



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**EVALUACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES SÉRICAS DE
LEPTINA, ADIPONECTINA, Y EOTAXINA EN
ADOLESCENTES OBESOS ASMÁTICOS Y NO ASMÁTICOS**

+

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

P R E S E N T A:

JUAN EDUARDO BALDERAS LÓPEZ



**DIRECTOR DE TESIS:
DRA. FENGYANG HUANG**

2021 Ciudad Universitaria, CD. MX.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Farmacología del Hospital Infantil de México Federico Gómez forma parte del protocolo **HIM/2013/015, SSa. 1061** titulado **"ANÁLISIS DEL GRADO DE METILACIÓN DE LOS PROMOTORES EN LOS GENES DE RESISTINA, VISFATINA, TNF- α Y SUS DOS RECEPTORES EN ADOLESCENTES OBESOS ASMÁTICOS Y NO ASMÁTICOS"**, el cual se ha aceptado por el Comité de Investigación, Ética y Bioseguridad del Hospital Infantil de México Federico Gómez.

**Evaluación de las concentraciones séricas de
eotaxina, leptina y adiponectina en
adolescentes obesos asmáticos y no
asmáticos**

INDICE

RESUMEN	6
INTRODUCCION	7
<u>OBESIDAD</u>	7
<u>ASMA</u>	10
<u>Interrelación entre obesidad y asma</u>	11
<u>MECANISMOS DE ASOCIACION ENTRE OBESIDAD Y ASMA</u>	12
<u>Eotaxina en obesidad y asma</u>	14
<u>Leptina y adiponectina en obesidad y asma</u>	21
<u>Leptina en asma</u>	23
<u>Adiponectina en asma</u>	26
JUSTIFICACIÓN	29
OBJETIVO GENERAL	29
<u>Objetivo Particular:</u>	29
HIPÓTESIS	29
METODOLOGÍA	29
<u>Criterios de selección de pacientes</u>	30
<u>DISEÑO DE PROTOCOLO</u>	31
<u>Descripción Operativa</u>	33
<u>Procedimiento de Toma de Muestra</u>	33
<u>Determinación de leptina, adiponectina y eotaxina circulante</u>	35
<u>Procedimiento de Ensayos de ELISA</u>	35
<u>Curva Estándar</u>	38
<u>ANÁLISIS DE DATOS</u>	38
Consideraciones Éticas	39
Consideraciones de Bioseguridad	39
RESULTADOS	40
<u>Características generales de los adolescentes estudiados</u>	40
<u>Los resultados presentan diferencias significativas en peso entre pacientes obesos con y sin asma con respecto a los pacientes no obesos con y sin asma. También observamos que el IMC presenta resultados similares a los antes mencionados (Figura 1b).</u> 40	
<u>Perfil metabólico en los adolescentes estudiados</u>	41

<u>Concentraciones de citosinas (eotaxina, leptina, y adiponectina) plasmáticas en adolescentes</u>	42
<u>Coefficiente de Correlación de Pearson</u>	43
<u>DISCUSIÓN</u>	44
<u>CONCLUSIÓN</u>	45

RESUMEN

Introducción: La obesidad y el asma son enfermedades inflamatorias de diferentes grados, mientras la primera se menciona que transcurre en un proceso inflamatorio de bajo grado, el asma se considera una enfermedad crónica. Ambas patologías se han considerado como problemas de salud pública a nivel mundial. La relación entre la obesidad y el asma no ha logrado establecerse de manera convincente, aunque existen factores que podrían explicar esta asociación como la alteración de regiones genéticas específicas y alteraciones del sistema inmunológico. La obesidad conduce a un estado proinflamatorio sistémico, que produce un aumento de las concentraciones séricas de varias citoquinas, es por ello que el objetivo de este trabajo fue evaluar los niveles de eotaxina, Leptina y adiponectina en adolescentes obesos asmáticos y no asmáticos. **Metodología:** Se reclutaron 86 adolescentes en la clínica de obesidad y alergia del Hospital Infantil de México Federico Gómez, los cuales fueron divididos en 4 grupos de acuerdo a su índice de masa corporal (IMC) y presencia o ausencia de asma: obesos con asma, obesos sin asma, eutróficos con asma, eutróficos sin asma. Se determinó el perfil metabólico de cada uno de los pacientes, medidas antropométricas y los niveles de leptina, adiponectina, eotaxina mediante técnica de ELISA. **Resultados:** Nuestros resultados muestran aumentos en peso e IMC en adolescentes obesos con o sin asma, al ser comparados con los delgados con o sin asma, además observamos que el asma y la obesidad disminuyen los niveles de colesterol HDL al compararse con el grupo control sin asma y sin obesidad. También la presencia de asma disminuye los niveles de triglicéridos en plasma, mientras que la obesidad la incrementa al compararse con el grupo control. Por otra parte los resultados muestran que el asma aumenta las concentraciones séricas de eotaxina y disminuye los niveles de Leptina. **Conclusión:** La eotaxina podría estar participando en el proceso asmático y pudiera ser una citosina importante para el diagnóstico del asma y la obesidad determinando de esta manera diferencias entre ambos procesos de inflamación.

INTRODUCCION

En las últimas décadas los casos de asma y obesidad han aumentado notablemente en diversos países. Esta situación representa un problema de salud pública por la probabilidad de una muerte temprana en un gran número de individuos. La Organización Mundial de la Salud (OMS) incluye a ambos padecimientos dentro de las principales enfermedades crónicas (1)

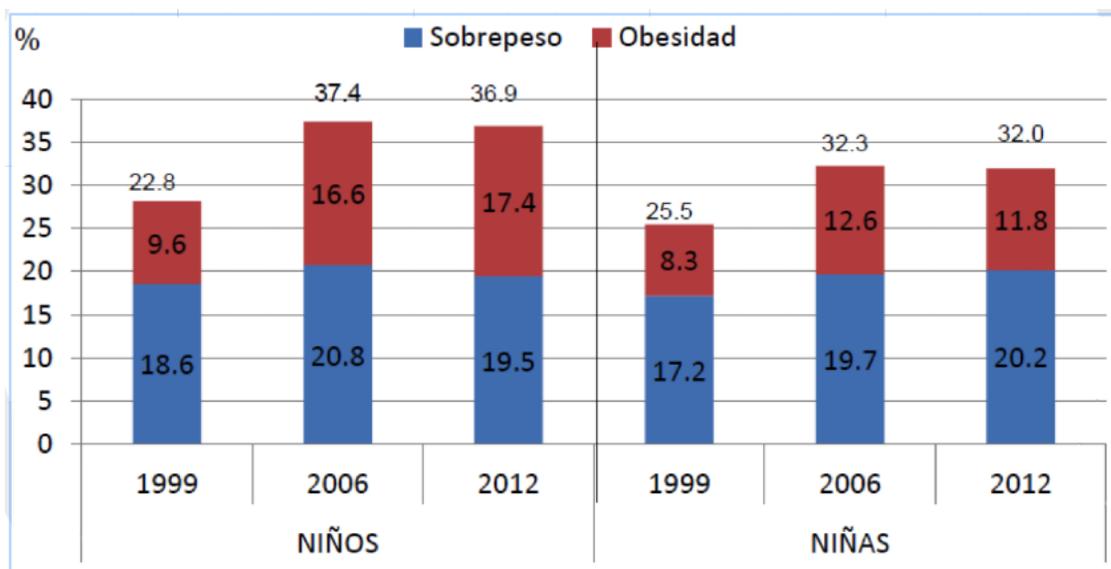
El incremento paralelo en la prevalencia del asma y la obesidad en diversas regiones ha dado origen al postulado de que ambas entidades tienen una relación causal. Aunque esta relación no es del todo clara, probablemente por lo complejo de esta epidemia, ambos padecimientos tienen en común el proceso inflamatorio crónico. (2)

OBESIDAD

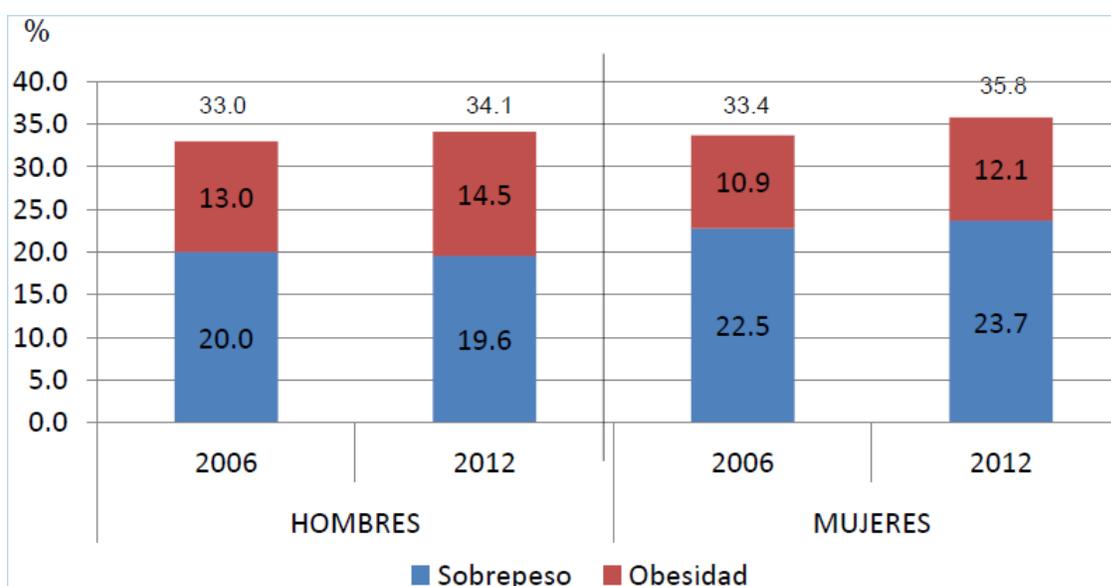
De acuerdo a la OMS, la obesidad se define como un exceso de grasa corporal que puede ser perjudicial para la salud (3). La causa fundamental es un desequilibrio entre el ingreso y el gasto de energía, la cual está estrechamente ligada a un estilo de vida occidental donde hay una disminución de la actividad física y una inadecuada alimentación (4). De acuerdo a la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012 (ENSANUT) con los criterios de la *Internacional Obesity Task Force* (IOTF) en el grupo de 12 a 18 años de edad, los varones presentaron una prevalencia de sobrepeso de 21.2% y de obesidad de 10.0% y las mujeres de 23.3% y 9.2%, respectivamente (5) (Figura 1 y 2).

Para establecer el diagnóstico del sobrepeso y la obesidad en la práctica clínica uno de los índices más accesibles y prácticos, para estimar el exceso de grasa, es el Índice de Masa Corporal (IMC), que es el valor del peso (en kilogramos) dividido entre el cuadrado del valor de la talla (en metros).

La obesidad se está convirtiendo en una epidemia mundial, y en los últimos 10 años ha ocurrido un aumento espectacular en la obesidad tanto en niños y adultos. El comité de expertos para la evaluación, la prevención y el tratamiento del niño y del adolescente con sobrepeso y obesidad recomienda aplicar el IMC en niños de 2 a 18 años de edad (6).



(Figura 1). Grafica de los datos presentados por la ENSANUT 2012 para obesidad y sobrepeso en niños y niñas.



(Figura 2). Grafica de los datos presentados por la ENSANUT 2012 para obesidad y sobrepeso en niños y niñas.

El sobrepeso se define cuando el valor del IMC es \geq al percentil 85 y la obesidad cuando es \geq al percentil 95 para la edad y el sexo (con base a las tablas percentiladas de los CDC), mientras que la obesidad mórbida se establece cuando el IMC es \geq al percentil 99 o en adolescentes, cuando hay un $IMC \geq 35 \text{ kg/m}^2$ (7) (Figura 3).

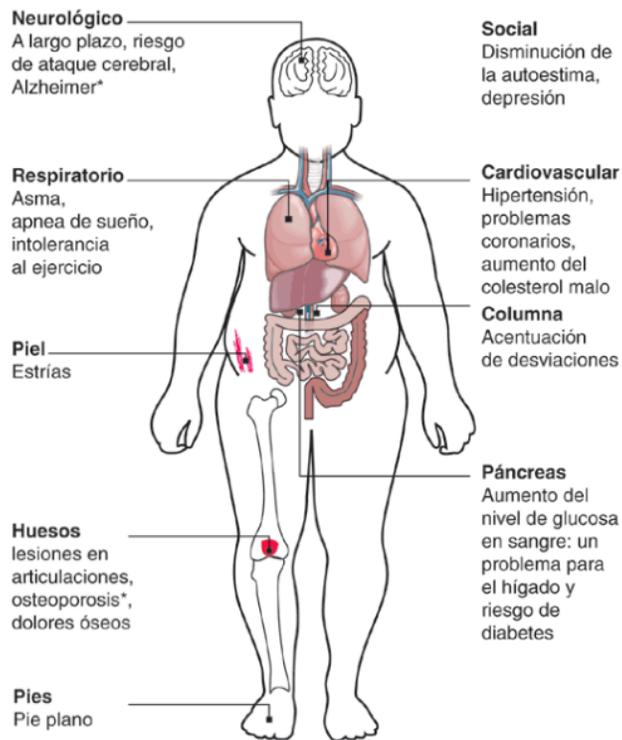


Figura: 4 Complicaciones asociadas a la Obesidad

Debido a que estos eventos están implicados en la fisiopatología de la inflamación de las vías respiratorias e hiperreactividad, es concebible que las alteraciones del metabolismo en los lípidos o glucosa en edades tempranas puedan contribuir a la patogénesis del asma en la infancia (9).

ASMA

El asma es un desorden inflamatorio crónico de las vías aéreas, caracterizada por episodios de obstrucción de las mismas.

Participan muchas células tales como células cebadas, eosinófilos, neutrófilos, linfocitos T, macrófagos y células epiteliales, que originan episodios recurrentes de tos predominantemente nocturnos, sibilancias, dificultad respiratoria y sensación de opresión torácica (10). La frecuencia de asma en niños y adultos también ha aumentado progresivamente. La etiología del asma es multifactorial, genética, epigenética, factores del desarrollo y ambientales juegan un papel importante así como las interacciones entre ellas.

En el mundo se estima que, al menos, de 5% a 10% de la población puede reunir criterios para ser clasificado como asmáticos (11). El estudio internacional para asma y alergias en la infancia describe la prevalencia de asma en 463,801 niños de 13 y 14 años provenientes de 155 centros de colaboración en 56 países, incluyendo México (12).

La prevalencia de asma fue de 1.6 a 30.6% en los diferentes centros. En México se describió una prevalencia de poco más de 5% en 3,102 niños de Cuernavaca, Morelos. Otro estudio en Mérida, Tabasco y Ciudad Victoria en México, se presenta en alto porcentaje de escolares (12%), mientras que en el norte del Distrito Federal se presenta en 9.9% de los adolescentes y en 8.5% de los escolares (13-14).

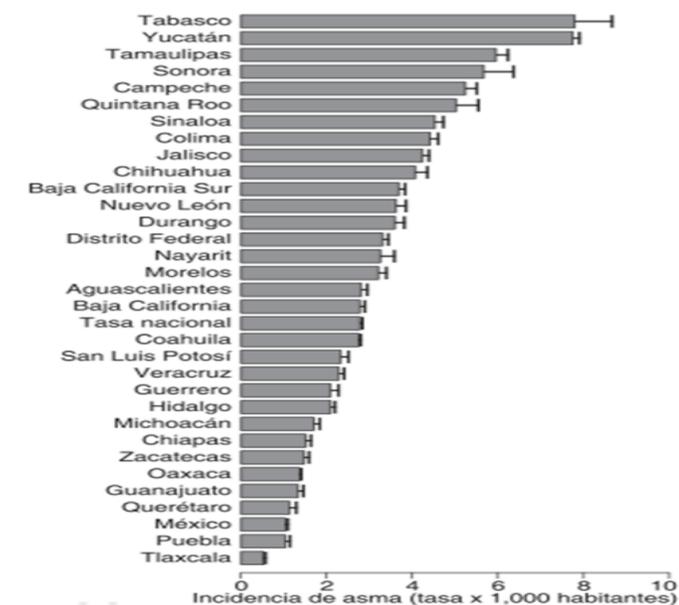


Fig. 2 Incidencia de asma por estado de la República Mexicana

Interrelación entre obesidad y asma

El incremento paralelo en la prevalencia del asma y la obesidad ha dado origen al postulado de que ambas entidades tienen una relación causal (15). En varios estudios transversales se ha encontrado un incremento en la prevalencia del asma en pacientes obesos (16). Estudios prospectivos han demostrado un riesgo mayor en los obesos, que va de 1.1 a 3 veces, para el desarrollo de asma (17-20). Los

estudios que se han llevado a cabo en la población pediátrica son más heterogéneos tanto en términos de fuerza de sus resultados como en la dirección de la relación asma-obesidad. Gold y cols., en 9828 niño(s) entre 6 y 14 años de edad con un seguimiento durante cinco años, reportaron un riesgo 2.2 veces mayor para asma, sobre todo en niñas, con exceso de peso (21). En los obesos se ha observado una relación del fenotipo de asma no alérgico con síntomas más intensos: el mayor uso de medicamentos antiasmáticos y la mala respuesta a antiinflamatorios de tipo esteroides inhalados (22). Los estudios longitudinales demuestran que el desarrollo de la obesidad precede al asma (23-24).

MECANISMOS DE ASOCIACION ENTRE OBESIDAD Y ASMA

Los mecanismos de asociación entre obesidad y asma todavía no están clarificados, sin embargo se ha sugerido la presencia de 5 procesos biológicos implicados en esta relación causal:

- ✓ Efectos de la obesidad sobre la mecánica respiratoria.
 - La alteración más precoz que origina la obesidad, es sobre el volumen de reserva espiratorio. Está relacionado con el volumen de masa corporal y es consecuencia del cierre precoz de las vías aéreas pequeñas. Además, hay múltiples cambios en los flujos y volúmenes respiratorios.
- ✓ Efectos sobre la respuesta inmunológica e inflamatoria.
 - En la actualidad se acepta que la obesidad constituye un estado proinflamatorio, donde el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) se encuentra aumentado igual que en los asmáticos, relacionado a su vez con la síntesis de interleucina 4 (IL-4), interleucina 5 (IL-5) y de linfocitos T cooperadores del epitelio bronquial.
- ✓ Influencia del componente genético.
 - Se han identificado regiones específicas del genoma humano que están relacionadas tanto con el asma como con la obesidad, como por ejemplo, los cromosomas 5q, 6, 11q13 y 12q10.
- ✓ Influencia hormonal y del género.

- El efecto de la obesidad sobre el asma se da más en mujeres que entre hombres. Sobre todo en mujeres con menarca temprana.
- ✓ Otros factores implicados.
 - Como la dieta, la actividad física y la “programación fetal”, ya que se ha encontrado una estrecha relación entre el peso al nacimiento (con independencia de la edad gestacional) y el riesgo de asma.

La fisiopatología de obesidad no se ha comprendido con claridad puesto que los procesos biológicos implicados son muy complejos e involucran gran cantidad de mensajeros químicos y receptores, así como una complicada interacción entre diferentes tipos celulares. Sin embargo, el indiscutible protagonista en este proceso fisiopatológico es el tejido adiposo (25) y en particular el adipocito (26). Múltiples estudios demuestran que el adipocito produce más de 600 mensajeros químicos con acciones locales y sistémicas denominados adipocinas, tal como la eotaxina(27).

FUNCION DE DIVERSOS BIOMARCADORES INFLAMATORIOS	
Biomarcador	Función
Eotaxina	Reclutadora de eosinófilos y linfocitos TH2
TNF-alfa	Citocina mediadora de la respuesta inmune e inflamatoria
IL-6, IL-18	Citocinas proinflamatorias
PAI-I	Factor Protrombótico
Leptina	Reduce el apetito, incrementa el gasto energético y disminuye la eficiencia metabólica
Resistina	Citocina proinflamatoria con propiedades aterogénicas. Estimula la síntesis y secreción de otras citosinas proinflamatorias.
TGF-beta	Regulación de crecimiento y diferenciación de diversos tipos celulares. Induce la síntesis de PAI-I en tejido adiposo
Vaspina	Adipocina relacionada con el aumento en la sensibilidad a la insulina
Visfatina	Adipocina que mejora la sensibilidad a la insulina y favorece el depósito de grasa visceral

- **Tabla 1.** Función de diversos biomarcadores inflamatorios involucrados en obesidad y asma

-

Recientemente las vías inmunológicas llaman más atención porque los experimentos en animales han confirmado el mecanismo inmunológico e inflamatorio en ratones (28). Cada vez hay más evidencia de que la obesidad es un estado proinflamatorio.

Eotaxina en obesidad y asma

Los eosinófilos son células que participan en enfermedades parasitarias y alérgicas (29). En el caso de enfermedades respiratorias alérgicas se ha demostrado que estas células infiltran las vías aéreas de pacientes alérgicos. Se ha propuesto que una vez que los eosinófilos han migrado al sitio de inflamación, estas células contribuyen al proceso inflamatorio a través de la liberación de proteasas tóxicas (proteína básica mayor, proteína catiónica eosinofílica), mediadores de la inflamación (leucotrienos) y radicales de oxígeno (30).

El proceso de reclutamiento de los eosinófilos desde la circulación sanguínea involucra una serie de procesos separados, primero una adhesión al endotelio y migración transendotelial que son dependientes de la expresión de moléculas de adhesión, y posteriormente migración a través de la matriz extracelular hacia el sitio de inflamación alérgica dependiente de estímulos quimotácticos. Las quimocinas son citocinas quimotácticas que juegan un papel central en la respuesta inmune e inflamatoria debido a la atracción y activación de los leucocitos, a través de receptores transmembranales acoplados a proteínas G (31-32). Las quimocinas se dividen en cuatro familias (CXCL, CCL, CL y CX₃CL) en base a la posición de uno o dos residuos de cisteína localizados cerca del amino terminal. En la familia de las quimocinas CXCL los dos residuos de cisteína se encuentran separados por un aminoácido, mientras que en las CCL, los dos residuos de cisteína se encuentran adyacentes. Las quimocinas CL poseen un solo residuo de cisteína mientras que la familia CX₃CL posee tres aminoácidos

entre las dos cisteínas(33). Dentro de la familia CCL, se encuentran tres péptidos con actividad quimotáctica específica para eosinófilos conocidas como eotaxina-1, eotaxina-2 y eotaxina-3. De acuerdo a la nueva nomenclatura de las quimocinas, estas citocinas se clasificaron como CCL11 (eotaxina-1), CCL24 (eotaxina-2) y CCL26 (eotaxina-3). Por su acción específica sobre los eosinófilos, se ha propuesto que las eotaxinas pueden jugar un papel muy importante en el proceso inflamatorio alérgico (34).

Caracterización de las eotaxinas

El desarrollo de nuevas técnicas de biología molecular así como el acceso a la tecnología bioinformática permitió el descubrimiento de la mayoría de las eotaxinas. La eotaxina-1/CCL11 fue aislada en 1994 en los lavados broncoalveolares (LBA) de cobayos alérgicos expuestos a reto alérgico (33-34). Interesantemente, la presencia de esta citocina en el LBA se encontró asociada con la infiltración de eosinófilos presentes en la vía aérea de cobayos. En 1996 se describió el gen que codifica para la eotaxina-1/CCL11 humana. Se encontró que la eotaxina-1/CCL11 humana tiene 58% de homología con la eotaxina-1/CCL11 de cobayos (35). Los efectos *in vitro* de la eotaxina-1/CCL11 sobre los eosinófilos incluye quimotaxis, migración transendotelial, inducción y liberación de especies reactivas de oxígeno, inducción de la movilización de Ca^{2+} , polimerización de actina, alta regulación de CD11b, degranulación y liberación de IL-4 y LTC4 sintetasa (36-37). Además se ha propuesto que la eotaxina-1/CCL11 coopera con la IL-5 para reclutar eosinófilos al sitio de inflamación: IL-5 estimula la liberación y diferenciación de los eosinófilos en la médula ósea, entre tanto la eotaxina-1/CCL11 dirige la migración de estas células circulantes a su destino local (38). Por otro lado, además de atraer eosinófilos, la eotaxina-1/CCL11 ejerce actividad quimotáctica para basófilos y linfocitos Th2 (39). La administración de agentes que neutralizan el efecto de eotaxina-1/CCL11 a ratones sensibilizados, inhibe significativamente el reclutamiento de eosinófilos en el área de inflamación

alérgica. De manera interesante, nuestro grupo ha demostrado que IL-4 en combinación con TNF-alfa induce la producción de varias formas truncadas de eotaxina-1/ CCL11 con pesos moleculares de 12.5, 12.8 y 13 kd (40).

La eotaxina-2/CCL24 fue identificada en 1997 a partir del ADNc derivado de monocitos humanos activados. 15 Debido a la actividad inhibitoria sobre la proliferación mieloide, se le denominó a esta quimocina factor-2 inhibidor de progenitor mieloide (MPIF-2); sin embargo, pocos meses después dos grupos independientes demostraron que esta quimocina posee una potente actividad quimotáctica para eosinófilos y fue llamada entonces eotaxina-2/CCL24 (41). El gen que codifica para esta citocina está localizado en el cromosoma 7q11.23. Eotaxina-2 y eotaxina-1 son funcionalmente similares, pero son estructuralmente diferentes; únicamente existe entre ellas un 35% de identidad a nivel de su secuencia de aminoácidos y difieren completamente en la región amino terminal (42). Los efectos *in vitro* de la eotaxina-2/CCL24 sobre los eosinófilos incluye quimotaxis, migración transendotelial y un rápido incremento en el flujo de Ca^{+2} . Además, activan a los basófilos induciendo la liberación de histamina y LTC₄. Una característica de la eotaxina-2/CCL24 es su habilidad para inducir la rápida separación de la molécula de adhesión VCAM-1 de los eosinófilos, lo cual aumenta la adhesión de estas células a la albúmina sérica bovina en condiciones estáticas como de flujo (43). Se ha encontrado que el reto pulmonar alérgico a ratones sensibilizados induce un incremento de la expresión de eotaxina-2/CCL24 localmente. Además la sobreexpresión transgénica de IL-4 en pulmón induce la expresión de esta citosina (44).

Tipos de Eotaxina

	Nombre Sistemático	Localización Cromosomal	Producida por:	Células Reclutadas
Eotaxina	CCL11	17q 21.1–21.2	Fibroblastos Pulmonares, células músculo liso, endoteliales, eosinófilos, linfocitos,	Eosinófilos Linfocitos Th2 Basófilos Timocitos
Eotaxina-2 (MPIF-2)	CCL24	7q11.23	Células del epitelio nasal, células epitelio cutáneo.	Eosinófilos Basófilos.

La eotaxina-3/CCL26 fue identificada simultáneamente por dos grupos independientes, encontrando 32 y 34% de identidad en su estructura química con eotaxina-1 y eotaxina-2 respectivamente (45). Esta citocina se encuentra constitutivamente expresada en corazón y ovario. Los efectos de la eotaxina-3/CCL26 sobre los eosinófilos incluyen quimotaxis, trans migración celular y movilización del flujo de Ca⁺². Además tiene la habilidad de activar a los basófilos; sin embargo, eotaxina-3/CCL26 es 10 veces menos potente que las otras dos eotaxinas. Por otro lado, la eotaxina-3/CCL26 muestra diferencias en su perfil de expresión y especificidad celular en comparación con eotaxina-1 y -2. Por ejemplo, las citocinas IL-4 y TNF- α inducen la expresión de eotaxina-1/CCL26 en fibroblastos dérmicos (46). En cambio, aunque IL-4 estimula a estas células a expresar eotaxina-3, TNF- α no tiene este efecto.

Señalización de la eotaxina

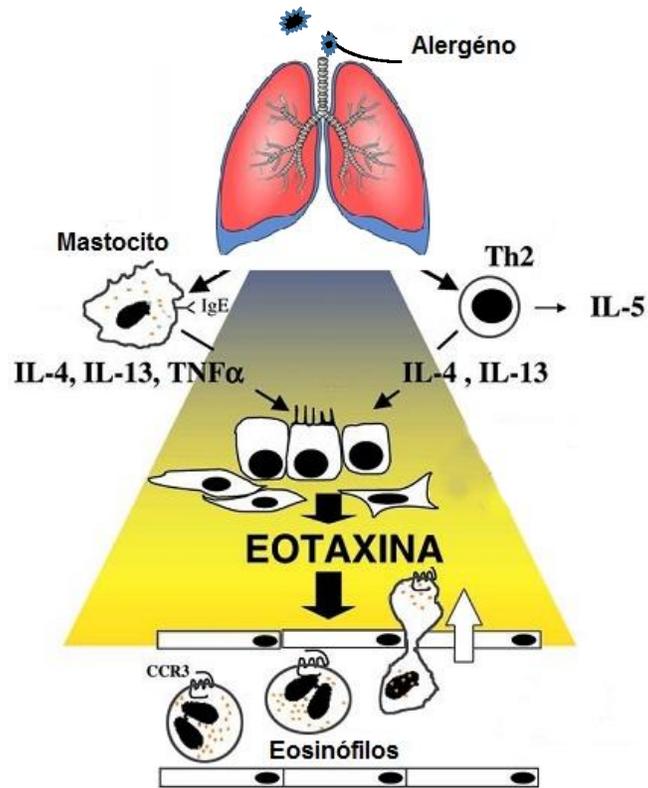


Fig. 3 Esquema que muestra la vía de señalización de la eotaxina

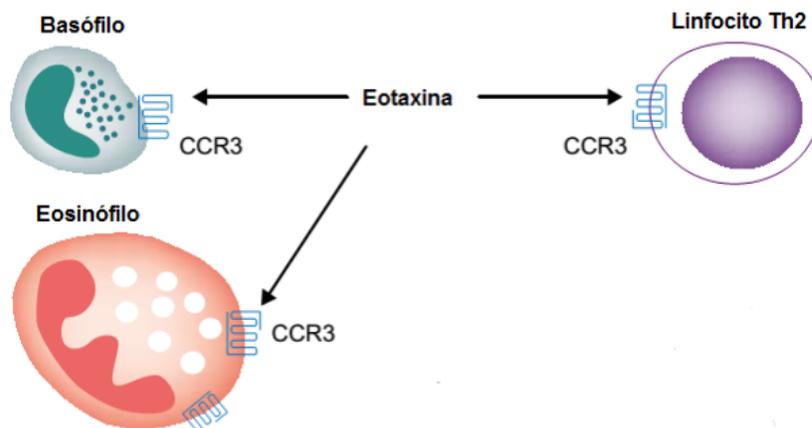


Fig 4 Esquema que muestra el receptores en las diferentes celulas blanco.
(Modificada de Current Opinion in Pharmacology)

Eotaxinas en asma

El asma es una enfermedad inflamatoria crónica de las vías aéreas, asociada a obstrucción variable del flujo aéreo generalmente reversible, de manera espontánea o con tratamiento, y a un incremento en la reactividad de las vías aéreas a una variedad de estímulos. Una característica de esta enfermedad es la infiltración de las paredes bronquiales por células inflamatorias, incluyendo linfocitos T CD4+, mastocitos y eosinófilos (47). Se ha propuesto que los eosinófilos juegan un papel central en la patogénesis de esta enfermedad aunque recientemente se ha cuestionado su importancia (48). Por ejemplo, se ha observado un incremento de eosinófilos en suero, LBA y biopsias de pacientes asmáticos y además, la exposición de estos pacientes a reto alérgico incrementa todavía más el número de eosinófilos en sus vías aéreas. Se ha propuesto que los eosinófilos contribuyen a la hiperreactividad bronquial en personas asmáticas a través de la liberación de proteasas, mediadores lipídicos y radicales de oxígeno.

Durante la última década, se han descrito un número importante de factores quimotácticos que podrían contribuir al reclutamiento de eosinófilos en la enfermedad respiratoria alérgica. Por ejemplo: IL-3, GM-CSF (Factor Estimulante de las Colonias-Granulocito Macrófagos) e IL-5 que promueven la diferenciación y crecimiento de los eosinófilos, sin embargo, tienen propiedades quimotácticas muy débiles. Por otro lado, moléculas pequeñas tal como el Factor activador de las plaquetas y la fracción C5a del complemento son potentes pero no selectivos, ya que también atraen neutrófilos. Miembros de la familia de las quimocinas como RANTES/CCL5, MCP-3/CCL7 y MCP-4/ CCL13 tienen actividad quimotáctica muy potente sobre los eosinófilos, sin embargo, atraen otros tipos celulares como los monocitos y linfocitos. A diferencia de las moléculas antes mencionadas las eotaxinas poseen actividad quimotáctica selectiva para los eosinófilos.

La eotaxina-1/CCL11 ha sido estudiada en numerosos modelos animales de asma. Por ejemplo, se ha observado que ratones expuestos a alérgenos expresan niveles elevados del gen que codifica para esta citocina de tres a seis horas posterior al reto. Interesantemente, la administración de eotaxina-1/CCL11 en aerosol induce un flujo de eosinófilos en las vías aéreas de ratones. En cambio ratones deficientes en eotaxina-1/CCL11 no sólo muestran una disminución del reclutamiento de eosinófilos sino que también están protegidos de cambios inflamatorios inducidos por el reto alérgico.²⁶ Por otro lado, se ha demostrado que la eotaxina-1/CCL11 juega un papel importante en la alergia gastrointestinal eosinofílica (49).

En humanos, se ha demostrado que la eotaxina-1/CCL11 está involucrada en enfermedades respiratorias alérgicas tales como asma bronquial y rinitis alérgica. Un incremento del gen que codifica a la eotaxina-1/CCL11 ha sido encontrado en biopsias bronquiales, LBA, esputo y en suero derivado de pacientes asmáticos (50). Además, la expresión de esta citocina se incrementa aún más en las vías aéreas de pacientes asmáticos expuestos a reto alérgico. Estudios sobre la cinética de liberación de eotaxina-1/CCL11 han mostrado que posterior al reto alérgico los niveles de eotaxina-1/CCL11 alcanzan concentraciones máximas a las 4 horas y declinan a las 24 horas (51), mientras que IL-5 tiene una cinética de liberación diferente: posterior al reto alérgico, los niveles de IL-5 se incrementan gradualmente en LBA alcanzando su máximo a las 24 horas (52), lo cual sugiere que las eotaxinas inician el reclutamiento de eosinófilos, mientras que la IL-5 mantiene la migración de estas células en el pulmón. Estudios en animales han demostrado que ambas citocinas cooperan en el proceso de reclutamiento de eosinófilos en el sitio de la inflamación alérgica (53).

Existe evidencia de que la eotaxina-2/CCL24 juega un papel prominente en el proceso inflamatorio alérgico. Ying y cols., encontraron aumentada la expresión de eotaxina-2/CCL24 en biopsias de piel obtenidas durante la fase tardía de la respuesta cutánea inducida por alérgenos, así como en biopsias bronquiales derivadas de asmáticos atópicos y no atópicos (54).

Eotaxina en obesidad

Hasta el momento, no existe una relación específica que justifica la asociación entre esta citosina con la obesidad, sin embargo en los procesos inflamatorios como el asma esta tiene una asociación sobre las vías aéreas como ya se mencionaron en anterioridad. Así mismo como la obesidad es un estado inflamatorio, el tejido adiposo es una fuente de citocinas proinflamatorias tales como TNF α , IL-1 e IL-6 las cuales se ha demostrado su incremento en la respuesta inflamatoria del asma. La pérdida de peso mediada por grasa, particularmente tejido adiposo visceral, con la concomitante reducción de leucocitos en el tejido adiposo visceral, puede conducir a una disminución de la translocación de adipocitocinas/quimiocinas como la eotaxina a sitios potenciales de inflamación, lo que contribuye a la mejora de los síntomas del asma en individuos susceptibles. La elucidación de estos mecanismos moleculares que vinculan la obesidad con el asma puede allanar el camino para nuevas terapias en personas con estas condiciones.

Leptina y adiponectina en obesidad y asma

LEPTINA

La leptina es una es una hormona producida en su mayoría por los adipocitos (células grasas) aunque también se expresa en el hipotálamo, el ovario y la placenta. Su denominación procede del griego “*leptos*”, (delgado), es un péptido que circula en la sangre y actúa en el sistema nervioso central, regulando la conducta alimentaria y el balance energético.

La leptina promueve la reducción de la ingesta energética por medio de la señal de saciedad en el cerebro (55). La hormona estimula el “lipostato hipotalámico” enviando una señal de que existe tejido adiposo suficiente, provocando, por lo tanto, reducción en la ingesta de alimentos y aumento en el gasto energético (56).

La leptina pasa por la barrera hematoencefálica por medio del transporte saturado, y presenta efecto central más pronunciado, subsecuente a la interacción con los receptores de las neuronas del hipotálamo y de otras regiones del cerebro. También existen receptores en tejidos periféricos, entre ellos el páncreas y los tejidos adiposos blanco y marrón, los cuales sufren los efectos directos de la hormona.

Los estudios realizados con ratones ob/ob confirmaron que la leptina promueve la reducción de la ingesta de alimentos y el aumento del gasto energético (57). Los ratones ob/ob son caracterizados por la presencia de múltiples alteraciones en los parámetros metabólicos (58), incluyendo obesidad, hiperfagia, disminución de la termogénesis, aumento de la grasa corporal total (GCT) y hiperglicemia (59).

La leptina, por medio de señalización en nivel hipotalámico, también favorece la lipólisis en el tejido adiposo conduciendo los nutrientes para el músculo, resultando en balance energético positivo y reducción de la adiposidad. Además, la hormona atenúa la respuesta de los adipocitos a la insulina y la inhibición directa de la secreción de insulina por las células beta del páncreas (60).

La leptina se encuentra relacionada con la regulación del metabolismo energético y de la composición corporal, estando directamente relacionada con la GCT, proviendo informaciones al SNC sobre la cantidad de energía almacenada en el tejido adiposo (61). Solamente la GCT no puede ser el único determinante de las concentraciones séricas de leptina (62). Una imperfección en la producción de leptina, en el tejido adiposo, o una resistencia a su acción en el SNC, puede resultar en aumento del peso corporal y de la obesidad (63).

Si la resistencia a la leptina es considerada la causa de la obesidad, las concentraciones de esta hormona podrían estar aumentadas en individuos con predisposición a la obesidad, pero no en individuos normales (64).

Según Arch y cols. (1998), la leptina puede estar elevada en la obesidad, no solamente por la resistencia a la hormona, pero también por las altas cantidades de grasa corporal (64). HO y cols. (1999) sugieren que el aumento de las concentraciones de leptina estén relacionadas con la cantidad de GCT, debido a la disminución de la sensibilidad a esta hormona, o sea, a su resistencia (63).

Leptina en asma

Sood (2006) (65) sugiere en su estudio, que las concentraciones séricas de leptina más altas se asocian con el asma actual en adultos y que la relación puede ser más fuerte en las mujeres que en los hombres. Este estudio también demuestra tres facetas interesantes de esta relación. En primer lugar, la asociación entre las concentraciones de leptina y el asma actual pareció más fuerte en las mujeres premenopáusicas que en las posmenopáusicas. En segundo lugar, el ajuste de las dos medidas antropométricas comúnmente utilizadas de la obesidad (IMC y grosor del pliegue cutáneo del tríceps) arrojó resultados diferentes. El IMC puede confundir la asociación entre la leptina y el asma, haciendo que la asociación parezca más grande de lo que realmente es cierto. Por otra parte, el ajuste para el grosor del pliegue cutáneo tricípital no explica la asociación de la leptina con el asma o bien, que persiste y se hace más grande después de ajustar por los pliegues cutáneos. La razón de esta diferencia no está clara. Finalmente, mientras que el IMC se asoció con el asma actual en las mujeres, esta asociación no se vio muy afectada por el ajuste de las concentraciones séricas de leptina. Esto sugiere que el efecto del IMC en el asma no está mediado por la vía de la leptina sola y probablemente involucre otras vías mecánicas.

El efecto de la leptina sobre el desarrollo pulmonar y la fisiología no se conoce bien, aunque los receptores de leptina están presentes en altas concentraciones en acinos de pulmones de animales adultos y fetales (66) Se cree que la leptina desempeña un papel en el desarrollo intrauterino, neonatal y postnatal del pulmón murino. Además, algunos datos sugieren que las concentraciones de leptina aumentan de manera aguda durante la inflamación y, a su vez, la promueven. El apoyo para esto proviene de experimentos que muestran un aumento rápido dependiente de la dosis en los niveles de leptina sérica y la leptina La expresión de ARNm en el tejido adiposo de ratones después de la administración de citocinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral α (TNF- α) e interleucina (IL) -1,30, así como la demostración de un aumento de TNF- α en suero, IL-6 y niveles de IL-12 y aumento de la fagocitosis por los macrófagos en la administración exógena de leptina.⁴⁵ En ratones de tipo salvaje, la administración

de leptina exógena aumenta la inflamación de las vías respiratorias inducida por el ozono. 3 En humanos, las concentraciones mejoradas de leptina están relacionadas con el receptor soluble de TNF (sTNF-R) , un marcador de estado proinflamatorio en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica. Guler et al (67) encontraron que las concentraciones medias de leptina en suero especialmente en niños, fueron significativamente más altos en aquellos con asma que en controles sanos (3.53 v 2.26 ng / ml, $p = 0.01$) a pesar de que no hubo diferencias en los niveles de IMC. En un estudio que incluyó niños con muy bajo peso al nacer y posteriormente con sobrepeso, Mai et al. (68) demostraron que los asmáticos actuales tenían una mediana de dos veces más altas que los niños sin asma (30.8 contra 14.3 ng / ml, $p = 0.14$), pero esto no fue el caso en niños sin sobrepeso. En conjunto, los estudios previos sugieren que la leptina podría desempeñar un papel importante en la fisiopatología del asma.

ADIPONECTINA

Esta hormona peptídica se produce principalmente en el tejido adiposo, junto a sus propiedades de sensibilización a la insulina, anti-aterogénicas y anti-inflamatorias, desarrolla, al igual que la leptina, actividad anti-esteatósica en tejidos no adiposos. Este efecto se realiza mediante mecanismos semejantes a los descritos para la leptina, pero a diferencia de esta hormona la trasducción de señal se realiza a través de receptores heptahelicoidales. La adiponectina, induce la fosforilación y activación de AMPK e incrementa la velocidad de oxidación de los AG, a través de cuyo efecto estimula la sensibilidad a la insulina. También motiva disminución de la concentración de TAG en plasma, tejido muscular e hígado. La síntesis y secreción de adiponectina disminuye cuando aumenta la adiposidad. En adultos obesos, se ha comprobado que la concentración plasmática de adiponectina mantiene relación

inversa con el índice de masa corporal, (IMC), con la concentración de insulina y con la concentración sérica de TAG; mientras que guarda relación positiva con el colesterol asociado a las HDL circulantes.

La hipoadiponectinemia se asocia con la incidencia del SM, diabetes tipo 2 hipertensión, dislipemia, hígado graso y ataque isquémico cardiaco. La concentración de adiponectina es inversamente proporcional a la gravedad de la estenosis coronaria. Una característica del SM es la elevación de la concentración de leptina en el plasma mientras que la adiponectina se mantiene en niveles inferiores a los considerados normales. En estas condiciones es alto el riesgo de enfermedades cardiovasculares. Investigaciones con modelos animales y estudios en poblaciones humanas han demostrado que la adiponectina favorece la sensibilidad a la insulina y tiende a normalizar la concentración de lípidos en plasma, efectos que disminuyen el riesgo de enfermedades cardiovasculares.

La adiponectina regula las funciones celulares a través de la activación de sus receptores específicos denominados AdipoR1 y AdipoR2. El primero es una proteína de 374 aminoácidos con una masa molecular de 42.2 kDa, es expresado abundantemente en músculo esquelético y tiene alta afinidad por el dominio globular de adiponectina y baja por la HMWAd. Por su parte, AdipoR2 tiene 311 aminoácidos, pesa 35.4 kDa, se encuentra principalmente en el hígado y tiene afinidad intermedia por el fragmento globular y la fracción HMWAd.²⁶ Cuando la adiponectina se une a sus receptores, activa a AMPK (cinasa dependiente de AMP) y a PPAR- (receptor activado por proliferadores peroxisomales).

Diversos estudios han encontrado una asociación entre niveles bajos de adiponectina y la presencia de obesidad, factores de riesgo para síndrome metabólico, diabetes mellitus tipo 2 y enfermedad cardiovascular. También se ha encontrado una fuerte correlación negativa entre el nivel circulante de adiponectina y la resistencia a la acción de la insulina, tanto en humanos como en modelos animales (69). Al administrarles adiponectina a animales con bajos niveles circulantes de ésta, aumentó la oxidación de ácidos grasos y la sensibilidad a la insulina con la consecuente disminución de glucosa y peso corporal. En ratones knock-out incapaces de producir adiponectina, se observó resistencia a la insulina, intolerancia a la glucosa, dislipidemia, hipertensión arterial, disminución de proteínas transportadoras de ácidos grasos y aumento de TNF- α

adipocitario (70). Por el contrario, con la sobreexpresión del fragmento globular de adiponectina mejora su respuesta insulínica. Ello, ha resaltado el papel positivo de la adiponectina para evitar o disminuir el riesgo de padecer síndrome metabólico.²¹ Exceso de tejido adiposo y distribución anatómica. La acumulación de tejido adiposo junto con su distribución visceral son factores que aumentan el riesgo de complicaciones asociadas a la obesidad (71). El índice cintura-cadera es un indicador útil para evaluar el riesgo metabólico incluso en niños y adolescentes mexicanos y diversos estudios han encontrado que a mayor grasa visceral o peritoneal existen menores concentraciones de adiponectina total (72).

Adiponectina en asma

La adiponectina tiene propiedades antiaterogénicas, antidiabéticas y antiinflamatorias, y se encuentra reducida en el suero de sujetos obesos. Al igual que todos sus receptores (adipoR1, adipoR2, cadherina-t), se expresa en diversas células pulmonares (73).

En algunos estudios se ha observado que enfermedades, además de la obesidad, como el síndrome metabólico y la diabetes mellitus tipo 2, que tienen niveles reducidos de adiponectina, también presentan alteraciones de la función pulmonar (74). THyagarajan y cols (2010) observaron en más de 2.000 sujetos seguidos durante 20 años concentraciones séricas reducidas de adiponectina asociadas con afectación de la función pulmonar, lo cual pareciera ser independiente de la presencia de obesidad. Además de la presencia de inflamación sistémica crónica, se ha postulado el aumento de la inflamación en las vías aéreas de sujetos obesos. En pacientes asmáticos se ha encontrado niveles incrementados de isoprostanos y otros marcadores de estrés oxidativo en suero y a nivel pulmonar, lo cual podría explicar en parte la relación entre la obesidad y el asma. Inversamente, se ha observado un incremento sérico y en el tejido adiposo de los niveles de leptina, adiponectina y cd-68 (un marcador de macrófagos) y su disminución en el lavado broncoalveolar (Bal) de obesos asmáticos (75).

En un amplio estudio de corte transversal basado en la comunidad de sujetos con asma, Sood et al. mostró que la adiponectina total sérica elevada se asoció con una enfermedad activa más frecuente (incluido el uso más frecuente de cualquier medicación para el asma) y una mayor cantidad de síntomas respiratorios y asmáticos entre los hombres con asma, pero efectos beneficiosos entre las mujeres con asma, con interacciones significativas sexuales específicas (65). Estos hallazgos en mujeres fueron consistentes con los de otro pequeño estudio de mujeres posmenopáusicas con asma que mostraron que la adiponectina total sérica alta se asoció con una gravedad clínica más leve (valores medios de 16,6 ng / ml en asma leve a moderada versus 9,8 ng). / mL en asma severo). De manera similar, entre las niñas obesas pospúberes que experimentaron pérdida de peso, un modesto aumento del 28% en la adiponectina total sérica inicial se asoció con un aumento en los parámetros espirométricos y la reducción de la gravedad del asma en sujetos con asma; sin embargo, este análisis se vio limitado por un ajuste inadecuado del efecto confuncional de la disminución en el IMC (76). A diferencia de las medidas clínicas y de la función pulmonar, no se ha demostrado que los biomarcadores inflamatorios pulmonares estén asociados con la adiponectina (en suero o en el líquido de lavado broncoalveolar) (77).

Estudios han demostrado que las exacerbaciones agudas de asma se traducen en una disminución transitoria de las concentraciones séricas de adiponectina, similares a las reducciones observadas en ratones expuestos a alérgenos (78), mientras que la broncoprovocación de la exposición experimental a alérgenos inhalados no afecta la concentración de adiponectina en suero. Se cree que la hipoxia del tejido adiposo es fundamental para la inflamación del tejido adiposo relacionado con la obesidad (79), y es probable que durante las exacerbaciones asmáticas graves, la falta de ventilación y la hipoxemia empeoren la hipoxia del tejido adiposo y disminuyan la expresión de adiponectina. Alternativamente, el derrame sistémico de restos inflamatorios derivados del pulmón podría afectar la expresión génica de los adipocitos, como se discutió anteriormente. Si bien este derrame puede no ser significativo en el asma estable o en la exacerbación

asmática transitoria, puede manifestarse en asma mal controlada en sujetos con obesidad mórbida o durante una exacerbación aguda del asma aguda (80).

JUSTIFICACIÓN

En México el sobrepeso y la obesidad en adolescentes representa entre el 28 y 30% del total, esto significa que uno de cada tres adolescentes aproximadamente tiene sobrepeso u obesidad. Durante los últimos años, un número transversal de casos y controles, y estudios propuestos han mostrado una asociación entre la obesidad y el asma, sin embargo, los mecanismos de esta vinculación no están definidos.

OBJETIVO GENERAL

Evaluación de las concentraciones séricas de leptina, adiponectina, y eotaxina en los adolescentes obesos con/sin asma y los eutróficos con/sin asma.

Objetivo Particular:

1. Comparar el perfil metabólico en los eutróficos con/sin asma y los adolescentes obesos con/sin asma.
2. Comparar la concentración en suero de eotaxina en los eutróficos con/sin asma y los adolescentes obesos con/sin asma.
3. Evaluar la asociación de eotaxina con el perfil metabólico y las variables antropométricas.
4. Comparar las concentraciones en suero de leptina y adiponectina en los eutróficos con/sin asma y los adolescentes obesos con/sin asma.
5. Evaluar la asociación de leptina y adiponectina con el perfil metabólico y las variables antropométricas.
6. Evaluar la asociación entre adipocinas y eotaxina.

HIPÓTESIS

Los adolescentes obesos y asmáticos presentan niveles aumentados de leptina y eotaxina, disminución en la adiponectina en comparación con los eutróficos con y sin asma.

METODOLOGÍA

Este trabajo es un estudio transversal comparativo en el cual se formaron cuatro grupos de adolescentes, en base a su IMC y a su patología respiratoria (con asma y sin asma): 1) obesos con IMC \geq 95 percentil con asma intermitente o leve persistente; 2) obesos sin asma; 3) asma sin obesidad; y 4) eutróficos sanos.

Los adolescentes fueron reclutados de la Clínica de Obesidad, Alergia del Hospital Infantil de México Federico Gómez. A los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión se les invitó a participar en el protocolo. Una vez firmada la hoja de asentimiento y consentimiento se les realizó una historia clínica completa, se determinaron sus medidas antropométricas peso, talla, IMC.

Mediante el servicio de Alergia e Inmunología Clínica del Hospital Infantil de México Federico Gómez, se obtuvieron 5 ml de sangre periférica para cuantificar perfil de lípidos, glicemia, insulina en ayunas, los niveles circulantes de leptina, adiponectina y eotaxina mediante ELISA.

Criterios de selección de pacientes

Criterios de Inclusión

- Firmar el consentimiento informado y el asentimiento informado
- Pacientes adolescentes de cualquier sexo, de entre 11 a 17 años de edad.
- Obesos (IMC \geq percentil 95) y no obesos
- Asmáticos con gravedad intermitente y leve persistente (de acuerdo a la clasificación de GINA)

Criterios de Exclusión:

- Pacientes que tomen medicamentos para retraso mental o retraso en el desarrollo psicomotor, ya que estos pueden afectar los resultados de los marcadores inflamatorios.
- Pacientes que tomen medicamentos anticomiciales, ya que pueden afectar los resultados de los marcadores inflamatorios.

- Pacientes con otras enfermedades pulmonares (fibrosis quística, displasia broncopulmonar, tuberculosis pulmonar) y pacientes con cardiopatías, ya que son diagnósticos diferenciales de asma.
- Hipertrigliceridemia familiar (TG mayor de 300 mg/dl e historia familiar de esta) e hipercolesterolemia familiar.
- Asma no controlada clasificada de acuerdo a GINA 2006.
- Infecciones respiratorias en las cuatro semanas previas.
- Pacientes que se encuentren bajo tratamiento de control de peso con medicamentos, los cuales pueden afectar los marcadores inflamatorios y las adipocinas.

DISEÑO DE PROTOCOLO

A los pacientes seleccionados se les realizó una historia clínica completa, determinación de medidas antropométrica (peso, talla, IMC).

Con base a su IMC y a su patología respiratoria (con asma y sin asma) se agruparon los pacientes en cuatro diferentes categorías:

- 1) Obesos con asma (OCA, n=16)
- 2) Obesos sin asma (OSA, n=18)
- 3) Asma sin obesidad (ECA, n=24)
- 4) Eutróficos sanos (ESA, n=24)

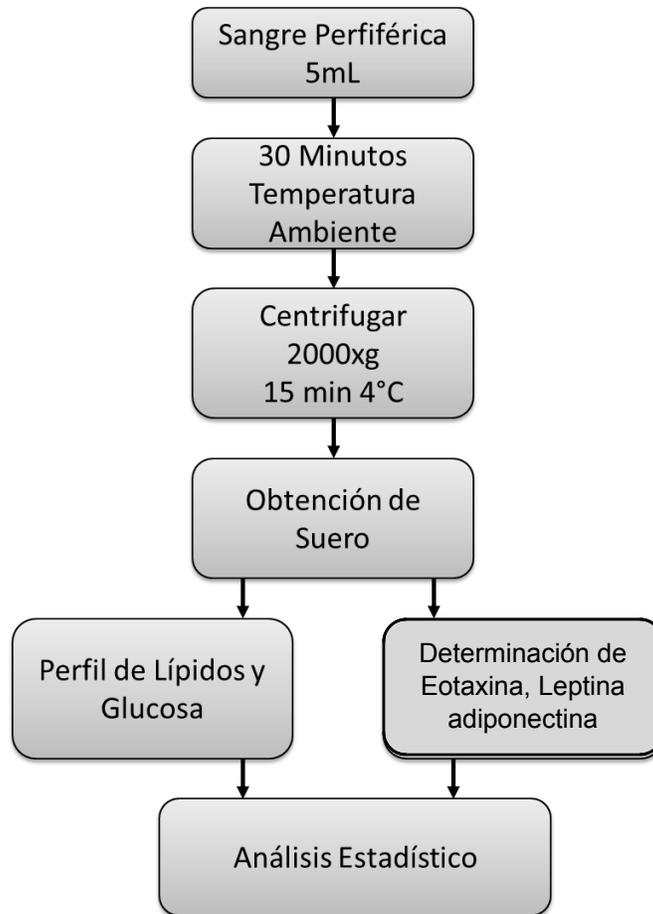


Descripción Operativa



Procedimiento de Toma de Muestra

Se le realizó a cada sujeto de estudio, con ayuno previo de entre 8 a 10 horas, una toma de 5 mL de sangre periférica. Las muestras permanecieron a temperatura ambiente por 30 minutos, después se centrifugaron a 2,000 x g por 15 minutos a 4°C. El suero obtenido se transfirió en tubos Eppendorf y se almacenaron a -70°C en un ultracongelador. Posteriormente se determinó el perfil de lípidos y glucosa y mediante ensayos de ELISA la concentración de eotaxina, leptina y adiponectina.

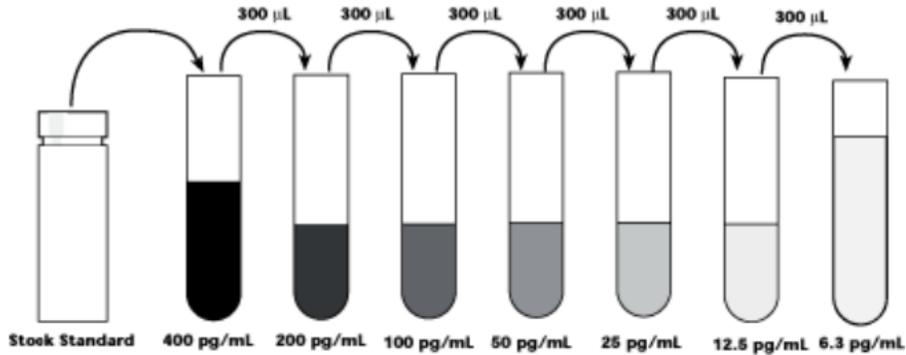


Determinación de leptina, adiponectina y eotaxina circulante.

Las determinaciones de Leptina, adiponectina y eotaxina circulante se realizó a través de ensayos inmunoenzimáticos (ELISA) disponibles comercialmente. En los cuales se tomaron muestras sanguíneas en tubos sin anticoagulante. Se dejaron tubos a temperatura ambiente por 30 minutos, después se centrifugaron a 2,000 xg por 15 minutos a 4°C. El suero se transfirió a tubos de tipo Eppendorf y se almacenaron a -70°C hasta su determinación cuantitativa. Estos procedimientos se realizaron en el Laboratorio de Investigación en Farmacología y Toxicología del Hospital Infantil de México Federico Gómez y se llevaron a cabo de acuerdo a las instrucciones proporcionadas por el fabricante en el inserto de cada Kit, considerando los controles y parámetros de calidad especificados por el proveedor.

Procedimiento de Ensayos de ELISA

1. Se colocó en cada pozo de la placa de ELISA 100µL del anticuerpo de captura, diluido con buffer de revestimiento. Se selló la placa y se incubó durante toda la noche a 4°C.
2. Se aspiró el contenido y se lavó 3 veces con 300µL buffer de lavado. Después del último lavado invertir la placa, golpear sobre papel absorbente para remover cualquier residuo de buffer.
3. Se bloqueó la placa, con 200µL de 'diluyente de ensayo' y se Incubó a temperatura ambiente por una hora.
4. Se aspiró el contenido y lavó 3 veces con 300µL de buffer de lavado.
5. Se prepararon las diluciones de la muestra y del estándar, de acuerdo a instrucciones del kit (Merck Millipore).

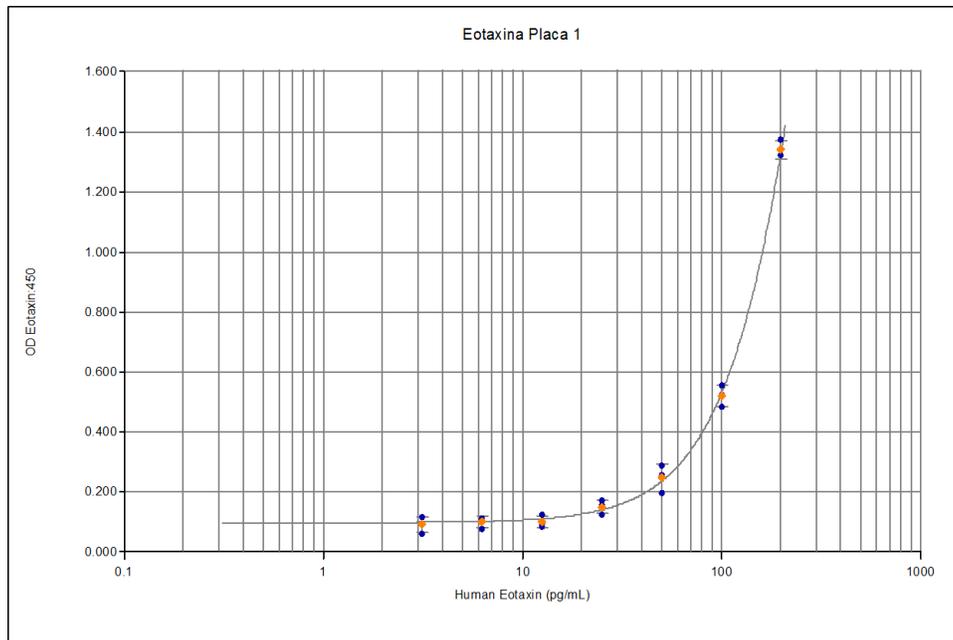


6. Se añadieron 100µL de cada estándar, muestra y controles dentro del pozo correspondiente a cada uno. Se selló la placa y se incubó a temperatura ambiente por 2 horas.
7. Se retiró el contenido y se lavó 5 veces con 300µL de buffer de lavado.
8. Se adicionó 100µL de la solución de detección (anticuerpo de detección + reactivo estreptavidina-HRP) a cada pozo. Se selló la placa y se incubó a temperatura ambiente durante 1 hora.
9. Se aspiró el contenido y se lavó 7 veces con 300µL de buffer de lavado. Dejando el buffer en cada pozo de 30 a 60 segundos por cada lavado.
10. Se agregó 100µL de solución de sustrato a cada pozo. Incubar la placa sin sellar, por 30 minutos a temperatura ambiente y protegida de la luz.
11. Se adicionó 50µL de solución de paro a cada pozo.
12. Se obtuvieron las lecturas de a una longitud de onda de 450 nm dentro de un lapso de 30 minutos desde la adición de la solución de paro. Se corrigieron las absorbancias obtenidas mediante una lectura a 570 nm de acuerdo a instrucciones del kit (Merck Millipore).

ELISA Procedimiento Resumido



Curva Estándar



Nombre	Formula de la Curva	A	B	C	D	R2
Eotaxina	$Y = (A-D)/(1+(X/C)^B) + D$	0.0986	1.71	512	7.4 8	1

ANÁLISIS DE DATOS

Se utilizó el software (SPSS 20.0) para hacer el análisis estadístico. Todos los resultados se expresan como promedio \pm se. Se compararon los niveles de las variables antropométricas, el perfil metabólico leptina, adiponectina y eotaxina en los sujetos por medio de prueba estadística: ANOVA. Se utilizará el análisis de Pearson para evaluar la asociación de leptina, adiponectina y eotaxina con las variables antropométricas y el perfil metabólico. Un valor $p \leq 0.05$ es considerado significativamente estadístico.

Consideraciones Éticas

De acuerdo a los lineamientos de la Ley General de Salud este estudio se considera riesgo mínimo para los pacientes. Se tomará bajo el previo consentimiento y asentimiento informado.

Consideraciones de Bioseguridad

Las muestras de sangre que se tomarán a los sujetos de estudio serán el aspecto más riesgoso, en donde las personas que tomarán las muestras de sangre tendrán que utilizar guantes, además de que el material será estéril y de uso único.

RESULTADOS

Características generales de los adolescentes estudiados.

En el presente estudio reclutamos 86 adolescentes con un promedio de 10 -15 años de edad, los cuales se dividieron en 4 grupos de estudio: grupo 1, pacientes no obesos sin asma (ESA); grupo 2, pacientes no obesos con asma (ECA); grupo 3, pacientes obesos sin asma (OSA); grupo 4, pacientes obesos con asma (OCA). Los grupos fueron categorizados de acuerdo a su peso (Figura 1A) e índice de masa corporal (IMC) (Figura 1B).

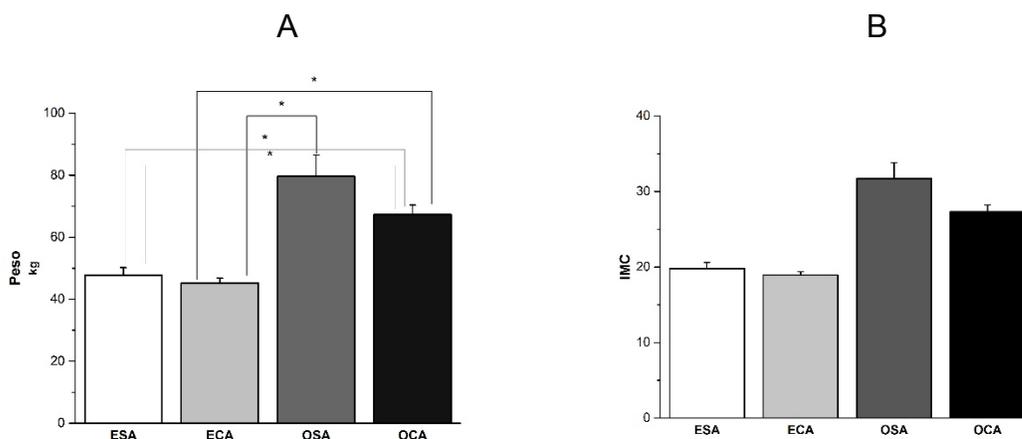


Figura 1. El índice de masa corporal y el peso en los sujetos estudiados.

En nuestros resultados se observó diferencia significativa del peso entre los eutróficos con y sin asma al comparar con los obesos con y sin asma. Se observó mayor de IMC en los obesos en comparación con los eutróficos (Figura 1A).

Los resultados presentan diferencias significativas en peso entre pacientes obesos con y sin asma con respecto a los pacientes no obesos con y sin asma. También observamos que el IMC presenta resultados similares a los antes mencionados (Figura 1B).

Perfil metabólico en los adolescentes estudiados.

Las concentraciones plasmáticas de glucosa (Figura 2A), colesterol total (Figura 2B) y colesterol LDL (Figura 2C) no mostraron cambios significativos entre grupos. Nosotros observamos que la presencia de asma disminuye la concentración de triglicéridos en plasma y que la obesidad se ve aumentada en pacientes con y sin asma, con respecto al control no obeso sin asma (Figura 2D). Por otra parte, la presencia de asma, disminuye de manera significativa la concentración de colesterol HDL al igual que los pacientes obesos con y sin asma, al ser comparados con el grupo control sin asma (Figura 2E).

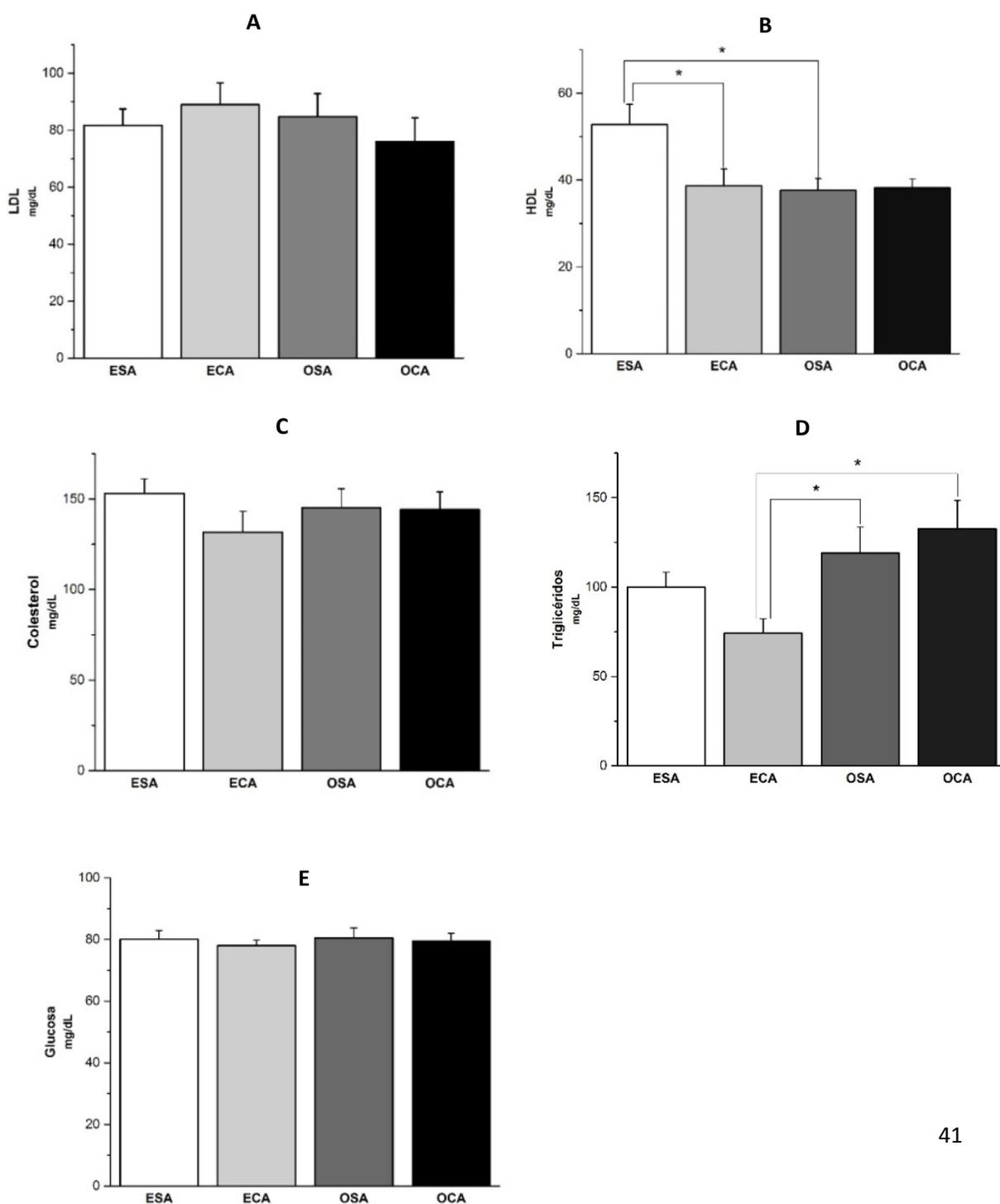
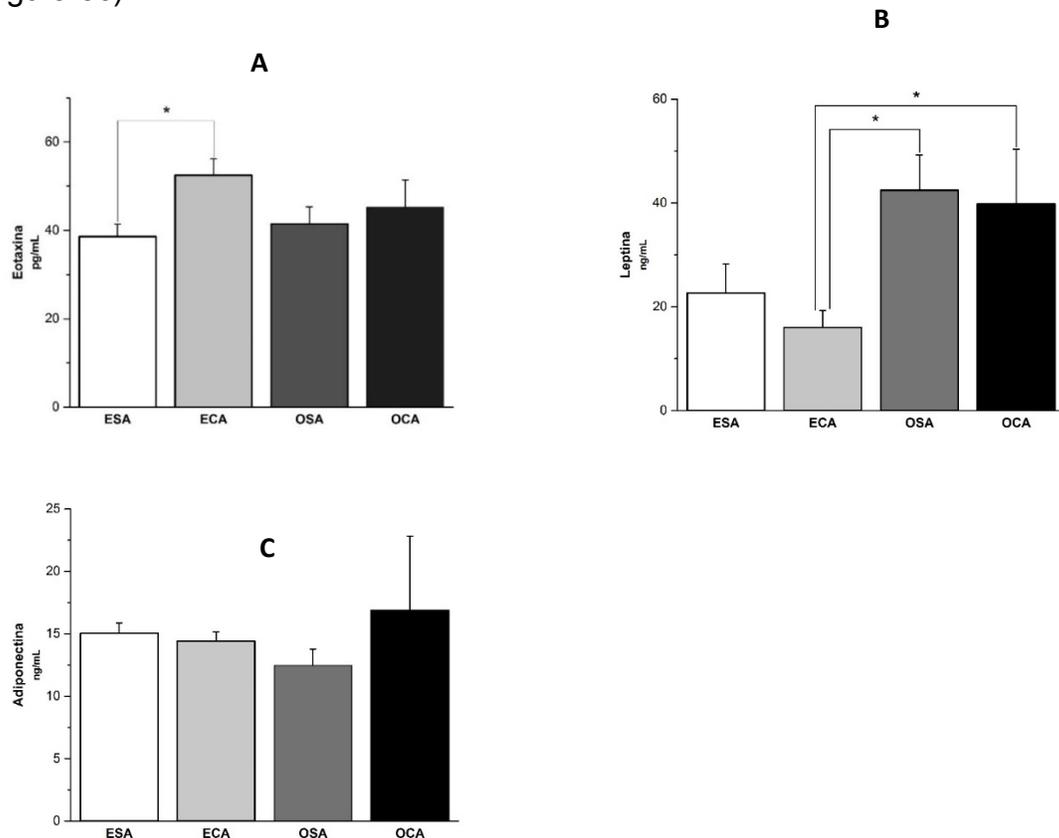


Figura 2. Diferencias significativas en el perfil de triglicéridos: (ESA 98.80 ±8.6 ECA 74.13± 8.09; OSA 119.05±14.6; OCA 132.64±15.88;) y el perfil de HDL entre el paciente sano vs los obesos con y sin asma ESA 52.76±4.66; ECA 38.61±3.94; OSA 37.60±2.72; OCA 38.23±2.04 (*p≤0.05)

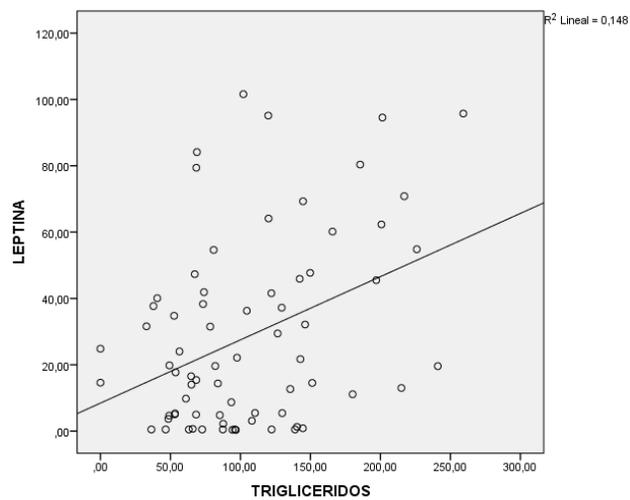
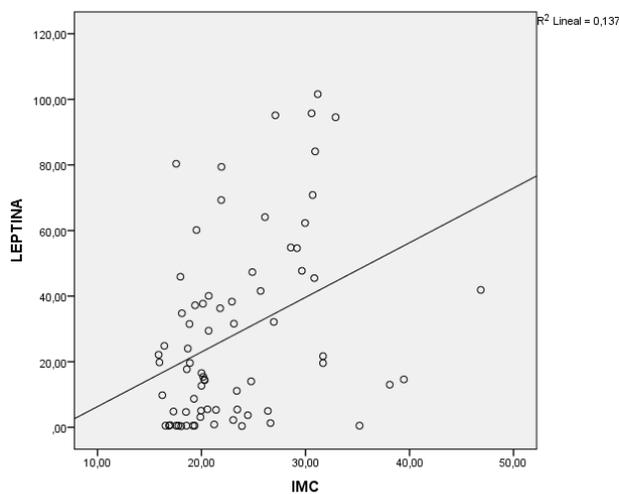
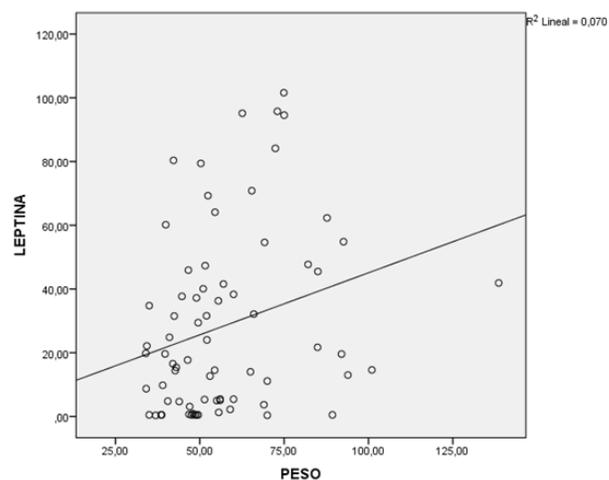
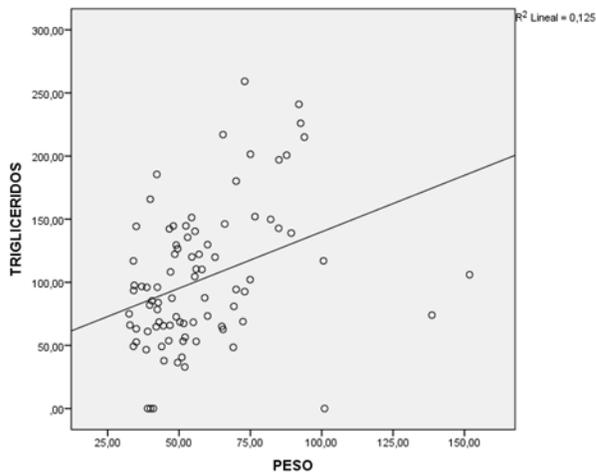
Concentraciones de citosinas (eotaxina, leptina, y adiponectina) plasmáticas en adolescentes

Los resultados presentan que el asma aumenta de manera significativa las concentraciones de **Eotaxina** ESA 38.59±2.82; ECA 52.49±3.68; OSA 41.43±3.88; OCA 45.23±6.18 y la obesidad no modifica los niveles de esta citocina (Figura 3a). Por otra parte, los niveles de **Leptina** disminuyen en los pacientes con asma, mientras que en los pacientes obesos con y sin asma se encuentran aumentados de manera significativa con respecto al grupo eutrófico sin asma ESA 22.65±5.62; ECA 16.02±3.29; OSA 42.45±6.79; OCA 39.88±10.47 (Figura 3b). Sin embargo, los niveles de **Adiponectina** se mostraron sin cambios en los cuatro grupos de estudio ESA 15.04±0.83; ECA 14.42±0.72; OSA 12.45±1.33; OCA 16.88±5.94 (Figura 3c).



Coefficiente de Correlación de Pearson

Obtuvimos el coeficiente de correlación positiva débil entre el peso y los triglicéridos ($r=0.353$, $p<0.001$), leptina y triglicéridos ($r=0.384$, $p=0.001$), así como, leptina e IMC ($r=0.370$, $p=0.001$) lo cual indica la existencia de una relación lineal.



No encontramos una asociación directa de adiponectina con el IMC, peso, glucosa, colesterol y triglicéridos. Por otra parte, tampoco encontramos alguna asociación entre eotaxina con los parámetros antes mencionados, ni con leptina y adiponectina.

DISCUSIÓN

Las prevalencias de obesidad y asma han incrementado en las últimas décadas, lo que ha llevado a postular que ambos padecimientos pueden estar relacionados. Se ha reportado que cuando existe un mayor grado de obesidad, la gravedad del asma se encuentra incrementada y que la pérdida de peso favorece la sintomatología del asma (12). Los mecanismos biológicos para explicar esta relación han sido postulados por hallazgos de investigaciones recientes que sugieren la posible exacerbación del asma en presencia de obesidad, por ser ambas comorbilidades con características de inflamación crónica (15). Sin embargo, esta relación es compleja debido a la participación de factores genéticos epigénéticos y ambientales.

Se ha demostrado que la eotaxina juega un papel importante prominente en procesos inflamatorios inmunológicos y que está involucrada en enfermedades respiratorias alérgicas tales como asma bronquial y rinitis (81-86). En este estudio se encontraron niveles elevados en los sujetos con asma al comparar con los controles. Este resultado corresponde a lo que se ha reportado en varios estudios realizados en los pacientes con asma (83) y en modelos animales de asma. Por ejemplo, se ha observado que ratones expuestos a alérgenos expresan niveles elevados del gen que codifica para esta citocina de tres a seis horas posterior al ejercicio (81-86). En asmáticos niños, se ha observado los niveles aumentos de eotaxina, interleucina 13 al comparar con los sanos (84).

Respecto a los niveles de eotaxina en los obesos, se ha encontrado los resultados muy limitados y contradictorios. Por ejemplo, en modelo obeso de chimpancés, se encontró niveles bajos al comparar con los controles (82). Sin embargo, en un modelo de ratón sometido con dieta de alta grasa, los niveles de eotaxina se disminuyeron después de la pérdida de peso en el animal (87). En pacientes con NAFLD, se ha reportado que las concentraciones séricas se asociaron con las concentraciones de TNF- α , IL-6 y IL-1 β (89). Al contrario, en nuestro estudio, no se encontró los cambios de eotaxina en los obesos con y sin asma al comparar

con los eutróficos. Dichas discrepancias indicaron que se necesita más estudios para evaluar su papel en la obesidad.

El análisis de los niveles de leptina y adiponectina en los cuatro grupos de adolescentes, nosotros reportamos una mayor concentración de leptina circulante en los obesos con y sin asma, en comparación con los controles. Además, el análisis de Pearson confirmó la asociación de leptina con IMC y triglicéridos. Esto sugiere que existe una asociación entre hiperleptemia y hipertrigliceridemia en los obesos. Eso concuerda con los estudios en los obesos niños y adolescentes [Huang, 2017] (88).

Hay una multiplicidad de factores con los que se pueden relacionar estas citocinas, sobre todo ahora que ha aumentado mucho su prevalencia en asma infantil, pero no contamos con elementos claros y precisos para sustentar que esta asociación sea dependiente una de otra, aunque sí hay suficiente evidencia que comprueba que, al bajar de peso, el obeso asmático disminuye sus síntomas de asma y requiere menos consultas a urgencias, usar menos medicamentos y mejorar su calidad de vida, por lo que en el tratamiento del asmático con sobrepeso u obesidad debe incluirse un buen manejo en la dieta con apoyo de especialistas en nutrición.

CONCLUSIÓN

La obesidad incrementa las concentraciones de triglicéridos, colesterol HDL y leptina. Nosotros sugerimos que la participación de eotaxina en el proceso asmático juega un papel importante para tomarse en cuenta como un posible citosina de diagnóstico para cuantificación de sus niveles séricos podrían determinar las diferencias de ambos procesos de inflamación crónica.

ANEXOS

MÉXICO, D.F., A 12 DE ABRIL DE 2013

DG/1000/ 350 /2013

DRA. FENGYANG HUANG
JEFA DEL LABORATORIO DE FARMACOLOGÍA
PRESENTE

INFORMO A USTED, QUE LAS COMISIONES DE INVESTIGACIÓN, ÉTICA Y BIOSEGURIDAD, DESPUÉS DE HABER REVISADO SU PROTOCOLO NÚMERO HIM-2013-015 'ANÁLISIS DEL GRADO DE METILACIÓN DE LOS PROMOTORES EN LOS GENES DE RESISTINA, VISFATINA, TNF- α Y SUS DOS RECEPTORES EN ADOLESCENTES OBESOS ASMÁTICOS Y NO ASMÁTICOS', HAN EMITIDO EL DICTAMEN DE:

APROBADO

EN LOS TÉRMINOS Y CONDICIONES SEÑALADOS POR DICHAS COMISIONES, POR LO ANTERIOR, SE AUTORIZA SU DESARROLLO.

ATENTAMENTE


DR. JOSÉ ALBERTO GARCÍA ALBARRÁN
DIRECTOR GENERAL

CON COPIA
C.P. ELÍAS HERNÁNDEZ RAMÍREZ, JEFE DE LA UNIDAD AUXILIAR ADMINISTRATIVA DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN.

JAGA/OMH/NAE/GLRO



INSTITUCIÓN DE SERVICIO MÉDICO, ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN, AFILIADA A LA UNAM

Dirección: Dr. Márquez 162, Col. Doctores, Delegación Cuauhtémoc, 06720, México, D.F.

Tel: 57617002; 55885333; Coim: 52289917 ext. 2361

www.himfg.edu.mx

Bibliografía

1. James AM, Collins Y, Logan A, Murphy MP. Mitochondrial oxidative stress and the metabolic syndrome. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*. 2012;23(9):429-34
2. Novosad S, Khan S, Wolfe B, Khan A. Role of obesity in asthma control, the obesity-asthma phenotype. *Journal of allergy*. 2013;2013:538642.
3. Castro-Rodriguez JA. [Relationship between obesity and asthma]. *Archivos de bronconeumologia*. 2007;43(3):171-5
4. Wyllie R. Obesity in childhood: an overview. *Curr Opin Pediatr* 2005;17:632-635
5. Rivera-Dommarco J, Cuevas-nasu L, Shamah-Levy T, Villalpando-Hernandez S, Ávila-Arcos MA, Jiménez-Aguilar A. Estado Nutricio. Em: Olaiz-Fernandez G, Rivera-DommarcoJ, Shaman-Levy T, Rojas R, Villalpando-Hernández S, Sepúlveda J (eds). *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012*. Cuernavaca, México: Intituto Nacional de Salud Pública; 2012.pp. 83-121.
6. Novosad S, Khan S, Wolfe B, Khan A. Role of obesity in asthma control, the obesity-asthma phenotype. *Journal of allergy*. 2013;2013:538642.
7. Brisbon N, Plumb J, Brawer R, Paxman D. The asthma and obesity epidemics: the role played by the built environment--a public health perspective. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2005;115(5):1024-8.
8. Ford ES. The epidemiology of obesity and asthma. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2005;115(5):897-909; quiz 10.
9. Shore SA. Obesity and asthma: possible mechanisms. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2008;121(5):1087-93; quiz 94-5.
10. Horak F, Doberer D, Eber E, Horak E, Pohl W, Riedler J, et al. Diagnosis and management of asthma - Statement on the 2015 GINA Guidelines. *Wiener klinische Wochenschrift*. 2016;128(15-16):541-54.
11. World Health Organization. *The world Elath report 1996. Figh-ting disease fostering development*. Wolrd Health Organization. Geneve. France, 1996
12. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISSAC) Steering Committee. Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic conjunctivitis, and ectopic eczema: ISSAC. *Lance* 1998;351:1225-32
13. Del Río-Navarro B, Del río-Chivardi JM, Berber A, Sienna Monje JJJ, Rosas-vargas MA, Baeza-Bacab M. Asthma prevalence in children living in north Mexico

City and a comparison with other Latin American cities and World regions. *Allergy Asthma Proc* 2006; 27:334-340

14. Mallo J, Solé D, Baeza-bacab M, Aguirre-Camposano V, Soto-Quiros M, Bana-Cangnani c, Latin American ISAAC Group. Regional variation in asthma symptom prevalence in Latin American children, *J Asthma* 2010;47:644-650

15. Fernandez Camilo D, Dirceu Ribeiro J, Dalbo Contrera Toro A, Eias Baracat EC, Barrio Filho A. Obesity and asthma:association or coincidence? *J Pediatr (Rio J)* 2010;86:6-14

16. Ford ES. The epidemiology of obesity and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115: 897-909

17. Camargo CA Jr, Weiss ST, Zhang S, Willett WC, Speizer FE, Prospective study of body mass index, weight change, and risk of adult-onset asthma in women. *Arch Inter Med* 1999;159:2582-2588

18. Ford ES, Mannino DM Redd SC, Mokdad AH, Mott JA. Body mass index and asthma incidence among USA adults. *Eur Respir J* 2004;24:740-744

19. Hasler, G, Gergen PJ, Ajdacic V, Gamma a, Eich D, Roslller W, et al. Asthma and body weight change: a 20-year prospective community study of young adults. *Int J obes* 2006;30:1111-1118

20. McLachlan CR, Poulton R, Car G, Cowan J, Filsell S, Greene JM, et al. Adiposity, asthma, and airway inflammation. *J Allergy Cin Immunol* 2007; 119:634-639

21. Gold DR, Damokosh AI, Dockery DW, Berkey CS. Body-mass index as a predictor of incident asthma in a prospective cohort of children. *Pediatr Pulmonol* 2003;36:514-521

22. Luder E, Melnik TA, DiMaio M. Association of being overweight with greater asthma symptoms in inner city black and Hispanic childre. *J Pediatr* 1998;132:699-703

23. Celedón JC, Palmer LJ, Litonjua AA. Weiss ST, Wang B, Fang Z, et al. Body mass index and asthma in adults in families of subjects with asthma in Anqing, China. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:1835-1840

24. Luder E, Ehrlich RI, Lou WY, Melnik TA, Kattan M. Body mass index and the riskof asthma in adults *Respir Med* 2004;98:29-37

25. Prins JB, Adipose tissue as an endocrine organ. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2002;16(4):639-51

26. Arner P. The adipocyte in insulin resistance: key molecules and the impact of the thiazolidinediones. *Trends Endocrinol Metab* 2003;14:137-45

27. M.^a A. Zulet, B. Puchau, C. Navarro, A. Martí y J. A. Martínez. Biomarcadores del estado inflamatorio: nexo de unión con la obesidad y complicaciones asociadas. *Nutr Hosp.* 2007;22(5):511-27.
28. Sood A. Obesity, adipokines, and lung disease. *J Appl Physiol* 2010;108:744-753
29. Gleich GJ, Adolphson CR, Kita H: The eosinophil and asthma. In *Asthma and Rhinitis*, edn 2. Edited by Busse WW, Holgate ST. Oxford: Blackwell Science Ltd; 2000:429-470.
30. Zlotnik A, Yoshie O: Chemokines: a new classification system and their role in immunity. *Immunity* 2000,12:121-127.
31. Tiffany HL, Alkhatib G, Combadiere C, Berger EA, Murphy PM. CC chemokine receptors 1 and 3 are differentially regulated by IL-5 during maturation of eosinophilic HL-60 cells. *J Immunol* 1998;160:1385-1392
32. Teran LM. CCL chemokines and asthma. *Immunol. Today.* 2000;21:235-242.
33. Barrett JR. Chemokines. *Blood* 1997;90:909-928.
34. Jose PJ, Griffiths-Johnson DA, Collins PD, Walsh DT, Moqbel R, et al. Eotaxin: cloning of an eosinophil chemoattractant cytokine and increased mRNA expresión in allergen-challenged guinea-pig lungs. *Biochem Biophys Res Commun* 1994;205: 788-794.
35. Lilly CM, Nacamura H, Kesselman H, Anderson CN, Asano K, Garcia Zepeda EA, et al. Expression of eotaxin by human lung epithelial cells. *J Clin Invest* 1997; 99:1767-1773.
36. Stellato C, Brummet EM, Plitt RJ, Shahabuddin S, Baroody MF, Liu CM, et al. Expression of the C-C chemokine receptor CCR3 in human airway epithelial cells. *J Immunol* 2001;166:1457-1461.
37. Clemetson KJ, Clemetson JM, Proudfoot AEI, Power CA, Baggiolini M, Wells TNC. Functional expression of CCR1, CCR3, CCR4, and CXCR4 chemokine receptors on human platelets. *Blood* 2000;96:4046-4054.
38. Leckie MJ, ten Brinke A, Jamey Khan, Zuzana Diamant, Brian J O'Connor, et al. Effects of an interleukin-5 blocking monoclonal antibody on eosinophils, airway hyper-responsiveness, and the late asthmatic response. *Lancet* 2000;356:2144-2148.
39. Palframan RT, Collins PD, Severs NJ, Rothery S, Williams TJ, Rankin SM. Mechanisms of acute eosinophil mobilization from the bone marrow stimulated by interleukin 5: the role of specific adhesion molecules and phosphatidylinositol 3-kinase. *J Exp Med.* 1998;188:1621-1632.

40. Teran LM, Mochizuki M, Bartels J, Valencia E, Schröder J. Th1 and Th2 type cytokines regulate the expression and production of eotaxin and RANTES by human lung fibroblasts. *Am J Resp Cell Mol Biol* 1999;20:777-786.
41. Forssmann U, Uguccioni M, Loetscher P, Dahinden CA, Langen H, Thelen M, et al. Eotaxin-2, a novel CC chemokine that is selective for the chemokine receptor CCR3, and acts like eotaxin on human eosinophil and basophil leucocytes. *J Exp Med* 1998;185:2171-2176.
42. White JR, Imburgia C, Dul E, Appelbaum E, O'Donnell K, O'Shannessy DJ, et al. Cloning and functional characterization of a novel human CC chemokine that binds to the CCR3 receptor and activates human eosinophils. *J Leukoc Biol* 1997;62:667-675.
43. Tachimoto H, Burdick MM, Hudson SA, Kikuchi M, Konstantopoulos K, Bchner BS. CCR3 active chemokines promote rapid detachment of eosinophils from VCAM-1 in vitro. *J Immunol* 2000;165:2748-2754.
44. Zimmermann N, Hogan SP, Mishra A, Brandt EB, Bodette TR, Pope SM, et al. Eotaxin-2: A Constitutive Eosinophil Chemokine Induced by Allergen Challenge and IL-4 Overexpression. *J Immunol* 2000;165:5839-5846.
45. Shinkai A, Yoshisue H, Koike M, Shoji E, Nakagawa S, Saito A, et al. A novel human CC chemokine, eotaxin-3, which is expressed in IL-4 stimulated vascular endothelial cells, exhibits potent activity toward eosinophils. *J Immunol* 1999;163:1602-1610.
46. Hoeck J, Woitsetschlager M. STAT6 mediates eotaxin-1 expression in IL-4 or TNF-alpha-induced fibroblasts. *J Immunol* 2001;166:4507-4515
47. Teran LM, Carroll M, Frew AJ, Redington AE, Davies DE, Lindley I, et al. Leukocyte recruitment after local endobronchial allergen challenge in asthma. Relationship to procedure and to airway interleukin-8 release. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:469-476.
48. Teran LM, Noso N, Carroll MP, Davies DE, Holgate ST, Schröder J. Eosinophil recruitment following allergen challenge is associated with the release of the chemokine RANTES into asthmatic airways. *J Immunol* 1996;57:1806-1812.
49. Hogan SP, Mishra A, Brandt EB, Royalty MP, Pope SM, Zimmermann N, et al. A pathological function for eotaxin and eosinophils in eosinophilic gastrointestinal inflammation. *Nature Immunol* 2001;1:353-360.
50. Hadjicharalambous C, Dent G, Handy RL, Anderson IK, Davies DE, Djukanovic R. Measurement of eotaxin (CCL11) in induced sputum supernatants: validation and detection in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2004;Apr;113(4):657-62.

51. Brown JR, et al. Kinetics of eotaxin expression and its relationship to eosinophil accumulation and activation in bronchial biopsies and bronchoalveolar lavage (BAL) of asthmatic patients after allergen inhalation. *Clin Exp Immunol* 1998;114:137-146
52. Teran LM, Carroll MP, Shute JK, Holgate ST. Interleukin 5 release into asthmatic airways 4 and 24 hours after endobronchial allergen challenge: its relationship with eosinophil recruitment. *Cytokine* 1999;11:518-522.
53. Palframan RT, Collins PD, Williams TJ, Rankin SM. Eotaxin induces a rapid release of eosinophils and their progenitors from the bone marrow. *Blood* 1998;91:2240-2248.
54. Ying S, Robinson DS, Meng Q, Barata LT, McEuen AR, Buckley MG, et al. C-C chemokines in allergen-induced late-phase cutaneous responses in atopic subjects: association of eotaxin with early 6-hour eosinophils, and of eotaxin-2 and monocyte chemoattractant protein-4 with the later 24-hour tissue eosinophilia, and relationship to basophils and other C-C chemokines (monocyte chemoattractant protein-3 and RANTES). *J Immunol* 1999;163:3976-3984
55. Karhunen LJ, Lappalainen RI, Haffner SM y cols.: Serum leptin, food intake and preference for sugar and fat in obese women. *Int J Obes* 1998; 22 (8): 819-21.
56. Anaya COM, Ariza IDS: Avances en obesidad. *Rev Fac Med Univ Nac Colomb* 2004; 52: 270-286.
57. Raben A, Astrup A: Leptin is influenced both by predisposition to obesity and diet composition. *Int J Obes* 2000; 24 (4): 450-9.
58. Hwa JJ, Fawzi AB, Graziano MP y cols.: Leptin increase energy expenditure and selectively promotes fat metabolism in ob/ob mice. *Am J Physiol* 1997; 272 (4 pt2): R1204-R9.
59. Havel PJ: Leptin production and action: relevance to energy balance in humans. *Am J Clin Nutr* 1998; 67 (3): 355-6.
60. Ahima RS, Flier JS: Leptin. *Annu Rev Physiol* 2000; 62: 413-37.
61. Du F, Higginbotham DA, White BD: Food intake, energy balance and serum leptin concentrations in rats fed low-protein diets. *J Nutr* 2000; 130 (3): 514-21.
62. Dubuc GR, Phinney SD, Stern JS, Havel PJ: Changes of serum leptin and endocrine and metabolic parameters after 7 days of energy restriction in men and women. *Metabolism* 1998; 47 (4): 429-34.
63. Ho SC, Tai ES, Eng PHK, Ramli A, Tan CE, Fok ACK: A study in the relationships between leptin, insulin, and body fat in Asian subjects. *Int J Obes* 1999; 23 (3): 246-52.

64. Arch JRS, Stock MJ, Trayhurn P: Leptin resistance in obese humans: does it exist and what does it mean. *Int J Obes* 1998; 22 (12): 1159-63.
65. Sood A. Obesity, adipokines, and lung disease. *J Appl Physiol* 2010;108:744-753
66. Prins JB, Adipose tissue as an endocrine organ. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2002;16(4):639-51
67. Guler N, Kirerleri E, Ones U et al. Leptin: does it have any role in childhood asthma? *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114: 254-9.Cvdvd
68. Xiao-Mei Mai, Catarina Almqvist, Lennart Nilsson, Magnus Wickman. Birth anthropometric measures, body mass index and allergic diseases in a birth cohort Study. *Arch Dis Child*. 2007 Oct; 92(10): 881–886.
69. P. E. Scherer, "Adipose tissue: from lipid storage compartment to endocrine organ," *Diabetes*, vol. 55, no. 6, pp. 1537–1545, 2006.
70. S. A. Shore, R. D. Terry, L. Flynt, A. Xu, and C. Hug, "Adiponectin attenuates allergen-induced airway inflammation and hyperresponsiveness in mice," *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, vol. 118, no. 2, pp. 389–395, 2006.
71. A. Sood, E. Dominic, C. Qualls et al., "Serum adiponectin is associated with adverse outcomes of asthma in men but not in women," *Frontiers in Pharmacology*, vol. 2, article 55, 2011
72. B. D. Medoff, Y. Okamoto, P. Leyton et al., "Adiponectin deficiency increases allergic airway inflammation and pulmonary vascular remodeling," *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, vol. 41, no. 4, pp. 397–406, 2009.
73. K. Ohashi, J. L. Parker, N. Ouchi et al., "Adiponectin promotes macrophage polarization toward an anti-inflammatory phenotype," *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 285, no. 9, pp. 6153–6160, 2010.
74. X. Cheng, E. J. Folco, K. Shimizu, and P. Libby, "Adiponectin induces pro-inflammatory programs in human macrophages and CD4+ T cells," *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 287, no. 44, pp. 36896–36904, 2012
75. S. Wilk, C. Scheibenbogen, S. Bauer et al., "Adiponectin is a negative regulator of antigen-activated T cells," *European Journal of Immunology*, vol. 41, no. 8, pp. 2323–2332, 2011
76. H.-S. Baek, Y.-D. Kim, J.-H. Shin, J.-H. Kim, J.-W. Oh, and H.-B. Lee, "Serum leptin and adiponectin levels correlate with exercise-induced bronchoconstriction in children with asthma," *Annals of Allergy, Asthma and Immunology*, vol. 107, no. 1, pp. 14–21, 2011.

77. N. Guler, E. Kurerleri, U. Ones, Z. Tamay, N. Salmayenli, and F. Darendeliler, "Leptin: does it have any role in childhood asthma?" *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, vol. 114, no. 2, pp. 254–259, 2004.
78. F. Gurkan, Y. Atamer, A. Ece, Y. Kocyigit, H. Tuzun, and N. Mete, "Serum leptin levels in asthmatic children treated with an inhaled corticosteroid," *Annals of Allergy, Asthma and Immunology*, vol. 93, no. 3, pp. 277–280, 2004.
79. M. Y. Jung, H. S. Kim, H. J. Hong, B. S. Youn, and T. S. Kim, "Adiponectin induces dendritic cell activation via PLCgamma/JNK/NF-kappaB pathways, leading to Th1 and Th17 polarization," *Journal of Immunology*, vol. 188, no. 6, pp. 2592–2601, 2012.
80. P. E. Scherer, "Adipose tissue: from lipid storage compartment to endocrine organ," *Diabetes*, vol. 55, no. 6, pp. 1537–1545, 2006.
81. Luis M. Terán,* Yadira Ledesma-Soto, Sven Krengel, Diana Lezcano-Meza. 2006. Eotaxinas en asma bronquial y poliposis nasal. *Gac Méd Méx* Vol. 142 No. 2. Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, SSA, México D. F., México.
82. Pramod Nehete, Elizabeth R. Magden, Bharti Nehete, PatrickW. Hanley, and Christian R. Abee. 2014. Obesity Related Alterations in Plasma Cytokines and Metabolic Hormones in Chimpanzees. *International Journal of Inflammation*. Volume 2014, Article ID 856749
83. Norbert Meyer, Sarah Janine Nuss, Thomas Rothe, Alexander Siebenhüner, Cezmi A Akdis, Günter Menz. 2014. Differential serum protein markers and the clinical severity of asthma. *Journal of Asthma and Allergy* 2014:7 67–75
84. Xin Wang, Chunyan Ma, Yajing Zhang, Lihua Ning, Hua Chen, Fang Zhou. Clinical Significance of the Dynamic Changes in Serum Eotaxin, Interleukin 13 and Total IgE in Children with Bronchial Asthma. *Iranian Journal of Pediatrics*, Volume 23 (Number 5), October 2013, Pages: 525-530
85. Milena Baptistella Grotta, Dalize M Squebola-Cola, Adyleia ADC Toro, Maria Angela GO Ribeiro, Silvia B Mazon, Jose D Ribeiro and Edson Antunes. Obesity increases eosinophil activity in asthmatic children and adolescents. *BMC Pulmonary Medicine* 2013, 13:39
86. Giovanni Tarantino, Susan Costantini, Carmine Finelli, Francesca Capone, Eliana Guerriero, Nicolina La Sala, Saverio Gioia, Giuseppe Castello. Carotid Intima-Media Thickness Is Predicted by Combined Eotaxin Levels and Severity of Hepatic Steatosis at Ultrasonography in Obese Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. September 2014, Volume 9, Issue 9
87. Hyun-Jung Kim, Chang-Hyun Kim, Do-Hyun Lee, Min-Woo Han, Mi-Young Kim, Jae-Hyun Ju and Myoung-Sool. Expression of eotaxin in 3T3-L1 adipocytes

and the effects of weight loss in high-fat diet induced obese mice. *Nutrition Research and Practice* 2011;5(1):11-19

88. Fengyang Huang, Maria del Carmen Ortiz Segura, Blanca Estela del Río Navarro, Benjamín Antonio Rodríguez Espino, Laurence A. Marchat, Fausto Sánchez Muñoz, Santiago Villafaña, Enrique Hong, Fabián Meza-Cuenca, Patrick Mailloux Salinas, Francisco Bolaños-Jiménez, Elena Zambrano, Abel Armando Arredondo-López, Guadalupe Bravo. *Endocrine Research*, 2017