



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

ACTIVIDAD FAGOCÍTICA DE NEUTRÓFILOS
SANGUÍNEOS EN PERSONAS CON DIFERENTES
ÍNDICES DE MASA CORPORAL.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

CIRUJANA DENTISTA

P R E S E N T A:

KARINA RAQUEL CORTÉS MARCIAL

TUTORA: Dra. EILEEN URIBE QUEROL

ASESOR: Dr. CARLOS ROSALES LEDEZMA



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.

Este trabajo de tesis de licenciatura se realizó en la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología y en el Instituto de Investigaciones Biomédicas bajo la dirección de la **Dra. Eileen Uribe Querol y asesoría del Dr. Carlos Rosales Ledezma**. Este trabajo de tesis fue apoyado con el **proyecto CF-2023-I-610** del Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCyT), Mexico.

Agradecimientos

A mi Señor y Salvador, que me ha sustentado y dado los recursos de todo tipo para alcanzar las metas y sueños que ha puesto en mi corazón.

A mi mami Aquilina, sin su compañía, oraciones, apoyo y amor en cada desvelo y madrugada no lo habría logrado.

A mi hermana Anita, que siempre estuvo dispuesta valientemente a ser mi paciente y a acompañarme en este camino de universitario.

A mi hermana Paty, sin su apoyo no habría podido culminar esta maravillosa etapa.

A mi padre, quien me presentó a Jesús y me dio las bases de respeto, empatía y rectitud para guiarme en un mundo tan confuso.

A Leslie, la representación de la palabra “compañera”, gracias por estar para alentarme, prestarme uno que otro instrumental y discutir casos clínicos.

A todos y cada uno de mis pacientes pasados y futuros, gracias por confiar en mí y dejar su salud en mis manos.

A mis amigos y hermanos en Cristo que nunca dudaron en nombrarme su dentista, y que me han llevado en oración, me regalan de su tiempo y me alegran el día.

A Gabo y Eli, gracias por ser un hogar para mí.

Por último, un especial y enorme agradecimiento a mi tutora la doctora Eileen, por instruirme con amor y paciencia en este proyecto y apoyarme en proyectos propios, gracias por ser un ejemplo de humildad, integridad y profesionalismo.

Índice

	Página
Resumen	1
Capítulo I. Obesidad	1
1 Índice de Masa Corporal	2
1.1 Adipocitos	3
1.2 Expansión e inflamación del tejido adiposo	5
Capítulo II. Sistema inmunológico y neutrófilos	7
2 Células sanguíneas	7
2.1 Hematopoyesis	7
2.2 Leucopoyesis	9
2.3 Neutrófilos	9
2.3.1 Funciones de los neutrófilos	11
2.4 Fagocitosis	12
2.4.1 La detección	13
2.4.2 La internalización	14
2.4.3 El fagosoma	15
2.4.4 Maduración del fagosoma	15
2.5 Inflamación	16
2.5.1 Sistema de complemento	17
2.5.2 Cascada de la coagulación	17
2.5.3 Sistema de las cininas	18
2.5.4 Citocinas del proceso inflamatorio	18
Planteamiento del problema	20
Justificación	20
Hipótesis	20
Objetivo general	21
Objetivos particulares	21
Materiales y Métodos	21
Resultados	25
Discusión	35
Conclusión	35
Referencias	36

Resumen

La obesidad representa un problema de salud pública a nivel internacional. La revista The Lancet en 2021 publica e informa de una crisis de salud pública, ya que, en los últimos 30 años, ningún país ha logrado disminuir la tasa de obesidad. México ocupa el puesto número seis a nivel mundial y el segundo en Latinoamérica, después de Brasil, en población adulta y está entre los primeros puestos en población infantil. Los neutrófilos son leucocitos que forman la primera línea de defensa y se ha visto que procesos inflamatorios promueven o inhiben sus funciones. Por ello, en este trabajo decidimos estudiar una de las funciones primordiales de los neutrófilos, la fagocitosis. Proponiendo, un estudio piloto con voluntarios de diferentes índices de masa corporal. Los resultados de fagocitosis fueron muy diversos. Esto se debe muy probablemente a enfermedades crónico-inflamatorias además de obesidad y sobrepeso que presentaron varios de los voluntarios. En conclusión, este estudio piloto nos permite ver que existe una diferencia grande entre la actividad fagocítica de los neutrófilos dependiendo del estado inflamatorio sistémico que presente la persona.

Capítulo I. Obesidad

1. Obesidad

La obesidad es un padecimiento multifactorial, pero hay tres factores específicos que son claves en la prevención y determinantes para la afección: la actividad física reducida, un nivel socioeconómico bajo y hábitos alimenticios insanos. Según un estudio realizado en 2019 por Bellido, aparte de estos tres factores existen otros que influyen en la incidencia de la obesidad (Tabla 1) (Bellido D. et al., 2022).

Tabla 1. Factores de riesgo asociados a la obesidad

Factores de riesgo asociados a la obesidad	Edad avanzada
	Temperatura ambiental alta
	Pocas horas de sueño
	Tiempo diario prolongado en pantallas

	Nivel educativo bajo
	Nivel socioeconómico bajo
	Sedentarismo
	Actividad laboral sedentaria
	Ingesta excesiva de grasas
	Ingesta excesiva de carbohidratos de rápida absorción
	Consumo frecuente de bebidas azucaradas

La obesidad va mucho más allá de un excedente de masa o un desequilibrio metabólico ya que hay una larga lista de comorbilidades asociadas a esta enfermedad, destacando las enfermedades cardiovasculares y oncológicas. El resultado son más muertes asociadas a la obesidad que a la desnutrición a nivel mundial. (Bellido D. et al., 2022)

En la última década, varios autores atinadamente han categorizado a la obesidad como una patología inflamatoria crónica de bajo grado con una etiología multifactorial. Esta nueva definición da pauta al estudio del sobrepeso como un evento de inflamación, ya que en ella participan factores como las interleucinas, las quimiocinas, el factor de necrosis tumoral y por supuesto, los leucocitos. (Marcos-Gómez B et al., 2008) (Bellido D. et al., 2022)

1. Índice de Masa Corporal

El Índice de Masa Corporal (IMC) es una escala derivada de la razón entre el peso en kilogramos (Kg) y la talla en metros (m) al cuadrado. Esta razón es clásicamente utilizada por el personal de salud para determinar bajo peso ($< 18.5 \text{ Kg/m}^2$), peso normal (de 18.5 a 24.9 Kg/m^2), sobrepeso (de 25 a 29 Kg/m^2) y obesidad ($\geq 30 \text{ Kg/m}^2$). Es importante mencionar que esta escala no toma en cuenta la diferencia entre masa muscular y tejido graso. Por lo tanto, para un diagnóstico más preciso de sobrepeso y obesidad, debemos incluir en el diagnóstico, el índice de circunferencia de cintura y la relación cintura/cadera. (Del Moral-Trinidad et al., 2021).

1.1 Adipocitos

El tejido graso constituye al menos el 20% de masa corporal total, esta estimación puede ser precisa ya que el número de adipocitos está determinado desde una temprana edad y permanece estable en una persona saludable.

Los adipocitos son células sumamente versátiles ya que poseen una gran plasticidad, razón por la cual pueden adaptarse a cambios estructurales, de distribución e incluso funcionales. Las funciones de los adipocitos incluyen la termogénesis, el metabolismo lipídico y son fundamentales en la función endocrina. Estas células pueden formar tres tipos de tejido adiposo: El blanco, el beige y el marrón. (Figura 1) (Bellido D. et al., 2022).

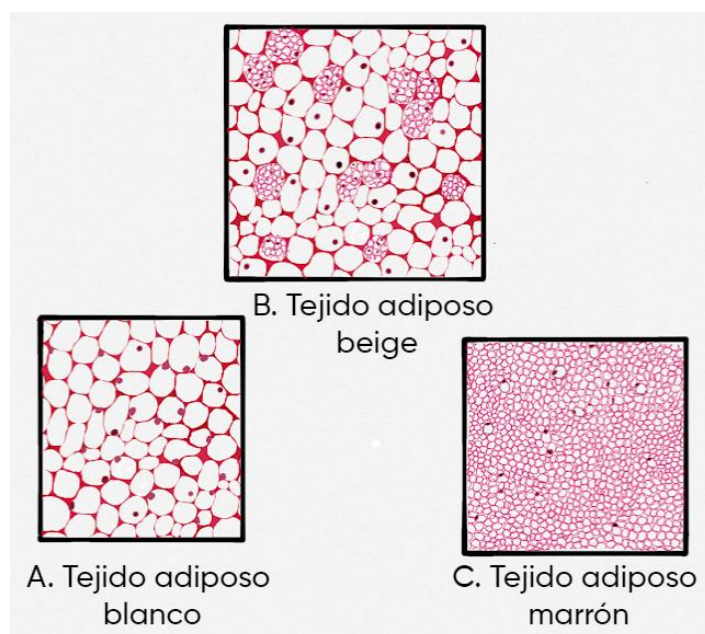


Figura 1: Tipos de tejido adiposo y su diferente estructura.

El tejido adiposo blanco consta de células que contienen un 90% de lípidos. Cada célula es unilocular y sumamente grande ya que tiene un diámetro promedio de 120µm. El tejido adiposo blanco localiza subcutánea y visceralmente. La principal función del tejido adiposo blanco es el almacenamiento de lípidos, regulados por procesos de lipogénesis y lipólisis, para así, mantener el equilibrio energético del cuerpo (Figura 1a) (Bellido D. et al., 2022).

Los adipocitos beige o BRITE (del inglés brown in white) pertenecen al tipo blanco, con la diferencia de aparecer mediante la inducción por factores del medioambiente, algunos alimentos o ciertos fármacos, este proceso inducido se conoce como marronización. La marronización no es un proceso claro, ya que algunos autores mencionan que se da a partir de células precursoras específicas para tejido adiposo beige, mientras que otros señalan que provienen de una conversión de los tejidos adiposos blancos a marrones (Figura 1b) (Bellido D. et al., 2022) (Gil A., 2017).

El tejido adiposo antes llamado pardo ahora llamado marrón, se caracteriza por células multiloculares debido a vacuolas lipídicas, con forma poligonal, característicamente marrones y más pequeñas las del tejido adiposo blanco. Anteriormente, se creía que este tipo de tejido adiposo solo estaba presente en roedores, animales hibernales y en humanos solo en la etapa de recién nacidos ya que una de sus principales características es la presencia de la proteína termogénina en sus mitocondrias. Esta proteína facilita la producción de calor. Hoy en día, se sabe que también está presente en la etapa adulta del humano y se asocia a la condición de obesidad, siendo la zona cercana a la aorta la región donde se pueden encontrar mayormente depósitos con el fin de la distribución del calor a todo el cuerpo (Figura 1c) (Bellido D. et al., 2022).

Los depósitos de adipocitos no solo contienen dichas células, están conformadas también por un sistema denominado fracción vascular del estroma, el cual contiene linfocitos, células vasculares, fibroblastos, células troncales, macrófagos y mastocitos. Gracias a la homeostasis de todas las células anteriores es posible lograr los distintos procesos metabólicos: la adipogénesis, termogénesis, lipólisis e hipertrofia de los adipocitos.

La diferenciación de las células troncales precursoras en adipocitos depende de la activación de una cascada de factores de transcripción, que induce la expresión de genes de los adipocitos. Esta cascada comienza con la activación del receptor nuclear gamma activado por proliferadores peroxisómicos que al interactuar con receptores X de los retinoides se une al DNA (Bellido D. et al., 2022).

1.2 Expansión e inflamación del tejido adiposo

El tejido adiposo tiene la capacidad de expandirse para ajustar su tamaño a las necesidades de almacenamiento lipídico. Esta capacidad es variable en cada individuo, ya que está determinada por factores como la cantidad predeterminada de pre-adipocitos y las capacidades vasculogénicas y adipogénicas del propio individuo. Cuando la célula no es capaz de gestionar el almacenamiento puede sufrir perforaciones, que resultan en la falla de la homeostasis metabólica, falla denominada lipotoxicidad.

En estado de lipotoxicidad la cantidad de ácidos grasos circulantes activa la respuesta inmune inflamatoria del tejido adiposo y a los macrófagos. Cuando los ácidos grasos han migrado a otros tejidos también puede ser factor de activación de apoptosis. Los lípidos afectan a las mitocondrias y activan a los neutrófilos, que, por medio de especies reactivas de oxígeno, tratan de eliminar el exceso de ácidos grasos dañando también las mitocondrias y su función (Bellido D. et al., 2022).

Cuando los lípidos activan la inflamación a diferencia de un estímulo usual, no se activan los signos y síntomas propios de la inflamación aguda. Sin embargo, la respuesta inflamatoria se considera un estado inflamatorio de bajo grado. En este tipo de inflamación participan nuevamente neutrófilos, aumentando en número cuando existe el estímulo de una alimentación rica en grasas, los neutrófilos a su vez tienen una función mayormente quimiotáctica que atrae macrófagos. Los macrófagos aumentan en pacientes con obesidad y son agentes de inflamación gracias a las citocinas proinflamatorias que producen. Hay especialmente dos tipos de macrófagos que participan en la obesidad los de tipo M1 y los de tipo M2. Los macrófagos M1 concentrados alrededor de gotas de lípidos (encontradas más comúnmente en tejido visceral) son producto de la hipertrofia de los adipocitos, que al fagocitar lípidos se convierten en células espumosas que liberan interleucina-6 y factor de necrosis tumoral α . Además, los macrófagos M1 son inhibidores de la adipogénesis, lo que aumenta el índice de hipertrofia y apoptosis de más adipocitos, estableciendo así un ciclo. Por otro

lado, Los macrófagos M2 remodelan el tejido adiposo y al tener una gran capacidad inmunosupresora, resuelven la inflamación (Bellido D. et al., 2022).

Capítulo II. Sistema Inmunológico y neutrófilos

2. Células sanguíneas

La sangre tiene una función fundamental en la inflamación y cuenta con tres tipos de componentes. Los eritrocitos que son células mayormente encargadas del transporte de oxígeno. Las plaquetas que son derivados de los megacariocitos y que colaboran en la formación de coágulos. Y finalmente, los leucocitos que son células encargadas de la respuesta inmune y se subdividen en los granulocitos, los monocitos y los linfocitos. Los granulocitos son el tipo de leucocito más común y se clasifican en tres tipos: basófilos, eosinófilos y neutrófilos. (Bernadette F., 2002)

2.1 Hematopoyesis

Según su raíz etimológica, la hematopoyesis se define a sí misma como la “formación de sangre” y es el concepto que da nombre a la diferenciación, reproducción y desarrollo de los distintos tipos de células sanguíneas antes mencionadas. Por lo tanto, en la hematopoyesis comprende la eritropoyesis, la trombopoyesis y la leucopoyesis, según corresponda el caso.

En el humano, la hematopoyesis comienza desde la sexta semana de gestación, donde se ha demostrado que el hígado es el principal productor de células sanguíneas, para que posteriormente en el tercer trimestre y una vez conformada la médula ósea, ésta última sea la encargada de suplir dicha función.

La mayor parte de las células inmunes serán producidas por medio de la médula ósea, aunque no debe dejar de mencionarse al bazo, riñón, timo y ganglios linfáticos, como productores minoritarios del tejido sanguíneo.

La célula progenitores son células pluripotenciales, es decir células troncales hematopoyéticas. Al diferenciarse, éstas serán células unipotenciales formadoras de colonias precursoras de eritrocitos, plaquetas y linfocitos (Figura

2). Para una correcta hematopoyesis se requieren reguladores del proceso, como citocinas, interleucinas, hormonas, factores inductores de apoptosis, nutrientes como vitaminas, hierro y ácido fólico. (Manascero Gómez A., 2003)

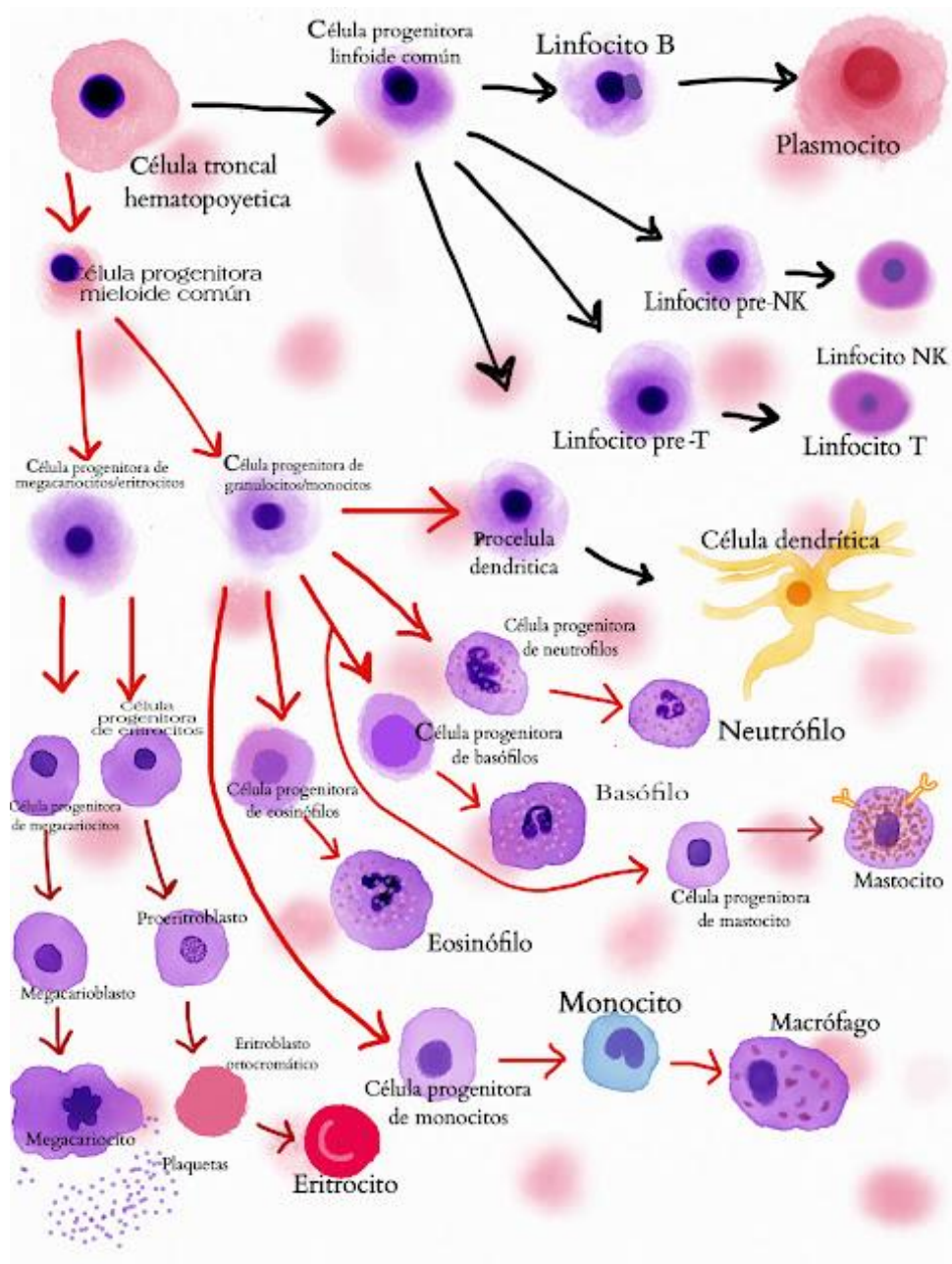


Figura 2. Esquema de la hematopoyesis. Se representan dos vías a partir de una célula troncal pluripotencial, la vía representada por flechas negras corresponde a la maduración de células linfoides que se diferencian en células dendríticas y linfocitos NK, T y B. Por otro lado, la vía representada con flechas azules corresponde a la maduración de células mieloides que se diferencian en megacariocitos, eritrocitos, macrófagos, mastocitos, neutrófilos, eosinófilos y basófilos.

2.2 Leucopoyesis

Los leucocitos como se mencionó anteriormente se clasifican por su origen, en el linaje linfoide que se produce en la médula ósea y en el tejido linfoide y en el linaje mieloide que sólo se produce en la médula ósea. En la médula ósea las células troncales pluripotenciales se diferencian en granulocitos por acción de diversas interleucinas (Figura 3). (Carr J., Rodack B., 2017)

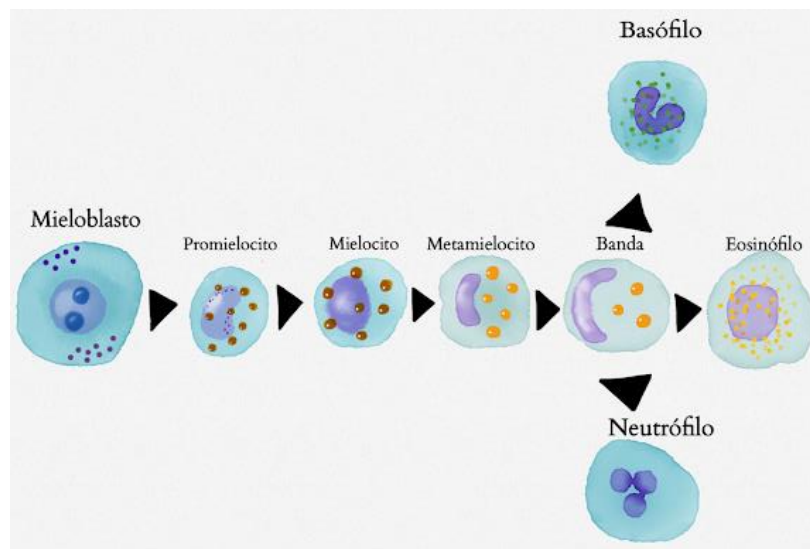


Figura 3. Esquema de la diferenciación de los granulocitos. Cada célula representa las fases de diferenciación del mieloblasto hasta convertirse en basófilo, eosinófilo o neutrófilo.

2.3 Neutrófilos

El neutrófilo es el tipo de leucocito más abundante en sangre, y por su morfología nuclear también se le conoce como leucocito polimorfonuclear ya que su núcleo puede estar dividido en dos o hasta cinco lóbulos, siendo más común la forma trilobular. El neutrófilo es parte de las células de granulación ya que en su citosol albergan tres diferentes tipos de gránulos. En su membrana poseen receptores para el complemento Cb3 de inflamación, para anticuerpos FcR y quimiocinas. Estas células tienen una vida de 6 horas hasta 7 días dependiendo la función que ejerzan. (Kubes., 2018 ; Cortés J., 2021 ; Hernández A., 2022)

Para el neutrófilo, al igual que para los demás granulocitos todo comienza con la célula progenitora mieloide común, que se diferenciará en alguno de los 3 tipos de “blastos” megacarioblasto, monoblastos o mieloblastos. Una vez que se

diferencia en mieloblasto ocurre un ligero aumento de tamaño, lo cual caracteriza su evolución a promielocito, en este estadio la cromatina sufre un cambio morfológico al engrosarse, y muy característicamente comienza la aparición de gránulos primarios azurófilos. Al dividirse los promielocitos pasan a convertirse en mielocitos con una cromatina mucho más condensada y gruesa, también se hacen presentes los gránulos secundarios específicos (los cuales diferencian al neutrófilo de basófilos y eosinófilos) (Tabla 2). A partir de este nivel de maduración el núcleo presenta hendiduras y una cromatina aún más gruesa, indicador de la maduración de un metamielocito, al hacerse más grande dicha hendidura y abarcar más del 50% del núcleo se le denomina célula en banda, siguiendo su desarrollo, más adelante pueden ser distinguidos sus diversos lóbulos unidos entre sí por filamentos imperceptibles al microscopio óptico, una vez bien definidos los lóbulos habrá llegado a su maduración total un neutrófilo segmentado (Figura 4).(Carr J., Rodack B., 2017)

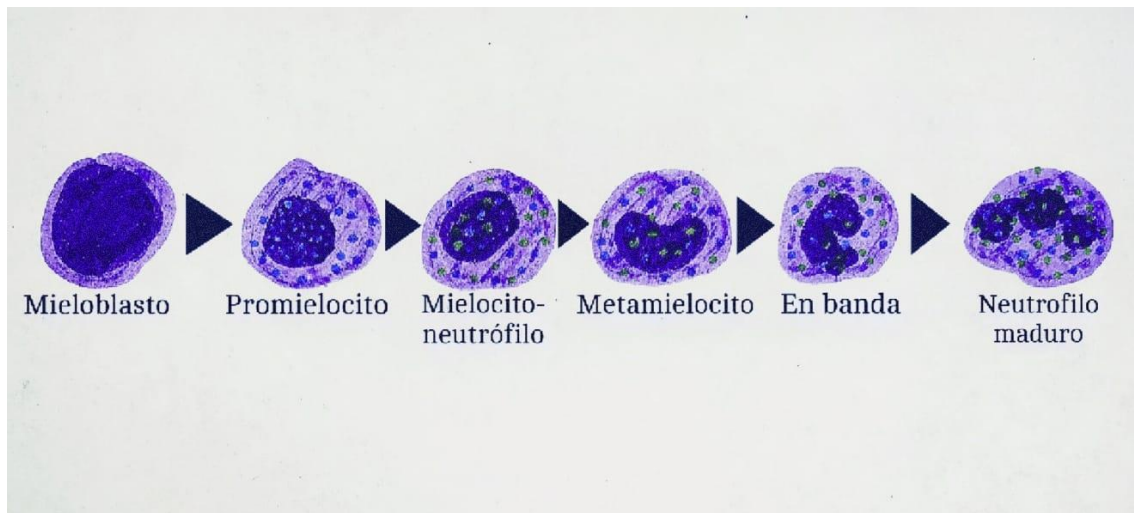


Figura 4 Proceso de maduración del neutrófilo, comenzando por mieloblasto hasta llegar a ser un neutrófilo maduro.

2.3.1 Funciones de los neutrófilos

Los neutrófilos poseen varios procesos para hacer frente a distintas amenazas, cumplen con funciones reguladoras y antimicrobianas: la desgranulación, formación de trampas extracelulares, la formación de especies reactivas de oxígeno y la fagocitosis.

La desgranulación es un proceso mediante el cual los neutrófilos desprenden pequeños gránulos con contenido enzimático para atacar un antígeno (Tabla 2).

Otro proceso antimicrobiano del neutrófilo es la formación de trampas extracelulares (NET) que se activa cuando los patógenos son demasiado grandes para ser fagocitados. Estas trampas están formadas por fibras de cromatina y proteínas de los gránulos citoplasmáticos. (Rosales, C. 2018; Hernández, A. 2022)

Tabla 2. Gránulos de neutrófilos

<i>Tipo de granulo</i>	<i>Primario</i>	<i>Secundario</i>	<i>Terciario</i>
<i>Contenido</i>	• Mieloperoxidasa • Defensinas • Lisozimas • Proteinasa 3 • Catepsina G • Elastina de neutrófilos	• Lactoferrina • La M-ficolina • Lisozima	• Gelatinasa • Metaloproteinasa de matriz 2 • Metaloproteinasa 9 de matriz 9 • Arginasa

La formación de especies reactivas de Oxígeno (ROS) es otro proceso que se logra a través de la NADPH oxidasa (un complejo multiprotéico), que mediante su activación química transfiere electrones para unirse con la molécula de oxígeno presente en la célula, esto genera el anión super oxido que hace una reacción de oxido-reducción convirtiéndose en peróxido de hidrógeno, este compuesto oxida el hierro ferroso para producir el radical hidroxilo el cual es altamente reactivo y toxico ante patógenos. ROS es un mecanismo de defensa fundamental en distintos procesos de respuesta inmune innata de los neutrófilos, entre estos procesos inmunes podemos mencionar su intervención en la desgranulación, apoptosis, formación de NET y la importante fagocitosis. (Rosales, C. 2018; Hernández, A. 2022)

2.4 Fagocitosis

La fagocitosis es un proceso celular que tiene como objetivo la eliminación de partículas de diámetro mayor a 0.5 μm , ya sean antígenos o células inducidas a apoptosis, razón por la cual es un procedimiento esencial para mantener el equilibrio y bienestar celular. Las células fagocíticas por excelencia son los osteoclastos, las células dendríticas, los monocitos, los macrófagos y por su puesto neutrófilos. sin embargo, las células endoteliales, epiteliales y fibroblastos también pueden cumplir con esta función ya que pueden ingerir y eliminar los sobrantes de células muertas.

Para todas las células con capacidad fagocítica el método de fagocitosis es el mismo y consta de cinco fases: La detección, la internalización, la formación de vacuola llamada fagosoma, la maduración del fagosoma y finalmente la exocitosis. (Figura 5) (Uribe-Querol, E., & Rosales, C. 2020).

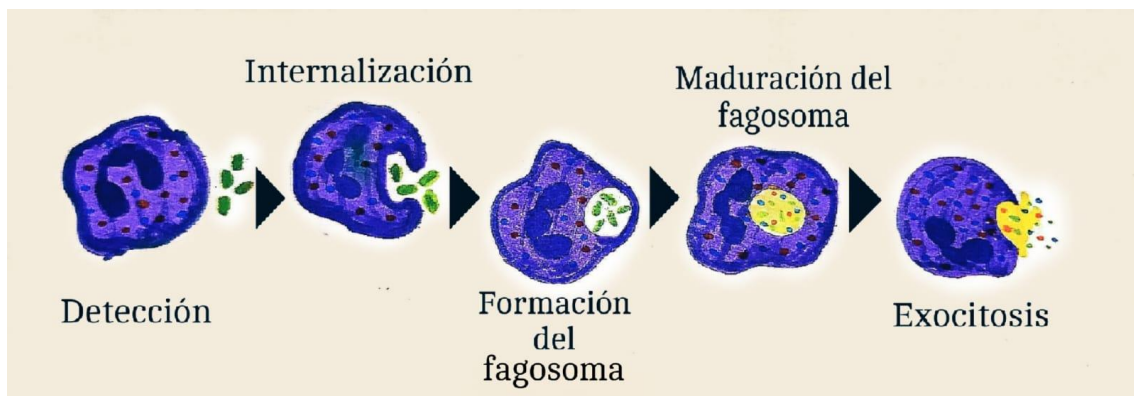


Figura 5 La fagocitosis y su proceso

2.4.1 La detección

La detección de organismos extraños se inicia atrayendo a las células fagocíticas presentes en el torrente sanguíneo al lugar de la actividad inmune por medio de sustancias quimiotácticas. Las células fagocíticas cuentan con receptores que pueden clasificarse en opsónicos, y no opsónicos. Los opsónicos detectan indirectamente al organismo mediante opsoninas, las opsoninas son las proteínas encargadas de marcar las partículas extrañas. Los no opsónicos, también llamados receptores de reconocimiento de patrones son aquellos donde puede iniciarse directamente la fagocitosis y que reconocen patrones moleculares asociados a patógenos. Cabe destacar que dentro de estas divisiones hay varias posibilidades de activar y hacer más eficiente la fagocitosis, por ejemplo, mediante el aumento de la afinidad de la célula diana, la activación del sistema de complemento o de quimioatrayentes involucrados para atraer a los fagocitos.

Una anotación importante es la participación de las integrinas y de la inmunoglobulina (Ig) G, éstas sirven como “puente” para la interacción de los receptores fagocíticos y la partícula a fagocitar. Sin ayuda de IgG e integrinas los receptores fagocíticos de la membrana de los leucocitos (de aproximadamente 5 nanómetros) no podrían lograr un contacto óptimo con su objetivo, ya que junto a esos pequeños receptores fagocíticos se encuentran prolongaciones mucho mas largas y abundantes de glicoproteínas membranales que conforman el glicocáliz. Gracias a la presencia de IgG es posible que los receptores de

anticuerpo y factores de complemento tengan mejor adherencia, y gracias a las integrinas activadas por los receptores de anticuerpo se facilita aún más la unión a receptores fagocíticos. (Figura 6) (Rosales, C. & Uribe-Querol, E. 2017).

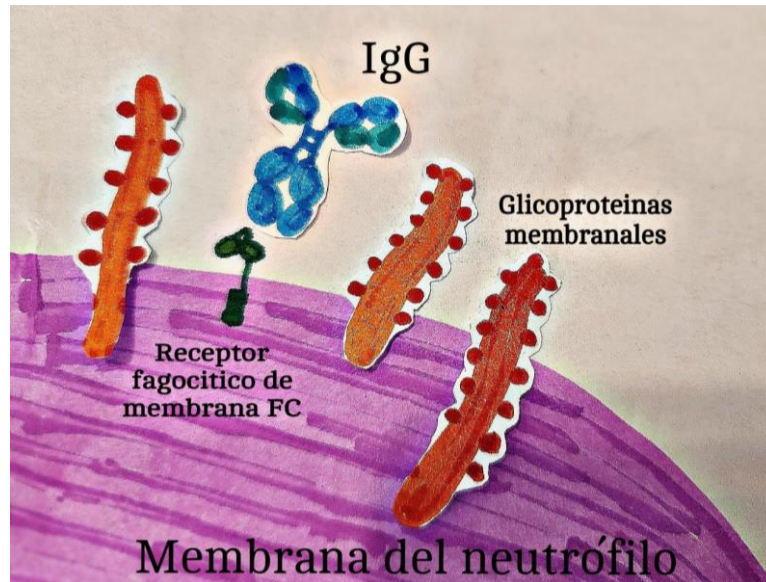


Figura 6 Comparación en tamaño del receptor fagocítico

2.4.2 La internalización

Una vez que la célula fagocítica ha detectado una partícula marcada para su eliminación é ido tras ella, ocurre un cambio estructural en la membrana plasmática y en la actina que conforma su citoesqueleto, dándole una capacidad de plasticidad a la célula increíble. La movilidad de la membrana es observable al microscopio como una denominada copa fagocítica, siendo la forma que adopta la célula fagocítica al tener un primer contacto físico con su objetivo. La copa fagocítica sigue extendiendo sus prolongaciones citoplasmáticas distales hasta fusionarse, separando así la membrana plasmática y generando un fagosoma que envuelve al objetivo.

Cabe destacar que esté fenómeno de internalización es iniciado por las coroninas, la colfilina y la gelsolina, que al ser proteínas desramificadoras y separadoras de actina F, dan paso a una despolimerización de la membrana dándole la característica de plasticidad, con este evento resultan monómeros de actina G y se exponen receptores no ligados a membrana que ayudan a optimizar la fagocitosis. Posteriormente, ocurre un nuevo proceso de

polimerización de actina G, mediado por medio de distintas proteínas. (Rosales, C. & Uribe-Querol, E. 2017)

2.4.3 El fagosoma

El fagosoma se establece al eliminar la actina F de la base de la copa fagocítica y así formar una vacuola interna con el organismo extraño dentro de ella, esta vacuola se denomina fagosoma.

2.4.4 Maduración del fagosoma

Este paso implica la digestión de la partícula extraña por medio de los gránulos de lisozimas contenidos en las células fagocíticas. Este proceso conlleva una serie de fusiones y fisiones de vacuolas, dicha serie de eventos puede dividirse en tres fases del fagosoma: temprano, intermedio y tardío. En la última etapa el fagosoma se une al lisosoma y se forma el fagolisosoma.

El fagosoma temprano se caracteriza por acidificar su contenido al fusionarse con endosomas de reciclaje y clasificación, este estadio es inducido por GTPasa Rab5. El fagosoma intermedio, esta mediado por el complejo vpsC-clasificación de proteínas homotípicas, que convierte los endosomas Rab5 a Rab 7, que se encargan de mediar la fusión del fagosoma con endosomas tardíos clasificando las proteínas que serán degradadas de las que serán recicladas. En la fase del fagosoma tardío Rab7 recluta proteínas lisosomales que ponen en contacto al fagosoma con los microtúbulos membranales para poder completar la fusión membranal. Para este punto, el pH del fagosoma se acidifica. Por último, el fagolisosoma está establecido una vez que se fusionan el lisosoma y el fagosoma, el pH se ha acidificado aún más llegando a 4.5. En el contenido del fagolisosoma se pueden encontrar lactoferrinas, enzimas hidrolíticas y además se pueden crear uniones con iones Cl^- que da como resultado ácido hipocloroso. (Uribe-Querol, E., & Rosales, C. (2020) (Rosales, C. & Uribe-Querol, E. 2017)

2.5 Inflamación

La inflamación es un evento categorizado de respuesta inmune innata, ya que es inespecífica y se manifiesta en cuanto ocurre un daño celular o tisular. Desde el siglo I, un autor conocido como Celso, sentó las bases de los puntos cardinales de la inflamación: rubor, dolor, calor, tumefacción y posteriormente se agregó pérdida de la función. La inflamación tiene repercusiones a nivel vascular que incluyen la vasodilatación, que da pie a la permeabilidad vascular lo cual permite la adherencia de leucocitos al endotelio. A grandes rasgos, lo anterior tiene como resultado la manifestación de los puntos cardinales de la inflamación, y es conocido como inflamación aguda. Cuando la inflamación es persistente por algún patógeno no degradable o autoinmunidad se le considera inflamación crónica, diferenciándose una de la otra principalmente por la concentración de las células sanguíneas participantes, en cada uno de los procesos. (Marcos-Gómez B., et. al., 2008)

En la inflamación se dan algunos cambios a nivel vascular para permitir que se lleve a cabo de una manera rápida y eficiente. La vasodilatación es el inicio para permitir el aumento de flujo sanguíneo con el fin de una mayor afluencia celular en la zona afectada, la permeabilidad (porosidad) de los vasos sanguíneos aumenta y debido a la contracción de las células endoteliales los vasos sanguíneos secretan exudado plasmático, dado que el plasma esta saliendo de la circulación vascular la sangre circulante se torna mas viscosa y el flujo se vuelve más lento, este evento produce la acumulación eritrocitaria en una zona delimitada, lo cual produce rubor y calor. Los glóbulos blancos circulantes tienen una implicación llamada diapédesis donde dado a la permeabilidad vascular pueden adherirse fácilmente al endotelio y migran a través de los poros que las células endoteliales han dejado con su contracción, permitiendo la migración de leucocitos al plasma intercelular, cabe destacar que en cada una de las fases en la cual se ven implicados leucocitos el mayor porcentaje pertenece a los neutrófilos, las proteínas plasmáticas (categorizadas por subsistemas: el de complemento, la cascada de la coagulación y la cascada de las cininas) y mediadores químicos tienen una gran implicación en este proceso. (McCaner Hueter., 2020)

2.5.1 Sistema de complemento

La activación de este sistema formado por proteínas plasmáticas es uno de los más poderosos métodos de inmunidad implicados en la inflamación, la función del sistema de complemento se enfoca mayormente contra bacterias y su tarea consiste en la destrucción de patógenos mediante lisis bacteriana, activación y colaboración con otros componentes inmunitarios. (McCaner Hueter., 2020)

2.5.2 Cascada de la coagulación

Este sistema es producto de proteínas activadas en efecto domino que al formar un coagulo sanguíneo por medio de una malla de fibrina que atrapa plaquetas y posteriormente eritrocitos, fagocitos y algunos microorganismos. El mecanismo de atrapar mediante la red de fibrina trae beneficios como detener la propagación de la infección, la eliminación de los microorganismos atrapados por medio de células infiltrantes y la formación de un coagulo para el inicio de la reparación de la zona afectada.

Las sustancias responsables del inicio de la coagulación engloban al colágeno, proteinasas, calicreína y plasmina y por parte del antígeno las endotoxinas. La cascada de la coagulación posee dos vías de inicio: la vía intrínseca (que es activada cuando hay una pared vascular dañada) y la vía extrínseca o del factor tisular (ocurre cuando hay células endoteliales dañadas). (McCaner Hueter., 2020)

2.5.3 Sistema de las cininas

Un subproducto de la cascada de coagulación activa al sistema de las cininas; el factor XII o de Hageman, este convierte la precalicreína plasmática en calicreína para que posteriormente sea producida bradicinina, la cual produce dilatación de los vasos sanguíneos, al unirse con las prostaglandinas estimulan las terminaciones nerviosas produciendo dolor, aumenta la permeabilidad capilar y contracción del músculo liso, así como aumenta la quimiotaxis para los neutrófilos. (McCaner Hueter., 2020)

2.5.4 Citocinas del proceso inflamatorio

Las citocinas son encargadas de la comunicación celular para que la inflamación pueda llevarse a cabo, estas moléculas se unen a receptores de membrana específicos para la regulación inflamatoria, ya que pueden ser agentes proinflamatorios o antiinflamatorios. Las citocinas también llamadas quimiocinas tienen dos características que las hacen especiales: La primera es su condición pleiotrópica, lo cual nos indica que pueden tener más de una actividad biológica, la segunda condición es su capacidad sinérgica, ya que además de cumplir sus propias funciones biológicas, en combinación con otras moléculas pueda exceder sus funciones o funcionar como antagonista a ellas. Las citocinas mayores, también llamadas interleucinas (IL) o interferones son de las moléculas más involucradas en la inflamación como lo muestra la Tabla 3. (McCaner Hueter., 2020)

Tabla 3. Citocinas involucradas en el proceso de inflamación

Citocinas mediadoras de los subprocesos inflamatorios	
Proceso	Citocina
Vasodilatación	Prostaglandinas, Óxido nítrico, Histamina
Limitación de la inflamación	• Interleucina-10 (Inhibe la producción de citocinas) • Factor de crecimiento celular-β (Inhibe la proliferación de macrófagos) • Factor quimiotáctico eosinófilo de la anafilaxia (atrae a los eosinófilos) • Histaminasa, arilsulfatasa (destruyen la histamina y los leucotrienos) • Carboxipeptidasa (degrada C3a y C5a) • Inhibidor de C1 esterasa (degrada complemento, coagulación y cininas) • Cinasas (degradan cininas) • DAF y CD59 (evitan el exceso de activación de C5a)
Permeabilidad vascular	Histamina, Bradicinina, Leucotrienos, PAF (factor activador plaquetario)
Dolor	Prostaglandinas y Bradicinina
Efecto sistémico	<u>Fiebre</u>: IL-1, IL-6, TNF-α, Prostaglandinas. <u>Leucocitosis</u>: Mastocitos, Eosinófilos, Granulocitos, Monocitos, Células Natural Killer. <u>Reactantes de fase aguda</u>: IL-1, IL-6, TNF- α, Proteína C reactiva.
Respuesta inmune	IL1, IL2, IL4, IL5, IL6, IL7 IFN- γ (Interferón gamma)
Fagocitosis	<u>Adherencia y diapédesis</u>: IL-1, TNF-α, C5a, leucotrienos <u>Quimiotaxis</u>: MCF (factor quimiotáctico monocítico), IL-8, ENA-78 (atractivo de neutrófilos epitelio/dermóides), NCF (factor quimiotáctico de los neutrófilos), ECF-A (factor quimiotáctico eosinófilo de la anafilaxia) y calicreína <u>Envolvimiento y fagocitosis</u>: C3b y IgG (opsoninas)

Planteamiento del problema

La obesidad es una enfermedad que promueve un estado inflamatorio crónico que afecta a más del 70% de la población mundial, siendo México el país número seis con este problema de salud pública. En los últimos 30 años no solo no ha disminuido la cifra de personas con obesidad, sino que ha aumentado en las nuevas generaciones. Las personas con esta enfermedad pueden padecer síndrome metabólico y padecer de infecciones con más frecuencia. Los neutrófilos son la primera línea de defensa ante agresiones causadas por microorganismos, y se trasvasan de manera rápida hacia sitios de inflamación. Sin embargo, su papel en estadios de inflamación crónica como el caso de la obesidad y el sobrepeso han sido poco estudiados.

Justificación

El papel funcional de los neutrófilos en estados de inflamación crónica de bajo grado no ha sido estudiado. El conocimiento de la capacidad de los neutrófilos para fagocitar microorganismos es muy relevante pues las personas con problemas de obesidad pueden desarrollar síndrome metabólico y su capacidad de combatir infecciones se ve limitada. En este trabajo evaluamos la capacidad fagocítica de los neutrófilos en individuos con un índice de masa corporal menor o igual a 25 ($IMC \leq 25$) y con un índice de masa corporal mayor a 25 ($IMC > 25$).

Hipótesis

La fagocitosis de neutrófilos sanguíneos de individuos con un $IMC \leq 25$ es mayor que la fagocitosis de neutrófilos sanguíneos de individuos con un $IMC > 25$.

Objetivo general

Comparar la actividad fagocítica de neutrófilos en personas con diferentes índices de masa corporal

Objetivos particulares

- Calcular el número de células fagocíticas de neutrófilos sanguíneos de personas con un IMC ≤ 25
- Calcular el número de células fagocíticas de neutrófilos sanguíneos de personas con un IMC > 25
- Calcular el índice fagocítico de neutrófilos sanguíneos de personas con un IMC ≤ 25
- Calcular el índice fagocítico de neutrófilos sanguíneos de personas con un IMC > 25
- Comparar la fagocitosis de los neutrófilos provenientes de individuos con IMC < 24.9 con individuos con IMC > 25

Materiales y Métodos

Tipo de estudio

Observacional, experimental, *in vitro*

Voluntarios

Todos los voluntarios firmaron un consentimiento informado

Criterios de inclusión:

1. Voluntarios con un IMC ≤ 25
2. Voluntarios con un IMC > 25
3. Edad mayor a 18 años

Purificación de neutrófilos

Materiales y disoluciones:

- Tubos de centrifuga 15 y 50 mL
- Hielo
- Centrifuga
- Gradilla de tubos Eppendorf
- Campana de flujo laminar
- Heparina (1000 U/mL)
- Ficoll-Paque
- Disolución hipotónica e hipertónica pH 7
- Jeringa para insulina
- Pipetas de transferencia
- Sistema de vacío
- Micropipetas y puntas
- Muestra sanguínea
- Dextrán T500 6%
- PBS 1X pH 7.4

Procedimiento:

Colocar en un tubo de 15 mL, 0.25 mL de heparina (1000 U/mL) y 2 mL de Dextrán T500 6%, adicionar 10 mL de sangre fresca y mezclar suavemente por inversión. Posteriormente, dejar reposar 45 minutos a temperatura ambiente, colocar en un tubo de 15 mL, 5 mL de Ficoll-Paque y mantener en hielo hasta su uso. Transcurrido el tiempo, tomar el suero y colocarlo por la pared del tubo que contiene el Ficoll-Paque, evitar que se mezclen, después, centrifugar a 1900 rpm a 4°C durante 20 minutos.

Una vez que termine la centrifugación, eliminar el sobrenadante y resuspender la pastilla con PBS a 4°C en un tubo de 10 mL. Centrifugar a 1600 rpm a 4°C durante 5 minutos. Posteriormente, eliminar el sobrenadante. Raspar suavemente la pastilla y realizar un choque hipotónico. Para ello, adicionar 10 mL de solución hipotónica fría, mezclar y dejar actuar durante 1 minuto. Inmediatamente después, adicionar 10 mL de solución hipertónica y mezclar. Centrifugar a 1600 rpm a 4°C durante 5 minutos. Finalmente, eliminar el sobrenadante, raspar suavemente la pastilla y resuspender en 10 mL de PBS frío para su conteo en el hemocitómetro.

Conteo celular

Material y disoluciones:

- Cámara de Neubauer
- Azul de tripán
- Micropipetas y puntas
- Agua bidestilada

- Contador
- Microscopio
- Neutrófilos purificados

Procedimiento:

Lavar con agua bidestilada la cámara de Neubauer y el cubreobjetos. Secar con aire. Posteriormente, preparar dilución de células y azul de tripán 1:1, colocar 10 μ L de la dilución en un panel de la cámara de Neubauer.

Observar las células al microscopio y contar los cuatro cuadrantes de la cámara de Neubauer y obtener el número total de células con la siguiente fórmula:

El número de neutrófilos por mililitro se calcula sacando el promedio de células por cuadrante por el factor de dilución por 10,000.

Ensayo de fagocitosis

Material y disoluciones:

- | | |
|--------------------------------|--|
| - Tubos Eppendorf 1.5 mL | - Neutrófilos purificados |
| - Micropipetas y puntas | - PBS 1X pH 7.4 |
| - Baño a temperatura constante | - Estimulador fMLP a 10^{-8} M |
| - Gradilla para tubos | - Perlas opsonizadas (IgG) o sin opsonizar |
| - Hielo | - 0.83% NH_4Cl |
| - Centrifuga | - Agua bidestilada |
| - Sistema de vacío | - Agua desionizada o glicerol 70% |
| - Porta y cubreobjetos | - Barniz de uñas |
| - Mechero | - Microscopio |

Procedimiento:

Anadir 200,000 neutrófilos en cada tubo Eppendorf. Posteriormente, los neutrófilos se centrifugaron a 1,400 rpm x 6min a 4°C y se eliminó el sobrenadante. El botón celular se resuspendió con 100 μ l de buffer de fagocitosis para cada tubo.

De esta mezcla, se tomaron 100 µl (de buffer de fagocitosis y neutrófilos) y se colocaron en un tubo Eppendorf limpio y se agregaron 2.5 µl de perlas opzonizadas a la mitad de los tubos Eppendorf, 2.5 µl de perlas no opzonizadas al resto de los tubos. A la mitad de cada uno de los dos grupos se le agregó fMLP a 10^{-8} M. El contenido de los tubos se mezcló por inversión. Posteriormente, los tubos se incubaron a 37°C (en baño maría) por 30 minutos. Después de la incubación, los tubos se incubaron 3 minutos a 4°C (baño de agua de hielo). Inmediatamente después, los tubos se centrifugaron a 4,000 rpm durante 2 minutos y se eliminó cuidadosamente el sobrenadante con aspiración suave. El botón celular se resuspendió raspando el tubo en la gradilla y se agregaron 100 µl de tripsina fría. Los tubos fueron incubados entonces por 15 minutos a 4°C (baño de agua de hielo). Pasado este tiempo, se agregaron 500 µl de PBS frío y se centrifugaron 2 minutos a 4,000 rpm. Se removió el sobrenadante, se resuspendió el botón celular y se agregaron 150 µl de PBS. De cada tubo, se tomó toda la muestra y se colocó en un pozo de una caja de 48 pozos, distribuyendo homogéneamente con movimientos en cruz. Cada muestra se observó en el microscopio.

Índice fagocítico

Los datos que se usaron para la obtención del índice fagocítico fueron los siguientes, aplicados a la fórmula que se describe a continuación:

$$If = \frac{x(Variable)}{y(constante)} (Variable)$$

Por lo tanto, si sustituimos con nuestros valores aplicables al estudio tenemos qué:

$$If = \frac{Cantidad\ de\ células\ fagocitadoras}{Cantidad\ base\ de\ células} (Perlas\ fagocitadas)$$

Estadística

Inicialmente se pensó en hacer una prueba de Anova para diferenciar entre los cuatro grupos. Sin embargo, los resultados no pudieron ser analizados de manera estadística por la presencia de otras variables que no se consideraron de inicio.

Resultados

Características de los voluntarios

En este estudio piloto participaron ocho voluntarios, se recabó información antropométrica, si padecían alguna enfermedad y el tratamiento farmacológico que tenían (Tabla 4)

Tabla 4. Características de los voluntarios

N° de donador	Peso (kg)	Talla (m)	Medida de cintura (cm)	Medida de cadera (cm)	IMC	Padecimientos	Tratamiento médico con fármacos referido
1	55	1.71	76	88	18.8	No refiere	No
2	107.2	1.70	117	125	37.1	Úlcera varicosa	Si
3	92	1.66	105	115	33.4	S.O.P y depresión	No
4	75.40	1.58	100	107	30.2	Diabetes tipo 2	No
5	72	1.61	94	97	27.9	Diabetes e hipertensión	Si
6	70	1.58	96	105	28	No refiere	No
7	76	1.59	90	106	30	Psoriasis	No
8	107	1.83	98	113	32	No refiere	No

Los neutrófilos poseen un índice fagocítico del doble cuando son expuestos a perlas opsinizadas y son activados con fMLP en la persona con peso normal.

La persona voluntaria con peso normal sin comorbilidades presentó un porcentaje de fagocitos del 5% y el número de perlas fagocitadas fue de 5 (Tabla 5). Al agregar fMLP a las perlas, el porcentaje de fagocitos fue del 23% y el número de perlas fagocitadas fue de 31 (Tabla 6). En el caso de la condición con perlas opsinizadas el porcentaje de fagocitos fue del 48% y el número de perlas fagocitadas fue de 80. Finalmente, cuando se agregó fMLP a las perlas opsinizadas, el porcentaje de fagocitos fue del 66% y el número de perlas fagocitadas fue de 131. Estos datos muestran el incremento en el índice fagocítico. El índice fagocítico en estos pacientes es mayor cuando las perlas

están opsonizadas y casi el doble cuando se activan con fMLP (Tabla 5,6,7,8, Figura 6).

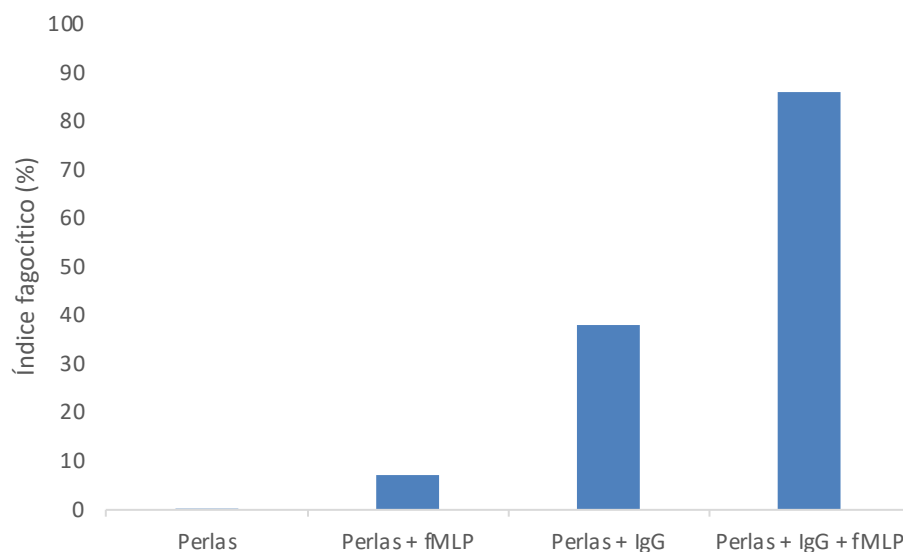


Figura 6. Índice fagocítico de neutrófilos expuestos a perlas, perlas y fMLP, perlas opsonizadas y perlas opsonizadas más el fMLP en el voluntario con peso normal

Tabla 5. Características de fagocitos y fagocitosis usando sólo perlas.

Voluntario	Neutrófilos totales	Neutrófilos fagocitadores	Perlas fagocitadas	Índice fagocítico
PN	100	5	5	0.25%
S	100	5	11	0.55%
S – D – H	100	13	17	2.21%
OBI	100	7	8	0.56%
OBI – DD	100	13	18	2.34%
OBI – Dp – Ov	100	20	20	4%
OBI – Pso	100	3	4	0.12%
OBI – U	100	7	7	0.49%

PN, Peso normal; S, sobrepeso; S, Sobrepeso; D, Diabetes controlada; H, Hipertensión controlada; OBI, obesidad grado I, DD, Diabetes descontrolada; Dp, Depresión; Ov, ovario poliquístico; Pso, Psoriasis; OBI, obesidad grado II; U, Úlcera varicosa.

Los neutrófilos poseen un índice fagocítico de casi el triple cuando son expuestos a perlas opsonizadas y son activados con fMLP en La persona voluntaria con sobrepeso.

La persona voluntaria con sobrepeso sin otras comorbilidades asociadas presentó un porcentaje de fagocitos del 5% y el número de perlas fagocitadas fue de 11 (Tabla 5). Al agregar fMLP a las perlas, el porcentaje de fagocitos fue

del 17% y el número de perlas fagocitadas fue de 21 (Tabla 6). En el caso de la condición con perlas opsonizadas el porcentaje de fagocitos fue del 63% y el número de perlas fagocitadas fue de 102. Finalmente, cuando se agregó fMLP a las perlas opsonizadas, el porcentaje de fagocitos fue del 80% y el número de perlas fagocitadas fue de 208. Estos datos muestran el incremento en el índice fagocítico. El índice fagocítico en este pacientes es mayor cuando las perlas están opsonizadas y casi el triple cuando se activan con fMLP (Tabla 5, 6,7, 8, Figura 7).

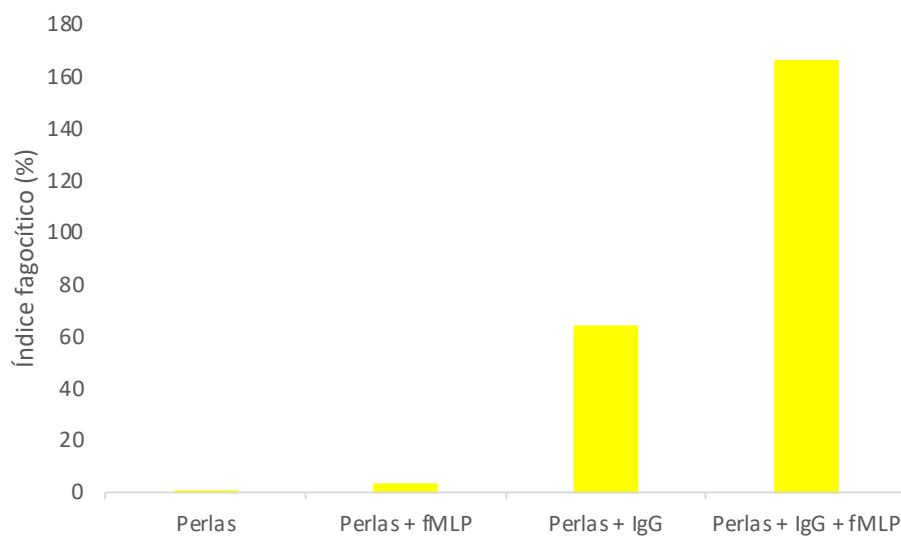


Figura 7. Índice fagocítico de neutrófilos expuestos a perlas, perlas y fMLP, perlas opsonizadas y perlas opsonizadas más el fMLP en el voluntario con sobrepeso.

Tabla 6. Características de fagocitos y fagocitosis usando perlas y fMLP

Voluntario	Neutrófilos contados	Neutrófilos Fagocitadores	Perlas fagocitadas	Índice fagocítico
PN	100	23	31	7.13%
S	100	17	21	3.57%
S – D – H	100	20	32	6.40%
OBI	100	39	62	24.18%
OBI – DD	100	36	64	23.04%
OBI – Dp – Ov	100	11	13	1.43%
OBI – Pso	100	8	12	0.96%
OBI – U	100	11	12	1.32%

PN, Peso normal; S, sobrepeso; S, Sobrepeso; D, Diabetes controlada; H, Hipertensión controlada; OBI, obesidad grado I, DD, Diabetes descontrolada; Dp, Depresión; Ov, ovario poliquístico; Pso, Psoriasis; OBI, obesidad grado II; U, Úlcera varicosa.

Tabla 7. Índices fagocíticos en medio intervenido con IgG: neutrófilos vs. Perlas de látex.

Voluntario	Neutrófilos contados	Neutrófilos Fagocitadores	Perlas fagocitadas	Índice fagocítico
PN	100	48	80	38.40%
S	100	63	102	64.26%
S – D – H	100	48	126	60.48%
OBI	100	40	70	28%
OBI – DD	100	46	165	75.90%
OBI – Dp – Ov	100	11	11	1.21%
OBI – Pso	100	23	36	8.28%
OBI – U	100	39	94	36.66%

PN, Peso normal; S, sobrepeso; S, Sobrepeso; D, Diabetes controlada; H, Hipertensión controlada; OBI, obesidad grado I, DD, Diabetes descontrolada; Dp, Depresión; Ov, ovario poliquístico; Pso, Psoriasis; OBI, obesidad grado II; U, Úlcera varicosa.

Tabla 8. Índices fagocíticos en medio intervenido con IgG: neutrófilos estimulados con fMLP vs. Perlas de látex.

Voluntario	Neutrófilos contados	Neutrófilos Fagocitadores	Perlas fagocitadas	Índice fagocítico
PN	100	66	131	86.46%
S	100	80	208	166.40%
S – D – H	100	90	310	279%
OBI	100	77	117	90.09%
OBI – DD	100	84	275	231%
OBI – Dp – Ov	100	9	11	0.99%
OBI – Pso	100	34	60	20.40%
OBI – U	100	49	100	49%

PN, Peso normal; S, sobrepeso; S, Sobrepeso; D, Diabetes controlada; H, Hipertensión controlada; OBI, obesidad grado I, DD, Diabetes descontrolada; Dp, Depresión; Ov, ovario poliquístico; Pso, Psoriasis; OBI, obesidad grado II; U, Úlcera varicosa.

Los neutrófilos poseen un índice fagocítico de casi el triple cuando son expuestos a perlas opsinizadas y son activados con fMLP en La persona voluntaria con sobrepeso, diabetes e hipertensión controladas.

La persona voluntaria con sobrepeso, diabetes e hipertensión controladas presentó un porcentaje de fagocitos del 13% y el número de perlas fagocitadas fue de 17 (Tabla 5). Al agregar fMLP a las perlas, el porcentaje de fagocitos fue

del 20% y el número de perlas fagocitadas fue de 32 (Tabla 6). En el caso de la condición con perlas opsonizadas el porcentaje de fagocitos fue del 48% y el número de perlas fagocitadas fue de 126. Finalmente, cuando se agregó fMLP a las perlas opsonizadas, el porcentaje de fagocitos fue del 90% y el número de perlas fagocitadas fue de 310. Estos datos muestran el incremento en el índice fagocítico. El índice fagocítico en este paciente es 30 veces mayor cuando las perlas están opsonizadas y casi cinco veces mayor a ésta última condición cuando se activan con fMLP (Tabla 5, 6, 7, 8, Figura 8).

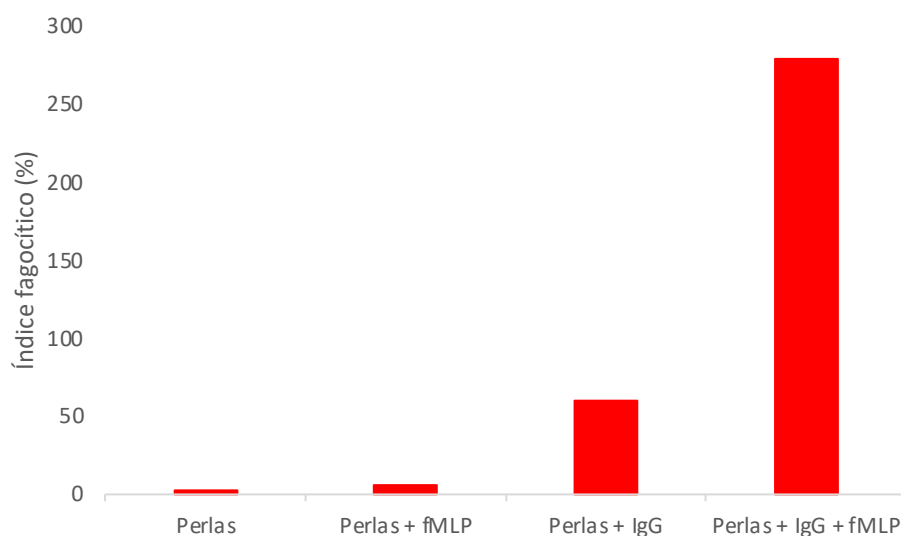


Figura 8. Índice fagocítico de neutrófilos expuestos a perlas, perlas y fMLP, perlas opsonizadas y perlas opsonizadas más el fMLP en el voluntario con sobrepeso, diabetes e hipertensión controladas.

Los neutrófilos poseen un índice fagocítico similar cuando son expuestos a perlas opsonizadas o activados con fMLP. Este efecto tiene una actividad sinérgica que sube casi al triple cuando los neutrófilos son expuestos a las perlas opsonizadas y activados con fMLP en La persona voluntaria con obesidad grado I.

La persona voluntaria con obesidad grado I sin otras comorbilidades asociadas presentó un porcentaje de fagocitos del 7% y el número de perlas fagocitadas fue de 8 (Tabla 5). Al agregar fMLP a las perlas, el porcentaje de fagocitos fue del 39% y el número de perlas fagocitadas fueron 62 (Tabla 6). En el caso de la condición con perlas opsonizadas el porcentaje de fagocitos fue del 40% y el

número de perlas fagocitadas fue de 70. Finalmente, cuando se agregó fMLP a las perlas opsonizadas, el porcentaje de fagocitos fue del 67% y el número de perlas fagocitadas fue de 117. Estos datos muestran un incremento en el índice fagocítico similar en las condiciones donde los neutrófilos se expusieron a perlas opsonizadas o a su activador el fMLP. El índice fagocítico en este pacientes es tres veces mayor cuando los neutrófilos se expusieron a las perlas opsonizadas y fMLP (Tabla 5, 6,7, 8, Figura 9).

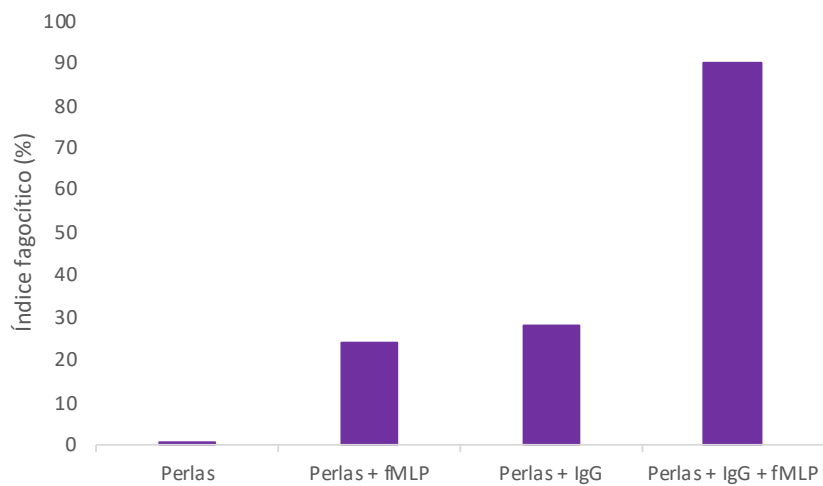


Figura 9. Índice fagocítico de neutrófilos expuestos a perlas, perlas y fMLP, perlas opsonizadas y perlas opsonizadas más el fMLP en el voluntario con obesidad grado I.

Los neutrófilos poseen un índice fagocítico cinco veces mayor cuando son expuestos a perlas opsonizadas y son activados con fMLP que cuando son sólo expuestos a perlas opsonizadas, en La persona voluntaria con obesidad grado I y diabetes descontrolada.

La persona voluntaria con obesidad grado I y diabetes descontrolada presentó un porcentaje de fagocitos del 13% y el número de perlas fagocitadas fue de 18 (Tabla 5). Al agregar fMLP a las perlas, el porcentaje de fagocitos fue del 36% y el número de perlas fagocitadas fueron 64 (Tabla 6). En el caso de la condición con perlas opsonizadas el porcentaje de fagocitos fue del 46% y el número de perlas fagocitadas fue de 165. Finalmente, cuando se agregó fMLP a las perlas opsonizadas, el porcentaje de fagocitos fue del 84% y el número de perlas fagocitadas fue de 275. Estos datos muestran el incremento en el índice

fagocítico cinco veces mayor cuando son expuestos a perlas opsonizadas y son activados con fMLP que cuando son sólo expuestos a perlas opsonizadas, en La persona voluntaria con obesidad grado I y diabetes descontrolada. (Tabla 5, 6,7, 8, Figura 10).

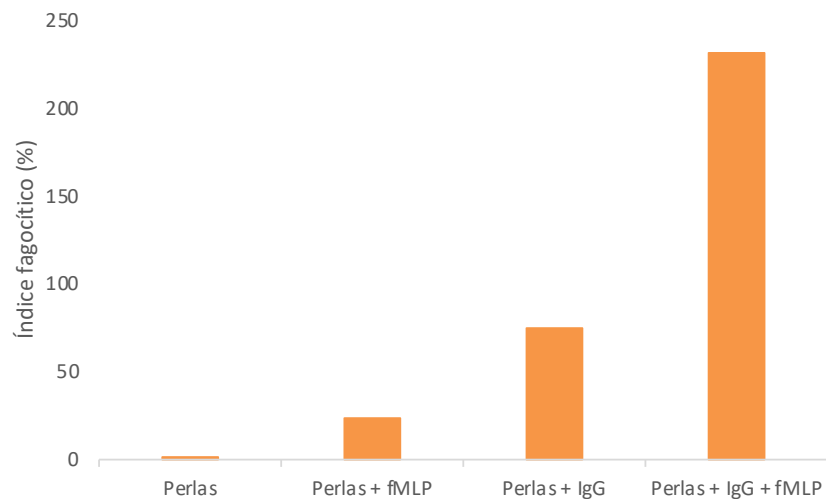


Figura 10. Índice fagocítico de neutrófilos expuestos a perlas, perlas y fMLP, perlas opsonizadas y perlas opsonizadas más el fMLP en el voluntario con obesidad grado I y diabetes descontrolada

Los neutrófilos de una paciente con obesidad grado I, depresión y ovario poliquístico poseen un índice fagocítico similar en todas las condiciones.

La paciente con obesidad grado I, depresión y ovario poliquístico presentó un porcentaje de fagocitos del 20% y el número de perlas fagocitadas fue de 20 (Tabla 5). Al agregar fMLP a las perlas, el porcentaje de fagocitos fue del 11% y el número de perlas fagocitadas fueron 13 (Tabla 6). En el caso de la condición con perlas opsonizadas el porcentaje de fagocitos fue del 11% y el número de perlas fagocitadas fue de 11. Finalmente, cuando se agregó fMLP a las perlas opsonizadas, el porcentaje de fagocitos fue del 9% y el número de perlas fagocitadas fue de 11. Estos datos muestran la función fagocítica de los neutrófilos está inhibida o no se presenta. (Tabla 5, 6,7, 8, Figura 11).

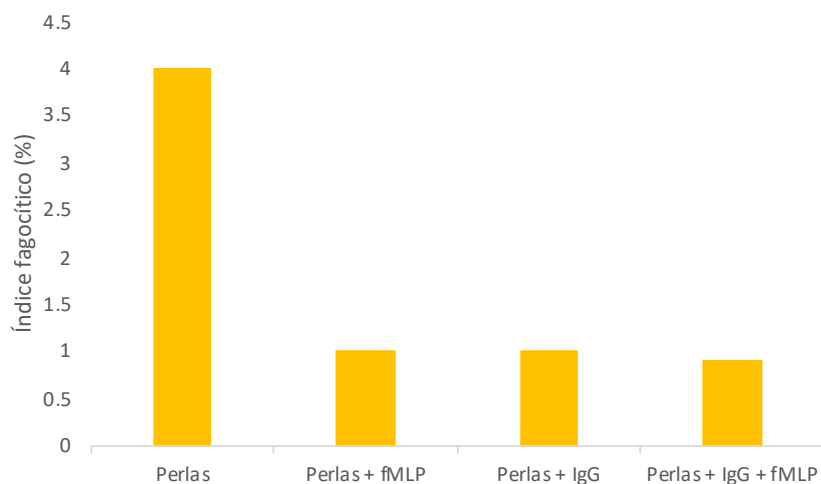


Figura 11. Índice fagocítico de neutrófilos expuestos a perlas, perlas y fMLP, perlas opsonizadas y perlas opsonizadas más el fMLP en el voluntario con obesidad grado I, depresión y ovario poliquístico.

Los neutrófilos de la persona voluntaria con obesidad grado I y psoriasis tienen un índice fagocítico mayor al exponerse a perlas opsonizadas y fMLP.

La persona voluntaria con obesidad grado I y psoriasis presentó un porcentaje de fagocitos del 3% y el número de perlas fagocitadas fue de 4 (Tabla 5). Al agregar fMLP a las perlas, el porcentaje de fagocitos fue del 8% y el número de perlas fagocitadas fueron 12 (Tabla 6). En el caso de la condición con perlas opsonizadas el porcentaje de fagocitos fue del 23% y el número de perlas fagocitadas fue de 36. Finalmente, cuando se agregó fMLP a las perlas opsonizadas, el porcentaje de fagocitos fue del 34% y el número de perlas fagocitadas fue de 60. Estos datos muestran que la función fagocítica mayor se obtuvo en la condición donde se incubaron los neutrófilos con perlas opsonizadas y fMLP. Aún así, esta fagocitosis es muy pobre (Tabla 5, 6, 7, 8, Figura 12)

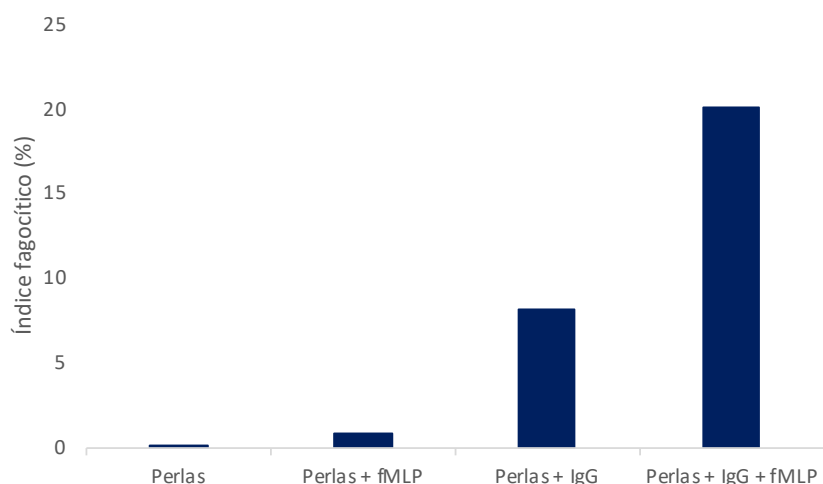


Figura 12. Índice fagocítico de neutrófilos expuestos a perlas, perlas y fMLP, perlas opsonizadas y perlas opsonizadas más el fMLP en el voluntario con obesidad grado I, y psoriasis.

Los neutrófilos de la persona voluntaria con obesidad grado I y úlcera varicosa tienen un índice fagocítico similar al exponerse a solo a perlas opsonizadas o con perlas y fMLP.

La persona voluntaria con obesidad grado I y úlcera varicosa presentó un porcentaje de fagocitos del 7% y el número de perlas fagocitadas fue de 7 (Tabla 5). Al agregar fMLP a las perlas, el porcentaje de fagocitos fue del 11% y el número de perlas fagocitadas fueron 12 (Tabla 6). En el caso de la condición con perlas opsonizadas el porcentaje de fagocitos fue del 39% y el número de perlas fagocitadas fue de 94. Finalmente, cuando se agregó fMLP a las perlas opsonizadas, el porcentaje de fagocitos fue del 49% y el número de perlas fagocitadas fue de 100. Estos datos muestran que el índice fagocítico de los neutrófilos es similar al exponerse solo a perlas opsonizadas o añadirle a las perlas opsonizadas, fMLP. (Tabla 5, 6, 7, 8, Figura 13).

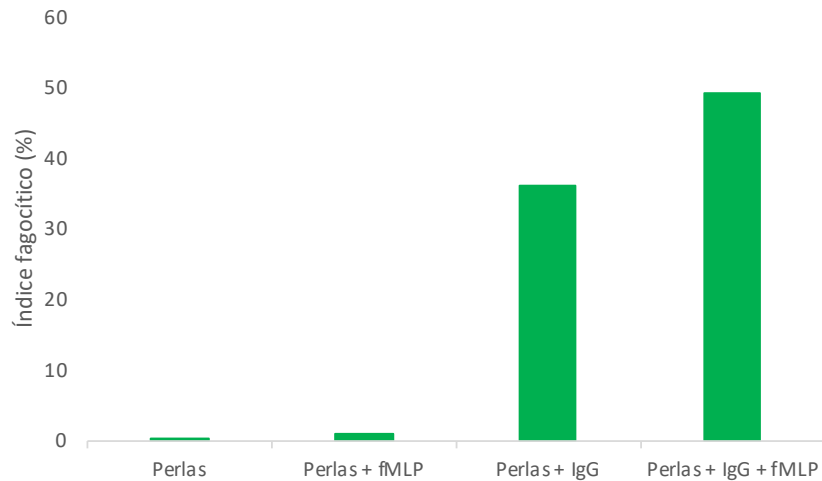


Figura 13. Índice fagocítico de neutrófilos expuestos a perlas, perlas y fMLP, perlas opsonizadas y perlas opsonizadas más el fMLP en el voluntario con obesidad grado II, y úlcera varicosa.

Al integrar los resultados de todos los voluntarios podemos observar que las diferencias en los índices fagocíticos (Figura 14).

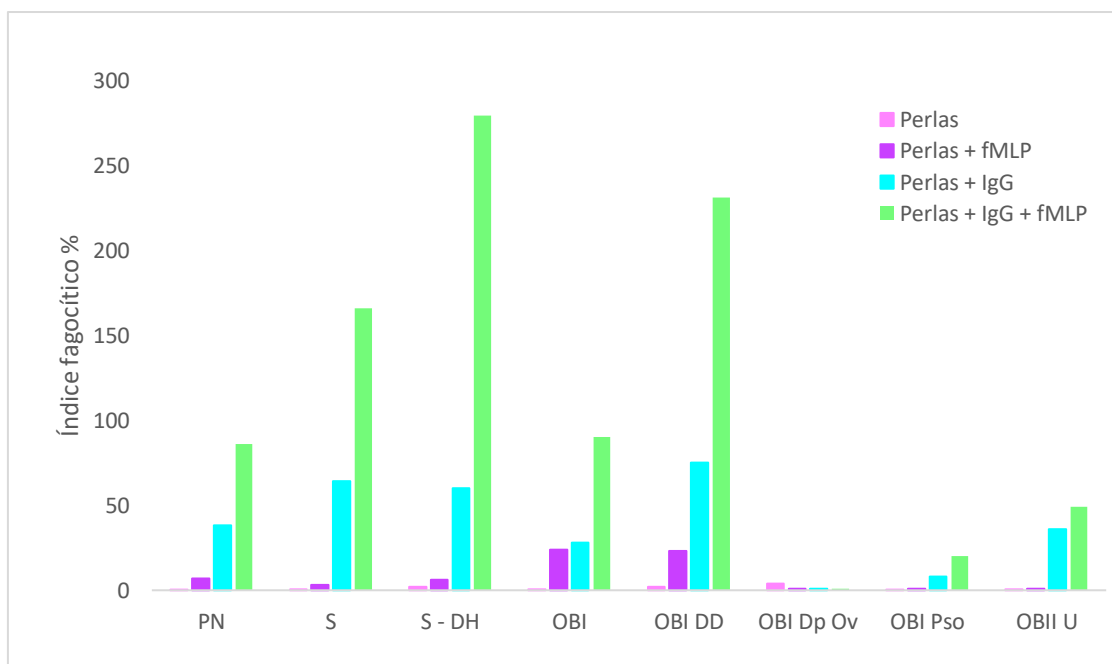


Figura 14. Índice fagocítico de neutrófilos expuestos a perlas, perlas y fMLP, perlas opsonizadas y perlas opsonizadas más el fMLP en todos los voluntarios.

Discusión

En nuestros resultados vemos una clara variación entre la actividad fagocítica de un individuo a otro. En este trabajo se comprobó que son amplias las variables que modifican la respuesta de neutrófilos, siendo las enfermedades inflamatorias un factor clave en la magnitud de la actividad fagocítica de neutrófilos.

Los neutrófilos del voluntario con sobrepeso, potenciaron su índice fagocítico. Sin embargo, la actividad fagocítica de los neutrófilos del voluntario con obesidad grado I no tuvo cambios. En un estudio sobre neutrófilos y actividad inflamatoria en pacientes con diabetes (quienes podían o no padecer obesidad) e insuficiencia cardiaca se demostró que la actividad de los neutrófilos se ve afectada en pacientes hasta 13 años antes de padecer diabetes mellitus tipo 2(DM2), y al ser diagnosticados con DM2 se halló un aumento significativo en la citoquina anti-inflamatoria y anti-proliferativa IL-1RA, esto demuestra que los neutrófilos pueden fungir como un biomarcador predictivo que en condiciones de sobrepeso y obesidad en vías de desarrollo para DM2 se verán aumentados en comparación con un paciente sano, y al ser establecida la enfermedad DM2 se verán altamente estimulados. (Chaar D, Dumont BL, [et al.], 2022)

Es especialmente notoria la drástica disminución del índice fagocítico en los voluntarios que además de padecer obesidad en grado I o grado II presentaban otros padecimientos inflamatorios como la psoriasis, el ovario poliquístico o la úlcera varicosa.

Conclusión

Podemos concluir que en este estudio piloto es posible ver la diversidad de variables para solo un padecimiento (obesidad) eso demuestra la necesidad de la medicina personalizada, ya que para desarrollar y comprender la actividad fagocítica de los neutrófilos es necesario tener criterios de inclusión y exclusión muy bien definidos y mayor número de voluntarios por grupo. Es un hecho que la comprensión de este tema es un factor clave para futuros biomarcadores

predictivos, tratamientos interceptivos antes de establecerse la enfermedad y mejor comprensión de las enfermedades inflamatorias.

Referencias

1. Méndez D. Ranking de obesidad de los países. Diario AS [Internet]; México: 2023 [Citado el 23 de noviembre 2023]. Disponible en: <https://mexico.as.com/actualidad/dia-mundial-de-la-obesidad-ranking-de-obesidad-de-los-paises-n/>
2. Bellido D., López M., Monero S. "Obesidad. Una enfermedad crónica [Internet]. España: Editorial Médica Panamericana, pp. 90-95, 2016 [Citado el 17 de enero 2024]. Disponible en: <https://mieureka-medicapanamericana-com.pbidi.unam.mx:2443/viewer/obesidad-1/i>
3. Del Moral L., Romo T., Carmona Y., Barranca A., Palmeros C., Campos Y. Potential for body mass index as a tool to estimate body fat in young people. Enferm Clin [Internet]. 2023 [Citado el 23 de noviembre de 2023]. 31(2):99-106. PMID: 32933847. DOI: 10.1016/j.enfcli.2020.06.080.
4. Migena L., Giles Y., Farrell E., Ogden J., Parretti H., Frew E., et al. The implications of defining obesity as a disease: a report from the Association for the Study of Obesity [Internet]. 2023 [Citado el 28 de noviembre 2023]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2023.101962>
5. Marcos B., Bustos M., Prieto J., Martínez J., Moreno M. Obesidad, inflamación e insulino-resistencia: papel de los ligandos del receptor gp 130. Análisis San Navarra [Internet]. 2008 [citado el 28 de noviembre 2023]; 31(2):113-123. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272008000300002&lng=es.
6. McCance M., Sue E., Huether C. Fisiopatología: Cap.7 Inmunidad innata, inflamación y curación de las heridas [Internet]. Estados Unidos de America: Editorial Medica Panamericana; 2020 [Citado el 28 de

noviembre 2023]; pp. 188-200. Disponible en: <https://mieureka-medicapanamericana-com.pbidi.unam.mx:2443/viewer/fisiopatologia/ii>

7. Manascero A. Atlas de morfología celular, alteraciones y enfermedades relacionadas [Internet]. Colombia: Pontificia Universidad Javierina; 2003 [Citado el 2 de diciembre 2023] 24-26, 28.
8. Bernadette F.. Hematology. Clinical principles and applications. Editorial Médica Panamericana [Internet]. 2002 [Citado 2 de diciembre 2023]; 126,127.
9. Carr J., Rodack B. Atlas de hematología clínica [Internet]. Estados Unidos de America: Editorial Médica Panamericana, pp. 126-127, 2002 [Citado el 15 de diciembre de 2023]. Disponible en: <https://mieureka-medicapanamericana-com.pbidi.unam.mx:2443/viewer/atlas-de-hematologia-clinica-2/ii>
10. Uribe E., Rosales C. Phagocytosis: Our current understanding of a universal biological process. Front Immunol [Internet]. 2020 [citado el 07 de enero 2024].; 11:1066. Disponible en: <https://doi:10.3389/fimmu.2020.01066>
11. Rosales C. Neutrophil: ¿A cell with many roles in inflammation or reversal cell types?, Front Physiol [Internet]. 2018 [Citado el 7 de enero 2024]; 9:113. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.001>
12. Hernández A. Funciones en los neutrófilos en pacientes con obesidad grado III [Tesis de Maestría]. México: Universidad Nacional Autonoma de México; pp. 15-27, 2022 [Citado el 15 de enero 2024].
13. Scully I., McNeil L., Pathirana S., Singer C., Liu Y., Mullen S., et. al., Neutrophil killing of Staphylococcus aureus in diabetes, obesity and metabolic syndrome: a prospective cellular surveillance study. Diabetol Metab Syndr [Internet]. 2017 [Citado el 16 de enero 2024]; 9:76. Disponible en: <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1186/s13098-017-0276-3>.
14. Kubes P. The enigmatic neutrophil: what we do not know. Cell Tissue Res [Internet]. 2018 [Citado el 20 de enero 2024]; 371(3):399-406. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00441-018-2790-5>

15. Rosales C., Uribe E. Phagocytosis: A fundamental process in immunity. BioMed Res Int. Cap. 2. [Internet]. 2017 [Citado el 20 de enero 2024]. Disponible en: <https://doi:10.1155/2017/9042851>.
16. Gil A. Tratado de nutrición bases fisiológicas y bioquímicas [Internet]. España: Editorial Medica Panamericana. 2017 [Citado el 09 de enero 2024]; pp.295. Disponible en: <https://www.medicapanamericana.com/mx/libro/tratado-de-nutricion-tomo-1>
17. Chaar D., Dumont B., [et al.]. Neutrophils and circulating inflammatory biomarkers in diabetes mellitus and heart failure. American Journal of Cardiology [Internet]. 2022 [Citado el 06 de junio 2024];178:80-88. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2022.05.026>

Todas las imágenes, esquemas y diagramas usados en este proyecto son de
autoría propia.