



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**EVALUACIÓN DEL PERFIL DE ACTIVACIÓN DE  
LINFOCITOS T INVARIANTES ASOCIADOS A  
MUCOSAS EN PACIENTES ADULTOS CON OBESIDAD  
EXTREMA.**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
LICENCIADO EN QUÍMICA FARMACÉUTICO-  
BIOLÓGICA**

**P R E S E N T A:**

**JESSICA                      PIEDRA                      REYES**



**TUTORA: DRA. EN C. NAYELI GORETI NIETO VELÁZQUEZ**

**Ciudad Universitaria, Ciudad de México, 2017**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

El presente trabajo de tesis se realizó en la Unidad de Investigación en Inmunidad e Inflamación (UIININ) del Hospital Juárez de México, bajo la dirección de la Dra. en C. Nayeli Goreti Nieto Velázquez. Con la colaboración de los integrantes de la Clínica de Obesidad y Trastornos Metabólicos (COTM) del Hospital Juárez de México.

Este trabajo forma parte del protocolo de investigación “Estudio clínico aleatorizado de dos tipos de plan de alimentación hipocalóricos sobre el control de peso, parámetros bioquímicos y marcadores inflamatorios en pacientes con obesidad” con número de registro **HJM 0121/16-1**, evaluado por los comités de Ética, Bioseguridad e Investigación del Hospital Juárez de México, donde la M. en C. de la Salud Blanca Rosalba Pardo Pacheco funge como investigadora principal.

*Nuestra recompensa se encuentra en el esfuerzo y no en el resultado.  
Un esfuerzo total es una victoria completa.*

Mahatma Gandhi

## Índice

	Página
Abreviaturas	I
Índice de tablas	li
Índice de figuras	lii
Resumen	Iv
1 INTRODUCCIÓN	1
1.1 Epidemiología	1
1.2 Obesidad en México	1
1.2.1 Costos económicos de la obesidad	3
1.3 Definición de obesidad	4
1.3.1 Clasificación de la obesidad	4
1.4 Etiología de la obesidad	9
1.5 Patologías asociadas a la obesidad	10
1.6 Tratamiento	12
1.6.1 Tratamiento nutricional	12
1.6.2 Tratamiento Psicológico	14
1.6.3 Tratamiento farmacológico	14
1.6.4 Actividad física	14
1.6.5 Tratamiento quirúrgico	15
1.7 Tejido adiposo	15
1.7.1 Componentes humorales del sistema inmune en el tejido adiposo	16
1.8 Inflamación vínculo con la obesidad	17
1.8.1 Componentes del sistema inmune innato en la obesidad	18
1.9 Células T invariantes asociados a mucosa	20
2 JUSTIFICACIÓN	23
3 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	24
4 HIPÓTESIS	24
5 OBJETIVOS	25
5.1 Objetivo general	25

5.2	Objetivos particulares	25
6	MATERIAL Y MÉTODOS	26
6.1	Criterios de selección de los pacientes	26
6.1.1	Criterios de inclusión	26
6.1.2	Criterios de exclusión	26
6.1.3	Criterios de eliminación	26
6.2	Toma y procesamiento de las muestras	27
6.2.1	Tinción del fenotipo inicial de células MAIT	27
6.2.2	Activación in vitro con PMA/Ionomicina	28
6.2.3	Tinción del ensayo de activación de células mononucleares	29
6.3	Ética	31
6.4	Análisis estadístico	32
7	RESULTADOS	33
7.1	Universo de estudio	33
7.2	Reducción de composición corporal	34
7.3	Parámetros Bioquímicos	36
7.4	Células MAIT en pacientes con obesidad extrema	37
8	DISCUSIÓN	44
8.1	Reducción de composición corporal	44
8.2	Parámetros Bioquímicos	45
8.3	Células MAIT en pacientes con obesidad extrema	46
9	CONCLUSIONES	52
10	REFERENCIAS	53
11	ANEXOS	60
	Anexo I. Carta de aceptación del protocolo de investigación	60
	Anexo II. Carta de consentimiento informado	61

## Abreviaturas

<b>COTM</b>	Clínica de Obesidad y Trastornos Metabólicos
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>SS</b>	Secretaria Salud
<b>INSP</b>	Instituto Nacional Salud Publica
<b>ENSANUT</b>	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición.
<b>SEEDO</b>	Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad
<b>IMC</b>	Índice masa corporal
<b>ICC</b>	Índice cintura cadera
<b>TA</b>	Tejido adiposo
<b>TAB</b>	Tejido adiposo blanco
<b>TAP</b>	Tejido adiposo pardo
<b>Acrp30</b>	Adiponectina
<b>ASP</b>	Proteína estimuladora de ascilacion.
<b>TNF-</b>	Factor de necrosis tumoral
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	Interferón gamma
<b>IL-</b>	Interleucina
<b>LPS</b>	Lipopolisacarido
<b>COX</b>	Ciclooxigenasa
<b>PMA</b>	Acetato de forbol miristato
<b>NK</b>	Células asesinas naturales.
<b>Inkt</b>	Células T asesinas naturales invariantes
<b>MAIT</b>	Células T invariantes asociadas a mucosa.
<b>MR1</b>	Molécula MHC de clase I no clásica
<b>HDL</b>	Lipoproteínas de alta densidad
<b>LDL</b>	Lipoproteínas de baja densidad
<b>PCR</b>	Proteína C reactiva
<b>HbIA1c</b>	Hemoglobina glucosilada

## Índice de tablas

	Pagina
<b>Tabla 1.</b> Clasificación de sobrepeso y obesidad de acuerdo a su IMC (OMS).	5
<b>Tabla 2.</b> Clasificación de sobrepeso y obesidad de acuerdo a su IMC SEEDO 2007.	6
<b>Tabla 3.</b> Riesgo a la salud de acuerdo al índice cintura cadera.	6
<b>Tabla 4.</b> Sistema de estatificación de la obesidad de Edmonton.	8
<b>Tabla 5.</b> Clasificación de las etiologías de la obesidad.	10
<b>Tabla 6.</b> Principales patologías médicas asociadas a la obesidad.	11
<b>Tabla 7.</b> Componentes humorales del sistema inmune innato en el tejido adiposo y su función.	17
<b>Tabla 8.</b> Anticuerpos monoclonales específicos para marcadores de superficie de las células MAIT.	28
<b>Tabla 9.</b> Anticuerpos monoclonales específicos para marcadores de superficie de las células MAIT activadas.	30
<b>Tabla 10.</b> Anticuerpos monoclonales específicos para marcadores intracelulares de las células MAIT activadas.	30
<b>Tabla 11.</b> Características demográficas de las poblaciones de estudio.	34
<b>Tabla 12.</b> Datos bioquímicos de los pacientes obesos al inicio y final del tratamiento.	36



## Índice de figuras

	Página
<b>Figura 1.</b> Prevalencia de sobrepeso y obesidad en población de 20 o más años de edad, en la ENSANUT 2012 y ENSANUT MC 2016.	2
<b>Figura 2.</b> Adipocito. El exceso de grasa se almacena en los adipocitos los cuales aumentan de tamaño hasta que la grasa se utiliza e combustible.	15
<b>Figura 3.</b> Reclutamiento celular en la obesidad.	19
<b>Figura 4.</b> Proceso de activación de las células MAIT.	21
<b>Figura 5.</b> Seguimiento de la población con obesidad extrema ingresada a la COTM.	33
<b>Figura 6.</b> Variables antropométricas de los pacientes con obesidad extrema al inicio y final del tratamiento.	35
<b>Figura 7.</b> Frecuencia de células MAIT (CD3+ CD161+ TCR V $\alpha$ 7.2+) en los pacientes con obesidad extrema y sujetos sanos.	37
<b>Figura 8.</b> Estado basal de marcadores de activación en células MAIT (CD3+ CD4- CD161+ TCR V $\alpha$ 7.2+).	38
<b>Figura 9.</b> Producción basal de citocinas en células MAIT (CD3+ CD4- CD161+ TCR V $\alpha$ 7.2+) de los grupos de estudio.	39
<b>Figura 10.</b> Determinación de citocinas intracelulares en células MAIT (CD3+ CD16+ TCR V $\alpha$ 7.2+) después del estímulo in vitro con PMA/ionomicina.	40
<b>Figura 11.</b> Expresión de marcadores de activación en células MAIT después de un estímulo in vitro con PMA/Ionomicina.	42

## Resumen

La obesidad es una enfermedad crónica caracterizada por el almacenamiento en exceso de tejido adiposo en el organismo que induce un estado inflamatorio crónico, caracterizada por un aumento de las concentraciones plasmáticas de los factores pro-inflamatorios y anti-inflamatorios, recientemente se ha descrito la participación de una población de linfocitos T en el desarrollo de la inflamación crónica que se presenta durante la obesidad, las células T invariantes asociadas a mucosas (MAIT, por sus siglas en inglés) donde se ha observado que la frecuencia de células MAIT en tejido adiposo y sangre periférica está disminuida en pacientes con obesidad, efecto atribuido a la alteración de la composición de la microbiota intestinal durante la obesidad.

En este estudio se evalúa el efecto de la reducción de peso sobre la frecuencia y funcionalidad de las células MAIT en pacientes con obesidad extrema, estos fueron sometidos a un tratamiento integral que incluyó un plan de alimentación hipocalórico estándar, rutina de ejercicio y terapia psicológica. Las determinaciones se realizaron al inicio y tres meses después del tratamiento. La frecuencia de células MAIT se determinó mediante citometría de flujo, identificando a las células con marcadores de superficie: CD45, CD3, CD4, CD161, TCR V $\alpha$ 7.2 y la funcionalidad se evaluó mediante estímulos *in vitro* con PMA/Ionomicina y el posterior marcaje de citocinas vía intracelular (IL-17, IL-10, IL-4 e IFN- $\gamma$ ) para su análisis por citometría de flujo. No se encontró diferencia significativa en la frecuencia de células MAIT entre los pacientes con obesidad extrema y los sujetos sanos. Sin embargo, la funcionalidad de las células MAIT se encuentra disminuida en los pacientes con obesidad extrema, presentando baja expresión de IL-10 ( $p=0.0007$ ), IL-4 ( $p=0.0064$ ), IL-17 ( $p=0.0019$ ), IFN- $\gamma$  ( $p=0.0001$ ) y CD69 ( $p=0.0354$ ) en comparación con los sujetos sanos. Después del tratamiento, se observa una pequeña recuperación algunos de los marcadores en las células MAIT de los pacientes con obesidad extrema, sin embargo no llega a ser significativa en comparación con los sujetos sanos. Concluimos que las células MAIT de pacientes con obesidad extrema presentan una disminución en su funcionalidad que es recuperada con la pérdida de peso.

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1 Epidemiología

Desde 1980, el número de personas con obesidad ha aumentado considerablemente en todo el mundo [1]. En 1998 fue considerada como epidemia mundial por la Organización Mundial de la Salud (OMS) debido a que en ese año había más de mil millones de adultos con sobrepeso (de los que por lo menos 300 millones eran clínicamente obesos), convirtiéndose en uno de los principales factores que contribuían a la aparición de enfermedades crónicas e incapacitantes [2].

En 2014, más de 1900 millones de adultos de 18 años o más tenían sobrepeso, de los cuales, más de 600 millones eran obesos, además 41 millones de niños menores de cinco años tenían sobrepeso o eran obesos, y se calcula que para el año 2015 habrá por lo menos 2,300 millones de individuos con sobrepeso y más de 700 millones con obesidad [1]. En los niños, la obesidad se asocia a una mayor probabilidad de muerte prematura, así como discapacidad en la edad adulta [3].

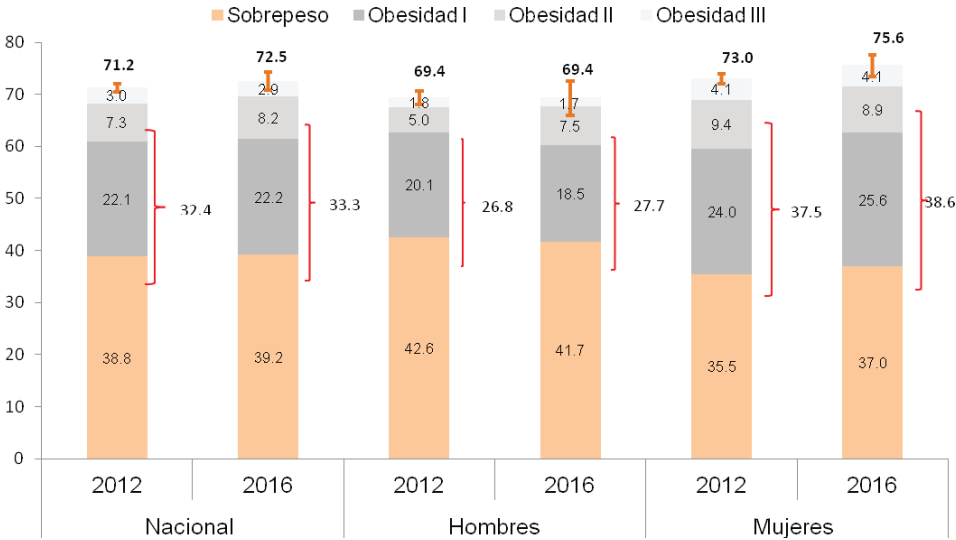
Actualmente la obesidad es un problema de salud pública a nivel mundial y es necesario prestarle atención desde diferentes disciplinas. En los últimos años ha habido un importante y preocupante aumento de la prevalencia de esta enfermedad, tanto en países industrializados como en vías de desarrollo [1]. Dada su magnitud y trascendencia es considerado, en México, un problema de salud pública, por eso el establecimiento de lineamientos, así como la recopilación actualizada de información sobre el tema ayuda a su atención integral, e incide de manera positiva en un adecuado manejo de los pacientes que cursan con esta enfermedad [4].

### 1.2 Obesidad en México

La prevalencia de obesidad en México ha podido estimarse gracias a la información obtenida de diversas encuestas de representatividad nacional, realizadas en su mayoría desde finales de la década de 1980 por la Secretaria de Salud (SS) y el Instituto Nacional de Salud Pública (INSP).

La epidemia de obesidad que se experimenta en México ha sido ampliamente documentada, tan solo en el año 2006, se reportó que en adultos de 20 años o mayores la prevalencia de sobrepeso y obesidad fue de 69.7%, lo que ubicó a México como uno de los países con mayor prevalencia en la región de América y a nivel global [5].

En adultos de 20 o más años la prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad fue de 71.2% en la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) del 2012 y de 72.5% en la ENSANUT MC del 2016 [6]. (Figura 1).



**Figura 1.** Prevalencia de sobrepeso y obesidad en población de 20 o más años de edad, en la ENSANUT 2012 y ENSANUT MC 2016. Fuente: ENSANUT 2012 y ENSANUT MC 2016. Clasificación de IMC descrita por la OMS: sobrepeso = 25.0-29.9 kg/m<sup>2</sup>, obesidad grado I = 30.0-34.9 kg/m<sup>2</sup>, obesidad grado II = 35.0-39.9 kg/m<sup>2</sup>, obesidad grado III ≥40.0 kg/m<sup>2</sup>.

Al categorizar por sexo en la ENSANUT MC 2016, se observa que la prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad (IMC ≥25 kg/m<sup>2</sup>) es mayor en las mujeres (75.6%), que en los hombres (69.4%), y que la prevalencia de obesidad (IMC ≥30 kg/m<sup>2</sup>) es también más alta en el sexo femenino 38.6%, que en el masculino 27.7% [6].

En cuanto a la obesidad infantil, ha ido creciendo de forma alarmante en los últimos años. Actualmente, México ocupa el primer lugar mundial en obesidad infantil, y el

segundo en obesidad en adultos, precedido sólo por los Estados Unidos. Problema que está presente no sólo en la infancia y la adolescencia, sino también en población en edad preescolar [7]. Para los escolares, la prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad ascendió un promedio del 26% para ambos sexos, lo cual representa más de 4.1 millones de escolares conviviendo con este problema [6].

Lo más alarmante es que las proyecciones hacia el futuro no son alentadoras, ya que, aunque se mantengan las tendencias actuales, el número de niños con sobrepeso aumentara a 70 millones para el 2015 en todo el mundo.

### **1.2.1 Costos económicos de la obesidad en México**

Dado su papel como causa de enfermedades, la obesidad aumenta la demanda de servicios de salud, además de afectar el desarrollo económico y social de los mexicanos, así como también presentar un costo indirecto debido a la pérdida de productividad generada por muerte prematura de los mismos, esto sin mencionar el gasto catastrófico que significa para una persona y su familia cuando no tienen acceso a algún tipo de seguridad social [5].

En 2008 los costos atribuibles a la obesidad en México fueron de 42 000 millones de pesos, equivalente a 13% del gasto total en salud (0.3% del PIB). De no aplicar intervenciones preventivas o de control costo-efectivas sobre la obesidad y sus comorbilidades (hipertensión, diabetes mellitus tipo 2, enfermedades cardiovasculares, cáncer de mama y cáncer colorrectal), los costos directos podrían ascender para 2017 a 101 000 millones de pesos, 101% más respecto al costo estimado en 2008 y los costos indirectos incrementar hasta 292% entre 2008 y 2017 (de 25 000 a 73 000 millones) [5].

De acuerdo al último análisis económico 2016 realizado por un grupo multidisciplinario de investigadores de la Universidad Autónoma Metropolitana (UAM) y de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) estimaron que es más de 120 mil millones de pesos el costo de la obesidad en el país al año [8].

El costo de no hacer nada es demasiado alto para las instituciones, para las familias y para los individuos. Solo cuando exista una respuesta social organizada que involucre a todos los sectores de la sociedad para lograr los cambios necesarios en los distintos niveles, se logrará combatir con éxito este problema [9, 10].

### **1.3 Definición de obesidad**

La obesidad, incluyendo al sobrepeso como un estado premórbido, es una enfermedad crónica caracterizada por el almacenamiento en exceso de tejido adiposo en el organismo [4], en el cual hay un desequilibrio energético entre calorías ingeridas y gastadas [1, 11]. Si el aporte de energía excede de forma crónica su consumo, el desequilibrio resultante provoca la expansión de los depósitos de lípidos del tejido adiposo y favorece la adipogénesis [12]. En general, el incremento de grasa corporal se traduce en condiciones normales, en un aumento de peso. Sin embargo, no todo aumento de peso corporal se produce debido a un incremento de tejido adiposo [13].

En los últimos años se ha observado que con la aparición de la obesidad se presentan alteraciones en la respuesta inmunitaria ya que se genera un proceso inflamatorio que suele ser crónico y de bajo grado, el cual también está presente con otras enfermedades degenerativas asociadas, tales como diabetes tipo 2 (DT2), hipertensión, dislipidemias y enfermedades cardíacas. En la obesidad es provocado por la acumulación excesiva de triglicéridos que conduce a una hipertrofia e hiperplasia en los adipocitos caracterizada por un aumento de las concentraciones plasmáticas de los factores pro-inflamatorios y anti-inflamatorios.

Sin embargo, una definición más detallada de la obesidad debería incluir que es una enfermedad compleja multifactorial que aparece por la influencia interactiva de factores sociales, ambientales, psicológicos, metabólicos, celulares y moleculares.

#### **1.3.1 Clasificación de la obesidad**

La clasificación de la obesidad en un individuo permite identificar a aquellos con mayor riesgo de morbi-mortalidad y permite evaluar en quienes una intervención

oportuna podría prevenir la aparición de obesidad, comorbilidades o complicaciones, para evaluar el tratamiento y mejorar el pronóstico de los pacientes para su control y prevención [3].

De acuerdo a la distribución de grasa corporal, la obesidad se clasifica en: a) central o androide, tipo manzana, con predominio de tejido graso en la región intrabdominal y b) periférica, ginecoide o tipo pera, con acumulo graso fundamentalmente en la región fémur-glútea. Esta distribución varía según el género y la raza, siendo en la infancia predominantemente mixta [14].

Actualmente la organización Mundial de la Salud (OMS) ha propuesto una clasificación cuantitativa de sobrepeso y obesidad basada en el índice de masa corporal (IMC o BMI) el cual es el más usado tanto en la clínica como para realizar estudios epidemiológicos, así como ser usado en ambos sexos y para adultos de todas las edades (Tabla 1) [12].

El IMC es la relación entre el peso y la talla, se calcula dividiendo el peso de una persona en kilos por el cuadrado de su talla en metros [1, 11].

**Tabla 1.** Clasificación de sobrepeso y obesidad de acuerdo a su IMC (OMS).

<b>Clasificación de sobrepeso y obesidad de acuerdo a su IMC (OMS)</b>		
	Clase de obesidad	IMC (Kg/m <sup>2</sup> )
INSUFICIENCIA PONDERAL		<18.5
NORMAL		18.5-24.9
SOBREPESO		25.0-29.9
OBESIDAD	I	30.0-34.9
	II	35.0-39.9
OBESIDAD EXTREMA	III	>40

Hay que destacar que, aunque la obesidad se define por el IMC, e impone un número sustancial sobre la esperanza de vida, está claro que el IMC tiene limitaciones considerables ya que carece de sensibilidad para evaluar los riesgos de enfermedades, sobre todo en personas que tienen peso normal o ligeramente elevada cuerpo [15].

El último consenso de la Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad (SEEDO 2007), se presentan dos diferencias importantes con respecto a la clasificación de la OMS (Tabla 2), ya que divide en dos categorías al sobrepeso y califica al grado II como pre-obesidad e introduce un nuevo grado de obesidad IV u obesidad extrema con un IMC >50 Kg/m<sup>2</sup> [16].

**Tabla 2.** Clasificación de sobrepeso y obesidad de acuerdo a su IMC SEEDO 2007.

<b>CLASIFICACION DE SOBREPESO Y OBESIDAD DE ACUERDO A SU IMC (SEEDO 2007)</b>		
	<b>CLASE OBESIDAD</b>	<b>IMC (Kg/m<sup>2</sup>)</b>
<b>PESO SUFICIENTE</b>		<18.5
<b>NORMOPESO</b>		18.5-24.9
<b>SOBREPESO</b>	I	25-26.9
<b>SOBREPESO</b>	II (PRE-OBESIDAD)	27-29.9
<b>OBESIDAD</b>	I	30-34.9
	II	35-39.9
	III (MORBIDA)	40-49.9
	IV (EXTREMA)	>50

Otro criterio útil para el diagnóstico del sobrepeso u obesidad son el índice cintura-cadera (ICC) [16] que evalúa la distribución del tejido adiposo, y se obtiene al dividir en centímetros la circunferencia de la cintura entre la circunferencia de la cadera; este índice permite estimar los riesgos a la salud, así como evaluar el riesgo de las comorbilidades más frecuentes asociadas a la obesidad, según se muestra en la Tabla 3 [2].

**Tabla 3.** Riesgo a la salud de acuerdo al Índice cintura cadera.

<b>Riesgo</b>	<b>Hombres</b>	<b>Mujeres</b>
<b>Alto</b>	> 0.95	> 0.85
<b>Moderado</b>	0.90-0.95	0.80-0.85
<b>Bajo</b>	< 0.90	< 0.80

Algunos estudios han sugerido que el ICC, ya sea solo o en combinación con el IMC, puede tener una relación más fuerte con algunos resultados de salud que el IMC solo



[17, 18] sin embargo, una aproximación diagnóstica estandarizada que categorice a los pacientes según su riesgo de salud, sea predictiva de mortalidad y sustente criterios de priorización terapéutica, no se ha podido establecer hasta estos días [19].

Una propuesta diferente para la clasificación de la obesidad es la de Edmonton (Division of Endocrinology, Department of Medicine, University of Alberta, Edmonton, Canada), donde se aborda una clasificación que, independientemente de las medidas antropométricas habituales (IMC, ICC) incorpora la presencia de comorbilidades asociadas y su dimensión, así como la gradación de limitaciones funcionales para definir estadios clínicos con diferente riesgo vital. Este sistema de estadiaje clínico se ha demostrado capaz de predecir mortalidad en cohortes representativas con obesidad (Tabla 4) [19].

En México, por lo general se dispone de infraestructura y equipos limitados, con recursos humanos deficientes y tiempos de espera muy largos para la atención a la salud en este complejo marco de referencia, resulta muy importante tener una herramienta que permita conceptualizar mejor la carga sobre la salud, que represente el exceso de peso en cada individuo y que al mismo tiempo ayude a priorizar los componentes de su atención por lo que la clasificación anterior podría ser muy útil en nuestra sociedad.

**Tabla 4.** Sistema de estadificación de la obesidad de Edmonton.

<b>Sistema de estadificación de la obesidad de Edmonton</b>		
<b>Etapa</b>	<b>Descripción</b>	<b>Manejo</b>
<b>0</b>	Sin asociación de factores de riesgo (p. ej. tensión arterial, lípidos, glucosa normal), síntomas, psicopatología, limitación funcional o del bienestar.	Identificar factores que contribuyan al exceso de peso. Orientación nutricional y de actividad física para prevenir mayor incremento de peso.
<b>1</b>	Presencia de factores de riesgo subclínicos (p. Ej. Tensión arterial límite, intolerancia a la glucosa síntomas leves disnea de medianos esfuerzos), psicopatología leve y limitación funcional o del bienestar leves	Identificar contribuyentes para factores de riesgo. Intervención más intensa en el estilo de vida, dieta y ejercicio para prevenir mayor incremento de peso. Monitoreo de factores de riesgo y estado de salud.
<b>2</b>	Presencia de enfermedades crónicas relacionadas con la obesidad (p. ej. hipertensión, diabetes mellitus tipo 2, apnea del sueño, osteoartritis, enfermedad por reflujo, trastorno de ansiedad) y limitación moderada de las actividades diarias o del bienestar.	Iniciar tratamiento integral para la obesidad que incluya todas las opciones de tratamiento conductual, farmacológico y quirúrgico. Monitoreo y tratamiento de comorbilidades.
<b>3</b>	Daño a órgano blanco establecido como infarto del miocardio, complicaciones de la diabetes, psicopatológica significativa limitación funcional o compromiso funcional o del bienestar severos	Tratamiento más intensivo para la obesidad que incluya todas las opciones de tratamiento conductual, farmacológico y quirúrgico. Manejo agresivo de las comorbilidades
<b>4</b>	Discapacidades severas potencialmente terminales derivadas de enfermedades crónicas relacionadas con la obesidad, psicopatología incapacitante y limitación funcional o del bienestar severa	Tratamiento agresivo de la obesidad que se considere viable. Medidas paliativas incluyendo manejo del dolor terapia ocupacional y apoyo psicosocial.

Adaptado de referencia [22].

## 1.4 Etiología de la obesidad

La etiología de la obesidad es compleja y de naturaleza multifactorial, las principales causas hasta ahora relacionadas con la obesidad son factores genéticos y ambientales que interactúan entre sí [20].

Dentro de los factores ambientales se ha observado a nivel mundial un aumento en la ingesta de alimentos de alto contenido calórico que son ricos en grasa y un descenso en la actividad física debido a la naturaleza cada vez más sedentaria de muchas formas de trabajo, los nuevos modos de transporte y la creciente urbanización, todos ellos, factores predisponentes para presentar obesidad [1, 21].

Dentro de los factores genéticos podemos encontrar síndromes congénitos, desordenes específicos y no específicos que promueven el desarrollo de la obesidad, a continuación, se presenta la clasificación por etiología de la obesidad, propuesta por Octavio Amancio Chassin y colaboradores (Tabla 5) donde dividen a la obesidad en esencial y secundaria [22].

La obesidad esencial resulta de una compleja interacción entre factores ambientales (dieta inadecuada, sedentarismo, factores psicológicos y socioculturales). Constituye más del 95 % de la obesidad clínica

Las causas secundarias de obesidad deben identificarse con precisión, ya que algunas son curables al remitir la patología de base, también es necesario hacer notar que algunos padecimientos considerados inductores de obesidad como el hipotiroidismo o hipercortisolismo en realidad no se acompañan de importante sobrepeso. Las restantes causas de obesidad secundaria, incluyendo síndromes genéticos complejos, no impactan los casos de obesidad esencial que por su frecuencia son un problema de salud pública mundial [22].

**Tabla 5.** Clasificación de las etiologías de la obesidad.

Etiología de la obesidad	
<b>Obesidad Esencial</b>	
Inactividad física	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dependiente de la edad</li> <li>• Post-operatoria</li> <li>• Vida sedentaria</li> </ul>
Desequilibrio nutricional	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Polifagia</li> <li>• Ingesta alimentos con elevado contenido de grasas</li> </ul>
<b>Obesidad secundaria</b>	
Genéticas	Síndrome: <ul style="list-style-type: none"> <li>• De Prader-Willi</li> <li>• De Alstrom</li> <li>• De Bardet- Biedl</li> <li>• De Cohen</li> <li>• De Carpenter</li> </ul>
Neuroendocrinológicas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hipotalámica</li> <li>• Ovárica (Síndrome de Stein – Leventhal)</li> <li>• Hiperinsulinemia (DM2)</li> <li>• Hipotiroidismo</li> <li>• Hiperkortisolismo</li> </ul>
Medicamentos	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Glucocorticoides</li> <li>• Estrógenos</li> <li>• Antidepresivos</li> <li>• Fenotiacinas</li> <li>• Hidracidas</li> </ul>

## 1.5 Patologías asociadas a la obesidad

La obesidad en el adulto constituye un importante factor de riesgo dada su implicación en el desarrollo de enfermedades crónicas [23] las cuales aumentan su incidencia de manera paralela al aumento de peso. A continuación, se muestra una serie de complicaciones médicas frecuentes relacionadas a la obesidad enlistadas en la Tabla 6 [24, 25], como se observa la obesidad suele estar asociada a muchas enfermedades que no sólo empeoran la calidad de vida de los pacientes, sino que agravan su estado de salud, habiéndose convertido en una de las enfermedades prevenibles que más muertes provocan anualmente.

**Tabla 6.** Principales patologías médicas asociadas a la obesidad.

Patologías medicas asociadas a la obesidad	
Factor de riesgo cardiovascular	<ul style="list-style-type: none"><li>• Hipertensión arterial</li><li>• Hiperglucemia</li><li>• Dislipidemias</li><li>• Hiperuricemia</li></ul>
Alteraciones endocrinológicas	<ul style="list-style-type: none"><li>• Diabetes mellitus Tipo 2</li><li>• Hipogonadismo</li><li>• Variaciones del crecimiento y desarrollo</li><li>• Alteraciones de la secreción adrenal</li></ul>
Alteraciones respiratorias	<ul style="list-style-type: none"><li>• Síndrome apnea obstructiva del sueño</li><li>• Síndrome de hipoventilación-obesidad</li><li>• Asma</li></ul>
Alteraciones digestivas	<ul style="list-style-type: none"><li>• Esteatosis hepática</li><li>• Litiasis biliar</li><li>• Reflujo gastroesofágico</li></ul>
Alteraciones dermatológicas	<ul style="list-style-type: none"><li>• Dermatitis intertriginosa</li></ul>
Complicaciones musculo-esqueleticas	<ul style="list-style-type: none"><li>• Osteoartritis</li><li>• Deformaciones óseas</li><li>• Traumatismos articulares</li></ul>
Neoplasias	<ul style="list-style-type: none"><li>• Cáncer de cuello de útero, mama, ovario, próstata colon y recto.</li></ul>

Por último, no se debe olvidar a los problemas psicológicos ya que las personas obesas sufren un estigma social por ser señalados, discriminados y objeto de burlas o comentarios ofensivos que la mayoría de las veces los limita y excluye de la sociedad, por lo que sufren problemas de autoestima y depresión.

La obesidad es una enfermedad grave que debe ser tratada por un equipo multidisciplinario de cirujanos especialistas en obesidad (bariátras), gastroenterólogos, endocrinólogos, nutriólogos y psicólogos, que permita abordar todos los campos y aspectos de la enfermedad [26].

## 1.6 Tratamiento

La obesidad al ser de etiología multifactorial, el tratamiento se ha encaminado a varias intervenciones, entre ellas: nutricional, actividad física, psicológica, farmacológica y quirúrgica [27, 28].

### 1.6.1 Tratamiento nutricional

Cambios en el estilo de vida, regímenes dietéticos e incrementos en la actividad física pueden ser la primera línea de terapia en la disminución de la obesidad, diversos estudios hablan sobre modificaciones de nutrimentos y reducción de calorías mediante los alimentos relacionados con la disminución de peso y por consiguiente con la subsecuente disminución de biomarcadores proinflamatorios, modificaciones de la composición corporal y reducción de los marcadores bioquímicos. Se ha comprobado que los pacientes que son sometidos a dietas hipocalóricas con buen apego se espera una pérdida de peso en promedio de 500 gr por semana o del 5 al 10 % del peso inicial sin provocar alteraciones fisiopatológicas ni metabólicas de acuerdo a las Guías internacionales y nacionales **(guías de práctica clínica IMSS-46-08 y ObesFacts 2015;8:402-424)** [29].

Diversos estudios demuestran que existen factores nutricionales que pueden modular el sistema inmunológico entre los cuales se incluyen cantidad en la ingesta calórica, tipos de grasas y cantidad de proteínas. A continuación, se presentan hallazgos recientes que sirven como evidencia para apoyar el tratamiento de la obesidad mediante la aplicación dieto terapéutica.

#### a) Restricción calórica

La restricción calórica se ha asociado a beneficios en la disminución de parámetros bioquímicos, de composición corporal presión arterial, lípidos plasmáticos marcadores inflamatorios y sensibilidad a la insulina ya que al disminuir el tejido adiposo visceral disminuyen las señales inflamatorias y secreción de citocinas. Los estudios realizados con dietas hipocalóricas tenían restricción de hidratos de

carbóno, lípidos o simplemente una restricción calórica de 500 kcal independientemente de los porcentajes de macro nutrientes [30-32].

#### **b) Restricción de hidratos de carbóno**

Las dietas bajas en hidratos de carbóno han demostrado una disminución de triglicéridos en plasma con aumento de HDL, mejora en la presión arterial con disminución de glucosa en plasma y una disminución de grasa visceral reflejado en la circunferencia de cintura dietas con aporte del 10 al 40 % de hidratos de carbóno del total de la ingesta calórica han mostrado mejoría en los marcadores inflamatorios y de lípidos.

#### **c) Restricción de lípidos**

Los ácidos grasos intervienen en la respuesta inflamatoria por ser moduladores en la producción de eicosanoides proinflamatorios así también son reguladores de los procesos de señalización en membrana y citoplasma que influyen sobre la actividad de factores de transcripción involucrados en la inflamación [33]. La evidencia analizada muestra que, las grasas saturadas y trans tienen un efecto proinflamatorio, en donde se ve implicada la vía de los receptores Toll [34,35]

#### **Proteínas**

Una dieta alta en proteínas pero baja en calorías tiene efectos benéficos sobre marcadores bioquímicos, antropométricos de sensibilización a la insulina sin efectos en la presión arterial y con una pérdida menor en el porcentaje de masa corporal total en una dieta con proteínas normales [36]. Al parecer la ingesta proteica alta tiene un efecto saciante que provoca una disminución en la ingesta con la subsecuente disminución en la ingesta calórica [37].

#### **d) Dietas hipocalóricas contra dietas hipocalóricas más ejercicio**

Existen evidencias científicas que las dietas hipocalóricas ya sea con restricción de grasas, y/o de carbohidratos en conjunto con un programa de ejercicio comparado solamente con dieta para reducción de peso son más efectivas en una pérdida de

peso sostenida a largo plazo contribuyendo a ser más eficaz en la disminución de parámetros bioquímicos, antropométricos y de inflamación, así como presión arterial y bienestar psicológico.

### **1.6.2 Tratamiento psicológico**

El paciente con obesidad tiene una conducta que si bien no es causa única de su padecimiento, la terapia psicológica le ayuda a comprender el origen de las conductas perjudiciales de los malos hábitos de alimentación con el fin de modificarla y contribuir a una mejor permanencia y apego en su tratamiento [38].

### **1.6.3 Tratamiento farmacológico**

El tratamiento farmacológico debe ser prescrito por el médico cuando lo crea necesario y formar parte del tratamiento integral, ya que existe controversia sobre el uso de estos ya que su uso crea dependencia y puede poner en peligro la salud de quien los consume, las indicaciones y recomendaciones para el uso de fármacos son: cuando exista evidencia de falta al tratamiento dieto terapéutico a la prescripción de actividad física y ejercicio en un periodo de al menos tres meses, en pacientes con IMC mayor a 30 kg/mt<sup>2</sup> con o sin comorbilidades, el tratamiento farmacológico debe ser utilizado solo bajo supervisión médica estrecha ( GPC IMSS 046-08) [39].

### **1.6.4 Actividad física**

La actividad física como parte del tratamiento integral conduce a mayor pérdida de peso que si solo se prescribe tratamiento nutricional, al permitir la reducción de peso a expensas de tejido graso con mantenimiento de la masa muscular. El tipo de ejercicio que se prescribe es moderado de tipo aeróbico e individualizado, con una frecuencia de 3 sesiones/semana. El ejercicio de acuerdo a estudios previos ofrece múltiples beneficios para la salud: mejora sensibilidad a insulina, mejora perfil lipídico (aumento de HDL y disminución de triglicéridos) reduce presión sanguínea agregación plaquetaria, mejora función cardiaca, densidad ósea inmune, y contribuye en la reducción de peso por lo que disminuyen también biomarcadores y mejora función psicológica [40].



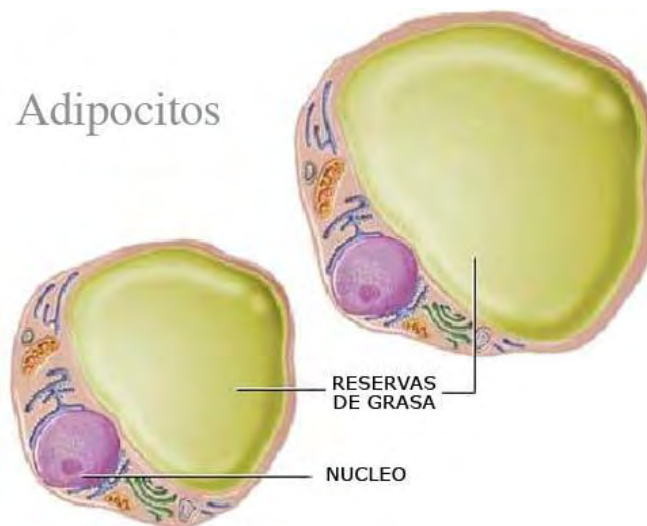
### 1.6.5 Tratamiento quirúrgico

El tratamiento quirúrgico es el último recurso en los pacientes con obesidad mórbida, cuando pelagra su vida o presentan comorbilidades con un IMC de 35 a 40 Kg/m<sup>2</sup>, además existen evidencias que la pérdida de peso después de ser sometidos a cirugía bariátrica es mucho mayor y sostenida por más tiempo en comparación a otros tratamientos convencionales [41].

### 1.7 Tejido adiposo.

El tejido adiposo (TA) es fundamental para el ser humano. Es responsable de muchas funciones y no se podría prescindir de él. Sin embargo, un exceso de este tejido genera una serie de complicaciones en la salud del ser humano. Un exceso en este tejido adiposo se conoce como sobrepeso y obesidad.

El tejido adiposo está formado por células adiposas (adipocitos) y un componente estromático/vascular en el que residen los preadipocitos. Los adipocitos, con un tamaño de 10 a 200 micras, son células redondeadas que contienen una vacuola lipídica que representa el 95% del peso celular y que desplaza al resto de los orgánulos hacia la periferia [42] (Figura 2).



**Figura 2.** Adipocito. El exceso de grasa se almacena en los adipocitos los cuales aumentan de tamaño hasta que la grasa se utiliza de combustible.

Existen dos tipos de tejido adiposo, y por lo tanto dos tipos de adipocitos diferentes que los forman: tejido adiposo blanco y marrón, ambos no presentan diferencias únicas y exclusivamente en cuanto a coloración, sino también en cuanto a su morfología, distribución de genes y función [43].

**Tejido adiposo blanco (TAB):** formado por adipocitos unicelulares que contienen mitocondrias muy diferentes de aquellas encontradas en el tejido adiposo pardo, estas células producen leptina. La principal función de este tejido es por tanto controlar la ingesta de energía y la distribución de la misma a otros tejidos en los periodos interdigestivos [42, 43].

**Tejido adiposo pardo (TAP):** encargado de la termogénesis, su color se debe por la gran cantidad de mitocondrias que posee, las cuales expresan altas cantidades de proteínas desacoplantes que producen una fosforilación oxidativa desacopladora, lo que produce disipación de energía en forma de calor [42, 43].

El tejido adiposo representa en sujetos normales y sanos entre el 10 y 30% del peso corporal total. La obesidad se caracteriza por un aumento desmesurado de la adiposidad, principalmente la del TAB visceral. Sin embargo, en sujetos con obesidad mórbida puede ocupar más del 80% del peso total. Estos valores pueden variar muchísimo teniendo en cuenta la forma o el método de valorar la cantidad de tejido.

### **1.7.1 Componentes humorales del sistema inmune en el tejido adiposo.**

En años recientes se ha reconocido que el tejido adiposo secreta varias moléculas bioactivas llamadas adipocinas o “adipocitocinas” que provienen principalmente del TAB y tienen un papel primordial en la homeostasis de varios procesos fisiológicos, entre los que se incluyen: la ingesta de alimentos, la regulación del equilibrio energético, la acción de la insulina y el metabolismo de la glucosa. El factor de necrosis tumoral (TNF), Interleucina 6 (IL-6), resistina, leptina y adiponectina también participan en la remodelación de la vascularización, la regulación de la presión arterial y la coagulación.

En este tejido se ha demostrado un incremento de TNF, IL-6, ASP, resistina y un decremento de adiponectina las cuales modifican la sensibilidad a la insulina (resistencia a la insulina), desencadenando la arteriosclerosis y otras complicaciones microvasculares (Tabla 7) [44].

**Tabla 7.** Componentes humorales del sistema inmune en el tejido adiposo y su función.

<b>COMPONENTE.</b>	<b>FUNCIÓN.</b>
Leptina	Hormona con efectos centrales sobre el apetito y periféricos sobre gasto energético. Su concentración disminuye en condiciones de ayuno o restricción calórica y aumenta en respuesta a la ingesta [43].
Resistina	La sobreexpresión de resistina en los hepatocitos humanos afecta a la insulina debido a que estimula la captación de glucosa y la síntesis de glucógeno [43].
Adiponectina	Su función no está clara, pero se ha observado que sus niveles de ARNm están disminuidos en animales y humanos obesos.
Interleucina-1	Efectos lipolíticos que pueden ser bloqueados al impedir la acción de la ciclooxigenasa (COX). Induce la producción de leptina y resistina [27].
Interleucina-10	Inhibe las citocinas proinflamatorias, principalmente TNF, IL-1 y la IL-6,
Interleucina-6	Efectos autocrinos y paracrinos sobre los adipocitos, además de diversos efectos endocrinos.
TNF	Adipocina implicada en las alteraciones metabólicas de la inflamación crónica con acciones biológicas que incluyen la inducción de resistencia a la insulina, anorexia y caquexia

## **1.8 Inflamación vínculo con la obesidad**

El concepto clásico de inflamación hace referencia a la respuesta del organismo ante la infección o a las heridas, caracterizada por hinchazón, rubor, dolor y fiebre, que tiene como fin el restablecimiento de la homeostasis. En general, se considera que la respuesta inflamatoria es beneficiosa, por ejemplo, proporcionando protección frente a una infección, pero si se descontrola puede llegar a ser perjudicial [45]. En los últimos años se ha observado que los pacientes obesos

presentan un estado inflamatorio crónico de bajo grado como una consecuencia del incremento en la masa del tejido adiposo, esta inflamación difiere de la inflamación clásica, que no presenta los signos descritos, pero es similar en cuanto a que comparte las alteraciones en los mediadores típicos de inflamación y sus rutas de señalización.

Este estado inflamatorio asociado con la obesidad ha sido propuesto como nexo de unión con varios desórdenes asociados a la misma como la resistencia a la insulina, las dislipidemias, complicaciones vasculares y hepáticas, conduciendo al denominado “Síndrome Metabólico Cardiovascular” así como ser asociado en los últimos años con diversos tipos de cáncer.

Como se mencionó anteriormente en la obesidad la acumulación excesiva de triglicéridos conduce a un aumento de tamaño de los adipocitos (hipertrofia) y de continuar esta condición empieza a aumentar el número de adipocitos (hiperplasia) que se ve reflejado en la [46] desregulación en la secreción de adipocinas, caracterizada por un aumento de las concentraciones plasmáticas de los factores pro-inflamatorios y anti-inflamatorios, llamados citocinas así como concentraciones plasmáticas bajas de adiponectina, que tiene como consecuencia la infiltración de numerosas células del sistema inmune al tejido adiposo [47].

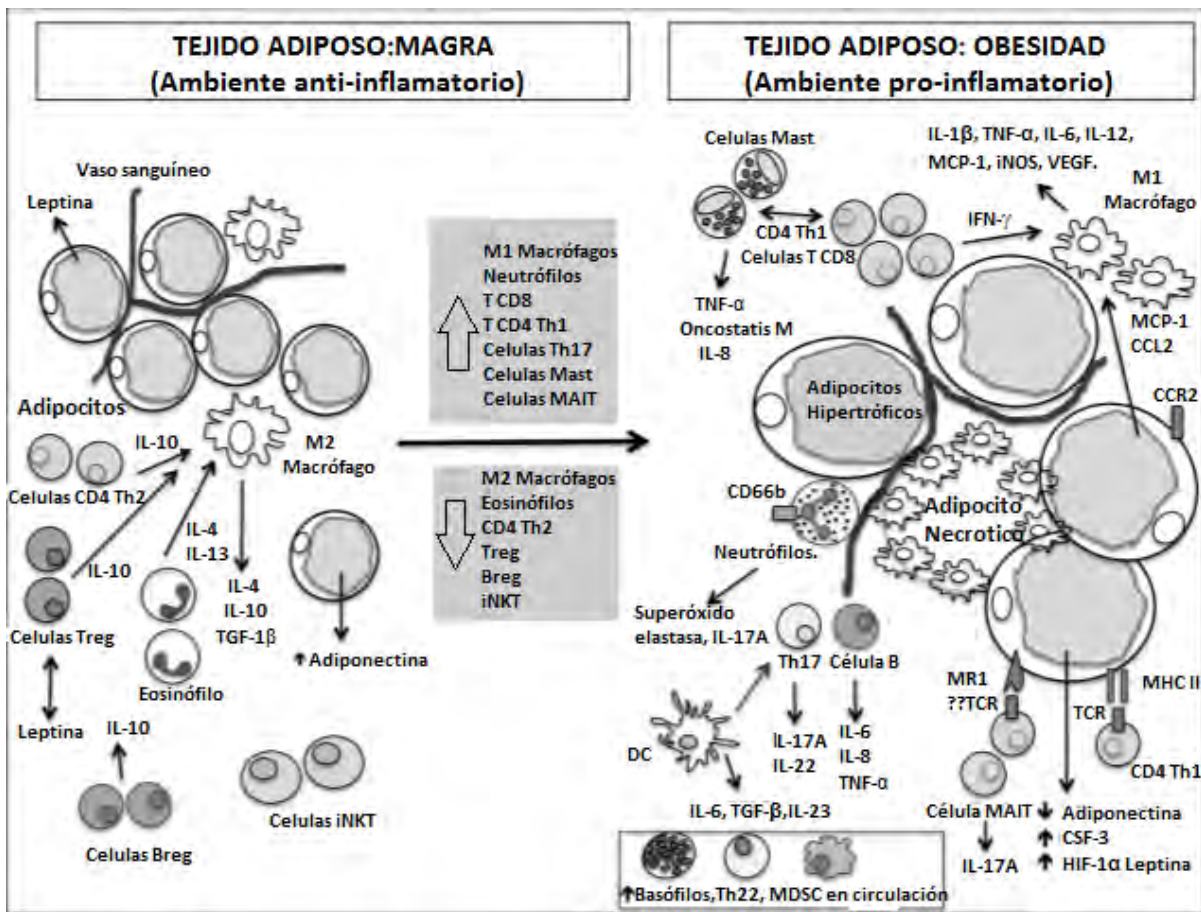
### **1.8.1 Componentes del sistema inmune innato en la obesidad**

Más allá de la respuesta inicial a un factor de estrés, el sistema inmune innato coordina la resolución de la inflamación, la reparación de tejidos, y la activación del sistema inmune adaptativo para proporcionar memoria para futuros desafíos[48]. Además de ser la primera línea de defensa, este sistema cuenta con un grupo especializado de células, como macrófagos células dendríticas entre otros cuya función primordial es reconocer ligandos endógenos y exógenos [46].

Las células más estudiadas involucradas en el desarrollo de la inflamación del tejido adiposo son los macrófagos del tejido adiposo, los cuales infiltran este tejido en procesos obesogénicos [47, 49]. Los macrófagos se han clasificado en dos

categorías basadas principalmente en el perfil de citocinas que secretan. Los macrófagos M1 producen citocinas proinflamatorias tales como TNF e IL-6, y los macrófagos M2 que secretan citocinas antiinflamatorias como IL-10.

En la obesidad se ha encontrado un incremento importante de los macrófagos M1 en el tejido adiposo; aunado a una reducción en los niveles de moléculas antiinflamatorias como IL-10, mientras que los macrófagos M2 protegen de la resistencia a la insulina a través de un mecanismo dependiente de IL-10. Pero no son las únicas células reclutadas al TA ya que de igual manera se ha reportado la presencia de neutrófilos, basófilos, eosinófilos. Células T reguladoras, células B y NK entre otras, cada una con un rol diferente en la inflamación durante la obesidad (Figura 3).



**Figura 3.** Reclutamiento celular en la obesidad. Células del sistema inmune durante un ambiente anti-inflamatorio y un ambiente pro-inflamatorio característico de la obesidad [50].

## 1.9 Células T invariantes asociadas a mucosa (MAIT)

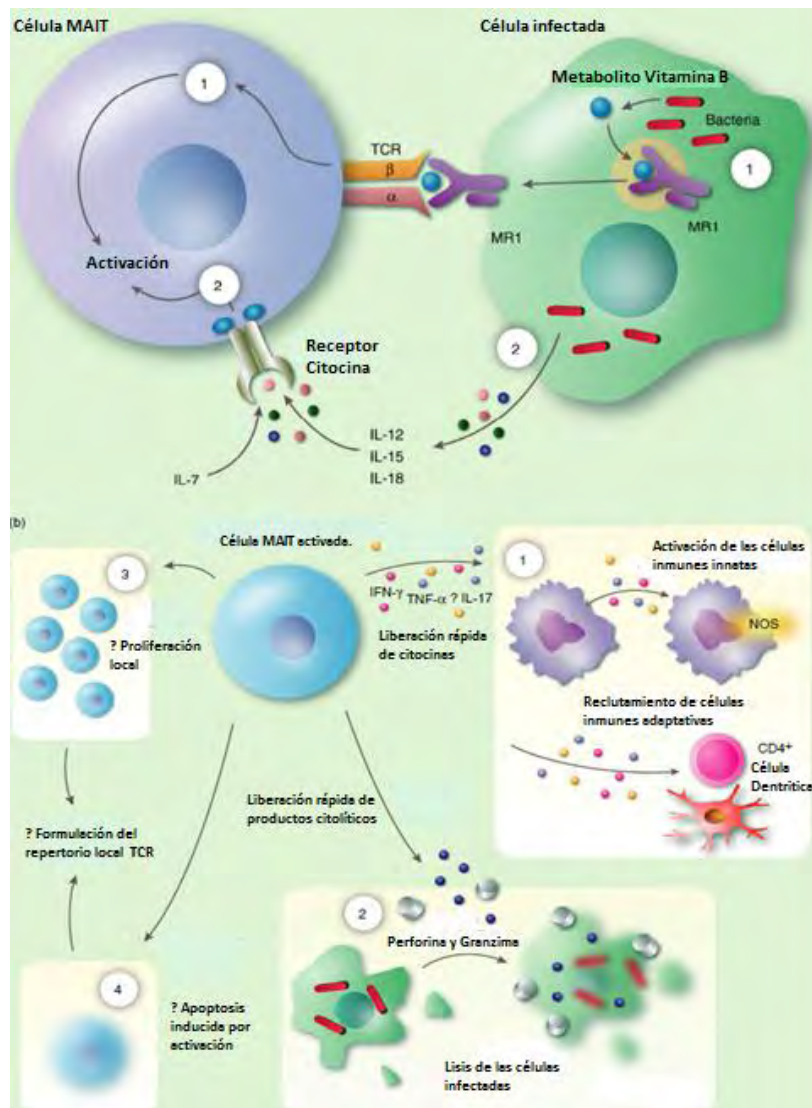
Las células MAIT son una clase relativamente nueva de subconjuntos de células T que expresan el receptor canónico de células T (TCR) y se derivan de la lámina propia y las placas de Peyer del intestino en humanos y ratones [50]. Estas células, constituyen una población muy significativa de células T en seres humanos, lo que representa entre 1 y 10% de las células T en sangre periférica de adultos sanos, así como representar una población predominante de células T en el hígado humano y en tejidos de las mucosas de lo cual deriva su nombre T invariantes asociados a mucosa (MAIT) [50, 51].

Hasta hace poco, la mayoría de los trabajos sobre las células MAIT se había basado en el estudio de unos pocos clones y los hibridomas aislados de MAIT, así como ratones transgénicos que expresan un TCR invariante. Aunque son útiles, estas herramientas tienen limitaciones obvias. Un nuevo anticuerpo monoclonal dirigido contra la cadena TRAV1-2 TCR de humano, cuando se usa en combinación con anti-CD161 o anti-IL-18R $\alpha$ , ha demostrado ser suficiente para identificar a las células MAIT dentro del compartimiento CD3 + CD4 [51].

En los seres humanos, las células MAIT son en su mayoría DN o CD8<sup>+</sup> (que expresan principalmente la forma homodimérica de CD8 $\alpha\alpha$ ), con un subconjunto menor provenientes de CD4<sup>+</sup>. Las Células MAIT expresan un fenotipo de memoria efectora que les permite migrar al sitio de infección y hacer citotoxicidad con el fin de eliminar el antígeno y las células infectadas o secretar citocinas que regulan la actividad de otros tipos celulares así como reconocer el mismo antígeno a la segunda exposición y responder con mayor efectividad para su eliminación [51].

De igual manera expresan altos niveles de receptor de NK CD161, de ABCD1 (MDR un transportador de membrana que eflujo xenobióticos), y receptores para IL-12, IL-18 e IL-23, también expresan altas cantidades de CCR6 y CXCR6, que están implicados en el tráfico de células a los tejidos periféricos, en particular el intestino y el hígado [52].

Las células MAIT se activan de forma TCR dependiente por pequeños metabolitos (bacterias, ribo, flavinometabolitos, etc.) presentados por la molécula ubicua y no polimórfica MHC de clase 1 MR1 o por la señalización de citocinas TCR independiente (Figura 4). Al igual que otros linfocitos innatos, incluyendo células T asesinas naturales invariantes (iNKT) y las células asesinas naturales (NK), las células MAIT responden rápidamente a la activación mediante la producción de citocinas y productos citolíticos [53]. Tras la estimulación TCR por el complejo MR1, las células MAIT humanas producen IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , e IL-2, así como IL-17 después de la estimulación con PMA + ionomicina [51, 54].



**Figura 4.** Proceso de activación de las células MAIT [53].



El papel de las células MAIT sigue siendo enigmático, los hallazgos sobre las células MAIT donde reconocen a las células infectadas de manera MR1 dependiente y su dependencia a la microbiota apunta hacia un papel potencial de las células MAIT en la respuesta inmune contra las bacterias. Además, se ha demostrado la severa disminución en el número de células MAIT en la sangre de pacientes infectados por bacterias y se correlacionó con el aumento de la susceptibilidad de los pacientes hospitalizados con infecciones nosocomiales secundarias [51]. En la actualidad las células MAIT se asocian con enfermedades inflamatorias como esclerosis múltiple, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, así como presentar un papel antimicrobiano, y presentar relación con enfermedades virales [55].

Recientemente, se encontró que las personas con obesidad severa y diabetes tipo 2 presentaban una dramática disminución de las células MAIT circulantes, y un aumento en el reclutamiento de estas células a tejido adiposo además están acompañadas de un activador pro-inflamatorio IL-17, IL-2 IFN- $\gamma$  TNF y granzima B indicando una activación anormal de las células MAIT en obesidad y diabetes tipo 2 en cuanto a los activadores antiinflamatorios como lo son IL-4, IL-10 e IL-13 su secreción en las células MAIT se mantiene baja [50, 54, 56], esto podría ser por que la composición de la microbiota intestinal se altera en la obesidad y la diabetes lo que afecta la vía de la riboflavina, otras condiciones podrían ser pérdida de peso y un estado metabólico mejorado, es decir, la dieta y el bypass gástrico, ya que induce un cambio en la microbiota intestinal [54]. Esto es muy parecido a lo ya observado con pacientes que presentan enfermedades inflamatorias del intestino ya que tienen una frecuencia reducida de las células MAIT en la sangre periférica que se asocia con un enriquecimiento de las células MAIT en el tejido inflamado [51].

En todas estas situaciones, no es obvio si las bacterias derivadas de metabolitos de la vitamina B podrían estar implicadas en la activación de células MAIT a través de su TCR pero un desequilibrio en la microbiota y / o aumento de la permeabilidad de la mucosa pueden influir indirectamente en células MAIT en estos casos. La autorreactividad subyacente de algunas células MAIT y / o sus altos niveles de expresión de IL-12, IL-18 e IL-23 receptores también podría desempeñar un papel.



## **2. JUSTIFICACIÓN**

La obesidad es un problema de salud pública en México cuyas consecuencias en el estado de salud y en los costos de complicaciones asociadas a la misma son muy altas.

A través de este proyecto se busca evaluar la frecuencia y funcionalidad de células T invariantes asociadas a mucosas (MAIT) en pacientes con obesidad extrema y pacientes sanos con IMC normal debido a su extensa relación en los últimos años con enfermedades inflamatorias crónicas ya que dilucidar los vínculos que existen entre obesidad e inflamación es de importancia capital dentro del campo de la inmunología, para dar lugar al descubrimiento de nuevos blancos terapéuticos.

### **3. PREGUNTA DE INVESTIGACION**

¿Cómo se encuentra el perfil de activación de células MAIT en pacientes con obesidad extrema antes y después de ser sometidos a un plan alimenticio durante tres meses en comparación con sujetos sanos?

### **4. HIPÓTESIS**

Los pacientes con obesidad extrema presentan un perfil de activación de células MAIT distinto al de los pacientes sanos con IMC normal.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo general

Evaluar el perfil de activación de las células T invariantes asociadas a mucosas en sujetos con obesidad extrema antes y después de apegarse a un plan de alimentación hipocalórico estándar.

### 5.2 Objetivos particulares

- Establecer la estrategia de análisis para la identificación de células MAIT en mononucleares de sangre periférica mediante citometría de flujo multiparamétrica.
- Determinar la frecuencia de las células MAIT en mononucleares de sangre periférica de pacientes con obesidad extrema y sujetos sanos.
- Determinar el perfil de activación de células MAIT mediante la presencia de IFN- $\gamma$ , IL-17, IL10 e IL-4 de pacientes con obesidad extrema antes y después de someterse a un plan de alimentación hipocalórico estándar.
- Determinar el perfil de activación de células MAIT de sujetos sanos con IMC normal.

## **6. MATERIAL Y MÉTODOS**

Se captaron a los pacientes a través de la consulta externa de la Clínica de Obesidad y Trastornos Metabólicos (COTM) del Hospital Juárez de México que cumplieron con los criterios de inclusión y que una vez informados y de manera voluntaria aceptaron ingresar al protocolo de estudio, con previa firma del consentimiento informado. Este trabajo forma parte de un protocolo de investigación registrado en el Hospital Juárez de México (HJM 0121/16-1) evaluado por los comités de Ética, Bioseguridad e Investigación.

### **6.1 Criterios de selección de los pacientes**

#### **6.1.1 Criterios de inclusión**

- Pacientes atendidos en la clínica de obesidad y trastornos metabólicos (COTM) del Hospital Juárez de México.
- Hombres o mujeres.
- Mayores de 18 años y menores de 50 años.
- Pacientes con IMC  $\geq 35$  con o sin comorbilidad.
- Firma del consentimiento informado.

#### **6.1.2 Criterios de exclusión**

- Pacientes en tratamiento farmacológico con esteroides, AINES e inmunomoduladores.
- Pacientes con lupus eritematoso, artritis reumatoide o enfermedad inflamatoria intestinal.

#### **6.1.3 Criterios de eliminación**

- Pacientes con enfermedad renal crónica diagnosticada durante el desarrollo del proyecto.

- Pacientes que durante el desarrollo del proyecto queden embarazadas.
- Pacientes que no se apeguen al tratamiento integral de la COTM.
- Pacientes que retiren el consentimiento informado.

## **6.2 Toma y procesamiento de las muestras**

Las muestras de sangre periférica se obtuvieron por punción venosa en tubos con EDTA (etilen-diamino-tetraacetatodisódico) por el personal técnico calificado. Se tomó muestra a 39 pacientes que presentaron un IMC > 30, al inicio y tres meses después de haber seguido el tratamiento integral para disminuir peso de la COTM, que incluye: rutina de ejercicio, terapia psicológica y plan de alimentación hipocalórico estándar (reducción de 500 cal en base al consumo habitual, con distribución de macronutrientes: hidratos de carbono 55%, proteínas 15%, grasas 30%). Posteriormente se tomaron muestras de donadores sanos con IMC normal pareados por edad y sexo, como grupo control.

Las muestras se centrifugaron a 600 g durante 5 min a 10°C (centrifuga Heraeus™ Megafuge™, ThermoScientific™, Langensfeld), se retiró el suero y el paquete celular se re-suspendió con solución salina (v/v), con el cual se realizó un gradiente de densidad (Ficoll-Paque PREMIUM, GE Healthcare) para obtener las células mononucleares, que fueron criopreservadas en medio de criopreservación (SFB, DMSO, medio RPMI sin suplementar) en alícuotas de  $2 \times 10^6$  células/mL a -70° hasta su análisis.

### **6.2.1 Tinción del fenotipo inicial de células MAIT**

Se descongeló una alícuota de células mononucleares y se lavó (centrifugación a 600g durante 5 min a 10°C y decantación del sobrenadante) con medio RPMI suplementado (RPMI, SFB 5%, Penicilina streptomycin 100 mg/mL), el paquete celular se resuspendió en 1 mL de medio RPMI sin suplementar, se tomó una alícuota y se hizo una dilución 1:10 con PBS y 1:2 con azul tripano, posteriormente se realizó un conteo en el equipo Automated cell counter (Bio Rad).

Se colocaron  $5 \times 10^5$  células mononucleares por tubo de tinción, y se lavaron con 1 mL de buffer de tinción (PBS 1x + albúmina al 0.2%). Las células fueron teñidas en un volumen de 50  $\mu$ L de buffer de tinción con anticuerpos monoclonales específicos para CD45, CD3, CD4, CD8, TCR Va7.2 y CD161 (fenotipo para células MAIT), la descripción de los anticuerpos y las diluciones utilizadas se encuentran en la tabla 8. Se realizó una incubación de 30 min protegido de la luz, al término de la misma se realizaron dos lavados (centrifugación a 600g durante 5 min a 10°C y decantación del sobrenadante) con PBS 1x. Se re-suspendió el paquete celular en 300  $\mu$ l de PBS 1x y se analizaron los tubos mediante citometría de flujo multiparamétrica en el equipo FACS Verse (BD Biosciences). Los datos obtenidos se analizaron con el software FlowJo vX.

**Tabla 8.** Anticuerpos monoclonales específicos para marcadores de superficie de las células MAIT.

Anticuerpo	Fluorocromo	Dilucion	Marca	No. Catalogo
CD45	APC H7	1:200	BD Pharmingen	560178
CD4	BV421	1:400	BD Biosciences	562424
CD3	PE-Cy7	1:100	BD Pharmingen	557851
TCR Va7.2	FITC	1:200	BIOLEGEND	351704
CD161	BV510	1:100	BD HORIZON	563212

## 6.2.2 Activación *in vitro* con PMA/Ionomicina

Se descongeló una alícuota de células mononucleares y se lavó (centrifugación a 600g durante 5 min a 10°C y decantación del sobrenadante) con medio RPMI suplementado (RPMI, SFB 5%, Penicilina streptomycin 100 mg/mL), el paquete celular se re-suspendió en 1 mL de medio RPMI sin suplementar, se tomó una alícuota y se hizo una dilución 1:10 con PBS y 1:2 con azul tripano, posteriormente se realizó un conteo en el equipo Automated cell counter (Bio Rad).

Se sembraron  $5 \times 10^5$  células mononucleares por pozo, en placas de 24 pozos en medio RPMI suplementado y se estimularon con 5 ng/ $\mu$ l de PhorbolMyristate (PMA

Sigma Aldrich) y 50 ng/μl de Ionomicina (Sigma Aldrich) en presencia de BD Golgi Stop™(BD Biosciences) en un tiempo no mayor a 6 horas de acuerdo a las indicaciones del proveedor. Las células fueron incubadas a 37°C durante 6 y 24 horas con una atmósfera al 5% de CO<sub>2</sub> y 70% de humedad. Después de la incubación se retiraron las células de cada pozo y se utilizó PBS 1x + EDTA 10 nM para despegar las células adheridas a la placa, el volumen se transfirió en tubos eppendorf de 1.5 ml, y se centrifugo a 600g durante 5 min a 10°C, se decantó el sobrenadante y se prepararon para la tinción.

### **6.2.3 Tinción del ensayo de activación de células mononucleares**

Las células activadas con PMA/ionomicina fueron teñidas para marcadores de superficie celular e intracelular.

Una vez cultivadas las células después de la activación, se lavaron (centrifugación a 600g durante 5 min a 10°C y decantación del sobrenadante) con 1mL de buffer de tinción (PBS 1x + albumina al 0.2%), las células se re-suspendieron en el remanente, finalmente se adicionaron los anticuerpos monoclonales para moléculas de superficie (Tabla 9) y se incubó por 30 min protegidos de la luz.

Una vez transcurrida la incubación, se lavaron (centrifugación a 600g durante 5 min a 10°C y decantación del sobrenadante) con 1mL de buffer de tinción (PBS 1x + albumina al 0.2%), se re-suspendió el paquete celular en 300μl de BD Cytotfix/Citoperm™(BD Biosciences) y se incubó por 30 min protegido de la luz, terminada la incubación se lavó (centrifugación a 600g durante 5 min a 10°C y decantación del sobrenadante) con 300μl de BD Perm/Wash™ BD(Biosciences) 1x y re-suspendió el paquete celular en el volumen residual, finalmente se adicionaron los anticuerpos monoclonales para moléculas intracelulares (Tabla 10).

**Tabla 9.** Anticuerpos monoclonales específicos para marcadores de superficie de las células MAIT activadas.

Anticuerpo	Fluorocromo	Dilución	Marca	No. Catalogo
Anti-CD3	APC-H7	1:400	BD Pharmingen	560176
Anti-CD4	V450	1:200	BD Horizont	561838
Anti-CD25	PE-Cy5	1:200	BD Pharmingen	560988
Anti-CD69	PE-Cy7	1:200	BD Pharmingen	5205544
Anti-CD38	APC	1:100	BD Pharmingen	555462
Anti-CD161	BV510	1:100	BD HORIZON	563212
Anti-TCRVa7.2	FITC	1:100	BIOLEGEND	351704

**Tabla 10.** Anticuerpos monoclonales específicos para marcadores intracelulares de las células MAIT activadas.

Anticuerpo	Fluorocromo	Dilución	Marca	No. Catalogo
Anti-IL-17A	Percp-Cy5.5	1:100	BD Pharmingen	560799
Anti-IL-4	PE	1:100	BD Pharmingen	551774
Anti-IL-10	PE	1.100	BD Pharmingen	559337
Anti-IFN-g	PE-Cy7	1:100	BD Pharmingen	557643



### 6.3 Ética

El presente trabajo requirió de la toma de dos muestras de 4 mL de sangre periférica, la primera al inicio del tratamiento en la COTM y la segunda 3 meses después. La toma de dichas muestras de sangre la realizó el personal médico responsable de los pacientes, por punción venosa. Toda la información sobre los pacientes se manejó de manera confidencial y los resultados obtenidos no afectaron de ninguna manera el tratamiento del paciente, responsabilidad del personal médico correspondiente. Antes de realizar la toma de muestra, el paciente firmó una carta de consentimiento informado en la que decidió participar en el estudio, que puede ser revocada en el momento que el paciente lo desee sin dar ninguna explicación sobre su decisión

- **Riesgos.**

Con relación al diseño experimental, este estudio se encuentra clasificado como de riesgo mínimo debido a que las muestras de sangre venosa serán tomadas por el personal capacitado. El diseño del estudio lo coloca en la fracción II del artículo 17 del Reglamento de la Ley General de Salud en materia de Investigación para la Salud.

ARTÍCULO 17.- Se considera como riesgo de la Investigación a la probabilidad de que el sujeto de investigación sufra algún daño como consecuencia inmediata o tardía del estudio.

II. Investigación con riesgo mínimo: Estudios prospectivos que emplean el riesgo de datos a través de procedimientos comunes en exámenes físicos o psicológicos de diagnósticos o tratamiento rutinarios, entre los que se consideran: pesar al sujeto, pruebas de agudeza auditiva; electrocardiograma, termografía, colección de excretas y secreciones externas, obtención de placenta durante el parto, colección de líquido amniótico al romperse las membranas, obtención de saliva, dientes deciduales y dientes permanentes extraídos por indicación terapéutica, placa dental y cálculos removidos por procedimiento profilácticos no invasores, corte de pelo y uñas sin causar desfiguración, extracción de sangre por punción venosa en adultos en buen

estado de salud, con frecuencia máxima de dos veces a la semana y volumen máximo de 450 mL en dos meses, excepto durante el embarazo, ejercicio moderado en voluntarios sanos, pruebas psicológicas a individuos o grupos en los que no se manipulará la conducta del sujeto, investigación con medicamentos de uso común, amplio margen terapéutico, autorizados para su venta, empleando las indicaciones, dosis y vías de administración establecidas y que no sean los medicamentos de investigación que se definen en el artículo 65 de este Reglamento, entre otros.

Los riesgos/molestias de la toma de sangre para las muestras del laboratorio son mínimos y no graves. Algunas personas experimentan mareo, pequeños sangrados o molestias menores en el lugar de la punción con la aguja para sacar la sangre como moretones o dolor. Siempre se utilizará material nuevo, estéril y desechable para la toma de muestras de sangre.

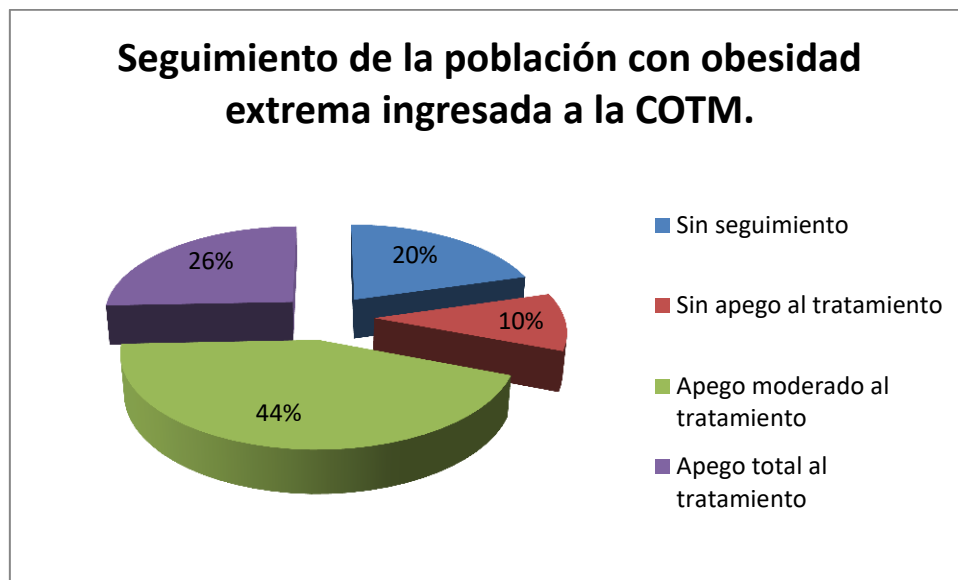
#### **6.4 Análisis estadístico**

La información se recolectó en una base de datos electrónica diseñada específicamente para este estudio, en el paquete estadístico GraphPad Prism. Se reportaron medidas de tendencia central y de dispersión para cada variable acorde al tipo de la misma, y se utilizó estadística inferencial para comparar los niveles de expresión de las moléculas analizadas: en caso de cumplir con la homogeneidad de varianzas se aplicó t de Student pareada, en caso de no cumplir se aplicó prueba de Wilcoxon, y se consideró con significancia estadística los valores de  $p \leq 0.05$ , con intervalo de confianza al 95%.

## 7. RESULTADOS

### 7.1 Universo de estudio

Se reclutaron 39 pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión, los cuales fueron sometidos a la dieta hipocalórica, de éstos, 8 no se presentaron a la segunda toma de muestra después de la dieta, 4 pacientes no cumplieron con el tratamiento integral de la COTM y 17 pacientes tuvieron un apego moderado al tratamiento por lo que bajaron entre 3-4 Kg de peso al término del mismo. Solamente 10 pacientes presentaron apego total al tratamiento y una reducción de peso significativa (5-14 Kg) después de tres meses (Figura 5).



**Figura 5.** Seguimiento de la población con obesidad extrema ingresada a la COTM.

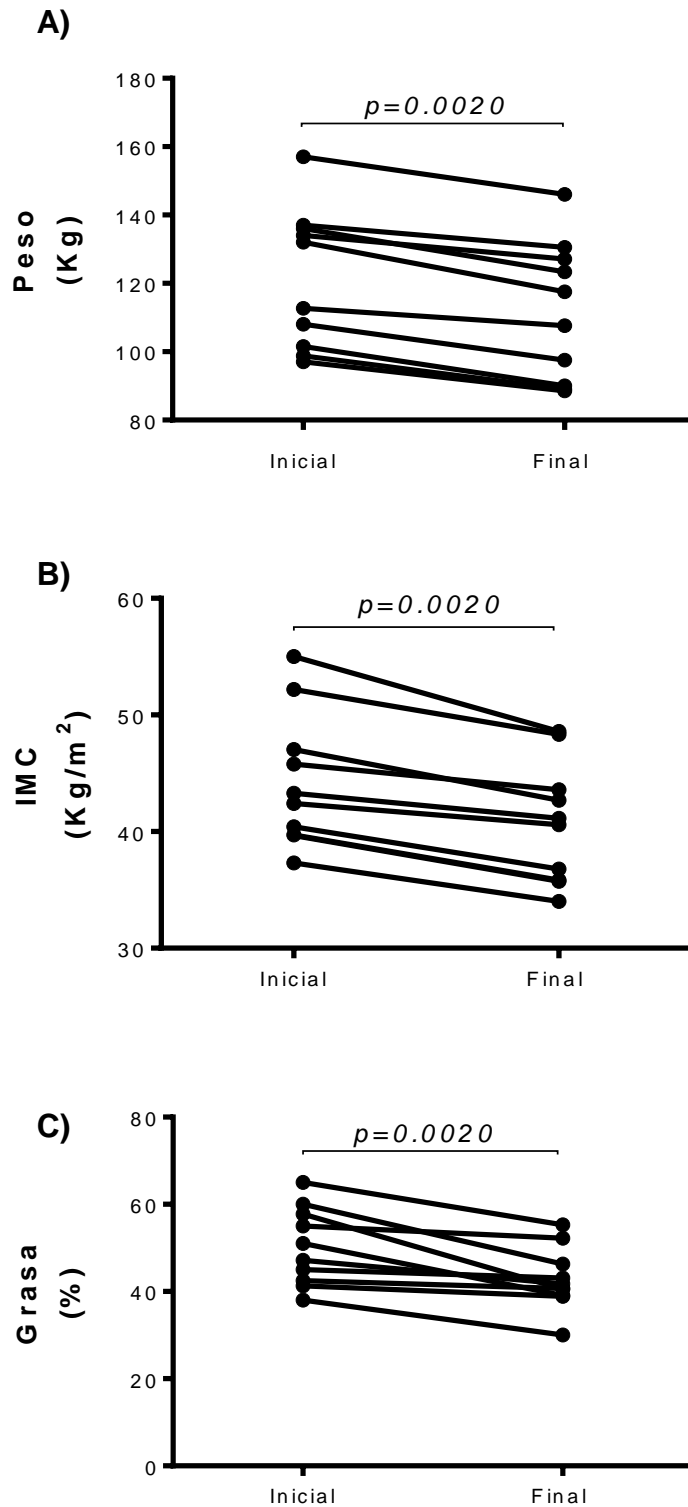
Del total de los pacientes que presentaron apego total al tratamiento (n=10) 6 fueron mujeres (60%) y 4 hombres (40%), con una edad promedio de 38.3 años ( $\pm 6.22$ ), peso promedio de 121.40Kg ( $\pm 20.42$ ), IMC de 43.85 Kg/m<sup>2</sup> ( $\pm 6.03$ ) y una talla promedio de 1.64m ( $\pm 0.06$ ), los cuales fueron pareados por edad y sexo con sujetos sanos (n=10) con una edad promedio de 38.6( $\pm 7.18$ ), peso promedio de 64.07Kg ( $\pm 13.89$ ) y un IMC promedio de 23.71 Kg/m<sup>2</sup> ( $\pm 2.48$ ) y una talla de 1.63m ( $\pm 0.11$ ), se muestra el valor de p para cada variable (Tabla 11).

**Tabla11.** Características demográficas de las poblaciones de estudio.

	<b>PACIENTES</b>	<b>CONTROLES</b>	<b>Valor p</b>
	<b>n=10</b>	<b>n=10</b>	
<b>Sexo</b>	60%F 40% M	60%F 40% M	
<b>Edad (años)</b>	38.3 ± 6.22	38.60 ± 7.18	0.8586
<b>IMC (Kg/m<sup>2</sup>)</b>	43.85 ± 6.03	23.71 ± 2.48	0.0001
<b>Peso (kg)</b>	121.40 ± 20.42	64.07 ± 13.89	0.0001
<b>Talla (m)</b>	1.64 ± 0.06	1.63 ± 0.11	0.6482

## 7.2 Reducción de composición corporal

El grupo de pacientes con obesidad extrema sometidos a la dieta hipocalórica tuvo un peso promedio inicial de 121.40Kg ( $\pm 20.42$ ) y final de 111.7Kg ( $\pm 20.22$ ), obteniendo una reducción de peso promedio de 9.69Kg ( $\pm 2.93$ ) (Figura 6A), mientras que el IMC promedio inicial fue de 44.28Kg/m<sup>2</sup> ( $\pm 5.75$ ) y el final de 40.73Kg/m<sup>2</sup> ( $\pm 5.18$ ) teniendo una reducción de 3.54Kg/m<sup>2</sup> ( $\pm 1.33$ ) (Figura 6B), también se observó una reducción promedio en el porcentaje de grasa de 7.47% ( $\pm 5.51$ ) con un porcentaje de grasa promedio inicial de 50.28% ( $\pm 8.94$ ) y final de 42.40% ( $\pm 7.14$ ) (Figura 6C).



**Figura 6.** Variables antropométricas de los pacientes con obesidad extrema al inicio y final el tratamiento. El tratamiento integral de la COTM tuvo una duración de tres meses. **A)** Peso, **B)** Índice de masa corporal (IMC), **C)** Porcentaje de Grasa. Se muestran los valores de p de las diferencias estadísticamente significativas.

### 7.3 Parámetros Bioquímicos

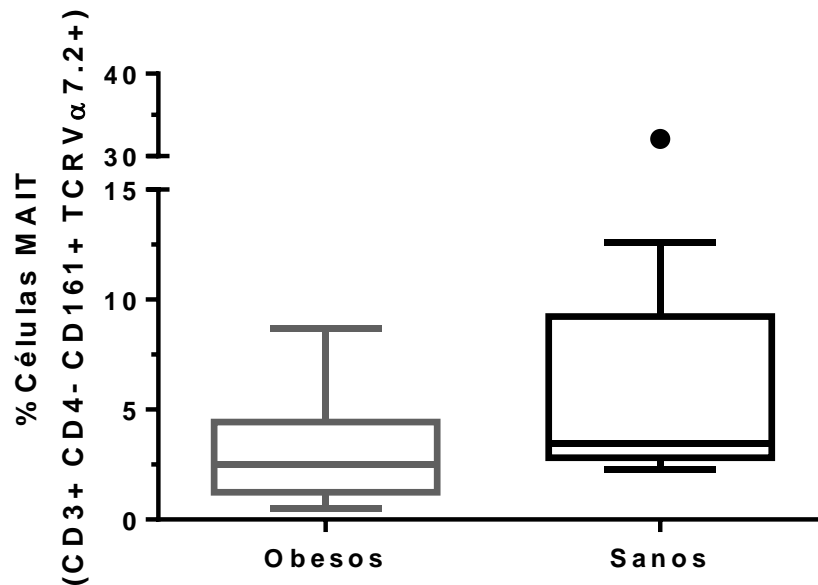
El análisis bioquímico únicamente se le realizó a los pacientes con obesidad extrema de los cuales se obtuvo el valor promedio inicial y final (tres meses después del tratamiento) de los siguientes analitos: creatinina, ácido úrico glucosa, HbA1c, triglicéridos, HDL, LDL, colesterol y PCR (Tabla 12). No se observa diferencia estadísticamente significativa en los parámetros bioquímicos.

**Tabla 12.** Datos bioquímicos de los pacientes obesos al inicio y final del tratamiento. El tratamiento integral de la COTM tuvo una duración de tres meses. Se muestran los valores de *p*.

MARCADOR BIOQUIMICO	Grupo n=10		Valor <i>P</i>	VALORES REFERENCIA
	Inicial	Final		
CREATININA	0.84 ± 0,1	0,83 ± 0,08	0.3594	0.6-1.4 mg/dl
ACIDO URICO	7.07 ± 1.21	6.05 ± 0.17	>0.9999	<8mg/dl VARONES
	5.71 ± 1.01	5.91 ± 0.78	0.6875	<7mg/dl MUJERES
GLUCOSA	115.20 ± 53.47	102.20 ± 21.36	0.2852	70-110 mg/dl
HbA1c	8.30 ± 2.62	7.14 ± 0.88	0.3984	< 5.7 %
TRIGLICERIDOS	160.20 ± 59.74	142.50 ± 48.51	0.4316	40-180 mg/dl
HDL	38.38 ± 9.46	32.90 ± 2.78	0.3750	>35 mg/dl VARONES
	38.45 ± 9.97	40.72 ± 10.51	0.0625	>29mg/dl MUJERES
LDL	120.56 ± 23.05	111.55 ± 29.32	0.6250	< 130mg/dl
COLESTEROL	169.90 ± 28.92	160.90 ± 31.41	0.6074	140-200 mg/dl
PCR	1.41 ± 1.78	0.71± 0.48	0.9453	< 1.0 mg/L

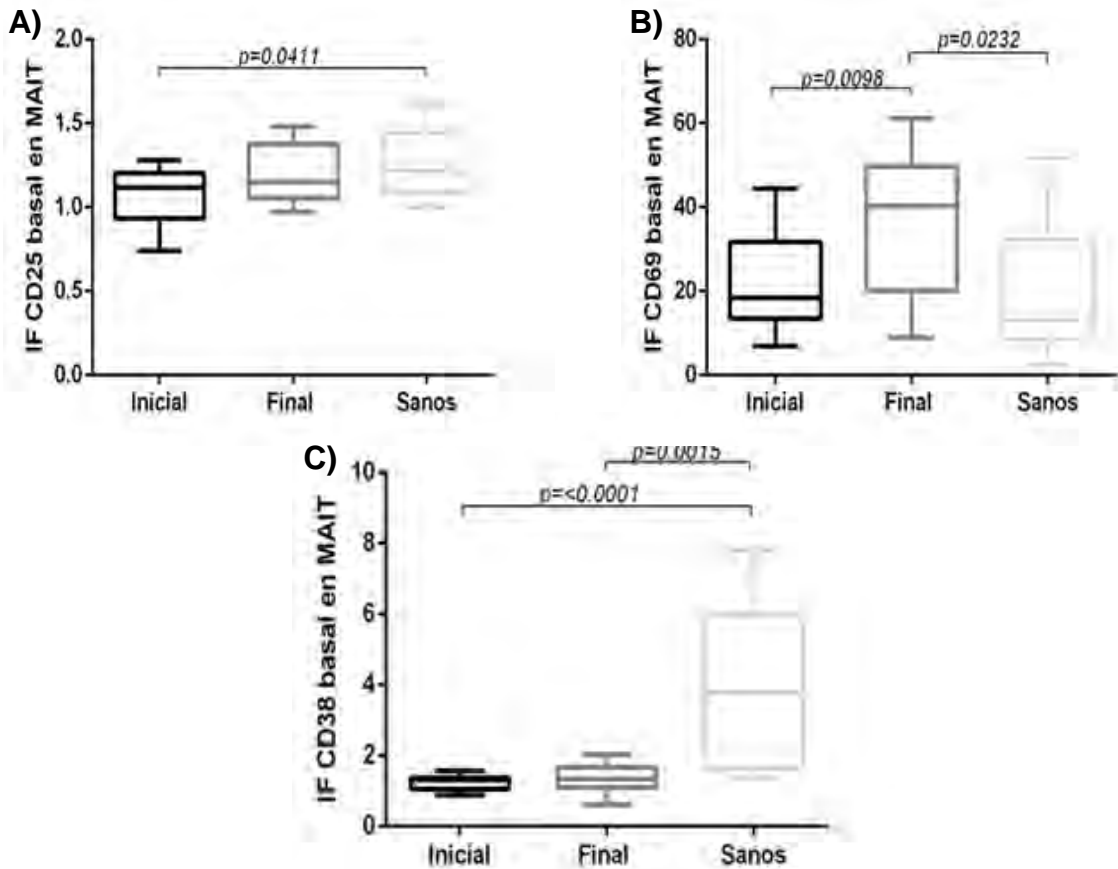
#### 7.4 Células MAIT en pacientes con obesidad extrema

Las células MAIT son caracterizadas por la expresión de los marcadores CD3, TCRV $\alpha$ 7.2+ una alta expresión de CD161, así que nosotros identificamos a las células MAIT como CD3+ CD4- CD161+ TCR V $\alpha$ 7.2+. Se determinó la frecuencia de células MAIT en muestras de sangre periférica de pacientes con obesidad extrema (n=10) y controles sanos (n=10) donde se encontró un valor de p=0.0854 (Figura 7).



**Figura 7.** Frecuencia de células MAIT (CD3+ CD4- CD161+ TCR V $\alpha$ 7.2+) en los pacientes con obesidad extrema y sujetos sanos. El o los puntos que se encuentran fuera de la gráfica representan el o los datos que se encuentran fuera o muy alejados de la media de los valores obtenidos.

El siguiente análisis se enfocó hacia el estado basal de activación de las células MAIT (Figura 8) y la producción basal de citocinas (Figura 9) en los diferentes grupos de estudio. Se encontró que estas células sin necesidad de algún estímulo ya se encuentran produciendo IFN- $\gamma$  seguido de IL-17, mientras que las citocinas anti-inflamatorias IL-4 e IL-10 presentaron bajos niveles de producción en los tres grupos de estudio, para los marcadores de activación se observa que CD69 se encuentra expresado en mayor cantidad en los tres grupos de estudio seguido de CD38 y por ultimo CD25.

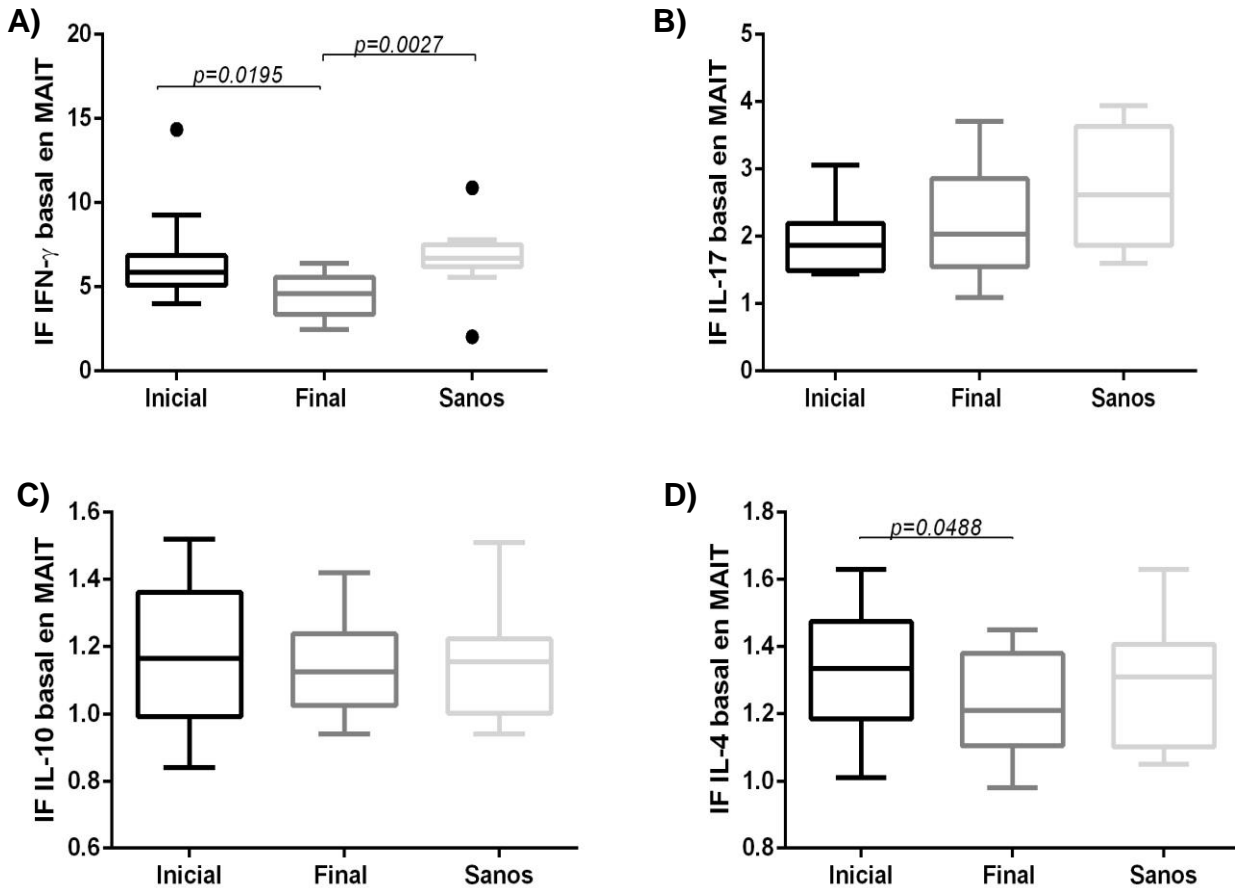


**Figura 8.** Estado basal de marcadores de activación en células MAIT (CD3+ CD4- CD161+ TCR V $\alpha$ 7.2+) de los grupos de estudio A) CD25, B) CD69, C) CD38. El tratamiento integral de la COTM tuvo una duración de tres meses, la primera toma se realizó al inicio y la segunda toma al final del tratamiento. El índice de fluorescencia (IF) es la razón del MFI de la población positiva para cada fluorocromo entre el MFI del FMO. Se muestran los valores de p de las diferencias estadísticamente significativas.

En los pacientes con obesidad extrema primera toma (inicial) no se observa ninguna diferencia estadísticamente significativa contra los sujetos sanos (IFN- $\gamma$  p=0.1593, IL-17 p=0.0522, IL-10 p=0.7818, IL-4 p=0.5406 y CD69 p=0.3473). En la segunda toma (Final) los pacientes con obesidad extrema no presentaron diferencia estadísticamente significativa en los niveles de IL-17 (p=0.6250 y p=0.2761), IL-10 (p=0.7695 y p=0.9850) y CD25 (p=0.3750 y 0.4465) con los otros dos grupos, pero en los niveles de IFN- $\gamma$  presentaron diferencia estadísticamente significativa con los sujetos sanos (p=0.0027) y con la toma inicial (p=0.0195).

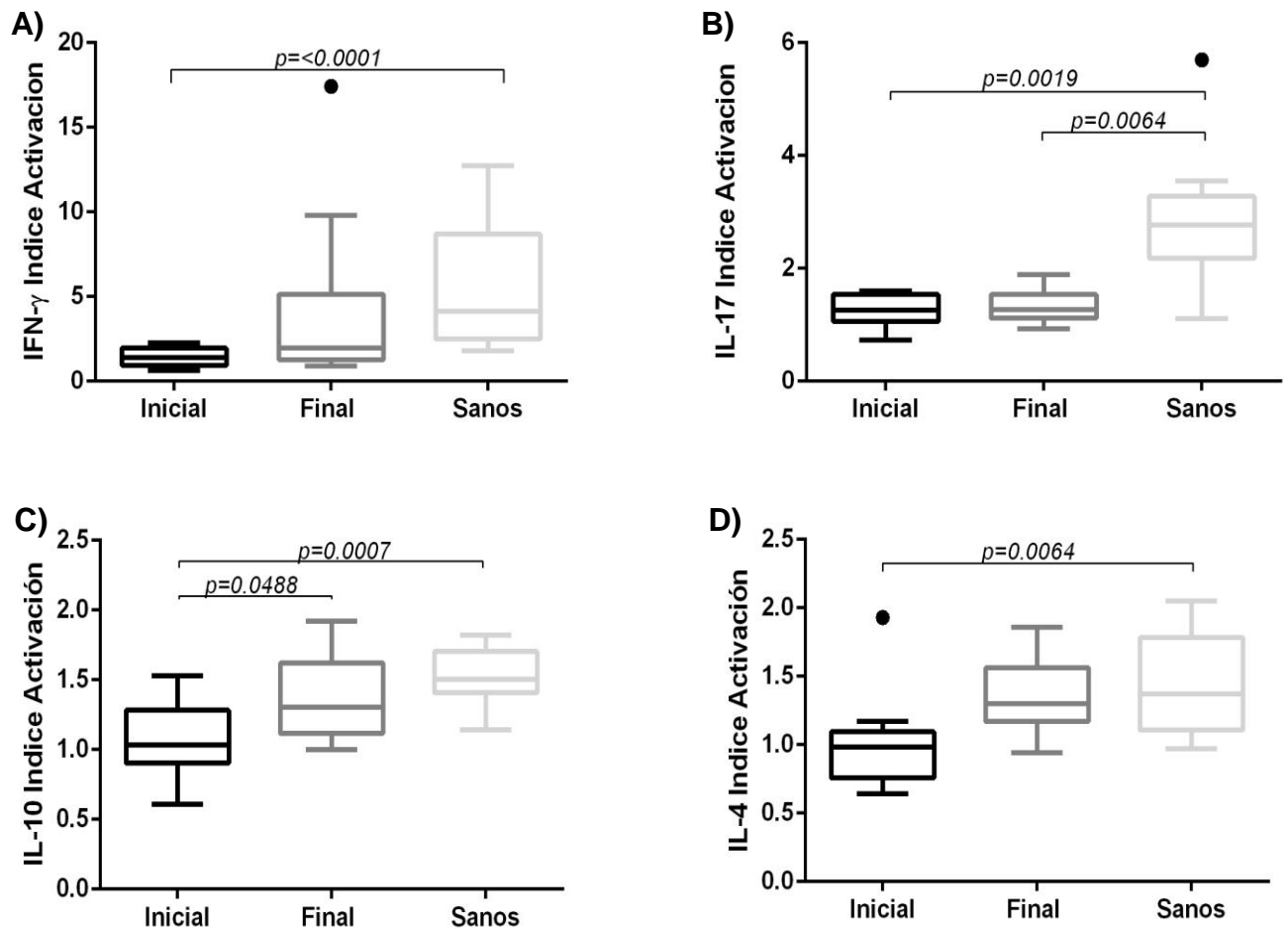


En cuanto a la IL-4 se encontró una diferencia estadísticamente significativa ( $p=0.0488$ ) entre la toma inicial y final de los pacientes con obesidad extrema, en CD25, se observó una diferencia estadísticamente significativa entre los sujetos sanos y la toma inicial ( $p=0.0411$ ), CD69 y CD38 presento una diferencia estadísticamente significativa entre toma inicial y final ( $p=0.0098$ ,  $p<0.0001$ ) así como entre toma final y sujetos sanos ( $p=0.0232$ ,  $p=0.0015$ ) respectivamente.



**Figura 9.** Producción basal de citocinas en células MAIT (CD3+ CD4- CD161+ TCR V $\alpha$ 7.2+) de los grupos de estudio A) IFN- $\gamma$ , B) IL.17, C) IL-10, D) IL-4. El tratamiento integral de la COTM tuvo una duración de tres meses, la primera toma se realizó al inicio y la segunda toma al final del tratamiento. El índice de fluorescencia (IF) es la razón del MFI de la población positiva para cada fluorocromo entre el MFI del FMO. Se muestran los valores de p de las diferencias estadísticamente significativas.

Una vez evaluado el estado basal de las células MAIT en los diferentes grupos de estudio, se realizó la estimulación *in vitro* con PMA/Ionomicina durante 6 horas para la determinación de IFN- $\gamma$  e IL-17 y durante 24 horas para la determinación de IL-10 e IL-4. Posteriormente por citometría de flujo se evaluó la producción de IFN- $\gamma$  (Figura 10A), IL-17 (Figura 10B), IL-10 (Figura 10C) e IL-4 (Figura 10D) de las células MAIT de los sujetos sanos así como de los pacientes con obesidad extrema al inicio y final del tratamiento.



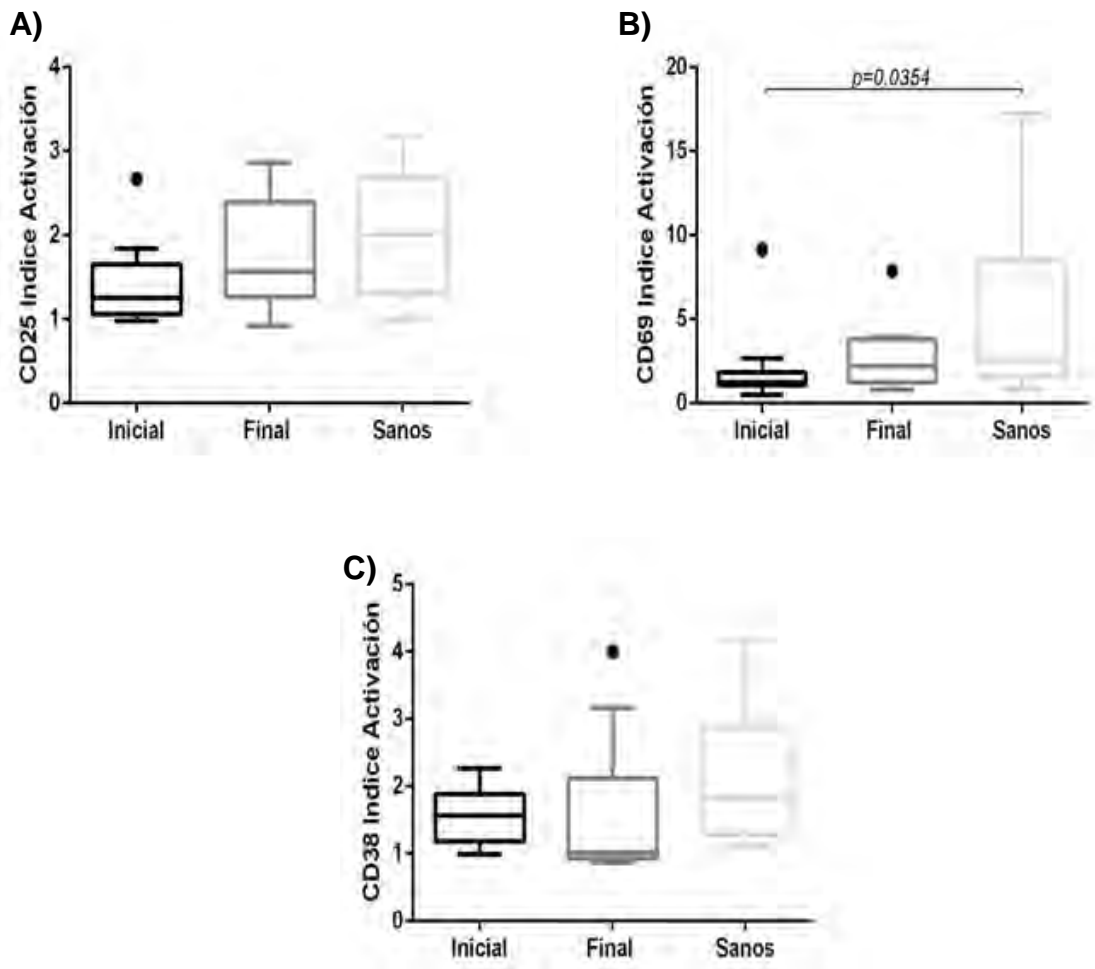
**Figura 10.** Determinación de citocinas intracelulares en células MAIT (CD3+ CD16+ TCR V $\alpha$ 7.2+) después del estímulo *in vitro* con PMA/ionomicina: El tratamiento integral de la COTM tuvo una duración de tres meses, la primera toma se realizó al inicio y la segunda toma al final del tratamiento. El índice de Activación es la razón del MFI de la población con estímulo entre el MFI de la población sin estímulo. Se determinó para A) IFN- $\gamma$ , B) IL-17, C) IL-10 y D) IL-4 para cada uno de los grupos. Se muestran los valores de p de las diferencias estadísticamente significativas.

Al comparar la producción de IFN- $\gamma$  en las muestras después de la activación in vitro con PMA/Ionomicina encontramos que no existen diferencias estadísticamente significativas entre la toma inicial y final de los pacientes con obesidad extrema ( $p=0.1602$ ) ni entre la toma final y los sujetos sanos ( $p=0.0749$ ), mientras que sí las hubo entre los sujetos sanos y los pacientes con obesidad extrema en la toma inicial ( $p<0.0001$ ) (Figura 10A).

Entre los grupos de estudio, la producción de IL-17 fue mayor en los sujetos sanos en comparación con la toma inicial ( $p=0.0019$ ) y la final ( $p=0.0064$ ) de los pacientes con obesidad extrema. Como ocurrió con el IFN- $\gamma$ , no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre los niveles de IL-17 de las muestras inicial y final ( $p>0.9999$ ) de los pacientes con obesidad extrema (Figura 10B).

En el caso de las citocinas IL-10 (Figura 10C) e IL-4 (Figura 10D) se detectaron bajos niveles de producción en comparación con las otras citocinas evaluadas pero suficientes para detectar diferencias entre los grupos. Al comparar las muestras de los diferentes grupos se encontró que la toma inicial de los pacientes con obesidad extrema presenta una diferencia estadísticamente significativa con los sujetos sanos tanto en la producción de IL-10 ( $p=0.0007$ ) como en la de IL-4 ( $p=0.0064$ ), mientras que solamente en la producción de IL-10 hubo diferencia estadísticamente significativa con la segunda toma de los pacientes con obesidad extrema ( $p=0.0488$ ) (Figuras 10C y 10D). Para la producción de IL-4 no hubo diferencias estadísticamente significativas entre las muestras de la toma inicial y final ( $p=0.0645$ ), ni en toma final comparada con sujetos sanos ( $p=0.2327$ ) (Figura 10D).

Finalmente se analizó la expresión de los marcadores de activación CD38 (marcador de activación de linfocitos T), CD25 (marcador tardío expresado en células activadas) y CD69 (marcador temprano de activación) en las células MAIT estimuladas in vitro con PMA/Ionomicina durante 6 horas para la determinación de CD38 y durante 24 horas para la determinación de CD25 y CD69 (Figura 11).



**Figura 11.** Expresión de moléculas de activación en células MAIT después de un estímulo in vitro con PMA/ionomicina. El tratamiento integral de la COTM tuvo una duración de tres meses, la primera toma se realizó al inicio y la segunda toma al final del tratamiento. El índice de Activación es la razón del MFI de la población con estímulo entre el MFI de la población sin estímulo. Se determinó para A) CD25, B) CD69 y C) CD38 para cada uno de los grupos. Se muestran los valores de p de las diferencias estadísticamente significativas.

La expresión de CD25 de las muestras en la toma inicial de los pacientes con obesidad extrema fue menor comparada con la expresión de los otros dos grupos (Figura 11A), pero al igual que con CD38 no se presentaron diferencias estadísticamente significativas con los sujetos sanos ( $p=0.0627$ ) y con la toma final de pacientes con obesidad extrema ( $p=0.1309$ ) ni entre éstos dos últimos grupos ( $p=0.4727$ ). CD69 (Figura 11B) no presentó diferencia estadísticamente significativa

entre las muestras de los grupos de estudio (inicial vs final  $p=0.2754$  y final vs sujetos sanos  $p=0.5191$ ), la única diferencia estadísticamente significativa se encontró fue entre la toma inicial y los sujetos sanos ( $p=0.0354$ ).

Estos resultados nos sugieren que la obesidad extrema promueve la disminución en la funcionalidad de las células MAIT y que el tratamiento integral de la COTM tiene un efecto en el perfil de activación de éstas. El último marcador de activación analizado fue CD38 (Figura 11C) la expresión de CD38 en células MAIT es mayor en las muestras de los sujetos sanos pero no presenta diferencias estadísticamente significativas con la toma inicial ( $p=0.8457$ ) y final ( $p=0.0600$ ) de los pacientes con obesidad extrema.

## 8. DISCUSIÓN

### 8.1 Reducción de composición corporal

Como ya se describió, la obesidad es una enfermedad crónica en donde se observa almacenamiento en exceso de tejido adiposo, este incremento de grasa corporal se traduce en aumento de peso, en condiciones normales. El estado inflamatorio crónico de la obesidad conduce a la acumulación excesiva de triglicéridos que promueve el aumento de tamaño y/o el incremento del número de los adipocitos, este efecto provoca una desregulación en la secreción de adipocinas y el subsecuente aumento de las concentraciones plasmáticas de los factores pro-inflamatorios y anti-inflamatorios [25,32,33].

Hasta el momento, el único tratamiento efectivo que logra una baja significativa de peso a largo plazo, en pacientes con obesidad extrema, es el tratamiento quirúrgico, cuyo “gold standard” es el bypass gástrico [59]. La cirugía reduce el riesgo de padecer comorbilidades y permite la reintegración del paciente a la vida social, laboral y familiar, lo cual genera una mejoría en su calidad de vida. Sin embargo, el paciente debe ser cuidadosamente seleccionado para ser sometido a éste tratamiento y una vez operado requiere seguimiento de por vida de un equipo multidisciplinario que le dé continuidad al plan nutricional, a la suplementación vitamínica y a la vigilancia médica. Por lo tanto, no todos los pacientes son candidatos a manejo quirúrgico ni todos los centros están habilitados para realizar ésta intervención. Evaluar adecuadamente a los pacientes candidatos a cirugía y el tipo de cirugía apropiado para éstos sigue siendo motivo de controversia entre diferentes grupos en todo el mundo.

El tratamiento integral de la clínica de obesidad y trastornos metabólicos (COTM) del Hospital Juárez de México tiene como objetivo preparar a los pacientes con obesidad extrema para el tratamiento quirúrgico. Solamente el 26% (n=10) de los pacientes que ingresaron a la COTM tuvieron un apego total al tratamiento y son candidatos a cirugía bariátrica (Figura 5). Después de tres meses de seguimiento se encontró que el tratamiento integral de la COTM es eficaz en la reducción de peso de los pacientes

(Figura 6). El éxito del tratamiento integral consiste en un cambio del estilo de vida, terapia psicológica, actividad física y alimentación saludable.

Desde el punto de vista conductual, al restringir voluntariamente la ingesta se sustituyen los controles fisiológicos de manera arbitraria por un control cognitivo, pero éste tiende a fallar por la presión fisiológica (hambre), el estrés, la ansiedad y los síntomas depresivos [57] lo que frecuentemente ocasiona que los pacientes pierdan el apego a su plan alimenticio. La terapia psicológica ayuda a disminuir estos síntomas y apoya a los pacientes en el proceso de cambio del estilo de vida.

En el tratamiento de la obesidad no se recomienda inducir cambios en la proporción de proteínas de la dieta por lo que se seleccionó un plan de alimentación hipocalórico estándar. Una reducción energética en la dieta de 500-1000 kcal diaria genera una pérdida de peso de entre 0.5 – 1 kg/semana. En adultos las dietas bajas en calorías (800 – 1800 kcal/día) y las dietas muy bajas en calorías (<800 kcal/día) se asocian con una pérdida de peso modesta de entre el 5 – 6% del peso inicial en 12 meses [29]. No solamente se trata de perder peso, también es importante disminuir el porcentaje de grasa, y para lograrlo se incorporó una rutina de ejercicio que demostró tener buenos resultados y complementar el plan de alimentación (Figura 6). Nuestros resultados muestran que los pacientes lograron bajar entre el 5 – 10% de su peso inicial en tres meses con ayuda del tratamiento integral, otros grupos de investigación han reportado que éste tipo de intervenciones no farmacológicas son efectivas para reducir la masa grasa y prevenir enfermedades cardiovasculares, disminuyendo significativamente de los niveles de LDL, colesterol total [35, 36] y de marcadores de inflamación, como las citocinas.

## **8.2 Parámetros bioquímicos.**

En nuestro estudio observamos que los pacientes con obesidad extrema presentan al inicio del tratamiento valores altos de glucosa, HbA1c, triglicéridos, LDL, colesterol y PCR, esto debido a que los pacientes presentan comorbilidades como diabetes, síndrome metabólico y dislipidemias. Aunque otros autores han reportado que el tratamiento nutricional durante seis meses promueve la disminución significativa de

la insulinoresistencia y de los niveles de glucosa y triglicéridos en pacientes con obesidad grado I y sobrepeso [60-62].

Nosotros encontramos después de tres meses de tratamiento integral una disminución en los niveles de glucosa, HbA1c, triglicéridos, HDL, LDL, colesterol y PCR, pero estos cambios no fueron estadísticamente significativos (Tabla 12) para nuestra población de estudio, estas diferencias pueden deberse al tiempo del tratamiento, el grado de obesidad de nuestros pacientes, el tamaño de la muestra y las comorbilidades de la población de estudio. Existe un estudio similar al nuestro con obesos mórbidos sin comorbilidad en el que reportan una reducción importante y significativa de los parámetros bioquímicos e inflamatorios a largo plazo, hasta 12 meses después del tratamiento.

En un estudio realizado por Karin R. Sargrad y colaboradores [62] donde se compararon dos dietas hipocalóricas, una alta en hidratos de carbono y la otra una dieta alta en proteínas, encontraron que después de dos meses de tratamiento bajo ambos planes alimenticios no se presentó ningún efecto sobre los niveles de lípidos (colesterol total, LDL, HDL), los marcadores de función renal (BUN, creatinina sérica) o de función hepática (Aspartato aminotransferasa, alanina aminotransferasa, Bilirrubina) a pesar de que la reducción del peso corporal fue evidente en ambos grupos donde los pacientes fueron agrupados por sexo, raza, composición corporal y gravedad de la diabetes tipo 2. Entonces, basados en nuestros resultados, podemos decir que el tiempo de tratamiento mínimo para comenzar a ver cambios en los marcadores bioquímicos de los pacientes con obesidad es de tres meses.

### **8.3 Células MAIT en pacientes con obesidad extrema**

Para combatir infecciones, el organismo depende de la capacidad del sistema inmunológico para reparar el daño. En los últimos años se ha observado que el sistema metabólico se encuentra íntimamente ligado con la respuesta inmunológica, ya que existen hormonas, citocinas, proteínas de señalización, factores de transcripción y lípidos que interaccionan con ambos [63]. De esta manera, el estado metabólico puede modificar la capacidad inmunitaria del organismo, y viceversa,



favoreciendo o suprimiendo algunas vías, como la vía de señalización de la insulina [32]. La combinación de la respuesta inmune con un balance metabólico adecuado es benéfica para el mantenimiento de un buen estado de salud. Sin embargo, puede convertirse en deletérea bajo condiciones de alteración metabólica, como ocurre en la obesidad extrema [64].

Estudios recientes enfocados en el entendimiento de la fisiopatología de la obesidad han establecido los primeros hallazgos sobre la relación entre esta enfermedad y el sistema inmunológico. Por ejemplo, se ha encontrado que las células iNKT, población de linfocitos T innatos, están alteradas durante la obesidad en adultos y niños en tejido adiposo [65-67].

Varios grupos de investigación tienen descrito el rol protector o patogénico de las células MAIT en un sin número de enfermedades incluyendo esclerosis múltiple y artritis reumatoide [68-69]. Serriari y colaboradores [55] observaron que la frecuencia de células MAIT en pacientes con enfermedades inflamatorias, como enfermedad de Crohn y colitis ulcerativa, es menor en comparación con sujetos sanos, el mismo efecto se observó al separar las células MAIT por fenotipo. Las células MAIT se han estudiado en pacientes con obesidad debido al estado inflamatorio crónico que se desarrolla en ésta patología.

En nuestro estudio pareamos a los sujetos sanos (controles) con IMC normal con los pacientes con obesidad extrema por sexo y por edad (Tabla 11). Cuando analizamos la frecuencia de células MAIT en sangre periférica, encontramos que ésta se ve disminuida en la obesidad extrema pero la diferencia no fue estadísticamente significativa al comparar con los sujetos sanos (Figura 7). Nuestros resultados difieren de lo reportado en enfermedades inflamatorias y de un estudio realizado con pacientes obesos con diabetes mellitus tipo 2 en donde se describe una disminución estadísticamente significativa de la frecuencia de las células MAIT circulantes [54].

Probablemente la discrepancia en nuestros resultados con respecto a lo ya reportado puede deberse al número de muestras que se evaluaron ya que en los estudios

previos el número de pacientes y controles es mayor, otros autores atribuyen la disminución en la frecuencia de las células MAIT al estado activado que presentan ya que puede causar la muerte celular, otros indican que posiblemente la disminución de las células MAIT en circulación puede deberse al reclutamiento hacia tejido adiposo [54-55].

En general, el estado basal de activación es muy diferente a lo esperado (Figura 8), ya que la producción de citocinas basal es similar en los tres grupos de estudio (Figura 9). Para determinar su funcionalidad, evaluamos la capacidad de respuesta de las células MAIT ante un estímulo (PMA/ionomicina).

La producción de citocinas pro-inflamatorias (IFN- $\gamma$ , IL-17) y anti-inflamatorias (IL-10, IL-4) después del estímulo fue menor en los pacientes con obesidad extrema tanto en la toma inicial como en la toma final, en comparación con los sujetos sanos (Figura 10), lo que sugiere que las células MAIT de los pacientes con obesidad extrema no están respondiendo adecuadamente al estímulo. Podría ser que las células MAIT presenten un perfil exhausto que se caracteriza por la gradual y progresiva pérdida de las funciones de las células T y puede culminar en la eliminación física de las células [57], como resultado las células no respondan adecuadamente. Este perfil se ha observado principalmente en la tumorigénesis [70] y en condiciones de persistencia antigénica, que se produce después de muchas infecciones crónicas, y se ha explicado con mayor detalle en enfermedades como el virus de la hepatitis B, el virus de la hepatitis C y la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana [71].

En cuanto a la funcionalidad de las células MAIT una vez que los pacientes fueron sometidos al tratamiento integral de la COTM, se observa que estas células responden al estímulo de una manera más eficiente comparada con la toma inicial antes del tratamiento (Figura 10), lo que nos podría sugerir que la disminución de peso ayuda a la reprogramación de estas células para que respondan adecuadamente ante las señales de activación. Esto puede ser posible debido a que

el agotamiento de las células no es un estado irreversible de diferenciación terminal, puesto que se ha reportado que [72] es posible la recuperación parcial de la función.

Algo importante que se observó y confirma lo reportado por Eirin Carolan [56] y Lauren Gapin [51] es que las células responden a la estimulación con PMA/Ionomicina produciendo grandes cantidades de IL-17, confirmando que post-activación el perfil inflamatorio de las células MAIT es primordialmente Th17 (Figura 10B).

La producción de citocinas anti-inflamatorias (IL-4 e IL-10), es menor en pacientes con obesidad extrema antes del tratamiento esto puede deberse a las altas cantidades de citocinas pro-inflamatorias presentes en suero de pacientes con obesidad, como el IFN- $\gamma$  que inhibe la proliferación de células Th2 y en consecuencia la producción de IL-4 e IL-10 [73]. Los controles sanos presentan una producción elevada de IL-4 e IL-10 lo que confirma que estas células se encuentran en óptimas condiciones para responder ante la activación (Figura 10C y 10D), tratando de inhibir las señales inflamatorias. En la toma final de los pacientes con obesidad extrema se observa que la producción de citocinas anti-inflamatorias es mayor que en la toma inicial, producción que se asemeja más a lo encontrado en los sujetos sanos, algo que concuerda con lo reportado por otros grupos de investigación que encontraron que los pacientes al reducir su peso disminuyen las señales inflamatorias y aumentan las anti-inflamatorias [74], el ambiente pro-inflamatorio en los pacientes con obesidad es inducido por las adipocinas producidas por el tejido adiposo, al disminuir el tejido adiposo, se disminuye la producción de adipocinas y por lo tanto el estado inflamatorio. Sin embargo, la producción de las citocinas anti-inflamatorias (IL-4 e IL-10) en la toma final aún sigue siendo menor a lo encontrado en sujetos sanos, aunque no se muestran diferencias estadísticamente significativas para ninguno de los dos casos (IL-4  $p=0.3237$ , IL-10  $p=0.1220$ ) (Figura 10C y 10D).

En la actualidad aún no hay reportes donde evalúen la funcionalidad de las células MAIT antes y después de la reducción de peso producto de un tratamiento integral (ejercicio, dieta y terapia psicológica) lo más parecido son estudios donde reportan la

frecuencia y funcionalidad de las células MAIT después de la cirugía bariátrica donde hacen determinaciones a los 3, 6 y 12 meses después de la intervención y encontraron que la frecuencia es muy parecida a la de los sujetos sanos pero no alcanzan los mismo niveles, en cuanto a la funcionalidad solo evaluaron la producción de IL-17 e IFN- $\gamma$  y observaron que a los 6 meses post operación alcanza niveles muy parecidos a los de los sujetos sanos. Los autores mencionan que la producción de IL-10 e IL-4 no fue detectable. Además de evaluar la producción de citocinas en las células MAIT, también se determinó la expresión de marcadores de activación en la superficie celular, CD69 para activación temprana y CD25 (Receptor para IL-2) y CD38 para activación tardía (Figura 11).

En cuanto a la expresión de los marcadores de activación tardíos, CD25 presentó bajos niveles de expresión en los pacientes con obesidad extrema después de la estimulación comparado con los sujetos sanos (Figura 11A). También se observó una recuperación parcial de la expresión en la toma final de los pacientes con obesidad extrema, comparando con la toma inicial, pero aun así no alcanza los mismos niveles que los sujetos sanos.

Es bien sabido que CD69, no se detecta en linfocitos T de sangre periférica en reposo pero aparece tan solo de 30-60 min después del estímulo con PMA y el pico de expresión se alcanza a las 24h post estímulo, para posteriormente desaparecer gradualmente; tras la activación CD69 se expresa en prácticamente el 100% de los linfocitos de sangre periférica [75]. Nuestros resultados mostraron que no hubo diferencias estadísticamente significativas en la expresión de CD69 post estímulo entre los grupos de estudio (toma inicial vs toma final  $p=0.2754$  y toma final vs sujetos sanos  $p=0.5191$ ) (Figura 11B). Esto puede ser normal debido a que las células ya presentan un estado activado y al ser estimuladas no pueden responder satisfactoriamente. Algo similar fue reportado en pacientes con Diabetes T2 y obesidad las células MAIT sin estímulo muestran una elevada expresión de CD25 y CD69 comparado con los sujetos sanos, y una vez que son estimulados los controles sujetos sanos expresando mayores niveles de estos marcadores de superficie [40].

Finalmente evaluamos la expresión de CD38 que en estudios con infecciones virales [58] y bacterianas [76] se demostró que es un marcador de activación de células MAIT. CD38 se encuentra sobre expresado en pacientes con infecciones agudas y convalecientes en comparación con sujetos sanos, que presentan niveles casi nulos en muestras sin estímulo [77]. Nuestros resultados post estímulo muestran que los sujetos sanos responden mejor a la activación al expresar altos niveles de CD38 en comparación con la primera y segunda toma de los pacientes con obesidad extrema (Figura 11C), incluso observamos que en los pacientes con obesidad extrema después del estímulo no suelen elevar considerablemente los niveles de expresión de este marcador en comparación con los controles sin estímulo.

El estado de activación que presentan las células MAIT así como su perfil de citocinas pudiera ser la causa de la disminución de la frecuencia de estas células en pacientes con obesidad extrema ya que su estado activado pudiese ocasionar la muerte celular y su perfil de citocinas provocar un reclutamiento de estas hacia tejido adiposo lo que causa un aumento en la frecuencia en éste pero se disminuye en sangre periférica. La evidencia de la disminución en la respuesta ante un estímulo se traduce en una funcionalidad deficiente llevándonos a sugerir que los pacientes con obesidad extrema presentan un perfil exhausto debido a la inflamación crónica característica de la patología, por lo que las células MAIT circulantes en sangre periférica realizan un trabajo deficientemente. Sin embargo, podemos decir que una buena alimentación, una rutina de ejercicio adecuada y la ayuda psicológica conforman un tratamiento sumamente efectivo para la reducción del peso en pacientes con obesidad extrema, y que este efecto se ve reflejado a nivel del sistema inmunológico, ya que aumenta la respuesta de las células MAIT ante un estímulo, reprogramándolas.

## 9. CONCLUSIONES

1. El tratamiento integral de tres meses de la clínica de obesidad y trastornos metabólicos del Hospital Juárez de México permite la reducción del 5 – 10% del peso total de los pacientes con obesidad extrema.
2. La frecuencia de células MAIT en pacientes con obesidad extrema es menor que la encontrada en sujetos sanos.
3. El perfil de expresión basal de citocinas de células MAIT de los pacientes con obesidad extrema es similar al de los sujetos sanos.
4. La expresión de marcadores de activación y de citocinas intracelulares post estímulo son mayores en las células MAIT de sujetos sanos que en las células de pacientes con obesidad extrema.
5. El tratamiento integral de tres meses de la clínica de obesidad y trastornos metabólicos del Hospital Juárez de México permite la reprogramación de las células MAIT, aumentando la respuesta ante un estímulo sin llegar a los niveles registrados en los sujetos sanos.

## 10. REFERENCIAS

1. Salud, O.M.d.I., *Obesidad y sobrepeso*. 2016.
2. José Arnold González Garrido, G.M.C.R.y.E.M.B., *Obesidad: mas que un problema de peso*. 2010. **XXIII**: p. 2.
3. Simon Barquera Cervera, I.C.N., Rosalba Rojas y Juan Rivera, *Obesidad en México: epidemiología y políticas de salud para su control y prevención*. 2010: p. 11.
4. Sanitario, C.C.N.d.N.d.R.y.F.S.y.S.d.R.y.F., *NORMA Oficial Mexicana NOM-174-SSA1-1998, Para el manejo integral de la obesidad*. 1998.
5. Juan Angel Rivera Dommarco, M.H.Á., Carlos A. Aguilar Salinas, Felipe Vadillo Ortega, Ciro Murayama Rendón, *Obesidad en México: Recomendaciones para una política de Estado*. 2012: p. 17.
6. Pública, I.N.d.S., *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016*. 2016: p. 149.
7. México, U., *Salud y nutrición*. 2016.
8. Sánchez, V., *120 mil mdp al año le cuesta a México la obesidad*. 2016: p. 5.
9. García GE, D.I.L.R., Kaufer HM, Tusié LM, Calzada LR, Vázquez VV *La obesidad y el síndrome metabólico. Un reto para los Institutos Nacionales de Salud*. 2009. **61**: p. 337-346.
10. García GE, D.I.L.R., Kaufer HM, Tusié LM, Calzada LR, Vázquez VV *La obesidad y el síndrome metabólico como problema de salud pública. Una reflexión*. SCIELO Public Health, 2009 **50**: p. 79-87.
11. Lyznicki, J.M., et al., *Obesity: assessment and management in primary care*. Am Fam Physician, 2001. **63**(11): p. 2185-96.
12. Fernández Carnet, R., *ESTUDIO PSICOLÓGICO DEL PACIENTE CON OBESIDAD MÓRBIDA SOMETIDO A INTERVENCIÓN QUIRÚRGICA: ANÁLISIS DE LAS DIFERENTES VARIABLES QUE PUEDEN AFECTAR A LA PÉRDIDA DE PESO*. 2009.

13. Azorin, C.O., *Interacción genético-ambiental en la modulación de adipocitoquinas y marcadores de inflamación en su asociación con obesidad y otros factores de riesgo cardiovascular en población mediterránea*. 2011.
14. Casanueva E, P.A., Kaufer M, *Nutriología medica*. Ed. Medica Panamericana, 2008.
15. Dulloo, A.G., et al., *Body composition phenotypes in pathways to obesity and the metabolic syndrome*. Int J Obes (Lond), 2010. **34 Suppl 2**: p. S4-17.
16. obesidad, S.E.p.e.e.d.l., *Sobrepeso y Obesidad*. 2017.
17. De Lorenzo, A., et al., *New obesity classification criteria as a tool for bariatric surgery indication*. World J Gastroenterol, 2016. **22(2)**: p. 681-703.
18. Janssen, I., P.T. Katzmarzyk, and R. Ross, *Waist circumference and not body mass index explains obesity-related health risk*. Am J Clin Nutr, 2004. **79(3)**: p. 379-84.
19. Ana Isabel de Cos, J.J.C., Beatriz Pelegrina, María Concepción Roldan, Isabel Calvo, Clotilde Vázquez y Luis Felipe Pallardo, *Riesgo asociado a obesidad según estadiaje de Edmonton en cirugía bariátrica*. Nutrición Hospitalaria, 2015: p. 192-202.
20. Aronne, L.J., *Classification of obesity and assessment of obesity-related health risks*. Obes Res, 2002. **10 Suppl 2**: p. 105S-115S.
21. Ananthapavan, J., et al., *Economics of obesity--learning from the past to contribute to a better future*. Int J Environ Res Public Health, 2014. **11(4)**: p. 4007-25.
22. Octavio Amancio Chassin, J.L.O.R., Irene Durante Montiel, *obesidad*. Facultad de Medicina, 2007.
23. Guh, D.P., et al., *The incidence of co-morbidities related to obesity and overweight: a systematic review and meta-analysis*. BMC Public Health, 2009. **9**: p. 88.
24. Buchwald, H. and P. Consensus Conference, *Consensus conference statement bariatric surgery for morbid obesity: health implications for patients, health professionals, and third-party payers*. Surg Obes Relat Dis, 2005. **1(3)**: p. 371-81.



25. Jebb, S., *Obesity: causes and consequences*. ELSEVIER, 2004. **1**(1): p. 38-41.
26. digestivas., C.M.Q.d.e., *La obesidad y sus enfermedades asociadas*. 2015.
27. Caio Marcio Barros de Oliveira, R.K.S., Adriana Machado Issy, Luis Roberto Gerola, Reynaldo Salomão. , *Citocinas y dolor*. Elsevier, 2011. **61**.
28. Mario Adán Moreno-Eutimio, G.A.-A., *El inmunometabolismo del ejercicio físico y la vida sedentaria*. 2014.
29. General, C.d.S., *Prevención, Diagnóstico y tratamiento del SOBREPESO Y LA OBESIDAD EXÓGENA*. 2012.
30. Willett, W.C., *Dietary fats and coronary heart disease*. J Intern Med, 2012. **272**(1): p. 13-24.
31. Madero, M., et al., *The effect of two energy-restricted diets, a low-fructose diet versus a moderate natural fructose diet, on weight loss and metabolic syndrome parameters: a randomized controlled trial*. Metabolism, 2011. **60**(11): p. 1551-9.
32. Melanson, K.J., et al., *Body composition, dietary composition, and components of metabolic syndrome in overweight and obese adults after a 12-week trial on dietary treatments focused on portion control, energy density, or glycemic index*. Nutr J, 2012. **11**: p. 57.
33. García-Casal MN, P.-G.H., *Dieta e Inflamación*. 2014. **27**: p. 47-56.
34. Takeda, K., T. Kaisho, and S. Akira, *Toll-like receptors*. Annu Rev Immunol, 2003. **21**: p. 335-76.
35. Cruz-Teno, C., et al., *Dietary fat modifies the postprandial inflammatory state in subjects with metabolic syndrome: the LIPGENE study*. Mol Nutr Food Res, 2012. **56**(6): p. 854-65.
36. Dutheil, F., et al., *Treatment of metabolic syndrome by combination of physical activity and diet needs an optimal protein intake: a randomized controlled trial*. Nutr J, 2012. **11**: p. 72.
37. González, M.J.L.-V.L.y.A.S., *Actualización en obesidad*. cadernos atencion primaria, 2010. **17**: p. 101-107.

38. Bersh, S., *La obesidad: aspectos psicológicos y conductuales*. revista Colombiana de Psiquiatría, 2006. **XXXV**: p. 537-546.
39. Pliego-Reyes CL, A.-R.J., CárdenasCejudo A, Díaz-Jiménez K y co, *Consenso multidisciplinario de prevención, diagnóstico y tratamiento de la obesidad en el varón joven y maduro*. Med Int Méx 2015: p. 414-433.
40. Gómez, R.M., Henrique; Cossio-Bolaños, Marco Antonio; Fama-Cortez, Domingo; Zanesco, Angelina, *El ejercicio físico y su prescripción en pacientes con Enfermedades crónicas degenerativas*. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública, 2010. **27**: p. 379-386.
41. Attila Csendes J., K.P.V., Ana María Burgos L., Enrique Lanzarini S., Moira Canobra L., *Efecto del bypass gástrico a largo plazo (7 a 10 años) en pacientes con obesidad severa y mórbida sobre el peso corporal, diabetes, dislipidemia y desarrollo de anemia*. Revista Médica de Chile, 2011. **139**: p. 1414-1420.
42. Brandan, N.C., *El Tejido Adiposo como Órgano Endocrino* Universidad Nacional del Noreste Facultad de Medicina 2015.
43. M.J. Moreno, J.A.M., *Tejido Adiposo: órgano de almacenamiento y órgano secretor*. ANALES Sis San Navarra, 2002.
44. Fausto Sánchez-Muñoz, R.G.-M., Francisco Alarcón-Aguilar y Miguel Cruza, *Adipocinas, tejido adiposo y su relación con células del sistema inmune*. Gaceta Médica Mexicana., 2005. **141**.
45. Ambrosi, J.G., *Papel del tejido adiposo en la inflamación asociada a la obesidad*. Revista Española de Obesidad., 2008. **6**: p. 16.
46. Gerardo Blancas-Flores, J.C.A.-P., Rocío Ivette López-Roa, Francisco Javier Alarcón-Aguilar, Rebeca García-Macedo, y Miguel Cruz, *Obesity as an inflammatory process*. Bol Med Hosp Infant Mex, 2009. **67**.
47. López-Briones, J.M.G.-F.y.S., *Células de la inmunidad innata y adaptativa en la diabetes mellitus tipo 2 y obesidad*. Gaceta Médica de México., 2012.
48. Lumeng, C.N., *Innate immune activation in obesity*. Mol Aspects Med, 2013. **34**(1): p. 12-29.

49. Quante, M., et al., *Obesity-related immune responses and their impact on surgical outcomes*. Int J Obes (Lond), 2015. **39**(6): p. 877-83.
50. Apostolopoulos, V., et al., *The complex immunological and inflammatory network of adipose tissue in obesity*. Mol Nutr Food Res, 2016. **60**(1): p. 43-57.
51. Gapin, L., *Check MAIT*. J Immunol, 2014. **192**(10): p. 4475-80.
52. Kurioka, A., et al., *MAIT cells: new guardians of the liver*. Clin Transl Immunology, 2016. **5**(8): p. e98.
53. Wong, E.B., T. Ndung'u, and V.O. Kasprovicz, *The role of mucosal-associated invariant T cells in infectious diseases*. Immunology, 2017. **150**(1): p. 45-54.
54. Magalhaes, I., et al., *Mucosal-associated invariant T cell alterations in obese and type 2 diabetic patients*. J Clin Invest, 2015. **125**(4): p. 1752-62.
55. Serriari, N.E., et al., *Innate mucosal-associated invariant T (MAIT) cells are activated in inflammatory bowel diseases*. Clin Exp Immunol, 2014. **176**(2): p. 266-74.
56. Carolan, E., et al., *Altered distribution and increased IL-17 production by mucosal-associated invariant T cells in adult and childhood obesity*. J Immunol, 2015. **194**(12): p. 5775-80.
57. Yi, J.S., M.A. Cox, and A.J. Zajac, *T-cell exhaustion: characteristics, causes and conversion*. Immunology, 2010. **129**(4): p. 474-81.
58. van Wilgenburg, B., et al., *MAIT cells are activated during human viral infections*. Nat Commun, 2016. **7**: p. 11653.
59. Attila Csendes J., K.P.V., Ana María Burgos L., Enrique Lanzarini S., Moira Canobra L., *Efecto del bypass gástrico a largo plazo (7 a 10 años) en pacientes con obesidad severa y mórbida sobre el peso corporal, diabetes, dislipidemia y desarrollo de anemia*. Revista Médica de Chile, 2011. **139**: p. 1414-1420.
60. Soca, P.E.M.C.T., Walter; González Ferrer, Jorge; Cardona Cáceres, Xiomara; Cruz Lage, Leonor Amanda; Hernández Tamayo, Madelaine., *Efectos beneficiosos de cambios en la dieta y ejercicios físicos en mujeres obesas con síndrome metabólico*. Panorama Cuba y Salud., 2009. **4**: p. 29-36.

61. Salas-Salvado, J., et al., *Subcutaneous adipose tissue cytokine production is not responsible for the restoration of systemic inflammation markers during weight loss*. *Int J Obes (Lond)*, 2006. **30**(12): p. 1714-20.
62. Sargrad, K.R., et al., *Effect of high protein vs high carbohydrate intake on insulin sensitivity, body weight, hemoglobin A1c, and blood pressure in patients with type 2 diabetes mellitus*. *J Am Diet Assoc*, 2005. **105**(4): p. 573-80.
63. Khovidhunkit, W., et al., *Effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein metabolism: mechanisms and consequences to the host*. *J Lipid Res*, 2004. **45**(7): p. 1169-96.
64. Wellen, K.E. and G.S. Hotamisligil, *Inflammation, stress, and diabetes*. *J Clin Invest*, 2005. **115**(5): p. 1111-9.
65. Lynch, L., et al., *Adipose tissue invariant NKT cells protect against diet-induced obesity and metabolic disorder through regulatory cytokine production*. *Immunity*, 2012. **37**(3): p. 574-87.
66. Lynch, L., et al., *Invariant NKT cells and CD1d(+) cells amass in human omentum and are depleted in patients with cancer and obesity*. *Eur J Immunol*, 2009. **39**(7): p. 1893-901.
67. Carolan, E., et al., *The impact of childhood obesity on inflammation, innate immune cell frequency, and metabolic microRNA expression*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014. **99**(3): p. E474-8.
68. Chiba, A., et al., *Mucosal-associated invariant T cells promote inflammation and exacerbate disease in murine models of arthritis*. *Arthritis Rheum*, 2012. **64**(1): p. 153-61.
69. Croxford, J.L., et al., *Invariant V(alpha)19i T cells regulate autoimmune inflammation*. *Nat Immunol*, 2006. **7**(9): p. 987-94.
70. Jiang, Y., Y. Li, and B. Zhu, *T-cell exhaustion in the tumor microenvironment*. *Cell Death Dis*, 2015. **6**: p. e1792.
71. Kahan, S.M., E.J. Wherry, and A.J. Zajac, *T cell exhaustion during persistent viral infections*. *Virology*, 2015. **479-480**: p. 180-93.

72. Schietinger, A. and P.D. Greenberg, *Tolerance and exhaustion: defining mechanisms of T cell dysfunction*. Trends Immunol, 2014. **35**(2): p. 51-60.
73. X. Filellaa, R.M., AM. Ballesta, *Estructura y función de las citocinas*. ELSEVIER, 2002. **32**: p. 63-71.
74. García, E.A., *Obesidad, tejido adiposo y resistencia a la insulina*. SCIELO Public Health, 2012. **46**.
75. García, C.H., *CARACTERIZACION, REGULACION Y FUNCIONALIDAD DE LA EXPRESION DE CD69 EN LA ARTRITIS REUMATOIDE*. Tesis Doctoral, 1996.
76. Dias, J., et al., *Human MAIT-cell responses to Escherichia coli: activation, cytokine production, proliferation, and cytotoxicity*. J Leukoc Biol, 2016. **100**(1): p. 233-40.
77. van Wilgenburg, B., et al., *MAIT cells are activated during human viral infections*. Nat Commun, 2016. **7**: p. 11653.

Anexo I. Carta de aceptación del protocolo de investigación.



SALUD  
SECRETARÍA DE SALUD



Hospital Juárez de México  
Dirección Investigación y Enseñanza



"2016, Año del Nuevo Sistema de Justicia Penal"

*[Handwritten signature]*

México, Ciudad de México, a 12 de mayo de 2016.

**Lic. Nut. Blanca Rosalba Pardo Pacheco**  
Unidad de Soporte Nutricional y Metabolismo  
Presente

Me permito comunicarle que su protocolo titulado: "Estudio clínico aleatorizado de dos tipos de plan de alimentación hipocalórico sobre el control de peso, parámetros bioquímicos y marcadores inflamatorios en pacientes con obesidad", con número de registro HJM 0121/16-1, fue evaluado por el Comité de Investigación en su sesión ordinaria No 5 del día 12/05/2016, en conjunto con los Comités de Ética en Investigación y de Bioseguridad del Hospital Juárez de México, habiendo dictaminado su aceptación, por lo cual a partir de esta fecha queda autorizado y podrá dar inicio el protocolo, con una duración de 1 año.

Le informo también que los pacientes que ingresen al estudio, solamente serán responsables de los costos de los estudios necesarios y habituales para su padecimiento, por lo que cualquier gasto adicional que sea necesario para el desarrollo de su proyecto deberá contar con los recursos necesarios para cubrir los costos adicionales generados por el mismo.

No omito mencionarle que cualquier enmienda o prórroga deberá ser justificada y solicitada oportunamente ante el Comité de Investigación.

ATENTAMENTE

*[Handwritten signature of Dr. Martín Antonio Manrique]*

**DR. MARTÍN ANTONIO MANRIQUE**  
DIRECTOR GENERAL  
HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO

*Recibi original  
24 Jun 16  
[Signature]*

ccp. Dr. José Moreno Rodríguez - Director de Investigación y Enseñanza, HJM  
ccp. Comité de Investigación

Av. Instituto Politécnico Nacional No. 5160, Col. Magdalena de las Salinas, Del. Gustavo A. Madero, C.P. 07700, México, D.F.  
Tel: (55) 57 47 75 60 ext. 7350 www.hospitaljuarez.salud.gob.mx

## Anexo II. Carta de consentimiento informado.

**SALUD**  
SECRETARÍA DE SALUD



Hospital Juárez de México  
Dirección de Investigación  
Comité de Ética en Investigación



### COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

**Título del protocolo:**

Estudio clínico aleatorizado de dos tipos de plan de alimentación hipocalóricos sobre el control de peso, parámetros bioquímicos y marcadores inflamatorios en pacientes con obesidad

**Investigador principal:** LN Blanca Rosalba Pardo Pacheco

**Teléfono:** 57477560 ext. 7497 **Dirección:** Av politécnico 5160 Col. Magdalena de las Salinas Del. Gustavo A. Madero.

**Sede y servicio donde se realizará el estudio:** Hospital Juárez de México

Nombre del paciente: \_\_\_\_\_

A usted se le está invitando a participar en este estudio de investigación médica. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto.

Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento, de la cual se le entregará una copia firmada y fechada.

**1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO. Las dietas bajas en calorías en pacientes con obesidad mórbida demuestran disminuir complicaciones generadas por este padecimiento**

**\*2. OBJETIVO DEL ESTUDIO**

*Evaluar y comparar dos tipos de dieta bajas en calorías sobre la disminución de peso, parámetros bioquímicos y marcadores inflamatorios en pacientes con obesidad*

**3. BENEFICIOS DEL ESTUDIO**

Los beneficios que usted obtendrá son disminución de peso, de marcadores inflamatorios y parámetros bioquímicos.

**4. PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO**

En caso de aceptar en participar en el estudio se le realizarán algunas preguntas sobre usted, sus hábitos de alimentación y sus antecedentes médicos, posteriormente se les tomará una muestra sanguínea, peso, talla y se le proporcionará su plan de alimentación, se realizará seguimiento cada mes para verificar apego



HJM-DIE-003-A



A tratamiento y en el cuarto mes se realizará otra toma de muestra sanguínea. Usted tendrá que venir en ayuno el primero y cuarto mes

**5. RIESGOS ASOCIADOS CON EL ESTUDIO**

No existe riesgo en la aplicación de una dieta baja en calorías

Este estudio consta de las siguientes fases

Primera parte: en el primer mes se tomará una muestra de sangre en ayuno, puede presentar dolor o llegar a formar un moretón en el lugar donde se tomó la muestra sanguínea

Segunda parte: del estudio consistirá en tomar una segunda muestra en ayuno al cuarto mes

**6. ACLARACIONES**

Su decisión de participar en el estudio es completamente voluntaria.

No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted, en caso de no aceptar la invitación. Si decide participar en el estudio puede retirarse en el momento que lo desee, -aun cuando el investigador responsable no se lo solicite-, pudiendo informar o no, las razones de su decisión, la cual será respetada en su integridad.

No tendrá que hacer gasto alguno durante el estudio.

No recibirá pago por su participación.

En el transcurso del estudio usted podrá solicitar información actualizada sobre el mismo, al investigador responsable.

La información obtenida en este estudio, utilizada para la identificación de cada paciente, será mantenida con estricta confidencialidad por el grupo de investigadores.

Usted también tiene acceso a los Comités de Investigación y Ética en Investigación del Hospital Juárez de México a través del Dr. José Moreno Rodríguez, Director de Investigación o la Dr. José María Tovar Rodríguez presidente del Comité de Ética en Investigación. En el edificio de Investigación del Hospital Juárez de México.

Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, puede, si así lo desea, firmar la Carta de Consentimiento Informado que forma parte de este documento.

Yo, \_\_\_\_\_ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este estudio de investigación. Recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento.

\_\_\_\_\_  
**\*\*Firma del participante o del padre o tutor Fecha**

\_\_\_\_\_  
**\*\*Testigo 1 Fecha (parentesco)**

\_\_\_\_\_  
**\*\*Testigo 2 Fecha (parentesco)**

**\*\*Esta parte debe ser completada por el Investigador (o su representante):**

He explicado al Sr(a). \_\_\_\_\_ la naturaleza y los propósitos de la investigación, le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas







en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar investigación con seres humanos y me apego a ella. Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procedió a firmar el presente documento.

\_\_\_\_\_  
**Firma del investigador Fecha**

**\*\*7. CARTA DE REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO**

**Título del protocolo:**

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Investigador principal: \_\_\_\_\_

Sede donde se realizará el estudio: \_\_\_\_\_

Nombre del participante: \_\_\_\_\_

Por este conducto deseo informar mi decisión de retirarme de este protocolo de investigación por las siguientes razones: (Este apartado es opcional y puede dejarse en blanco si así lo desea el paciente)

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Si el paciente así lo desea, podrá solicitar que le sea entregada toda la información que se haya recabado sobre él, con motivo de su participación en el presente estudio.

\_\_\_\_\_  
**Firma del participante o del padre o tutor Fecha**

\_\_\_\_\_  
**Testigo Fecha**

\_\_\_\_\_  
**Testigo Fecha**

c.c.p El paciente.

(Se deberá elaborar por duplicado quedando una copia en poder del paciente)

