



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA**

**Caracterización de células mieloides e
inmunoglobulinas en sangre y cordón umbilical de
madres sanas, con sobrepeso y obesidad**

T E S I S

Que para obtener el título de

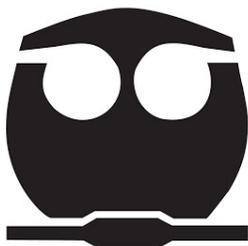
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A :

ISMAEL ALEJANDRO SOTO LÓPEZ

Tutor y asesor:

DR. EN C. ISMAEL MANCILLA HERRERA



CIUDAD DE MÉXICO

DICIEMBRE 2021



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.

COMITÉ TUTORAL

Tutor: Dr. en C. Ismael Mancilla Herrera, SNI I Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes, departamento de Infectología e Inmunología.

Asesor técnico: M. en C. Rodrigo Tonalli Camacho, Instituto Politécnico Nacional.

JURADO ASIGNADO

Presidente: Mónica Berenice Heras Chavarría

Vocal: Gibran Pérez Montesinos

Secretario: Dr. en C. Ismael Mancilla Herrera (asesor)

Suplente 1: Dr. en C. Octavio Castro Escamilla

Suplente 2: Alberto García Lozano

Sitio donde fue desarrollado el tema:

Instituto Nacional de Perinatología 'Isidro Espinosa de los Reyes', Departamento de infectología e inmunología.

Tutor Principal: _____

Asesor Técnico: _____

Sustentante: _____

Para vos, lector.

Para vos, lectora,

Para vos, lectorx.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes por su invaluable apoyo para la realización de este proyecto, al proporcionar las instalaciones, equipo y por el financiamiento del proyecto Exposoma (Protocolo No 2017-2-85). Asimismo, al Dr. en C. Ismael Mancilla Herrera, por darme la oportunidad de pertenecer a su maravilloso grupo de trabajo.

DEDICATORIA

A Concepción López-Torres y Alejandro Soto-Alarcón, por haberme apoyado e impulsado a crecer en lo académico y en lo personal.

Para mis amigos, a los que aún conservo y a los que ya han partido de mi vida.

Para Алекса́ндра Аса́новна Э́лбакя́н, por sus esfuerzos en contra de la creciente inaccesibilidad de la ciencia.

RESUMEN

La obesidad es una condición anormal de incremento de peso debido a la acumulación excesiva de grasa, caracterizada por un estado de inflamación crónica de bajo grado (altos niveles de TNF- α , Il-1, Il-6, Il-8, perfil linfocítico Th1, así como incremento de IgG2) y su curso durante el embarazo trae complicaciones tanto maternas como neonatales, las cuales pueden manifestarse durante los primeros meses de vida, en la niñez, en la adolescencia, e incluso en la adultez temprana. Poco ha sido explorado sobre la influencia de esta condición materna en la descendencia, por lo que el objetivo de este trabajo es dilucidar el impacto de la obesidad materna en recién nacidos, y develar la relación entre el estado materno y el sistema inmune neonatal. Para ello, realizamos un estudio observacional analizando los compartimentos celulares mieloides y humorales de 37 binomios madre/neonato de mujeres con normopeso, sobrepeso y obesidad pregestacional. De cada binomio se realizaron pruebas de correlación entre los parámetros clínicos maternos y los neonatales, así como con la frecuencia de células mieloides activadas y la concentración de inmunoglobulinas en sangre. Encontramos un incremento de granulocitos CD11b+, incremento en la proporción de monocitos clásicos TLR-4+ en el grupo de sobrepeso y disminución de eosinófilos TLR-4+ en el grupo de obesidad, así como un incremento de anticuerpos de la clase IgM en sangre materna en los grupos de sobrepeso y obesidad; mientras que en el cordón umbilical observamos incrementos en la proporción de monocitos TLR-4+, en los niveles de IgG2 y disminución del porcentaje de células supresoras derivadas mieloides en los grupos de sobrepeso y obesidad. Además, reportamos que el peso neonatal se relaciona directamente con la condición de obesidad, mientras que los niveles de nitrógenos maternos con el estado general del neonato. Adicionalmente, la frecuencia de granulocitos y monocitos CD11b+ se relacionan directamente con IMC pregestacional, ganancia de peso gestacional y presión arterial maternos; dichas poblaciones sostienen una correlación inversa con los niveles de nitrógeno en sangre materna. Por su parte, la frecuencia de granulocitos CD11a+ se relaciona inversamente con la glucemia materna y directamente con la presión sistólica materna, e interesantemente, la glucemia materna se relaciona directamente con la frecuencia de monocitos TLR-4+ y con los niveles de anticuerpos

IgE en cordón umbilical. Finalmente, las concentraciones de inmunoglobulinas IgG2 e IgG4 correlacionan directamente con IMC y peso pregestacionales, IgG1 correlaciona directamente con la presión diastólica, e IgE correlaciona directamente con la glucemia materna e indirectamente con la ganancia de peso gestacional. Así, demostramos que el sistema inmune del recién nacido se ve alterado en sus compartimentos mieloide y humoral, bajo la condición de obesidad materna, y proporcionamos información valiosa acerca de la relación existente entre el sistema inmune del recién nacido, y parámetros clínicos maternos lo que destaca la importancia del control perinatal.

Índice temático

Contenido

1	INTRODUCCIÓN.....	1
1.1	OBESIDAD Y SOBREPESO EN MÉXICO Y EL MUNDO	1
1.1.1	CONTEXTO ACTUAL EN MÉXICO DE LA OBESIDAD EN MÉXICO.....	2
1.1.2	ETIOLOGÍA DE LA OBESIDAD Y EL SOBREPESO	3
1.2	NATURALEZA INFLAMATORIA DE LA OBESIDAD	6
1.3	LA RESPUESTA INMUNE BAJO EL CONTEXTO DE LA OBESIDAD.....	11
1.4	PANORAMA DE LA OBESIDAD GESTACIONAL E IMPACTO EN LA PROGENIE.....	32
2	JUSTIFICACIÓN.....	33
3	PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	33
4	HIPÓTESIS.....	34
5	OBJETIVOS.....	34
5.1	OBJETIVO GENERAL	34
5.2	OBJETIVOS PARTICULARES.....	34
6	MATERIALES Y MÉTODOS	35
6.1	CARACTERÍSTICAS DE LA INVESTIGACIÓN	35
6.2	POBLACIÓN DE ESTUDIO	35
6.2.1	Criterios de selección de la población de estudio.....	35
6.2.2	Criterios de inclusión de la población de estudio.....	35
6.2.3	Criterios de exclusión de la población de estudio.....	36
6.2.4	Criterios de eliminación de la población de estudio.....	36
6.3	Muestras	36
6.3.1	Obtención de las muestras.....	36

6.3.2	Inmunomarcaje de superficie.....	36
6.3.3	Algoritmo para la identificación de células mieloides.....	38
6.3.4	Cuantificación de inmunoglobulinas	39
6.4	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	40
6.4.1	Análisis por grupos	40
6.4.2	Pruebas de correlación.....	40
6.4.3	Reducción de dimensionalidad por análisis de componentes principales .	40
7	RESULTADOS	41
8	DISCUSIÓN.....	63
10.	BIBLIOGRAFÍA	73

Índice de figuras

Figura 1. Diferencias en la estructura y función de los adipocitos blancos, beige y pardos.....	7
Figura 2. Funciones generales de los neutrófilos.....	12
Figura 3. Funciones generales de los eosinófilos.....	13
Figura 4. Vida y funciones generales de los basófilos.....	14
Figura 5. Funciones y características de los subtipos de monocitos.....	17
Figura 6. Modelo esquemático del isotipo IgM.....	26
Figura 7. Representación esquemática de los patrones de glicosilación de IgA1 e IgA2.	28
Figura 8. Representación esquemática de la forma dimérica de IgA1 y su forma secretable.....	28
Figura 9. Inmunoglobulinas fetales a lo largo del embarazo y en los primeros años de vida.....	31
Figura 10. Algoritmo de identificación de células mieloides.....	39
Figura 11. Frecuencias de neutrófilos maternos.....	44
Figura 12. Frecuencias de eosinófilos maternos.....	45
Figura 13. Frecuencias de basófilos maternos.....	45
Figura 14. Frecuencias monocitos maternos.....	47
Figura 15. Análisis por grupos para anticuerpos en sangre periférica materna.....	48
Figura 16. Análisis por grupos para neutrófilos de sangre de cordón umbilical.....	49
Figura 17. Análisis por grupos para eosinófilos de sangre de cordón umbilical.....	49
Figura 18. Análisis por grupos para basófilos de sangre de cordón umbilical.....	50
Figura 19. Análisis por grupos para monocitos en sangre de cordón umbilical.....	51
Figura 20. Análisis por grupos para anticuerpos de sangre de cordón umbilical.....	52
Figura 21. Correlaciones de Spearman entre los parámetros clínicos maternos y parámetros clínicos neonatales.....	53
Figura 22. Correlaciones bivariadas entre las células mieloides polimorfonucleares de cordón umbilical y las variables clínicas maternas disponibles.....	55

Figura 23. Biplot del análisis de componentes principales (PCA) entre las células mieloides polimorfonucleares y variables clínicas maternas selectas	56
Figura 24. Correlaciones de Spearman entre los monocitos de cordón umbilical y las variables clínicas maternas	58
Figura 25. Biplot del análisis de componentes principales (PCA) entre monocitos y variables clínicas maternas selectas	59
Figura 26. Correlaciones de Spearman entre niveles de anticuerpos de cordón umbilical y parámetros clínicos maternos	60
Figura 27. Biplot de análisis de componentes principales entre anticuerpos de cordón umbilical y parámetros clínicos maternos.....	61

Índice de tabla

Tabla 1. Propiedades de las diferentes subclases de IgG	21
Tabla 2. Panel de anticuerpos.....	37
Tabla 3. Mesa óptica y configuración del citómetro	37
Tabla 4. Parámetros clínicos maternos	42
Tabla 5. Parámetros clínicos neonatales	43

Glosario

Abreviatura	Significado
AF	Alexa Flúor
APC	Alofococianina
APGAR	Examen de aspecto, pulso, irritabilidad, actividad, respiración a los primeros minutos de vida
BV	Brilliant Violet
CCRn	Receptor de quimiocinas de motivo C-C n
CDn	Clúster de diferenciación n
CENAPRECE	Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades
COX	Ciclooxigenasa
DMT2	Diabetes mellitus tipo 2
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición
ERK	Extracellular signal-regulated kinases
Fc	Fragmento cristizable o fragmento constante de un anticuerpo
FcRn	Receptor neonatal para el Fc
FcγR	Receptor para el Fc γ
FSC	En citometría de flujo “forward scatter detector” o detector frontal de tamaño
HLA-DR	Antígeno leucocitario humano locus DR
IL-n	Interleucina n
IMC	Índice de masa corporal
IFN	Interferón
IL-1Ra	Antagonista del receptor a IL-1
INPer	Instituto Nacional de Perinatología

JAK	Cinasa Jano
LEPR	Receptor de leptina
LP	Filtro Long Pass
LPS	Lipopolisacárido bacteriano
M-MDSCs / MDSCs	Células supresoras derivadas de mieloides
MAPK	Mitogen-activated protein kinases
MC	Monocito clásico
MHC	Complejo mayor de histocompatibilidad
MI	Monocito intermedio
MNC	Monocito no clásico
NO	Óxido de nitrógeno (II)
PC	Componente principal
PCA	Análisis de componentes principales (principal component analysis)
PE	Ficoeritrina
PKC	Proteín cinasa C
PMA	Forbol miristato acetato
rcf	Fuerza centrífuga relativa
ROS	Especies reactivas de oxígeno
SDG	Semanas de gestación
SSC	En citometría de flujo “Side scatter detector”, detector de complejidad/granularidad
TGF	Factor de crecimiento transformante
Th	Linfocito T cooperador
TLR-n	Receptor tipo toll n
TNF	Factor de necrosis tumoral
VEGF	Factor de crecimiento endotelial vascular
VIH	Virus de la inmunodeficiencia humana

1 INTRODUCCIÓN

1.1 OBESIDAD Y SOBREPESO EN MÉXICO Y EL MUNDO

El sobrepeso y la obesidad son condiciones patológicas definidas por la Organización Mundial de la Salud como la acumulación excesiva de grasa, lo que frecuentemente da lugar a una serie de complicaciones para la salud. A modo de indicador numérico, el índice de masa corporal (IMC, el cual se calcula dividiendo el peso en kilogramos entre la talla en metros al cuadrado) es utilizado en adultos para identificar la condición de sobrepeso ($IMC \geq 25 \text{ kg/m}^2$) u obesidad ($IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$). Desde 1975, la obesidad mundial triplicó su prevalencia y además, un estudio de 2005 proyectó que para el 2030 la población mundial tendrán sobrepeso u obesidad, respectivamente (Kelly et al., 2008). De acuerdo con cifras obtenidas en 2016, donde se tiene una prevalencia del 18% en edades de 5 a 19 años. En el caso de adultos y adultos mayores hay una prevalencia del 13% en edades de 18 años en adelante, siendo mayor en las mujeres (15%) comparado con hombres (11%) (OMS, 2020). Las consecuencias a la salud de la obesidad son cada vez más numerosas, pero entre ellas destacan: hipertensión arterial, resistencia a la insulina (diabetes mellitus tipo 2), dislipidemia, hígado graso (Tiniakos et al., 2010), riesgo elevado de infarto agudo al miocardio y cardiopatías diversas, osteoartritis, dificultad nocturna para respirar, enfermedades hepáticas, desórdenes psicológicos e incluso algunos tipos de cánceres. Adicionalmente, en las mujeres que se encuentran en edad reproductiva, suponen riesgos mayores relacionados con problemas ginecológicos y en el caso del embarazo, problemas perinatales e incremento del riesgo a que la descendencia sufra los mismos padecimientos (E. P. Williams et al., 2015). Actualmente el sobrepeso y obesidad son catalogados como epidemia a nivel mundial, y sus complicaciones, pese a la diversidad de su naturaleza, producen en conjunto una notable disminución en la calidad de vida de los pacientes, de ahí la importancia de su estudio.

1.1.1 CONTEXTO ACTUAL EN MÉXICO DE LA OBESIDAD EN MÉXICO

Si bien el Sistema Nacional de Salud mexicano, descrito en la Ley General de Salud contempla una Estrategia Nacional para la Prevención y el Control del Sobrepeso, la Obesidad y la Diabetes (CENAPRECE, 2013), los esfuerzos por parte del Gobierno de la República no han sido suficientes para reducir el problema. De acuerdo con cifras de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT), la prevalencia de sobrepeso y obesidad incrementó en población escolar (5 a 11 años) de 34.8% en 2006, a un 35.6% en 2018. En la población adolescente (12 a 19 años) se encontró un incremento de 34.9% en 2012 hasta 38.4% en 2018; y la población adulta (mayor de 20 años) registró un cambio desde el 71.3% en 2012, hasta el 75.2% en 2018 (INSP, 2018a). Aunque el sobrepeso y la obesidad han demostrado la capacidad de permear a todos los grupos de edad, en los últimos seis años se ha registrado un mayor incremento en las mujeres en edad reproductiva, en adolescentes y en los adultos residentes de zonas rurales (INSP, 2018b), lo que supone un estrés económico para los pacientes, y para el propio Sistema Nacional de Salud. En este contexto, una micro simulación alimentada con datos de la Encuesta Nacional de Nutrición (ENN, 1999) y la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT, 2006) predice que el desenlace inercial para México en 2050 es una prevalencia de 12 millones para diabetes mellitus tipo 2; y de 8 millones para cardiopatía, lo que se traduciría en una elevación del gasto desde 806 millones de dólares en 2010 hasta 1.7 billones de dólares para 2050. No obstante, una reducción del 1% en el IMC para dichas fechas podría contribuir a la disminución del costo en 43 millones de dólares y hasta 85 millones de dólares, respectivamente (Rtveladze et al., 2014), lo que denota la relevancia de comprender las causas de la obesidad en México, así como de tener un enfoque en la medicina preventiva.

1.1.2 ETIOLOGÍA DE LA OBESIDAD Y EL SOBREPESO

Si bien la obesidad y el sobrepeso son condiciones complejas de origen multifactorial, se reconoce como principal causa a la desregulación crónica del balance energético, en el cual la ingesta calórica total supera al gasto energético total (Wiskin et al., 2011). A este respecto, un estudio realizado en Estados Unidos con 1399 participantes adultos de diversas etnicidades encontró una clara correlación entre ingesta energética y peso corporal, lo que coloca al superávit calórico como la principal causa de ganancia de peso en las poblaciones modernas globalizadas (Swinburn et al., 2009). Este desbalance calórico puede tener como raíz diversas causas, que van desde desórdenes hormonales, condiciones genómicas y epigenéticas, e incluso fenómenos socioculturales y económicos que a continuación se describen:

I. Cambios en los niveles hormonales

- a. La secreción incrementada de leptina por el tejido adiposo blanco genera un desbalance hipotalámico que altera la sensación de saciedad (J. M. Friedman, 2011).
- b. La secreción incrementada de ghrelina, un péptido lipofílico localizado en la mucosa estomacal, promueve el apetito y el uso de carbohidratos (Gale et al., 2004).
- c. La pérdida de sensibilidad hacia la insulina se ha visto relacionada con el aumento en la gluconeogénesis, así como un incremento en el apetito por acción hipotalámica (Chavez et al., 1995)
- d. La adiponectina, secretada por los adipocitos del tejido graso blanco, actúa como un sensibilizador a la insulina y se encuentra disminuido en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) (Heilbronn et al., 2003).

II. Condiciones genómicas

Recientemente se ha reportado la asociación del genoma completo (GWAS) con diversas variantes de un solo nucleótido (SNPs) con el riesgo de desarrollo de sobrepeso y obesidad. A este respecto, una revisión de 2017

encontró hasta 24 623 SNPs relacionados con una alta incidencia de obesidad. Dichos SNPs poseen una amplia distribución en el genoma, pues 399 se encuentran en regiones no codificantes, 262 en regiones promotoras, 5 492 en regiones *enhancer*, correspondiendo con 69 genes codificantes de proteínas. Dichas variantes tienen la capacidad de modificar la expresión de los genes implicados a través de numerosos mecanismos, como: modificación del *splicing*, y cambio en el nivel de afinidad con los factores de transcripción (Dong et al., 2018). Otro ejemplo de esto es la identificación de la variante rs3115757 del gen APLN, la cual confiere una elevada susceptibilidad a la obesidad en población egipcia (Aboouf et al., 2015).

III. Condiciones epigenéticas

Algunos estudios sugieren que las características ambientales como el estilo de vida modifican el programa epigenético, reflejado en los patrones de metilación del DNA, acetilación de histonas, entre otros, de los gametos, y con ello transmiten la susceptibilidad de desarrollar sobrepeso y obesidad hacia la progeie. Esto constituye una gran área de oportunidad para la medicina preventiva, puesto que la modificación de los hábitos podría reducir dicha susceptibilidad (Skinner, 2020).

IV. Factores sociales, culturales y económicos

A pesar de que la obesidad y el sobrepeso han sido históricamente asociados como padecimientos de países desarrollados, actualmente cada vez más naciones en vías de desarrollo se enfrentan a esta problemática (R. K. Singh et al., 2017). Dicho fenómeno puede explicarse en el contexto de las recientes políticas de globalización y urbanización promovidas por los gobiernos de dichos países. El caso particular de México en las últimas décadas es paradigmático, pues relata un cambio súbito desde el estilo de vida rural - caracterizado principalmente por el consumo de productos locales y una dieta

tradicional- hasta una cultura urbanizada, sedentaria y consumista, donde destaca la ingesta excesiva de azúcares refinados (Gálvez, 2018). Sobre esto un estudio con datos de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de 2006, con 15951 participantes elegibles, identificó al menos tres patrones alimenticios claros en la población mexicana adulta: alimentación basada en productos procesados y ricos en azúcares refinados (RS), como pan blanco, comida rápida, dulces y bebidas alcohólicas; alimentación tradicional (T) basada en leguminosas, maíz y sus derivados; y alimentación diversa (D) constituida por leche, arroz, pastas, carnes, huevos, frutas y vegetales. La población mexicana adulta consume hasta en un 40% la dieta RS, que posee una mayor densidad calórica, cantidad de grasas saturadas y colesterol, así como una menor cantidad de fibra que los otros patrones dietéticos identificados (Flores et al., 2010). Esto es de particular importancia, pues la compleja interacción entre dieta y genoma es un factor que modifica la microbiota al modular la presencia de algunas unidades taxonómicas operativas, lo que genera disbiosis y es un posible mecanismo para el desarrollo de obesidad y sobrepeso (Moran-Ramos et al., 2017).

1.2 NATURALEZA INFLAMATORIA DE LA OBESIDAD

La inflamación se define como una serie ordenada y secuencial de eventos que tienen la finalidad de mantener la homeostasis de los tejidos y órganos (Romano, 2008), y se caracteriza por el incremento de mediadores séricos como el Factor de Necrosis Tumoral (TNF- α), Interleucina (IL)-6, IL-8 (Plutzky, 2009), así como otras citocinas y quimioatrayentes que promueven la infiltración y activación de células inmunes (Vieira-Potter, 2014). De forma general, la inflamación puede clasificarse de acuerdo a su duración en aguda y crónica (Seki et al., 2009), siendo la inflamación crónica la relacionada con la obesidad. Además, se considera de bajo grado por no generar manifestaciones clínicas y por no presentar concentraciones sistémicas elevadas (Monteiro et al., 2010). Para apreciar íntegramente la naturaleza inflamatoria de la obesidad, es necesario abordar al tejido adiposo desde su papel metabólico, endócrino e inmune.

I. Tejido adiposo como entidad metabólica y endócrina

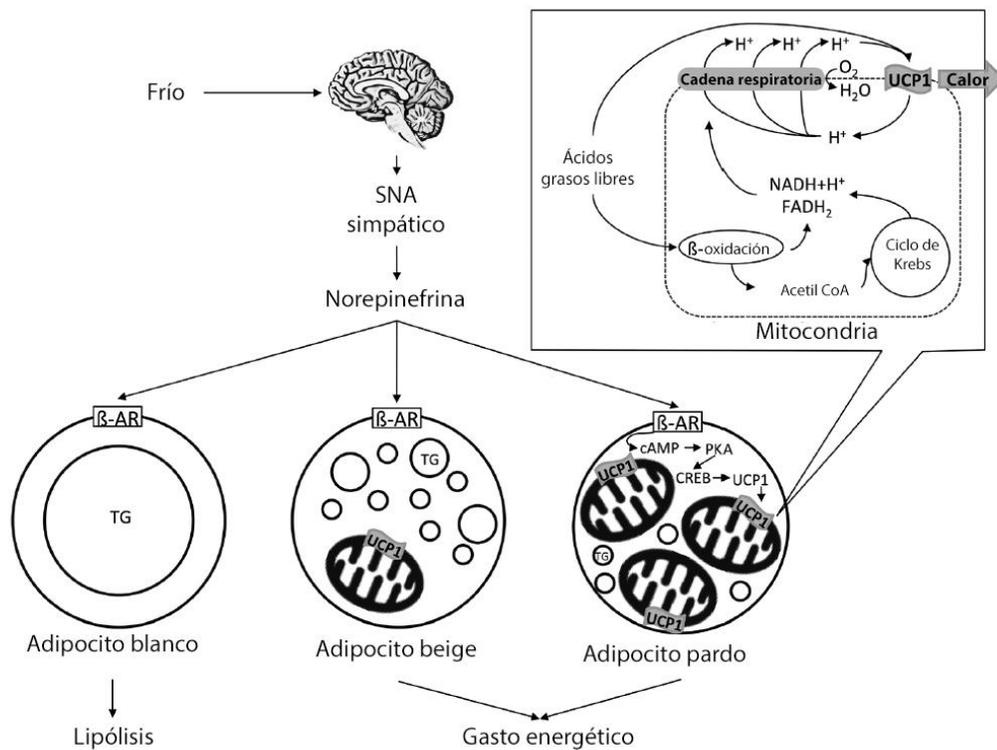
El tejido adiposo puede clasificarse *Grosso modo* en tejido adiposo pardo y tejido adiposo blanco (Sethi J.K., 2011). El primero consiste en tejido altamente vascularizado y densamente empaquetado de adipocitos, los cuales poseen múltiples reservorios citoplasmáticos multiloculares de pequeño tamaño, un núcleo central y una gran cantidad de mitocondrias, lo que le brinda su característico color café. La función principal del tejido adiposo pardo es la termogénesis, un proceso controlado por el Sistema Nervioso Autónomo simpático, en el cual la activación de receptores β -adrenérgicos promueven la iniciación de la fosforilación oxidativa (a través del ciclo de Krebs y la β -oxidación) y su acoplamiento con el transporte electrónico mediado por la proteína termogenina (por sus siglas en inglés, uncoupling protein one, UCP1) (*Figura 1*). Dicha proteína mitocondrial transmembranal interna es capaz de disipar el gradiente electroquímico producido por la ATP sintasa, generando una recirculación protónica que produce altas cantidades de calor (Fenzl et al., 2014).

Por su parte, el tejido adiposo blanco consiste en un conjunto de adipocitos con un gran depósito citoplasmático unilocular lipídico, que tienen núcleo

marginal. Tiene la función primordial de almacenar lípidos en forma de triglicéridos (Fenzl & Kiefer, 2014) los cuales puede ser liberados en forma de ácidos grasos libres hacia la circulación en caso de alta demanda energética mediante el proceso de lipólisis (*Figura 1*).

Algunos autores añaden la categoría de tejido adiposo beige como eslabón intermedio (Harms et al., 2013; Wu et al., 2012; Wu et al., 2013), puesto que son un fenotipo inducible capaz de adquirir la capacidad de realizar termogénesis y coadyuvar en el gasto energético (*Figura 1*) (Fenzl & Kiefer, 2014).

Figura 1. Diferencias en la estructura y función de los adipocitos blancos, beige y pardos.



Los adipocitos pueden ser activados por la actividad simpática del SNA mediante receptores β-adrenérgicos, para generar lipólisis (adipocitos blancos) y termogénesis (adipocitos beige y pardos). Los adipocitos blancos poseen un gran reservorio de triglicéridos (TG) y una baja densidad mitocondrial, mientras que los adipocitos pardos poseen una alta densidad mitocondrial y una serie de pequeños depósitos de triglicéridos (TG), siendo los adipocitos beige un fenotipo intermedio inducible. Tomado y modificado de Fenzl & Kiefer, 2014.

El descubrimiento de la actividad endócrina inherente al tejido adiposo puede rastrearse hasta la primera mitad de la década de 1990, cuando surgió un gran interés por el estudio de los efectos hormonales de la leptina. La leptina es una adipocina proteica no glicosilada de 16 kDa, producida principalmente pero no exclusivamente por adipocitos. Se ha reportado que puede ser excretada también por músculo esquelético, intestino, tejido articular y óseo, e incluso por cerebro (Scotece M., 2017). Regula la homeostasis del apetito y el peso corporal al poseer un papel antagónico e inhibitorio con el neuropéptido. Al ser administrada a ratones disminuye notablemente la ingesta de alimentos, el peso y el porcentaje de grasa corporal (Campfield et al., 1995), sosteniendo una correlación inversa con el IMC (Matarese et al., 2010). No obstante, bajo la condición de obesidad se observa resistencia a leptina (Steinberg et al., 2002), lo que en consecuencia eleva los niveles de esta hormona en personas obesas (Francisco et al., 2018).

Otras adipocinas de interés son la adiponectina y la resistina. La primera es una proteína plasmática secretada exclusivamente por tejido adiposo que guarda una alta homología con la colágena VIII y X (H. Chen et al., 1996) y su secreción es disminuida durante la obesidad (Ouchi et al., 1999); mientras que la segunda es una hormona expresada por macrófagos y adipocitos humanos (Steppan et al., 2001) y ambas se han visto implicadas con la pérdida de sensibilidad a la insulina (Steppan et al., 2001; Waki et al., 2003; Y. Wang et al., 2002).

II. Tejido adiposo como entidad reguladora del sistema inmunológico

Recientemente se ha reconocido el papel del tejido adiposo como órgano inmune (Caspar-Bauguil et al., 2005; Grant et al., 2015), en particular el tejido adiposo blanco (Trayhurn, 2007).

Se reporta que el superávit calórico característico del estado de obesidad estimula al tejido adiposo para generar y secretar citocinas proinflamatorias como TNF- α , IL-1, IL-6 y IL-8; disminuir la secreción de citocinas antiinflamatorias como: el Receptor antagónico de IL-1 (IL-1RA), IL-3, IL-4, e

IL-10. También genera un desbalance de adipocinas caracterizado por un incremento de leptina, adiposina, ácidos grasos libres, factor de crecimiento endotelial vascular (por sus siglas en inglés, VEGF), factor de crecimiento transformante (TGF- β) y una disminución de adiponectina, lo que genera incremento en la infiltración de células inmunes (Lee et al., 2013), particularmente macrófagos M1 (Coenen et al., 2007; Engin, 2017).

Muchas de estas repercusiones inmunológicas del tejido graso pueden ligarse con el rol central de la leptina. Esta actúa sobre el receptor de leptina (LEPR), del cual existe en seis isoformas: cuatro cortas; una citosólica; y la isoforma larga, que posee el dominio intracelular completo. Su activación puede dar lugar a tres cascadas de señalización: la primera es la más usual e involucra a la cinasa Jano (JAK) y a la proteína transductora activadora de la transcripción (STAT); mientras que las demás son reguladas por p38 MAPK (de las siglas en inglés *mitogen-activated protein kinases*), ERK 1/2 (del inglés *Extracellular signal-regulated kinases*), JNK (del inglés *Jun N-Terminal Kinase*), PKC (proteincinasa C) y PI3K/Akt (fosfatidilinositol 3 kinasa) (Fruhbeck, 2006). Los receptores LEPR son expresados en las células inmunes, y al activarse son capaces de inducir un perfil inflamatorio. Particularmente, los neutrófilos, expresan la isoforma corta Ob-Ra del receptor LEPR (Zarkesh-Esfahani et al., 2004), el cual, al ser activado promueve la expresión de CD11b y envía señales de supervivencia inhibiendo la apoptosis mediante un mecanismo MAPK dependiente (Bjorbaek et al., 1997). Además, se ha visto que favorece el estallido respiratorio al generar anión superóxido y peróxido de hidrógeno (Caldefie-Chezet et al., 2001); y suprime el efecto quimioatrayente hacia IL-8, generando quimiotaxis en hacia leptina (Montenuco, 2006). Otros granulocitos muestran una mayor capacidad migratoria y quimiotáctica en el caso de eosinófilos (Kato et al., 2011) y mayor inflamación alérgica derivada de la degranulación en respuesta a IgE en basófilos (Suzukawa, 2011). Por su parte, la leptina en monocitos estimula la síntesis de IL-1Ra (Gabay et al., 2001), IL-1 β , TNF- α e IL-6 (Tsiotra et al., 2013); induce su proliferación *in vitro*; y favorece la síntesis y externalización de los

antígenos de superficie antígeno leucocitario humano, *locus* DR (HLA-DR), CD38, CD71, CD11b, CD11c y CD16 (Santos-Alvarez et al., 1999). Asimismo, se reporta que potencia el efecto de estimulantes como el lipopolisacárido (LPS) y forbol miristato acetato (PMA); incrementa la expresión de receptor 2 tipo toll (TLR2) pero no de TLR4 (Jaedicke et al., 2013); favorece el estallido respiratorio; y mediante un mecanismo p42/p44 MAPK-dependiente inhibe la apoptosis (Najib et al., 2002), lo que le atribuye propiedades análogas a las de una citocina proinflamatoria.

En el sistema inmune innato, genera la proliferación y producción de IL-1Ra por parte de monocitos; incremento en la fagocitosis y producción de IL-6, IL-12, NO, COX2 y eicosanoides por parte de macrófagos. También induce un aumento en la diferenciación, proliferación, activación, citotoxicidad y supervivencia de polimorfonucleares; así como producción de IL-1, IL-6, IL-12, TNF α y una mayor supervivencia de células dendríticas. En células T genera la maduración de timocitos, proliferación y activación de células T vírgenes, mayor diferenciación de células T de memoria hacia el fenotipo TH1, mayor producción de IFN γ e IL-2, así como decrementos en la producción de IL-4 e IL-10 y disminución en la apoptosis. La leptina promueve además la linfopoyesis de linfocitos B e interesantemente induce el cambio de clase hacia IgG2 (Versini et al., 2014).

1.3 LA RESPUESTA INMUNE BAJO EL CONTEXTO DE LA OBESIDAD

El sistema inmune posee una diversidad funcional y morfológica que ha sido seleccionada para proteger al individuo de patógenos a los que continuamente se expone en el entorno que habita y que están en constante evolución. Además, es capaz de eliminar sustancias tóxicas o alergénicas de las mucosas, lo que ayuda a mantener la homeostasis, y todo esto se realiza bajo la habilidad primordial de reconocer lo propio de lo no propio, e incluso, lo propio de lo propio patogénico (Chaplin, 2010).

Por otro lado, el origen de las células del sistema inmune se encuentra en las células troncales hematopoyéticas, las cuales dan lugar a los precursores pluripotenciales linfoide y mieloide. El linaje linfoide incluye linfocitos B (que dan lugar a las células plasmáticas productoras de anticuerpos), linfocitos T, células NK y células NKT. El linaje linfoide incluye los granulocitos (neutrófilos, eosinófilos, basófilos, células cebadas), células supresoras derivadas de mieloides y monocitos (pudiendo estos últimos diferenciarse a macrófagos). (Chaplin, 2010). En general, los mecanismos por los cuales el sistema inmunológico es capaz de realizar el reconocimiento consisten en moléculas de reconocimiento que corresponden a las respuestas innatas (PRRs) o adaptativas (BCR, TCR), así como moléculas de adhesión (integrinas y receptores de integrinas) que permiten la movilización y el contacto celular.

Diversos trabajos han evidenciado tanto respuestas innatas pueden verse alteradas en respuesta a la obesidad, ya sea como iniciadores o perpetuadores de esta condición. En el siguiente apartado se incluirán algunas de estas evidencias.

I. Respuestas innatas:

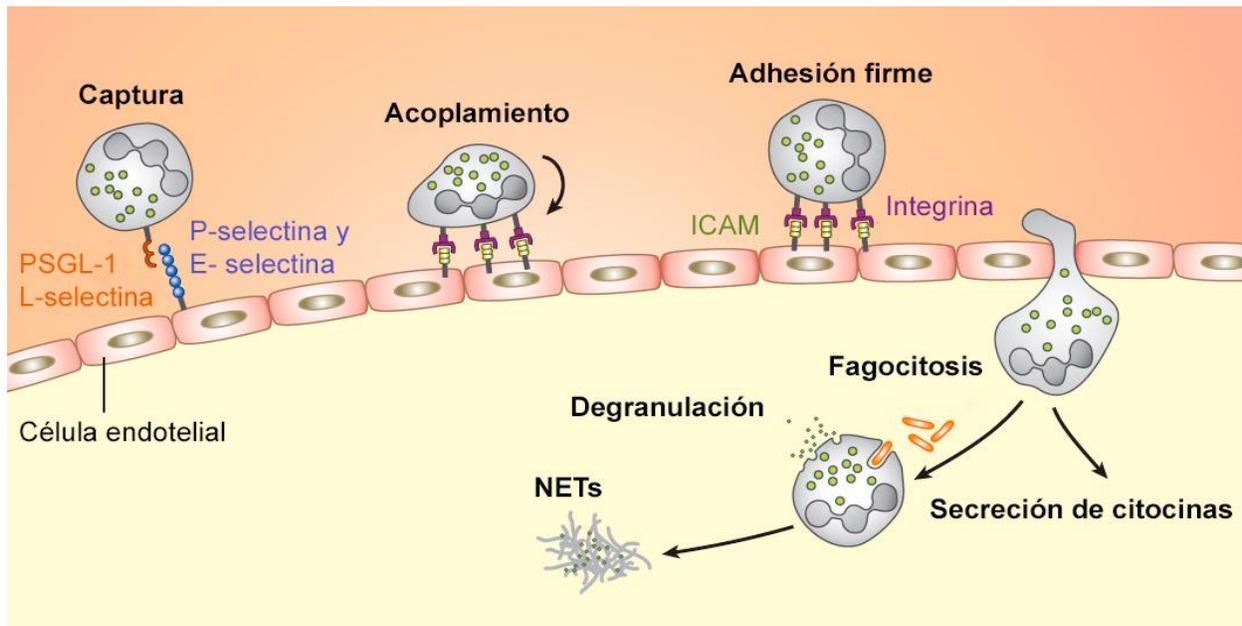
La respuesta innata comprende células efectoras del linaje mieloide y entidades receptoras bioactivas, como defensinas, ficolinas y moléculas del complemento. Entre las células efectoras de la respuesta innata se encuentran:

Neutrófilos

Originalmente fueron descritos por Ehrlich como células polimorfonucleares con una tendencia a retener colorantes neutros (Ehrlich, 1880). Se trata de células fagocíticas

(Steven, 1892) con una vida aproximada de 6 a 8 horas en circulación, las cuales tienen la función de localizar, atacar y destruir patógenos o posibles amenazas (Amulic et al., 2012). En la *Figura 2* se resumen las funciones de estas células, lo que incluye patrullaje en el endotelio vascular, infiltración hacia el sitio de insulto, secreción de citocinas y quimiocinas para la atracción de células inmunes, fagocitosis del patógeno, degranulación del contenido antimicrobiano y eyección de trampas extracelulares (Amulic et al., 2012). Durante el curso de la obesidad y el sobrepeso, el compartimento de neutrófilos sufre una expansión significativa (Riley et al., 2015), incrementando sus valores desde 3.81×10^3 hasta 5.1×10^3 células por mililitro de sangre periférica en los grupos de control y obesidad, respectivamente (Furuncuoglu et al., 2016).

Figura 2. Funciones generales de los neutrófilos

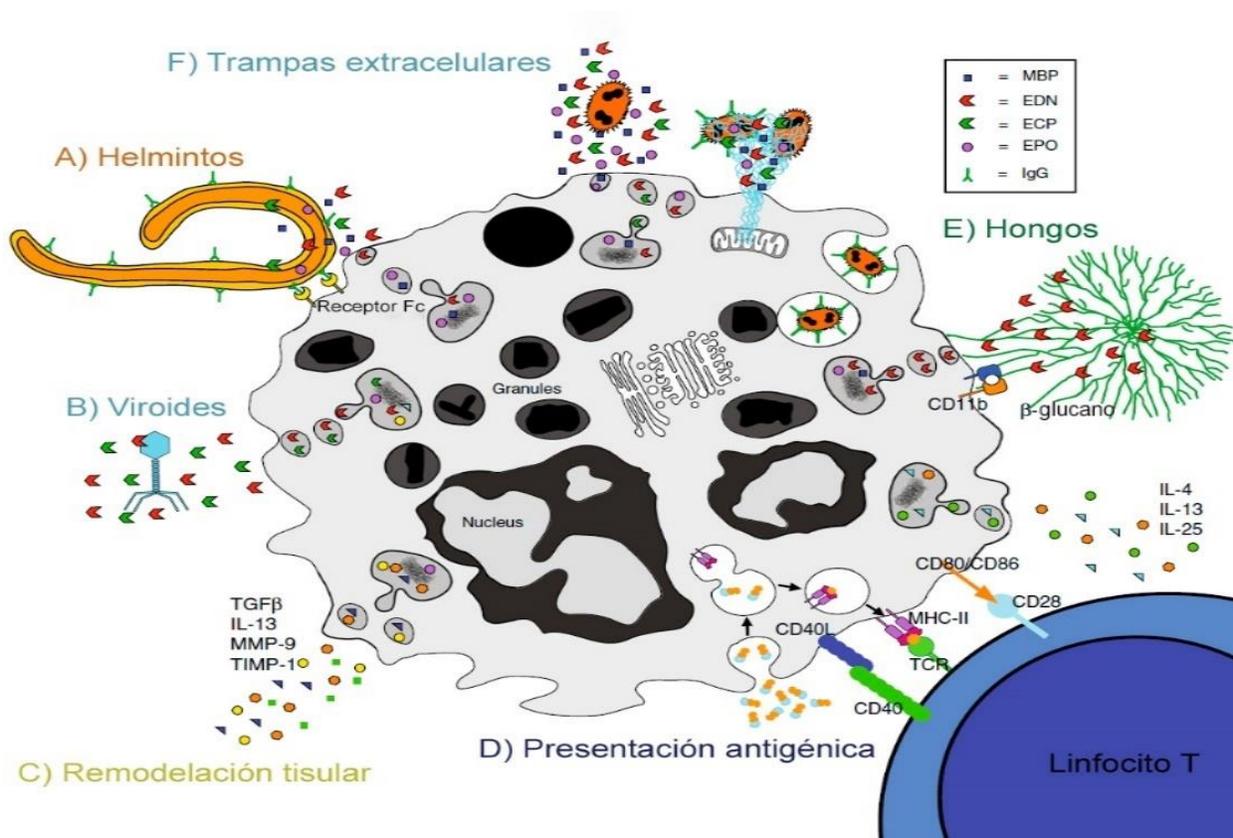


El funcionamiento general de un neutrófilo comprende la adhesión al endotelio vascular. La expresión de PSGL-1 y L-selectina en el neutrófilo permite el reconocimiento y captura a las P-selectinas y E-selectinas de la célula endotelial. Posteriormente, las integrinas en el neutrófilo se adhieren firmemente a los receptores de integrinas ICAM de las células endoteliales. Esto da lugar al proceso de infiltración o diapédesis hacia el sitio de infección. La secreción de citocinas como IL-8 genera un bucle positivo de llegada de células neutrofílicas. Una vez en el sitio de la lesión o insulto, los neutrófilos son capaces de fagocitar al patógeno o cuerpo extraño, además de liberar el contenido antimicrobiano de sus gránulos y eyectar NETs (trampas extracelulares de neutrófilos, por sus siglas en inglés) para neutralizar la amenaza. Tomado y modificado de Amulic 'et alter', 2012.

Eosinófilos

Estas células granulocíticas constituyen entre el 1-4% de los leucocitos en sangre periférica, y tienen una elevada capacidad citotóxica, dirigida principalmente contra parásitos de tipo helmintos, platelmintos y protozoarios. Además, participan en reacciones de hipersensibilidad tipo II, causando daño a los tejidos propios (Shamri et al., 2011). En la *Figura 3* se muestran las principales funciones de este tipo de células, donde destacan funciones efectoras (*Figura 3 A, B, E, F*), funciones inmunomoduladoras (*Figura 3 D*) y funciones reparadoras y modeladoras tisulares (*Figura 3 C*).

Figura 3. Funciones generales de los eosinófilos

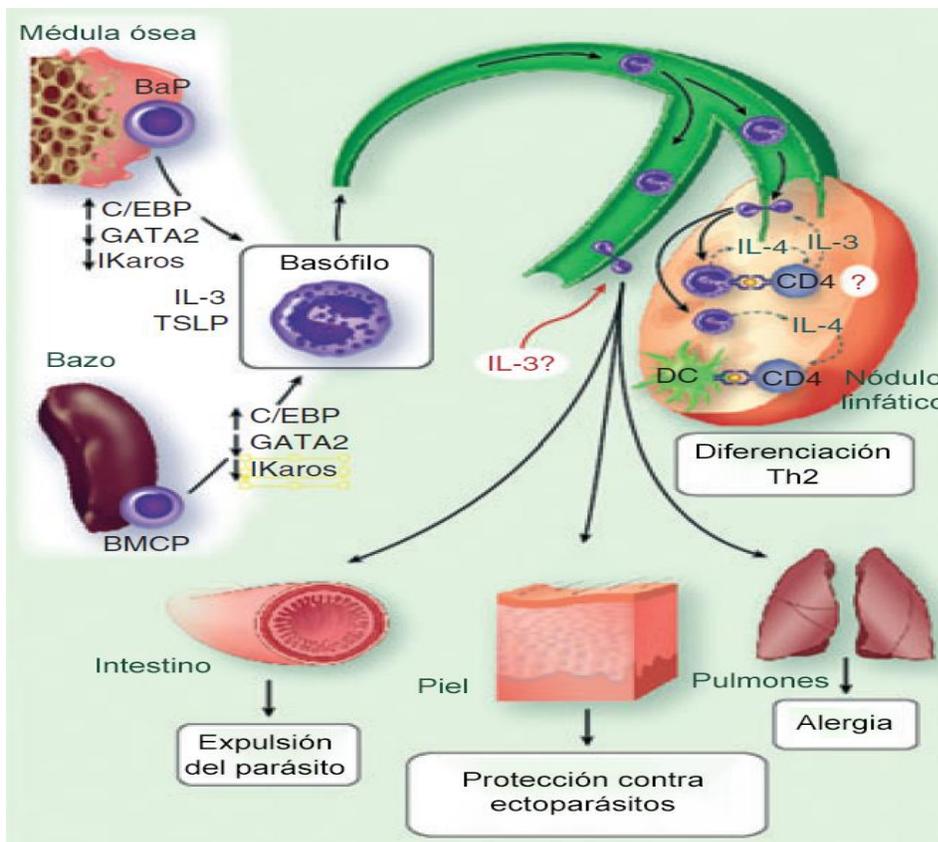


A) La unión de anticuerpos opsonizantes de IgG1 e IgG3 con el receptor *FcγII* genera la activación y degranulación de proteínas catiónicas que destruyen al helminto. **B)** La interacción con viroides produce la secreción de ribonucleasas. **C)** Al ser activados, los eosinófilos secretan factores remodeladores de tejidos, como TGF- β (factor de crecimiento transformador beta, por sus siglas en inglés), IL-13 y MMPs (metaloproteasas de matriz extracelular, por sus siglas en inglés). **D)** La capacidad inmunomoduladora de los eosinófilos yace en la capacidad de presentación antigénica y polarización de células T hacia el perfil Th2. **E)** Mediante CD11b, los eosinófilos sienten la presencia de betaglucono y secretan EDN (neurotoxina derivada del eosinófilo, por sus siglas en inglés) ante infecciones fúngicas. **F)** La estimulación TLR-4 por acción de LPS produce la eyección de trampas extracelulares compuestas de ADN mitocondrial. Tomado y modificado de Shamri, Xenakis, & Spencer, 2011

Basófilos

Son células polimorfonucleares que constituyen menos 1% del total de los leucocitos de sangre periférica y tienen una vida de entre 1 y 2 días. Se asocian con las reacciones de hipersensibilidad tipo I, relacionadas con IgE (Chirumbolo et al., 2018) y gran parte de sus funciones se deben a la expresión de receptores de alta avidéz por IgE. En la *Figura 4* se ilustran a detalle algunas de sus otras funciones, como brindar el perfil de citocinas IL-4 que son requeridas para el perfil linfocitario Th2 (Min et al., 2012).

Figura 4. Vida y funciones generales de los basófilos



La basofilogénesis ocurre en la médula ósea en presencia de IL-3 y Linfopoyetina estromal tímica (TSLP), o bien en bazo fetal. Una vez en circulación, se internalizan en tejidos variados para realizar funciones efectoras. Así, en ganglios linfáticos promueven la diferenciación de células T hacia el perfil Th2, en pulmones se involucran en respuestas alérgicas, en piel protegen contra ectoparásitos mediante degranulación, y en intestino secretan histamina, lo que produce contracción del músculo intestinal liso y contribuye a la expulsión del parásito. Tomado y modificado de Min, Brown, & Legros, 2012.

Monocitos

Son células mononucleares que constituyen alrededor del 10% de los leucocitos en sangre periférica y tienen una vida media de alrededor de 3 días (Yona et al., 2010). Recientemente se ha apreciado una perturbación dentro del compartimento mieloide, la cual incluye la expansión de monocitos totales, monocitos clásicos, monocitos intermedios. Interesantemente, también se reporta un incremento de células supresoras derivadas mieloides y la adquisición de monocitos con perfiles proinflamatorios (Friedrich et al., 2019). Durante el curso de la obesidad, se ha reportado monocitosis (Friedrich et al., 2019). La clasificación de estas células se basa en la expresión de los marcadores CD16 y CD14 (Kapellos et al., 2019), siendo:

Monocitos clásicos CD14⁺⁺CD16⁻:

Son la subpoblación mejor caracterizada y la más abundante en sangre periférica (80-85% dentro de los monocitos). Ante un insulto (lesión o infección), proliferan rápidamente desde la médula ósea para ser liberadas a la circulación de forma CCR2-dependiente y llegar al sitio de interés mediante gradientes de quimiocinas. Durante infecciones bacterianas, estos fagocitos ayudan a reclutar a más células del sistema inmune y realizan presentación antigénica mediante MHC-II. En pulmón, se ha reportado la diferenciación hacia células dendríticas pulmonares, particularmente en aquellos monocitos Ly6C^{hi} (Chiu et al., 2016). En la *Figura 6* se enlistan más funciones de este subtipo celular.

Células monocíticas supresoras derivadas de mieloides (M-MDSC):

Son una subpoblación de monocitos clásicos con funciones inmunosupresoras y una baja expresión de HLA-DR (Friedrich et al., 2019). Incrementan durante el curso de enfermedades autoinmunes, cáncer, inflamación crónica (Friedrich et al., 2019) y algunos autores han encontrado incrementos en estas células asociados a la obesidad (Bao et al., 2015; Friedrich et al., 2019).

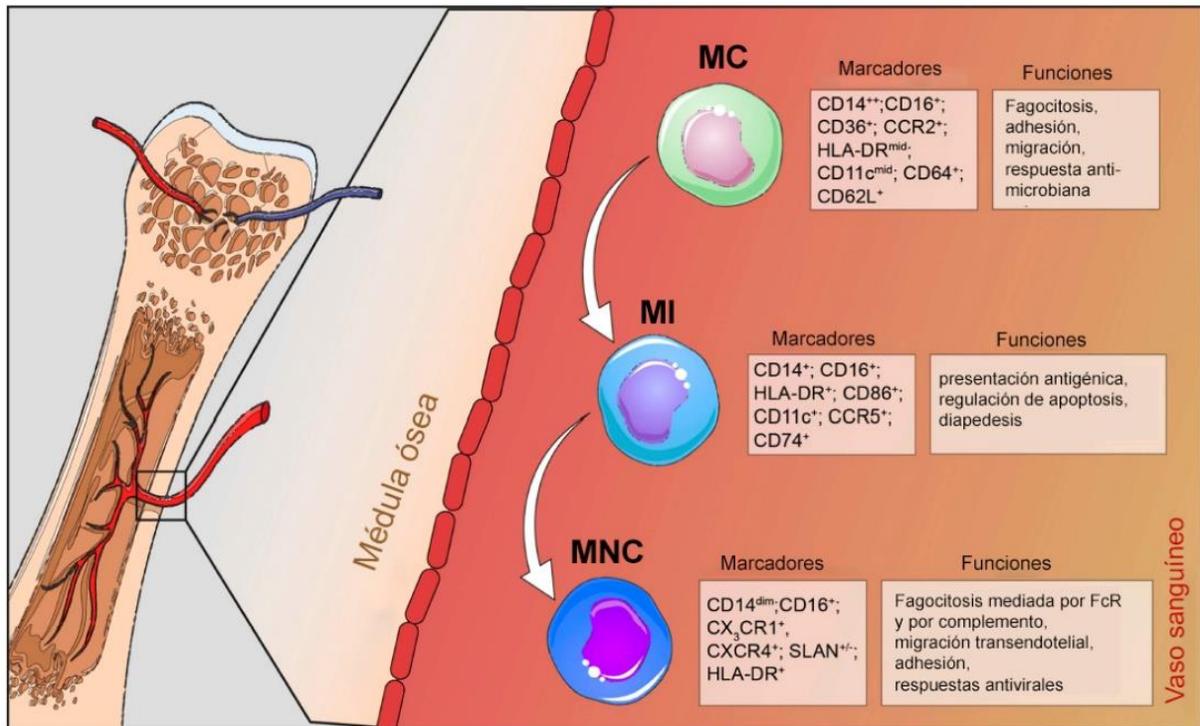
Monocitos intermedios CD14⁺CD16⁺:

Las funciones de los monocitos intermedios son más cercanas a las de los monocitos clásicos, expresando una gran cantidad de MHC-II (Chiu & Bharat, 2016). En la *Figura 6* se enlistan más funciones de este subtipo celular.

Monocitos no clásicos CD14⁺CD16⁺⁺:

También conocidos como monocitos patrulleros, muestran un patrón de motilidad dependiente de integrinas característico sobre la región luminal del endotelio vascular, en dirección contraria a el flujo sanguíneo (Collison et al., 2015; Geissmann et al., 2003). Además, pueden reclutar a neutrófilos al sitio de interés, se ha visto implicados en mecanismos de supresión de tumores. Interesantemente, además de exhibir propiedades proinflamatorias, pueden mediar respuestas antiinflamatorias, como la iniciación del proceso de resolución de la inflamación, y el inicio de la fibrosis (Chiu & Bharat, 2016). En la *Figura 5* se enlistan más funciones de este subtipo celular.

Figura 5. Funciones y características de los subtipos de monocitos



Los monocitos maduran en la médula ósea y se liberan a la circulación sanguínea como monocitos clásicos CD14⁺. Progresivamente, los monocitos clásicos van perdiendo CD14 y ganando CD16, lo que da lugar a monocitos intermedios y monocitos no clásicos. Existen otros marcadores que ayudan a diferenciar a las subpoblaciones de monocitos (mostrados en los recuadros izquierdos). Sus diversas funciones se muestran en los recuadros de la derecha. Las respuestas antivirales de los monocitos no clásicos pueden ser iniciadas mediante la activación del receptor TLR-4. Tomado y modificado de Kapellos et al., 2019.

Ahora bien, la gran diversidad celular observada en el compartimento mieloide se apoya de receptores de superficie celular (receptores tipo NOD, receptores tipo RIG, receptores de lectina tipo C y receptores tipo toll) para realizar el reconocimiento de patrones moleculares fijados asociados a patógenos (PAMPs), a daño (DAMPs) y toxinas (Chaplin, 2010). Además, los procesos de infiltración, migración y reconocimiento celular dependen de moléculas de adhesión, como las integrinas y sus receptores (CD11a y CD11b). Cambios en la expresión de estas moléculas han sido asociados con procesos inflamatorios y de activación celular, y algunos de ellos se relacionan con las complicaciones derivadas de la obesidad y la obesidad materna:

Cambios en la expresión de CD11a

Se ha reportado la elevación de CD11a en las etapas iniciales de la aterosclerosis, una enfermedad cardiovascular que involucra poblaciones de monocitos y macrófagos (Kawamura et al., 2004).

Cambios en la expresión de CD11b

Este marcador es una subunidad del heterodímero que conforma a la integrina Mac-1, cuyo ligandos son: ICAM-1, fibrinógeno y factor X como receptor de la molécula iC3b del complemento. Por sí sola, esta subunidad (CD11b) tiene un dominio de tipo lectina que reconoce D-manosa y β -glucanos presentes en hongos (Taborda et al., 2002). Se ha encontrado que la expresión de esta molécula en granulocitos y monocitos maternos sostiene correlaciones positivas con el IMC materno (Ilavska et al., 2012), y evidencia reciente sugiere que esta alteración también puede ocurrir en la interfaz materno fetal (Challier et al., 2008; Soucek et al., 2020), independientemente del incremento fisiológico registrado hacia el final del embarazo en preparación para el parto (Luppi et al., 2004). Además, la participación de CD11b en monocitos ha demostrado tener un papel fundamental en el desarrollo de placas ateroscleróticas en sujetos obesos (Kopecky et al., 2019) y en la modulación de la resistencia a la insulina observada en obesidad (Zheng et al., 2015).

Cambios en la expresión de TLR-4

Este receptor de reconocimiento de patrones (PRR) se expresa sobre la superficie de células inmunes, endoteliales, miocitos cardíacos, e incluso en el sistema nervioso central. Su forma activa requiere de la heterodimerización de una unidad de TLR-4 con la proteína accesoria MD2 (Huang et al., 2012). Tiene como ligando principal al lipopolisacárido bacteriano (LPS), un potente PAMP (patrón asociado a patógeno) (Dobrovolskaia et al., 2002), posee ligandos endógenos como los glucosaminoglicanos de hialuronano, los cuales son moléculas de matriz extracelular que funcionan como patrones de reconocimiento de daño (DAMPs) (Molteni et al., 2016) y su activación

induce la síntesis de citocinas proinflamatorias como TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 e IL-12 (Basith et al., 2011; Konner et al., 2011). Interesantemente, existe evidencia de que los ácidos grasos saturados de cadena larga pueden activar a este receptor y generar inflamación asociada a la obesidad (Huang et al., 2012; Rogero et al., 2018) y diversos estudios relacionan el incremento en la expresión de este marcador en células mieloides con altos índices glucémicos de personas obesas (Dasu et al., 2008), con la hipertensión arterial (Schneider et al., 2015; M. V. Singh et al., 2019), y su antagonismo ha sido relacionado con la disminución en la incidencia de partos pretérmino (Jing et al., 2020).

II. Respuestas adaptativas

Las células del linaje linfoide, sus receptores (TCR y BCR) y los anticuerpos son los principales actores en esta respuesta (Chaplin, 2010). Están codificadas por genes con capacidad de rearreglos, lo que da lugar a una especificidad exquisita hacia antígenos. Los anticuerpos son glicoproteínas efectoras del sistema inmune adaptativo, ampliamente distribuidas en los fluidos extracelulares (como el plasma sanguíneo) y las mucosas. Pertenecen a la Superfamilia de las Inmunoglobulinas (IgSF) (Srinivasan et al., 2005), son secretadas por células plasmáticas, o se encuentran sobre la membrana de los linfocitos B. Estructuralmente, las forma monoméricas de los anticuerpos se componen de dos copias equivalentes de cadena pesada de alrededor 55kDa, unidas por un puentes disulfuro en la región *hinge* y dos copias idénticas de cadena ligera de alrededor de 25 kDa unidas mediante puentes disulfuro, interacciones electrostáticas e interacciones de Van der Waals, lo que resulta en moléculas con una característica bifurcación, en forma de 'Y' (Lipman et al., 2005). Tras su digestión con papaína, se distinguen dos regiones funcionales: fragmento Fc, o fracción cristalizante, que contiene los dominios efectores de la función biológica; y dos fragmentos Fab (*Antigen-binding*) o región de reconocimiento del epítipo (Snigurowicz et al., 1980). De acuerdo con el isotipo de la región Fc, los anticuerpos se clasifican en:

IgG

Es la inmunoglobulina más abundante del plasma sanguíneo pues comprende entre el 10-20% de todas las proteínas plasmáticas, alcanzando niveles de alrededor de 12 mg/mL (Woof et al., 2006). Es capaz de permear hacia la mucosa intestinal atravesar la barrera placentaria para brindar inmunidad humoral pasiva a los recién nacidos en la etapa perinatal debido al receptor FcRn. Su principal función es neutralizante, pero también activa la vía clásica del complemento tras la unión de dos unidades de IgG con C1q. Regula la citotoxicidad celular mediada por anticuerpos, e incluso puede desencadenar la degranulación de células polimorfonucleares (Weis-Garcia et al., 2017). Estructuralmente, se compone de dos cadenas ligeras idénticas y dos cadenas pesadas iguales de alrededor de 50 kDa (Thomson, 2016) y se divide en cuatro subclases con diferentes funciones efectoras (*ver Tabla 1*). La subclase IgG1 es inducida principalmente como resultado de respuestas contra antígenos solubles y proteínas de membrana, a menudo acompañada de la generación de bajos niveles de IgG3 e IgG4 (Aalberse et al., 2009). Resalta el potencial antiviral de esta inmunoglobulina. Continuando con IgG2, es producida en respuesta a bacterias capsuladas, particularmente contra sus polisacáridos antigénicos (Siber et al., 1980). Por su parte, IgG3 induce una potente respuesta proinflamatoria antiviral, pero poseen una vida media más corta que las otras subclases de IgG y están implicadas en la reacción contra los antígenos de los grupos sanguíneos (Vidarsson et al., 2014). Finalmente, IgG4 es inducida por exposiciones repetidas a largo plazo, pero en un ambiente no infeccioso, como las hipersensibilidades o alergias (Aalberse et al., 2009). Se ha reportado su formación durante infecciones parasitarias y de helmintos (Ottesen et al., 1985). Durante el curso de la obesidad, se ha reportado el incremento en la especificidad autorreactiva para IgG total, y particularmente, un incremento en la concentración de IgG2 (Versini et al., 2014).

Tabla 1. Propiedades de las diferentes subclases de IgG

	IgG1		IgG2		IgG3		IgG4	
GENERAL								
Masa molecular [KDa]	146		146		170		146	
Aminoácidos en la región <i>hinge</i> [1]	15		12		62 ^a		12	
Puentes disulfuro entre las cadenas pesadas [1]	2		4 ^b		11 ^a		2	
Concentración sérica media [g/L]	6.98		3.8		0.51		0.56	
Abundancia relativa [%]	60		32		4		4	
Tiempo de vida media [día]	21		21		7 – 21 ^a		21	
Transferencia placentaria	++++		++		++ / ++++ ^a		+++	
Respuesta hacia:								
Proteínas	++		+/-		++		++ ^e	
Polisacáridos	+		+++		+/-		+/-	
Alérgenos	+		-		-		++	
ACTIVACIÓN DE COMPLEMENTO								
Unión a C1q	++		+		+++		-	
RECEPTORES Fc								
FcγRI	+++ ^c	65 ^d	-	-	++++	61	++	34
FcγRIIa _{H131}	+++	5.2	++	0.45	++++	0.89	++	0.17
FcγRIIa _{R131}	+++	3.5	+	0.10	++++	0.91	++	0.21
FcγRIIb/c	+	0.12	-	0.02	++	0.17	+	0.20
FcγRIIIa _{F158}	++	1.2	-	0.03	++++	7.7	-	0.20
FcγRa _{V158}	+++	2.0	+	0.07	++++	9.8	++	0.25
FcγRIIIb	+++	0.2	-	-	++++	1.1	-	-
FcRn (pH <6.5)	+++		+++ ^f		++/+++ ^a		+++	
Transporte placentario ^g	++++		+		++		+++	

^a El alotipo H435 posee menor afinidad hacia FcRn en medio ácido (Stapleton et al., 2011), ^b Para isómero A/A, ^c Adaptado de Bruhns et al, ^d Constante de asociación ($\times 10^6 M^{-1}$) de unión monovalente, ^e Tras encuentros repetidos, ^f a pesar de la similitud en la afinidad, el transporte placentario de IgG2 es menos eficiente, ^g Información obtenida de (Palmeira et al., 2012). Modificado de Vidarsson et al., 2014 (Vidarsson et al., 2014).

Ahora bien, el receptor FcRn, responsable del transporte transplacentario de IgG, es una molécula con una homología del 22-29% con el Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC) de clase I (Palmeira et al., 2012). Estructuralmente es un heterodímero de dos cadenas alfa pesadas de 45 kDa y dos cadenas beta-microglobulina ligeras de 12 kDa que transporta a IgG uniéndose a ésta en vesículas ácidas con pH < 6.5 y liberándolo en la sangre a pH = 7.4 (Martin et al., 2001), juega un papel central en la homeostasis de los niveles de albúmina e IgG, protegiéndolos de la degradación lisosomal (Kim et al., 2007; Sand et al., 2014). Además, se ve implicada en la expresión de complejos inmunes en epitelios, la fagocitosis mediada por IgG (Vidarsson et al., 2006), la supresión de tumores (Baker et al., 2014a) e inclusive en la presentación antigénica de células dendríticas (Baker et al., 2014b). Los factores que pueden modificar el transporte transplacentario de anticuerpos son:

I. Subclase de IgG

Si bien las estructuras primarias de las diferentes subclases de IgG son idénticas en un 90%, existen diferencias estructurales suficientes como para modificar la eficiencia del transporte placentario (Wilcox et al., 2017). Como se observa en la *Tabla 2*, el transporte placentario de IgG favorece a IgG1, seguido de IgG4 e IgG3. El caso de IgG2 es interesante, porque a pesar de tener una afinidad por el FcRn y vida media similar a IgG1, su transporte placentario es el menos eficiente, y las razones de esto son poco claras (Einarsdottir et al., 2014).

II. Alotipo

Ha sido documentado que el alotipo H435 de IgG3 posee una menor afinidad hacia el receptor FcRn en medio ácido que el alotipo R435, lo impacta directamente en su transporte placentario (Stapleton et al., 2011).

III. Glicosilación de IgG

Estudios realizados en la década de los 90s mostraron evidencia de un menor transporte de moléculas no glicosiladas de IgG, así como un mayor transporte de moléculas galactosiladas en neonatos (P. J. Williams et al., 1995) (Kibe et al., 1996). En un estudio experimental, anticuerpos intervenidos enzimáticamente demostraron que la falta de

galactosilación en IgG1 disminuye la afinidad hacia el receptor FcRn, y de forma contraria, las formas digalactosiladas de IgG mostraron mayor afinidad hacia éste con respecto de las formas monogalactosiladas, lo que repercute en su transporte placentario (Jefferis, 2012).

IV. Especificidad del anticuerpo

En 1970, Mäntyjärvi *et al* demostraron que los niveles neonatales de IgG antiinfluenza A2 son mayores que los niveles maternos (Mantjarvi et al., 1970). Comportamientos similares fueron reportados para los casos de herpes, toxina tetánica, estreptolisina O, y *S. pneumoniae* (de Moraes-Pinto et al., 1996).

V. Concentración materna de IgG

Es bien conocida la existencia de una alta correlación entre la concentración materna y neonatal de anticuerpos (Palmeira et al., 2012), no obstante, la saturación de los receptores FcRn parece ser una limitante natural, pues los anticuerpos que no se unen al FcRn son digeridos por enzimas lisosomales dentro de vesículas ácidas (Saji et al., 1994).

VI. Etapas gestacionales

Si bien el isotipo IgG tiene la capacidad de transporte placentario desde la decimotercera semana de gestación, ésta incrementa de forma lineal hacia el tercer trimestre (Saji et al., 1999), donde particularmente se transportan IgG1 e IgG2, y se ha observado que bebés prematuros con frecuencia presentan deficiencias en dichos isotipos (Okoko et al., 2002).

VII. Patologías maternas

a. Infecciosas

Destacan los casos de modulación en el transporte placentario de anticuerpos para los casos de infección materna por VIH y malaria (Bulmer et al., 1993; de Moraes-Pinto et al., 1998; Palmeira et al., 2012).

b. Enfermedades autoinmunes

En el caso de lupus eritematoso, es posible la transferencia de autoanticuerpos maternos IgG que derivan en lesiones cutáneas para el neonato, por lo que se considera como un modelo de enfermedad autoinmune adquirible de forma pasiva (Kobayashi et al., 2009), e interesantemente hasta el 2% de estos recién nacidos desarrollan anormalidades estructurales delicadas, como bloqueo cardiaco en tercer grado (D. M. Friedman et al., 2008).

VIII. Inmunización materna

Debido a que la población de IgG neonatal representa la historia antigénica materna, un enfoque creciente para este isotipo es la inmunización materna, pues brinda protección a ambos individuos. Se han reportado mayores títulos de anticuerpos con especificidad para influenza, tras la inmunización materna (Benowitz et al., 2010), dando como resultado una disminución de entre el 45-48% en casos de hospitalización por dicho agente etiológico (Poehling et al., 2011). Además, las vacunas que despiertan respuestas humorales de tipo IgG1, como la vacuna de polisacárido de *Haemophilus influenzae* tipo b (Hib), tienen la capacidad de elevar los niveles de IgG1 fetales (Englund, 2003) incluso hasta los primeros seis meses de vida (Nahm et al., 2003). Para el caso de los microorganismos capsulados, cuya respuesta humoral es principalmente IgG2 (como en el caso de la vacuna del conjugado neumocócico), la implementación de esquemas de inmunización puede favorecer la aparición de IgG1 (Vidarsson et al., 1998), en luz de que esta inmunoglobulina tiene un mayor transporte placentario que IgG2.

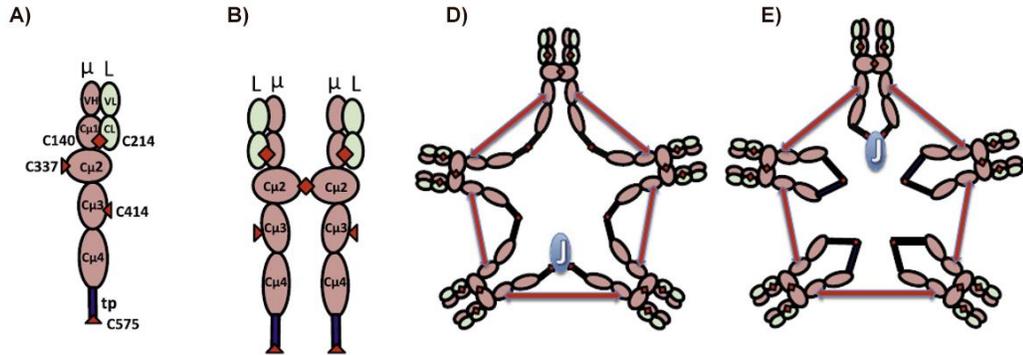
Por otro lado, grandes dosis de anticuerpos adquiridos de forma pasiva podrían inhibir la capacidad humoral adaptativa en la infancia temprana (Palmeira et al., 2012). Aunque los mecanismos por los cuales ocurre esto todavía no se conocen con exactitud, este fenómeno se ha reportado para vacunas de sarampión, paperas (Gans et al., 2003; Siegrist, 2003). Algunas hipótesis sobre el porqué de este fenómeno incluyen la neutralización de vacunas virales, la participación de complejos inmunes que inhiben a las células B del infante mediante la participación del receptor Fc γ R1IB, e inclusive la eliminación de antígenos cubiertos por anticuerpos maternos mediante fagocitosis, lo que impediría despertar una respuesta inmune adaptativa en el infante (Palmeira et al., 2012).

A pesar de esto, actualmente, se recomienda la aplicación de diversas vacunas en mujeres embarazadas, como la vacuna del toxoide tetánico y la vacuna de influenza con virus inactivado (Palmeira et al., 2012) y en situaciones particulares, algunas vacunas como la de hepatitis A y B, rabia, o polio son opciones a tomar en cuenta (Englund, 2003).

IgM

Es la primera inmunoglobulina en generarse tras la exposición antigénica inicial en la fase inflamatoria aguda, y se caracteriza por tener una gran avidéz hacia sus epítomos (Heyman, 2016). Tiene una gran diversidad estructural, puesto que puede encontrarse en su forma monomérica, pentamérica (*Figura 8*) e incluso hexamérica. Sus cadenas pesadas maduras se componen de 5 dominios (VH, C μ 1, C μ 2, C μ 3 y C μ 4) y 576 amino ácidos (Kehry et al., 1979). A diferencia de IgG, que sólo puede formar puentes disulfuro con otras cadenas y en la región *hinge*, cada cadena μ de IgM es capaz de formar puentes disulfuro con otras cadenas μ mediante tres cisteínas distribuidas en tres dominios diferentes, lo que da lugar a los homo-pares: C337–C337 en la región C μ 2, C414–C414 en C μ 3, y C575–C575 en C μ 4, como se ilustra en la *Figura 6*. Este hecho, aunado a la presencia de un carboxilo μ -terminal (denominado *tailpiece*), permite la formación de las variantes poliméricas observadas para esta inmunoglobulina (Davis et al., 1989), mediante la unión con la proteína J (Frutiger et al., 1992), aunque ésta última se reserva sólo para algunas conformaciones (Sorensen et al., 2000). Dichas conformaciones son secretadas hacia las mucosas por acción del receptor polimérico de inmunoglobulinas, PIgR, el cual se une a IgM mediante la proteína J (Johansen et al., 2000).

Figura 6. Modelo esquemático del isotipo IgM



A) Heterodímero de una cadena pesada y una ligera, también conocido como halfmer. Destacan sus múltiples dominios y sitios de glicosilación (denotados como triángulos rojos), así como la tailpiece (tp). **B)** Monómero de IgM, unido por enlaces disulfuro C575-C575 (denotados como un rombo rojo) en el dominio Cμ2. **C, D)** Modelos de pentámeros que contienen la cadena J. En flechas rojas dobles, se ilustran las interacciones por puentes disulfuro C414-C414 entre los dominios Cμ3 de cada monómero. La diferencia principal entre estos modelos es que en C) los puentes disulfuro de C414-C414 y C575-C575 unen a las mismas cadenas μ, mientras que en D), existe una unión en serie. Tomado y modificado de Heyman, 2016.

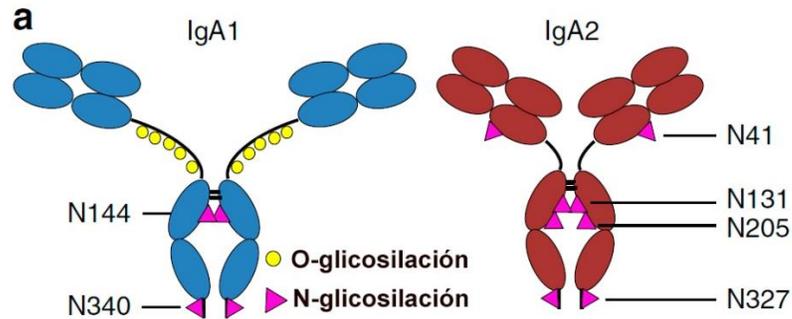
El rol de IgM consiste en combatir directamente la infección microbiana y regular la respuesta inmunológica. Esto se debe a su alta avidéz, excelente capacidad aglutinante y eficiente activación del complemento, pues se requiere sólo la unión de un monómero a C1q. Asimismo, la presencia de hasta tres receptores Fc diferentes, la capacidad de respuesta ante antígenos timo-dependientes y timo-independientes, y a la presencia de células B de memoria con IgM superficial contribuyen a la diversidad funcional de esta inmunoglobulina (Louis et al., 2014). Además, constituye el principal isotipo de los anticuerpos naturales producidos de forma constitutiva sin exposición antigénica (Ehrenstein et al., 2000), los cuales son responsables de la incompatibilidad entre grupos sanguíneos, y se ha visto que pueden ser transferidos verticalmente a través de la lactancia materna y tener un efecto protector contra infecciones bacterianas en los recién nacidos (Van de Perre, 2003).

Cabe mencionar que existe evidencia de alteraciones en los niveles de IgM a causa de la obesidad. A este respecto, se ha reportado un decremento en los niveles de IgM total en humanos obesos (Marzullo et al., 2014), y además se ha propuesto que estas alteraciones pudiesen afectar también a la progenie de mujeres que cursaron el embarazo con obesidad, posiblemente mediante un mecanismo en el cual células B que maduran en el bazo favorecen la expresión de IgD sobre la expresión de IgM (Wilson et al., 2015). Interesantemente, en modelo murino, bajo condiciones de dieta alta en grasas se ha reportado incremento en los niveles de IgM mediante la estimulación de TLR-4 en células B (Arai et al., 2013); pero además se ha visto que la asociación de IgM con AIM (inhibidor de la apoptosis del macrófago, por sus siglas en inglés) puede estimular a la producción de autoanticuerpos del isotipo IgG por parte de células plasmáticas (Arai et al., 2013).

IgA

Es la segunda inmunoglobulina más abundante en suero, tras IgG, y alcanza concentraciones de 2-3 mg/mL (en su forma monomérica). Su principal función en su forma dimérica es proteger mucosas de los tractos respiratorio, gastrointestinal y genitourinario, las cuales en conjunto representan un área de hasta 400 m² de contacto con posibles patógenos. Existen dos subclases de esta inmunoglobulina: IgA1, que posee una región *hinge* extendida; e IgA2 que posee una región *hinge* corta, las cuales son producidas por genes independientes (Woof & Kerr, 2006). Los patrones de glicosilación son diferentes (*Figura 7*): IgA1 posee 2 sitios de N-glicosilación en la región Fc, así como una rica O-glicosilación alrededor de la región *hinge* que representa entre el 5-10% de la masa molecular (Tomana M., 1976). Por su parte, IgA2 posee 4 sitios de N-glicosilación y carece de O-glicosilaciones. Adicionalmente, se ha reportado que IgA1 posee más ácido siálico por glicano que IgA2, mientras que ésta última posee una mayor cantidad de galactosa por glicano, y glicanos totales por anticuerpo. De acuerdo con publicaciones recientes, estas diferencias parecen ser la causa de las diferentes funciones de estos anticuerpos, siendo IgA2 se relacionada con un perfil proinflamatorio en neutrófilos, monocitos y macrófagos (Steffen et al., 2020).

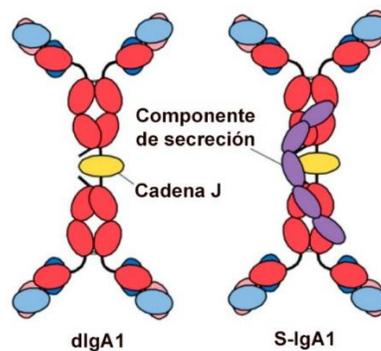
Figura 7. Representación esquemática de los patrones de glicosilación de IgA1 e IgA2.



*Destaca la presencia de O-glicósidos en IgA1, pero no en IgA2; así como la región hinge extendida en IgA1. Tomado y modificado de Steffen *et al.*, 2020.*

Por otro lado, la presencia de cisteína como penúltimo residuo de sus *tailpiece* y la presencia del carboxilo terminal permite la unión de ambos subclases a la proteína ácida J (Figura 8) (Woof & Kerr, 2006), la cual promueve la formación de conformaciones poliméricas (Mestecky et al., 1974) y debido a esto, es que es reconocida por el receptor de inmunoglobulinas poliméricas, pIgR (Johansen et al., 2000), y secretado hacia mucosas del tracto digestivo y respiratorio, así como en leche materna.

Figura 8. Representación esquemática de la forma dimérica de IgA1 y su forma secretable



Destaca en amarillo, la presencia de la cadena J, a la cual se unen los componentes secretores del pIgR, destacado en morado. Tomado y modificado de Woof & Kerr, 2006.

Sus funciones son diversas, pero destacan la protección de mucosas contra el establecimiento de agentes infecciosos potencialmente patogénicos, el control y modulación de la microbiota (Bunker et al., 2018), y la inmunidad pasiva que dota a los neonatos de protección contra infecciones a través de la lactancia materna (Hanson et al., 2002). Además, su receptor Fc α RI (CD89), se expresa sobre la superficie de células del linaje mieloide, como neutrófilos, monocitos, eosinófilos, macrófagos y algunos tipos de células dendríticas (Hamre et al., 2003).

IgE

Fue el último anticuerpo en ser descubierto al ser la inmunoglobulina menos abundante en plasma sanguíneo, posee una vida media de 2 días (Shade et al., 2019) y se cree que se originó como un mecanismo de defensa contra parásitos y venenos (Mukai et al., 2016). Asimismo, se relaciona con reacciones de hipersensibilidad tipo I (Gould et al., 2008). Su estructura es diferente a la de IgG (compuesta de dímeros de C γ 2 y C γ 3), puesto su Fc se compone de seis dominios (dímeros de C ϵ 2, C ϵ 3 y C ϵ 4) en lugar de cuatro y carece de la región *hinge*. De hecho, el Fc de IgE tiene un origen filogenético más antiguo que el de IgG, en donde ésta última obtuvo la región *hinge* a modo de 'reemplazo' para el dímero de C ϵ 2 (Sutton et al., 2019).

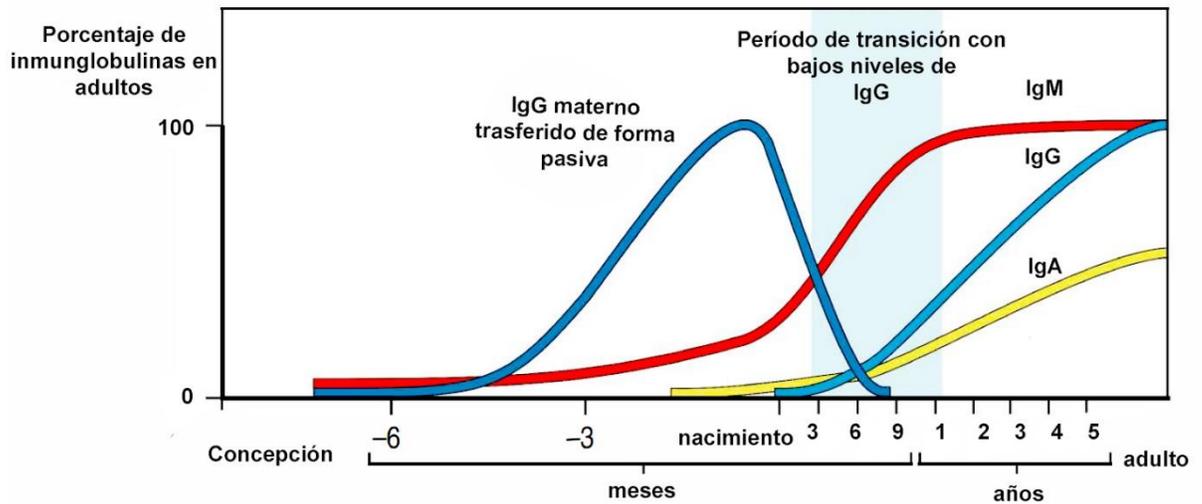
Existen dos tipos principales de receptores: Fc ϵ RI y Fc ϵ RII/CD23. Éste último es especial puesto que pertenece a la superfamilia de los receptores tipo lectina C trimérico y es dependiente de Ca (II) (Gould & Sutton, 2008). IgE tiene una particularmente elevada afinidad por el Fc ϵ RI, tal que la mayor proporción de esta inmunoglobulina se encuentra unida a sus receptores, los cuales se expresan en la superficie de mastocitos, basófilos, células del epitelio muscular liso, monocitos y macrófagos. Es por esto que la potente respuesta inflamatoria derivada del contacto antigénico acontece en períodos cortos de alrededor de un minuto (Hogarth et al., 2012) y ocurre por la degranulación de los granulocitos y la ulterior contracción del músculo liso. En cuanto a Fc ϵ RII/CD23, éste se expresa en linfocitos B, linfocitos T, células presentadoras de antígeno y epitelio del tracto respiratorio; y particularmente en linfocitos B existe en su forma soluble que permite modular los niveles de IgE. De hecho, se ha reportado que la presencia de la

forma monomérica soluble inhibe la síntesis de IgE y la forma trimérica soluble la incrementa (Conrad et al., 2007; Cooper et al., 2012; McCloskey et al., 2007).

IgD

Su función queda por esclarecerse, pues no se conocen receptores para su fragmento Fc, pero se localiza sobre la membrana de los linfocitos B, así como en mucosas y plasma sanguíneo en muy bajas concentraciones, y además contiene O-glicanos al igual que IgA1 (Weis-Garcia & Carnahan, 2017). Cabe mencionar que los niveles de anticuerpos varían a lo largo de la vida de los individuos, incluso en su etapa gestacional y perinatal. Como se observa en la *Figura 9*, los neonatos nacen con niveles elevados de IgG de origen materno, los cuales representan la historia antigénica de la madre (Palmeira et al., 2012), pero estos son catabolizados rápidamente tomando niveles mínimos al noveno mes de vida. Debido a que el recién nacido no produce IgG suficientes para contrarrestar dicha pérdida, se genera un período de susceptibilidad caracterizado por bajos niveles de IgG (Murphy, 2012).

Figura 9. Inmunoglobulinas fetales a lo largo del embarazo y en los primeros años de vida.



Los recién nacidos tienen altos niveles de IgG, que es transportada activamente a través de la placenta desde la madre durante la gestación. Después del nacimiento, la producción de IgM e IgA acelera casi inmediatamente; pero la producción de IgG no comienza sino hasta alrededor del sexto mes de vida, y es por esto que ocurre un descenso en los niveles de IgG a medida que éstos son catabolizados, lo que genera susceptibilidad. Tomado y modificado de Kenneth Murphy, 2012.

Contrario de lo que se piensa acerca de que el sistema inmunológico de un producto gestante es inmaduro, este puede montar respuestas adaptativas con la consecuente producción de anticuerpos. Con lo anterior, los isotipos IgM e IgA son producidos por los fetos durante el embarazo, particularmente en células plasmáticas del hígado fetal, sin embargo, sus niveles incrementan hasta niveles comparables a los de un adulto hasta después del nacimiento (Murphy, 2012). En cuanto al isotipo IgE, se sabe que se expresa por macrófagos fetales unido al receptor FcγR y no se produce como anticuerpo (Sverremark Ekstrom et al., 2002), pero su origen ha sido poco explorado.

1.4 PANORAMA DE LA OBESIDAD GESTACIONAL E IMPACTO EN LA PROGENIE

En México, hasta el 76.8% de las mujeres en edad fértil tienen sobrepeso u obesidad (ENSANUT, 2018), por lo que no es sorprendente que ocupemos el séptimo lugar mundial en prevalencia de obesidad pregestacional (C. Chen et al., 2018), y las consecuencias derivadas de esta condición pueden afectar a la madre o al recién nacido. Las principales complicaciones para la madre durante el embarazo suelen ser: hipertensión arterial gestacional, diabetes mellitus gestacional, preeclampsia, eclampsia, eventos tromboticos, necesidad de cesárea, complicaciones postoperatorias e inclusive muerte durante el parto (Poston et al., 2011). Mientras que, por el lado de la progenie se han reportado mayores malformaciones congénitas (e.g. defectos del tubo neural y labio palatino), macrosomías neonatales, nacimiento pretérmino o prematuro, incremento de cesáreas, susceptibilidad a infecciones en los primeros meses de vida, lo que en conjunto contribuye hasta con el 11% de las muertes neonatales (Hemond et al., 2016; Poston et al., 2011). Además, los efectos pueden apreciarse a largo plazo, como es el caso de la elevada tasa de obesidad, susceptibilidad a diabetes, asma, riesgo elevado de desarrollo cánceres infantiles (Stacy et al., 2019), desarrollo neurológico adverso (disminución de coeficiente intelectual, autismo, hiperactividad y déficit de atención, e inclusive psicosis como la esquizofrenia (Van der Burg Jeske et al., 2016)), e inclusive enfermedades cardiovasculares, observadas durante la adolescencia y adultez temprana de la progenie de madres obesas (Hemond et al., 2016; Poston et al., 2011). Interesantemente, se ha reportado el descenso en las poblaciones de células mieloides como monocitos y neutrófilos en neonatos nacidos de mujeres obesas (Enninga Elizabeth Ann et al., 2020), pero poco ha sido explorado sobre moléculas de activación mieloide.

Ahora bien, la cantidad de leucocitos en recién nacidos es diferente a la de los adultos sanos. En general, se reconoce una leucocitosis fisiológica neonatal con cuentas de entre 9 000 – 34 000 células por μL (Resch Bernhard et al., 2012), lo que contrasta con las concentraciones de leucocitos en adultos, las cuales son de entre 4 000 – 10 000 células por μL (MS, 1990). No obstante, las leucocitosis neonatales rara vez exceden las

100 000 células por μL (Parvez et al., 2014). Interesantemente, los neonatos de madres obesas y con sobrepeso reportan alteraciones inflamatorias y del sistema inmune, como por ejemplo altos índices inflamatorios neonatales (basado en análisis de $\text{TNF-}\alpha$, IL-1a, IL-1ra, IL-6 e IL-8), incremento de IgM sérica (Broadney et al., 2017), y un elevado estrés oxidativo denotado como el incremento de especies reactivas de oxígeno en sangre periférica (Gallardo Juan Manuel et al., 2015). Cambios en el funcionamiento de los diferentes $\text{Fc}\gamma\text{Rn}$ debidos a enfermedades inflamatorias han sido reportadas, por lo que la obesidad podría potencialmente afectar el transporte de IgG a través de algún mecanismo de inflamación en placenta, pero poco ha sido estudiado al respecto (Mkaddem Sanae Ben et al., 2019).

2 JUSTIFICACIÓN

La obesidad es una condición crónica que tiene la capacidad de generar inflamación sistémica de bajo grado, lo que favorece la aparición de comorbilidades como la hipertensión arterial, dislipidemias y enfermedades cardiovasculares como la aterosclerosis. En el embarazo, la obesidad pregestacional ha sido relacionada con complicaciones maternas (preeclampsia, diabetes gestacional, abortos recurrentes, muerte durante el parto), así como complicaciones para la progenie (elevación de la mortalidad neonatal hasta en un 11%, obesidad, diabetes gestacional y complicaciones cardiovasculares en la adolescencia y adultez temprana), no obstante, el impacto que pueda tener la obesidad materna sobre el sistema inmune de los recién nacidos ha sido poco explorado. Esta información puede servir como base para la implementación de biomarcadores tempranos para determinar el riesgo de futuras patologías en la progenie.

3 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es el impacto de la obesidad y el sobrepeso maternos sobre la expresión de moléculas relacionadas a la activación de los compartimentos mieloides, y sobre los niveles humorales maternos y neonatales?

4 HIPÓTESIS

La obesidad pregestacional materna promueve el incremento de células mieloides maternas y neonatales que expresan TLR-4, CD11b y CD11a, así como un incremento en el transporte de IgG2 hacia cordón umbilical.

5 OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el impacto del sobrepeso y obesidad pregestacionales maternos sobre el estado de activación de células mieloides (neutrófilos, basófilos, eosinófilos y monocitos) y en el compartimento humoral (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA e IgE) de sangre periférica materna y cordón umbilical del recién nacido.

5.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- I. Determinar el impacto del IMC pregestacional en la frecuencia de neutrófilos, basófilos, eosinófilos y monocitos que expresan CD11a, CD11b y TLR-4 en sangre periférica y sangre de cordón umbilical de madres con normopeso, sobrepeso y obesidad.
- II. Determinar el impacto del IMC pregestacional en la concentración de las inmunoglobulinas IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA e IgE de sangre periférica y sangre de cordón umbilical de madres con normopeso, sobrepeso y obesidad.
- III. Determinar el impacto del estado clínico y bioquímico materno sobre el estado de activación de células mieloides y niveles de inmunoglobulinas de cordón umbilical en recién nacidos de madres con normopeso, sobrepeso y obesidad.

6 MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 CARACTERÍSTICAS DE LA INVESTIGACIÓN

La presente investigación forma parte del proyecto multidisciplinario y colaborativo Exposoma (Registro del proyecto: 2017-2-85), financiado y desarrollado en el Instituto Nacional de Perinatología (INPer); cuyo diseño ha sido evaluado y aprobado por su Comité de Investigación, Ética y Bioseguridad. Este estudio es de carácter observacional, muestreo no probabilístico de casos únicos de tipo cohorte y por el investigador de carácter analítico.

6.2 POBLACIÓN DE ESTUDIO

6.2.1 Criterios de selección de la población de estudio

Mujeres embarazadas que acuden a control prenatal antes de las 18 SDG con edad igual o mayor a 18 años, residentes de la Ciudad de México y/o área conurbada y que además tengan embarazo único. Todas aquellas mujeres que se les invite a participar en el estudio, se les dé y firmen el consentimiento informado.

6.2.2 Criterios de inclusión de la población de estudio

En grupos de estudio:

- ✓ **Grupo control:** mujeres con edad igual o mayor a 18 años, residentes en la Ciudad de México y/o área conurbada, con embarazo único, IMC pregestacional entre 18.0 y 24.9 kg/m², con inicio de seguimiento del embarazo antes de las 18 semanas de gestación (SDG).
- ✓ **Grupo de sobrepeso:** cumple todas las características del control, excepto que el $25.0 \geq \text{IMC} \geq 29.9$ kg/m².
- ✓ **Grupo de obesidad:** cumple todas las características del control, excepto que el $\text{IMC} \geq 30.0$ kg/m².

6.2.3 Criterios de exclusión de la población de estudio

Pacientes que presentan patologías agregadas como: lupus eritematoso, síndrome de anticuerpos antifosfolípidos, VIH, leucemia, hipertiroidismo, cardiopatías no corregidas, insuficiencia renal crónica, epilepsia, esquizofrenia, Trastorno Obsesivo Compulsivo (TOC), toxicomanías, síndrome de mala absorción, asma no controlada, cualquier tipo de cáncer, nacimiento del producto gestante fuera del INPer.

6.2.4 Criterios de eliminación de la población de estudio

Mujeres o binomios madre-hijo que no asistan a 2 o más citas programadas del seguimiento, madres que deseen retirarse del estudio y casos en los que la muestra no sea procesable.

6.3 Muestras

6.3.1 Obtención de las muestras

A las mujeres incluidas en el estudio, se les tomó una muestra de al menos 3 mL de sangre periférica, y una vez practicada la cesárea se tomó una muestra del mismo volumen de sangre de cordón umbilical y se recolectaron en tubos con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) como anticoagulante. Se obtuvieron muestras de 15 mujeres para el grupo control, 19 mujeres para el grupo de sobrepeso y 9 mujeres para el grupo de obesidad; así como de los recién nacidos correspondientes a cada una de las madres participantes.

6.3.2 Inmunomarcaje de superficie

Para cada binomio de sangre venosa materna preparto y sangre de cordón umbilical se realizó el procedimiento que se describe a continuación. Se tomaron 25 μ L de sangre y se homogeneizaron con volúmenes titulados de anticuerpos fluorocromados en tubos de ensayo de polietileno de 12x75 (*Tabla 2*) e incubadas durante 15 minutos (temperatura ambiente, oscuridad). Posteriormente, los eritrocitos fueron lisados y los leucocitos fijados mediante la adición de 250 μ L de la solución FACS™ BD Lysing Solution (solución comercial de cloruro de amonio y paraformaldehído). A continuación, se eliminó el exceso de anticuerpos mediante lavados por centrifugación (400 rfc, 5min) con 500 μ L de PBS (solución amortiguadora de fosfatos, pH=7.4) y tras descartar el sobrenadante, se reconstituyó el botón celular en 100 μ L de solución isotónica BD FACS

Flow™. Finalmente, las muestras se analizaron en un citómetro de flujo FACS ARIA III, cuya mesa óptica se muestra en la *Tabla 3*.

Tabla 2. Panel de anticuerpos

Anticuerpo^{a, b}	Fluorocromo	Marca	Catálogo	Volumen titulado (µL)
α-CD14	APC eF780	eBioscience	47-0149-42	0.3
α-CD16	AF 488	BioLegend	302019	0.3
α-CD11a	PE Cy7	BioLegend	301220	0.3
α-CD11b	APC	BioLegend	301410	0.3
α-CD45	BV 421	BD	563879	0.3
α-TLR4 (CD284)	PE	BioLegend	312806	0.3
α-HLA-DR	PE Cy5	BD Pharmigen	555813	1.0

^a IgG de conejo, ^b Los volúmenes utilizados varían de acuerdo con el título

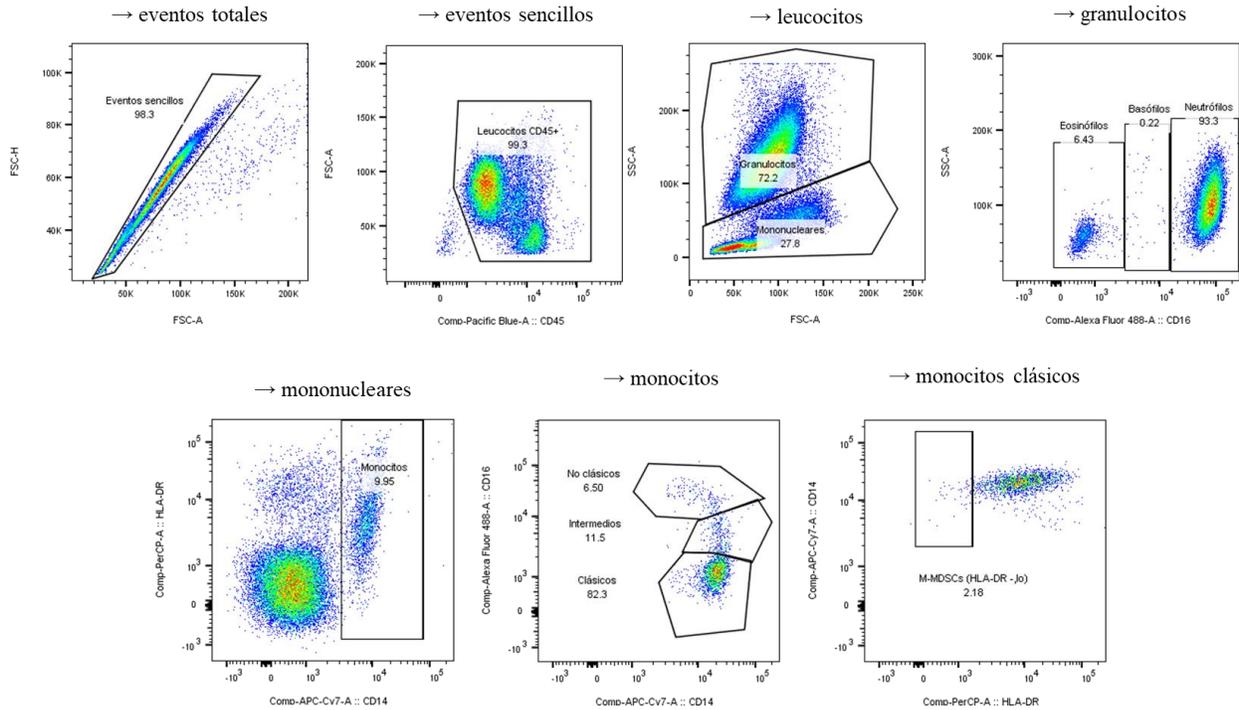
Tabla 3. Mesa óptica y configuración del citómetro

LASER	Primer filtro	Segundo filtro
Violeta 405 nm	-	450/40
	LP 502	510/50
Azul 488 nm	-	488/10
	LP 502	530/30
	LP 556	585/42
	LP 610	612/23
	LP 655	695/40
	LP 735	780/60
Rojo 633 nm	-	660/20
	LP 735	780/60

6.3.3 Algoritmo para la identificación de células mieloides

La selección e identificación celular por citometría de flujo fue realizada en el software Flow Jo™ V.10 y se presenta en la *Figura 10*. Inicialmente, se seleccionan los eventos sencillos en una gráfica de los parámetros de tamaño en formato área (FSC-A) y formato pico (FSC-H) como aquellos que presentaban una relación lineal en ambas señales. Posteriormente se seleccionaron los leucocitos CD45+, y con el uso de los parámetros FSC-Ay granularidad (SSC-A), se seleccionan a los granulocitos (alta granularidad, tamaño intermedio) y células mononucleares (baja granularidad, tamaño intermedio). Los granulocitos se clasificaron en eosinófilos, basófilos y neutrófilos de acuerdo con la expresión de CD16; siendo los neutrófilos CD16⁺⁺⁺, los basófilos CD16⁺, y los eosinófilos CD16⁻ (Gopinath et al., 1997; Zhu et al., 1998). Por su parte, a partir del compartimento mononuclear se seleccionaron los eventos CD14⁺ con expresión variable de HLA-DR, correspondiendo a los monocitos. Las subpoblaciones de monocitos fueron clasificados con ayuda de CD14 y CD16 en clásicos (CD14+CD16⁻), intermedios (CD14+CD16⁺) y no clásicos (CD14⁻CD16⁺⁺⁺). A partir de los monocitos clásicos, se seleccionó a la población con baja expresión de HLA-DR para identificar a las células supresoras derivadas de mieloides (Gimeno et al., 2011). Finalmente, a cada población celular salvo M-MDSCs, se interrogó para la expresión de CD11a, CD11b y TLR4, y se registraron sus proporciones.

Figura 10. Algoritmo de identificación de células mieloides



Se muestra el algoritmo para la identificación de células mieloides a través del programa Flow Jo TM.

6.3.4 Cuantificación de inmunoglobulinas

Por cada binomio madre-hijo, se tomaron 200 μ L de sangre total venosa materna y de cordón umbilical en tubos con EDTA como anticoagulante, de los cuales 1 μ L fueron centrifugadas para la obtención de plasma sanguíneo. Luego de realizar diluciones seriadas (1:10 000 000), se transfirieron 5 μ L de la dilución final a un tubo con 5 μ L de perlas de captura de anticuerpos y 10 μ L de solución amortiguadora. Después de una primera incubación durante 2 horas a temperatura ambiente y en condiciones de oscuridad, se realizó la adición de 5 μ L del reactivo de detección, seguido de una segunda incubación de 30 minutos (temperatura ambiente, oscuridad). Para finalizar, se realizaron lavados con solución de lavado (400 rfc, 5 min) para eliminar el excedente de reactivos, y se reconstituyeron las perlas con BD FACS FLOW TM. Las muestras procesadas fueron analizadas en un citómetro FACS ARIA III y los datos fueron interpolados utilizando una curva patrón preparada paralelamente al ensayo con ayuda del software *LEGENDplex* TM Data Analysis Software V8.0.

6.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

6.4.1 Análisis por grupos

Para la comparación de las variables clínicas maternas, el porcentaje de células mieloides y cantidad de IgG1, IgG2, IgG3, IgM, IgG4, IgA, IgE séricas maternas y en cordón umbilical se realizó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, y posteriormente una ANOVA de una vía con prueba *post hoc* de Tukey en caso de tener distribución normal en los tres grupos; o prueba de Kruskal-Wallis con prueba *post hoc* de Dunn en caso de no tener distribución normal en los tres grupos. En el caso particular de las variables categóricas, como el género y la vía de nacimiento, se realizó la prueba de Chi-cuadrada. En todos los casos, el nivel de significancia se consideró con un valor de 0.05.

6.4.2 Pruebas de correlación

Para conocer el impacto que tiene el IMC sobre las variables clínicas e inmunológicas en madres y recién nacidos, se realizaron pruebas de correlación biparamétricas de Spearman con nivel de significancia de 0.05.

6.4.3 Reducción de dimensionalidad por análisis de componentes principales

Con la finalidad de analizar las variables recolectadas en un contexto multivariable e identificar las relaciones existentes entre los parámetros clínicos maternos, los compartimentos celulares y de anticuerpos evaluados; se realizaron análisis de componentes principales (PCA por sus siglas en inglés). Para ello, se utilizaron matrices enteras y normalizadas de datos las cuales fueron procesadas con el software *GraphPad Prism™ 9.0* para generar componentes principales que expliquen al menos el 60% de la variación de los datos. Los resultados de este análisis se exponen en gráficos de biplot, que muestran en un mismo plano las variables (representadas como un punto unido a un vector desde el origen), así como las muestras enumeradas como puntos discretos. El nivel de correlación es proporcional al coseno del ángulo entre los vectores de cada variable, por lo que vectores paralelos representan la máxima correlación, vectores antiparalelos representan correlación inversa y vectores octogonales presentan no correlación.

7 RESULTADOS

I. DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN MATERNA Y NEONATAL

En el presente estudio se reclutaron 37 voluntarias de las cuales, 40 % conformaron el grupo control, 35 % el de sobrepeso y 25 % el de obesidad. Como se detalla en la *Tabla 4*, la edad, la talla, la ganancia de peso durante el embarazo, la presión, así mismo, variables bioquímicas séricas son similares entre los tres grupos, mientras que la variable definitoria (Peso pregestacional e IMC) son evidentemente mayores en los grupos de sobrepeso y obesidad. Interesantemente, los niveles de glucosa son mayores en la población de sobrepeso en comparación con el del grupo con obesidad, sin que estos valores sobrepasen los niveles normales (<140 mg/dL). Esta descripción resalta que los grupos son comparables entre ellos y la propia condición de sobrepeso y obesidad será la responsable de las alteraciones en las determinaciones inmunológicas.

Por su parte, el resultado de la condición neonatal debido al sobrepeso y obesidad maternos, parecen no impactar directamente en la somatometría y el estado general de salud inmediato (puntuación APGAR 1 y 5) de la progenie (*Tabla 5*). Adicionalmente, el género entre los recién nacidos está equilibrado en los tres grupos, mostrando que las potenciales diferencias inmunológicas no estarían sesgadas por el sexo o la edad gestacional.

Tabla 4. Parámetros clínicos maternos

Parámetro	Control (n=15)	Sobrepeso (n=13)	Obesidad (n=9)	P
Edad (años) ^d	28.3 ± 6.4	31.5 ± 4.8	34.7 ± 7.7	ns
Talla (m) ^d	1.6 ± 0.06	1.6 ± 0.06	1.6 ± 0.06	ns
Peso pregestacional (kg) ^e	60.3 ± 14.0	70.4 ± 15.8	91.6 ± 19.6	b***
IMC pregestacional (kg/m ²) ^e	24.6 ± 4.6	28.2 ± 5.1	37.3 ± 6.4	b*** c*
Incremento de peso (kg) ^e	11.3 ± 6.2	6.0 ± 7.3	8.1 ± 6.2	ns
Presión sistólica (mmHg) ^d	109.4 ± 8.0	109.9 ± 7.6	106.7 ± 7.2	ns
Presión diastólica (mmHg) ^d	68.8 ± 7.0	68.8 ± 7.9	70.3 ± 5.6	ns
Glucosa (mg/dL) ^e	79.9 ± 8.0	91.3 ± 26.9	74.1 ± 8.5	c*
Urea (mg/dL) ^e	16.6 ± 5.5	18.0 ± 6.2	18.2 ± 5.5	ns
BUN (mg/dL) ^d	7.2 ± 2.7	8.0 ± 2.9	8.5 ± 2.6	ns
Creatinina (mg/dL) ^e	0.4 ± 0.2	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.1	ns
Ácido úrico (mg/dL) ^d	4.5 ± 1.5	4.0 ± 0.8	4.3 ± 0.9	ns
Colesterol (mg/dL) ^d	185.0 ± 39.9	188.8 ± 36.6	203.0 ± 39.8	ns
LDL (mg/dL) ^d	92.2 ± 6.8	101.0 ± 38.4	96.2 ± 34.9	ns
HDL (mg/dL) ^d	64.7 ± 6.5	56.1 ± 8.7	56.7 ± 6.5	ns
Triglicéridos (mg/dL) ^d	127.3 ± 33.5	191.8 ± 89.2	191.0 ± 74.8	ns
TGT/ALT (UI) ^d	18.6 ± 5.4	20.6 ± 4.7	13.8 ± 4.4	ns
TGO/AST (UI)	22.5 ± 5.6	16.6 ± 3.6	17.9 ± 2.4	ns

a: control vs sobrepeso; b: control vs obesidad; c: sobrepeso vs obesidad; ns: no significativo; d: ANADEVa de una vía con Tukey $\alpha = 0.05$; e: Prueba de Kruskal-Wallis, $\alpha = 0.05$ con test de Dunn.

Tabla 5. Parámetros clínicos neonatales

Parámetro	Control (n=15)	Sobrepeso (n=19)	Obesidad (n=9)	P
Edad gestacional (SDG)^b	39.4 ± 0.7	38.3 ± 0.9	38.7 ± 0.7	ns
Peso (g)^b	3025.6 ± 315.1	2968.3 ± 371.4	3096.2 ± 331.4	ns
Talla (cm)^b	48.9 ± 1.9	48.5 ± 1.8	49.2 ± 1.4	ns
Perímetro cefálico (cm)^b	34.5 ± 1.7	33.8 ± 1.2	34.7 ± 1.4	ns
APGAR 1 min ^c	8.3 ± 0.5	8.2 ± 0.6	7.7 ± 1.5	ns
APGAR 5 min ^c	9.0 ± 0.0	8.9 ± 0.3	8.9 ± 0.3	ns
Género (M, F)	7, 7	9, 4	5, 4	ns ^a

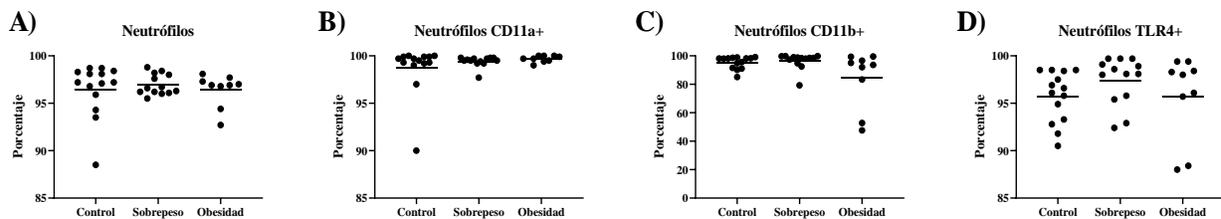
a: Chi-cuadrada $\alpha = 0.05$; ns: no significativo; b: ANADEVa de una vía con Tukey $\alpha = 0.05$; c: Prueba de Kruskal-Wallis, $\alpha = 0.05$ con test de Dunn.

II. IMPACTO DE LA OBESIDAD EN EL FENOTIPO DE CÉLULAS MIELOIDES Y NIVELES DE ANTICUERPOS HACIA EL TÉRMINO DEL EMBARAZO

Para develar el impacto de la obesidad gestacional materna en las proporciones de células mieloides maternas, identificamos fenotípicamente a neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monocitos clásicos, monocitos intermedios, células supresoras derivadas mieloides (M-MDSC), así como aquellas células que expresan CD11a, CD11b y TLR4 para explorar el estado de activación mieloides, a través de citometría de flujo.

Iniciando con las células mieloides polimorfonucleares, en la *Figura 11* se muestra la comparación estadística de medias por grupos para neutrófilos, donde observamos que el sobrepeso y la obesidad no altera significativamente los porcentajes de neutrófilos totales (*Figura 11A*), neutrófilos CD11a+ (*Figura 11B*), neutrófilos CD11b+ (*Figura 11C*).

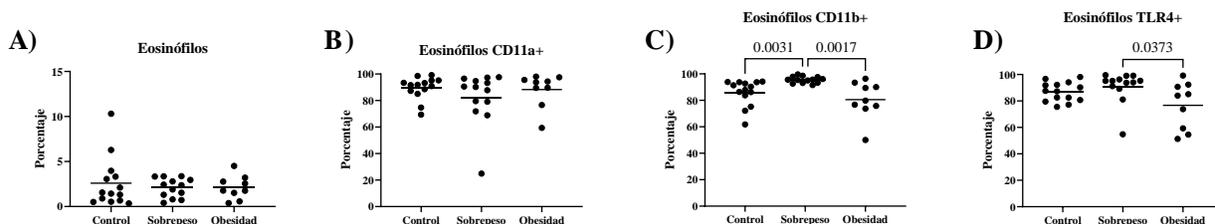
Figura 11. Frecuencias de neutrófilos maternos



Muestras de sangre periférica de mujeres control ($n=15$), sobrepeso ($n=19$) y obesidad ($n=9$) fueron inmunomarcadas con el panel de células mieloides (Tabla 3) y analizadas por citometría de flujo. Los neutrófilos fueron definidos como eventos sencillos SSC⁺ CD45⁺ CD16⁺. Se determinaron las poblaciones de neutrófilos que expresan B) CD11a, C) CD11b, y D) TLR4. Los resultados se muestran en gráficas de dispersión, en donde la barra central representa a la media. Las diferencias fueron calculadas con prueba Kruskal-Wallis y post hoc de Dunn. ().

En contraste con los neutrófilos, los neutrófilos revelan alteraciones en la condición de sobrepeso y obesidad. Si bien el porcentaje de eosinófilos totales es similar entre las tres condiciones maternas, la frecuencia de eosinófilos CD11b+ (*Figura 12C*) y eosinófilos TLR4+ (*Figura 12D*) muestran un incremento significativo en el grupo de sobrepeso, sin que este resultado sea compartido con el grupo de obesidad. Por otro lado, la presencia de eosinófilos CD11a+ (*Figura 12B*) no revelaron ninguna diferencia significativa.

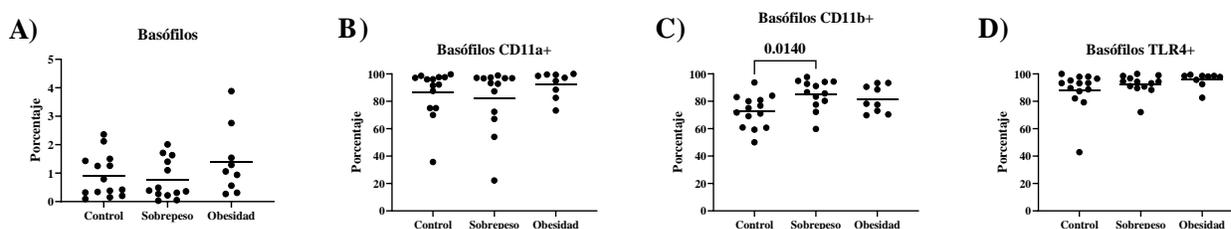
Figura 12. Frecuencias de eosinófilos maternos



Muestras de sangre periférica de mujeres control ($n=15$), sobrepeso ($n=19$) y obesidad ($n=9$) fueron inmunomarcadas con el panel de células mieloides (Tabla 3) y analizadas por citometría de flujo. Los eosinófilos fueron definidos como eventos sencillos $SSC^{++} CD45^{+} CD16^{-}$. Se determinaron las poblaciones de eosinófilos que expresan B) $CD11a$, C) $CD11b$, y D) $TLR4$. Los resultados se muestran en gráficas de dispersión, en donde la barra central representa a la media. Las diferencias fueron calculadas con la prueba de Kruskal-Wallis y post hoc de Dunn.

De forma similar a los eosinófilos, el análisis de basófilos reveló alteraciones interesantes. De esta manera, el porcentaje de basófilos totales es similar entre las tres condiciones (Figura 13A), mientras que el correspondiente a los basófilos $CD11b^{+}$ (Figura 13C) incrementa significativamente en la condición de sobrepeso, pero no así en obesidad. Por su parte, los basófilos $CD11a^{+}$ o $TLR4^{+}$ (Figura 13B y 13D, respectivamente) son similares en los tres grupos.

Figura 13. Frecuencias de basófilos maternos



Muestras de sangre periférica de mujeres control ($n=15$), sobrepeso ($n=19$) y obesidad ($n=9$) fueron inmunomarcadas con el panel de células mieloides (Tabla 3) y analizadas por citometría de flujo. Los basófilos fueron definidos como eventos sencillos $SSC^{++} CD45^{+} CD16^{-}$. Se determinaron las poblaciones de basófilos que expresan B) $CD11a$, C) $CD11b$, y D) $TLR4$. Los resultados se muestran en gráficas de dispersión, en donde la barra central representa a la media. Las diferencias fueron calculadas con ANOVA y post hoc de Tukey (C), o Kruskal-Wallis y post hoc de Dunn (A,B,D).

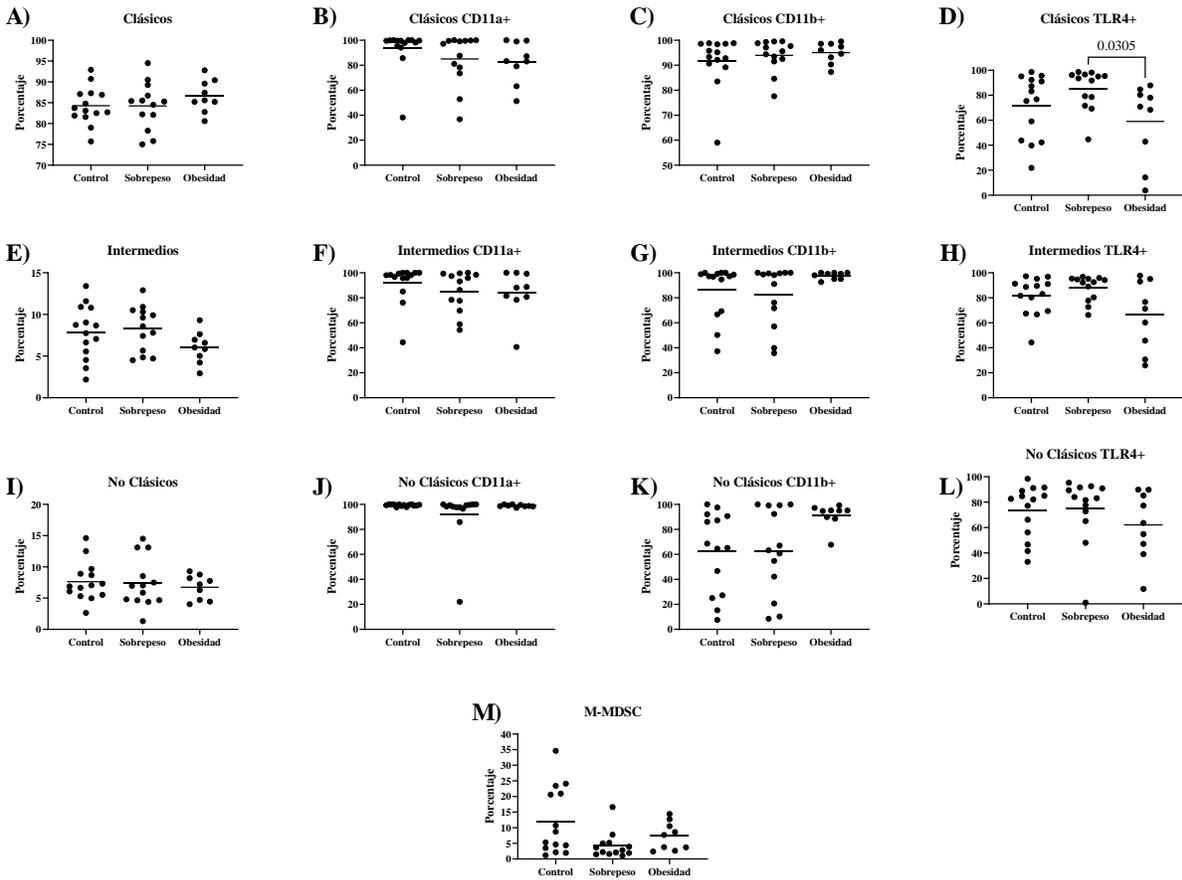
Adicional a las células granulocíticas analizamos a los monocitos. De éstos se han descrito diferentes subpoblaciones incluyendo: monocitos clásicos, intermedios y no clásicos; así como las células supresoras monocíticas derivadas mieloides (M-MDSC).

En la *Figura 14* se muestra la comparación de cada una de las poblaciones en nuestro universo de estudio, donde encontramos que los porcentajes de monocitos clásicos (*Figura 14A*), intermedios (*Figura 14E*), no clásicos (*Figura 14I*) y M-MDSC (*Figura 14M*) son similares entre los tres grupos. Sin embargo, la frecuencia de monocitos clásicos que expresan TLR-4 es menor en las mujeres con obesidad en comparación con las de sobrepeso (*Figura 14D*). A diferencia de las células granulocíticas, ninguna de las subpoblaciones de monocitos muestra diferencias en la expresión de CD11a o CD11b. Adicionalmente, la presencia de M-MDSC en sangre no está influenciada por la condición de sobrepeso u obesidad materna (*Figura 14M*).

Es conocido que la obesidad tiene la capacidad de incrementar los niveles de IgM mediante la estimulación de TLR-4 presentes en la superficie de las células B por acción de ácidos grasos libres en modelo murino (Arai et al., 2013). Por lo anterior, analizamos la condición sérica respecto a la concentración de las diferentes subclases de anticuerpos en sangre periférica materna. Como se muestra en la *Figura 18*, la población sujeta a nuestro estudio por grupos mostró un incremento significativo en las concentraciones de dicho anticuerpo (IgM) para el grupo de obesidad. Además, estudios previos han encontrado elevaciones en los niveles de IgG2 en sujetos obesos (Versini et al., 2014). Como se muestra en la *Figura 15*, encontramos una tendencia de incremento en la concentración de IgG2, mientras que el resto de los anticuerpos no mostró alteraciones.

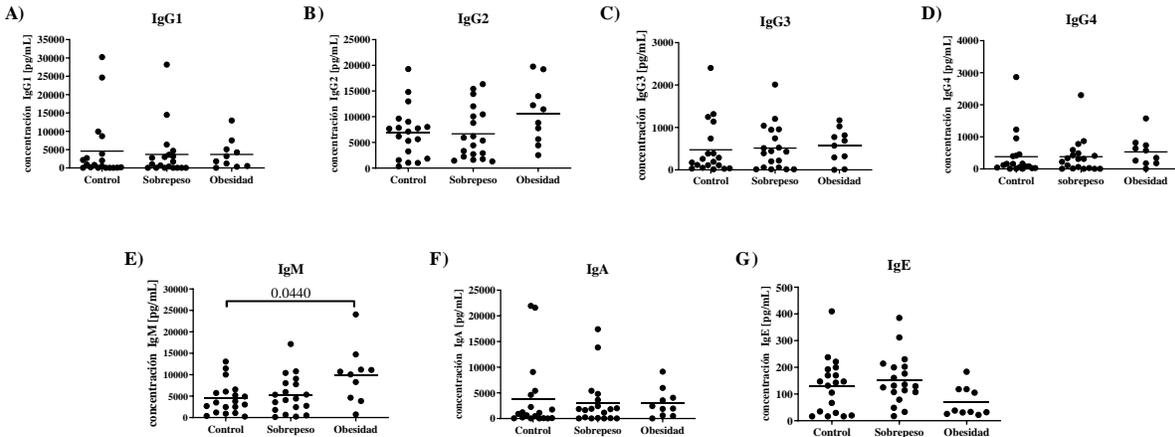
En resumen, estos resultados muestran que el peso corporal elevado induce la expresión de moléculas asociadas a la adhesión celular en granulocitos, mientras que reduce aquellas asociadas al reconocimiento de patógenos en monocitos (TLR-4), así mismo, esta condición modifica el perfil plasmático de inmunoglobulinas dirigiéndose a un perfil predominante de anticuerpos IgM e IgG2.

Figura 14. Frecuencias monocitos maternos



Muestras de sangre periférica de mujeres control ($n=15$), sobrepeso ($n=19$) y obesidad ($n=9$) fueron inmunomarcadas con el panel de células mieloides (Tabla 3) y analizadas por citometría de flujo. Los monocitos clásicos fueron definidos como eventos sencillos $SSC^+ CD45^+ CD14^+ CD16^-$, los monocitos intermedios fueron definidos como eventos sencillos $SSC^+ CD45^+ CD14^+ CD16^+$, los monocitos no clásicos fueron definidos como eventos sencillos $SSC^+ CD45^+ CD14^+ CD16^+$, y las células supresoras derivadas mieloides (M-MDSC) poseen el fenotipo $SSC^+ CD45^+ CD14^+ CD16^- HLA-DR$. Los resultados se muestran en gráficas de dispersión, en donde la barra central representa a la media. Las diferencias fueron calculadas con ANOVA y post hoc de Tukey (A, E, I), o Kruskal-Wallis y post hoc de Dunn (B,C,D, F, G, H, J, K, L M).

Figura 15. Análisis por grupos para anticuerpos en sangre periférica materna



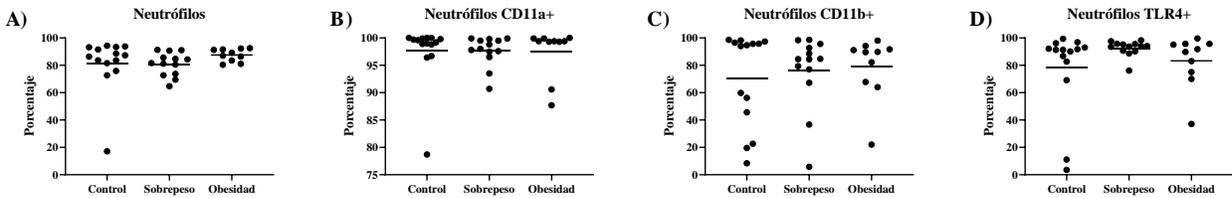
Muestras de sangre periférica de mujeres control ($n=15$), sobrepeso ($n=19$) y obesidad ($n=9$) fueron procesadas de acuerdo con las instrucciones de LEGENDPLEX™ Human Immunoglobulin Isotyping Panel y analizadas por citometría de flujo. Los anticuerpos son capturados por perlas de diferentes tamaños y e intensidades de fluorescencia. Las diferencias fueron calculadas con la prueba de Kruskal-Wallis y post hoc de Dunn. Cada gráfico muestra la concentración sérica promedio de A) IgG1, B) IgG2, C) IgG3, D) IgG4, E) IgM, F) IgA, G) IgE.

III. IMPACTO DE LA OBESIDAD MATERNA EN EL FENOTIPO DE CÉLULAS MIELOIDES Y NIVELES DE ANTICUERPOS EN CORDÓN UMBILICAL HACIA EL TÉRMINO DEL EMBARAZO

Con la finalidad de develar la huella que deja la condición de sobrepeso u obesidad materna en estado inmunológico de los recién nacidos, estudiamos las poblaciones de leucocitos mieloides y de anticuerpos circulantes en cordón umbilical.

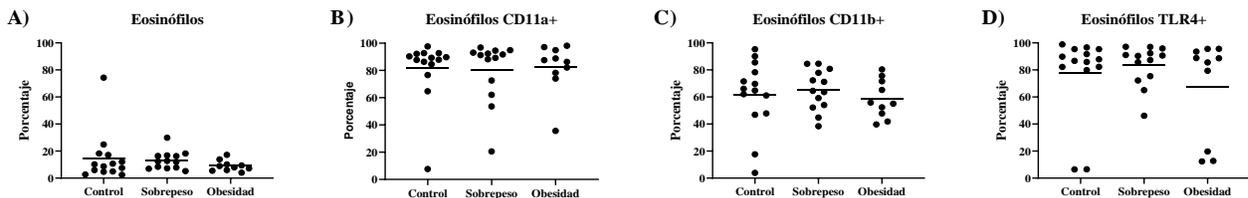
Primero, evaluamos la frecuencia de las células polimorfonucleares. En la *Figura 16* se muestra la comparación entre grupos en relación con los neutrófilos, en donde no encontramos alteraciones estadísticamente significativas. De forma similar, el análisis de eosinófilos en cordón umbilical no mostró diferencias estadísticamente significativas (*Figura 17*).

Figura 16. Análisis por grupos para neutrófilos de sangre de cordón umbilical



Muestras de sangre de cordón umbilical de hijos de mujeres control ($n=15$), sobrepeso ($n=19$) y obesidad ($n=9$) fueron inmunomarcadas con el panel de células mieloides (Tabla 3) y analizadas por citometría de flujo. Los neutrófilos fueron definidos como eventos sencillos $SSC^{++} CD45^{+} CD16^{+}$. Se determinaron las poblaciones de neutrófilos que expresan B) CD11a, C) CD11b, y D) TLR4. Los resultados se muestran en gráficas de dispersión, en donde la barra central representa a la media. Las diferencias fueron calculadas con la prueba de Kruskal-Wallis y post hoc de Dunn.

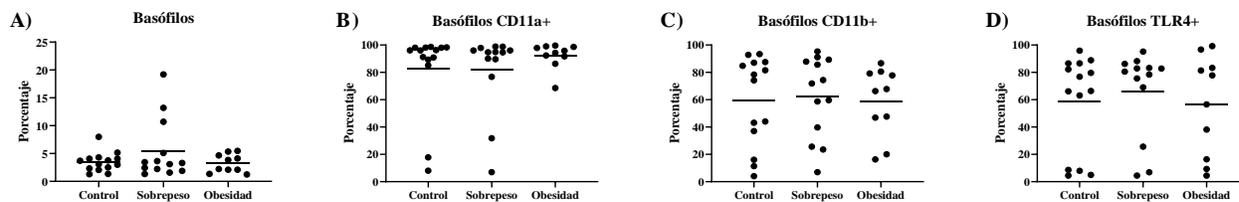
Figura 17. Análisis por grupos para eosinófilos de sangre de cordón umbilical



Muestras de sangre de cordón umbilical de mujeres control ($n=15$), sobrepeso ($n=19$) y obesidad ($n=9$) fueron inmunomarcadas con el panel de células mieloides (Tabla 3) y analizadas por citometría de flujo. Los eosinófilos fueron definidos como eventos sencillos $SSC^{++} CD45^{+} CD16^{+}$. Se determinaron las poblaciones de eosinófilos que expresan B) CD11a, C) CD11b, y D) TLR4. Los resultados se muestran en gráficas de dispersión, en donde la barra central representa a la media. Las diferencias fueron calculadas con ANOVA y post hoc de Tukey (C), o Kruskal-Wallis y post hoc de Dunn (A,B,D).

Por su parte, el porcentaje de basófilos (Figura 18), al igual que neutrófilos y eosinófilos, no mostraron ninguna diferencia estadísticamente significativa. En conjunto, la data sugiere que no existen alteraciones en la distribución de células polimorfonucleares hacia el cordón umbilical debidas a la obesidad o sobrepeso maternos.

Figura 18. Análisis por grupos para basófilos de sangre de cordón umbilical



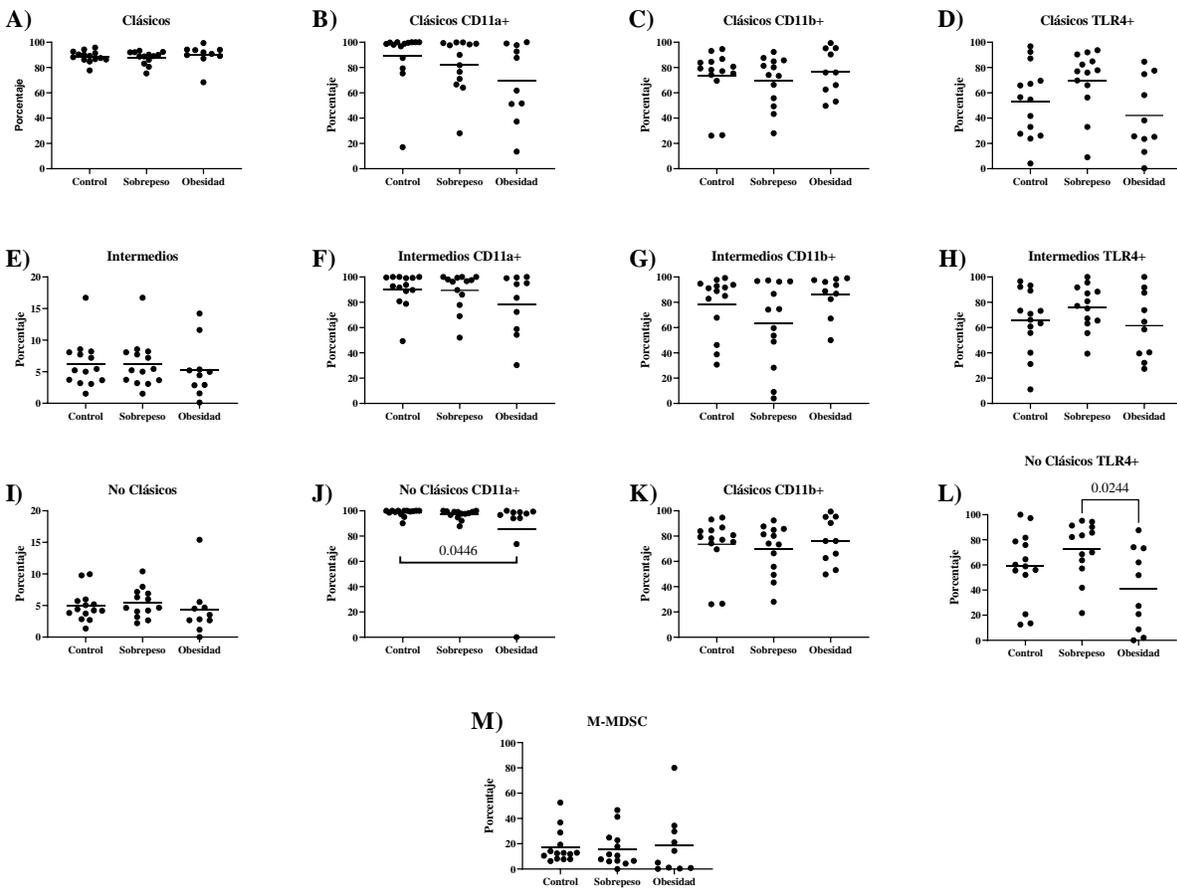
Muestras de sangre de cordón umbilical de hijos de mujeres control ($n=15$), sobrepeso ($n=19$) y obesidad ($n=9$) fueron inmunomarcadas con el panel de células mieloides (Tabla 3) y analizadas por citometría de flujo. Los basófilos fueron definidos como eventos sencillos $SSC^{++} CD45^{+} CD16^{-}$. Se determinaron las poblaciones de basófilos que expresan B) CD11a, C) CD11b, y D) TLR4. Los resultados se muestran en gráficas de dispersión, en donde la barra central representa a la media. Las diferencias fueron calculadas con la prueba de Kruskal-Wallis y post hoc de Dunn.

Posteriormente continuamos con el análisis de monocitos, en la *Figura 19* se presenta el análisis de las medias de los porcentajes para poblaciones de monocitos de cordón umbilical en cada grupo materno. Los monocitos clásicos (*Figura 19A*), intermedios (*Figura 19E*) y no clásicos (*Figura 19I*) no se ven significativamente alterados bajo la condición de sobrepeso u obesidad. De forma similar, la expresión de CD11a y CD11b no varía en los tres grupos de estudio. Por su parte, la expresión de TLR4 tiende a incrementar en el grupo de sobrepeso, aunque dicho comportamiento es significativo sólo en los monocitos clásicos (*Figura 19D*). También encontramos que la proporción de células inmunosupresoras derivadas de mieloides muestra una tendencia de incremento en los grupos de estudio

El análisis de anticuerpos presentado en la *Figura 20* reveló diferencias en las concentraciones de anticuerpos dentro del cordón umbilical. De esta manera, observamos una diferencia significativa en la concentración de IgG2 bajo la condición de obesidad materna con respecto del control, mientras que los anticuerpos IgG3 e IgG4 muestran tendencias de incremento. Interesantemente, los niveles de IgE incrementan en el grupo de sobrepeso, pero disminuyen en el grupo de obesidad con respecto del control.

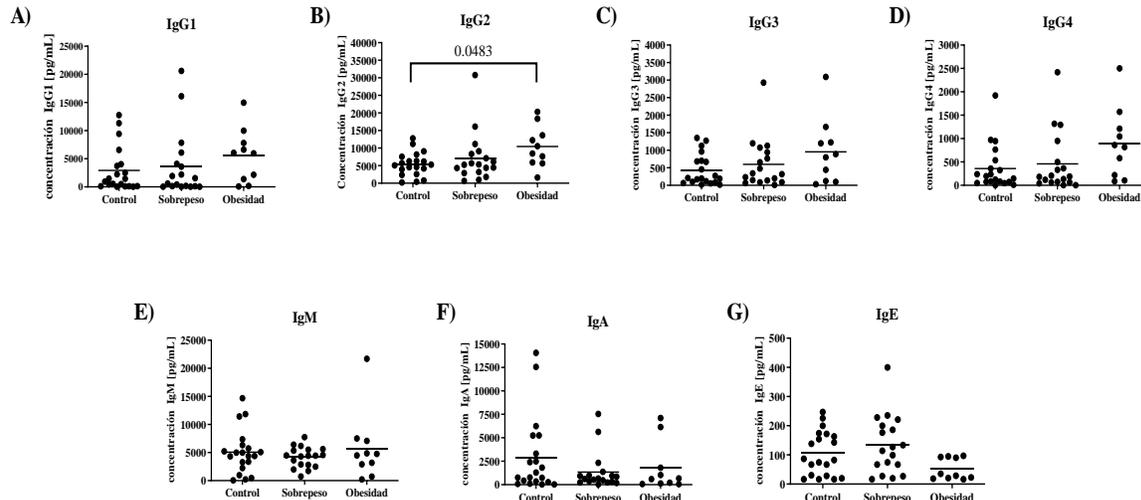
En resumen, la obesidad no impacta en las proporciones de granulocitos, pero sí altera la distribución de monocitos que expresan TLR-4 (un importante receptor de reconocimiento de patrones, incluyendo PAMPs y DAMPs). Además, encontramos que la obesidad materna incrementa significativamente la concentración de IgG2, y en menor medida la de IgG3 e IgG4 en cordón umbilical, lo que podría deberse a una mayor transferencia materno-fetal.

Figura 19. Análisis por grupos para monocitos en sangre de cordón umbilical



Muestras de sangre de cordón umbilical de hijos de mujeres control ($n=15$), sobrepeso ($n=19$) y obesidad ($n=9$) fueron inmunomarcadas con el panel de células mieloides (Tabla 3) y analizadas por citometría de flujo. Los monocitos clásicos fueron definidos como eventos sencillos $SSC^+ CD45^+ CD14^+ CD16^-$. Se determinaron las poblaciones de monocitos clásicos que expresan B) $CD11a$, C) $CD11b$, D) $TLR4$, así como a las E) células supresoras derivadas mieloides (M-MDSC), las cuales poseen el fenotipo $HLA-DR$. Los resultados se muestran en gráficas de dispersión, en donde la barra central representa a la media. Las diferencias fueron calculadas con la prueba de Kruskal-Wallis y post hoc de Dunn.

Figura 20. Análisis por grupos para anticuerpos de sangre de cordón umbilical.

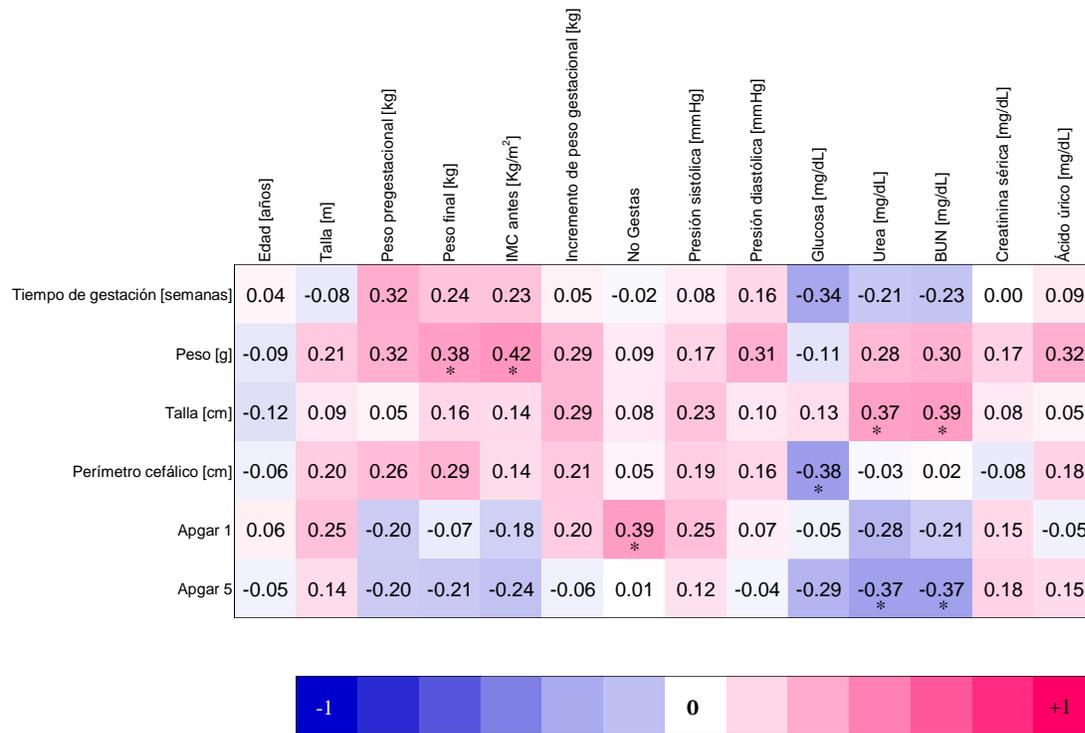


Muestras de sangre de cordón umbilical de hijos de mujeres control ($n=15$), sobrepeso ($n=19$) y obesidad ($n=9$) fueron procesadas de acuerdo con las instrucciones de LEGENDPLEX™ Human Immunoglobulin Isotyping Panel y analizadas por citometría de flujo. Los anticuerpos son capturados por perlas de diferentes tamaños y e intensidades de fluorescencia. Las diferencias de medianas fueron calculadas con la prueba Kruskal-Wallis y post hoc de Dunn. Cada gráfico muestra la concentración sérica promedio de A) IgG1, B) IgG2, C) IgG3, D) IgG4, E) IgM, F) IgA, G) IgE.

IV. IMPACTO DE LA CONDICIÓN MATERNA SOBRE EL ESTADO INMUNE DEL RECIÉN NACIDO

Con la finalidad de indagar si el perfil inmunológico del recién nacido guarda alguna relación con el estado materno se realizaron análisis de correlación múltiple para neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monocitos, así como moléculas asociadas a activación, e inmunoglobulinas en cordón umbilical con las diversas variables maternas parámetros clínicos maternos.

Figura 21. Correlaciones de Spearman entre los parámetros clínicos maternos y parámetros clínicos neonatales.



Matriz de correlaciones de Spearman. El número y color dentro de cada casilla indica el valor del coeficiente de correlación (R), correspondiendo el azul con las correlaciones negativas, el rosado las correlaciones positivas y el blanco la no correlación. En el eje vertical se presentan las variables neonatales y en el eje horizontal las variables maternas. * $P < 0.05$, ** $P < 0.005$, *** $P < 0.0005$.

Correlaciones entre parámetros clínicos maternos y parámetros clínicos neonatales

En la *Figura 21* se presenta la matriz de correlaciones entre los parámetros clínicos maternos y los parámetros clínicos neonatales. Como esperábamos, el peso neonatal correlaciona positivamente con el IMC pregestacional y peso final maternos. Adicionalmente, observamos que el tamaño del recién nacido (talla) está directamente relacionado con mediciones relacionadas a los niveles de nitrógenos presentes en sangre materna (BUN, urea), e interesantemente estos parámetros correlacionan de manera negativa con el estado general del neonato (APGAR 1 y 5). Además, la

valoración APGAR 1 está directamente relacionada con el número de gestas, mientras que el resto de las variables no presentaron correlaciones significativas entre sí.

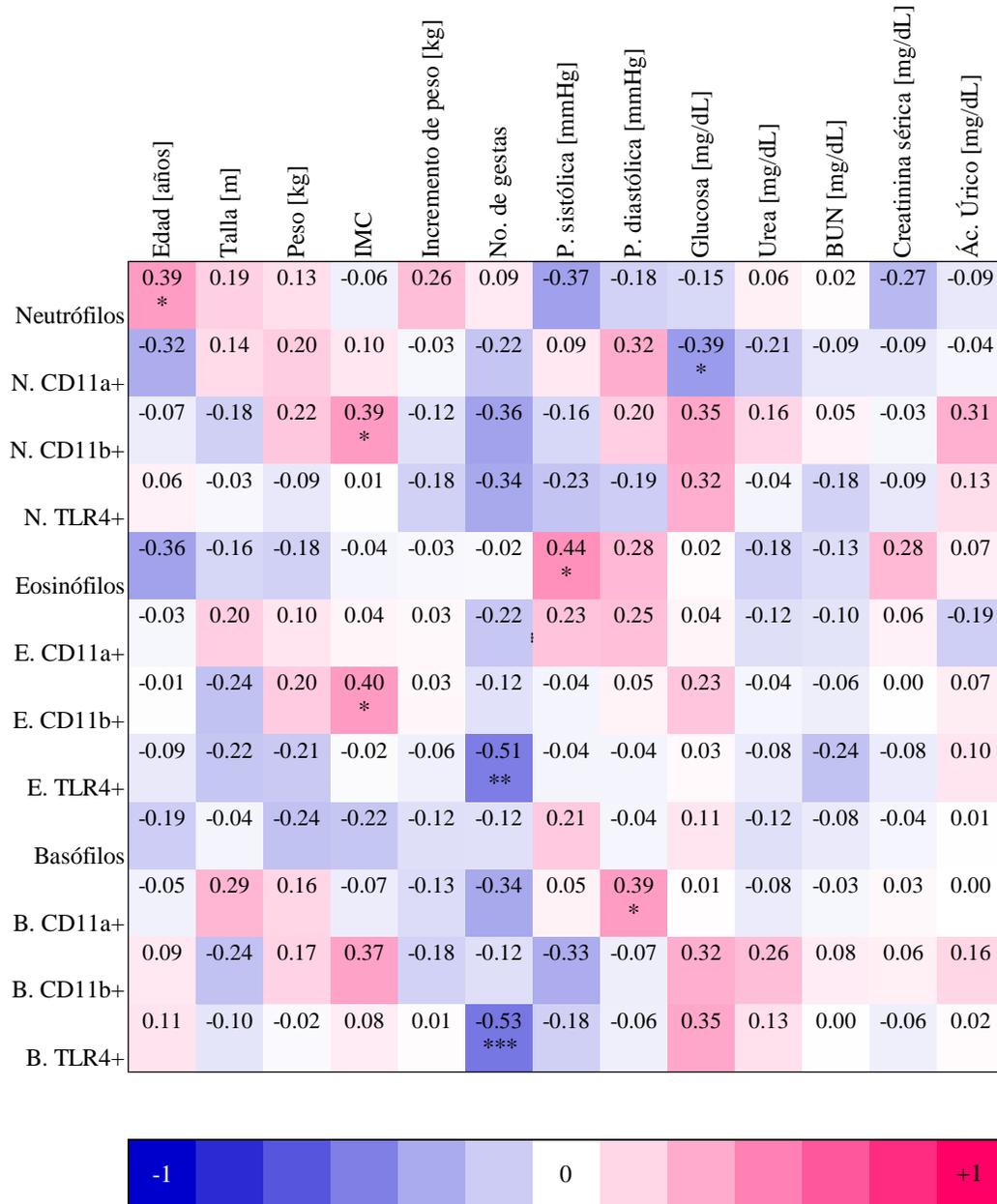
Correlación entre las variables clínicas maternas y el compartimento granulocítico de cordón umbilical

En la *Figura 22* se presentan los resultados correspondientes a neutrófilos, eosinófilos y basófilos neonatales. Encontramos que el porcentaje general de neutrófilos y eosinófilos neonatales correlacionan de manera positiva con la edad y la presión sistólica, correspondientemente. Asimismo, se encontró que el porcentaje de neutrófilos CD11a+ correlacionan inversamente con los niveles de glucosa en sangre materna, mientras que el porcentaje de neutrófilos CD11b+ y eosinófilos CD11b+ de cordón umbilical correlaciona directamente con el IMC maternos.

Además, la presión diastólica materna se relaciona directamente con el porcentaje basófilos CD11a+ neonatales. Interesantemente, el número de gestas muestra una relación negativa significativa con el porcentaje de eosinófilos TLR4+ y basófilos TLR4+; mientras que el número de cesáreas previas se relaciona inversamente con los porcentajes de eosinófilos y basófilos CD11a+ de cordón umbilical.

Ahora bien, para tener un panorama más íntegro del impacto de la condición materna sobre las características inmunológicas del recién nacido realizamos un análisis multivariado componentes principales (PCA), y el gráfico de reducción de variables obtenido se presenta en la *Figura 23*. Con esta perspectiva de análisis, observamos que el porcentaje de las células que expresan CD11b+ (neutrófilos, eosinófilos y basófilos) presentan una alta correlación multivariable directa entre ellos mismos, lo que sugiere que la ganancia o pérdida de esta molécula de superficie es un fenómeno global para la población de los granulocitos evaluados. Por otro lado, la presencia de células que expresan CD11a se relaciona con la disminución de monocitos TLR4+, sin embargo, el patrón de expresión de estas últimas es independiente de la expresión de CD11b en células granulocíticas de cordón umbilical.

Figura 22. Correlaciones bivariadas entre las células mieloides polimorfonucleares de cordón umbilical y las variables clínicas maternas disponibles



Matriz de correlaciones de Spearman. El número y color dentro de cada casilla indica el valor del coeficiente de correlación (R), correspondiendo el azul con las correlaciones negativas, el rosado las correlaciones positivas y el blanco la no correlación. * $P < 0.05$, ** $P < 0.005$, *** $P < 0.0005$.

Figura 23. Biplot del análisis de componentes principales (PCA) entre las células mieloides polimorfonucleares y variables clínicas maternas selectas

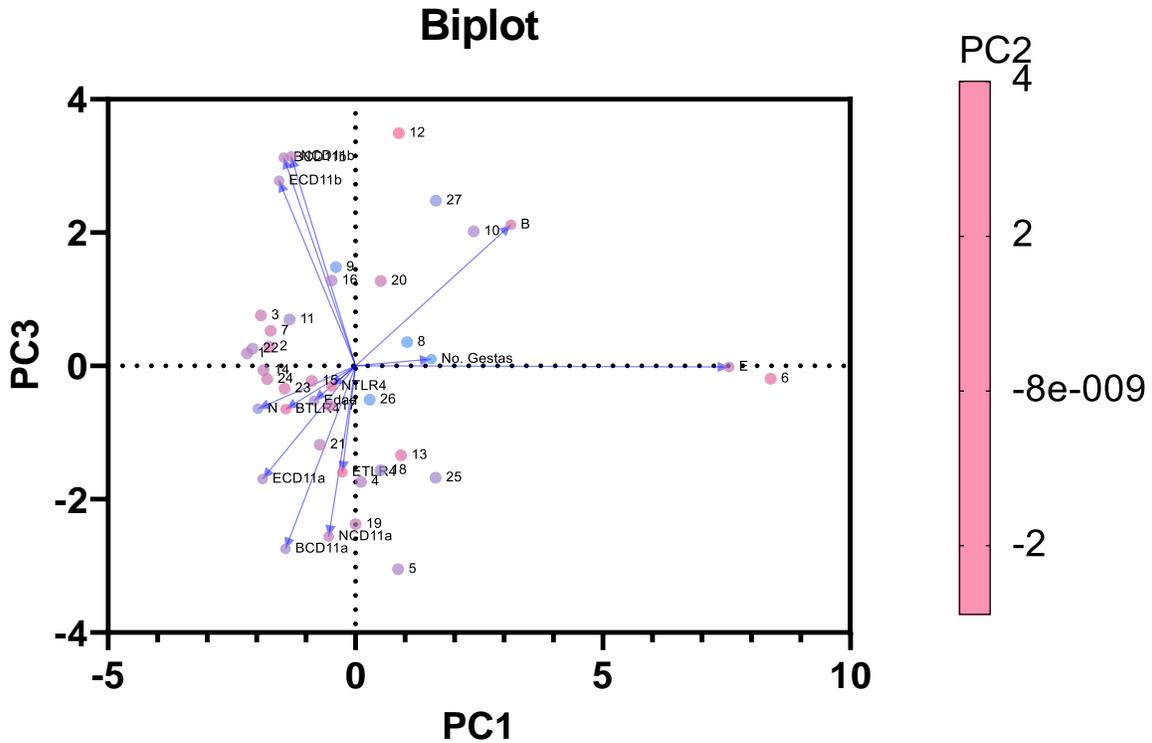


Gráfico de análisis de componentes principales que representa la correlación multivariable entre los parámetros clínicos maternos y el fenotipo de células mieloides de cordón umbilical. En este análisis se tomaron en cuenta los tres componentes principales que representan el 60% de la varianza de los datos. Representación realizada con el programa GraphPad Prism™.

Correlación entre las variables clínicas maternas y el compartimento de monocitos de cordón umbilical

En la *Figura 24* se muestran los resultados para el análisis bivariado entre los parámetros clínicos maternos y los porcentajes de los diversos fenotipos de monocitos presentes en cordón umbilical. Encontramos correlaciones directas entre el IMC y los porcentajes de monocitos clásicos CD11b+, monocitos intermedios CD11b+ y monocitos no clásicos CD11b+, en donde los monocitos intermedios CD11b+ también correlacionan con el incremento de peso durante el curso del embarazo. El porcentaje de monocitos intermedios CD11b+ guarda una relación positiva con la presión sistólica y diastólica; en tanto que la presión diastólica se relaciona directa e inversamente con el porcentaje de

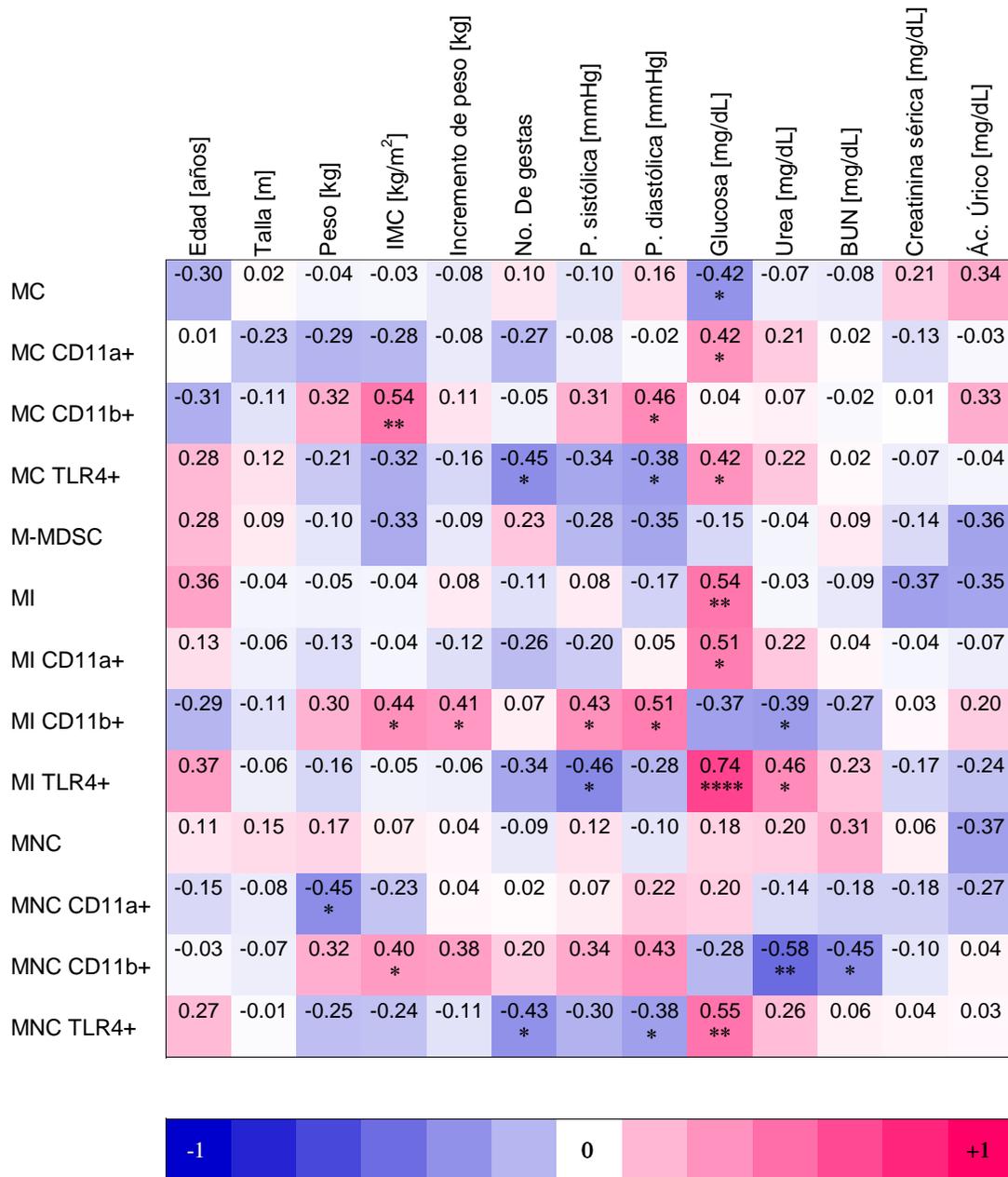
monocitos intermedios CD11b+ y porcentaje de monocitos clásicos TLR4+, respectivamente.

Por su parte, las variables Número de gestas, Urea en sangre y BUN en sangre muestran correlaciones principalmente inversas con algunos subtipos de monocitos. Así, el porcentaje de monocitos clásicos TLR4+ y monocitos no clásicos TLR4+ correlaciona inversamente con el Número de gestas previas; de la misma forma, el Número de cesáreas previas se relaciona negativamente con el porcentaje de monocitos clásicos CD11a+. Para el caso de la urea materna en sangre, muestra correlaciones inversas con el porcentaje de monocitos no clásicos CD11b+, y con los monocitos intermedios CD11b+. De forma similar, el nitrógeno ureico en sangre (por sus siglas en inglés, BUN) muestra una correlación negativa y significativa con el porcentaje de monocitos no clásicos CD11b+.

Interesantemente, la glucosa muestra relaciones de significancia estadística con hasta 7 fenotipos de monocitos. La correlación más fuerte ocurre con el porcentaje de monocitos intermedios TLR4+. A continuación, destacan las asociaciones positivas con el porcentaje de monocitos no clásicos TLR4+ y monocitos intermedios. De forma similar, los monocitos clásicos CD11a+, monocitos clásicos TLR4+ y monocitos intermedios CD11a+ también sostienen correlaciones positivas. Finalmente, destaca por su correlación inversa, el caso de los monocitos clásicos.

Por otro lado, el análisis multivariable presentado en la *Figura 25* mostró que los cambios en la expresión de CD11a ocurren en los tres subtipos de monocitos; clásicos, intermedios y no clásicos. Así mismo, observamos que este fenómeno se repite para la expresión de TLR4 y CD11b. Además, se observó que el marcador de activación monocítico que presenta mayor correlación con el peso pregestacional materno es CD11b, mientras que TLR-4 presenta correlación inversa y CD11a presenta nula correlación. Interesantemente, la glucemia materna (Glu) se relaciona directamente con el marcador TLR-4, especialmente para los monocitos intermedios TLR-4+.

Figura 24. Correlaciones de Spearman entre los monocitos de cordón umbilical y las variables clínicas maternas



Matriz de correlaciones de Spearman. El número y color dentro de cada casilla indica el valor del coeficiente de correlación (R), correspondiendo el azul con las correlaciones negativas, el rosado las correlaciones positivas y el blanco la no correlación. * $P < 0.05$, ** $P < 0.005$, *** $P < 0.0005$. En el eje vertical se muestran las células evaluadas: monocitos clásicos (MC), monocitos intermedios (MI), monocitos no clásicos (MNC) y sus poblaciones positivas para los marcadores CD11a, CD11b y TLR-4. En el eje horizontal se muestran las diversas variables maternas, como edad, talla, IMC, entre otras.

Figura 25. Biplot del análisis de componentes principales (PCA) entre monocitos y variables clínicas maternas selectas

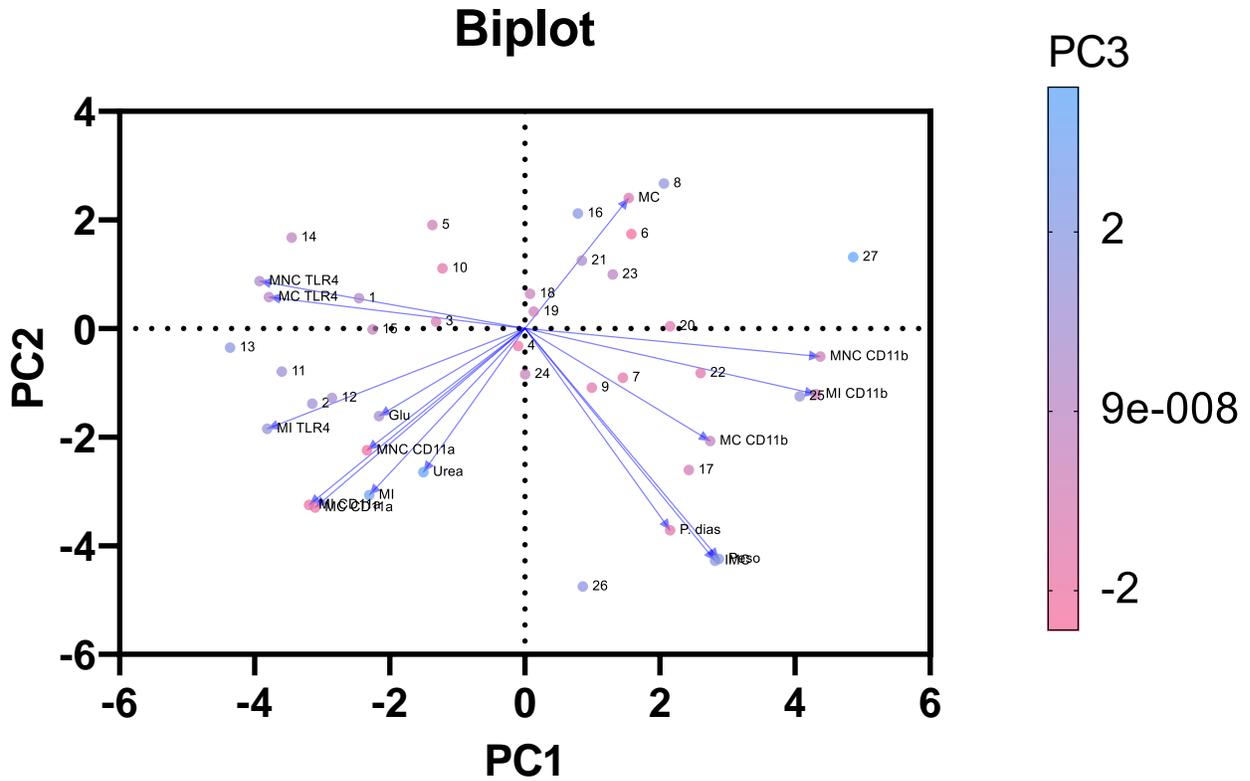
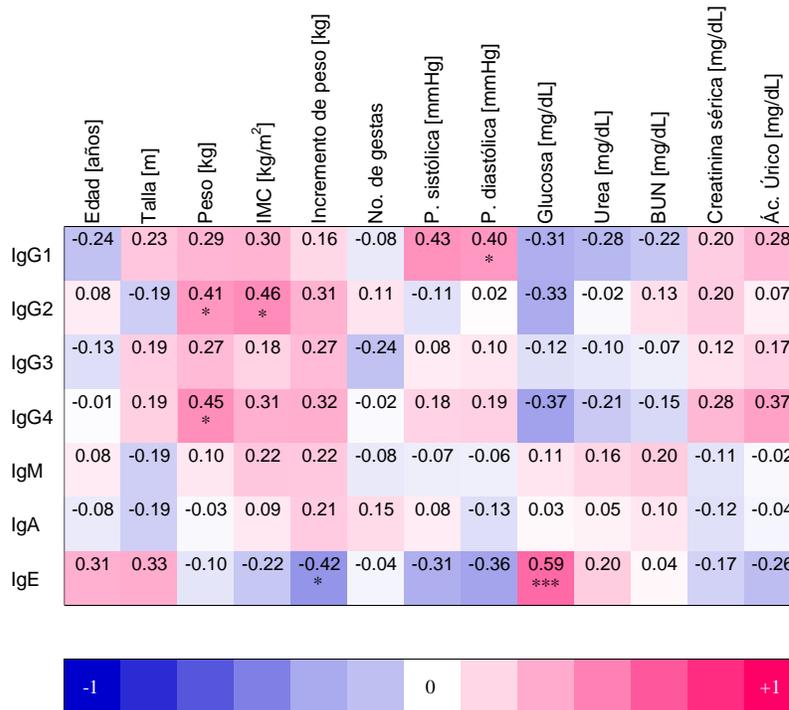


Gráfico de análisis de componentes principales que representa la correlación multivariable entre los parámetros clínicos maternos y el fenotipo de monocitos de cordón umbilical. En este análisis se tomaron en cuenta los tres componentes principales que representan el 60% de la varianza de los datos. Representación realizada con el programa GraphPad Prism™.

A. Correlaciones entre parámetros clínicos maternos y concentraciones de anticuerpos presentes en cordón umbilical

En la *Figura 26* se presenta la matriz de correlaciones de Spearman entre las concentraciones de anticuerpos en cordón umbilical y los parámetros clínicos maternos. Destaca la correlación directa entre el peso pregestacional materno y las inmunoglobulinas IgG4 e IgG2 neonatales, en donde esta última también sostiene una relación directa con el IMC. Además, el número de cesáreas y la presión diastólica revelan una correlación positiva con IgG1. Interessantemente, los niveles de IgE correlacionan negativamente con el incremento de peso durante el embarazo, y positivamente (con alta significancia estadística) con la concentración de glucosa en sangre materna.

Figura 26. Correlaciones de Spearman entre niveles de anticuerpos de cordón umbilical y parámetros clínicos maternos



Matriz de correlaciones de Spearman. El número y color dentro de cada casilla indica el valor del coeficiente de correlación (R), correspondiendo el azul con las correlaciones negativas, el rosado las correlaciones positivas y el blanco la no correlación. * $P < 0.05$, ** $P < 0.005$, *** $P < 0.0005$. En el eje vertical se muestran los anticuerpos evaluados: IgG1-4, IgM, IgA, y en el eje horizontal se muestran las diversas variables maternas, como edad, talla, IMC, entre otras.

Por otro lado, el análisis de componentes principales mostrado en la *Figura 27* reveló una codependencia multivariable entre las diversas clases de IgG, así como entre IgE y la glucemia materna. Además, el IMC pregestacional materno se relaciona levemente con los niveles de IgG en cordón umbilical. Interesantemente, el IMC pregestacional materno parece no guardar relación con los niveles de IgM, lo que podría significar que existen otras variables, como la dieta materna que pudieran causar las elevaciones observadas en el análisis por grupos.

Figura 27. Biplot de análisis de componentes principales entre anticuerpos de cordón umbilical y parámetros clínicos maternos.

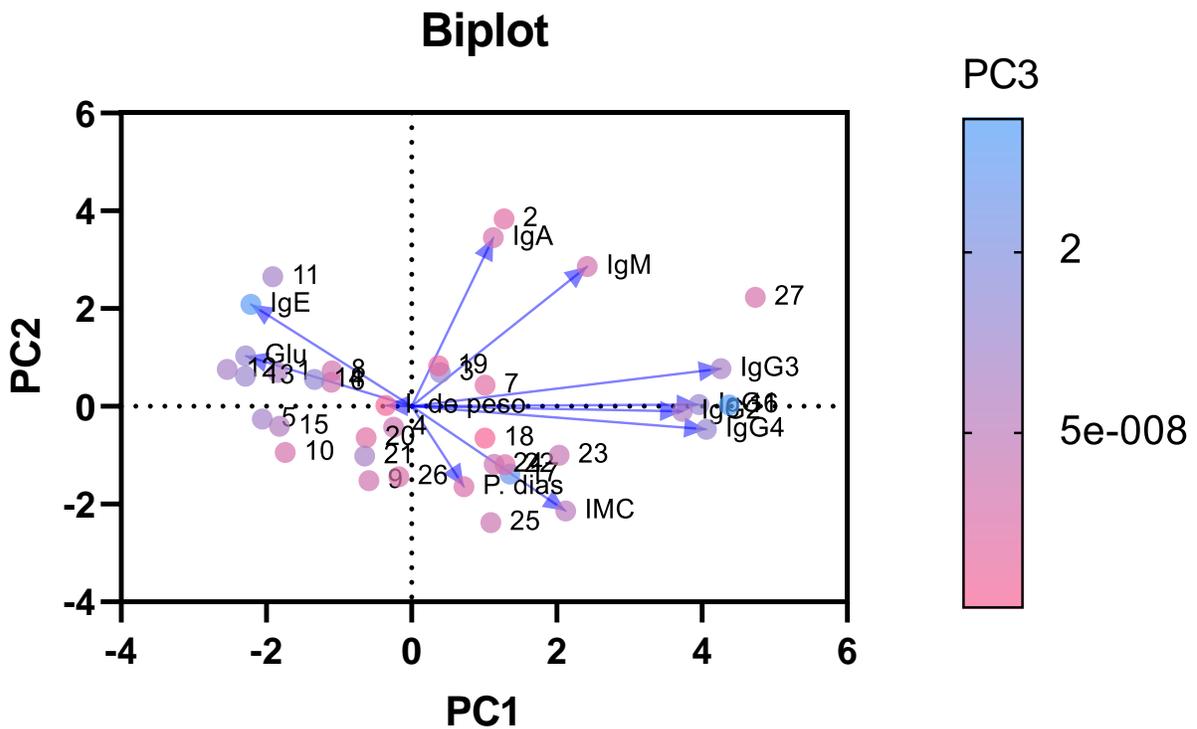


Gráfico de análisis de componentes principales que representa la correlación multivariable entre los parámetros clínicos maternos y el fenotipo de monocitos de cordón umbilical. En este análisis se tomaron en cuenta los tres componentes principales que representan el 60% de la varianza de los datos. Representación realizada con el programa GraphPad Prism™.

En conjunto, estos resultados sugieren que el estado clínico materno influye en las proporciones de granulocitos, monocitos y niveles de anticuerpos presentes en cordón umbilical. Además, dicho estado materno favorece un desbalance en el grado de activación de los granulocitos y monocitos, particularmente en el porcentaje de células que expresan las moléculas de adhesión CD11a+ y CD11b+, así como la molécula de reconocimiento TLR4. Interesantemente, el análisis de componentes principales (PCA) reveló una fuerte codependencia entre las células que expresan CD11b, y CD11a, y en menor grado entre las que expresan TLR4. Finalmente, tanto el análisis de correlaciones y el análisis de componentes principales mostraron una correlación entre los niveles de IgE neonatal y la glucemia materna y mostraron que IgA, IgM no se relacionan con el IMC materno.

8 DISCUSIÓN

La obesidad es una problemática mundial que ha alcanzado niveles pandémicos, donde el 70% de las mujeres en edad reproductiva la padecen. Los efectos a los que conduce esta condición pueden trascender incluso hacia la progenie, afectando su vida temprana y madura (Poston et al., 2011). En este trabajo, exploramos el efecto de la obesidad materna pregestacional sobre el estado inmunológico de los recién nacido. Aquí se presenta el resultado del binomio de 37 madres (sangre materna y cordón umbilical) en el que se exploró el porcentaje de células mieloides y moléculas asociadas activación, así como la concentración de las diferentes subclases de inmunoglobulinas como una representación del estado inmunológico de cada parte.

Empezando con la parte materna, el IMC materno como factor definitorio de cada uno de los grupos (control, sobrepeso y obesidad) mostró diferencias estadísticamente significativas. Por otro lado, la mayoría de las determinaciones bioquímicas sanguíneas son similares entre todos los grupos. Interesantemente, encontramos que el grupo de sobrepeso tiene mayores concentraciones de glucosa en sangre que el control, e incluso que el grupo con obesidad. Estos resultados pudieran explicarse debido a que las mujeres embarazadas con obesidad suelen atenderse de una forma más íntegra que una mujer con sobrepeso, por ejemplo, en el cuidado de la dieta. Con ello, las mujeres con obesidad llegaron a controlar los índices glucémicos, mientras que las mujeres con sobrepeso no lo hicieron. Es de notar que en los tres grupos de estudio los niveles de glucosa se encuentran dentro de niveles no diabéticos, es decir menor de 125 mg/dL (American-Diabetes-Association, 2021).

Con respecto del estado inmunológico de las madres, destacamos que las células mieloides presentan alteraciones en la expresión de moléculas asociadas a un estado de activación bajo la condición de obesidad, independientemente del incremento reportado para mujeres hacia el final del embarazo (Luppi et al., 2004). De esta manera, reportamos que con IMC elevados, las basófilos y eosinófilos tienen mayores proporciones de células que expresan CD11b. Interesantemente alteraciones en estas moléculas de adhesión han sido asociadas a la formación de placas ateroscleróticas (Kopecky et al., 2019), por lo que estas observaciones pueden relacionarse con el mayor

riesgo que presentan las personas obesas de padecer enfermedades cardiovasculares (E. P. Williams et al., 2015), como la formación de trombos e incluso arterosclerosis (Poirier et al., 2006; Poston et al., 2011) .

Por otro lado, encontramos que el porcentaje de monocitos que expresan TLR-4 es mayor en mujeres con sobrepeso. Previos reportes *in vitro* han mostrado que la glucosa tiene la capacidad de inducir la expresión de TLR-2 y TLR-4 en monocitos, donde esta desregulación puede conllevar a incrementar el estado inflamatorio de las personas con índices glucémicos altos (Dasu et al., 2008). Esta información podría explicar por qué el grupo con obesidad no mostró mayores porcentajes de monocitos con este fenotipo. Además, encontramos que hay menores niveles de eosinófilos que expresan TLR-4 bajo la condición de obesidad. Este fenómeno ha sido reportado en publicaciones previas (O. et al., 2011), además se conoce este que los eosinófilos pueden modular la polarización de macrófagos mediante la activación de TLR-4 (Yoon et al., 2019), por lo que proponemos que nuestros hallazgos podrían implicar que la función de reconocimiento por este receptor se encuentra comprometida en mujeres embarazadas con obesidad, y derivado de ello, los mayores índices de infecciones.

Por su parte, la mayoría de las subclases de inmunoglobulinas maternas no mostraron alteraciones, con excepción de IgM, de la cual su concentración fue mayor en el grupo de obesidad. Si bien esto es opuesto a lo reportado en la literatura para humanos (Marzullo et al., 2014; Wilson & Messaoudi, 2015), existen reportes que muestran cómo la estimulación de TLR-4 en células B puede llevar a niveles incrementados de IgM en modelos murinos (Arai et al., 2013). La explicación del fenómeno que observamos todavía no está clara, pero es posible que las condiciones inmunológicas del embarazo (perfil tolerogénico) cambien a un perfil proinflamatorio por efecto de la obesidad, lo que podría generar un microambiente propicio para la estimulación de células B mediante el agonismo de TLR-4 por parte de ácidos grasos de cadena larga, los cuales suelen tener concentraciones elevadas en estados de alta ingesta calórica. No obstante, las posibles implicaciones de este fenómeno no son triviales, puesto que la unión de esta inmunoglobulina con el inhibidor de apoptosis de macrófagos (por sus siglas en inglés,

AIM), el cuál esta incrementado durante la obesidad por estimulación de células mieloides, contribuye a la producción de autoanticuerpos del isotipo IgG (Arai et al., 2013). Esto podría explicar la mayor incidencia de enfermedades autoinmunes en población obesa (Versini et al., 2014), y potencialmente el riesgo de parto pretérmino y abortos (Yogev et al., 2009).

Ahora bien, como tema central de este trabajo exploramos el impacto de la condición materna sobre el estado general e inmunológico del recién nacido, el cual está representado por el cordón umbilical. Nuestras observaciones derivadas del análisis por grupos no revelaron algún impacto significativo del IMC materno sobre la somatometría o el estado general de salud de la progenie. No obstante, el análisis de correlaciones mostró que el peso neonatal está directamente relacionado con el peso e IMC maternos, hecho que va en concordancia con la alta incidencia de niños macrosómicos nacidos de mujeres obesas (Myatt et al., 2016; Seffert, 1985; Wolff et al., 1982; Yogev & Visser, 2009).

Además, aquí reportamos que los parámetros relacionados con la concentración de nitrógeno en sangre materna (BUN y urea) se relacionan directamente con la talla neonatal, e inversamente con las puntuaciones APGAR. Los niveles de urea y nitrógeno ureico en sangre pueden asociarse con la utilización de aminoácidos (Donsbough et al., 2010) y superávit (Ando et al., 1979) en el propio desarrollo, por lo que la disponibilidad nutricional podría favorecer el crecimiento acelerado de tejidos en el producto gestante, lo que explicaría la macrosomía observada. Por otro lado, a pesar de que algunas revisiones sistemáticas concluyen que no existe evidencia que demuestre que la alta ingesta materna de aminoácidos sea perjudicial para el neurodesarrollo neonatal (Osborn et al., 2018), aquí mostramos que sí tienen relación, pues los resultados del examen APGAR pueden asociarse en gran medida con la identificación temprana de desórdenes neurológicos (Wolf et al., 1997). No obstante, estudios controlados deberán realizarse para confirmar esta hipótesis.

Por otro lado, el análisis de correlaciones demostró que la edad materna está relacionada directamente con el porcentaje de neutrófilos en cordón umbilical. En la literatura científica se encuentra ampliamente documentado que a medida que avanza la

gestación incrementa la actividad inflamatoria de neutrófilos. Este fenómeno puede exacerbarse bajo condiciones como la preeclampsia (Giaglis et al., 2016) y podría explicar por qué los embarazos en mujeres de edad avanzada tienen mayor riesgo de complicaciones, como la preeclampsia e inclusive la pérdida del producto gestante. Además, encontramos una correlación entre el porcentaje de eosinófilos de cordón umbilical y la presión sistólica materna. Esta relación puede estar asociada al daño al endotelio vascular característico de personas que cursan con hipertensión (Kuzeytemiz et al., 2013). De acuerdo con lo anterior, previamente se ha reportado que los eosinófilos juegan un papel importante en la disfunción endotelial, así como en procesos de vasoconstricción, activación plaquetaria, trombosis e inhibición de la trombosmodulina (Kuzeytemiz & Şentürk, 2013; J. G. Wang et al., 2006). Esto podría ser un indicador predictivo del desarrollo de hipertensión temprana con consecuencias de desórdenes hematológicos (Okoye et al., 2016). Futuros estudios deberán realizarse para corroborar esta hipótesis.

Es de notar es que, de forma similar a lo encontrado en sangre periférica materna, la condición de sobrepeso materno genera un incremento en el porcentaje de monocitos clásicos TLR-4+ en cordón umbilical, mientras que los demás subtipos de monocitos permanecen con porcentajes comparables a los del control. De acuerdo con lo reportado por Dasu, Jialal *et al.* 2008, dicho incremento podría ser indicador de que el ambiente del cordón umbilical estuvo expuesto a altos índices glucémicos, hecho que pudiera promover la expresión de TLR-2 y TLR-4 en estas células *in situ*. Aquí expandimos en dicha información y reportamos que los altos niveles glucémicos maternos se relacionan directamente con diferentes subtipos de células monocíticas de cordón umbilical, reportando un incremento de monocitos intermedios totales, así como en células TLR-4+ de las poblaciones de monocitos clásicos, monocitos intermedios y monocitos no clásicos. Por otra parte, la relación entre el número de gestas previas y las proporciones de los fenotipos TLR-4+ de monocitos clásicos y monocitos no clásicos tienen un comportamiento de correlación negativa. Los reportes que se tienen hasta el momento no han podido explicar estas observaciones ni tampoco darnos información del fenómeno, sin embargo, puede ser explorado en futuras investigaciones.

Adicionalmente, la glucemia materna también sostuvo una correlación inversa con los porcentajes de monocitos clásicos, y directa con los porcentajes de monocitos intermedios, lo que pone en evidencia el impacto de la glucosa materna sobre el probable proceso de diferenciación de células mieloides neonatales. Para el caso de los niveles de glucosa en sangre materna, reportamos una correlación inversa con la proporción de neutrófilos CD11a+, y directa con el número la proporción de monocitos intermedios CD11a+ y monocitos clásicos CD11a+. Tradicionalmente, este fenómeno de elevación en la expresión de CD11a ha sido observado en pacientes con etapas iniciales de aterosclerosis (Kawamura et al., 2004), por lo que esto podría suponer riesgo de enfermedades cardiovasculares para los neonatos. Esta hipótesis podría relacionarse con nuestro hallazgo de que los basófilos CD11a+ de cordón umbilical se relacionan positivamente con la presión sistólica materna, otra variable clínica relacionada con el daño del endotelio vascular, pero las implicaciones de esto permanecen por esclarecerse.

Interesantemente, los monocitos no clásicos TLR-4+ de cordón umbilical se relacionan inversamente con la presión sistólica materna. Es bien conocido que la obesidad está asociada con problemas cardiovasculares como la hipertensión arterial y aunque los mecanismos de su fisiopatología todavía no son completamente entendidos, se han propuesto relaciones con la retención de sodio y alteraciones en el sistema de renina-angiotensina-aldosterona (Jiang et al., 2016). Este sistema es el eje central de la regulación de la tensión arterial y los niveles de agua en el organismo, en donde el actor principal, que es la angiotensina II, está relacionada con la supervivencia, crecimiento e hipertrofia del epitelio vascular y cardíaco mediante un mecanismo que involucra a especies reactivas de oxígeno (ROS), la NADPH oxidasa, algunas cinasas como la PKC, JAK, JNK y finalmente factores de transcripción como STAT 3 (Mehta et al., 2007). Recientemente se ha reportado que el incremento en la presión arterial y la hipertrofia cardíaca inducida por angiotensina II (ANG II) están reguladas por TLR-3 y TLR-4 mediante un mecanismo que involucra a la proteína TRIF (*Toll-interleukin receptor domain-containing adaptor protein-inducing interferon- β*). De este modo, ratones TLR-4 deficientes expuestos a angiotensina II presentaron alteraciones en la presión arterial, pero no hipertrofia cardíaca, mientras que el control presentó ambos fenómenos (M. V.

Singh et al., 2019). Esta información parece ser apoyada con lo reportado por Schneider & Baumann *et al.* 2015, en donde los efectos de la hipertensión arterial derivados de la obesidad parecen aminorarse en pacientes con el SNP *rs498790* (Asp299Gly) en el gen *TLR4*, condición que reduce la afinidad TLR-4 con sus ligandos (Schneider *et al.*, 2015). Estos hechos podrían reflejarse mediante un mecanismo compensatorio, en el cual los monocitos no clásicos TLR-4+ incrementan en porcentaje para compensar la disfunción del PRR. No obstante, poco ha sido estudiado sobre la distribución de dicho polimorfismo en la población mexicana.

Por otro lado, los granulocitos de cordón umbilical también mostraron alteraciones relacionadas con este receptor. Aquí reportamos que los porcentajes de granulocitos TLR-4+ en cordón umbilical (eosinófilos y basófilos) sostienen una relación inversa con el número de gestas previas. Es de notar que el número de gestas se relaciona directamente con la capacidad de establecer mecanismos de regulación en el embarazo disminuyendo los efectos inflamatorios exacerbados. Por ejemplo, Ashley N. & Anita S. Chong reportan la existencia de mecanismos de tolerancia en embarazos semialogénicos consecutivos del mismo padre, lo que disminuye el riesgo de rechazo al producto mediante un mecanismo derivado de respuestas adaptativas (Suah *et al.*, 2021). Esto va en concordancia con nuestros resultados, mayor número de gestas, mejor es la calificación del estado general neonatal (APGAR 1). Aunque las implicaciones para la inmunidad innata han sido poco exploradas, estudios previos en modelo murino han comprobado que la inhibición de TLR-2 y TLR-4 puede reducir la incidencia de partos pretérmino (Jing *et al.*, 2020), en donde la activación de TLR-4 actúa como uno de los principales iniciadores de la inflamación placentaria durante el curso de complicaciones infecciosas (Barboza *et al.*, 2017). En conjunto, esto podría representar un mecanismo protector de regulación, en donde se reduzca la expresión de TLR-4 en granulocitos, con el objeto de evitar efectos inflamatorios placentarios y fetales adversos bajo el contexto de posibles infecciones subclínicas, y de esta forma evitar un impacto negativo sobre la evolución del embarazo.

Anteriormente se ha reportado que el IMC sostiene correlaciones con la expresión de CD11b en granulocitos y monocitos dentro poblaciones de estudio no grávidas

(Ilavska et al., 2012). Nuestros resultados revelan que el impacto del IMC pregestacional se extiende potencialmente hasta la progenie, correlacionando positivamente con neutrófilos CD11b+ y eosinófilos CD11b+, monocitos clásicos CD11b+, monocitos intermedios CD11b+ y monocitos no clásicos CD11b+ en cordón umbilical. Además, encontramos que el incremento de peso durante el embarazo también juega un papel importante en la desregulación de la expresión de CD11b, pues se relaciona directamente con la proporción de monocitos intermedios CD11b+. Este mismo fenómeno de incremento de CD11b en la interfaz materno-fetal en relación con la obesidad o el IMC elevado ha sido reportado en múltiples ocasiones (Challier et al., 2008; Soucek et al., 2020), y se relaciona con un ambiente proinflamatorio en la placenta, lo que podría explicar el mayor riesgo de complicaciones que presentan mujeres con sobrepeso y obesidad, tales como el parto pretérmino (Soucek et al., 2020) y la preeclampsia (Barden et al., 1997).

Interesantemente nuestros resultados sugieren que el nitrógeno plasmático materno sostiene correlaciones negativas con monocitos clásicos CD11b+, monocitos intermedios CD11b+ y monocitos no clásicos CD11b+. Resultados similares han sido reportados por Q. Ma & S. Steiger *et alter*, donde la función inflamatoria de monocitos CD14+ se ve eclipsada por la presencia de ácido úrico (Ma et al., 2020). En conjunto, esta información podría sugerir un posible mecanismo regulatorio de monocitos que no ha sido descrito completamente en la literatura.

En cuanto al compartimento de anticuerpos de cordón umbilical, nuestros resultados muestran que no existe impacto del estado materno hacia los niveles de IgA neonatales, lo que va en concordancia con lo previamente reportado por Broadney y colaboradores en 2017 (Broadney et al., 2017). No obstante, ellos reportaron un incremento en los niveles de IgM que nosotros no detectamos. Adicional a esto, encontramos relaciones interesantes para el resto de las inmunoglobulinas evaluadas. Por ejemplo, los niveles de IgG1 en cordón umbilical se relacionan positivamente con la presión diastólica materna, lo que sugiere que el incremento de estos anticuerpos puede ser un signo de desequilibrio hacia un perfil proinflamatorio que puede afectar a la propia madre y a su producto gestante (e.g. preeclampsia, eclampsia). La relación entre IgG y

la hipertensión ha sido reportada para individuos no gestantes (Ebringer et al., 1970), pero poco había sido explorado sobre este fenómeno en cordón umbilical hasta ahora. Además, el hecho de que los niveles IgG1 en cordón umbilical tenga relación directa con el número de cesáreas sugiere que a medida que la edad materna incrementa, mayor es el riesgo de complicaciones relacionadas con la tensión arterial.

Es bien conocido que la obesidad genera un incremento de leptina, una adipocina con diversos efectos proinflamatorios. Interesantemente, la activación de su receptor LEPR en linfocitos B favorece el cambio de isotipo hacia IgG2 (Versini et al., 2014). Nuestros resultados del análisis por grupos están en concordancia, pues muestran que la obesidad produce un incremento en los niveles de IgG2 maternos, y neonatales; pero este incremento es más evidente en sangre de cordón umbilical. En apoyo a esto encontramos que parámetros maternos relacionados con la obesidad como el IMC y el peso pregestacional maternos también mostraron relaciones positivas con los niveles de IgG2 neonatales. A pesar de que este isotipo es el que posee menor afinidad al receptor FcRn (Vidarsson et al., 2014), nuestros resultados sugieren un transporte transplacentario incrementado, posiblemente por efecto de la concentración materna elevada, hecho que confirma parte de nuestra hipótesis.

Por otro lado, IgG4 neonatal sólo se relaciona con el peso pregestacional, pero no con el IMC pregestacional y el análisis por grupos no mostró diferencias significativas. En conjunto, esta información sugiere un incremento de IgG en cordón umbilical bajo la condición de obesidad, hecho que pudiese ser resultado de la inflamación crónica característica de dicho desorden.

Por su parte, IgE en cordón umbilical se relaciona directamente con los niveles glucémicos maternos e inversamente con el incremento de peso materno. El origen de este isotipo en cordón umbilical no es conocido, pero una posible explicación es la presencia de alérgenos maternos, los cuales podrían ser acarreados mediante el transporte placentario de IgG y estimular la producción fetal. A este respecto, Estudios previos han reportado la presencia de IgE en placenta, aún sin infecciones en curso (Rindsjo et al., 2006) y se ha propuesto que su existencia es consecuencia directa del perfil de citocinas Th2 característico del embarazo (Sverremark Ekstrom et al., 2002).

Esta hipótesis concuerda con nuestros resultados puesto que, al incrementar el peso materno se observa una disminución de IgE, probablemente debido al predominio de perfiles proinflamatorios con citocinas Th1 característicos de la obesidad, en lugar del perfil Th2 de un embarazo sin curso de obesidad.

Finalmente, el análisis multivariable derivado del PCA permitió identificar que la variación de células positivas para CD11a, CD11b y TLR-4 es global por marcador, pero independiente entre los tres marcadores. Por ejemplo, existe una correlación entre la ganancia o pérdida de CD11a, pero ésta no tiene relación con la ganancia o pérdida de CD11b o TLR-4. Esto significa que la regulación de marcadores está sujeta a mecanismos globales aún no descritos. Estos resultados pueden ser la base de valores pronósticos para el riesgo que tiene la progenie a sufrir padecimientos inmunológicos derivado de una gestación en un entorno inflamatorio como lo es la obesidad materna.

9. CONCLUSIONES

El estado materno pregestacional y gestacional tienen en conjunto la capacidad de modular el estado general neonatal, así como como sus compartimentos inmunológicos celulares y humorales. La obesidad y sobrepeso pregestacionales, así como la tensión arterial materna alteran el compartimento neonatal mieloide incrementando la expresión del PRR TLR-4 y moléculas de adhesión, como CD11a y CD11b. Además, la condición materna impacta sobre el estado inmunológico, de forma independiente a la obesidad materna, como la glucemia y azotemia maternos impactan en el estado general e inmunológico neonatales. En general, estos hallazgos develan el impacto negativo que tiene la inflamación sistémica durante el embarazo, así como la importancia de proporcionar control perinatal a mujeres que estén en riesgo de complicaciones gestacionales.

10. BIBLIOGRAFÍA

- Aalberse, R. C., Stapel, S. O., Schuurman, J., & Rispens, T. (2009). Immunoglobulin G4: an odd antibody. *Clin Exp Allergy*, 39(4), 469-477. doi:10.1111/j.1365-2222.2009.03207.x
- Aboouf, M. A., Hamdy, N. M., Amin, A. I., & El-Mesallamy, H. O. (2015). Genotype screening of APLN rs3115757 variant in Egyptian women population reveals an association with obesity and insulin resistance. *Diabetes Res Clin Pract*, 109(1), 40-47. doi:10.1016/j.diabres.2015.05.016
- American-Diabetes-Association. (2021). Diabetes diagnosis. Retrieved from <https://www.diabetes.org/a1c/diagnosis>
- Amulic, B., Cazalet, C., Hayes, G. L., Metzler, K. D., & Zychlinsky, A. (2012). Neutrophil function: from mechanisms to disease. *Annu Rev Immunol*, 30, 459-489. doi:10.1146/annurev-immunol-020711-074942
- Ando, A., Orita, Y., Nakata, K., Tsubakihara, Y., Takamitsu, Y., Ueda, N., . . . Abe, H. (1979). Effect of low protein diet and surplus of essential amino acids on the serum concentration and the urinary excretion of methylguanidine and guanidinosuccinic acid in chronic renal failure. *Nephron*, 24(4), 161-169. doi:10.1159/000181709
- Arai, S., Maehara, N., Iwamura, Y., Honda, S., Nakashima, K., Kai, T., . . . Miyazaki, T. (2013). Obesity-associated autoantibody production requires AIM to retain the immunoglobulin M immune complex on follicular dendritic cells. *Cell Rep*, 3(4), 1187-1198. doi:10.1016/j.celrep.2013.03.006
- Baker, K., Rath, T., Pyzik, M., & Blumberg, R. S. (2014a). Neonatal Fc receptors for IgG drive CD8(+) T cell-mediated anti-cancer immunosurveillance at tolerogenic mucosal sites. *Oncoimmunology*, 3, e27844. doi:10.4161/onci.27844
- Baker, K., Rath, T., Pyzik, M., & Blumberg, R. S. (2014b). The Role of FcRn in Antigen Presentation. *Front Immunol*, 5, 408. doi:10.3389/fimmu.2014.00408
- Bao, Y., Mo, J., Ruan, L., & Li, G. (2015). Increased monocytic CD14(+)HLADR^{low}/- myeloid-derived suppressor cells in obesity. *Mol Med Rep*, 11(3), 2322-2328. doi:10.3892/mmr.2014.2927
- Barboza, R., Lima, F. A., Reis, A. S., Murillo, O. J., Peixoto, E. P. M., Bandeira, C. L., . . . Marinho, C. R. F. (2017). TLR4-Mediated Placental Pathology and Pregnancy Outcome in Experimental Malaria. *Sci Rep*, 7(1), 8623. doi:10.1038/s41598-017-08299-x
- Barden, A., Graham, D., Beilin, L. J., Ritchie, J., Baker, R., Walters, B. N., & Michael, C. A. (1997). Neutrophil CD11B expression and neutrophil activation in pre-eclampsia. *Clin Sci (Lond)*, 92(1), 37-44. doi:10.1042/cs0920037
- Basith, S., Manavalan, B., Lee, G., Kim, S. G., & Choi, S. (2011). Toll-like receptor modulators: a patent review (2006-2010). *Expert Opin Ther Pat*, 21(6), 927-944. doi:10.1517/13543776.2011.569494
- Benowitz, I., Esposito, D. B., Gracey, K. D., Shapiro, E. D., & Vazquez, M. (2010). Influenza vaccine given to pregnant women reduces hospitalization due to influenza in their infants. *Clin Infect Dis*, 51(12), 1355-1361. doi:10.1086/657309
- Bjorbaek, C., Uotani, S., da Silva, B., & Flier, J. S. (1997). Divergent signaling capacities of the long and short isoforms of the leptin receptor. *J Biol Chem*, 272(51), 32686-32695. doi:10.1074/jbc.272.51.32686

- Broadney, M. M., Chahal, N., Michels, K. A., McLain, A. C., Ghassabian, A., Lawrence, D. A., & Yeung, E. H. (2017). Impact of parental obesity on neonatal markers of inflammation and immune response. *Int J Obes (Lond)*, *41*(1), 30-37. doi:10.1038/ijo.2016.187
- Bulmer, J. N., Rasheed, F. N., Morrison, L., Francis, N., & Greenwood, B. M. (1993). Placental malaria. II. A semi-quantitative investigation of the pathological features. *Histopathology*, *22*(3), 219-225. doi:10.1111/j.1365-2559.1993.tb00111.x
- Bunker, J. J., & Bendelac, A. (2018). IgA Responses to Microbiota. *Immunity*, *49*(2), 211-224. doi:10.1016/j.immuni.2018.08.011
- Caldefie-Chezet, F., Poulin, A., Tridon, A., Sion, B., & Vasson, M. P. (2001). Leptin: a potential regulator of polymorphonuclear neutrophil bactericidal action? *J Leukoc Biol*, *69*(3), 414-418.
- Campfield, L. A., Smith, F. J., Guisez, Y., Devos, R., & Burn, P. (1995). Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. *Science*, *269*(5223), 546-549. doi:10.1126/science.7624778
- Caspar-Bauguil, S., Cousin, B., Galinier, A., Segafredo, C., Nibbelink, M., Andre, M., . . . Penicaud, L. (2005). Adipose tissues as an ancestral immune organ: site-specific change in obesity. *FEBS Lett*, *579*(17), 3487-3492. doi:10.1016/j.febslet.2005.05.031
- Challier, J. C., Basu, S., Bintein, T., Minium, J., Hotmire, K., Catalano, P. M., & Hauguel-de Mouzon, S. (2008). Obesity in pregnancy stimulates macrophage accumulation and inflammation in the placenta. *Placenta*, *29*(3), 274-281. doi:10.1016/j.placenta.2007.12.010
- Chaplin, D. D. (2010). Overview of the immune response. *J Allergy Clin Immunol*, *125*(2 Suppl 2), S3-23. doi:10.1016/j.jaci.2009.12.980
- Chavez, M., Seeley, R. J., & Woods, S. C. (1995). A comparison between effects of intraventricular insulin and intraperitoneal lithium chloride on three measures sensitive to emetic agents. *Behav Neurosci*, *109*(3), 547-550.
- Chen, C., Xu, X., & Yan, Y. (2018). Estimated global overweight and obesity burden in pregnant women based on panel data model. *PLoS One*, *13*(8), e0202183. doi:10.1371/journal.pone.0202183
- Chen, H., Charlat, O., Tartaglia, L. A., Woolf, E. A., Weng, X., Ellis, S. J., . . . Morgenstern, J. P. (1996). Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice. *Cell*, *84*(3), 491-495. doi:10.1016/s0092-8674(00)81294-5
- Chirumbolo, S., Bjorklund, G., Sboarina, A., & Vella, A. (2018). The role of basophils as innate immune regulatory cells in allergy and immunotherapy. *Hum Vaccin Immunother*, *14*(4), 815-831. doi:10.1080/21645515.2017.1417711
- Chiu, S., & Bharat, A. (2016). Role of monocytes and macrophages in regulating immune response following lung transplantation. *Curr Opin Organ Transplant*, *21*(3), 239-245. doi:10.1097/MOT.0000000000000313
- Coenen, K. R., Gruen, M. L., Chait, A., & Hasty, A. H. (2007). Diet-induced increases in adiposity, but not plasma lipids, promote macrophage infiltration into white adipose tissue. *Diabetes*, *56*(3), 564-573. doi:10.2337/db06-1375
- Collison, J. L., Carlin, L. M., Eichmann, M., Geissmann, F., & Peakman, M. (2015). Heterogeneity in the Locomotory Behavior of Human Monocyte Subsets over Human Vascular Endothelium In Vitro. *J Immunol*, *195*(3), 1162-1170. doi:10.4049/jimmunol.1401806

- Conrad, D. H., Ford, J. W., Sturgill, J. L., & Gibb, D. R. (2007). CD23: an overlooked regulator of allergic disease. *Curr Allergy Asthma Rep*, 7(5), 331-337. doi:10.1007/s11882-007-0050-y
- Cooper, A. M., Hobson, P. S., Jutton, M. R., Kao, M. W., Drung, B., Schmidt, B., . . . Gould, H. J. (2012). Soluble CD23 controls IgE synthesis and homeostasis in human B cells. *J Immunol*, 188(7), 3199-3207. doi:10.4049/jimmunol.1102689
- Dasu, M. R., Devaraj, S., Zhao, L., Hwang, D. H., & Jialal, I. (2008). High glucose induces toll-like receptor expression in human monocytes: mechanism of activation. *Diabetes*, 57(11), 3090-3098. doi:10.2337/db08-0564
- Davis, A. C., Collins, C., Yoshimura, M. I., D'Agostaro, G., & Shulman, M. J. (1989). Mutations of the mouse mu H chain which prevent polymer assembly. *J Immunol*, 143(4), 1352-1357.
- de Moraes-Pinto, M. I., Almeida, A. C., Kenj, G., Filgueiras, T. E., Tobias, W., Santos, A. M., . . . Hart, C. A. (1996). Placental transfer and maternally acquired neonatal IgG immunity in human immunodeficiency virus infection. *J Infect Dis*, 173(5), 1077-1084. doi:10.1093/infdis/173.5.1077
- de Moraes-Pinto, M. I., Verhoeff, F., Chimsuku, L., Milligan, P. J., Wesumperuma, L., Broadhead, R. L., . . . Hart, C. A. (1998). Placental antibody transfer: influence of maternal HIV infection and placental malaria. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 79(3), F202-205. doi:10.1136/fn.79.3.f202
- Dobrovolskaia, M. A., & Vogel, S. N. (2002). Toll receptors, CD14, and macrophage activation and deactivation by LPS. *Microbes Infect*, 4(9), 903-914. doi:10.1016/s1286-4579(02)01613-1
- Dong, S. S., Zhang, Y. J., Chen, Y. X., Yao, S., Hao, R. H., Rong, Y., . . . Yang, T. L. (2018). Comprehensive review and annotation of susceptibility SNPs associated with obesity-related traits. *Obes Rev*, 19(7), 917-930. doi:10.1111/obr.12677
- Donsbough, A. L., Powell, S., Waguespack, A., Bidner, T. D., & Southern, L. L. (2010). Uric acid, urea, and ammonia concentrations in serum and uric acid concentration in excreta as indicators of amino acid utilization in diets for broilers. *Poult Sci*, 89(2), 287-294. doi:10.3382/ps.2009-00401
- Ebringer, A., & Doyle, A. E. (1970). Raised serum IgG levels in hypertension. *Br Med J*, 2(5702), 146-148. doi:10.1136/bmj.2.5702.146
- Ehrenstein, M. R., Cook, H. T., & Neuberger, M. S. (2000). Deficiency in serum immunoglobulin (Ig)M predisposes to development of IgG autoantibodies. *J Exp Med*, 191(7), 1253-1258. doi:10.1084/jem.191.7.1253
- Ehrlich, P. (1880). Methodologische Beitrage zur Physiologie und Pathologie der verschiedenen Formen
- der Leukocyten. *Z. Klin. Med.*, 1, 553-560. doi:doi.org/10.1016/B978-0-08-009054-2.50013-4
- Einarsdottir, H. K., Stapleton, N. M., Scherjon, S., Andersen, J. T., Rispen, T., van der Schoot, C. E., & Vidarsson, G. (2014). On the perplexingly low rate of transport of IgG2 across the human placenta. *PLoS One*, 9(9), e108319. doi:10.1371/journal.pone.0108319
- Engin, A. B. (2017). Adipocyte-Macrophage Cross-Talk in Obesity. *Adv Exp Med Biol*, 960, 327-343. doi:10.1007/978-3-319-48382-5_14
- Englund, J. A. (2003). Maternal immunization with inactivated influenza vaccine: rationale and experience. *Vaccine*, 21(24), 3460-3464. doi:10.1016/s0264-410x(03)00351-7
- Enninga Elizabeth Ann, Sung Jang Jin, Hur Benjamin, Johnson Erica L., Wick Myra J., Sung Jaeyun, & Rana, C. (2020). Maternal obesity is associated with phenotypic alterations in

- fetal immune cells by single-cell mass cytometry. *Journal of Reproductive Immunology*, 85(3). doi:doi.org/10.1111/aji.13358
- Fenzl, A., & Kiefer, F. W. (2014). Brown adipose tissue and thermogenesis. *Horm Mol Biol Clin Investig*, 19(1), 25-37. doi:10.1515/hmbci-2014-0022
- Flores, M., Macias, N., Rivera, M., Lozada, A., Barquera, S., Rivera-Dommarco, J., & Tucker, K. L. (2010). Dietary patterns in Mexican adults are associated with risk of being overweight or obese. *J Nutr*, 140(10), 1869-1873. doi:10.3945/jn.110.121533
- Francisco, V., Pino, J., Campos-Cabaleiro, V., Ruiz-Fernandez, C., Mera, A., Gonzalez-Gay, M. A., . . . Gualillo, O. (2018). Obesity, Fat Mass and Immune System: Role for Leptin. *Front Physiol*, 9, 640. doi:10.3389/fphys.2018.00640
- Friedman, D. M., Kim, M. Y., Copel, J. A., Davis, C., Phoon, C. K., Glickstein, J. S., . . . Investigators, P. (2008). Utility of cardiac monitoring in fetuses at risk for congenital heart block: the PR Interval and Dexamethasone Evaluation (PRIDE) prospective study. *Circulation*, 117(4), 485-493. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.107.707661
- Friedman, J. M. (2011). Leptin and the regulation of body weigh. *Keio J Med*, 60(1), 1-9. doi:10.2302/kjm.60.1
- Friedrich, K., Sommer, M., Strobel, S., Thrum, S., Bluher, M., Wagner, U., & Rossol, M. (2019). Perturbation of the Monocyte Compartment in Human Obesity. *Front Immunol*, 10, 1874. doi:10.3389/fimmu.2019.01874
- Fruhbeck, G. (2006). Intracellular signalling pathways activated by leptin. *Biochem J*, 393(Pt 1), 7-20. doi:10.1042/BJ20051578
- Frutiger, S., Hughes, G. J., Paquet, N., Luthy, R., & Jaton, J. C. (1992). Disulfide bond assignment in human J chain and its covalent pairing with immunoglobulin M. *Biochemistry*, 31(50), 12643-12647. doi:10.1021/bi00165a014
- Furuncuoglu, Y., Tulgar, S., Dogan, A. N., Cakar, S., Tulgar, Y. K., & Cakiroglu, B. (2016). How obesity affects the neutrophil/lymphocyte and platelet/lymphocyte ratio, systemic immune-inflammatory index and platelet indices: a retrospective study. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 20(7), 1300-1306.
- Gabay, C., Dreyer, M., Pellegrinelli, N., Chicheportiche, R., & Meier, C. A. (2001). Leptin directly induces the secretion of interleukin 1 receptor antagonist in human monocytes. *J Clin Endocrinol Metab*, 86(2), 783-791. doi:10.1210/jcem.86.2.7245
- Gale, S. M., Castracane, V. D., & Mantzoros, C. S. (2004). Energy homeostasis, obesity and eating disorders: recent advances in endocrinology. *J Nutr*, 134(2), 295-298. doi:10.1093/jn/134.2.295
- Gallardo Juan Manuel, Gómez-López Jaqueline, Medina-Bravo Patricia, Francisco, J.-S., Contreras-Ramos Alejandra, Galicia-Esquivel Matilde, . . . Miguel, K.-K. (2015). Maternal Obesity Increases Oxidative Stress in the Newborn. *Obesity Biology and Integrated Physiology*, 23(8), 1650-1654. doi:doi.org/10.1002/oby.21159
- Gálvez, A. (2018). *Eating NAFTA : trade, food policies, and the destruction of Mexico*. Oakland, California: University of California Press.
- Gans, H., DeHovitz, R., Forghani, B., Beeler, J., Maldonado, Y., & Arvin, A. M. (2003). Measles and mumps vaccination as a model to investigate the developing immune system: passive and active immunity during the first year of life. *Vaccine*, 21(24), 3398-3405. doi:10.1016/s0264-410x(03)00341-4

- Geissmann, F., Jung, S., & Littman, D. R. (2003). Blood monocytes consist of two principal subsets with distinct migratory properties. *Immunity*, *19*(1), 71-82. doi:10.1016/s1074-7613(03)00174-2
- Giaglis, S., Stoikou, M., Grimolizzi, F., Subramanian, B. Y., van Breda, S. V., Hoesli, I., . . . Hahn, S. (2016). Neutrophil migration into the placenta: Good, bad or deadly? *Cell Adh Migr*, *10*(1-2), 208-225. doi:10.1080/19336918.2016.1148866
- Gimeno, R., & Barquinero, J. (2011). Myeloid-derived suppressor cells (MDSC): Another player in the orchestra. *Inmunología*, *30*(2), 45-53. doi:doi.org/10.1016/S0213-9626(11)70015-4
- Gopinath, R., & Nutman, T. B. (1997). Identification of eosinophils in lysed whole blood using side scatter and CD16 negativity. *Cytometry*, *30*(6), 313-316.
- Gould, H. J., & Sutton, B. J. (2008). IgE in allergy and asthma today. *Nat Rev Immunol*, *8*(3), 205-217. doi:10.1038/nri2273
- Grant, R. W., & Dixit, V. D. (2015). Adipose tissue as an immunological organ. *Obesity (Silver Spring)*, *23*(3), 512-518. doi:10.1002/oby.21003
- Hamre, R., Farstad, I. N., Brandtzaeg, P., & Morton, H. C. (2003). Expression and modulation of the human immunoglobulin A Fc receptor (CD89) and the FcR gamma chain on myeloid cells in blood and tissue. *Scand J Immunol*, *57*(6), 506-516. doi:10.1046/j.1365-3083.2003.01220.x
- Hanson, L. A., & Korotkova, M. (2002). The role of breastfeeding in prevention of neonatal infection. *Semin Neonatol*, *7*(4), 275-281. doi:10.1016/s1084-2756(02)90124-7
- Harms, M., & Seale, P. (2013). Brown and beige fat: development, function and therapeutic potential. *Nat Med*, *19*(10), 1252-1263. doi:10.1038/nm.3361
- Heilbronn, L. K., Smith, S. R., & Ravussin, E. (2003). The insulin-sensitizing role of the fat derived hormone adiponectin. *Curr Pharm Des*, *9*(17), 1411-1418. doi:10.2174/1381612033454766
- Hemond, J., Robbins, R. B., & Young, P. C. (2016). The Effects of Maternal Obesity on Neonates, Infants, Children, Adolescents, and Adults. *Clin Obstet Gynecol*, *59*(1), 216-227. doi:10.1097/GRF.0000000000000179
- Heyman, B. S. M. (2016). Structure, Function and Production of Immunoglobulin M (IgM). In *Encyclopedia of Immunobiology*, 14-1.
- Hogarth, P. M., & Pietersz, G. A. (2012). Fc receptor-targeted therapies for the treatment of inflammation, cancer and beyond. *Nat Rev Drug Discov*, *11*(4), 311-331. doi:10.1038/nrd2909
- Huang, S., Rutkowsky, J. M., Snodgrass, R. G., Ono-Moore, K. D., Schneider, D. A., Newman, J. W., . . . Hwang, D. H. (2012). Saturated fatty acids activate TLR-mediated proinflammatory signaling pathways. *J Lipid Res*, *53*(9), 2002-2013. doi:10.1194/jlr.D029546
- Ilavska, S., Horvathova, M., Szabova, M., Nemessanyi, T., Jahnova, E., Tulinska, J., . . . Volkovova, K. (2012). Association between the human immune response and body mass index. *Hum Immunol*, *73*(5), 480-485. doi:10.1016/j.humimm.2012.02.023
- INSP. (2018a). *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018: Presentación de Resultados*. Retrieved from https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanut2018/doctos/informes/ensanut_2018_presentacion_resultados.pdf
- INSP. (2018b). *La obesidad en México. Estado de la política pública y recomendaciones para su prevención y control*. In M. A. C. Juan Ángel Rivera Dommarco, Mario Luis Fuentes, Te

- resita González de Cosío Martínez, Carlos A. Aguilar Salinas, Gonzalo Hernández Licona, Simón Barquera (Ed.). Retrieved from <https://www.insp.mx/avisos/4884-la-obesidad-mexico.html>
- Jaedicke, K. M., Roythorne, A., Padget, K., Todryk, S., Preshaw, P. M., & Taylor, J. J. (2013). Leptin up-regulates TLR2 in human monocytes. *J Leukoc Biol*, 93(4), 561-571. doi:10.1189/jlb.1211606
- Jefferis, R. (2012). Isotype and glycoform selection for antibody therapeutics. *Arch Biochem Biophys*, 526(2), 159-166. doi:10.1016/j.abb.2012.03.021
- Jiang, S. Z., Lu, W., Zong, X. F., Ruan, H. Y., & Liu, Y. (2016). Obesity and hypertension. *Exp Ther Med*, 12(4), 2395-2399. doi:10.3892/etm.2016.3667
- Jing, X., Min, C., Qi Yun, L., Shun Qin, H., Li Rui, L., Jia, L., & Run Mei, M. (2020). Toll-like receptor 2/4 inhibitors can reduce preterm birth in mice. *J Int Med Res*, 48(10), 300060520933795. doi:10.1177/0300060520933795
- Johansen, F. E., Braathen, R., & Brandtzaeg, P. (2000). Role of J chain in secretory immunoglobulin formation. *Scand J Immunol*, 52(3), 240-248. doi:10.1046/j.1365-3083.2000.00790.x
- Kapellos, T. S., Bonaguro, L., Gemund, I., Reusch, N., Saglam, A., Hinkley, E. R., & Schultze, J. L. (2019). Human Monocyte Subsets and Phenotypes in Major Chronic Inflammatory Diseases. *Front Immunol*, 10, 2035. doi:10.3389/fimmu.2019.02035
- Kato, H., Ueki, S., Kamada, R., Kihara, J., Yamauchi, Y., Suzuki, T., . . . Chihara, J. (2011). Leptin has a priming effect on eotaxin-induced human eosinophil chemotaxis. *Int Arch Allergy Immunol*, 155(4), 335-344. doi:10.1159/000321195
- Kawamura, A., Miura, S., Murayama, T., Iwata, A., Zhang, B., Nishikawa, H., . . . Saku, K. (2004). Increased expression of monocyte CD11a and intracellular adhesion molecule-1 in patients with initial atherosclerotic coronary stenosis. *Circ J*, 68(1), 6-10. doi:10.1253/circj.68.6
- Kehry, M., Sibley, C., Fuhrman, J., Schilling, J., & Hood, L. E. (1979). Amino acid sequence of a mouse immunoglobulin mu chain. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 76(6), 2932-2936. doi:10.1073/pnas.76.6.2932
- Kelly, T., Yang, W., Chen, C. S., Reynolds, K., & He, J. (2008). Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030. *Int J Obes (Lond)*, 32(9), 1431-1437. doi:10.1038/ijo.2008.102
- Kibe, T., Fujimoto, S., Ishida, C., Togari, H., Wada, Y., Okada, S., . . . Takahashi, N. (1996). Glycosylation and Placental Transport of Immunoglobulin G. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 21, 57-63.
- Kim, J., Hayton, W. L., Robinson, J. M., & Anderson, C. L. (2007). Kinetics of FcRn-mediated recycling of IgG and albumin in human: pathophysiology and therapeutic implications using a simplified mechanism-based model. *Clin Immunol*, 122(2), 146-155. doi:10.1016/j.clim.2006.09.001
- Kobayashi, R., Mii, S., Nakano, T., Harada, H., & Eto, H. (2009). Neonatal lupus erythematosus in Japan: a review of the literature. *Autoimmun Rev*, 8(6), 462-466. doi:10.1016/j.autrev.2008.12.013
- Konner, A. C., & Bruning, J. C. (2011). Toll-like receptors: linking inflammation to metabolism. *Trends Endocrinol Metab*, 22(1), 16-23. doi:10.1016/j.tem.2010.08.007
- Kopecky, C., Pandzic, E., Parmar, A., Szajer, J., Lee, V., Dupuy, A., . . . Cochran, B. J. (2019). Translocator protein localises to CD11b(+) macrophages in atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 284, 153-159. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2019.03.011

- Kuzeytemiz, M. D., M., & Şentürk, M. (2013). The relationship between eosinophil and nondipper hypertension. *Cor et Vasa*, *55*(6), e487-e491.
- Lee, H., Lee, I. S., & Choue, R. (2013). Obesity, inflammation and diet. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr*, *16*(3), 143-152. doi:10.5223/pghn.2013.16.3.143
- Lipman, N. S., Jackson, L. R., Trudel, L. J., & Weis-Garcia, F. (2005). Monoclonal versus polyclonal antibodies: distinguishing characteristics, applications, and information resources. *ILAR J*, *46*(3), 258-268. doi:10.1093/ilar.46.3.258
- Louis, A. G., & Gupta, S. (2014). Primary selective IgM deficiency: an ignored immunodeficiency. *Clin Rev Allergy Immunol*, *46*(2), 104-111. doi:10.1007/s12016-013-8375-x
- Luppi, P., Irwin, T. E., Simhan, H., & Deloia, J. A. (2004). CD11b Expression on circulating leukocytes increases in preparation for parturition. *Am J Reprod Immunol*, *52*(5), 323-329. doi:10.1111/j.1600-0897.2004.00229.x
- Ma, Q., Honarpisheh, M., Li, C., Sellmayr, M., Lindenmeyer, M., Bohland, C., . . . Steiger, S. (2020). Soluble Uric Acid Is an Intrinsic Negative Regulator of Monocyte Activation in Monosodium Urate Crystal-Induced Tissue Inflammation. *J Immunol*, *205*(3), 789-800. doi:10.4049/jimmunol.2000319
- Mantyljarvi, R., Hirvonen, T., & Toivanen, P. (1970). Maternal antibodies in human neonatal sera. *Immunology*, *18*(3), 449-451.
- Martin, W. L., West, A. P., Jr., Gan, L., & Bjorkman, P. J. (2001). Crystal structure at 2.8 Å of an FcRn/heterodimeric Fc complex: mechanism of pH-dependent binding. *Mol Cell*, *7*(4), 867-877. doi:10.1016/s1097-2765(01)00230-1
- Marzullo, P., Minocci, A., Giarda, P., Marconi, C., Tagliaferri, A., Walker, G. E., . . . Liuzzi, A. (2014). Lymphocytes and immunoglobulin patterns across the threshold of severe obesity. *Endocrine*, *45*(3), 392-400. doi:10.1007/s12020-013-0006-z
- Matarese, G., Procaccini, C., De Rosa, V., Horvath, T. L., & La Cava, A. (2010). Regulatory T cells in obesity: the leptin connection. *Trends Mol Med*, *16*(6), 247-256. doi:10.1016/j.molmed.2010.04.002
- McCloskey, N., Hunt, J., Beavil, R. L., Jutton, M. R., Grundy, G. J., Girardi, E., . . . Gould, H. J. (2007). Soluble CD23 monomers inhibit and oligomers stimulate IGE synthesis in human B cells. *J Biol Chem*, *282*(33), 24083-24091. doi:10.1074/jbc.M703195200
- Mehta, P. K., & Griendling, K. K. (2007). Angiotensin II cell signaling: physiological and pathological effects in the cardiovascular system. *Am J Physiol Cell Physiol*, *292*(1), C82-97. doi:10.1152/ajpcell.00287.2006
- Mestecky, J., Schrohenloher, R. E., Kulhavy, R., Wright, G. P., & Tomana, M. (1974). Site of J chain attachment to human polymeric IgA. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *71*(2), 544-548. doi:10.1073/pnas.71.2.544
- Min, B., Brown, M. A., & Legros, G. (2012). Understanding the roles of basophils: breaking dawn. *Immunology*, *135*(3), 192-197. doi:10.1111/j.1365-2567.2011.03530.x
- Mkaddem Sanae Ben, Benhamou Marc, & C., M. R. (2019). Understanding Fc Receptor Involvement in Inflammatory Diseases: From Mechanisms to New Therapeutic Tools. *Frontiers in Immunology*, *10*(811). doi:doi.org/10.3389/fimmu.2019.00811
- Molteni, M., Gemma, S., & Rossetti, C. (2016). The Role of Toll-Like Receptor 4 in Infectious and Noninfectious Inflammation. *Mediators Inflamm*, *2016*, 6978936. doi:10.1155/2016/6978936
- Monteiro, R., & Azevedo, I. (2010). Chronic inflammation in obesity and the metabolic syndrome. *Mediators Inflamm*, *2010*. doi:10.1155/2010/289645

- Montenuco, F., Giordano B., Gnerre P., Bertolotto M., Dallegri F., Otonello, L. (2006). Induction of Neutrophil Chemotaxis by Leptin: Crucial Role for p38 and Src Kinases. *The New York Academy of Sciences*.
- Moran-Ramos, S., Lopez-Contreras, B. E., & Canizales-Quinteros, S. (2017). Gut Microbiota in Obesity and Metabolic Abnormalities: A Matter of Composition or Functionality? *Arch Med Res*, 48(8), 735-753. doi:10.1016/j.arcmed.2017.11.003
- MS, B. (1990). Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations. In Walker HK, Hall WD, & Hurst JW (Eds.), (3rd ed.).
- Mukai, K., Tsai, M., Starkl, P., Marichal, T., & Galli, S. J. (2016). IgE and mast cells in host defense against parasites and venoms. *Semin Immunopathol*, 38(5), 581-603. doi:10.1007/s00281-016-0565-1
- Murphy, K. (2012). *Janeway's Immunobiology*. New York: Garland Science & Francis Groum, LLC.
- Myatt, L., & Maloyan, A. (2016). Obesity and Placental Function. *Semin Reprod Med*, 34(1), 42-49. doi:10.1055/s-0035-1570027
- Nahm, M. H., Glezen, P., & Englund, J. (2003). The influence of maternal immunization on light chain response to Haemophilus influenzae type b vaccine. *Vaccine*, 21(24), 3393-3397. doi:10.1016/s0264-410x(03)00340-2
- Najib, S., & Sanchez-Margalet, V. (2002). Human leptin promotes survival of human circulating blood monocytes prone to apoptosis by activation of p42/44 MAPK pathway. *Cell Immunol*, 220(2), 143-149. doi:10.1016/s0008-8749(03)00027-3
- O., P. M. M. S.-R., B., D.-R.-N., M., D.-R.-C. J. C., E., P.-F. G., S., H.-Y., & C., M.-B. (2011). Toll-like receptor 4 expression in obese asthmatic children with allergic inflammation. *Bol Med Hops Infant Mex*, 68, 257-261.
- Okoko, B. J., Wesumperuma, H. L., Fern, J., Yamuah, L. K., & Hart, C. A. (2002). The transplacental transfer of IgG subclasses: influence of prematurity and low birthweight in the Gambian population. *Ann Trop Paediatr*, 22(4), 325-332. doi:10.1179/027249302125001985
- Okoye, H. C., Eweputanna, L. I., Korubo, K. I., & Ejele, O. A. (2016). Effects of maternal hypertension on the neonatal haemogram in southern Nigeria: A case-control study. *Malawi Med J*, 28(4), 174-178. doi:10.4314/mmj.v28i4.5
- Osborn, D. A., Schindler, T., Jones, L. J., Sinn, J. K., & Bolisetty, S. (2018). Higher versus lower amino acid intake in parenteral nutrition for newborn infants. *Cochrane Database Syst Rev*, 3, CD005949. doi:10.1002/14651858.CD005949.pub2
- Ottesen, E. A., Skvaril, F., Tripathy, S. P., Poindexter, R. W., & Hussain, R. (1985). Prominence of IgG4 in the IgG antibody response to human filariasis. *J Immunol*, 134(4), 2707-2712.
- Ouchi, N., Kihara, S., Arita, Y., Maeda, K., Kuriyama, H., Okamoto, Y., . . . Matsuzawa, Y. (1999). Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation*, 100(25), 2473-2476. doi:10.1161/01.cir.100.25.2473
- Palmeira, P., Quinello, C., Silveira-Lessa, A. L., Zago, C. A., & Carneiro-Sampaio, M. (2012). IgG placental transfer in healthy and pathological pregnancies. *Clin Dev Immunol*, 2012, 985646. doi:10.1155/2012/985646
- Parvez, Y., & Mathew, A. G. (2014). Hyperleukocytosis in newborn: a diagnosis of concern. *Indian J Hematol Blood Transfus*, 30(Suppl 1), 131-132. doi:10.1007/s12288-013-0286-8
- Plutzky, J. (2009). Expansion and contraction: the mighty, mighty fatty acid. *Nat Med*, 15(6), 618-619. doi:10.1038/nm0609-618

- Poehling, K. A., Szilagyi, P. G., Staat, M. A., Snively, B. M., Payne, D. C., Bridges, C. B., . . . New Vaccine Surveillance, N. (2011). Impact of maternal immunization on influenza hospitalizations in infants. *Am J Obstet Gynecol*, *204*(6 Suppl 1), S141-148. doi:10.1016/j.ajog.2011.02.042
- Poirier, P., Giles, T. D., Bray, G. A., Hong, Y., Stern, J. S., Pi-Sunyer, F. X., & Eckel, R. H. (2006). Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, *26*(5), 968-976. doi:10.1161/01.ATV.0000216787.85457.f3
- Poston, L., Harthoorn, L. F., Van Der Beek, E. M., & Contributors to the, I. E. W. (2011). Obesity in pregnancy: implications for the mother and lifelong health of the child. A consensus statement. *Pediatr Res*, *69*(2), 175-180. doi:10.1203/PDR.0b013e3182055ede
- Resch Bernhard, Edlinger Silvia, & Wilhelm, M. (2012). White Blood Cell Counts in Neonatal Early-Onset Sepsis. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, *31*(5), 540-541. doi:10.1097/INF.0b013e31824e4740
- Riley, L. K., & Rupert, J. (2015). Evaluation of Patients with Leukocytosis. *Am Fam Physician*, *92*(11), 1004-1011.
- Rindsjo, E., Hulthen Varli, I., Ofori, M. F., Lundquist, M., Holmlund, U., Papadogiannakis, N., & Scheynius, A. (2006). Presence of IgE cells in human placenta is independent of malaria infection or chorioamnionitis. *Clin Exp Immunol*, *144*(2), 204-211. doi:10.1111/j.1365-2249.2006.03055.x
- Rogero, M. M., & Calder, P. C. (2018). Obesity, Inflammation, Toll-Like Receptor 4 and Fatty Acids. *Nutrients*, *10*(4). doi:10.3390/nu10040432
- Romano, M. (2008). Inflammation resolution: does the bone marrow have a say? *Am J Hematol*, *83*(6), 435-436. doi:10.1002/ajh.21202
- Rtveladze, K., Marsh, T., Barquera, S., Sanchez Romero, L. M., Levy, D., Melendez, G., . . . Brown, M. (2014). Obesity prevalence in Mexico: impact on health and economic burden. *Public Health Nutr*, *17*(1), 233-239. doi:10.1017/S1368980013000086
- Saji, F., Koyama, M., & Matsuzaki, N. (1994). Human Placental Fc Receptors. *Placenta*, *15*(5), 453-466. doi:doi.org/10.1016/S0143-4004(05)80415-1
- Saji, F., Samejima, Y., Kamiura, S., & Koyama, M. (1999). Dynamics of immunoglobulins at the fetomaternal interface. *Rev Reprod*, *4*(2), 81-89. doi:10.1530/ror.0.0040081
- Sand, K. M., Bern, M., Nilsen, J., Noordzij, H. T., Sandlie, I., & Andersen, J. T. (2014). Unraveling the Interaction between FcRn and Albumin: Opportunities for Design of Albumin-Based Therapeutics. *Front Immunol*, *5*, 682. doi:10.3389/fimmu.2014.00682
- Santos-Alvarez, J., Goberna, R., & Sanchez-Margalet, V. (1999). Human leptin stimulates proliferation and activation of human circulating monocytes. *Cell Immunol*, *194*(1), 6-11. doi:10.1006/cimm.1999.1490
- Schneider, S., Hoppmann, P., Koch, W., Kemmner, S., Schmaderer, C., Renders, L., . . . Baumann, M. (2015). Obesity-associated hypertension is ameliorated in patients with TLR4 single nucleotide polymorphism (SNP) rs4986790. *J Inflamm (Lond)*, *12*, 57. doi:10.1186/s12950-015-0100-5
- Scotece M., P. T., Conde J., Abella V., López V., Gonzalez-Gay, J., Gomez-Reino A. M., Gomez R., Oreste G. (2017). Adipokines induce pro-inflammatory factors in activated CD4+ T cells from osteoarthritis patient. *Journal of Orthopaedic Research*.
- Seffert, P. (1985). [The obese woman: pregnancy and contraception]. *Lyon Mediterr Med Med Sud Est*, *21*(16), 10179-10180.

- Seki, H., Tani, Y., & Arita, M. (2009). Omega-3 PUFA derived anti-inflammatory lipid mediator resolvin E1. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, 89(3-4), 126-130. doi:10.1016/j.prostaglandins.2009.03.002
- Sethi J.K., V.-P. A. J. (2011). Adipose Tissue Development, Structure and Function. In A. R. (eds) (Ed.), *Metabolic Basis of Obesity*. New York, NY: Springer.
- Shade, K. T., Conroy, M. E., & Anthony, R. M. (2019). IgE Glycosylation in Health and Disease. *Curr Top Microbiol Immunol*, 423, 77-93. doi:10.1007/82_2019_151
- Shamri, R., Xenakis, J. J., & Spencer, L. A. (2011). Eosinophils in innate immunity: an evolving story. *Cell Tissue Res*, 343(1), 57-83. doi:10.1007/s00441-010-1049-6
- Siber, G. R., Schur, P. H., Aisenberg, A. C., Weitzman, S. A., & Schiffman, G. (1980). Correlation between serum IgG-2 concentrations and the antibody response to bacterial polysaccharide antigens. *N Engl J Med*, 303(4), 178-182. doi:10.1056/NEJM198007243030402
- Siegrist, C. A. (2003). Mechanisms by which maternal antibodies influence infant vaccine responses: review of hypotheses and definition of main determinants. *Vaccine*, 21(24), 3406-3412. doi:10.1016/s0264-410x(03)00342-6
- Singh, M. V., Cicha, M. Z., Nunez, S., Meyerholz, D. K., Chapleau, M. W., & Abboud, F. M. (2019). Angiotensin II-induced hypertension and cardiac hypertrophy are differentially mediated by TLR3- and TLR4-dependent pathways. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 316(5), H1027-H1038. doi:10.1152/ajpheart.00697.2018
- Singh, R. K., Kumar, P., & Mahalingam, K. (2017). Molecular genetics of human obesity: A comprehensive review. *C R Biol*, 340(2), 87-108. doi:10.1016/j.crvi.2016.11.007
- Skinner, S. K. M. (2020). Epigenetic Transgenerational Inheritance of Obesity Susceptibility. *Cell Press Reviews*. doi:doi.org/10.1016/j.tem.2020.02.009
- Snigurowicz, J., & Powiertowska-Rezmer, M. (1980). Papain hydrolysis products in four M-IgG subclasses. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 28(2), 265-273.
- Sorensen, V., Rasmussen, I. B., Sundvold, V., Michaelsen, T. E., & Sandlie, I. (2000). Structural requirements for incorporation of J chain into human IgM and IgA. *Int Immunol*, 12(1), 19-27. doi:10.1093/intimm/12.1.19
- Soucek, O., Kacerovsky, M., Musilova, I., Pliskova, L., Bolehovska, R., & Andrys, C. (2020). Amniotic fluid CD11b levels in pregnancies complicated by preterm prelabor rupture of membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 1-9. doi:10.1080/14767058.2020.1767578
- Srinivasan, M., & Roeske, R. W. (2005). Immunomodulatory peptides from IgSF proteins: a review. *Curr Protein Pept Sci*, 6(2), 185-196. doi:10.2174/1389203053545426
- Stacy, S. L., Buchanich, J. M., Ma, Z. Q., Mair, C., Robertson, L., Sharma, R. K., . . . Yuan, J. M. (2019). Maternal Obesity, Birth Size, and Risk of Childhood Cancer Development. *Am J Epidemiol*, 188(8), 1503-1511. doi:10.1093/aje/kwz118
- Stapleton, N. M., Andersen, J. T., Stemerding, A. M., Bjarnarson, S. P., Verheul, R. C., Gerritsen, J., . . . Vidarsson, G. (2011). Competition for FcRn-mediated transport gives rise to short half-life of human IgG3 and offers therapeutic potential. *Nature Communications*, 2(599). doi:doi.org/10.1038/ncomms1608
- Steffen, U., Koeleman, C. A., Sokolova, M. V., Bang, H., Kleyer, A., Rech, J., . . . Schett, G. (2020). IgA subclasses have different effector functions associated with distinct glycosylation profiles. *Nat Commun*, 11(1), 120. doi:10.1038/s41467-019-13992-8
- Steinberg, G. R., Parolin, M. L., Heigenhauser, G. J., & Dyck, D. J. (2002). Leptin increases FA oxidation in lean but not obese human skeletal muscle: evidence of peripheral leptin

- resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 283(1), E187-192. doi:10.1152/ajpendo.00542.2001
- Steppan, C. M., Bailey, S. T., Bhat, S., Brown, E. J., Banerjee, R. R., Wright, C. M., . . . Lazar, M. A. (2001). The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature*, 409(6818), 307-312. doi:10.1038/35053000
- Steven, J. L. (1892). Metchnikoff on the Comparative Pathology of Inflammation. *Glasgow Med J*, 38(3), 195-205.
- Suah, A. N., Tran, D. V., Khiew, S. H., Andrade, M. S., Pollard, J. M., Jain, D., . . . Chong, A. S. (2021). Pregnancy-induced humoral sensitization overrides T cell tolerance to fetus-matched allografts in mice. *J Clin Invest*, 131(1). doi:10.1172/JCI140715
- Sutton, B. J., Davies, A. M., Bax, H. J., & Karagiannis, S. N. (2019). IgE Antibodies: From Structure to Function and Clinical Translation. *Antibodies (Basel)*, 8(1). doi:10.3390/antib8010019
- Suzukawa, M., Nagase H., Ogahara I., Han K., Tashimo H., Shibui A., Koketsu R., Nakae S., Yamaguchi M., Ohta K. (2011). Leptin Enhances Survival and Induces Migration, Degranulation, and Cytokine Synthesis of Human Basophils. *The Journal of Immunology*, 186 (9), 5254-5260. doi:doi.org/10.4049/jimmunol.1004054
- Sverremark Ekstrom, E., Nilsson, C., Holmlund, U., van der Ploeg, I., Sandstedt, B., Lilja, G., & Scheynius, A. (2002). IgE is expressed on, but not produced by, fetal cells in the human placenta irrespective of maternal atopy. *Clin Exp Immunol*, 127(2), 274-282. doi:10.1046/j.1365-2249.2002.01773.x
- Swinburn, B. A., Sacks, G., Lo, S. K., Westerterp, K. R., Rush, E. C., Rosenbaum, M., . . . Ravussin, E. (2009). Estimating the changes in energy flux that characterize the rise in obesity prevalence. *Am J Clin Nutr*, 89(6), 1723-1728. doi:10.3945/ajcn.2008.27061
- Taborda, C. P., & Casadevall, A. (2002). CR3 (CD11b/CD18) and CR4 (CD11c/CD18) are involved in complement-independent antibody-mediated phagocytosis of *Cryptococcus neoformans*. *Immunity*, 16(6), 791-802. doi:10.1016/s1074-7613(02)00328-x
- Thomson, C. (2016). IgG Structure and Function. *Encyclopedia of Immunobiology*. doi:doi.org/10.1016/B978-0-12-374279-7.05002-5
- Tiniakos, D. G., Vos, M. B., & Brunt, E. M. (2010). Nonalcoholic fatty liver disease: pathology and pathogenesis. *Annu Rev Pathol*, 5, 145-171. doi:10.1146/annurev-pathol-121808-102132
- Tomana M., N. W., Mestecky J., Skvaril F. (1976). The differences in carbohydrate composition between the subclasses of IgA immunoglobulins. *Immunochemistry*, 13, 325-328.
- Trayhurn, P. (2007). Adipocyte biology. *Obes Rev*, 8 Suppl 1, 41-44. doi:10.1111/j.1467-789X.2007.00316.x
- Tsiotra, P. C., Boutati, E., Dimitriadis, G., & Raptis, S. A. (2013). High insulin and leptin increase resistin and inflammatory cytokine production from human mononuclear cells. *Biomed Res Int*, 2013, 487081. doi:10.1155/2013/487081
- Van de Perre, P. (2003). Transfer of antibody via mother's milk. *Vaccine*, 21(24), 3374-3376. doi:10.1016/s0264-410x(03)00336-0
- Van der Burg Jeske, Sen Serbattama, Chomiz Virginia R., Seidell Jaap C., Leviton Alan, & Olaf, D. (2016). The role of systemic inflammation linking maternal BMI to neurodevelopment in children. *Science Pediatric Research*, 79.

- Versini, M., Jeandel, P. Y., Rosenthal, E., & Shoenfeld, Y. (2014). Obesity in autoimmune diseases: not a passive bystander. *Autoimmun Rev*, *13*(9), 981-1000. doi:10.1016/j.autrev.2014.07.001
- Vidarsson, G., Dekkers, G., & Rispen, T. (2014). IgG subclasses and allotypes: from structure to effector functions. *Front Immunol*, *5*, 520. doi:10.3389/fimmu.2014.00520
- Vidarsson, G., Sigurdardottir, S. T., Gudnason, T., Kjartansson, S., Kristinsson, K. G., Ingolfsdottir, G., . . . Jonsdottir, I. (1998). Isotypes and opsonophagocytosis of pneumococcus type 6B antibodies elicited in infants and adults by an experimental pneumococcus type 6B-tetanus toxoid vaccine. *Infect Immun*, *66*(6), 2866-2870. doi:10.1128/IAI.66.6.2866-2870.1998
- Vidarsson, G., Stermerding, A. M., Stapleton, N. M., Spliethoff, S. E., Janssen, H., Rebers, F. E., . . . van de Winkel, J. G. (2006). FcRn: an IgG receptor on phagocytes with a novel role in phagocytosis. *Blood*, *108*(10), 3573-3579. doi:10.1182/blood-2006-05-024539
- Vieira-Potter, V. J. (2014). Inflammation and macrophage modulation in adipose tissues. *Cell Microbiol*, *16*(10), 1484-1492. doi:10.1111/cmi.12336
- Waki, H., Yamauchi, T., Kamon, J., Ito, Y., Uchida, S., Kita, S., . . . Kadowaki, T. (2003). Impaired multimerization of human adiponectin mutants associated with diabetes. Molecular structure and multimer formation of adiponectin. *J Biol Chem*, *278*(41), 40352-40363. doi:10.1074/jbc.M300365200
- Wang, J. G., Mahmud, S. A., Thompson, J. A., Geng, J. G., Key, N. S., & Slungaard, A. (2006). The principal eosinophil peroxidase product, HOSCN, is a uniquely potent phagocyte oxidant inducer of endothelial cell tissue factor activity: a potential mechanism for thrombosis in eosinophilic inflammatory states. *Blood*, *107*(2), 558-565. doi:10.1182/blood-2005-05-2152
- Wang, Y., Xu, A., Knight, C., Xu, L. Y., & Cooper, G. J. (2002). Hydroxylation and glycosylation of the four conserved lysine residues in the collagenous domain of adiponectin. Potential role in the modulation of its insulin-sensitizing activity. *J Biol Chem*, *277*(22), 19521-19529. doi:10.1074/jbc.M200601200
- Weis-Garcia, F., & Carnahan, R. H. (2017). Characterizing Antibodies. *Cold Spring Harb Protoc*, *2017*(11), pdb top093823. doi:10.1101/pdb.top093823
- Wilcox, C. R., Holder, B., & Jones, C. E. (2017). Factors Affecting the FcRn-Mediated Transplacental Transfer of Antibodies and Implications for Vaccination in Pregnancy. *Front Immunol*, *8*, 1294. doi:10.3389/fimmu.2017.01294
- Williams, E. P., Mesidor, M., Winters, K., Dubbert, P. M., & Wyatt, S. B. (2015). Overweight and Obesity: Prevalence, Consequences, and Causes of a Growing Public Health Problem. *Curr Obes Rep*, *4*(3), 363-370. doi:10.1007/s13679-015-0169-4
- Williams, P. J., Arkwright, P. D., Rudd, P., Scragg, I. G., Edge, C. J., Wormald, M. R., & Rademacher, T. W. (1995). Short communication: selective placental transport of maternal IgG to the fetus. *Placenta*, *16*(8), 749-756. doi:10.1016/0143-4004(95)90018-7
- Wilson, R. M., & Messaoudi, I. (2015). The impact of maternal obesity during pregnancy on offspring immunity. *Mol Cell Endocrinol*, *418 Pt 2*, 134-142. doi:10.1016/j.mce.2015.07.028
- Wisikin, A. E., Davies, J. H., Wootton, S. A., & Beattie, R. M. (2011). Energy expenditure, nutrition and growth. *Arch Dis Child*, *96*(6), 567-572. doi:10.1136/adc.2009.158303

- Wolf, M. J., Wolf, B., Bijleveld, C., Beunen, G., & Casaer, P. (1997). Neurodevelopmental outcome in babies with a low Apgar score from Zimbabwe. *Dev Med Child Neurol*, 39(12), 821-826. doi:10.1111/j.1469-8749.1997.tb07550.x
- Wolff, F., Jung, K., & Bolte, A. (1982). [Incidence and causes of fetal and neonatal macrosomy]. *Geburtshilfe Frauenheilkd*, 42(11), 803-809. doi:10.1055/s-2008-1037163
- Woof, J. M., & Kerr, M. A. (2006). The function of immunoglobulin A in immunity. *J Pathol*, 208(2), 270-282. doi:10.1002/path.1877
- Wu, J., Bostrom, P., Sparks, L. M., Ye, L., Choi, J. H., Giang, A. H., . . . Spiegelman, B. M. (2012). Beige adipocytes are a distinct type of thermogenic fat cell in mouse and human. *Cell*, 150(2), 366-376. doi:10.1016/j.cell.2012.05.016
- Wu, J., Cohen, P., & Spiegelman, B. M. (2013). Adaptive thermogenesis in adipocytes: is beige the new brown? *Genes Dev*, 27(3), 234-250. doi:10.1101/gad.211649.112
- Yogev, Y., & Visser, G. H. (2009). Obesity, gestational diabetes and pregnancy outcome. *Semin Fetal Neonatal Med*, 14(2), 77-84. doi:10.1016/j.siny.2008.09.002
- Yona, S., & Jung, S. (2010). Monocytes: subsets, origins, fates and functions. *Curr Opin Hematol*, 17(1), 53-59. doi:10.1097/MOH.0b013e3283324f80
- Yoon, J., Um, H. N., Jang, J., Bae, Y. A., Park, W. J., Kim, H. J., . . . Jung, Y. (2019). Eosinophil Activation by Toll-Like Receptor 4 Ligands Regulates Macrophage Polarization. *Front Cell Dev Biol*, 7, 329. doi:10.3389/fcell.2019.00329
- Zarkesh-Esfahani, H., Pockley, A. G., Wu, Z., Hellewell, P. G., Weetman, A. P., & Ross, R. J. (2004). Leptin indirectly activates human neutrophils via induction of TNF-alpha. *J Immunol*, 172(3), 1809-1814. doi:10.4049/jimmunol.172.3.1809
- Zheng, C., Yang, Q., Xu, C., Shou, P., Cao, J., Jiang, M., . . . Wang, Y. (2015). CD11b regulates obesity-induced insulin resistance via limiting alternative activation and proliferation of adipose tissue macrophages. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 112(52), E7239-7248. doi:10.1073/pnas.1500396113
- Zhu, X., Hamann, K. J., Munoz, N. M., Rubio, N., Mayer, D., Hernreiter, A., & Leff, A. R. (1998). Intracellular expression of Fc gamma RIII (CD16) and its mobilization by chemoattractants in human eosinophils. *J Immunol*, 161(5), 2574-2579.