes mexicanos.

BAFF sérico presentó mayor magnitud de asociación a obesidad abdominal, respecto a porcentaje de grasa general, lo que sugiere su incremento vinculado al aumento de tejido adiposo visceral en el organismo.

Se observó influencia de la grasa corporal, así como FvW e IL-17A sobre el comportamiento de las cifras séricas de BAFF, lo que refleja la estrecha interacción existente entre el proceso inflamatorio asociado a la obesidad, con el desarrollo de alteraciones vasculares, que podrían desencadenar complicaciones trombóticas en el futuro.

11. PERSPECTIVAS PARA TRABAJOS FUTUROS

Evaluar diferencias poblacionales entre TAV y TASC, para estimar la asociación existente entre cada depósito graso, y los biomarcadores de inflamación y DFE.

Determinar un perfil más completo de citocinas T_H17 (IL-21, IL-23).

Evaluar un panel más completo de biomarcadores de DFE, así como de activación plaquetaria, para poder estimar más acertadamente el estado endotelial.

Estudiar el comportamiento de BAFF, IL-17 y FvW en relación a la OB, en otras patologías, y/o modelos celulares.

12. BIBLIOGRAFÍA

1. Barrera-Cruz A, Rodríguez-González A, Molina-Ayala MA. Escenario actual de la obesidad en México. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2013;51(3):292–9.
2. Organización Mundial de la Salud. Obesidad y sobrepeso. Nota descriptiva. 2006.
3. Franco S. Obesity update. 2016.
4. Gutiérrez, J.P., Rivera-Dommarco, J., Shamah-Levy, T., Villalpando-Hernández, S., Franco, A., Cuevas-Nasu, L., Romero-Martínez, M., Hernández-Ávila M. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016. ENSANUT 2016. 2016;2016(Ensanut):1–154.
5. Saldívar-Cerón HI, Garmendia Ramírez A, Rocha Acevedo MA, Pérez-Rodríguez P. Obesidad infantil: Factor de riesgo para desarrollar pie plano. *Bol Med Hosp Infant Mex.* 2015;72(1):55–60.
6. Berber a, Gómez-Santos R, Fanghänel G, Sánchez-Reyes L. Anthropometric indexes in the prediction of type 2 diabetes mellitus, hypertension and dyslipidaemia in a Mexican population. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2001;25(12):1794–9.
7. Lovren F, Teoh H, Verma S. Obesity and Atherosclerosis: Mechanistic Insights. *Can J Cardiol.* 2015;31(2):177–83.
8. Mandviwala T, Khalid U, Deswal A. Obesity and Cardiovascular Disease: a Risk Factor or a Risk Marker? *Curr Atheroscler Rep.* 2016;18(5):18–21.
9. Costa RM, Neves KB, Tostes RC, Lobato NS. Perivascular Adipose Tissue as a Relevant Fat Depot for Cardiovascular Risk in Obesity. *Front Physiol.* 2018;9:1–17.
10. López-Jiménez F, Cortés-Bergoderi M. Obesidad y corazón. *Rev Esp Cardiol.* 2011;64(2):140–9.
11. Zhu J, Su X, Li G, Chen J, Tang B, Yang Y. Systematic review/Meta-analysis The incidence of acute myocardial infarction in relation to overweight and obesity: a meta-analysis. *Arch Med Sci.* 2014;10(5):855–62.
12. Poirier P, Giles TD, Bray GA, Hong Y, Stern JS, Pi-Sunyer FX, et al. Obesity and cardiovascular disease: Pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss: An update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on obesity and

- heart disease from the Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical. Circulation. 2006;113:898–918.
13. Ibrahim MM. Subcutaneous and visceral adipose tissue: Structural and functional differences. *Obes Rev.* 2010;11(1):11–8.
 14. Cinti S. The adipose organ: morphological perspectives of adipose tissues. *Proc Nutr Soc.* 2001;60:319–28.
 15. Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol.* 2011;11(2):85–97.
 16. Karastergiou K, Smith SR, Greenberg AS, Fried SK. Sex differences in human adipose tissues – the biology of pear shape. *Biol Sex Differ.* 2012;3(1):13.
 17. Wensveen FM, Valentić S, Šestan M, Turk Wensveen T, Polić B. The “Big Bang” in obese fat: Events initiating obesity-induced adipose tissue inflammation. *Eur J Immunol.* 2015;45(9):2446–56.
 18. Ip BC, Hogan AE, Nikolajczyk BS. Lymphocyte roles in metabolic dysfunction: Of men and mice. *Trends Endocrinol Metab.* 2015;26(2):91–100.
 19. Johnson AR, Milner JJ, Makowski L. The inflammation highway: metabolism accelerates inflammatory traffic in obesity. *Immunol Rev.* 2012;249(1):218–38.
 20. Steinman L. A brief history of TH17, the first major revision in the TH1/TH2 hypothesis of T cell-mediated tissue damage. *Nat Med.* 2007;13(2):139–45.
 21. Oestreich KJ WA. Transcriptional mechanisms that regulate T helper 1 cell differentiation. *Curr Opin Immunol.* 2012;24(2):191–5.
 22. Muranski P, Restifo NP, Dc W. Essentials of Th17 cell commitment and plasticity Review Article Essentials of Th17 cell commitment and plasticity. *Blood.* 2013;121(13):2402–14.
 23. Hori S, Nomura T SS. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science (80-).* 2003;299(5609):1057–61.
 24. J. Schindler, H., Lutz, M. B., Rollinghoff, M., Bogdan C. The production of IFN-gamma by IL-12/IL-18-activated macrophages requires STAT4 signaling and is inhibited by IL-4. *Immunol.* 2001;166:3075–3082.
 25. Schroder K, Hertzog PJ, Ravasi T, Hume DA. Interferon- γ : an overview of signals , mechanisms and functions. *J Leukoc Biol.* 2004;75(February):163–89.

26. Larkin J, Ahmed CM, Wilson TD, Johnson HM. Regulation of interferon gamma signaling by suppressors of cytokine signaling and regulatory T cells. *Front Immunol.* 2013;4(DEC):1–8.
27. Schmidt FM, Weschenfelder J, Sander C, Minkwitz J, Thormann J, Chittka T, et al. Inflammatory cytokines in general and central obesity and modulating effects of physical Activity. *PLoS One.* 2015;10(3):1–17.
28. Rocha VZ, Folco EJ, Sukhova G, Shimizu K, Gotsman I, Vernon AH, et al. Interferon- γ , a Th1 cytokine, regulates fat inflammation: A role for adaptive immunity in obesity. *Circ Res.* 2008;103(5):467–76.
29. Popa C, Netea MG, van Riel PLCM, van der Meer JWM, Stalenhoef AFH. The role of TNF- α in chronic inflammatory conditions, intermediary metabolism, and cardiovascular risk. *J Lipid Res.* 2007;48(4):751–62.
30. Bodmer JL, Schneider P, Tschopp J. The molecular architecture of the TNF superfamily. *Trends Biochem Sci.* 2002;27(1):19–26.
31. Ziccardi, P., F. Nappo, G. Giugliano, K. Esposito, R. Martella, M. Ciuffi, F. D'Andrea, A. M. Molinari and DG. Reduction of inflammatory cytokine concentrations and improvement of endothelial functions in obese women after weight loss over one year. *Circulation.* 2002;105(804–809).
32. Hotamisligil, G. S., N. S. Shargill and BMS. Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* (80-). 1993;259:87–91.
33. Rose-John S. Il-6 trans-signaling via the soluble IL-6 receptor: Importance for the proinflammatory activities of IL-6. *Int J Biol Sci.* 2012;8(9):1237–47.
34. Hunter CA, Jones SA. IL-6 as a keystone cytokine in health and disease. *Nat Immunol.* 2015 Apr 21;16:448.
35. Pedersen, B. K. & Febbraio MA. Point: interleukin-6 does have a beneficial role in insulin sensitivity and glucose homeostasis. *J Appl Physiol.* 2007;102:814–6.
36. Mooney RA. Counterpoint: interleukin-6 does not have a beneficial role in insulin sensitivity and glucose homeostasis. *J Appl Physiol.* 2007;102:816–8.
37. Boyman O, Sprent J. The role of interleukin-2 during homeostasis and activation of the immune system. *Nat Rev Immunol.* 2012;12(3):180–90.

38. Simon AD, Yazdani S, Wang W, Schwartz A, Rabbani LE. Elevated plasma levels of interleukin-2 and soluble IL-2 receptor in ischemic heart disease. *Clin Cardiol.* 2001;24(3):253–6.
39. Gadani, Sachin P; Cronk J. Interleukin-4: A Cytokine to Remember. *J Immunol.* 2013;189(9):4213–9.
40. Chang YH, Ho KT, Lu SH, Huang CN, Shiau MY. Regulation of glucose/lipid metabolism and insulin sensitivity by interleukin-4. *Int J Obes.* 2012;36(7):993–8.
41. Saraiva M, O’Garra A. The regulation of IL-10 production by immune cells. *Nat Rev Immunol.* 2010;10(3):170–81.
42. Esposito K, Pontillo A, Giugliano F, Giugliano G, Marfella R, Nicoletti G, et al. Association of low interleukin-10 levels with the metabolic syndrome in obese women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(3):1055–8.
43. Veldhoen, M., Hocking, R.J., Atkins, C.J., Locksley, R.M. & Stockinger B. TGF- β in the context of an inflammatory cytokine milieu supports de novo differentiation of IL-17-producing T cells. *Immunity.* 2006;24:179–89.
44. Bettelli E et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature.* 2006;441:235–8.
45. Sutton, C., Brereton, C., Keogh, B., Mills, K.H. & Lavelle EC. A crucial role for interleukin (IL)-1 in the induction of IL-17-producing T cells that mediate autoimmune encephalomyelitis. *J Exp Med.* 2006;203:1685–91.
46. Galgani M, Matarese G. Editorial: Acute inflammation in obesity: IL-17A in the middle of the battle. *J Leukoc Biol.* 2010;87(1):17–8.
47. Zapata-Gonzalez F, Auguet T, Aragonès G, Guiu-Jurado E, Berlanga A, Martinez S, et al. Interleukin-17A gene expression in morbidly obese women. *Int J Mol Sci.* 2015;16(8):17469–81.
48. Sumarac-Dumanovic M, Stevanovic D, Ljubic A, Jorga J, Simic M, Stamenkovic-Pejkovic D, et al. Increased activity of interleukin-23/interleukin-17 proinflammatory axis in obese women. *Int J Obes.* 2009;33(1):151–6.
49. Caballero AE, Boden G, Barrera-Cruz A, Rodríguez-González A, Molina-Ayala MA, Badimon L, et al. Endothelial dysfunction in obesity and insulin resistance: a road to diabetes and heart disease. *Obes Res.* 2003;11(3):1278–89.

50. Badimon L, Romero JC, Cubedo J, Borrell-Pagès M. Circulating Biomarkers. *Thromb Res.* 2012;130(Suppl 1):S12–5.
51. Badimón L. Disfunción endotelial. *Rev Esp Cardiol.* 2006;6(Suppl):21–30.
52. Caballero AE. Endothelial dysfunction in obesity and insulin resistance: a road to diabetes and heart disease. *Obes Res.* 2003;11:1278–89.
53. Thomas, M; Storey R. The role of platelets in inflammation. *Thromb Haemost.* 2015;114(3):449–58.
54. Davi, G; Patrono C. Platelet activation and atherothrombosis. *N Engl J Med.* 2007;357:2482–94.
55. Vischer UM. von Willebrand factor, endothelial dysfunction, and cardiovascular disease. *J Thromb Haemost.* 2006;4(6):1186–93.
56. Iwan-ziątek I, Szot K, Michalska M, Adamczyk P, Chojnowski J, Góralczyk K, et al. Coexistence of endothelial dysfunction , fibrinolysis activation and diminished interleukin 6 level in morbid obesity. 2018;64(1):16–21.
57. Bęc L, Karolczak MA MB. The role of von Willebrand factor in endothelial damage in patients operated on with use of cardiopulmonary bypass – a review. *Nowa Pediatr.* 2004;3:103–5.
58. Giordano P, Del Vecchio GC, Cecinati V, Delvecchio M, Altomare M, De Palma F et al. Metabolic, inflammatory, endothelial and haemostatic markers in a group of Italian obese children and adolescents. *Eur J Pediatr.* 2011;170(7):845–50.
59. Ragab A, Abousamra NK, Higazy A SO. Relationship between insulin resistance and some coagulation and fibrinolytic parameters in patients with metabolic syndrome. *Lab Hematol.* 2008;14(1):1–6.
60. Hausding M, Jurk K, Daub S, Krölller-Schön S, Stein J, Schwenk M, et al. CD40L contributes to angiotensin II-induced pro-thrombotic state, vascular inflammation, oxidative stress and endothelial dysfunction. *Basic Res Cardiol.* 2013;108(6).
61. Antoniadis C, Bakogiannis C, Tousoulis D, Antonopoulos AS, Stefanadis C. The CD40/CD40 Ligand System. Linking Inflammation With Atherothrombosis. *J Am Coll Cardiol.* 2009;54(8):669–77.
62. Steven S, Dib M, Hausding M, Kashani F, Oelze M, Krölller-Schön S, et al. CD40L controls obesity-associated vascular inflammation, oxidative stress, and endothelial

- dysfunction in high fat diet-treated and db/db mice. *Cardiovasc Res.* 2018;114(2):312–23.
63. Varo N, Libby P, Nuzzo R, Italiano J, Doria A SU. Elevated release of sCD40L from platelets of diabetic patients by thrombin, glucose and advanced glycation end products. *Diab Vasc Dis Res.* 2005;2:81–7.
64. Ferroni P; Guagnano, M; Falco, A; Paoletti, V; Manigrasso, M; Michetti, N; Santilli, F; Guadagni, F; Basili, S; Davi G. Association of low-grade inflammation and platelet activation in patients with hypertension with microalbuminuria. *Clin Sci.* 2008;114(449–455).
65. Ferroni P GF. Soluble CD40L and its role in essential hypertension: diagnostic and therapeutic implications. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets.* 2008;8:194–202.
66. Wenzel P, Knorr M, Kossmann S, Stratmann J, Hausding M, Schuhmacher S, Karbach SH, Schwenk M, Yagev N, Schulz E, Oelze M, Grabbe S, Jonuleit H, Becker C, Daiber A, Waisman A MT. Lysozyme M-positive monocytes mediate angiotensin II-induced arterial hypertension and vascular dysfunction. *Circulation.* 2011;124:1370–1381.
67. Rizvi M, Pathak D, Freedman JE, Chakrabarti S. CD40-CD40 ligand interactions in oxidative stress, inflammation and vascular disease. *Trends Mol Med.* 2008;14(12):530–8.
68. Reyes S LI, León B F, Rozas V MF, González J P, Naves P R. BAFF: Una citoquina reguladora de linfocitos B implicada en autoinmunidad y cáncer linfoide. *Rev Med Chil.* 2006;134(9):1175–84.
69. Schneider P, MacKay F, Steiner V, Hofmann K, Bodmer J-L, Holler N, et al. BAFF, a Novel Ligand of the Tumor Necrosis Factor Family, Stimulates B Cell Growth. *J Exp Med.* 1999;189(11):1747–56.
70. Moore PA, Belvedere O, Orr A, Pieri K, LaFleur DW, Feng P, et al. BLyS: member of the tumor necrosis factor family and B lymphocyte stimulator. *Science (80-).* 1999;285(5425):260–3.
71. Shu HB, Hu WH, Johnson H. TALL-1 is a novel member of the TNF family that is down-regulated by mitogens. *J Leukoc Biol.* 1999;65(5):680–3.
72. Mukhopadhyay A, Ni J, Zhai Y, Yu G-L, Aggarwal BB. Identification and

- Characterization of a Novel Cytokine, THANK, a TNF Homologue That Activates Apoptosis, Nuclear Factor- κ B, and c-Jun NH₂-Terminal Kinase. *J Biol Chem.* 1999;274(23):15978–81.
73. Tribouley C, Wallroth M, Chan V, Paliard X, Fang E LG. Characterization of a new member of the TNF family expressed on antigen presenting cells. *Biol Chem.* 1999;380:1443–7.
74. Davidson A. Targeting BAFF in autoimmunity. *Curr Opin Immunol.* 2010;22:732–9.
75. Scapini P; Nardelli B; Nadalli G; Calzetti F; Pizzolo G; Montecucco C et al. G-CSF-stimulated neutrophils are prominent source of functional B_LY_S. *Exp Med.* 2003;197:297–302.
76. Zang, X; Park, C.S; Yoon, S.O; Li, L; Hsu, Y.M; Ambrose C et al. BAFF supports human B cell differentiation in the lymphoid follicles through distinct receptors. *Int Immunol.* 2005;17:779–88.
77. Mackay F AC. The TNF family members BAFF and APRIL: the growing complexity. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2003;14:311–24.
78. Alexaki V-I, Notas G, Pelekanou V, Kampa M, Valkanou M, Theodoropoulos P, et al. Adipocytes as Immune Cells: Differential Expression of TWEAK, BAFF, and APRIL and Their Receptors (Fn14, BAFF-R, TACI, and BCMA) at Different Stages of Normal and Pathological Adipose Tissue Development. *J Immunol.* 2009;183(9):5948–56.
79. Kim YH, Choi BH, Cheon HG, Do MS. B cell activation factor (BAFF) is a novel adipokine that links obesity and inflammation. *Exp Mol Med.* 2009;41(3):208–16.
80. Ospina FE, Betancur JF, Suso JP, Muñ Oz-Buitron E, Alberto Cañ Asc C, Tobónd GJ. Papel de la citocina BAFF en las enfermedades autoinmunes: Rol fisiopatológico y estrategias terapéuticas. *Rev Colomb Reumatol.* 2016;23(3):177–94.
81. Ohata J, Zvaifler NJ, Nishio M, Boyle DL, Kalled SL, Carson DA et al. Fibroblast-like synoviocytes of mesenchymal origin express functional B cell-activating factor of the TNF family in response to proinflammatory cytokines. *J Immunol.* 2005;174:864–70.
82. Scapini P, Carletto A, Nardelli B, Calzetti F, Roschke V, Merigo F et al. Proinflammatory mediators elicit secretion of the intracellular B-lymphocyte

- stimulator pool (BLyS) that is stored in activated neutrophils: implications for inflammatory diseases. *Blood*. 2005;105:830–7.
83. Tada F, Abe M, Kawasaki K, Miyake T, Shiyi C, Hiasa Y, Matsuura B OM. B cell activating factor in obesity is regulated by oxidative stress in adipocytes. *J Clin Biochem Nutr*. 2013;52(2):120–7.
84. Kim, D; Do M. BAFF knockout improves systemic inflammation via regulating adipose tissue distribution in high-fat diet-induced obesity. *Exp Mol Med*. 2015;(47):1–11.
85. Lied GA, Berstad A. Functional and Clinical Aspects of the B-Cell-Activating Factor (BAFF): A Narrative Review. *Scand J Immunol*. 2011;73(1):1–7.
86. Restrepo Escobar M, María Vásquez G. Factor activador de célula B perteneciente a la familia del TNF (BAFF): Blanco terapéutico por su papel en autoinmunidad. *Inmunología*. 2008;27:118–26.
87. Batten M, Groom J, Cachero TG, Qian F, Schneider P, Tschopp J, et al. BAFF mediates survival of peripheral immature B lymphocytes. *J Exp Med*. 2000;192(10):1453–66.
88. Do RK, Hatada E, Lee H, Tourigny MR, Hilbert D, Chen-Kiang S. Attenuation of apoptosis underlies B lymphocyte stimulator enhancement of humoral immune response. *J Exp Med*. 2000;192(7):953–64.
89. Huard, B; Arlettaz, L; Ambrose, C; Kindler, v; Mauri, D; Roosnek E et al. BAFF production by antigen-presenting cells provides T cell co-stimulation. *Int Immunol*. 2004;16:467–75.
90. Chen, M; Lin, X; Liu, Y; Li, Q; Deng, Y; Liu, Z; Brand, D; Guo, Z; He, X; Ryffel, B; Zheng S. The function of BAFF on T helper cells in autoimmunity. *Citokine Growth Factor Rev*. 2014;25:301–5.
91. Müller, N; Hillebrand, S; Schulte, DM; Türk, K; Neumann, K; Hampe, J; von Kampen, O; Brosch, M; von Schönfels, W; Ahrens, M; Zeuner, R; Schröder, JO; Blüher, M; Schreiber, S; Laudes M. B lymphocyte stimulator (BLyS) is a novel adipokine in humans in vivo being related to obesity but not to insuline resistance. Vol. 121, *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2013.
92. Kawasaki K, Abe M, Tada F, Tokumoto Y, Chen S, Miyake T, et al. Blockade of B-

- cell-activating factor signaling enhances hepatic steatosis induced by a high-fat diet and improves insulin sensitivity. *Lab Invest.* 2013;93(3):311–21.
93. Hamada M, Abe M, Miyake T, Kawasaki K, Tada F, Furukawa S, et al. B cell-activating factor controls the production of adipokines and induces insulin resistance. *Obesity.* 2011;19(10):1915–22.
94. Bienertova-Vasku J, Bienert P, Zlamal F, Tomandl J, Forejt M, Tomandlova M, et al. B-cell activating factor (BAFF) - A new factor linking immunity to diet? *Cent Eur J Med.* 2012;7(3):275–83.
95. Talavera, Juan O. Rivas-Ruiz, Rodolfo. Bernal-Rosales LP. Tamaño de muestra. *Rev Medica Inst Mex del Seguro Soc.* 2011;49(5):517–22.
96. WHO experts. Waist Circumference and Waist-Hip Ratio, Report of a WHO Expert Consultation". World Health Organization. . 2008.
97. Centers of disease control. Body mass index: Considerations for practitioners. *Cdc.* 2011;4.
98. Gómez-Leon Mandujano A, Morales-Lopez S, Alvarez-Diaz CDJ. Técnica para una correcta toma de la presión arterial en el paciente ambulatorio. *Rev la Fac Med UNAM.* 2016;59(3):49–58.
99. Converse G. Diagnóstico y tratamiento del riesgo cardiometabólico. *Diabetes.* 2007;129(15):588–96.
100. Enabled FA. HHS Public Access. 2016;137(32):10160–3.
101. Godoy MF, Fernandez I, Feliu MS, Insani EM, Slobodianik NH. Valores séricos de interleuquina-4 en un grupo de adultos sanos. *Acta bioquímica clínica Latinoam.* 2013;47(2):419–420.
102. Saraiva M, O’Garra A. The regulation of IL-10 production by immune cells. *Nat Rev Immunol.* 2010;10(3):170–81.
103. Jung SH, Park HS, Kim KS, Choi WH, Ahn CW, Kim BT, et al. Effect of weight loss on some serum cytokines in human obesity: increase in IL-10 after weight loss. *J Nutr Biochem.* 2008;19(6):371–5.
104. Winer S, Chan Y, Paltser G, Truong D, Tsui H, Bahrami J, et al. Normalization of obesity-associated insulin resistance through immunotherapy. *Nat Med.* 2009;15(8):921–9.

105. Petrásová D, Bertková I, Petrásová M, Hijová E, Mareková M, Babinská I, et al. Biomarkers Associated With Obesity and Overweight in the Roma Population. *Cent Eur J Public Heal.* 2014;22(Suppl):18–22.
106. Bachmayer C, Kemmer A, Ehrmann N, Hasenberg T, Lammert A, Hammes HP. Adipokines and endothelial dysfunction in obesity WHO degrees III. *MicrovascRes.* 2013;89(1095–9319 (Electronic)):129–33.
107. Greenberg AS, Obin MS. Obesity and the role of adipose tissue in inflammation and metabolism. *Am J Clin Nutr.* 2006;83(2):461–5.
108. Mauer J, Chaurasia B, Goldau J, Vogt MC, Ruud J, Nguyen KD, et al. Signaling by IL-6 promotes alternative activation of macrophages to limit endotoxemia and obesity-associated resistance to insulin. *Nat Immunol.* 2014;15(5):423–30.
109. Weiss R, Durzia J, Burgert T, Tamborlane W V, Taksali SE, Yeckel CW, et al. Obesity and the Metabolic Syndrome in Children and Adolescents. *N Engl J Med.* 2004;350(23):2362–74.
110. Wallenius, V; Wallenius, K; Ahrén, B; Rudling, M; Carlsten, H; Dickson, S; Ohlsson CJJ. Interleukin-6-deficient mice develop mature-onset obesity.pdf. *Nat Med.* 2002;1(8):75–9.
111. Wunderlich FT, Ströhle P, Könner AC, Gruber S, Tovar S, Brönneke HS, et al. Interleukin-6 signaling in liver-parenchymal cells suppresses hepatic inflammation and improves systemic insulin action. *Cell Metab.* 2010;12(3):237–49.
112. Biswas S, Ghoshal PK, Mandal SC, Mandal N. Relation of anti- to pro-inflammatory cytokine ratios with acute myocardial infarction. *Korean J Intern Med.* 2010;25(1):44–50.
113. Winer S, Chan Y, Paltser G, Truong D, Tsui H, Dorfman R, et al. Normalization of Obesity-Associated Insulin Resistance through Immunotherapy: CD4⁺ T Cells Control Glucose Homeostasis. *Nat Med.* 2009;15(8):921–9.
114. Castoldi A, De Souza CN, Saraiva Câmara NO, Moraes-Vieira PM. The macrophage switch in obesity development. *Front Immunol.* 2016;6:1–11.
115. Sun SC. Non-canonical NF- κ B signaling pathway. *Cell Res.* 2011;21(1):71–85.
116. Liu T, Zhang L, Joo D, Sun S-C. NF- κ B signaling in inflammation. *Signal Transduct Target Ther.* 2017;2(March):17023.

117. Fantuzzi G. Adipose tissue, adipokines and inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* 2005;115:911–9.
118. Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M, Weiner HL KV. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature.* 2006;441:235–8.
119. Mangan, PR; Harrington, LE; O’Quinn, DB; Helms, WS; Bullard, DC; Elson, CO; Hatton, RD; Wahl, SM; Schoeb, TR; Weaver C. Transforming growth factor-beta induces development of the T(H)17 lineage. *Nature.* 2006;441:231–4.
120. Veldhoen M. Interleukin 17 is a chief orchestrator of immunity. *Nat Immunol.* 2017;18(6):612–21.
121. Sutton, C., Brereton, C., Keogh, B., Mills, K.H. & Lavelle E. A crucial role for interleukin (IL)-1 in the induction of IL-17-producing T cells that mediate autoimmune encephalomyelitis. *J Exp Med.* 2006;203:1685–91.
122. Ivanov II, McKenzie BS, Zhou L, Tadokoro CE, Lepelley A, Lafaille JJ, Cua DJ LD. The orphan nuclear receptor ROR γ directs the differentiation program of proinflammatory IL-17⁺ T helper cells. *Cell.* 2006;126:1121–33.
123. Zuniga LA, Shen W-J, Joyce-Shaikh B, Pyatnova EA, Richards AG, Thom C, et al. IL-17 Regulates Adipogenesis, Glucose Homeostasis, and Obesity. *J Immunol.* 2010;185(11):6947–59.
124. Endo Y, Asou HK, Matsugae N, Hirahara K, Shinoda K, Tumes DJ, et al. Obesity drives Th17 cell differentiation by inducing the lipid metabolic kinase, ACC1. *Cell Rep.* 2015;12(6):1042–55.
125. Schäfer K, Konstantinides S. Adipokines and thrombosis. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2011;38(12):864–71.
126. Nakamura, K; Fuster, J; Walsh K. Adipokines: A link between obesity and cardiovascular disease. *J Cardiol.* 2014;63:250–9.
127. Kleinbongard, P; Heusch, G; Schulz R. TNF α in atherosclerosis, myocardial ischemia/reperfusion and heart failure. *Pharmacol Ther.* 2010;127:295–314.
128. Gungor ZB, Sipahioglu N, Sonmez H, Ekmekci H, Toprak S, Ayaz G, et al. Endothelial Dysfunction Markers in Low Cardiovascular Risk Individuals: Comparison of Males and Females. *J Med Biochem.* 2017;36(1):62–72.

129. Lippi, G; Salvagno, G.L; Montagnana, M; Guidi, G.C; Targher, G; Franchini M. No Title. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2008;18(2):e3–4.
130. Unek IT, Bayraktar F, Solmaz D, Ellidokuz H, Sisman AR, Yuksel F, et al. The Levels of Soluble CD40 Ligand and C-Reactive Protein in Normal Weight, Overweight and Obese People. *Clin Med Res.* 2010;8(2):89–95.
131. Angelico F, Alessandri C, Ferro D, Pignatelli P, Del Ben M, Fiorello S, et al. Enhanced soluble CD40L in patients with the metabolic syndrome: Relationship with in vivo thrombin generation. *Diabetologia.* 2006;49(6):1169–74.
132. Taleb S, Tedgui A, Mallat Z. IL-17 and Th17 cells in atherosclerosis: Subtle and contextual roles. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2015;35(2):258–64.
133. Winer D, Winer S, Chng M, Shen L EE. B Lymphocytes in obesity-related adipose tissue inflammation and insulin resistance. *Cell Mol Life Sci.* 2014;71:1033–43.
134. Suzuki K, Setoyama Y, Yoshimoto K, Tsuzaka K, Abe T, Takeuchi T. Effect of interleukin-2 on synthesis of B cell activating factor belonging to the tumor necrosis factor family (BAFF) in human peripheral blood mononuclear cells. *Cytokine.* 2008;44(1):44–8.
135. Winer DA, Winer S, Shen L, Wadia PP, Yantha J, Paltser G, et al. B cells promote insulin resistance through modulation of T cells and production of pathogenic IgG antibodies. *Nat Med.* 2011;17(5):610–7.
136. Tsiantoulas D, Sage AP, Mallat Z, Binder CJ. Targeting B cells in atherosclerosis: Closing the gap from bench to bedside. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2015;35(2):296–302.
137. Sage AP, Tsiantoulas D, Baker L, Harrison J, Masters L, Murphy D, et al. BAFF receptor deficiency reduces the development of atherosclerosis in mice-brief report. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012;32(7):1573–6.

ANEXO 1



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DELEGACION REGIONAL EN MICHOACÁN
CENTRO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA DE MICHOACÁN
UNIDAD DE MEDICINA FAMILIAR N° 80**

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

“Factor activador de células B y su relación con biomarcadores de inflamación y disfunción endotelial en pacientes con obesidad.”

Morelia, Michoacán, a _____ de _____ del 2017.

Usted ha sido invitado a participar en el estudio de investigación titulado: Factor activador de células B y su relación con biomarcadores de inflamación y disfunción endotelial en pacientes con obesidad. Registrado ante el Comisión Nacional de Investigación en Salud del Instituto Mexicano del Seguro Social con el número: _____.

El siguiente documento le proporciona información detallada sobre el mismo. Por favor léalo atentamente.

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVO

La obesidad es una acumulación excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud. Es bien conocido que la obesidad es uno de los principales factores de riesgo para el desarrollo de infarto al miocardio (tejido que está en el corazón). Una de las consecuencias clínicas más relevantes de la obesidad es la agresión crónica al endotelio vascular (capa que está dentro de las venas) que deriva en un proceso de mal funcionamiento del endotelio (disfunción endotelial), el cual juega un papel clave en la formación de complicaciones

vasculares. Existen moléculas que se secretan en el endotelio (capa que está dentro de las venas) y en tejido adiposo (grasa), que se pueden cuantificar en sangre para evaluar la disfunción endotelial como son el factor tisular (FT), inhibidor activador del plasminógeno tipo 1 (PAI-1) y factor von Willebrand (FvW). Por otra parte, existen moléculas inflamatorias que están circulando en su sangre como son el factor inhibidor de las células B (BAFF), factor de necrosis tumoral alfa, Interleucina-2, Interleucina-4, Interleucina-6, Interleucina-10, Interleucina-17A e Interferón gamma que se pueden medir para evaluar su estado de inflamación. Hay además otros factores que favorecen un proceso de inflamación del endotelio como son las altas concentraciones de azúcar y las altas concentraciones de colesterol que favorecen la disfunción del endotelio. Por lo que el objetivo a investigar es estudiar la relación entre las concentraciones plasmáticas del factor activador de células B (BAFF) con las concentraciones de biomarcadores de inflamación y disfunción endotelial en pacientes con obesidad.

PROCEDIMIENTOS

Se le ha explicado que su participación en este estudio consistirá en que la Q.F.B. Villalpando le realizará una serie de preguntas relacionadas con su estado actual y los medicamentos que está tomando; le tomará algunas medidas corporales como peso, talla, frecuencia cardíaca (que tan rápido late su corazón) y presión arterial, que a Usted le servirá para conocer su estado de salud; le tomará además una muestra de sangre de una de las venas de su antebrazo, para medir las concentraciones de: azúcar (glucosa), grasas (colesterol, triglicéridos) y las moléculas o biomarcadores (BAFF, PAI-1, vWF, TNF- α , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IFN- γ) con el propósito de conocer el estado de inflamación y de disfunción en el endotelio.

RIESGOS Y MOLESTIAS

Los posibles riesgos y molestias derivados de su participación en el estudio, son los siguientes:

La toma de la muestra de sangre venosa de uno de sus antebrazos, le puede causar una ligera molestia al introducir o retirar la aguja; ocasionalmente se puede lastimar la vena y se puede producir un hematoma (moretón) en el sitio de la punción, al final de la toma de la muestra, lo anterior se reduce al mínimo si mantiene presionado el sitio puncionado con una torunda (bolita de algodón) húmeda con alcohol.

BENEFICIOS

Los beneficios que obtendrá al participar en el estudio son: le realizarán una evaluación clínica sobre su estado de salud; le medirán algunas moléculas en la sangre (biomarcadores) que no son estudios de rutina, con la finalidad de conocer su estado de inflamación y disfunción del endotelio en la sangre y recibirá un pronóstico sobre su estado de salud general.

La información obtenida de este estudio ayudará a comprender mejor estos biomarcadores en la población mexicana y en el futuro se planea proponerlo como un método diagnóstico y pronóstico para el desarrollo de enfermedad cardiovascular.

INFORMACIÓN DE RESULTADOS Y ALTERNATIVAS DEL TRATAMIENTO

El investigador responsable se ha comprometido a darle información oportuna sobre cualquier resultado o procedimiento alternativo adecuado que pudiera ser ventajoso para su estado de salud, así como a responder cualquier pregunta y aclarar cualquier duda que pudiera tener acerca de los procedimientos que se llevarán a cabo: los riesgos, los beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación o con su tratamiento.

PARTICIPACIÓN O RETIRO

Su participación en este estudio es completamente voluntaria. Es decir, que si usted no desea participar en el estudio, su decisión no afectará su relación con el IMSS ni su derecho a obtener los servicios de salud u otros servicios que ya recibe. Si en un principio desea

participar y posteriormente cambia de opinión, usted puede abandonar el estudio en cualquier momento. El abandonar el estudio en el momento que quiera no modificará de ninguna manera los beneficios que usted tiene como derechohabiente del IMSS. Para los fines de esta investigación, sólo utilizaremos la información que usted nos ha brindado desde el momento en que aceptó participar hasta el momento en el cual nos haga saber que ya no desea participar.

PRIVACIDAD Y CONFIDENCIALIDAD

La información que proporcione y que pudiera ser utilizada para identificarlo (como su nombre, teléfono y dirección) será guardada de manera confidencial y por separado al igual que sus respuestas a los cuestionarios y los resultados de sus pruebas clínicas, para garantizar su privacidad. Nadie más tendrá acceso a la información que usted nos proporcione durante el estudio, al menos que usted así lo desee. NO se dará información que pudiera revelar su identidad, siempre su identidad será protegida y ocultada, le asignaremos un número para identificar sus datos y usaremos ese número en lugar de su nombre en nuestra base de datos.

BENEFICIOS AL TÉRMINO DEL ESTUDIO:

Al término del estudio usted recibirá un informe médico con el resumen de resultados de laboratorio clínico y de las moléculas o biomarcadores. Se le aconsejará sobre las medidas de prevención en caso de que tenga descontrol de su azúcar o grasas sanguíneas para disminuir sus niveles con modificación de su tratamiento farmacológico.

PERSONAL DE CONTACTO EN CASO DE DUDAS O ACLARACIONES

En caso de dudas o aclaraciones relacionadas con el estudio podrá dirigirse con la Dra. Anel Gómez García, Investigador Responsable adscrito al CIBIMI (matrícula 11680652), al teléfono 3 22 26 00 extensión 31015.

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comisión de Ética de Investigación del CNIC del IMSS: avenida Cuauhtémoc 330 4º piso bloque “B” de la Unidad de Congresos, Col. Doctores. México, D.F., CP 06720. Tel (55) 56 27 69 00 Ext 21230. Correo electrónico: comité.eticainv@imss.gob.mx.

DECLARACIÓN DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Se me ha explicado con claridad en qué consiste este estudio, además he leído (o alguien me ha leído) el contenido de este formato de consentimiento. Se me ha dado la oportunidad de hacer preguntas, todas mis preguntas han sido contestadas a satisfacción y se me ha dado una copia de este formato. Al firmar este documento estoy de acuerdo en participar en la investigación que aquí se describe.

Nombre y firma del participante.

Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento.

Testigo 1

Nombre, dirección, relación y firma.

Testigo 2

Nombre, dirección, relación y firma.

ANEXO 2



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DELEGACION REGIONAL EN MICHOACÁN
CENTRO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA DE MICHOACÁN
UNIDAD DE MEDICINA FAMILIAR N° 80

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

**“Factor activador de células B y su relación con biomarcadores de inflamación
y disfunción endotelial en pacientes con obesidad.”**

No: _____

Fecha: _____

Ficha de Identificación:

Nombre: _____

No. Afiliación: _____

Edad: _____

Domicilio: _____

Sexo:

M ()

F ()

Teléfono: _____

Edo. Civil:

Soltero ()

Casado ()

Unión libre ()

Viudo ()

Divorciado ()

Escolaridad:

Primaria ()

Secundaria ()

Preparatoria ()

Universidad ()

Posgrado ()

Antecedentes Heredofamiliares Patológicos:

	Abuelos	Padres	Tíos	Hermanos
Insuficiencia cardiaca:				
Enfermedad cardiovascular:				
Hipertensión arterial sistémica:				
Tromboembolia:				
Diabetes Mellitus tipo 2:				
Obesidad:				
Función renal alterada:				
Función hepática alterada				
Hipercolesterolemia:				
Hipertrigliceridemia:				
Cáncer:				

Antecedentes Patológicos Personales:

¿Ha sido usted diagnosticado con alguna de las siguientes enfermedades?

- Diabetes Mellitus tipo 2:** Si () No ()
- Enfermedad Cardiovascular:** Si () No ()
- Hipertensión arterial:** Si () No ()
- Enfermedad tiroidea:** Si () No ()
- Artritis reumatoide:** Si () No ()
- Lupus eritematoso sistémico:** Si () No ()
- Esclerosis múltiple:** Si () No ()
- Colitis:** Si () No ()
- Otro (¿Cuál?):** _____

En el último mes, ¿lo han vacunado? **Si ()** **No ()**

En el último mes, ha presentado:

Fiebre:	Si ()	No ()
Gripe:	Si ()	No ()
Infección Vías urinarias:	Si ()	No ()
Infección Dérmica:	Si ()	No ()
Infección Gastrointestinal:	Si ()	No ()
Otro (¿Cuál?):	_____	

En el último mes, ¿ha consumido alguno de los siguientes fármacos?

Aspirina:	Si ()	No ()
Ketorolaco:	Si ()	No ()
Sulindaco:	Si ()	No ()
Piroxicam	Si ()	No ()
Paracetamol:	Si ()	No ()
Diclofenaco:	Si ()	No ()
Naproxeno:	Si ()	No ()
Nimesulida:	Si ()	No ()
Otro (¿Cuál?):	_____	

Antecedentes Personales No Patológicos:

Actividad Física:	Si ()	No ()	¿Cuál?:	_____
Horas:	_____		Días (semana):	_____
Tabaquismo:	Si ()	No ()	¿Cuántos? (día):	_____
Alcoholismo:	Si ()	No ()	Veces (semana):	_____

Exploración Física:

C. Cintura (cm): _____

Peso (Kg): _____

IMC: _____

Masa Grasa (%): _____

Masa Magra (Kg): _____

TAS (mmHg): _____

C. Cadera (cm): _____

Talla (m): _____

MB (Kcal): _____

Masa Grasa (Kg): _____

Agua (Kg): _____

TAD (mmHg): _____

Estudios de Laboratorio:

Glucosa (mg/dL): _____

CT (mg/dL): _____

LDL-c (mg/dL): _____

TG (mg/dL): _____

HDL-c (mg/dL): _____

VLDL-c (mg/dL): _____

Insulina & Disfunción Endotelial:

Insulina (mUI/mL): _____

FT (pg/mL): _____

FvW (mg/mL): _____

PAI-1 (ng/mL): _____

BAFF & Inflamación:

BAFF (pg/mL): _____

IFN- γ (pg/mL): _____

IL-4 (pg/mL): _____

IL-10 (pg/mL): _____

TNF- α (pg/mL): _____

IL-2 (pg/mL): _____

IL-6 (pg/mL): _____

IL-17A (pg/mL): _____