



UAEM

Universidad Autónoma
del Estado de México



FACULTAD DE QUÍMICA

ASOCIACIÓN DE POLIMORFISMOS DE OBESIDAD LEP (-2548 G>A), LEPR (-GLN223ARG) Y ADIPOQ (+276 G/T) EN LA RESPUESTA DE ANTICUERPOS IgG A LA VACUNA CONTRA SARS-COV-2 EN MUJERES MAYORES DE 60 AÑOS.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIATURA EN QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA

PRESENTA

DIANA ELIZABETH BENITEZ ALVAREZ

DIRECTOR

DR. EN C. JONNATHAN GUADALUPE SANTILLÁN BENÍTEZ

TOLUCA, ESTADO DE MÉXICO

MARZO DE 2022

ÍNDICE

Índice de tablas.....	4
Índice de figuras.....	4
Índice de gráficos.....	4
Abreviaturas.....	5
1. Resumen	5
2. Marco teórico.....	8
2.1 Epidemiología.....	8
2.2 Antecedentes.....	14
2.3 Características de SARS COV-2: biología y genoma	17
2.3.1 Fisiopatología de la COVID-19.....	19
2.3.2 Inmunidad.....	20
2.4 Anticuerpos contra SARS-CoV-2	23
2.4.1 Vacuna ARNm BNT162b2 de Pfizer-BioNTech contra SARS-CoV-2	25
2.4.2 Proteína N de SARS-CoV-2	27
2.4.3 Variantes virales del SARS CoV-2: El caso de la variante Delta	28
2.5 Obesidad	30
2.5.1 Relación entre obesidad y COVID-19: el papel de la leptina y la adiponectina	31
2.5.2 Polimorfismos LEP (-2548 G>A), LEPR (-GLN223ARG) Y ADIPOQ (+276 G/T)	35
3. Justificación	38
4. Hipótesis.....	39
5. Objetivo General.....	40
6. Objetivos Específicos	40
7. Metodología.....	40
7.1 Diseño de estudio.....	40
7.2 Población de estudio, criterios de inclusión, exclusión y eliminación.....	40
7.3 Materiales y métodos	41
7.4 Tamaño de muestra	46
7.5 Diseño estadístico	47
8. Consideraciones éticas.....	49
9. Resultados.....	49
10. Discusión.....	58
11. Conclusiones.....	62
12. Perspectivas y recomendaciones	63
13. Referencias	64
14. Anexos	64
Anexo 1. Carta de Consentimiento Informado	65

Anexo 2. Cuestionario	66
Anexo 3. ELISA IgG anti-N.....	68
Anexo 4. Pruebas de normalidad	69
Anexo 5. Comparación entre dos medias	69
Anexo 6. Correlación multivariable.....	75
Anexo 7. Regresión lineal	77

Índice de tablas

Tabla 1 Porcentaje de las principales comorbilidades asociadas a casos confirmados y defunciones por COVID-19 en los municipios de Metepec y Toluca.....	12
Tabla 2 Características de la vacuna BNT162b2 de Pfizer-BioNTech contra SARS-CoV-2.....	26
Tabla 3 Clasificación de obesidad por IMC y circunferencia en adultos	31
Tabla 4 Directrices de medición UV para el análisis de ARN	44
Tabla 5 Oligonucleótidos y condiciones de la PCR de punto final.	45
Tabla 6 Caracterización de las voluntarias del estudio	50
Tabla 7 Características clínicas de las voluntarias: Biometría hemática y química sanguínea de 6 elementos	52
Tabla 8 Valor p en analitos de interés en relación a la clasificación del IMC	¡Error! Marcador no definido.
Tabla 9.....	54
Tabla 10 Valor p en concentración de anticuerpos IgG anti-N y días desde la vacunación, en relación a la clasificación del IMC.	¡Error! Marcador no definido.
Tabla 11 Principales correlaciones estadísticamente significativas, clasificadas por IMC.	55

Índice de figuras

Fig. 1 Eficacia de la vacuna Pfizer-BioNTech (BNT162b2) respecto a las variantes de preocupación (VOC).....	¡Error! Marcador no definido.
Fig. 2 Diagrama esquemático de la organización genómica de SARS-CoV.2	17
Fig. 3 Ciclo replicativo del SARS-CoV-2.....	18
Fig. 4 Relación temporal entre la carga viral, los síntomas y la positividad en las pruebas diagnósticas.....	21
Fig. 5 Respuesta inmune protectora contra el SARS-CoV-2.....	23
Fig. 6 Respuesta inmunitaria de las vacunas basadas en ARN m.....	27
Fig. 7 Estructura del SARS-CoV-2	28
Fig. 8 Propiedades de las Variantes Actuales de Preocupación.	29
Fig. 9 Mecanismos en pacientes obesos durante la infección por SARS-CoV-2.	32
Fig. 10 Relación entre la infección viral y la función de la leptina en obesidad.....	34
Fig. 11 Estructura y organización del gen de la leptina (LEP).....	36
Fig. 12 Estructura y organización propuestas del gen del receptor de leptina (LEPR). 37	
Fig. 13 Estructura y organización del gen adiponectina (ADIPOQ).....	37
Fig. 14 Protocolo ELISA del kit Human Anti-2019 nCoV(N) IgG (Fine Tech Co)	42
Fig. 15 Protocolo del kit QIAamp® DSP Virus Spin (QIAGEN)	44
Fig. 16 Protocolo RT-PCR.....	45
Fig. 17 Tamaño de muestra para adultos vacunados en los municipios de Toluca y Metepec.....	47

Índice de gráficos

Gráfica 1 Casos positivos y defunciones confirmadas nacionales.	9
Gráfica 2 Defunciones confirmadas y sospechosas a nivel nacional.	9
Gráfica 3 Variantes de SARS-CoV-2 identificadas hasta el 13 de octubre de 2021 en el Estado de México.	10
Gráfica 4 Distribución de casos en adultos mayores.....	11
Gráfica 5 Distribución de defunciones en adultos mayores de 60 años.....	11
Gráfica 6 Distribución de defunciones en adultos mayores.....	12

Gráfica 7 ESAVI grave y no grave por grupo de edad y sexo.....	13
Gráfica 8 Distribución de la edad de acuerdo al IMC	50
Gráfica 9 Distribución de la edad de los participantes....	¡Error! Marcador no definido.
Gráfica 10 Seguimiento a los 3 y 4 meses de la evaluación de anticuerpos IgG específicos de Nucleocápside en muestras de suero de mujeres mayores de 60 años.	54
Gráfica 11 Evaluación de anticuerpos IgG específicos de Nucleocápside en muestras de suero de acuerdo al IMC de los pacientes, en comparación con los días desde la vacunación.....	55

Abreviaturas

SARS COV-2: Coronavirus de tipo 2 causante del síndrome respiratorio agudo severo

COVID-19: Enfermedad por coronavirus 2019 (Coronavirus disease 2019)

ELISA: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima

IgG: Inmunoglobulina G

Ab: Anticuerpo

Ag: Antígeno

ARNm: Ácido Ribonucleico mensajero

N: proteína de la nucleocápside

S: Proteína estructural spike, de pico, espiga

IMC: Índice de Masa Corporal

SNP: Polimorfismo de un solo nucleótido

LEP: Leptina

LEPR: Receptor de leptina

ADIPOQ: Adiponectina

1. Resumen

Introducción

En México, un grupo de alto riesgo en desarrollar COVID-19 grave es el de adultos mayores de 60 años con obesidad, la comorbilidad más común en defunciones, debido a que se han demostrado asociaciones con la desregulación inmune e inmunosenescencia, que pueden afectar la inmunidad inducida por la vacunación, siendo las mujeres posmenopáusicas las que presentan un mayor porcentaje de masa adiposa como consecuencia de la disminución de la secreción de estrógenos. Además, se desconoce si hay un vínculo entre la

presencia de polimorfismos de un solo nucleótido relacionados con la leptina y su receptor y la adiponectina, citocinas derivadas del tejido adiposo con funciones en la regulación inmune, en la población mexiquense que puedan influir en función inmunológica tras la vacunación en mujeres con sobrepeso y obesidad de edad avanzada.

Objetivo

Evaluar la IgG producida contra SARS-CoV-2 y su correlación con polimorfismos de genes asociados con la obesidad en mujeres vacunadas mayores de 60 años.

Material y métodos

Estudio longitudinal prospectivo en el que se analizaron 30 voluntarias para la detección de IgG humana específica de nucleocápside del SARS-CoV-2 mediante ELISA, al tercer y cuarto mes de haber recibido dos dosis con la vacuna BNT162b2 de Pfizer-BioNTech. Se correlaciono con la DO IgG anti-N con las comorbilidades, características de las participantes (obtenidas mediante un cuestionario) y clínicas, que incluyeron la biometría hemática y química sanguínea de seis elementos; determinando si existe un valor de $p < 0.05$ estadísticamente significativo entre peso normal, sobrepeso y obesidad. Se empleó una regresión lineal entre IMC y concentración de anticuerpos IgG. Se obtuvo ARN y se implementó para su ejecución la identificación de SNP's para una segunda fase del proyecto. El análisis estadístico se realizó en SPSS versión 21,0 y Microsoft Excel, utilizando las pruebas estadísticas correspondientes a la distribución de los datos.

Resultados

La respuesta serológica de anticuerpos IgG anti-N fue positiva para el 96,66 % de los pacientes en el tercer mes y del 93,33% en el cuarto mes. Se clasificó el IMC de acuerdo a la OMS, obtenido un 10% con peso normal, 53,3% con sobrepeso y 36,7% con obesidad. Solo se encontró diferencias significativas de acuerdo al IMC en los valores de triglicéridos y colesterol. Se asocio de forma positiva el IMC con la concentración de IgG ($r=0,377$, $p=0,040$) y de forma negativa con el tiempo (tercer mes $r=-0,455$, $p=0,012$; cuarto mes $r=-0,364$, $p=0,048$), se presenta una significancia de 0.040 en la correlación lineal entre la densidad óptica de IgG y el IMC. Se observaron correlaciones significativas con

IgG anti-N para enfermedad respiratoria ($r=0,414$ $p=0,023$), Covid-19 ($r=0,450$ $p=0,013$) y número de comorbilidades ($r=0,405$ $p=0,026$).

Conclusiones

Se detectaron altas tasas de seropositividad debido a infección natural de tipo asintomática por SARS-CoV-2 en mujeres mayores de 60 años con sobrepeso y obesidad vacunadas con BNT162b2, acercándonos a la transición endémica del virus, aunque la respuesta humoral podría no ser un indicador de inmunidad protectora.

2. Introducción

La identificación en humanos del virus SARS-COV-2 en diciembre de 2019 en Wuhan, China, que provoca la enfermedad Covid-19 escaló rápidamente y fue declarada pandemia global el 11 de marzo de 2020 por la Organización Mundial de la Salud. esto movilizó a los científicos de todo el mundo en la comprensión de este agente infeccioso y la búsqueda terapias y vacunas, para reducir las infecciones, hospitalización y muerte por Covid-19. Encontrando diferencias en el comportamiento del SARS-COV-2 en las subpoblaciones, debido a la variabilidad ambiental, genética, social y biológica, principalmente en la respuesta inmune, por lo que se necesita promoción de estudios regionales para guiar la toma de decisiones gubernamentales que beneficien a las poblaciones vulnerables y se enfoquen en los principales grupos de riesgo.

En México, un grupo de alto riesgo en desarrollar COVID-19 grave es el de adultos mayores de 60 años con obesidad, la comorbilidad más común en defunciones, debido a que se han demostrado asociaciones con la desregulación inmune e inmunosenescencia, en particular en la respuesta humoral IgG puede verse alterada tras la vacunación, siendo las mujeres posmenopáusicas las que presentan un mayor porcentaje de masa adiposa como consecuencia de la disminución de la secreción de estrógenos.

Se desconoce si hay un vínculo entre la presencia de polimorfismos de un solo nucleótido relacionados con la leptina y su receptor y la adiponectina, citocinas derivadas del tejido adiposo con funciones en la regulación inmune, en la población mexiquense que puedan influir en función inmunológica tras la vacunación en mujeres con sobrepeso y obesidad de edad avanzada.

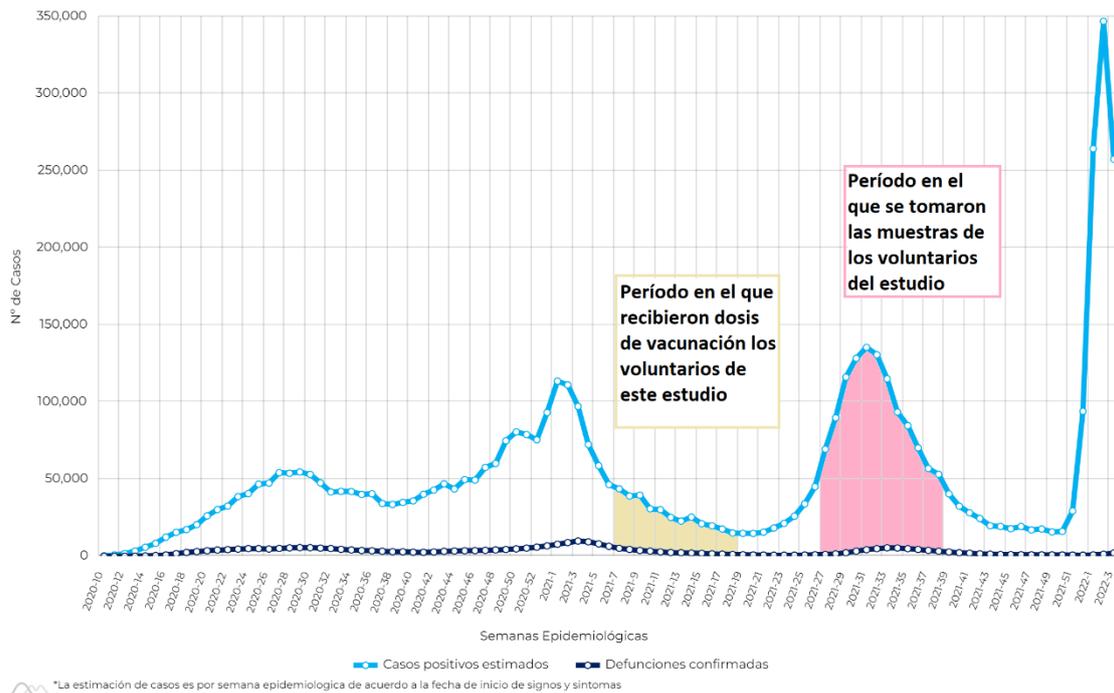
Por lo tanto, la comprensión del estado inmune humoral de las subpoblaciones identificando sus factores de riesgo específicos, considerando su caracterización y clínica, en entornos no controlados, nos dan información sobre la efectividad de las medidas preventivas de salud, la efectividad de las vacunas y terapias, así como el estado epidemiológico, permitiendo reevaluar las estrategias implementadas y plantear nuevas áreas de oportunidad en la lucha contra el SARS-COV-2.

3. Marco teórico

2.1 Epidemiología

El SARS-CoV-2 es un virus en constante evolución que se dispersó rápidamente por todo el mundo, es por ello que el seguimiento epidemiológico es clave para la toma de decisiones tanto para los sistemas de salud como para el gobierno. En un estudio con más de 70.000 casos de la COVID-19 81% presenta un cuadro leve, 14% de los casos infecciosos progresan a cuadros graves (neumonía con hipoxemia, que requiere hospitalización) y el 5% se vuelven críticos (insuficiencia respiratoria que requiere ventilación mecánica, shock o falla multiorgánica)¹. Por lo tanto, se estima que COVID-19 tiene una letalidad general de 2,3%, y de 49% entre los casos críticos. A nivel mundial se informa, hasta febrero de 2022, 383.980.71 casos confirmados y 5.696.881 defunciones por esta enfermedad². En México, el primer caso de SARS-CoV-2 se notificó el 27 de febrero de 2020 en la Ciudad de México y desde entonces se ha extendido a todo el país. Los datos epidemiológicos se encuentran en el sitio web oficial de la Secretaría de Salud Federal (SSA) de México a través de la Dirección General de Epidemiología y son analizados por el Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica (InDRE). Hasta el día de hoy 2 de febrero de 2021 se reportan 4.985.689 casos confirmados, incluyendo 306.920 defunciones; para ambos casos la población afectada es principalmente del sexo masculino³.

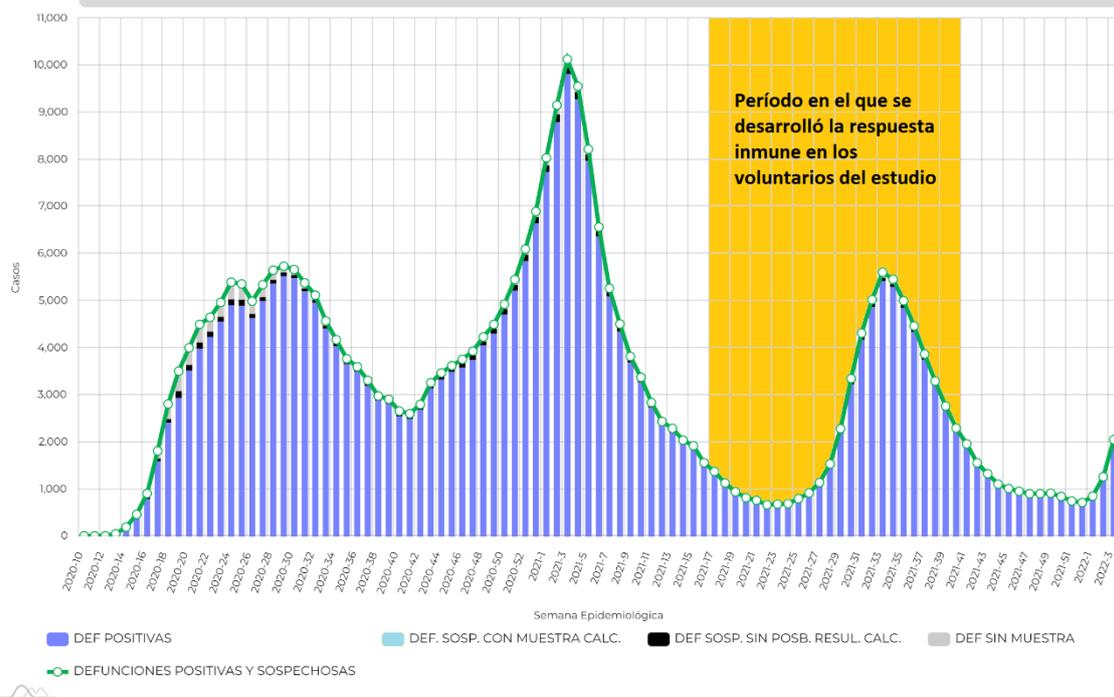
Casos positivos estimados y defunciones confirmadas nacional



Gráfica 1 Casos positivos y defunciones confirmadas nacionales.

Indicando el periodo en el que recibieron dosis de vacunación y toma de muestras de los voluntarios de este estudio, el cual coincide con el inicio de la oleada por la variante Delta. (Tomada y modificada del Sitio oficial COVID-19 México Dirección General de Epidemiología - Gobierno Federal <https://covid19.sinave.gob.mx/>)

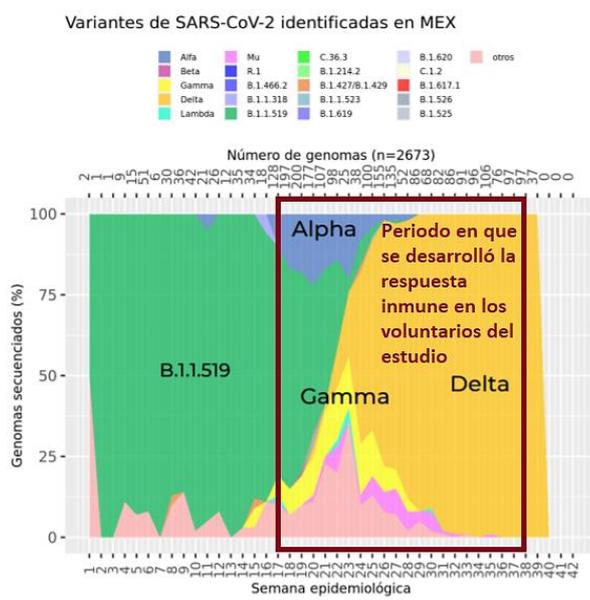
Defunciones confirmadas y sospechosas por semana epidemiológica de ocurrencia nacional



Gráfica 2 Defunciones confirmadas y sospechosas a nivel nacional.

Se indican las semanas epidemiológicas en las que se desarrolló la respuesta inmune de los voluntarios del presente trabajo. (Tomada y modificada del Sitio oficial COVID-19 México Dirección General de

El estado de México fue la segunda entidad federativa más afectada por SARS-CoV-2 del territorio mexicano, especialmente el área del Valle de Toluca, que hasta el día 25 de enero de 2022 registra un total de 49,938 casos confirmados que representa un 11.11% del total de casos confirmados a nivel estatal y 6603 defunciones que representan el 19.83% del total de muertes en el territorio mexiquense. La mayor tasa de incidencia se registra en el grupo de edad de 35-39 años (11.77%), la tasa de letalidad más alta en el grupo de 60-64 años (13.10%), y la mayor tasa de hospitalizados en el grupo de 55-59 años (2.62%)⁴.



Gráfica 3 Variantes de SARS-CoV-2 identificadas hasta el 13 de octubre de 2021 en el Estado de México.

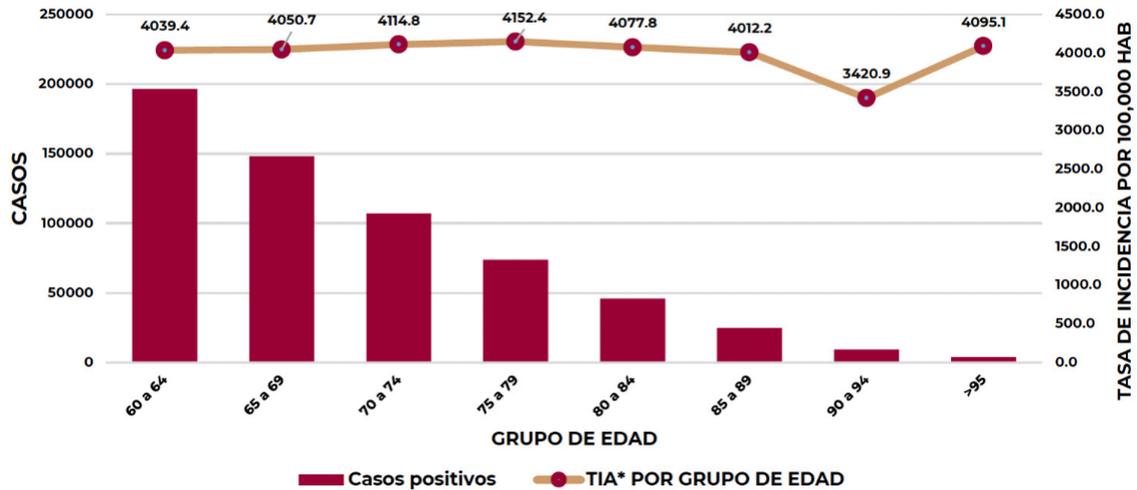
El recuadro de color vino indica que las variantes predominantes en el periodo en que se desarrolló la respuesta inmune en los voluntarios del presente estudio, fueron las variantes de preocupación (VOC) Delta, alfa y gamma en este orden. Además, se informa que a partir de la semana epidemiológica 33, Delta se encontraba en el 99% de las secuencias obtenidas. (Tomada y modificada del Reporte de vigilancia genómica del virus SARS-CoV-2 en México. <https://www.who.int/es/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants>)

Pertenecer al grupo etario de mayores de 60 años es un factor de riesgo, debido a su predisposición de adquirir comorbilidades como enfermedad cardiovascular, diabetes, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), hipertensión, cáncer producto del deterioro del sistema inmune, inmunosenescencia, que lleva al cuerpo a un estado de estrés proinflamatorio crónico por la producción masiva de citocinas / quimiocinas^{5,6}.

Se informan 609,077 casos confirmados a COVID-19 en adultos mayores, de los cuales el 64,454 (10,58%) pertenece a mayores de 60 años mexiquenses. Se registran 180,777 defunciones, el Estado de México comprende el 0.51% del

total de muertes, que se asocian principalmente a la presencia de comorbilidades⁷.

Distribución de casos en adultos mayores confirmados acumulados por grupo de edad y tasa de incidencia.

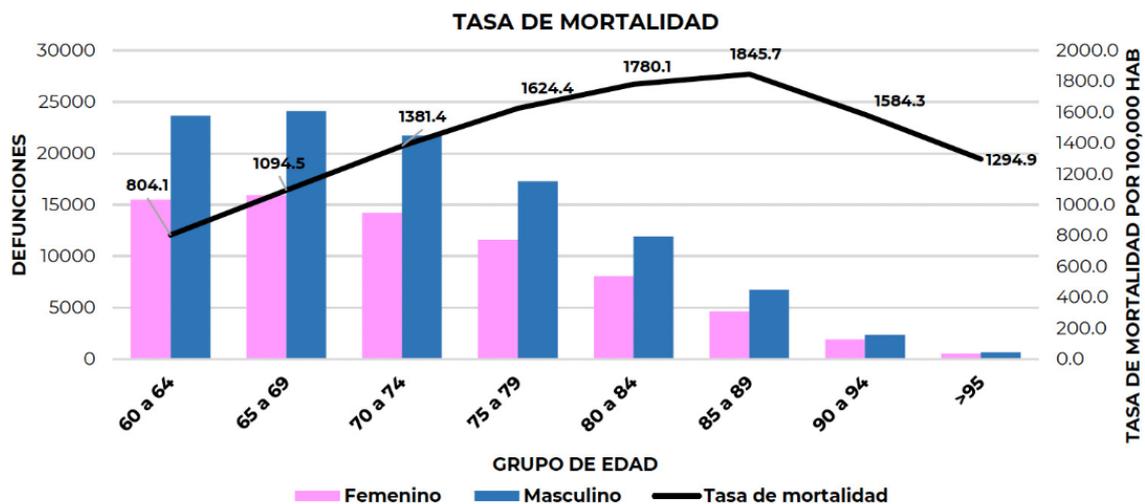


Fuente: SSA/SPPS/DGE/DIE/InDRE/Informe. COVID-19/México- 20 de noviembre de 2021 (corte 9:00hrs).

Gráfica 4 Distribución de casos en adultos mayores.

El grupo etario con más casos es el de 60 a 64 años y el que presenta una mayor tasa de incidencia es el de 70 a 74 años. (Tomado de: Informe Integral de Covid-19 En México. (2021). Retrieved February 2, 2022, from www.gob.mx/salud)

Distribución de defunciones confirmadas acumuladas en casos de adultos mayores por género, grupo de edad y tasa de mortalidad.

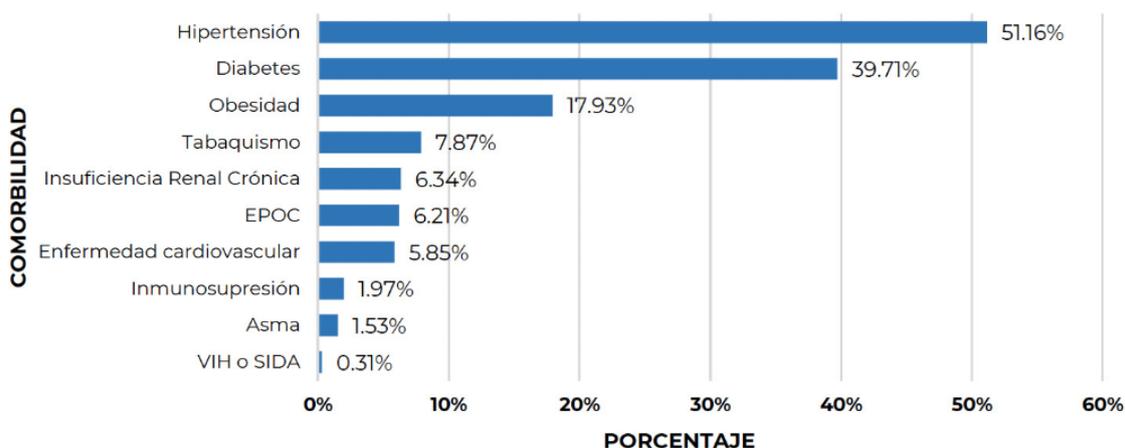


Fuente: SSA/SPPS/DGE/DIE/InDRE/Informe. COVID-19/México- 20 de noviembre de 2021 (corte 9:00hrs).

Gráfica 5 Distribución de defunciones en adultos mayores de 60 años.

El grupo de 65 a 69 años presenta más muertes, pero es el grupo de 85 a 89 años el que presenta la tasa de mortalidad más alta. (Tomado de: Informe Integral de Covid-19 En México. (2021). Retrieved February

Distribución de defunciones confirmadas acumuladas en casos de adultos mayores por frecuencia de comorbilidad.



Fuente: SSA/SPPS/DGE/DIE/InDRE/Informe. COVID-19 /México- 20 de noviembre de 2021 (corte 9:00hrs).

Gráfica 6 Distribución de defunciones por comorbilidad en adultos mayores.

Las principales comorbilidades asociadas son hipertensión en el 51.16%, diabetes en el 39,71% y obesidad en el 17,93% de los fallecidos por COVID-19. (Tomado de: Informe Integral de Covid-19 En México. (2021). Retrieved February 2, 2022, from www.gob.mx/salud)

Los municipios que registran más casos son Toluca 24716 (49.49%) y Metepec 5782 (11.58%), al igual que defunciones 2646 (40.07%) y 687 (10.40%) respectivamente; en los cuales se llevó a cabo el presente estudio. Reportando como comorbilidades asociadas hipertensión, diabetes y obesidad⁴. De acuerdo con el CDC, entre los pacientes que tienen alguna comorbilidad, la hospitalización fue 6 veces mayor y la mortalidad se incrementó 12 veces que en aquellos que no tienen comorbilidades⁸.

Tabla 1 Porcentaje de las principales comorbilidades asociadas a casos confirmados y defunciones por COVID-19 en los municipios de Metepec y Toluca

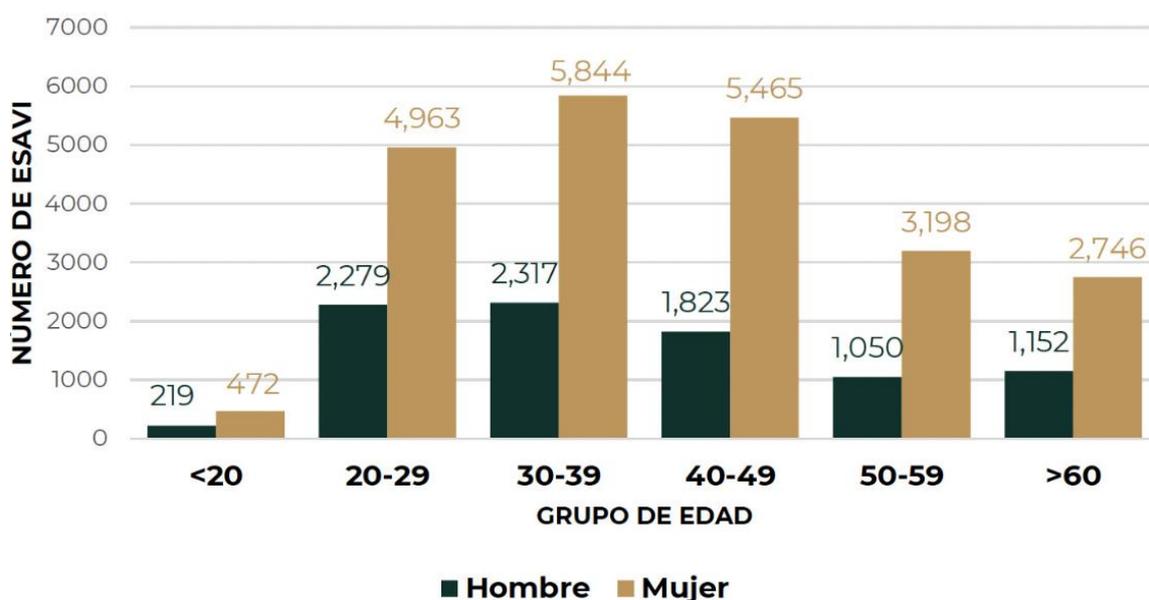
(Datos tomados de: Estadísticas COVID-19 | Centro Estatal de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades. (2021). Retrieved February 2, 2022, from https://salud.edomex.gob.mx/cevece/estadisticas_covid19)

Municipio	METEPEC		TOLUCA	
	Casos confirmados	Defunciones	Casos confirmados	Defunciones
Principales comorbilidades				
Hipertensión	13.00%	39.51%	12.51%	34.01%
Diabetes	11.34%	36.90%	10.27%	32.02%
Obesidad	9.56%	14.68%	9.18%	13.23%

En cuanto al avance en la campaña nacional de vacunación contra SARS-CoV-2, a la fecha, 2 febrero de 2022, se han aplicado en el país 166.102.210 dosis; de 7 tipos diferentes de vacunas aprobadas por COFEPRIS⁹. En marzo de 2021 se comenzó la vacunación de adultos mayores de 60 años en el Estado de México, en los municipios de Toluca y Metepec se reportan 94,105 adultos mayores de 60 años con esquema de inmunización completo (2 dosis) con la vacuna basada en ARm, Pfizer-BioNTech (BNT162b2)¹⁰.

Hasta la semana epidemiológica número 46 de 2021, se han registrado un total de 31,528 Eventos Supuestamente Atribuibles a la Vacunación o Inmunización (ESAVI). De los cuales el 97.4% fueron eventos no graves, presentándose más comúnmente en mujeres que hombres. El Estado de México fue el tercer estado con más casos no graves, aunque no así para casos graves. La vacuna con más registros de ESAVI no graves, es Pfizer/BioNTech que corresponde al 58.4 %, en el Estado de México se registran 144 ESAVI graves y 1327 no graves por esta vacuna. Estos datos son esperados y, por tanto, la vacunación en la población mexicana es segura⁹.

ESAVI grave y no grave por grupo de edad y sexo.



Fuente: SSA/DGE/DVEET/SVE ESAVI/ Base de datos ESAVI. Corte a la semana epidemiológica 46

Gráfica 7 ESAVI grave y no grave por grupo de edad y sexo.

(Tomado de: Informe Integral de Covid-19 En México. (2021). Retrieved February 2, 2022, from www.gob.mx/salud)

Desde 1975, la obesidad se ha casi triplicado en todo el mundo, relacionándose con morbilidad y la mortalidad prematura. México es el segundo país con mayor prevalencia de obesidad. En la población adulta mexicana cerca de 8 de cada 10 personas de 20 años o más de edad presenta sobrepeso (39.1%) y obesidad (36.1%)¹¹. En el caso de los adultos mayores de 50 años, 45% tiene sobrepeso y el 23% obesidad. Las mujeres son están más predispuesta a tener obesidad que los hombres y, en general, tienen un Índice de Masa Corporal (IMC) más alto¹².

La obesidad es un factor de riesgo para la enfermedad grave y de mal pronóstico para COVID-19; debido a los mecanismos de atenuación de la actividad del sistema inmunológico, con las la inflamación crónica y su relación con las principales comorbilidades asociadas. Los adultos obesos mexicanos tienen 3 veces más probabilidad de desarrollar diabetes. Además, se relaciona con enfermedades metabólicas, cardiovasculares, enfermedades autoinmunes, osteoartritis, hipertensión, dislipidemia y algunos tipos de cáncer (mama, endometrio, colorrectal y pancreático) ¹³.

2.2 Antecedentes

Los coronavirus son un grupo de virus de ARN monocatenario, cuya procedencia en humanos se remonta a los años 60 y se han convertido en un problema de salud pública¹⁴. Se han identificado siete especies de coronavirus emergentes zoonóticos responsables de infecciones en humanos del género betacoronavirus. Cuatro que causan resfriados comunes OC43, HKU1, 229E y NL6, y tres responsables de enfermedades graves que corresponden al 2002 por el coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV), en 2012 por el coronavirus del síndrome respiratorio del Medio Oriente (MERS-CoV) y al actual SARS-COV-2, que causan desde un resfriado común a cuadros graves por síndrome respiratorio^{15,16,17}. El primer brote por SARS-CoV-2 se registró en diciembre de 2019 en la ciudad de Wuhan en China, caracterizado por neumonía viral atípica¹⁸. A diferencia de sus predecesores es altamente transmisible lo que lo llevó a una rápida y alta dispersión por todo el mundo. La OMS declaró situación de pandemia el 11 de marzo de 2020. El padecimiento causado por la infección de SARS-CoV-2 es denominado enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19)¹⁹. A nivel mundial se informa, hasta febrero de 2022, 383.980.71

casos confirmados y 5.696.881 defunciones por esta enfermedad, con una tasa de letalidad del 2,3%²⁰. En México debido a la rápida evolución de casos confirmados y las muertes por la enfermedad, el 30 de marzo de 2020 se decretó una emergencia de salud nacional, que contempla suspensión de actividades no esenciales, así como la Jornada Nacional de Sana Distancia, uso de cubrebocas, medidas de sanitización, pruebas diagnósticas y seguimiento epidemiológico; en base a un código por colores que corresponde al semáforo epidemiológico²¹.

La dinámica de transmisión es por medio de gotículas y aerosoles de persona a persona de forma directa al toser, hablar, cantar, respirar de pacientes infectados ya sea sintomáticos o asintomáticos. Se pueden presentar 4 cursos de la infección por SARS-CoV-2: asintomática, leve, moderada (requiere hospitalización) y grave (se presenta SARS, falla multiorgánica, neumonía grave). Asimismo, varias características individuales están asociadas con una mayor incidencia de enfermedad grave por COVID-19, como la edad avanzada, inmunosupresión, embarazo avanzado; y comorbilidades, tales como hipertensión, diabetes, obesidad, tabaquismo, EPOC, enfermedades crónicas, cardiovasculares, pulmonares, renales, hepáticas y neurológicas.²²

El 15 de abril de 2020, los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC, por sus siglas en inglés), recomendaron que los adultos mayores y la obesidad con un IMC de 40, podría tener un mayor riesgo de complicaciones y enfermedades graves por COVID-19²³, debido a su relación con una función inmunológica deteriorada, lo que afecta la inmunopatogénesis, y disminuye la capacidad de reserva pulmonar dificultando la ventilación. En México la segunda comorbilidad asociada a un mayor riesgo de enfermedad grave por COVID-19 es la obesidad.

Diversos estudios muestran que el riesgo por hospitalización, ingreso a la unidad de cuidados intensivos, requerimientos de ventilación y muerte son mayores con el aumento del IMC^{24,25}. La leptina y adiponectina, hormonas y citocinas derivadas de los adipocitos relacionadas con obesidad, vinculan el metabolismo con la inmunidad y modulan la inflamación pulmonar²⁶. Adicionalmente, los factores genéticos individuales y de la población son determinantes en el curso de la enfermedad como lo son los polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) de leptina y adiponectina como LEP (-2548 G>A), LEPR (-GLN233ARG) y

ADIPOQ (+276 G/T). Se ha documentado que estos SNPs parecen influir en la inmunogenicidad deteriorada (disminución de la respuesta de anticuerpos) en la hepatitis B, el toxoide tetánico y las vacunas contra la influenza²⁷. Recientemente se observó una fuerte correlación de las clases de IMC con los títulos de anticuerpos, la respuesta humoral fue más eficiente en el grupo con IMC normal frente al grupo con sobrepeso y obesidad ($p < 0,0001$)²⁸.

Desde febrero de 2020 comenzaron los esfuerzos para producir una vacuna contra SARS-CoV-2. El 10 de diciembre de 2020 se aprueba, en tiempo récord, para su uso en la población de la vacuna BNT162b2 de Pfizer-BioNTech, la cual hasta ahora ha demostrado una eficacia general del 95% y del 94% en el grupo de alto riesgo de 65 a 85 años²⁹. La vacuna desarrollada por Pfizer-BioNTech está basada en ARNm, cuyo desarrollo se remonta hace más de 30 años y ahora son las primeras en ser administradas en humanos, mismas que han resultado ser altamente seguras, eficaces y rentables; tanto en ensayos clínicos como en el resto de la población.³⁰

El 24 de diciembre de 2020 inició la vacunación en México, con siete vacunas, de acuerdo a la estrategia operativa de la Política nacional de vacunación contra la COVID-19, enfocado en grupos prioritarios. Se ha documentado que las vacunas contra el SARS-CoV-2 reducen la transmisión en el hogar³¹ y en las comunidades³². La principal función de la vacunación es limitar la diseminación viral en el hospedado; es decir, acortar el desarrollo de una enfermedad grave, lo que reduce la hospitalización, la muerte y la capacidad de transmitir el virus a otras personas; hasta lograr su transición a la endemidad, es decir, que patrón pandémico disminuye gradualmente produciendo enfermedad más leve debido a las múltiples exposiciones a través de dosis de vacuna y / o una o más exposiciones a virus^{33,34,35}.

Sin embargo, han surgido variantes de la preocupación del virus responsable de la COVID-19, con mutaciones en la proteína Spike, que lo hacen más resistente a las vacunas. Tal es el caso de la variante Delta, detectada por primera vez en octubre de 2020 en la India y en mayo de 2021 en México. Para el 17 de julio era responsable de 65% de los casos de Covid-19, desplazando a las demás variantes y es responsable de la tercera ola de COVID-19 en el país³⁶.

2.3 Características de SARS COV-2: biología y genoma

De acuerdo al análisis filogenético de su genoma, el SARS-CoV-2 pertenece a la familia *Coronaviridae*, género *Betacoronavirus* y el subgénero *Sarbecovirus*.^{5,8} Se encuentran en una gran variedad de huéspedes susceptibles, es decir, que cuentan con el receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2), como el cerdo, hurón, gato, pangolín, conejo, perro³⁷. ACE2 se expresa en todo el cuerpo humano en el revestimiento de las arterias y venas, es particularmente abundante en las células epiteliales alveolares tipo 2, células epiteliales intestinales, células miocárdicas y células renales³⁸. Es un virus de ARN monocatenario de sentido positivo unido a proteínas de la nucleocápside (N) y rodeado por una envoltura lipídica que contiene proteínas estructurales, tiene el genoma viral más grande ,27-32 kb, con un diámetro de 80-160 nm³⁹. Codifica poliproteínas pp1ab, seis proteínas accesorias y cuatro proteínas estructurales⁸.

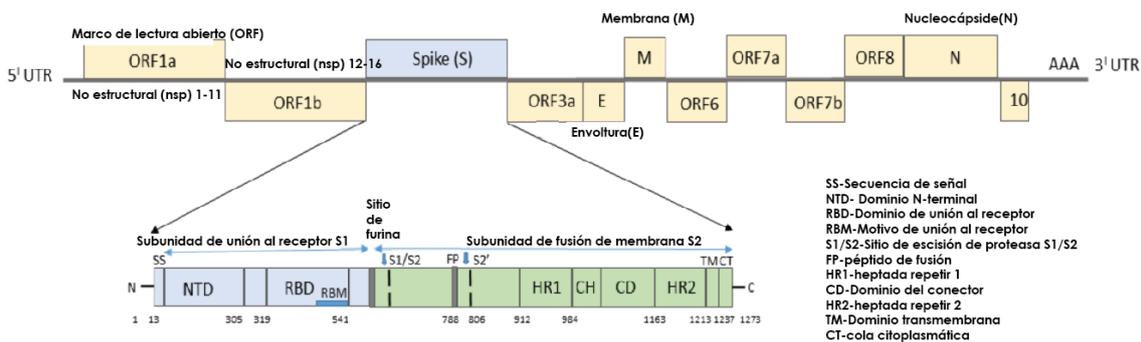


Fig. 1 Diagrama esquemático de la organización genómica de SARS-CoV.2

Comprende el marco de lectura abierto (orf) 1a / b que codifican 16 proteínas no estructurales (nsp) y forman el complejo de replicasa transcriptasa viral, proteínas estructurales que incluyen proteínas de pico (S), envoltura (E), membrana (M) y nucleocápside (N), proteínas accesorias como orf 3a, 6, 7a, 7b, 8 y 10). (Traducción de: Ramesh, S., Govindarajulu, M., Parise, R. S., Neel, L., Shankar, T., Patel, S., Lowery, P., Smith, F., Dhanasekaran, M., & Moore, T. (2021). *Emerging SARS-CoV-2 Variants: A Review of Its Mutations, Its Implications and Vaccine Efficacy*. *Vaccines 2021*, Vol. 9, Page 1195, 9(10), 1195. <https://doi.org/10.3390/VACCINES9101195>)

Durante la replicación, el virus genera un PAMP o patrón molecular asociado a patógeno, como el RNA de doble hebra o dsRNA. Este patrón es reconocido por receptores celulares tipo Toll y desencadena la síntesis de interferón tipo 1 y la respuesta antiviral innata. Sin embargo, el coronavirus produce la ribonucleasa nsp15, que rompe el PAMP, inhibiéndose la síntesis del interferón y, por tanto, la síntesis de citoquinas proinflamatorias⁴⁰.

SARS-CoV-2 tiene una cubierta de trímeros de proteína Spike o pico (S) cuyo dominio de unión a receptor (RBD) se adhiere a la glicoproteína transmembrana

ACE2 del huésped, ocurre un cambio conformacional y escisión proteolítica para formar las subunidades S1 (contiene al RBD) y S2, haciendo uso de la enzima furina, la proteasa serina proteasa 2 transmembrana (TMPRSS2) y catepsina L del huésped, exponiendo los péptidos de fusión, pequeñas cadenas de aminoácidos que permiten la fusión de la membrana viral y la del huésped por endocitosis ^{8,41}.

La furina proteolíticamente activa se expresa abundantemente en células epiteliales bronquiales humanas, es utilizada por otros virus de preocupación; lo

que puede explicar la facilidad del virus para infectar otras células y su permisividad⁴². También, la TMPRSS2 se coexpresa con ACE2 en las células epiteliales nasales, los pulmones y bronquios, que constituyen el tropismo tisular del nuevo virus.^{5,19}

La proteína S hace contactos cercanos adicionales con ACE2, 10 veces más afines que SARS-CoV lo que eleva su infectividad⁴³. es decir, una proteína a la que se unen moléculas de diversos azúcares en sitios específicos y siguiendo un patrón determinado. La proteína pico es una glicoproteína, cuyos azúcares forman un escudo que protege a aproximadamente el 40% de la proteína de la unión de anticuerpos neutralizantes. Tiene diversas funciones, tales como ayudar al plegamiento correcto de la proteína, proteger la proteína viral de las proteasas del hospedador y modular el proceso de entrada del virus en la célula⁴⁴.

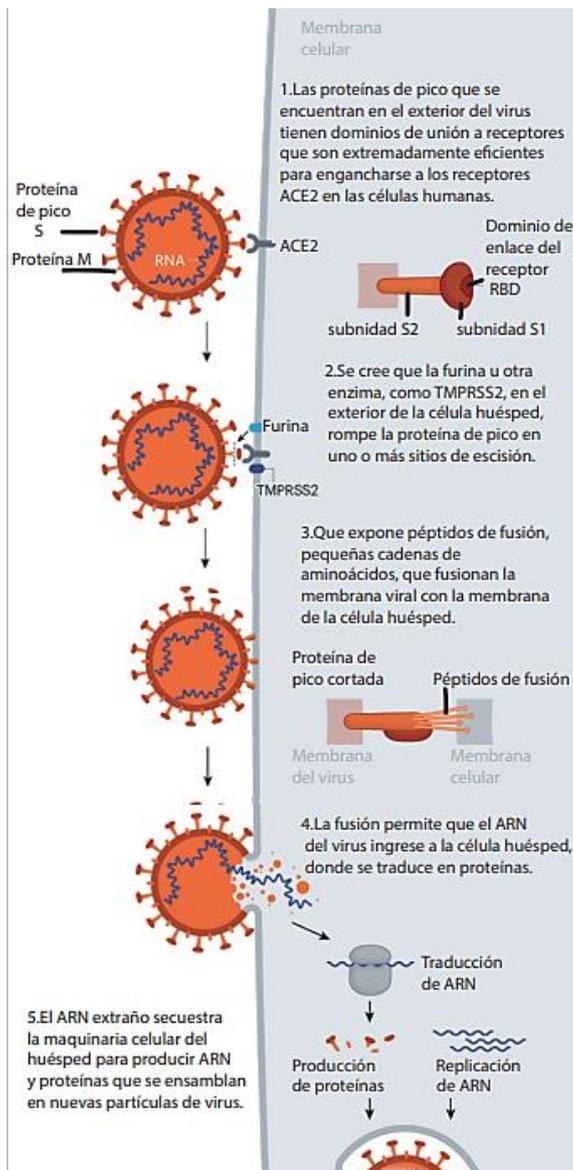


Fig. 2 Ciclo replicativo del SARS-CoV-2

(Traducción de: Cyranoski, D. (2020). Profile of a killer: the complex biology powering the coronavirus pandemic. *Nature*, 581(7806), 22–26. <https://doi.org/10.1038/D41586-020-01315-7>)

son clave para el diseño de vacunas, diagnósticos y terapias⁴⁵.

ACE2 es una metaloproteinasa de 805 aminoácidos, tiene un único dominio catalítico extracelular. Es el péptido activo clave del sistema renina-angiotensina (RAS) o del sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAAS). El SARS-CoV-2 produce el desequilibrio de ACE-2, lo que conduce a inflamación por generación excesiva de angiotensina II, además de, vasoconstricción, la proliferación celular, fuga vascular y fibrosis pulmonar^{46,47}.

Una vez que el virus ingresa a las células, se traduce el genoma del ARN viral en dos poliproteínas para la replicación y proteínas estructurales. Las glicoproteínas de la envoltura se insertan en la membrana del retículo endoplásmico o Golgi, y la nucleocápside se forma mediante la combinación de ARN genómico y proteína de la nucleocápside. Por último, las vesículas que contienen las partículas del virus se fusionan con la membrana plasmática para liberar el virus^{48,49}.

2.3.1 Fisiopatología de la COVID-19

El periodo de incubación de COVID-19 suele estar entre 3 a 7 días, aunque las nuevas variantes delta y ómicron presentan periodos más cortos. La transmisión de la infección de persona a persona ocurre por pequeñas gotículas respiratorias expulsadas por una persona infectada por la boca o la nariz y los aerosoles producto de la respiración o procesos médicos; otras posibles fuentes de transmisión son la difusión aérea y la ruta fecal-oral^{50,51}.

De acuerdo con la CDC los síntomas más frecuentes son fiebre o escalofríos, tos, dolor de garganta, fatiga, dolores musculares o corporales, dolor de cabeza, pérdida del gusto u olfato, congestión o secreción nasal, diarrea y vómitos⁵². Cuando la infección se extiende a los pulmones, se puede presentar neumonía, en casos graves se presenta disnea, falta de aire o dificultad para respirar, shock séptico, coagulación intravascular y fallo multiorgánico⁵³.

Puede infectar órganos cuyas células expresen el receptor, lo que genera algunas de las complicaciones como daño cardíaco, fallo renal, diarrea y enfermedades neurológicas^{31,54}. También se puede producir lesión indirecta por una tormenta inflamatoria inducida por la respuesta inmune a la infección y / o un desequilibrio del suministro de oxígeno⁵⁵.

La patogenia en humanos inicia al unirse SARS-CoV-2 a las células epiteliales de la mucosa del tracto respiratorio, en donde se replica y se extiende a las células epiteliales alveolares de los pulmones, aunque el virus también puede directamente a los pulmones y provocar neumonía sin los síntomas leves. Al igual que virus como SARS-CoV y la influenza, rompe la barrera celular que divide los alveolos de los vasos sanguíneos, lo que impide que el oxígeno llegue a la sangre. Se acentúa la linfopenia y hay una elevación en los niveles de dímero D (indicador de trastornos de la coagulación, que se eleva en las neumonías e inflamación)^{5,29}.

Una respuesta inmune robusta lo resolverá todo en algunos pacientes, pero la reacción exagerada del sistema inmunológico puede empeorar el daño tisular y la inflamación (se elevan los marcadores de inflamación como ferritina), provocando tormenta de citocinas que causa síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) e insuficiencia respiratoria, insuficiencia orgánica múltiple y la muerte. La SDRA es la principal causa de muerte por COVID-19^{4,5,31}.

2.3.2 Inmunidad

La inmunidad innata, la principal línea de defensa, en especial los macrófagos alveolares y las células epiteliales reconoce ciertos componentes virales como el RNA viral, mediante receptores intracelulares tipo Toll (TLR3 y TLR7). Esto activa la liberación de mediadores inflamatorios como citocinas y quimiocinas; e interferones (IFN), moléculas inespecíficas que median la respuesta inflamatoria, aumentan la permeabilidad vascular, reclutan otros componentes del sistema inmunitario y montan la respuesta de fase aguda^{29,56}. La expresión de ACE2 puede aumentar debido a IFN.⁵⁷ Mientras el virus ingresa a las células, su antígeno endógeno es reconocido por células presentadoras de antígeno (CPA), que estimula la inmunidad adaptativa específica e implica complejas interacciones celulares, mecanismos de activación, proliferación y diferenciación de linfocitos T (inmunidad celular) y los linfocitos B (respuesta humoral).

La gravedad y la duración de la COVID-19 depende de los mecanismos de evasión del virus al reconocimiento inmunitario innato y la cinética de la respuesta del sistema inmunitario adaptativo. La enfermedad grave por COVID-19 se correlaciona a inmunopatología pulmonar debida a la hiperactivación de las respuestas inmunitarias innata y adaptativa que induce una tormenta de

citoquinas, provocada por altas cargas virales que desencadenan la tormenta de citocinas y la falta de respuestas oportunas de células T. Los linfocitos T son clave en la activación de células B para producir Abs contra SARS-CoV-2, reclutar células innatas, reparar tejidos y se han asociado con enfermedad grave reducida⁵⁸.

La tormenta de citocinas es una respuesta inmune inflamatoria excesiva, sistémica, mortal e incontrolada que resulta de la liberación de grandes cantidades de citocinas proinflamatorias (IFN- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-18, IL-33, TNF- α , TGF β , etc.) y quimiocinas (CCL2, CCL3, CCL5, CXCL8, CXCL9, CXCL10, etc.) por células efectoras como linfocitos, monocitos, células del endotelio y fibroblastos.^{34,59} Causa daño tisular debido a la disfunción endotelial, vasodilatación y fuga vascular por el reclutamiento de células inmunes, su acumulación en los tejidos infectados y la consecuente liberación de radicales citotóxicos. Además, la función de barrera se ve comprometida lo que lleva a la disfunción microvascular del pulmón y el edema alveolar, limita el intercambio de gases y favorece la coagulación disminuyendo el flujo sanguíneo. Se manifiesta en casos graves por presentar hipoxia y progresiva SDRA.^{29,60,61}

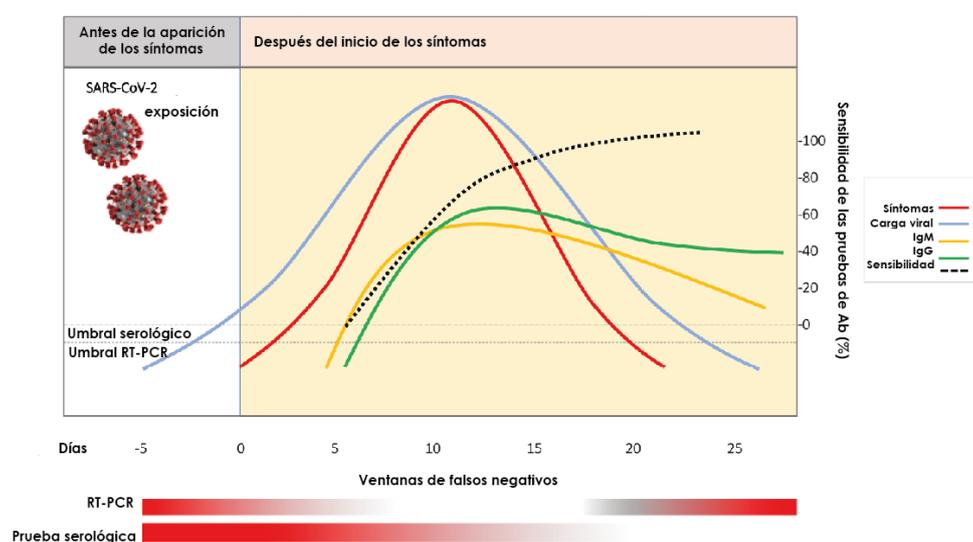


Fig. 3 Relación temporal entre la carga viral, los síntomas y la positividad en las pruebas diagnósticas

El inicio de los síntomas suele ser 5 días después de la infección. En etapa temprana período asintomático o de incubación, la carga viral podría estar por debajo del umbral de RT-PCR y la prueba puede dar resultados falsos negativos, al igual que al final de la enfermedad. La seroconversión puede detectarse desde el día 5-7 después del inicio de los síntomas. (Traducida de: la Marca, A., Capuzzo, M., Paglia, T., Roli, L., Trenti, T., & Nelson, S. M. (2020). Testing for SARS-CoV-2 (COVID-19): a systematic review and clinical guide to molecular and serological in-vitro diagnostic assays. Reproductive BioMedicine Online, 41(3), 483–499. <https://doi.org/10.1016/J.RBMO.2020.06.001>)

De los 14 a 28 días después de la infección se detectará una persona seropositiva para anticuerpos IgG, IgA e IgM específicos para RBD, las proteínas

S y N. IgM e IgA son de corta duración y se revierten a los dos meses del inicio de la enfermedad. El Ab IgG se correlaciona con anticuerpos neutralizantes y es un marcador de infección altamente específico (100%) y sensible (97%) después de 2 semanas desde el inicio de la enfermedad^{62,63}. Múltiples estudios determinaron que las células B de memoria Spike estaban presentes al menos ~30 a 90 días después de la infección⁶⁴. Además, se reporta que el SARS-CoV-2 tiene la capacidad de inducir la hiperestimulación del sistema inmunitario y parecido molecular entre el virus y los componentes propios del huésped, lo que lleva a la síntesis de múltiples autoanticuerpos, que desencadena la aparición de enfermedades autoinmunes. Cabe destacar, que en un estudio 31 de 66 (47 %) pacientes con enfermedad COVID-19 grave coagulopatía, habían producido autoanticuerpos antifosfolípidos (APLA), los cuales se unen a las proteínas de la membrana celular y provocan una disfunción de la coagulación⁶⁵.

En cuanto a la inmunidad celular inducida por SARS-CoV-2, incluye células T auxiliares CD4 + (Th), las células T citotóxicas CD8 + (CTL) específicas de SARS-CoV-2. Se propone que los sujetos que se recuperan a la infección presentan células T de memoria de larga duración reactivas, pues células T de hace 17 años específicas de SARS-CoV mostraron una fuerte reactividad cruzada con la proteína N del SARS-CoV-2. Además, estudios han detectado inmunidad celular mayor a 6 meses después del inicio de los síntomas en el 50-70% de los pacientes convalecientes por COVID-19; cuyos epítomos responden a la proteína pico, membrana, nucleocápside, y ORF3a; aunque en poca cantidad.^{34,66,67,68} Asimismo, la infección por SARS-CoV-2 induce células plasmáticas de médula ósea (BMPC) de larga vida, específicas de S en aspirados de médula ósea en un estudio con 18 personas que se habían recuperado de COVID-19 entre 7 y 8 meses después de la infección⁶⁹.

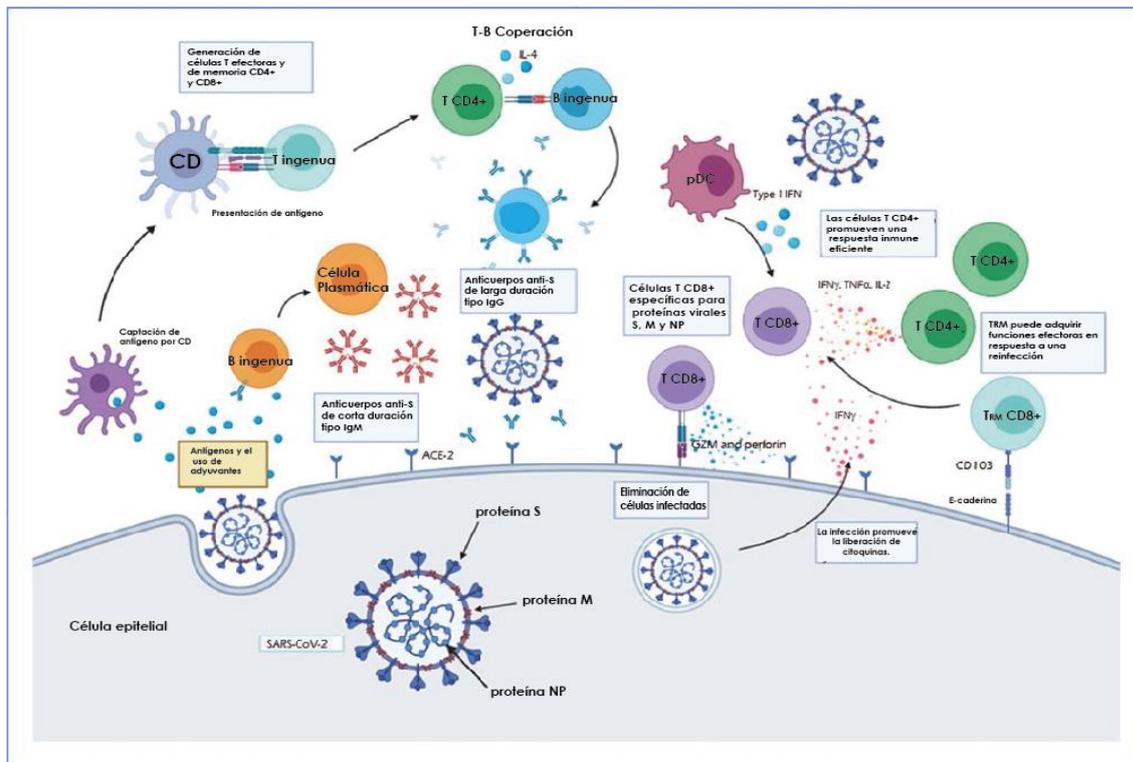


Fig. 4 Respuesta inmune protectora contra el SARS-CoV-2.

SARS-CoV-2 se une al receptor ACE-2 a través de la proteína S. Los antígenos son captados por las células dendríticas (DC), así como la presencia de adyuvantes, y conducen a la presentación del antígeno, activando las células T efectoras y de memoria CD4+ y TCD8+. A su vez, la infección induce la liberación de citoquinas como IFN-γ, favoreciendo el reclutamiento de infiltrados de células T. Los linfocitos T CD4+ que producen IFN-γ, TNF-α e IL-2 generan una respuesta inmunitaria antiviral eficaz, que se potencia con el interferón tipo I producido por las células dendríticas plasmocitoides (pDC). Los linfocitos T efectoras CD8+ producen moléculas citotóxicas como la granzima (GZM) y la perforina, que promueven la muerte de la célula infectada. En cuanto a la respuesta humoral, hay una producción inicial de IgM a corto plazo generados por las células plasmáticas activadas, generalmente a través de un mecanismo independiente de células T. La activación de células B para producir IgG, es dependiente de células T. En este mecanismo, la interacción TCR-MHC-II y la liberación de citoquinas (como IL-4) promueven la diferenciación a células plasmáticas y el cambio del isotipo del anticuerpo IgM a IgG. Los anticuerpos neutralizantes específicos de S, inhibe la entrada del virus. IFN-γ, interferón-gamma; IL, interleucina; TNF-α, factor de necrosis tumoral alfa. (Traducida de: León-Rodríguez, S. G. de, Hernández-Rico, B., Olmo-Vázquez, G. del, Cruz-Dávalos, I., Bonifaz, L. C., León-Rodríguez, S. G. de, Hernández-Rico, B., Olmo-Vázquez, G. del, Cruz-Dávalos, I., & Bonifaz, L. C. (2020). SARS-CoV-2: previous coronaviruses, immune response, and development of vaccines. *Boletín Médico Del Hospital Infantil de México*, 77(5), 252–261. <https://doi.org/10.24875/BMHIM.200001911>)

2.4 Anticuerpos contra SARS-CoV-2

Los anticuerpos son proteínas, que interaccionan con secuencias específicas de aminoácidos (*epítotos*) de las proteínas del virus al que están atacando. El sistema inmune puede generar anticuerpos contra diferentes epítotos del SARS-CoV-2, pero dependiendo de dónde esté el epítoto, el anticuerpo puede ser no neutralizante o neutralizante. Algunos contribuyen a las funciones efectoras para eliminar el agente infeccioso; mientras que otros, denominados anticuerpos neutralizantes (NAbs) son capaces de neutralizar la infección viral o la replicación al dirigirse, en el caso de SARS-CoV-2, principalmente al unirse a Spike evitando su interacción con el receptor ACE2 del huésped. Otros NAbs, evitan los cambios conformacionales

necesarios para la fusión al unirse con correceptores, bloqueando la escisión proteolítica o la fusión de la endosoma.^{70,71,72,73}

Evaluar anticuerpos neutralizantes (NAb) tiene aplicación en la determinación de la respuesta protectora humoral individual o colectiva generada frente el SARS-CoV-2, la eficacia de la vacunación, así como terapéuticas con plasma convaleciente (NAb monoclonales)⁵⁸. Los niveles de anticuerpos neutralizantes son altamente predictivos de la protección inmunológica de la infección sintomática por SARS-CoV-2⁷⁴.

El isotipo de NAb puede ser IgG o IgA, cabe señalar que se ha observado en SARS-CoV-2 una potencia de neutralización 50 veces mayor para la subclase IgG3⁷⁵. Los NAb se unen por su región llamada fragmento de unión al antígeno (Fab) a los epítomos de SARS-CoV-2, en los que predominan el RBD de la proteína S y la proteína N⁷⁶.

En cuanto a la respuesta humoral IgG inducida por la vacuna ARNm BNT162b2, se reportan títulos variables en un rango de entre 3 y 14 semanas después de la segunda dosis de vacuna y posteriormente disminuye en los siguientes 2 meses con una vida media de ~ 28 a 33 días, otro estudio menciona que decrece de 3 a 6 meses después de la vacunación⁷⁷. Esta reacción es similar a la provocada por la infección natural en pacientes recuperados de COVID-19 a los 1,3 meses, cuyos los niveles de NAb comienzan a disminuir después de 6 a 8 meses⁷⁸. Es importante mencionar que BNT162b2 produce células B de memoria específicas de S que persisten 6 meses después de la vacunación⁷⁹ y linfocitos T (CD8⁺ y CD4⁺) del fenotipo de memoria efectora han sido identificados ocho semanas después del esquema completo con Pfizer que producen una respuesta anamnésica rápida⁵⁷. Los anticuerpos monoclonales IgA han probado ser tan efectivos como los IgG en ensayos de unión y neutralización in vitro, además de desempeña un papel importante en la protección de las superficies mucosas^{80,81}.

Finalmente, otros anticuerpos pueden facilitar la entrada del virus en células que carezcan de receptores para él, si poseen receptores para la parte inespecífica de las inmunoglobulinas (receptor Fc (FcR) o del complemento), como ocurre con los macrófagos, neutrófilos y algunas poblaciones linfocitarias⁸². El complejo virus-

anticuerpo es internalizado por endocitosis en la célula y la replicación viral puede continuar debido a que el anticuerpo no bloquea la infectividad. Esto se conoce como mejora dependiente de anticuerpos (ADE) y potencia la infección viral por funciones efectoras de los anticuerpos no neutralizantes (nnAbs)⁸³. Se ha documentado para muchos virus, incluidos los virus del dengue, Zika y SARS-CoV-1⁸⁴. Se desconoce si la ADE contribuye a la patogenia de la COVID-19, aunque se ha demostrado *in vitro* que algunos anticuerpos monoclonales anti-RBD y anti-S1 del SARS-CoV-2 inducen efecto ADE a través del FcγR, pero al evaluar el suero policlonal de individuos convalecientes la replicación viral no es significativa, lo que podría sugerir que la concentración de monoclonales de ADE no es lo suficientemente alta^{85,73}.

Por otro lado, se ha demostrado que los anticuerpos aislados de personas con infección por SARS-CoV-1 tienen neutralización cruzada para SARS-CoV-2, y viceversa⁷². La evaluación de NAbs frente a las nuevas variantes del SARS-CoV-2 es fundamental para determinar la efectividad de la respuesta inmune, debido a que se pueden presentar mutaciones que promueven el escape viral a los NAbs. Centrando los esfuerzos a la búsqueda de NAbs dirigidos a epítomos altamente conservados⁸⁶.

2.4.1 Vacuna ARNm BNT162b2 de Pfizer-BioNTech contra SARS-CoV-2

En la actualidad, se han administrado ampliamente distintas vacunas para inmunizar a la población contra SARS-CoV-2 en diferentes países, incluyendo México; aunque existen 8 tipos de vacunas, las primeras en ser aprobadas en cuestión de meses y que han demostrado mayor eficacia en la prevención del COVID-19 sintomático, son las de tipo ARNm^{87,88,89}.

Tabla 2 Características de la vacuna BNT162b2 de Pfizer-BioNTech contra SARS-CoV-2

Vacuna (Farmacéutica)	Plataforma de diseño	Dosis esquema completo	Tiempo entre dosis	Composición	Costo por dosis
BNT162b2 Pfizer/BioNTech	ARNm	2 Intramuscular (el vial de 30 µg de 5-7 dosis, 0,3 ml por dosis)	3-6 semanas	Un ácido ribonucleico mensajero sintético (ARNm) que codifica la proteína espiga del SARS-CoV-2, lípidos ((4-hidroxibutil)azanedil)bis(hexano-6,1-diil)bis(2-hexildecanoato), 2-[(polietileno glicol)-2000]-N,N-ditetradecilacetamida, 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfolina y colesterol), cloruro de potasio, fosfato de potasio monobásico, cloruro de sodio, fosfato de sodio dibásico dihidrato y sacarosa	19.50 dólares

La vacuna BNT162b2 desarrollada por Pfizer-BioNTech, cuyas dosis de 30 µg utilizan una cadena de ARNm dentro de una capa lipídica. Aunque puede producir reactogenicidad leve a moderada como dolor en el lugar de la inyección, fatiga, fiebre y dolor de cabeza, es transitoria y por tanto segura. Su eficacia fue 95% en la prevención de Covid-19 grave, 7 días después de la segunda dosis⁹⁰. El ARNm codifica la proteína de pico (S) con 2 mutaciones de prolina para obtener la forma estabilizada de prefusión, lo que la vuelve más inmunogénica que la del virus de tipo salvaje y la capa lipídica evade la respuesta innata y permite la absorción eficiente en célula^{91,92}; una vez que el ARNm ingresa a nuestras células, utiliza la maquinaria celular para producir esta proteína y liberándola al exterior donde actúan como antígeno la proteína S y el RBD, es decir, como molécula extraña que desencadena una respuesta inmune IFN γ + o IL-2 y humoral, con títulos de anticuerpos neutralizantes altos y a largo plazo respuestas de células B y T (CD4 + y CD8 +) de memoria^{93,94,95}. En caso de contacto con SARS-CoV-2 se activan rápidamente, lo que aumenta el control de la replicación viral inicial y limita la diseminación viral en el hospedador; como consecuencia, se previene la enfermedad grave, menos hospitalización y muerte, se reduce la capacidad de transmitir el virus⁹⁶.

Se observó memoria inmunitaria humoral y celular en individuos vacunados con BNT162b2, equivalentes a los de los individuos que se recuperaron de una infección natural, que persiste por al menos 8 meses después de la aparición de los síntomas o la inmunización^{7,8,17,97}. Las respuestas de anticuerpos neutralizantes para la proteína estructural de pico S, la nucleocápside y el RBD,

1 semana después de la segunda dosis de vacuna y disminuye de 3 a 6 meses después con una vida media de 28 a 33 días. Otro estudio observa respuesta después de 2 a 5 semanas del esquema completo de vacunación, pero se reduce al 50 % a partir de los 39 días, su presencia en suero disminuye más rápido que en la infección natural^{98,99,100,101}. Así mismo, se ha identificado respuesta inmune a largo plazo mediada por células B de memoria específicas tanto para la proteína S como para el dominio RBD, entre 3 y 14 semanas después de la segunda dosis de la vacuna de ARNm y respuesta de células T CD4 + y CD8 +¹⁰². Del mismo modo se encontraron respuestas inmunes funcionales contra las variantes virales Alfa (B.1.1.7), Beta (B.1.351) y Delta (B.1.617.2)¹⁰³. En resumen, BNT162b2 provoca una respuesta inmunitaria adaptativa poliespecífica contra epítomos que se conservan en una amplia gama de variantes incluidas las nuevas variantes actuales de preocupación (VOC por sus siglas en inglés) de SARS-CoV-2, en dosis bien toleradas.^{104,105}

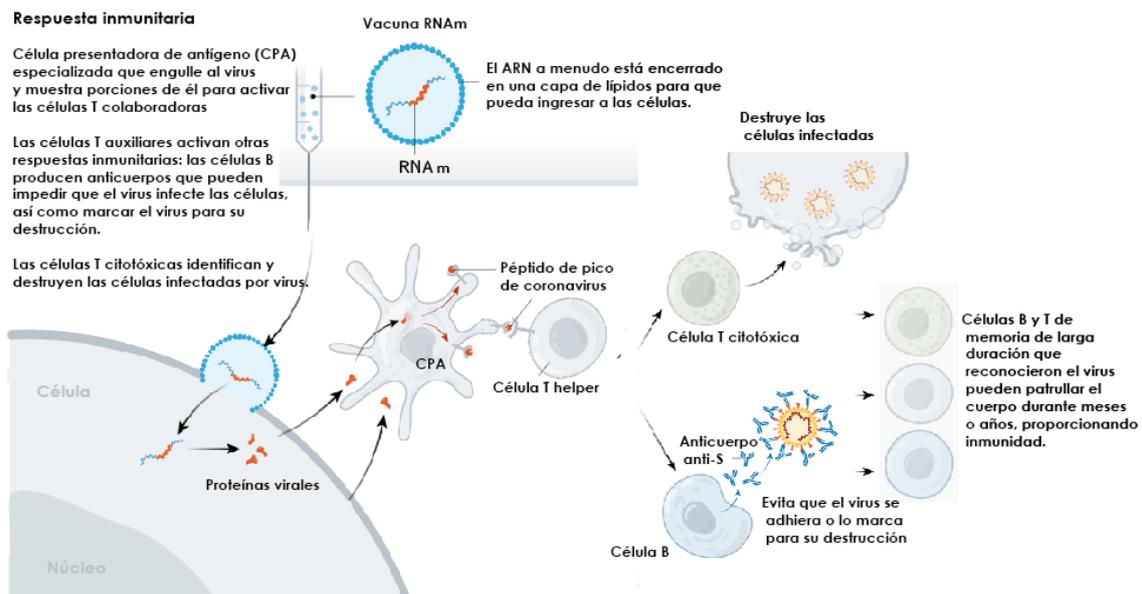


Fig. 5 Respuesta inmunitaria de las vacunas basadas en ARN m.

El ácido nucleico se inserta en las células humanas, que luego producen copias de la proteína espiga del virus y provoca una respuesta inmune. (Tomada y modificada de Callaway, E. (2020). The race for coronavirus vaccines: a graphical guide. Nature, 580(7805), 576–577. <https://doi.org/10.1038/D41586-020-01221-Y>)

2.4.2 Proteína N de SARS-CoV-2

La proteína de la nucleocápside (N) es una fosfoproteína de 419 aminoácidos de largo, conservada evolutivamente y multifuncional; responsable del

empaquetamiento del ARN, la regulación de la síntesis de ARN durante la replicación, transcripción y modulación del metabolismo celular del huésped.¹⁰⁶

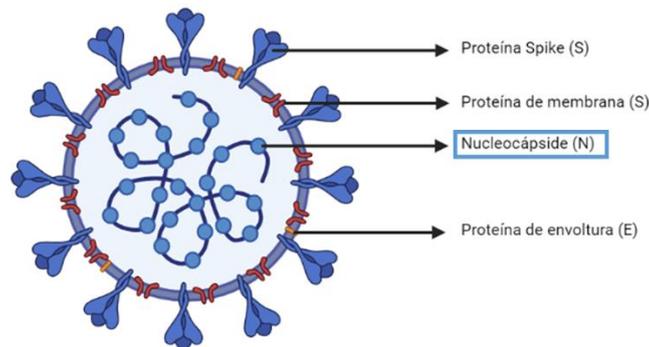


Fig. 6 Estructura del SARS-CoV-2

La proteína N es altamente antigénica e inmunogénica, con una vida más larga. Se ha encontrado altos niveles de anticuerpos anti-proteína N en sueros en pacientes con infección previa por SARS-CoV-2, por lo que se utiliza en ensayos serológicos, como en ELISA¹⁰⁷. Es más sensible para infecciones tempranas que la proteína pico, ya que puede detectarse hasta 1 día antes de la aparición de los síntomas clínicos. En un estudio que compara la sensibilidad y especificidad de las proteínas N y S concluyeron que las especificidades de estos dos antígenos eran generalmente comparables¹⁰⁸. En un metanálisis con 24 artículos se encontró que la detección serológica de anticuerpos contra SARS-CoV-2 resumida para ELISA presentó una sensibilidad del 86 % (IC: 82–89%) y una especificidad del 99% (IC: 98–100%)¹⁰⁹.

2.4.3 Variantes virales del SARS CoV-2: El caso de la variante Delta

Los virus están en constante evolución, es decir, adquiere mutaciones durante la replicación viral. Una mutación es cualquier cambio, como una sustitución, eliminación o adición, en la secuencia genética de un virus en comparación con la secuencia normal. Los virus de ARN tienen una gran capacidad de mutar, es decir, son capaces de corregir errores de mutación deficiente y mayor capacidad para adaptarse a nuevos huéspedes. Una variante es una cepa de virus con una colección de mutaciones. Una pequeña proporción de las mutaciones afecta las propiedades funcionales del virus, que pueden hacerlo ser más o menos virulento, según la composición alterada. Especialmente las mutaciones que ocurren en la proteína Spike (S), podrían afectar la entrada del virus en las células diana y la eficacia de la protección de anticuerpos. La OMS clasifica las

variantes en: Variantes de preocupación (VOC por sus siglas en inglés), variantes de interés (VOI por sus siglas en inglés) y Variantes con alerta de vigilancia reforzada, que son las que monitorea el InDRE en México, dependiendo del nivel de amenaza que representen para la salud pública¹¹⁰.

Las variantes VOC son aquellas que se ha demostrado que están asociadas con un aumento de la transmisibilidad, la virulencia, cambio en la presentación de la enfermedad clínica o disminución de la eficacia de las medidas de salud pública y sociales o diagnósticos disponibles, vacunas o terapias⁹.

Propiedades de las variantes de preocupación (VOC)

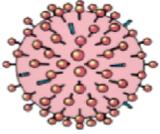
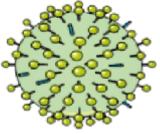
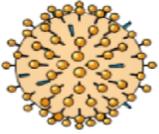
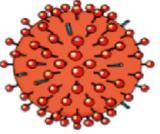
				
Transmisibilidad	+++	+	++	+++
Tasa de ataque secundario	+	Posible	Posible	++
Gravedad	++	Posible	Posible	+++
Reinfección	Improbable	Posible	+	++
Evasión inmune	-	++++	++	++
Efectividad de la vacunación	Alta	Reducida	Reducida	Reducida

Fig. 7 Propiedades de las Variantes Actuales de Preocupación.

La gravedad está determinada por un mayor riesgo de hospitalización y un mayor riesgo de mortalidad. (Traducido de: Ramesh, S., Govindarajulu, M., Parise, R. S., Neel, L., Shankar, T., Patel, S., Lowery, P., Smith, F., Dhanasekaran, M., & Moore, T. (2021). Emerging SARS-CoV-2 Variants: A Review of Its Mutations, Its Implications and Vaccine Efficacy. Vaccines 2021, Vol. 9, Page 1195, 9(10), 1195. <https://doi.org/10.3390/VACCINES9101195>)

La variante Delta (B.1.617) es altamente contagiosa, evade la inmunidad mejor que las variantes existentes, causa una enfermedad grave y es más resistente a las medidas preventivas, tratamientos y vacunas. Cuenta con un total de 13 mutaciones, de las cuales ocho se encuentran en la proteína S, en especial las mutaciones E484Q, L452R y P681R aumentan la transmisibilidad en aproximadamente un 60 % que la variante Alpha (B.1.1.7) y de evasión del sistema inmunológico, al mejorar la afinidad de unión del virus al receptor ACE2^{100,111}. Delta escapa a los anticuerpos monoclonales y policlonales neutralizantes provocados por una infección previa con SARS-CoV-2 o por

vacunación. Los anticuerpos obtenidos de individuos vacunados, con dos dosis de la vacuna BNT162b2 mostraron una reducción de 2,5 veces para la neutralización de B.1.617.2 y con una eficacia reducida a un 88 % tras la vacunación con Pfizer¹¹². De manera similar, los anticuerpos de pacientes previamente infectados con esta variante fueron aproximadamente un 50 % menos efectivos en comparación con las variantes anteriores¹¹³. La vacunación de individuos convalecientes impulsó la respuesta inmunitaria humoral muy por encima del umbral de neutralización. Además, ha habido varios informes de reinfección con esta variante.¹¹⁴

2.5 Obesidad

La obesidad es una enfermedad crónica multifactorial en la que están involucrados aspectos genéticos, ambientales y de estilo de vida, que condicionan al desequilibrio entre energía obtenida a través de los alimentos y su gasto, conduciendo a la acumulación anormal o excesiva de grasa (tejido adiposo) que puede ser perjudicial para la salud. Debido a su creciente prevalencia en la actualidad alcanza proporciones epidémicas y representa un serio problema de salud pública. Los principales factores de riesgo identificados son la inactividad física, el sedentarismo, la ingesta de alimentos con alta densidad energética y en grandes porciones (procesados y comida rápida (fast food), el consumo de refrescos y bebidas azucaradas, y una frecuente ingesta de alimentos entre comidas.^{115,116}

Los indicadores más utilizados para identificar a personas con sobrepeso u obesidad son el índice de masa corporal (IMC) y la circunferencia de cintura. La clasificación de IMC (kg/m²) de la OMS es un indicador simple de la relación entre el peso y la talla. Se calcula dividiendo el peso de una persona en kilos por el cuadrado de su talla en metros (kg/m²). Define el sobrepeso y la obesidad como se indica a continuación¹¹⁷:

- sobrepeso: IMC igual o superior a 25.
- obesidad: IMC igual o superior a 30.

Mientras que la clasificación del perímetro de cintura de la norma oficial mexicana permite conocer cuáles adultos tienen obesidad abdominal, ya que está asociada a un mayor riesgo de infartos y otras enfermedades como la diabetes y la hipertensión arterial¹¹⁸.

Tabla 3 Clasificación de obesidad por IMC y circunferencia en adultos

(Tomada de: Rivera Dommarco Ja, Colchero Ma, Fuentes ml, González de Cosío Martínez T, Aguilar Salinas Ca, Hernández Licona G, Barquera S (2018). La obesidad en México. Estado de la política pública y recomendaciones para su prevención y control. Cuernavaca: Instituto Nacional de Salud Pública)

Cuadro I. Clasificación de obesidad por IMC y circunferencia de cintura en adultos

Clasificación por IMC de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) y a la Norma Oficial Mexicana (NOM)						
Fuente	Bajo peso	Normal	Sobrepeso	Obesidad		
				Grado I	Grado II	Grado III
OMS	<18.5	18.5 – 24.9	25.0 – 29.9	30.0 – 34.9	35.0 – 39.9	>40.0
NOM			25.0 – 29.9	≥30 o ≥25 en adultos de baja talla		
			o ≥ 23 y <25 en adultos de baja talla *			
Obesidad abdominal de acuerdo con los criterios de la Norma Oficial Mexicana						
Hombres	≥ 90 cm					
Mujeres	≥ 80 cm					

IMC = Peso actual (kg)/ estatura (m)².

* Baja talla = estatura menor a 1.50 metros en la mujer adulta y menor de 1.60 metros para el hombre adulto.

El tejido adiposo almacena el exceso de energía como triglicéridos en los adipocitos a través de un aumento en su número (hiperplasia) o un aumento en su tamaño (hipertrofia). En la obesidad hay una disfunción del tejido adiposo causada por la hipertrofia e hiperplasia, que provoca cambios celulares y moleculares en procesos metabólicos, inflamatorios y hormonales. Se ha demostrado que los individuos obesos presentan inflamación crónica de bajo grado, así como una respuesta deficiente a las infecciones, la vacunación y las terapias para las enfermedades autoinmunes.^{116,119}

2.5.1 Relación entre obesidad y COVID-19: el papel de la leptina y la adiponectina

Se han informado múltiples mecanismos para describir la relación entre la obesidad y el aumento del riesgo de enfermedad grave y mayor mortalidad en COVID-19. Principalmente, la obesidad influye en la fisiología respiratoria debido a factores mecánicos y la desregulación de la respuesta inmune. El exceso de grasa corporal en el mediastino, las cavidades abdominal y torácica dificulta la mecánica de la respiración y altera la perfusión pulmonar (reserva cardiorrespiratoria). Por otro lado, en la obesidad hay aumento en los niveles de citocinas como interleucina (IL)-1, IL-6, IL-17 y el factor de necrosis tumoral α ., además de interferón (IFN)- γ +, células T colaboradoras tipo 1 y las células T CD8 +, que, al adquirir COVID-19, pueden incrementar la respuesta inflamatoria, lo que aumenta el riesgo de una "tormenta de citocinas" y trombosis.

Especialmente, la IL-6 evidencia la inflamación de bajo grado, al relacionarse con el aumento de proteína C reactiva en suero, y con la respuesta de anticuerpos al inducir la producción de IL-21 por las células T CD4 + necesaria para la producción de anticuerpos de células. Además, los individuos obesos tienen muchos más receptores ACE-2 en la superficie de los adipocitos que, en el pulmón; esto puede hacerlos más vulnerables a la infección por SARS-CoV-2 y un reservorio viral potencial que conduce a una eliminación viral prolongada.^{120,121,122,123}

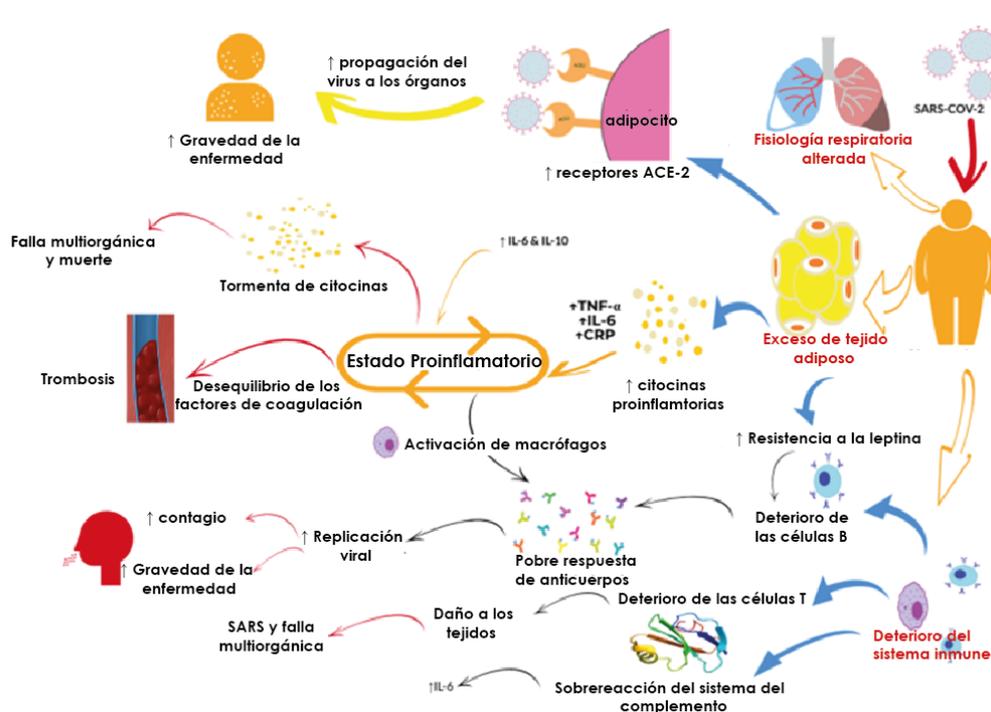


Fig. 8 Mecanismos en pacientes obesos durante la infección por SARS-CoV-2.

ACE-2 enzima convertidora de angiotensina 2, IL-6 interleucina-6, IL-10 interleucina-10, factor de necrosis tumoral TNF- α , proteína C reactiva CRP, síndrome de dificultad respiratoria SARS. (Traducción de: Aghili, S. M. M., Ebrahimpur, M., Arjmand, B., Shadman, Z., Pejman Sani, M., Qorbani, M., Larijani, B., & Payab, M. (2021). Obesity in COVID-19 era, implications for mechanisms, comorbidities, and prognosis: a review and meta-analysis. *International Journal of Obesity* 2021 45:5, 45(5), 998–1016. <https://doi.org/10.1038/s41366-021-00776-8>)

El tejido adiposo tiene una importante función endócrina secretando a partir de los adipocitos múltiples adipocitocinas o adipocinas (quimioquinas, citoquinas y hormonas), que se producen y liberan en proporción a la cantidad de tejido adiposo visceral en el cuerpo. Regulan la homeostasis energética, la inflamación y el almacenamiento de triglicéridos. Cuando el paciente presenta obesidad incrementan los niveles de adipocinas/citoquinas proinflamatorias como la leptina (que se asocia con un estado de resistencia a la leptina) y disminuyen las

adipocinas antiinflamatorias como la adiponectina, igualmente estas adipocinas modulan la inflamación pulmonar y promueven la resistencia a la insulina.^{121,122,124}

La hormona leptina es un miembro de la superfamilia IL-6, de 16 kD y 167 aminoácidos. La señalización de leptina está mediada por el receptor de leptina (LEPR), una glicoproteína transmembrana miembro de la superfamilia de receptores de citoquinas de clase I (gp130) de 150 kDa, que se expresa en la superficie celular de las células T (Treg), B, asesinas naturales (NK), mastocitos, macrófagos, monocitos y células dendríticas. La leptina actúa a través de señales en el hipotálamo como saciedad al regular negativamente los péptidos orexigénicos que estimulan la ingesta de alimentos y potencia los péptidos anorexigénicos, los cuales, estimulan el gasto de energía. El nivel de leptina circulante es proporcional al tejido adiposo, pero con el avance de la edad, se ha demostrado que las concentraciones de leptina aumentan de manera desproporcionada, lo que conduce a la resistencia a la leptina y en la reserva de células T vírgenes.^{129,122,125}

La leptina también es producida por otros tejidos, de los que conviene destacar las células epiteliales bronquiales, los neumocitos tipo II y los macrófagos pulmonares, así como su receptor, en donde juega un papel importante en la salud pulmonar.¹²⁶

La leptina actúa directamente sobre las células hematopoyéticas (es decir, las células auxiliares CD4+, las células T y B citotóxicas CD8+) a través de su interacción con el receptor de leptina unido a la membrana (LEPR) y la señalización posterior a través de la vía JAK2/STAT3, para mediar en el número y la función de las células inmunitarias. También actúa sobre los monocitos/macrófagos e induce la quimiotaxis de los neutrófilos y la liberación de radicales de oxígeno. Además, sesga la inducción de células Th (Th1) hacia un fenotipo proinflamatorio, las células T citotóxicas Th17 y disminuye las células T reguladoras. También se ha demostrado que la leptina inhibe la apoptosis de las células del sistema inmunitario. Así, la leptina modula las respuestas inmunitarias tanto innatas como adaptativas. También parece tener efectos sobre la función de las células β pancreáticas y, la leptina inhibe

directamente la unión de insulina por parte de los adipocitos, lo que contribuye a la resistencia a la insulina. (Koebrick et al. 2006).^{120,125,127}

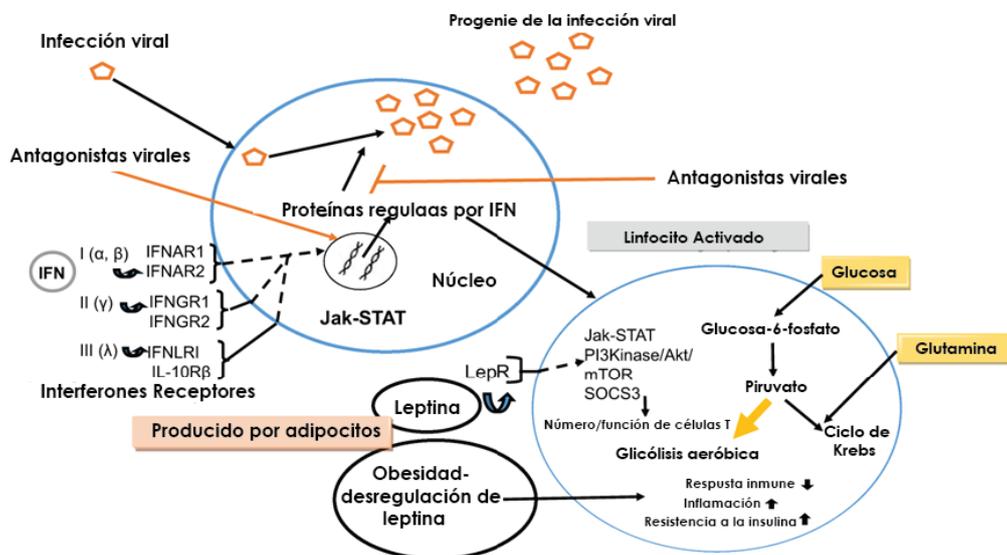


Fig. 9 Relación entre la infección viral y la función de la leptina en obesidad.

Los productos codificados por virus antagonizan las vías de señalización de IFN y la actividad bioquímica de las proteínas celulares inducidas por IFN para frustrar la defensa antiviral del huésped. En los linfocitos activados, la oxidación de lípidos se regula a la baja y la glucólisis aumenta en presencia de oxígeno junto con la oxidación de glutamina para producir los precursores biosintéticos necesarios para el rápido crecimiento y proliferación celular. La leptina señala a través de las vías Jak/STAT y Akt, entre otras, para mediar en el número y la función de las células inmunitarias. La desregulación de la leptina en la obesidad tiene efectos perjudiciales durante una infección. (Traducido de: Rebello, C. J., Kirwan, J. P., & Greenway, F. L. (2020). Obesity, the most common comorbidity in SARS-CoV-2: is leptin the link? *International Journal of Obesity* 2020 44:9, 44(9), 1810–1817. <https://doi.org/10.1038/s41366-020-0640-5>)

Durante una infección, la activación de las células T se acompaña de altos requerimientos de energía para apoyar la biosíntesis, proliferación y diferenciación, pero la resistencia a la acción de la insulina en los adipocitos de pacientes obesos, puede contribuir a un suministro de energía insuficiente para que las células T. Si la energía es insuficiente, las células T adoptan un estado de hiporrespuesta, que se conoce como anergia, o un estado de falta de respuesta, que se denomina agotamiento.¹²¹

La adiponectina, el producto génico del transcrito 1 del gen más abundante del tejido adiposo (apM1) es una proteína producida exclusivamente por los adipocitos, es la adipocina más abundante en el plasma humano y numerosos estudios demuestran sus efectos antiinflamatorios, antioxidantes y sensibilizantes a la insulina. Se ha informado que los receptores de adiponectina (AdipoR) 1 y AdipoR2 se reducen en la resistencia a la insulina relacionada con

la obesidad. Asimismo, la adiponectina induce la producción de antagonistas de los receptores de IL-10 e IL-1 y reduce la producción de TNF- α e IL-6, estimula la oxidación de ácidos grasos, induce la activación de LPL, lo que mejora la eliminación de VLDL y reduce los niveles de triglicéridos en plasma; puede funcionar como un adipostato en la regulación del balance energético. La utilización de glucosa a través de la activación de AMPK en el hígado y el músculo esquelético. La adiponectina aumenta la oxidación de ácidos grasos y reduce la síntesis de glucosa en el hígado. La adiponectina aumenta la oxidación de ácidos grasos y reduce la síntesis de glucosa en el hígado. Beneficia la sensibilidad a la insulina a través de dos receptores, ADIPOR1 y ADIPOR2. La interrupción simultánea de ADIPOR1 y R2 suprime la unión y la actividad de la adiponectina, lo que lleva a la resistencia a la insulina y la intolerancia a la glucosa.^{122,127,128}

2.5.2 Polimorfismos LEP (-2548 G>A), LEPR (-GLN223ARG) Y ADIPOQ (+276 G/T)

Existe un gran número de genes que codifican proteínas y metabolitos implicados en el balance energético y la formación de tejido adiposo, que pueden modificar el efecto biológico final de la adipocina y su receptor. Estudios de asociación del genoma completo (GWAS) encontraron que solo ~2% de la variabilidad del IMC puede explicarse por polimorfismos comunes de un solo nucleótido (SNP). Además, la obesidad podría ser un trastorno hereditario de la homeostasis energética. La heredabilidad del IMC se ha estimado en un 40-70%.

129

El gen de la leptina (LEP), homólogo del gen OB en ratones, se encuentra en el cromosoma 7q31.3 y la longitud de su ARNm en el tejido adiposo es de 4,5 kb. El SNP LEP -2548G/A (rs7799039) donde el nucleótido de guanina (G) es sustituido por adenina (A) es en la posición de nucleótido -2548 aguas arriba del sitio de inicio ATG en la región promotora 5' del gen LEP. LEP -2548G/A se ha asociado con un aumento de la producción y secreción de leptina por parte de los adipocitos, estudiados para asociaciones con obesidad, cáncer e hipertensión. Parece influir en la transcripción, expresión y secreción de leptina, de modo que los portadores del genotipo AA tienen el doble de tasa de secreción de leptina y un 60 % más de transcripción de ARNm de leptina que los portadores

del alelo G.^{130,131}

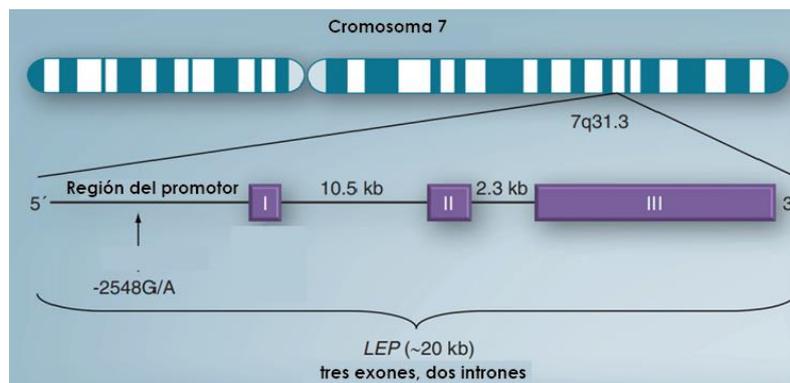


Fig. 10 Estructura y organización del gen de la leptina (LEP).

(Traducida de: Lee, A. K., & Bishop, J. R. (2011). *Pharmacogenetics of leptin in antipsychotic-associated weight gain and obesity-related complications*. <http://Dx.Doi.Org/10.2217/Pgs.11.45>, 12(7), 999–1016. <https://doi.org/10.2217/PGS.11.45>)

El gen LEPR se mapea en el cromosoma 1p31. La transcripción de LEPR se empalma alternativamente en varias isoformas diferentes que comparten los mismos dominios extracelulares y transmembrana. La única isoforma larga conocida (también conocida como LEPRb u OB-RL) está involucrada principalmente en la señalización hipotalámica, mientras que se cree que las isoformas cortas (OB-R, también conocidas como LEPRa, LEPRc y LEPRd) median el transporte de leptina. El receptor de leptina soluble (sOB-R o LEPRe) solo tiene el dominio extracelular y circula por la periferia.¹³¹

El polimorfismo Gln223Arg (rs1137101), donde glutamina (Gln) es sustituido por arginina (Arg) en la posición 223 del exón 6 (codificante del dominio extracelular) en el gen del gen LEPR, sugiere que los cambios conformacionales pueden tener una disminución de su función enzimática ya que es un receptor de tipo tirosina quinasa de JAK2, promoviendo la resistencia a la leptina y, por tanto, una señalización de leptina atenuada. En consecuencia, los adultos portadores del alelo G muestran un aumento de peso más significativo a lo largo de los años y es un marcador de masa grasa, obesidad y aumento del IMC.^{131,132}

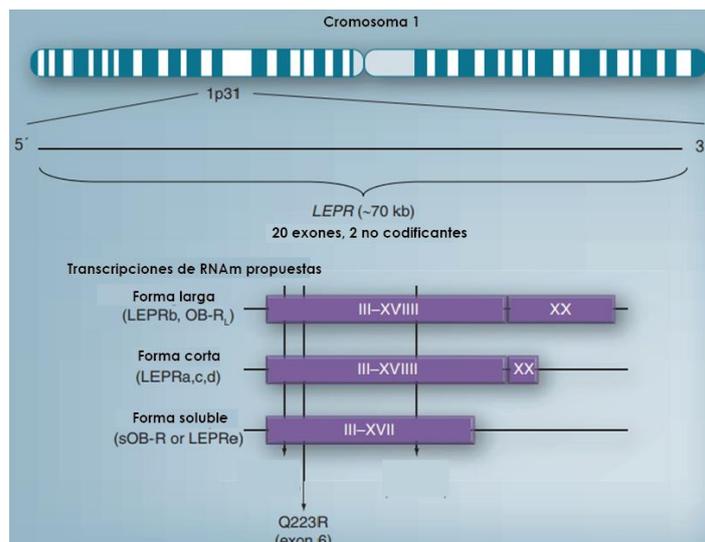


Fig. 11 Estructura y organización propuestas del gen del receptor de leptina (LEPR).

Los exones 1 y 2 no codifican, pero tienen el potencial de formar estructuras secundarias. El exón 3 contiene el codón de iniciación. Los exones 3–17 codifican el dominio extracelular que poseen todas las isoformas; este dominio extracelular tiene una longitud de aproximadamente 816 aminoácidos. El exón 18 codifica el dominio transmembrana, que comprende aproximadamente 23 aminoácidos. Los exones 19 y 20 codifican el dominio intracelular. El sitio de empalme propuesto se encuentra entre el exón 19 y el intrón 19. Estructura y función de isoformas del receptor de leptina: LEPRa: sin dominio intracelular; facilita el transporte de leptina a través de la barrera hematoencefálica. LEPRb: dominio intracelular completo necesario para la señalización celular a través de las vías JAK2/STAT3 y fosfoinositida-3 cinasa; contiene 203 o 303 residuos de aminoácidos intracelulares. LEPRc es la forma soluble de leptina que se cree que inhibe la acción del transportador de LEPRa y circula por todo el cuerpo. Las isoformas se forman mediante empalme o edición postraduccional. (Traducido de: Lee, A. K., & Bishop, J. R. (2011). Pharmacogenetics of leptin in antipsychotic-associated weight gain and obesity-related complications. <http://Dx.Doi.Org/10.2217/Pgs.11.45>, 12(7), 999–1016. <https://doi.org/10.2217/Pgs.11.45>)

El gen de la adiponectina (ADIPOQ) está localizado en el cromosoma 3q27. El SNP +276G>T (rs1501299) donde una sustitución de la base guanina (G) cambia a timina (T) en la posición 276 del intrón 2 en el gen de la adiponectina (ADIPOQ) y actúa como potenciador. El alelo G de rs1501299 se asocia a obesidad, una menor sensibilidad a la insulina, niveles más bajos de adiponectina y un aumento de los lípidos en sangre. Por el contrario, portadores del alelo T tienen niveles más altos de adiponectina y, como resultado, un IMC más bajo.¹³³

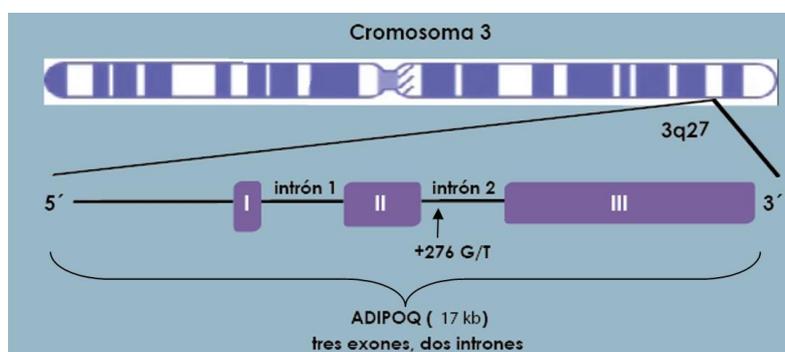


Fig. 12 Estructura y organización del gen adiponectina (ADIPOQ).

4. Planteamiento del problema

La enfermedad por Coronavirus 2019 (COVID-19) progresa a cuadros graves y críticos en los adultos mayores de 60 años, debido a una menor capacidad de respuesta inmune, producto de la inmunosenescencia, y la presencia de comorbilidades como la obesidad, enfermedad de alta prevalencia en el Estado de México, especialmente se observa un incremento del tejido adiposo en mujeres postmenopáusicas. Por tanto, la evaluación de la eficacia de la respuesta inmune a la vacunación en los principales grupos de riesgo, es clave para la toma de decisiones preventivas.

Asimismo, los factores genéticos como lo son polimorfismos genéticos SNP relacionados a la desregulación de las adipocinas en obesos: leptina y adiponectina, son clave en los cambios fisiológicos causados por el aumento de peso y las respuestas inmunitarias alteradas que aumenta la gravedad de la COVID-19 y pueden afectar la inmunidad inducida por la vacuna.

Este trabajo propone determinar seroprevalencia de IgG de acuerdo al IMC al tercer y cuarto mes de la vacunación con dos dosis de BNT162b2 (Pfizer-BioNTech) y determinar si hay una asociación significativa con polimorfismos de genes de obesidad en mujeres mayores de 60 años de los municipios de Toluca y Metepec del estado de México.

Abordar este problema brindará una comprensión matizada del estado inmune humoral de una importante subpoblación de riesgo tras vacunación, considerando su caracterización y evaluación clínica (biometría hemática química sanguínea), así como, la influencia de la obesidad (índice de masa corporal y polimorfismos de un solo nucleótido) en la respuesta de IgG.

5. Justificación

En los últimos años las enfermedades infecciosas emergentes provocadas por patógenos de origen zoonótico, se han convertido en un gran problema de salud pública, tal es el caso de la situación de emergencia por la enfermedad COVID-19 causada por el virus respiratorio SARS-CoV-2, que puso a prueba los sistemas de salud, la toma de decisiones gubernamentales, la investigación y desarrollo científicos.

Una de las estrategias más importantes es la inmunización a través de la

vacunación, que elimina el componente de tiempo para la generación de inmunidad protectora, ya que ocurre mucho antes de la infección, lo que le da tiempo al sistema inmunitario adaptativo para responder, expandirse y madurar, siendo clave para prevenir el desarrollo de la enfermedad grave. Aunque los ensayos clínicos aleatorizados de vacunas basadas en ARNm, como la vacuna Pfizer-BioNTech, informaron eficacia de 94-95% para prevenir el coronavirus 2019, solo se contempló una pequeña cantidad de subpoblaciones. Por lo que es importante evaluar los programas de vacunación a nivel regional, considerando las características particulares de la población, como la presencia de comorbilidades y clínicas (biometría hemática, química sanguínea) que influyen en la efectividad de la vacuna.

En México, un grupo de alto riesgo en desarrollar COVID-19 grave y las muertes asociadas es el de adultos mayores de 60 años, en el que también se ha demostrado una respuesta inmunitaria disminuida a muchas vacunas, especialmente en asociación a la obesidad, enfermedad de alta prevalencia en el país, siendo las mujeres posmenopáusicas las que presentan un mayor porcentaje de masa adiposa que los hombres. La desregulación de las adipocinas: leptina y adiponectina, son clave en los cambios fisiológicos causados por el aumento de peso y las respuestas inmunitarias alteradas que aumenta la gravedad de la COVID-19 y pueden afectar la inmunidad inducida por la vacuna. Se desconoce si la influencia de los factores genéticos como lo son polimorfismos genéticos SNP relacionados con la leptina y su receptor y la adiponectina explican las variaciones en la población mexicana en la función inmunológica tras la vacunación en sujetos obesos de edad avanzada.

De modo que, este trabajo pretende evaluar la calidad de la respuesta de anticuerpos con una prueba ELISA tras recibir dos dosis de la vacuna de ARNm BNT162b2 y asociar los polimorfismos LEP (-2548 G>A), LEPR (-GLN223ARG) y ADIPOQ (+276 G/T) como factor predictor de inmunogenicidad deteriorada (disminución de la respuesta de anticuerpos) en el grupo susceptible de mujeres mayores de 60 años de los municipios de Toluca y Metepec del estado de México.

6. Hipótesis

Ho: La concentración de IgG en pacientes vacunadas contra SARS-CoV-2 se

verá disminuida al presentar genes relaciones a obesidad.

Ha: La concentración de IgG en pacientes vacunadas contra SARS-CoV-2 no se verá disminuida al presentar genes relaciones a obesidad.

7. Objetivo General

Evaluar la IgG producida contra SARS-CoV-2 y su correlación con polimorfismos de genes asociados con la obesidad en mujeres vacunadas mayores de 60 años.

8. Objetivos Específicos

- Identificar y cuantificar IgG anti-N producida contra SARS-CoV-2 en muestras de mujeres mayores de 60 años al tercer y cuarto mes posterior a la aplicación de la segunda dosis de la vacuna BNT162b2 (Pfizer-BioNTech).
- Analizar la correlación entre la IgG producida contra SARS-CoV-2 con la biometría hemática, química sanguínea de seis elementos y comorbilidades
- Determinar si al estratificar por IMC hay diferencias significativas entre los resultados de serología.
- Implementar la detección de polimorfismos LEP (-2548 G>A), LEPR (-GLN223ARG) Y ADIPOQ (+276 G/T) en los participantes del estudio, para evaluar si son factor de riesgo en la seroconversión en mujeres mayores de 60 años tras vacunación.

9. Metodología

7.1 Diseño de estudio

Es un estudio de diseño longitudinal, prospectivo con enfoque mixto.

7.2 Población de estudio, criterios de inclusión, exclusión y eliminación.

Población de estudio

Mujeres mexiquenses de los municipios de Toluca y Metepec, mayores de 60 años que recibieron dos dosis de vacuna BNT162b2 (Pfizer-BioNTech) contra el SARS-CoV-2.

Criterios de inclusión

Mujeres mexiquenses de los municipios de Toluca y Metepec, mayores de 60 años que recibieron dos dosis de vacuna BNT162b2 (Pfizer-BioNTech) contra el

SARS-CoV-2, que acepten participar en el estudio de forma voluntaria y firmen la carta de consentimiento informado

Criterios de exclusión

Mujeres que no cumplan con su esquema de vacunación completo con Pfizer y/o que hayan sido diagnosticada o presente síntomas de COVID-19 en los últimos 3 meses.

Criterios de eliminación

Voluntarias que decidan abandonar el estudio, muestras que no cumplan con las condiciones adecuadas para su análisis y voluntarias que presenten síntomas de Covid-19 durante el estudio.

7.3 Materiales y métodos

Obtención de muestras

Las muestras se obtuvieron por vía punción intravenosa de voluntarias mexiquenses de los municipios de Toluca y Metepec que aceptaron formar parte del estudio, firmaron la carta de consentimiento informado (Anexo 1) y contestaron el cuestionario (Anexo 2), para determinar el IMC pesó a cada voluntaria y se dividió entre el cuadrado de su altura. Se tomaron dos muestras, la primera muestra de suero se recolectó en un tubo amarillo con gel separador y la segunda pasado un mes de la primera en tubos de muestra amarillo con gel separador y morado con E.D.T.A., los cuales fueron etiquetados, homogenizados y transportados a la Facultad de Química de la UAEMéx, donde fueron centrifugados a 3500 rpm por 10 minutos para separar el suero del resto de la sangre, y se conservaron en congelación a -70° hasta su procesamiento.

Química Sanguínea y Biometría Hemática

Se procesaron en el Centro Médico ISSEMyM mediante los equipos automatizados, el autoanalizador Sistema Modular Roche para pruebas de química clínica mediante análisis colorimétrico y el analizador de hematología ADVIA 4120 de Siemens, basado en citometría de flujo utiliza dispersión de luz, lisis diferencial de glóbulos blancos y tinción con mieloperoxidasa y oxazina 750 para proporcionar un recuento completo de células sanguíneas y medición colorimétrica de la hemoglobina.

Detección de IgG

Para detectar la presencia de IgG contra SARS-CoV-2 se procedió a realizar un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) con el Kit Human Anti-2019

nCoV(N) IgG (Fine Tech Co) cuyas soluciones se prepararon conforme a las especificaciones del fabricante (Ver Fig.7). Se realizó el cálculo conforme indica el fabricante para los límites de los controles tanto negativos como positivos y se asignó un resultado positivo o negativo para cada muestra.

Protocolo ELISA del Kit Human

Anti-2019 nCoV(N) IgG (Fine Tech Co)

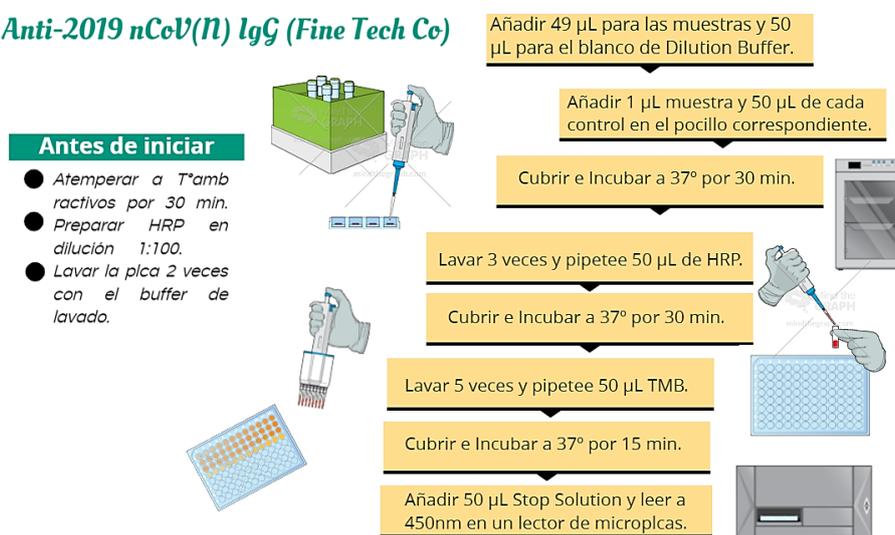


Fig. 13 Protocolo ELISA del kit Human Anti-2019 nCoV(N) IgG (Fine Tech Co)

Fundamento

Es un ensayo de tipo ELISA indirecto. Para ello, se revistió los pocillos de la placa con el antígeno recombinante de la proteína de la nucleocápside del 2019-nCoV. Luego, se añadieron a los pocillos las muestras de suero, que si presentan anticuerpos IgG anti-N formaran un conjugado Ag-Ab. A continuación, se agrega anti-IgG humana conjugada con HRP (peroxidasa de rábano picantes, es un sustrato enzimático), que formaría el complejo Ag(N)-Ab (IgG anti-N)-Ab(anti-IgG anti-N). Los conjugados no unidos se descartan con tampón de lavado y se incuban a 37° por 30min para que ocurra la reacción en cada paso. A continuación, se añade TMB (tetrametilbencidina, sustrato cromógeno de HRP) cuya hidrolisis produce un producto de color azul que cambió a amarillo después de agregar una solución de parada ácida. La densidad óptica del color revelado se lee con un fotómetro para placas a 450 nm con una longitud de onda de referencia seleccionada dentro de los 650 nm.

Control de calidad

Para la validar la prueba se debe calcular cumplir lo siguiente:

- NCx: Absorbancia media del control negativo debe ser menor de 0,1 (cuando $NCx < 0,05$, calcular como 0,05).

- PCx: Absorbancia media del control positivo. Si $PCx \leq 0.5$, la prueba se considera inválida, debe probarse nuevamente.

Interpretación de resultados

El punto de corte se calcula con la siguiente formula: **Valor de corte = $NCx \times 2.1$**

- Las muestras con valores de absorbancia < Valor de corte se consideran negativas.
- Las muestras con valor de absorbancia \geq valor de corte se consideran positivas.

Extracción de ARN

Se obtuvo la capa leucocitaria del tubo con E.D.T.A para obtener linfocitos mismos que se lisaron para obtener el material genético usando detergentes y etanol que proporcionan condiciones altamente desnaturizantes a temperaturas elevadas. También se utiliza ARN transportador que reduce las posibilidades de degradación del ARN vírico. El siguiente paso fue la unión del ADN y ARN víricos a la membrana de gel de sílice de las columnas QIAamp MinElute®, que ocurre a medida que la atraviesan por efecto de la centrifugación. Los lavados con soluciones Buffer eliminan las proteínas y otros contaminantes, las sales y el pH garantizan que no se retengan en la membrana. Finalmente, la elución con tampón AVE que es agua sin ARNasa que contiene azida sódico al 0,04 % para evitar el crecimiento microbiano y la posterior contaminación con ARNasa.

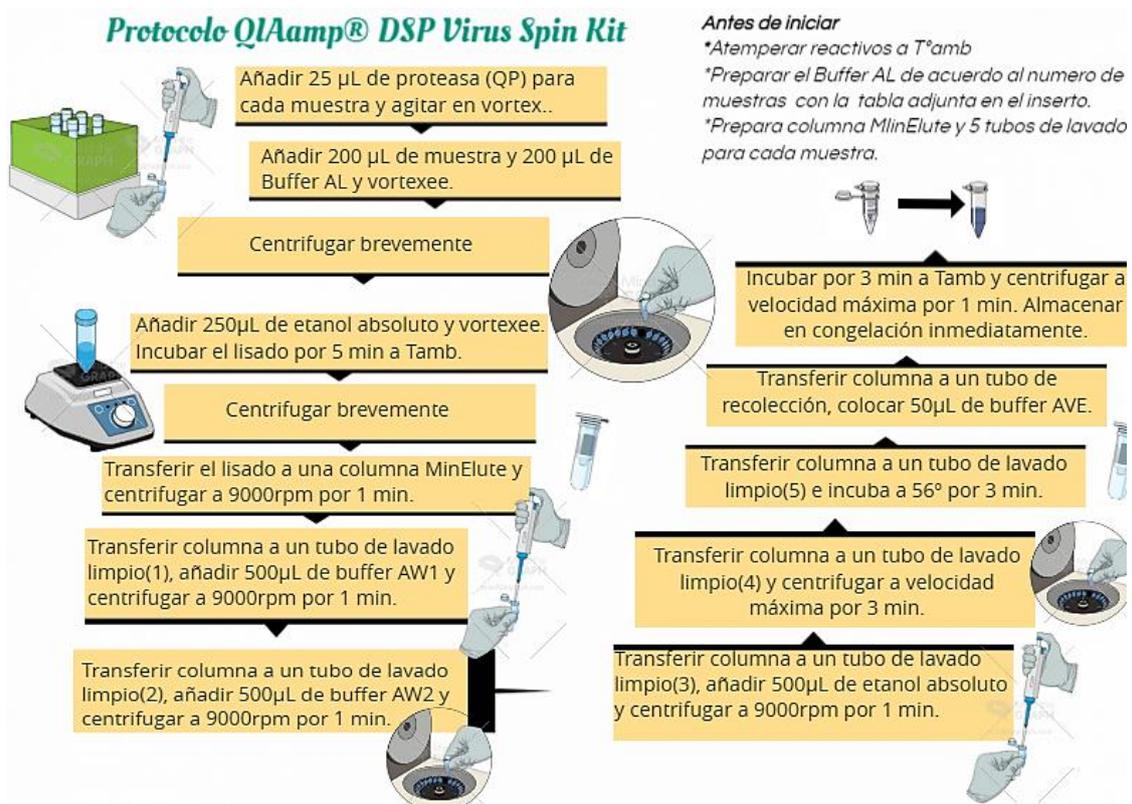


Fig. 14 Protocolo del kit QIAamp® DSP Virus Spin (QIAGEN)

Cuantificación de RNA

La eficacia de los diferentes sistemas de amplificación varía en función de la cantidad total de ácido nucleico presente en la reacción. Por lo tanto, la cuantificación de RNA se realizó en el espectrofotómetro UV/Vis IMPLLEN NanoPhotometer™ a una absorbancia de 260/280 y de pureza a una absorbancia de 260/230, de acuerdo a las instrucciones del equipo. Si las concentraciones son mayores a 100ng se procede a la detección de polimorfismos.

Tabla 4 Directrices de medición UV para el análisis de ARN (*ARN: A 260/280 1.8-2.2)

Absorbancia	Indica presencia de:	Proporciones objetivo
230nm	Compuestos orgánicos, azúcares, urea, sales	$A_{260} / A_{230} > 1,8$
260nm	Todos los ácidos nucleicos	$A_{260} \approx 0,1-1,0$
270nm	Fenol	$A_{260} / A_{270} > 1,0$
280nm	Proteína	ARN: $A_{260} / A_{280} \approx 2,0$ ADN: $A_{260} / A_{280} \approx 1,8$

RT-PCR

La PCR, reacción en cadena de la polimerasa, amplifica los fragmentos de ADN

mediante la acción de la ADN polimerasa y utilizando como cebador una pareja específica de primers o cebadores, a temperatura y tiempo adecuados, tendremos moléculas de ADN idénticas del ARNm específico que queremos detectar mediante electroforesis en gel. Por ello, es necesario generar primero una cadena de DNA complementario (cADN) a partir del ARNm la técnica denominada Transcripción inversa que utiliza la enzima transcriptasa inversa (RT), usando como molde una molécula de ARN a la que se ha unido un pequeño fragmento de ADN que actúa como cebador específico de los genes a evaluar. Se visualizan los productos amplificados mediante electroforesis.

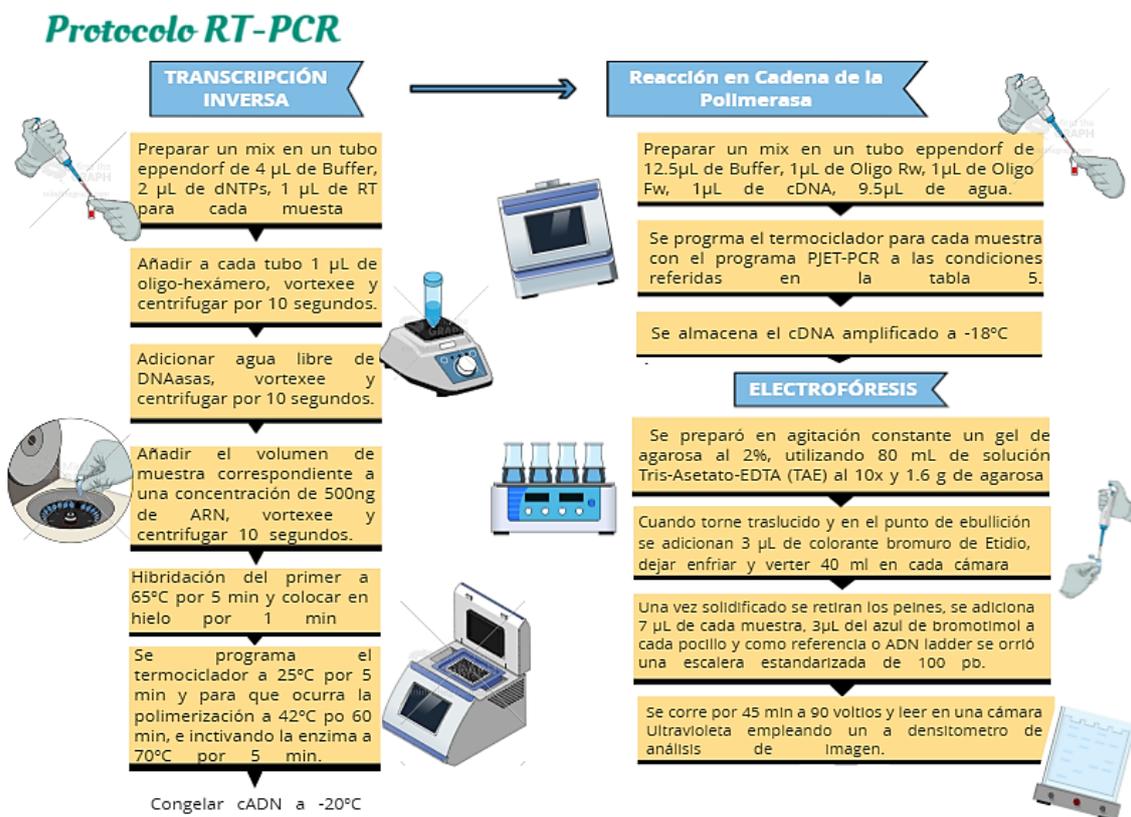


Fig. 15 Protocolo RT-PCR

Tabla 5 Oligonucleótidos y condiciones de la PCR de punto final.

SNP'S	OLIGÓNUCLEÓTIDOS* (5'-3')	CONDICIONES	TAMAÑO DEL PRODUCTO
LEP rs7799039 -2548 G > A	Fw: 5'-AAC TTT CTC TAA AGG GCC AGG TA-3' Rw: 5'-GTT GTC TTC CCT TGT TCC CTA AA-3'	Se desnaturalizó durante 10 minutos a 95 °C. posteriormente se someterá a 55 ciclos de lo siguiente: Desnaturalización a 94° C durante 1 minuto, y alineamiento a 58,5° C por 1 minuto, extensión a 72° C durante 1 minuto y posteriormente a 72° C, y finalizando con una sola extensión de 7 min a 72 °C	242 pb

LEPR rs1137101 - Gln223Arg	Fw: 5'-ACC CTT TAA GCT GGG TGT CCC AAA TAG-3' Rw: 5'-AGC TAG CAA ATA TTT TTG TAA GCA ATT-3'	Se desnaturalizó durante 10 minutos a 95 °C posteriormente se someterá a 55 ciclos de lo siguiente: Desnaturalización a 94° C durante 1 minuto, y alineamiento a 50 °C por 1 minuto, extensión a 72° C durante 1 minuto y finalizando con una sola extensión de 7 min a 72 °C	416 pb
ADIPOQ rs1501299 +276G/T	Fw: 5'-TAG GTC CCA ACT GGG TGT GT -3' Rw: 5'-AGA TGC AGC AAA GCC AAA GT-3'	Se desnaturalizó durante 10 minutos a 94 °C durante 10 min, seguido de 35 ciclos de Desnaturalización a 94° C durante 1 minuto, y extensión a 55° C por 1 minuto y 72° C durante 1 minuto. Finalizando con una sola extensión de 10 min a 72 °C	

*Los oligonucleótidos se sintetizaron por la casa comercial Macrogen

Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción

Es una técnica conocida como RFLP, siglas en inglés de *Restriction Fragment Length Polymorphism*, en la que los productos del PCR amplificadas se someten a la digestión enzimática con las enzimas de restricción correspondientes (Ver la siguiente tabla) durante 4 horas a 65° C y las muestras digeridas son separadas por electroforesis en gel de agarosa al 2% teñido con bromuro de Etidio.

SNP'S	ENZIMA	PRODUCTOS	REFERENCIA
LEP rs7799039 -2548 G > A	HhaI	Heterocigoto G/A 242pb, 181pb y 61 pb; Homocigoto G/G 181pb y 61pb; y Homocigoto A/A 242 pb	134
LEPR rs1137101 -Gln223Arg	MspI	Heterocigoto Gln/Arg 416 pb, 291 pb, 124 pb; Homocigoto Arg/Arg 291 pb, 214 pb; y Homocigoto Gln/Gln 416 pb	
ADIPOQ rs1501299 +276G/T	BsmI	Heterocigoto G/T 500 pb, 350 pb, 150 pb; Homocigoto G/G 350 pb, 150 pb; y Homocigoto T/T 500 pb	135

7.4 Tamaño de muestra

El universo de trabajo es de 34,119(**N**) mujeres mayores de 60 años, que pertenecen a los municipios de Toluca (33,553) y Metepec (566). Y siguiendo el supuesto de que en agosto de 2021 la secretaría de salud de México informó que el 54 %(**p**) de los adultos mayores contaba con esquema completo de vacunación¹³⁶. Con esta información se calcula el tamaño de muestra para una proporción, cuya ecuación es:

Ecuación

$$\text{Tamaño de la muestra } n = \frac{EDFF * Np(1-p)}{[(d^2/Z^2_{1-\alpha/2} * (N-1) + p * (1-p))]}$$

Donde,

n= tamaño de muestra

N= tamaño de la población

p= proporción estimada

Z= nivel de confianza deseado
d=precisión absoluta, se consideró como 5%
EDFF= efecto del diseño, que en este caso es 1 (muestreo simple aleatorio)

Tamaño de la población (para el factor de corrección de la población finita o fcp)(*N*):34119
frecuencia % hipotética del factor del resultado en la población (*p*): 54%+/-5
Límites de confianza como % de 100(absoluto +/-%)(*d*): 5%
Efecto de diseño (para encuestas en grupo-*EDFF*): 1

Tamaño muestral (*n*) para Varios Niveles de Confianza

IntervaloConfianza (%)	Tamaño de la muestra
95%	378
80%	163
90%	267
97%	462
99%	647
99.9%	1043
99.99%	1441

Fig. 16 Tamaño de muestra para adultos vacunados en los municipios de Toluca y Metepec.
(Resultados de *OpenEpi*, versión 3, la calculadora de código abiertoSSPropor)

Sin embargo, el tamaño de muestra del presente trabajo dependió de los voluntarios que participaron en el estudio, siendo un total de 30. De acuerdo con la literatura en un estudio piloto la muestra debe ser el 10% de la muestra del proyecto, con un mínimo de 30 muestras en estudios transversales basados en la comunidad y de 10 participantes por grupo para realizar comparaciones¹³⁷.

7.5 Diseño estadístico

El análisis estadístico se realizó en el paquete estadístico Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)® versión 21,0 y hojas de cálculo de Microsoft Excel. Se calcularon estadísticas descriptivas para todas las variables y pruebas de normalidad. Para determinar la significación estadística de las variables de interés se empleó el análisis de varianza (ANOVA) para distribuciones normales y en caso de pruebas no paramétricas mediante el análisis de rangos de Kruskal-Wallis, de acuerdo a la clasificación en clases de IMC (peso normal, sobrepeso y obesidad) y correlaciones, así como gráficos para interpretar los datos obtenidos de concentración de IgG humana anti-N. Un análisis de la frecuencia de genotipos y la diferencia usando la prueba de chi cuadrado, razones de probabilidad (OR) e intervalos de confianza (IC) del 95 % para evaluar el riesgo relativo de asociación de los polimorfismos de obesidad LEP (-2548 G>A), LEPR (-Gln233Arg) y ADIPOQ (+276 G/T); finalmente, la asociación de la concentración de IgG según la presencia de los polimorfismos mediante un análisis de regresión. Un valor de $p < 0.05$ se consideró estadísticamente

significativo.

Operacionalización de variables

Variable	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición
IMC	Medida de expresión de la relación entre el Peso y la Talla.	Cuantitativa independiente	El peso de una persona en kilogramos dividido por el cuadrado de la estatura en metros.
Biometría Hemática	Medición <i>in silico</i> de los analitos correspondientes a la biometría hemática.	Cuantitativa independiente	Los establecidos internacionalmente (ver tabla Tabla 7)
Química Sanguínea	Medición clínica de los analitos, glucosa, urea, creatinina, ácido úrico, triglicéridos y colesterol	Cuantitativa independiente	mg/dL
Comorbilidades	Incluye obesidad, diabetes, hipertensión arterial, enfermedad respiratoria.	Cualitativa independiente	Presencia o ausencia de la comorbilidad.
DO 3º mes	Cantidad de absorbancia producida por IgG detectada mediante la técnica ELISA en el suero, al tercer mes de la segunda dosis de vacunación	Cuantitativa dependiente	Densidad óptica a 450 nm
DO 4º mes	Cantidad de absorbancia producida por IgG detectada mediante la técnica ELISA en el suero, al cuarto mes de la segunda dosis de vacunación	Cuantitativa dependiente	Densidad óptica a 450 nm
Primera toma	Número de días alusivos a 3 meses desde que el paciente completó dos dosis de vacunación.	Cuantitativa independiente	Días transcurridos desde el día que recibió la vacuna y la primera toma de muestra
Segunda toma	Número de días alusivos a 4 meses desde que el paciente completó dos dosis de vacunación	Cuantitativa independiente	Días transcurridos desde el día que recibió la vacuna y la segunda toma de

			muestra
LEP (-2548 G>A)	Presencia de la banda de absorbancia para el polimorfismo.	Cualitativa dependiente	Absorbe (A) o No Absorbe (NA)
LEPR (-Gln233Arg)	Presencia de la banda de absorbancia para el polimorfismo.	Cualitativa dependiente	Absorbe (A) o No Absorbe (NA)
ADIPOQ (+276 G/T)	Presencia de la banda de absorbancia para el polimorfismo.	Cualitativa dependiente	Absorbe (A) o No Absorbe (NA)

10. Consideraciones éticas

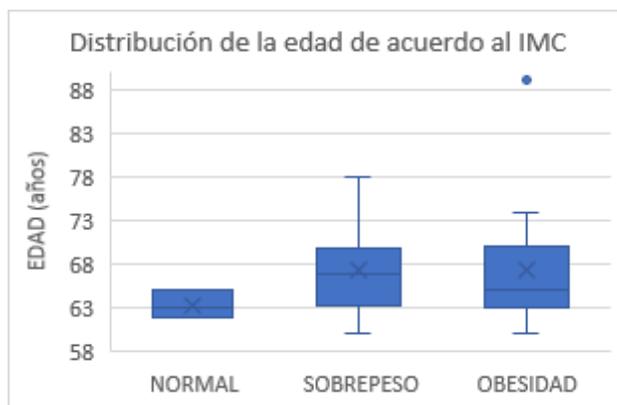
El estudio se apega a los principios científicos y éticos de la declaración de Helsinki adoptada por la Asociación Médica Mundial en su 64^a Asamblea General, Fortaleza, Brasil, octubre 2013. Así como a las normas correspondientes en la Ley General de Salud de los Estados Unidos Mexicanos. La participación de los pacientes es de forma voluntaria e informada, para ello se contó con la firma de la carta de consentimiento informado. Los involucrados en el presente trabajo de investigación declaran no tener conflictos de intereses.

11. Resultados

El presente trabajo contó con 30 voluntarias mujeres postmenopáusicas que cumplieron con los criterios de inclusión. Las características de las participantes se muestran en la

Tabla 6. La mediana de edad de los participantes fue de 65 años (rango intercuartílico, 63-69 años), el 63,3% eran mestizos y el 36,7% caucásicos por lo que la muestra de estudio fue heterogénea. Se clasificó el IMC de acuerdo a la OMS,

obtenido un 10% IMC normal, 53,3% con sobrepeso y 36,7% con obesidad; mismos que se corroboran al identificarse con hábitos de sedentarismo 63,3% y mala alimentación 66,7%. El 83,3% sufre una o más de las siguientes comorbilidades asociadas a COVID-19: la más común fue la hipertensión en un 50%, seguida de diabetes en el 23,3% de las participantes, enfermedad crónica pulmonar en un 16,7% con 4 casos por asma y 1 por bronquitis, enfermedades autoinmunes como hipotiroidismo 1 caso y 2 por artritis reumatoide, finalmente se reportaron 2 casos con cáncer y 2 más de tabaquismo, uno de ellos de forma pasiva. Asimismo, se observa una correspondencia en la mayoría de los casos entre las pacientes que padecen comorbilidades y obesidad con antecedentes heredofamiliares directos. Otro aspecto a considerar es que el 50 % informó estar estresada. Cabe destacar que, aunque el 86,6% sufrió una reacción adversa esperada tras la vacunación (como dolor muscular, cansancio, fiebre, diarrea, gripe, escalofrío, comezón y enrojecimiento), ésta fue leve y se resolvió en el transcurso de 2-3 días, por lo que la vacuna es segura y sus beneficios son mayores (ver Gráfica 7). Por otro lado, el 20% de las pacientes tenían antecedentes de contacto con COVID-19 mediante familiares cercanos, de las cuales el 16,7% mencionaba haber tenido algún síntoma como gripa leve y se clasificaron como presuntos casos por COVID-19, ya que no se contó con una prueba confirmatoria.



Gráfica 8 Distribución de la edad de acuerdo al IMC

Tabla 6 Caracterización de las voluntarias del estudio

Característica	BNT162b2* (N= 30)	Antecedentes Familiares
Edad (años), mediana (IQR)	65 (63-69)	N/A
Pertenencia étnica, no. (%)		
Mestiza	19 (63,3)	N/A
Caucásica	11 (36,7)	
Clasificación del IMC, no. (%)		
Normal	3 (10,0)	
Sobrepeso**	16 (53,3)	17 (53,3) †

Obesidad	11 (36,7)	
Sufre alguna comorbilidad (%)	25 (83,3)	
Enfermedad respiratoria, no. (%)		
Asma	4 (13,3)	2 (6,7)
Bronquitis	1 (3,3)	
Hipertensión, no. (%)	15 (50,0)	10 (33,3)
Diabetes, no. (%)	7 (23,3)	10 (33,3)
Cáncer, no. (%)	2 (6,7)	3 (10,0)
Estado de tabaquismo, no. (%)	2 (6,7)	N/A
Otras enfermedades crónicas, no. (%)		
Hipotiroidismo	1 (3,3)	N/A
Artritis reumatoide	2 (6,7)	
Estrés, no. (%)	15 (50,0)	N/A
Covid-19, no. (%)	5 (16,7)	6 (20,0)
Colesterol y triglicéridos elevados, no. (%)	13 (43,3)	N/A
Reacción Adversa a la vacuna, no. (%)		
Ninguno	4 (13,3)	N/A
Dolor muscular, cansancio	18 (60,0)	
Fiebre, diarrea, gripe, escalofrío	7 (23,3)	
Comezón y enrojecimiento	1 (3,3)	
Menarca (años), mediana (IQR)	14 (12-14)	N/A
Menopausia (años), mediana (IQR)	49 (45-50)	N/A
Embarazo, no. (%)		
Ninguno	3 (10,0)	
2-5	8 (26,7)	N/A
6-8	17 (53,3)	
9-11	2 (6,7)	
Lactancia, no. (%)		
Nunca	4 (13,3)	N/A
2-6 meses	9 (30,0)	
1 a 1.5 años	17 (53,3)	
Sedentarismo, no. (%)	19 (63,3)	N/A
Mala alimentación	20 (66,7)	N/A

Abreviaturas: IQR, rango intercuartílico. IMC, índice de masa corporal

* Las personas incluidas en los análisis recibieron una primera dosis de BNT162b2 entre el 1 de julio y el 20 de septiembre de 2021.

** La obesidad se definió como un IMC (el peso en kilogramos dividido por el cuadrado de la altura en metros) de 30 o más, el sobrepeso como un IMC mayor o igual a 25 a 29,9 y normal para un IMC menor o igual a 24,9

† Antecedentes familiares de sobrepeso y obesidad

La evaluación clínica de las pacientes se resume en la

Tabla 7, en la que se incluyen las pruebas de laboratorio de biometría hemática y química sanguínea. Los hallazgos que se obtuvieron de la biometría hemática son los siguientes: aunque se encontró el recuento de leucocitos cercano al límite inferior de referencia, al no haber manifestaciones clínicas o algún otro parámetro alterado no es relevante. En cuanto al porcentaje de neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos la media se encuentra dentro de los valores normales. Curiosamente se observa un discreto aumento en los neutrófilos y una leve disminución de linfocitos en los grupos de sobrepeso y obesidad en comparación con los voluntarios de peso normal. En la serie roja, encontramos valores de eritrocitos, hemoglobina, hematocrito e índices

eritrocitarios con medias dentro del rango de referencia. El recuento de plaqueta se encuentra cerca del límite normal inferior, que es común en adultos mayores de 60 debido a la hiperactividad plaquetaria en el envejecimiento. Referente a la química sanguínea se encontraron elevados los analitos glucosa, triglicéridos y colesterol en caso de IMC alto, que corresponde a los grupos con sobrepeso y obesidad. Los casos de diabetes se encuentran repartidos entre sobrepeso (4) y obesidad (3) y, además, en el cuestionario se les pidió a las voluntarias que indicaran si regularmente presentaban triglicéridos y colesterol elevados, confirmando 6 pacientes con obesidad y 7 que presentan sobrepeso. Mientras que el resto de los analitos evaluados, creatinina, urea, BUN y ácido úrico se encontraron sin alteraciones.

Además, se evaluó si había una diferencia estadísticamente significativa al determinar el valor p a un nivel de confianza del 95%, no sin antes emplear las pruebas de normalidad y elegir las pruebas más convenientes para comparar las medias de los pacientes con peso normal contra sobrepeso y obesidad (Ver Anexo 4. Pruebas de normalidad y Anexo 5. Comparación entre dos medias). Se observa una diferencia estadísticamente significativa en la concentración de triglicéridos en voluntarias con sobrepeso en comparación con las que presentan normopeso. No hubo diferencias estadísticamente significativas entre las medias del resto de los analitos en los diferentes grupos de IMC.

Tabla 7 Características clínicas de las voluntarias: Biometría hemática y química sanguínea de 6 elementos

BIOMETRÍA HEMÁTICA						
Analito	Unidades	Rango de Referencia	Peso normal (n=3) Media ± DE (Mín. - Máx.)	Sobrepeso (n=16) Media ± DE (Mín. - Máx.)	Obesidad (n=11) Media ± DE (Mín. - Máx.)	Valor P
LEUCOCITOS	10 ³ /μL	4000-10000	4,45±1,115 (4,05-5,71)	4,59±1,542 (2,3-7,45)	5,00±1,383 (2,74-7,35)	0,73
NEUTROFILOS	%	35-75	50,17±11,660 (38,8-62,1)	58,99±6,574 (44,7-69,2)	56,87±10,324 (41,1-76,5)	0,273
LINFOCITOS	%	22-44	42,57±13,387 (27,3-52,3)	30,73±6,593 (20,8-46,6)	32,48±8,202 (14,7-45,6)	0,076
MONOCITOS	%	3-9	4,10±1,153 (3,6-5,8)	5,30±1,767 (2,5-8,7)	4,79±1,720 (2,3-7,1)	0,605
EOSINÓFILOS	%	0-5	2,2±,635	2,83±1,832	3,08±3,060	0,882

			(2,2-3,3)	(0,1-6,1)	(0-10)	
BASÓFILOS	%	0-2	0,57±0,115 (0,5-0,7)	0,89±0,415 (0,3-2,1)	0,98±0,840 (0,2-2,6)	0,257
ERITROCITOS	10 ⁶ /μL	4,3-5,3	5,18±0,288 (4,82-5,39)	5,12±0,533 (4,34-6,07)	5,19±0,655 (4,41-6,49)	0,951
HEMOGLOBINA	g/dL	12,8-16,8	14,97±0,551 (14,6-15,6)	15,69±1,245 (13,4-17,6)	16,03±1,470 (14,1-18,8)	0,454
HEMATOCRITO	%	38,4-50,4	47,80±2,50 (45,3-50,3)	47,44±4,293 (41,1-56,5)	48,80±5,027 (41,3-56,6)	0,74
VCM	fL	83-100	93,4±0,583 (92,4-93,9)	92,94±4,213 (85-99,6)	93,98±4,903 (85,2-103,8)	0,83
HCM	pg	28-32	29,87±1,474 (28,2-31)	30,78±1,578 (28,4-34,1)	31,12±2,654 (24,8-33,9)	0,643
CMHC	g/dL	32-34,5	30,90±1,345 (29,8-32,4)	33,16±1,501 (30,5-35,5)	32,93±1,831 (29,1-35,4)	0,103
RDW	%	12,78-15	14,60±1,401 (13,9-16,6)	13,92±0,490 (12,8-14,6)	14,17±1,310 (13-17,9)	0,195
PLAQUETAS	10 ³ /μL	130-400	143,00±27,785 (111-161)	176,19±77,863 (17-355)	183,82±50,970 (105-303)	0,643
MPV	fL	7,8-15	13,97±0,586 (13,3-14,4)	12,09±2,326 (7,8-15,6)	12,93±2,591 (8,4-15,9)	0,386

QUÍMICA SANGUÍNEA DE 6 ELEMENTOS

Analito	Unidades	Rango de Referencia	Peso normal	Sobrepeso	Obesidad	Valor P
			(n=3)	(n=16)	(n=11)	
			Media ± DE (Mín. - Máx.)	Media ± DE (Mín. - Máx.)	Media ± DE (Mín. - Máx.)	
GLUCOSA	mg/dL	74-105	95,73±35,747 (74,3-137)	106,99±49,084 (60,1-268,8)	127,41±56,761 (83,4-268,3)	0,349
CREATININA	mg/dL	0,4-1,3	0,54±0,140 (0,39-0,67)	0,78±0,234 (0,63-1,47)	0,81±0,170 (0,71-1,01)	0,316
UREA	mg/dL	21-43	24,70±2,553 (22,5-27,5)	32,81±12,972 (26,7-64,3)	30,35±7,555 (16,9-40)	0,476
BUN	mg/dL	9-21	11,53±1,168 (10,5-12,8)	15,31±6,048 (12,5-30)	14,16±3,529 (7,9-18,7)	0,17
ÁCIDO ÚRICO	mg/dL	2,6-8,7	5,60±0,764 (4,72-6,09)	5,28±,978 (4,3-7,24)	5,79±1,648 (2,7-8,05)	0,589
TRIGLICÉRIDOS	mg/dL	0-150	93,23±19,741 (72,1-111,2)	318,03±357,654 (197,9-1564)	246,04±158,958 (71,8-540,1)	0,045

COLESTEROL	mg/dL	0-200	114,55±51,548 (78,1-151)	182,24±57,464 (111-282,7)	188,80±23,891 (152,2-216,7)	0,167
-------------------	-------	-------	-----------------------------	------------------------------	--------------------------------	-------

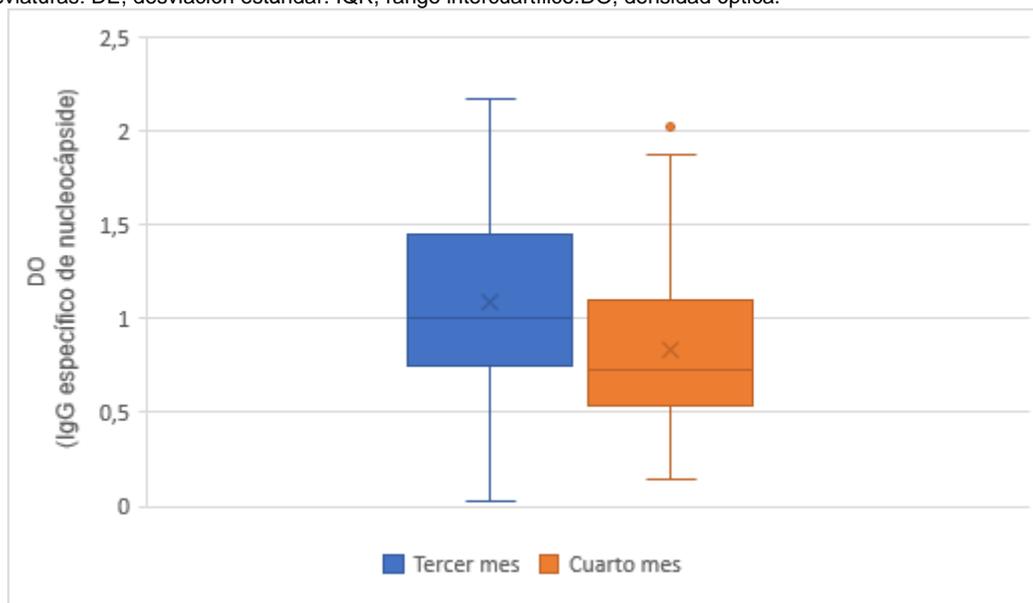
Abreviaturas: Volumen corpuscular medio (VCM), Hemoglobina corpuscular media (HCM), Concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM), Ancho de distribución de glóbulos rojos (siglas en inglés RDW), (VPM) volumen plaquetario medio. DE, desviación estándar.

Durante un seguimiento medio del tercer mes (rango intercuartílico, 86-105,25) al cuarto mes días (rango intercuartílico, 129,5-140,75) de pacientes con esquema completo de vacunación (dos dosis) con BNT162b2 de la marca Pfizer-BioNTech se recolectaron dos muestras de los pacientes. Se observó una densidad óptica (DO) de IgG humana específica de la nucleocápside del SARS-CoV-2 con medias de 1,09±,520 y 0,84±0,456 respectivamente. En 6 pacientes la DO aumentó al cuarto mes y para el resto disminuyó, esta tendencia queda evidenciada en la Gráfica 9, en la que se observa un aumento de las DO más pequeñas y la disminución de las mayores en el cuarto mes de medición.

Tabla 8 Estadísticos descriptivos serológicos

Característica	Estadísticos descriptivos (N= 30)
Primera toma (días), media± DE (IQR)	92,43±21,239 (86-105,25)
Primera concentración de IgG anti-N (DO) media± DE (IQR)	1,09±0,520 (0,745-1,449)
Segunda toma (días), media± DE (IQR)	131,07±21,698 (129,5-140,75)
Segunda concentración de IgG anti-N (DO) media± DE (IQR)	0,84±0,456 (0,532-1,100)

Abreviaturas: DE, desviación estándar. IQR, rango intercuartílico. DO, densidad óptica.



Gráfica 9 Seguimiento a los 3 y 4 meses de la evaluación de anticuerpos IgG específicos de Nucleocápside en muestras de suero de mujeres mayores de 60 años.

Los niveles de DO de anticuerpos IgG específicos para la proteína de la nucleocápside se muestran en el Anexo 3. ELISA IgG anti-N, la respuesta serológica fue positiva para el 96,66 % de los pacientes en el tercer mes y del 93,33% en el cuarto mes.

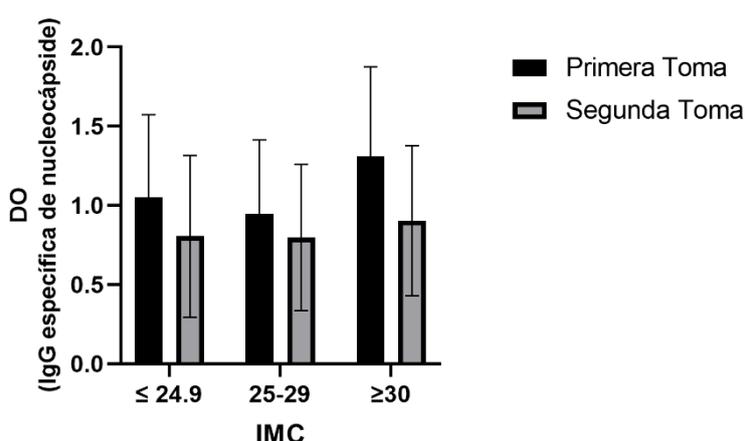
$$\% \text{ Positividad}_{3^{\text{o}} \text{ mes}} = \frac{\text{Muestras positivas} \times 100\%}{\text{Total de muestras}} = \frac{29 \times 100\%}{30} = 96,66\% \text{ al tercer mes}$$

$$\% \text{ Positividad}_{4^{\text{o}} \text{ mes}} = \frac{\text{Muestras positivas} \times 100\%}{\text{Total de muestras}} = \frac{28 \times 100\%}{30} = 93,33\% \text{ al cuarto mes}$$

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas al estratificar los datos de acuerdo a clasificación del IMC. Pero, se observa más elevada la media de DO en pacientes obesos, en comparación con sobrepeso y obesidad. (Ver **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** y Gráfica 10)

Tabla 9 DO de anticuerpos IgG anti-N de acuerdo a la clasificación de IMC

CLASIFICACIÓN DEL IMC	DO 3º MES	DO 4º MES
Peso normal (n=2)		
Media ± DE	1,05±0,523	0,81±0,511
(Mín. - Máx.)	(0,62-1,632)	(0,225-1,188)
Sobrepeso (n=12)		
Media ± DE	0,95±0,465	0,80±0,462
(Mín. - Máx.)	(0,028-1,726)	(0,148-2,026)
Obesidad (n=10)		
Media ± DE	1,31±0,564	0,90±0,474
(Mín. - Máx.)	(0,61-2,174)	(0,259-1,873)
Valor p	0,207	0,843



Gráfica 10 Evaluación de anticuerpos IgG específicos de Nucleocápside en muestras de suero de acuerdo al IMC de los pacientes.

Luego, empleando una regresión lineal entre el IMC como variable predictora y la concentración de IgG anti-N específica de SARS-CoV-2 como variable

dependiente, obteniendo un coeficiente de correlación de 0,377 y un coeficiente de determinación de $r^2=0,142$, al tercer mes de completar el esquema de inmunización, por lo tanto, decimos que podemos predecir un 14,2% de la ecuación final, encontrando que el valor de IMC es directamente proporcional con un eficiente de regresión (B) de 0,044, una potencia de 37,7 % y una significancia estadística de 0,040, en un intervalo de confianza del 95% que va de 0,002 a 0,085. Adicionalmente comparamos una diferencia entre las medias de DO mediada y la calculada por la ecuación de $0,0085 \pm 0,4815$ (Ver Anexo 7. Regresión lineal).

Tabla 10 Correlación de Pearson para Concentración 1 e IMC

R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación	Estadísticos de cambio				
				Cambio en R cuadrado	Cambio en F	gl1	gl2	Sig. Cambio en F
,377 ^a	,142	,111	,490021	,142	4,634	1	28	,040

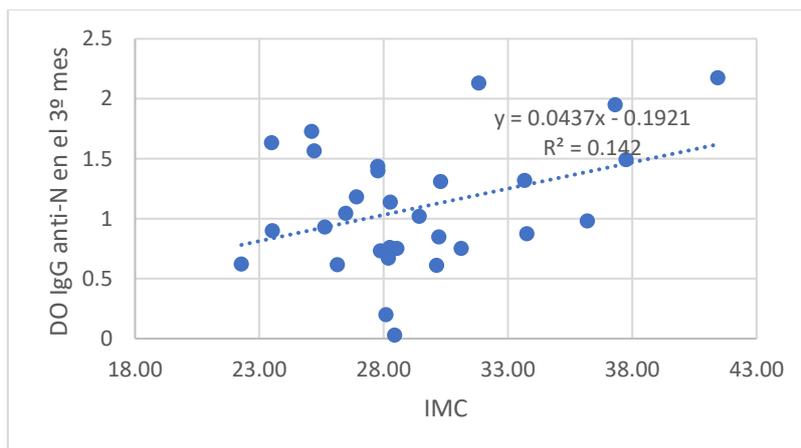
- a. Variables predictoras: (Constante), IMC del paciente
 b. Variable dependiente: Concentración 1

Tabla 11 Coeficientes de la correlación lineal del IMC y la concentración de IgG anti-N.

Modelo	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes tipificados	t	Sig.	Intervalo de confianza de 95,0% para B	
	B	Error típ.	Beta			Límite inferior	Límite superior
(Constante)	-,192	,603		-,318	,752	-1,427	1,043
IMC del paciente	,044	,020	,377	2,153	,040	,002	,085

Variable dependiente: Concentración 1

Ecuación de la regresión, DO IgG anti-N en el 3º mes = -0,192+ (0,044 x IMC del paciente)



Gráfica 11 Regresión lineal entre DO IgG anti-N en el 3º mes y el IMC

Finalmente, se realizó una prueba de Rho de Spearman para encontrar el coeficiente de correlación y su significancia estadística con la densidad óptica de IgG anti-N medida al tercer y cuarto mes para la biometría hemática, química sanguínea de seis elementos y comorbilidades. En la **Tabla 12** se sintetizan las correlaciones encontradas tanto a nivel general como por su clasificación de acuerdo al IMC y en la **Tabla 13** las correlaciones de acuerdo a las comorbilidades.

Como vimos anteriormente la concentración de IgG se correlaciona negativamente con el tiempo, es decir en el cuarto mes encontramos valores de DO más bajo que en el tercer mes, y en el caso de pacientes obesos encontramos que entre mayor sea el IMC mayor será la lectura de DO al tercer mes. En las voluntarias con normopeso encontramos que el porcentaje de linfocitos se correlacionó con el aumento de los valores de densidad óptica de IgG anti-N y de forma inversa con los neutrófilos, recordando que es la inmunidad celular es la responsable de la inmunidad protectora. Por otro lado, el aumento del colesterol se correlacionó con una menor DO de IgG anti-N, la cual no es del todo clara y podría ser producto del tamaño de muestra reducido.

Tabla 12 Principales correlaciones con DO 3º y 4º mes estadísticamente significativas, clasificadas por IMC.

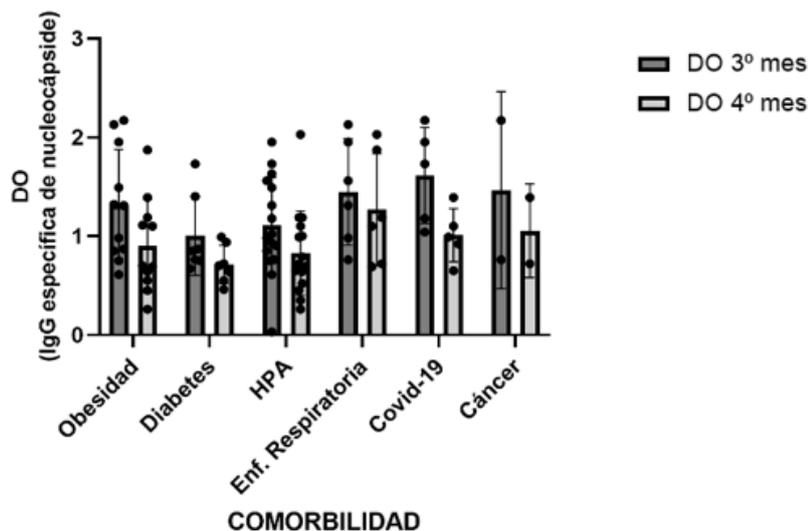
CORRELACIONES		Coeficiente de correlación (r)	Sig. (bilateral) p
General	Concentración de IgG correlaciona negativamente con el tiempo	-0,455	0,012(3º mes)
		-0,364	0,048 (4º mes)
Peso normal	Densidad óptica de IgG anti-N Al tercer y cuarto mes con el porcentaje de Neutrófilos (positiva) y Linfocitos(negativa)	-1,000	0,000(Neu)
		1,000	0,000(Lin)

	El aumento de colesterol se correlacionó con menor DO de IgG anti-N	-1,000	0,000
	La concentración de IgG negativamente con el tiempo	-1,000	0,000
Sobrepeso	Concentración de IgG de forma negativa con el tiempo	-0,664	0,005
Obesidad	Concentración de IgG y el IMC del paciente (positiva)	0,718	0,013

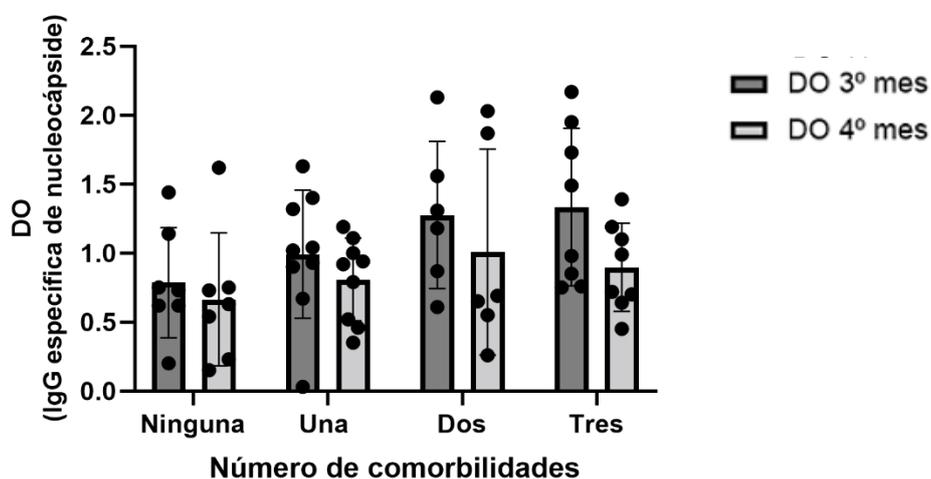
Se consideraron las siguientes comorbilidades: obesidad, diabetes, hipertensión arterial (HPA), enfermedad respiratoria, haber estado en contacto cercano con Covid-19, cáncer y el número de comorbilidades de ninguna a tres. Encontrando correlaciones positivas con significancia estadística para enfermedad respiratoria, covid-19 y número de comorbilidades, es decir, que al presentar estas comorbilidades y al aumentar el número de comorbilidades, encontramos valores más altos de DO de IgG anti-N como se observa en las gráficas Gráfica 12 y Gráfica 13.

Tabla 13 Correlación entre Do de IgG anti-N y comorbilidades

Correlaciones Rho de Spearman N=30	DO 3º MES		DO 4º MES	
	Coefficiente de correlación (r)	Sig. (bilateral) p	Coefficiente de correlación (r)	Sig. (bilateral) p
OBESIDAD	0,252	0,180	0,108	0,570
DIABETES	-0,105	0,582	-0,114	0,549
HPA	0,100	0,598	0,008	0,968
ENF. RESPIRATORIA	0,327	0,077	0,414*	0,023
COVID-19	0,450*	0,013	0,253	0,177
CÁNCER	0,139	0,464	0,170	0,370
NÚMERO DE COMORBILIDADES	0,405*	0,026	0,228	0,225



Gráfica 12 IgG anti-N en presencia de comorbilidades



Gráfica 13 IgG anti-N de acuerdo al número de comorbilidades

12. Discusión

En el presente estudio, hemos evaluado la respuesta de anticuerpos IgG humanos específicos de la nucleocápside del SARS-CoV-2 en 30 mujeres postmenopáusicas mayores de 60 años, después de recibir esquema completo de vacunación con la vacuna BNT162b2 de Pfizer-BioNTech en marzo y abril de 2021, la cual está basada en RNAm que codifica la proteína Spike, por lo que se esperaban resultados negativos. Sin embargo, curiosamente se encontró, durante el tiempo de seguimiento, al tercer mes (julio de 2021) y cuarto mes (agosto de 2021) de completar el esquema de vacunación, la prueba ELISA fue positiva en un 96,66% y 93,33% respectivamente. Obteniendo un resultado positivo en todas las voluntarias ya fuese en el tercer o cuarto mes. La tendencia fue a la baja de forma general para el cuarto mes, pero se encontraron 6 casos

en los que aumentó la densidad óptica al medir IgG anti-N en el cuarto mes. Al comparar con el periodo en que se tomaron las muestras, coincide con la tercera ola en la que predominó la variante Delta en el estado de México, en los que se encuentra Toluca y Metepec, municipios a los que pertenecen las participantes del estudio (Ver Gráfica 1 y Gráfica 3). Por lo tanto, todas las participantes estuvieron en contacto con SARS-CoV-2 y desarrollaron, además, una infección natural con el virus al inducir anticuerpos contra otros compuestos virales, como la nucleocápside; posiblemente con la variante de preocupación Delta que en ese momento estaba presente en un 99% de las secuencias, la cual presenta un tiempo de incubación más corto y una mayor facilidad de fusión con la célula, promoviendo el desarrollo de la infección y su transmisión.

Al observar la Gráfica 2 vemos que, pese a tener una un pico de casos más pronunciado las defunciones disminuyeron, lo que nos habla de la efectividad de la vacunación la cual priorizó a los principales grupos de riesgo que incluye a adultos mayores. El 10,58% de las defunciones del país pertenece a mayores de 60 años mexicanos (ver Gráfica 4y Gráfica 5), debido a que en la vejez se tiene un grupo reducido de células T ingenuas. La efectividad de BNT162b2 para casos graves por SARS-CoV-2 es del 57% para la primera dosis y de 87% en la segunda dosis contra Delta y de 96 % de eficacia en la prevención de la hospitalización¹³⁸, así pues, las pacientes evaluadas al contar con dos dosis de vacunación pudieron disminuir el tiempo de diseminación viral, lo que provocó una infección asintomática, con respuesta inmune contra la proteína N de este nuevo virus y presentan eficacia en la inmunización, dado que no desarrollaron síntomas de COVID-19 pese a haber estado en contacto con el virus. Sin embargo, no se debe olvidar que las infecciones asintomáticas tienen la misma infectividad que las infecciones sintomáticas y podría estar implicadas aproximadamente en más del 20 % en la transmisión del virus siendo que el SARS-CoV-2 es transmisible en la fase presintomática¹³⁹. Se propone que la respuesta humoral observada posterior a 3-4 meses de la vacunación es debida a una infección irruptiva, debido a que la vacunación disminuye el tiempo de respuesta inmune lo que a su vez modifica la cinética de la diseminación viral (carga viral más baja), resultando en infecciones asintomáticas, no obstante, no se ha identificado ningún anticuerpo específico o título de umbral neutralizante que pueda predecir el grado de protección a través del tiempo, por lo que la

continuidad de medidas sociales que disminuyan la transmisión son fundamentales, así como el monitoreo de la frecuencia, la gravedad, las causas y características individuales y demográficas de las infecciones intercurrentes. Asimismo, el tiempo es un factor importante ya que observamos que la concentración de IgG se correlaciona negativamente con el tiempo (=) con una ligera tendencia a la baja al cuarto mes en comparación con el tercero, para entenderlo debemos recurrir a la cinética de IgG: tardan 2 semanas en desarrollarse después de la infección natural, va a la baja después de 70 días y se estabiliza entre 3 y 6 meses después, con una vida media de 231 días, y es posible detectar anticuerpos hasta por 10 meses^{140,141}, infiriendo arbitrariamente que en su mayoría se trata de infecciones de entre los 70 días a los 3 meses después del contacto con el virus, pero en algunos estudios, encontraron una rápida disminución en los títulos de anticuerpos contra el SARS-CoV-2 en infecciones con síntomas leves o asintomáticas, lo que sugiere que la persistencia de las respuestas de anticuerpos se correlaciona con la gravedad de la enfermedad.¹⁴² Además, otros estudios sostienen que es la inmunidad celular es la responsable de la inmunidad protectora, cuya respuesta temprana y robusta de linfocitos T controla la infección, y se vincula con infecciones asintomáticas, a diferencia de los anticuerpos la cual no es tan clara¹⁴³. Curiosamente observamos que en obesos el porcentaje de linfocitos es menor que en normopeso, al igual que se corresponden con niveles más altos de neutrófilos que las pacientes con peso normal, aunque sin salir del rango de referencia (Ver Tabla 7).

Se observó un coeficiente de correlación de 0,377 y un coeficiente de determinación de $r^2=0,142$ entre el IMC y la concentración de IgG anti-N, por lo tanto, un mayor valor de IMC está estrechamente relacionado con una mayor respuesta de IgG anti-N, producto del estado de inflamación crónica y mecanismos de atenuación de la actividad del sistema inmunológico. Sin embargo, no se observa diferencias significativas entre las respuestas de unión de anticuerpos entre los subgrupos en el periodo de seguimiento. Esto se corresponde con un estudio en Estados Unidos que analizó la presencia de anticuerpos contra múltiples antígenos del SARS-CoV-2 en 4469 personas, el 24,1 % con obesidad, que no detectó ninguna evidencia de aumento de las tasas de infección, ni diferencias en la inmunidad humoral y la actividad de las células T auxiliares en

personas con sobrepeso u obesidad.¹⁴⁴ Acorde con los datos clínicos de fase 3 de la vacuna BNT162 contra el SARS-CoV-2 se revela que fue igualmente protectora en personas con obesidad¹⁴⁵. Sin embargo, la relación entre obesidad y la respuesta humoral no está de todo clara, pues diversos estudios informan una respuesta humoral disminuida asociada a obesidad por efecto de la inflamación y la desregulación inmunitaria¹⁴⁶. Un punto clave es que se desconoce si los participantes eran seronegativos antes de su primera dosis de vacunación, por lo tanto, la memoria inmunológica podría haber brindado protección contra los síntomas clínicos.

Cabe resaltar el ligero aumento de la respuesta de anticuerpos IgG anti-N en obesos con una densidad óptica media de 1,31 en comparación con las voluntarias de peso normal 1,09, podría explicarse por el papel de la IL-6 secretada por los adipocitos en obesidad que promueve la IL-21 en linfocitos T, requerida para la producción de anticuerpos en linfocitos B. Se ha reportado que la administración de IL-6 en el virus de la influenza aumenta la producción de anticuerpos específicos del virus por mecanismos dependientes de IL-21.¹⁴⁷ Adicionalmente, varios informes muestran que los títulos de anticuerpos más altos están asociados con manifestaciones clínicas graves, lo que sugiere que una respuesta robusta de IgG podría no ser un indicador de inmunidad protectora¹⁴⁸.

Por otra parte, el aumento de la concentración de glucosa e hipertrigliceridemia presentes en pacientes con sobrepeso y obesidad, no afecta la respuesta de anticuerpos a la proteína de la nucleocápside, pero si empeorar las complicaciones de COVID-19 grave al aumentan el riesgo de complicaciones trombóticas e inflamatorias.¹⁴⁹ El aumento del colesterol se correlacionó con una menor DO de IgG anti-N, la cual no es del todo clara y podría ser producto del tamaño de muestra reducido.

Conviene destacar que las principales comorbilidades asociadas a COVID-19 grave y defunciones son la hipertensión, diabetes y obesidad (ver Tabla 1), enfermedades de alta prevalencia en la población adulta. En la muestra estudiada se identificó mediante un cuestionario (ver Tabla 6) el 83,3% de las participantes sufre alguna comorbilidad, que incluye el 50% con hipertensión, el 23,3% con diabetes, el 36,6% con obesidad, el 23,3% con enfermedad respiratoria (asma, bronquitis, tabaquismo) y el 16,7% refiere haber estado

expuesto a personas infectadas con Covid-19, encontrando correlaciones positivas con significancia estadística para enfermedad respiratoria ($r=0,414$ $p=0,023$), Covid-19 ($r=0,450$ $p=0,013$) y número de comorbilidades ($r=0,405$ $p=0,026$). Correlaciones esperadas y confirmándolos como factores de riesgo, ya que, al presentar compromiso en las vías respiratorias, vía de entrada del virus, hace al sujeto más susceptible de infección, al igual que exponerse a contactos con personas infectadas con SARS-CoV-2; y, el tener una comorbilidad implica un mayor esfuerzo por controlar la infección, haciendo más vulnerable a la infección y reinfección, que una persona sana.

Finalmente, el estudio tiene limitaciones importantes: un número insuficiente de muestras, lo que resulta en un pequeño número de participantes en cada subgrupo de IMC, lo que significaba que existía un riesgo potencial de sobrestimar los resultados positivos. La falta de algunos datos clave para tener una mayor potencia como: la evaluación de la respuesta de la vacuna mediante ensayos adicionales específicos para la proteína IgG anti-Spike (S) del SARS-CoV-2, las respuestas de anticuerpos neutralizantes, linfocitos T y datos de una toma antes de la vacunación para descartar una infección natural anterior. Las limitaciones propias de la técnica ELISA, con el Kit Human Anti-nCoV(N) IgG de 2019 (Finetest) cuya la sensibilidad varía de acuerdo con el día oscilado entre 29 al 88% y una especificidad del 83%, además, se reporta pueda presentar falsos positivos por reactividad cruzada por la homología de la nucleocápside con otros coronavirus, *Toxoplasma gondii* y muestras preandémicas, de acuerdo a un estudio que compara 14 ensayos serológicos¹⁵⁰.

13. Conclusiones

La cantidad de personas infectadas con SARS-CoV-2 podría estar subestimada, al demostrar que se produjeron infecciones natural asintomáticas en el grupo de riesgo de mujeres mayores de 60 años con sobrepeso y obesidad con comorbilidades asociadas, posiblemente con la variante de preocupación Delta del virus SARS-CoV-2 al inducir anticuerpos IgG específicos de su nucleocápside, los cuales se correlacionan positivamente con el IMC, es decir, se encontró una mayor concentración en obesos. Sin embargo, varios informes muestran que los títulos de anticuerpos más altos están asociados con manifestaciones clínicas graves, lo que sugiere que una respuesta robusta de

IgG podría no ser un indicador de inmunidad protectora.

Aunque se desconoce si los participantes eran seronegativos antes de su primera dosis de vacunación, no podemos descartar que la respuesta inmune se vio beneficiada tras la inmunización con BNT162b2 de Pfizer-BioNTech basada en RNAm, al observar una reducción en las defunciones y hospitalización, lo que indica que benefició tanto en vacunados como no vacunados, a pesar de la mayor transmisibilidad de la variante Delta, acercándonos a la transición endémica del virus.

Por lo tanto, la continuidad de medidas sociales, consolidar el compromiso público y la confianza en los esfuerzos de vacunación que disminuyan la transmisión es fundamental, así como el monitoreo de la frecuencia, la gravedad, las causas y características individuales y demográficas de las infecciones intercurrentes y la aparición de nuevas variantes virales. Al igual que promover la investigación científica y fortalecer los centros de salud de atención primaria, la colaboración multidisciplinaria a nivel regional, nacional e internacional.

14. Perspectivas y recomendaciones

La propagación y el impacto de la pandemia de Covid-19 ha sido más regional que nacional, con importantes variaciones según la región geográfica, demostrando la importancia de estudios que expongan la diversidad genética y ambiental propias de cada región para desarrollar un enfoque adecuado para mitigar las condiciones óptimas para el crecimiento y la propagación del virus, que implican la toma de decisiones gubernamentales en estrategias de vacunación, seguimiento epidemiológico y medidas sociales. Se abren varias áreas de oportunidad e interés en investigación a partir de este estudio, al encontrar incertidumbre y líneas de evidencia en conflicto que nos lleven a mejorar la comprensión los resultados, como:

- Amplificar este estudio a más regiones y con un mayor número de participantes.
- Determinar si el anticuerpo IgG específico de nucleocápside tiene la capacidad de neutralizar el virus SARS-CoV-2 de igual forma en pacientes obesos y controles con peso normal a través de ensayos de neutralización.

- Evaluar la calidad de los anticuerpos protectores (neutralizantes) versus perjudiciales (autoinmunes y la mejora dependiente de anticuerpos, ADE) en pacientes con COVID-19 con obesidad tras la vacunación.
- Estimar las respuestas entre infecciones irruptivas sintomáticas y asintomáticos a través de las respuestas de células T y anticuerpos en grupos de riesgo
- Valorar la inmunogenicidad específica de las vacunas contra el SARS-CoV-2 al evaluar IgG anti-S y respuestas celulares de linfocitos T, de forma continua ante las variantes de SARS-CoV-2.
- Evaluar la memoria inmunológica a largo plazo en obesos 12 meses después de la vacunación.
- Propiciar e incentivar la búsqueda de estrategias de vacunación, medidas farmacológicas y no farmacológicas en grupos de riesgo regionales.

15. Referencias

16. Anexos

Anexo 1. Carta de Consentimiento Informado

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

_____, México, a _____ de _____ de 2021.

Se le invita a participar en el proyecto de investigación “Asociación de polimorfismos de obesidad LEP (-2548 G>A), LEPR (-Gln233Arg) y ADIPOQ (+276 G/T) en la respuesta de anticuerpos IgG a la vacuna contra SARS-CoV-2 en mujeres mayores de 60 años”

Es importante que lea detenidamente esta hoja de consentimiento informado, que entienda su contenido y el objeto de la misma y que, en su caso, haga todas las preguntas que crea preciso acerca de la misma.

Objetivo del estudio

Este documento tiene como objeto solicitar su autorización escrita para la donación gratuita de una muestra de sangre, con el fin de utilizarla en la investigación. El objetivo de este estudio es evaluar la asociación entre seroprevalencia de IgG producida contra SARS-CoV-2 y los polimorfismos LEP (-2548 G>A), LEPR (-Gln233Arg) y ADIPOQ (+276 G/T) de genes asociados con la obesidad en mujeres vacunadas mayores de 60 años. Es decir, utilizar la muestra de su sangre para aislar DNA y buscar por técnicas de Biología Molecular genes asociados con obesidad y anticuerpos contra SARS-Cov-2.

Su participación en el estudio es voluntaria por lo que en cualquier momento y sin necesidad de dar ninguna explicación, puede decidir acceder, negarse o retirarse del estudio.

Procedimiento

La participación consistirá en la firma de carta de consentimiento informado y contestar cuestionario de factores predisponentes, así como la donación de 2 muestras de sangre periférica (de 8 a 12 ml de sangre por punción venosa, 3 tubos Vacutainer®, empleando material nuevo, desechable y estéril) la primera el día __de____de 2021 para determinación de anticuerpos contra SARS-Cov-2 y la segunda el día __de____de 2021 para la identificación de genes relacionados con obesidad, el resto de la muestra se dispondrá de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, para el manejo de residuos biológico-infecciosos.

Riesgos

Propios de la punción como dolor y moretón en el sitio de la toma de muestra.

Beneficios

Se le hará entrega del resultado por escrito de los estudios en los que haya participado, así mismo, se le podrá orientar el tipo de institución de salud que pudiera atenderle.

La información obtenida nos ayudará a saber si tiene genes relacionados con obesidad y la cantidad de anticuerpos que generó tras la vacunación.

La donación tiene por disposición legal carácter altruista, por lo que Ud. no obtendrá ni ahora ni en el futuro ningún beneficio económico por la misma.

Confidencialidad

Toda la información que se obtenga del cuestionario y al analizar las muestras será considerada confidencial. Esto quiere decir que no diremos nada a nadie de a quien pertenecen los resultados, sólo lo sabrán las personas del equipo de investigación y usted como paciente, para ello su muestra irá identificada desde el momento mismo de la extracción con el NÚMERO DE FOLIO _____.

En caso de dudas y aclaraciones podrá dirigirse con el investigador responsable Dr. Jonnathan Guadalupe Santillán Benítez (correo: jonnathangsb@yahoo.com.mx) o con la colaboradora Diana Elizabeth Benitez Alvarez (correo: diana.eli.0224@gmail.com; cel.: 729 360 5579)

Yo, _____ de _____ años de edad.

(Nombre y dos apellidos del paciente)

Acepto participar de forma voluntaria y manifiesto que he recibido la información sobre el procedimiento anteriormente indicado y he podido formular las preguntas que he considerado oportunas.

Firma del paciente	Fecha
	_____ de _____ de 2021.

Este documento debe ser remitido a:
 Dr. Jonnathan Guadalupe Santillán Benítez
 Facultad de Química
 Toluca, Edo. de México-México.

Anexo 2. Cuestionario

CUESTIONARIO DE FACTORES DE RIESGO E INFOMACIÓN CLÍNICA

Con el fin de complementar los resultados, conteste los siguientes cuestionamientos con la mayor veracidad posible, además de ello le informo que sus datos permanecerán en confidencialidad.

IDENTIFICACIÓN DEL PACIENTE

Nombre			
Domicilio			
Teléfono		Edad	años
Sexo		Talla	m
Pertenencia étnica		Peso	Kg
CURP			
Fecha de aplicación de vacuna contra SARS-Cov-2	Primera dosis: Lote:		
	Segunda dosis: Lote:		

En el siguiente apartado marque con una X la(s) respuestas.

ANTECEDENTES HEREDO- FAMILIARES

¿En su familia alguien ha padecido o padece...?	Si	NO	Especifique el tipo
Sobrepeso u obesidad			
cáncer			
Ha tenido tratamientos hormonales			
Covid-19			
Enfermedades respiratorias (alergias, asma, EPOC)			
Hipertensión o Enfermedades cardiovasculares			
Diabetes			

ANTECEDENTES PATOLÓGICOS PERSONALES

¿Usted ha padecido o padece?	Si	No	Especifique
Aumento del colesterol en sangre			
Aumento de triglicéridos en sangre			
Problemas emocionales			
Problemas de la glándula tiroides			
Estrés			
Depresión			
Mucho tiempo libre			
Covid-19			
Enfermedades respiratorias (alergias, asma, EPOC)			
Hipertensión o Enfermedades cardiovasculares			
Diabetes			
Fecha de primera menstruación			
Fecha de última regla			
Número de embarazos			
Lactancia			

PADECIMIENTO ACTUAL

¿padece alguno de los siguientes signos?	SI	NO	ESPECIFIQUE
Aumento de peso			
Dificultad para respirar (durante el día y al dormir)			
Cansancio			
Fatiga y dolor de las articulaciones en rodillas y pies			
Reflujo y acidez			
Hinchazón			
Dolor y calambres en las piernas			
Pérdida de control para orinar			
Fuma			
Perdida de sueño			
Reacción adversa tras vacunación			Fiebre Cansancio Dolor de cabeza Dolor muscular Escalofrío Diarrea Otro: Dolor en la zona de la inyección

ACTIVIDAD FÍSICA

	No	Si	Especifique
¿Realiza algún tipo de deporte?			
¿se activa físicamente por lo menos 30 min Diarios?			

Camina frecuentemente			
¿conoce el plato del buen comer?			

ALIMENTACIÓN

	SI	NO	Especifique
consume pan o tortilla frecuentemente			
consume bebidas azucaradas frecuentemente			
Considera que consume más cereales que frutas y verduras			
Consume frituras			

Gracias por su participación

Anexo 3. ELISA IgG anti-N

<i>ID del paciente</i>	<i>DO al 3º mes</i>	<i>RESULTADO</i>	<i>DO al 4ºmes</i>	<i>RESULTADO</i>
	0,943	POSITIVO	1,150	POSITIVO
2	1,3080	POSITIVO	0,687	POSITIVO
3	1,3980	POSITIVO	0,937	POSITIVO
4	1,3170	POSITIVO	1,106	POSITIVO
6	1,7260	POSITIVO	0,994	POSITIVO
7	1,5640	POSITIVO	2,026	POSITIVO
8	0,6100	POSITIVO	0,259	POSITIVO
9	0,0280	NEGATIVO	0,349	POSITIVO
10	0,6150	POSITIVO	0,745	POSITIVO
11	2,1300	POSITIVO	1,873	POSITIVO
12	1,0180	POSITIVO	0,792	POSITIVO
13	1,4350	POSITIVO	0,733	POSITIVO
14	0,7500	POSITIVO	0,631	POSITIVO
15	0,6200	POSITIVO	0,225	POSITIVO
16	0,8730	POSITIVO	0,547	POSITIVO
17	2,1740	POSITIVO	1,388	POSITIVO
19	0,7300	POSITIVO	0,538	POSITIVO
20	1,6320	POSITIVO	1,188	POSITIVO
21	0,8460	POSITIVO	0,700	POSITIVO
22	1,1800	POSITIVO	0,646	POSITIVO
23	0,9290	POSITIVO	0,515	POSITIVO
24	1,1360	POSITIVO	1,616	POSITIVO
25	0,9790	POSITIVO	1,193	POSITIVO
26	0,6700	POSITIVO	0,463	POSITIVO
27	1,0430	POSITIVO	0,919	POSITIVO
28	1,9490	POSITIVO	1,098	POSITIVO
29	0,1980	POSITIVO	0,148	NEGATIVO
30	0,8980	POSITIVO	1,002	POSITIVO
31	0,7510	POSITIVO	0,640	POSITIVO
32	1,4900	POSITIVO	0,449	POSITIVO
33	0,7590	POSITIVO	0,131	NEGATIVO

<i>CONTROLES</i>	<i>DO al 3º mes</i>	<i>DO al 4º mes</i>
<i>Positivo 1</i>	2,913	2,433
<i>Positivo 2</i>	2,726	2,450

Negativo 1	0,099	0,093
Negativo 2	0,084	0,098
Blanco	0,023	0,030
PCx (media de controles positivos)	2,797	2,419
NCx (media de controles positivos)	0,092	0,096
Valor de Corte (Cutoff value)	0,193	0,201

Anexo 4. Pruebas de normalidad

Como el tamaño de muestra es menor a 50 utilizamos la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk. A un nivel de confianza del 95% y una significancia de 5%, las hipótesis a probar son:

Si el p valor ≥ 0.05 se Acepta Ho. Los datos tienen una distribución normal

Si el p valor < 0.05 se Acepta Ha. Los datos no tienen una distribución normal

Pruebas de normalidad Shapiro-Wilk para Biometría Hemática													
IMC	NORMAL				SOBREPESO				OBESIDAD				
	ANALITO	Estadístico	gl	Sig. (p valor)	Resultado de la hipótesis	Estadístico	gl	Sig.(p valor)	Resultado de la hipótesis	Estadístico	gl	Sig.(p valor)	Resultado de la hipótesis
	Leucocitos	0,904	3	0,397	Ho	0,947	16	0,441	Ho	0,939	11	0,51	Ho
	Eritrocitos	0,977	3	0,712	Ho	0,917	16	0,15	Ho	0,91	11	0,242	Ho
	Hemoglobina	0,824	3	0,174	Ho	0,955	16	0,576	Ho	0,922	11	0,336	Ho
	Hematocrito	1	3	1	Ho	0,949	16	0,468	Ho	0,955	11	0,713	Ho
	Volúmen corpuscular medio	0,964	3	0,637	Ho	0,941	16	0,356	Ho	0,972	11	0,908	Ho
	Hemoglobina media corpuscular	0,902	3	0,391	Ho	0,96	16	0,663	Ho	0,884	11	0,118	Ho
	Concentración media de hemoglobina corpuscular	0,934	3	0,503	Ho	0,948	16	0,455	Ho	0,939	11	0,512	Ho
	RDW	0,928	3	0,482	Ho	0,921	16	0,173	Ho	0,669	11	0	Ha
	Plaquetas	0,81	3	0,138	Ho	0,96	16	0,657	Ho	0,909	11	0,235	Ho
	VPM	0,881	3	0,328	Ho	0,928	16	0,226	Ho	0,897	11	0,171	Ho
	Neutrófilos	0,998	3	0,92	Ho	0,957	16	0,601	Ho	0,961	11	0,781	Ho
	linfocitos	0,872	3	0,301	Ho	0,936	16	0,302	Ho	0,903	11	0,199	Ho
	Monocitos	0,91	3	0,417	Ho	0,969	16	0,828	Ho	0,919	11	0,311	Ho
	Eosinófilos	0,75	3	0	Ha	0,952	16	0,521	Ho	0,832	11	0,025	Ha
	Basófilos	0,75	3	0	Ha	0,855	16	0,016	Ha	0,758	11	0,003	Ha

Pruebas de normalidad Shapiro-Wilk para Química sanguínea													
IMC	NORMAL				SOBREPESO				OBESIDAD				
	ANALITO	Estadístico	gl	Sig. (p valor)	Resultado de la hipótesis	Estadístico	gl	Sig.(p valor)	Resultado de la hipótesis	Estadístico	gl	Sig.(p valor)	Resultado de la hipótesis
	GLUCOSA	0,769	3	0,043	Ha	0,685	16	0	Ha	0,762	11	0,003	Ha
	UREA	0,959	3	0,609	Ho	0,765	16	0,001	Ha	0,934	11	0,452	Ho
	BUN	0,97	3	0,668	Ho	0,765	16	0,001	Ha	0,935	11	0,459	Ho
	CREATININA	0,993	3	0,843	Ho	0,836	16	0,009	Ha	0,809	11	0,013	Ha
	ÁCIDO ÚRICO	0,804	3	0,125	Ho	0,929	16	0,231	Ho	0,97	11	0,888	Ho
	TRIGLICÉRIDOS	0,981	3	0,734	Ho	0,576	16	0	Ha	0,843	11	0,035	Ha
	COLESTEROL	0,973	3	0,739	Ho	0,895	14	0,095	Ho	0,928	8	0,499	Ho

Pruebas de normalidad Shapiro-Wilk para Seroprevalencia													
IMC	NORMAL				SOBREPESO				OBESIDAD				
	ANALITO	Estadístico	gl	Sig. (p valor)	Resultado de la hipótesis	Estadístico	gl	Sig.(p valor)	Resultado de la hipótesis	Estadístico	gl	Sig.(p valor)	Resultado de la hipótesis
	PRIMERA TOMA	0,815	3	0,150	Ho	0,843	16	0,011	Ha	0,606	11	0,00	Ha
	SEGUNDA TOMA	0,778	3	0,062	Ho	0,803	16	0,003	Ha	0,638	11	0,00	Ha
	IMC DEL PACIENTE	0,771	3	0,047	Ha	0,909	16	0,113	Ho	0,9	11	0,184	Ho
	DO 3º MES	0,937	3	0,514	Ho	0,974	16	0,899	Ho	0,903	11	0,203	Ho
	DO 4º MES	0,888	3	0,350	Ho	0,862	16	0,020	Ha	0,945	11	0,587	Ho

Anexo 5. Comparación entre dos medias

En el caso de Leucocitos, Eritrocitos, Hemoglobina, Hematocrito, Índices eritrocitarios,

RDW, Plaquetas, VPM, Monocitos, Neutrófilos, Linfocitos, Urea, BUN, Ácido Úrico y Colesterol; se empleó la prueba ANOVA de un factor, debido a que tienen una distribución normal. Seguida de la corrección de Benferroni, para determinar que grupos tenían diferencia significativa y evitar el error tipo 1 y 2. Además, se realizó la prueba de homogeneidad de varianzas para verificar que se trataba de una muestra homogénea.

Prueba de homogeneidad de varianzas

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig. (Valor p)	Conclusión
LEUCOCITOS	,630	2	27	,540	homogénea
ERITROCITOS	1,137	2	27	,336	homogénea
HEMOGLOBINA	,777	2	27	,470	homogénea
HEMATOCRITO	1,313	2	27	,286	homogénea
VCM	1,529	2	27	,235	homogénea
HMC	1,351	2	27	,276	homogénea
CMHC	,285	2	27	,754	homogénea
RDW	1,586	2	27	,223	homogénea
PLAQUETAS	1,364	2	27	,273	homogénea
VPM	1,483	2	27	,245	homogénea
NEUTRÓFILOS	1,096	2	27	,349	homogénea
LINFOCITOS	1,466	2	27	,249	homogénea
MONOCITOS	,522	2	27	,599	homogénea
UREA	1,303	2	27	,288	homogénea
BUN	,642	2	27	,534	homogénea
ÁC.ÚRICO	2,288	2	27	,121	homogénea

ANOVA de un factor

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig. (Valor p)	Conclusión
LEUCOCITOS	Inter-grupos	1,353	2	,677	,319	,730	No hay diferencia significativa
	Intra-grupos	57,291	27	2,122			
	Total	58,644	29				
ERITROCITOS	Inter-grupos	,032	2	,016	,050	,951	No hay diferencia significativa
	Intra-grupos	8,718	27	,323			
	Total	8,750	29				
HEMOGLOBINA	Inter-grupos	2,736	2	1,368	,812	,454	No hay diferencia significativa
	Intra-grupos	45,458	27	1,684			
	Total	48,194	29				
HEMATOCRITO	Inter-grupos	12,201	2	6,101	,304	,740	No hay diferencia significativa
	Intra-grupos	541,698	27	20,063			
	Total	553,899	29				
VCM	Inter-grupos	7,072	2	3,536	,188	,830	No hay diferencia significativa
	Intra-grupos	507,822	27	18,808			
	Total	514,895	29				
HMC	Inter-grupos	3,727	2	1,864	,449	,643	No hay diferencia significativa
	Intra-grupos	112,127	27	4,153			
	Total	115,855	29				
CMHC	Inter-grupos	13,036	2	6,518	2,480	,103	No hay diferencia significativa
	Intra-grupos	70,959	27	2,628			
	Total	83,995	29				
RDW	Inter-grupos	3,181	2	1,590	1,739	,195	No hay diferencia significativa
	Intra-grupos	24,693	27	,915			
	Total	27,874	29				
PLAQUETAS	Inter-grupos	3936,593	2	1968,296	,449	,643	No hay diferencia significativa
	Intra-grupos	118464,074	27	4387,558			

	Total	122400,667	29				
VPM	Inter-grupos	10,877	2	5,438	,986	,386	
	Intra-grupos	148,938	27	5,516			No hay diferencia significativa
	Total	159,815	29				
NEUTRÓFILOS	Inter-grupos	200,529	2	100,264	1,363	,273	
	Intra-grupos	1985,918	27	73,553			No hay diferencia significativa
	Total	2186,447	29				
LINFOCITOS	Inter-grupos	353,976	2	176,988	2,839	,076	
	Intra-grupos	1683,177	27	62,340			No hay diferencia significativa
	Total	2037,154	29				
MONOCITOS	Inter-grupos	3,083	2	1,541	,511	,605	
	Intra-grupos	81,369	27	3,014			No hay diferencia significativa
	Total	84,452	29				
UREA	Inter-grupos	175,573	2	87,787	,763	,476	
	Intra-grupos	3108,077	27	115,114			No hay diferencia significativa
	Total	3283,650	29				
BUN	Inter-grupos	,152	2	,076	1,893	,170	
	Intra-grupos	1,084	27	,040			No hay diferencia significativa
	Total	1,235	29				
ÁC. ÚRICO	Inter-grupos	1,705	2	,852	,539	,589	
	Intra-grupos	42,685	27	1,581			No hay diferencia significativa
	Total	44,390	29				
COESTERO	Inter-grupos	9221,376	2	4610,688	1,953	,167	No hay diferencia significativa
	Intra-grupos	49580,217	21	2360,963			
	Total	58801,593	23				

BONFERRONI

Variable dependiente			Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
LEUCOCITOS	Obesidad	Sobrepeso	,41165	,57054	1,000	-1,0446	1,8679
		Normal	,54727	,94878	1,000	-1,8745	2,9690
	Sobrepeso	Obesidad	-,41165	,57054	1,000	-1,8679	1,0446
		Normal	,13562	,91647	1,000	-2,2036	2,4749
	Normal	Obesidad	-,54727	,94878	1,000	-2,9690	1,8745
		Sobrepeso	-,13562	,91647	1,000	-2,4749	2,2036
ERITROCITOS	Obesidad	Sobrepeso	,06983	,22256	1,000	-,4982	,6379
		Normal	,05545	,37011	1,000	-,8892	1,0001
	Sobrepeso	Obesidad	-,06983	,22256	1,000	-,6379	,4982
		Normal	-,01438	,35750	1,000	-,9269	,8981
	Normal	Obesidad	-,05545	,37011	1,000	-1,0001	,8892
		Sobrepeso	,01438	,35750	1,000	-,8981	,9269
HEMOGLOBINA	Obesidad	Sobrepeso	,33352	,50822	1,000	-,9637	1,6307
		Normal	1,06061	,84514	,661	-1,0966	3,2178
	Sobrepeso	Obesidad	-,33352	,50822	1,000	-1,6307	,9637
		Normal	,72708	,81635	1,000	-1,3566	2,8108
	Normal	Obesidad	-1,06061	,84514	,661	-3,2178	1,0966
		Sobrepeso	-,72708	,81635	1,000	-2,8108	1,3566
HEMATOCRITO	Obesidad	Sobrepeso	1,36250	1,75437	1,000	-3,1155	5,8405
		Normal	1,00000	2,91745	1,000	-6,4467	8,4467
	Sobrepeso	Obesidad	-1,36250	1,75437	1,000	-5,8405	3,1155
		Normal	-,36250	2,81808	1,000	-7,5555	6,8305
	Normal	Obesidad	-1,00000	2,91745	1,000	-8,4467	6,4467
		Sobrepeso	,36250	2,81808	1,000	-6,8305	7,5555
VCM	Obesidad	Sobrepeso	1,03807	1,69863	1,000	-3,2976	5,3738
		Normal	,74848	2,82476	1,000	-6,4616	7,9586
	Sobrepeso	Obesidad	-1,03807	1,69863	1,000	-5,3738	3,2976
		Normal	-,28958	2,72854	1,000	-7,2541	6,6749
	Normal	Obesidad	-,74848	2,82476	1,000	-7,9586	6,4616
		Sobrepeso	,28958	2,72854	1,000	-6,6749	7,2541

HMC	Obesidad	Sobrepeso	,33693	,79818	1,000	-1,7004	2,3742
		Normal	1,25152	1,32734	1,000	-2,1365	4,6395
	Sobrepeso	Obesidad	-,33693	,79818	1,000	-2,3742	1,7004
		Normal	,91458	1,28212	1,000	-2,3580	4,1872
CMHC	Normal	Obesidad	-1,25152	1,32734	1,000	-4,6395	2,1365
		Sobrepeso	-,91458	1,28212	1,000	-4,1872	2,3580
	Obesidad	Sobrepeso	-,23523	,63496	1,000	-1,8559	1,3855
		Normal	2,02727	1,05592	,196	-,6679	4,7225
RDW	Sobrepeso	Obesidad	,23523	,63496	1,000	-1,3855	1,8559
		Normal	2,26250	1,01995	,105	-,3409	4,8659
	Normal	Obesidad	-2,02727	1,05592	,196	-4,7225	,6679
		Sobrepeso	-2,26250	1,01995	,105	-4,8659	,3409
PLAQUETAS	Obesidad	Sobrepeso	,25398	,37457	1,000	-,7021	1,2100
		Normal	-,86061	,62289	,535	-2,4505	,7293
	Sobrepeso	Obesidad	-,25398	,37457	1,000	-1,2100	,7021
		Normal	-1,11458	,60167	,225	-2,6503	,4212
VPM	Normal	Obesidad	,86061	,62289	,535	-,7293	2,4505
		Sobrepeso	1,11458	,60167	,225	-,4212	2,6503
	Obesidad	Sobrepeso	7,63068	25,94400	1,000	-58,5903	73,8517
		Normal	40,81818	43,14381	1,000	-69,3046	150,9410
NEUTRÓFILOS	Sobrepeso	Obesidad	-7,63068	25,94400	1,000	-73,8517	58,5903
		Normal	33,18750	41,67423	1,000	-73,1843	139,5593
	Normal	Obesidad	-40,81818	43,14381	1,000	-150,9410	69,3046
		Sobrepeso	-33,18750	41,67423	1,000	-139,5593	73,1843
LINFOCITOS	Obesidad	Sobrepeso	,83352	,91991	1,000	-1,5145	3,1816
		Normal	-1,03939	1,52978	1,000	-4,9441	2,8653
	Sobrepeso	Obesidad	-,83352	,91991	1,000	-3,1816	1,5145
		Normal	-1,87292	1,47767	,647	-5,6446	1,8988
MONOCITOS	Normal	Obesidad	1,03939	1,52978	1,000	-2,8653	4,9441
		Sobrepeso	1,87292	1,47767	,647	-1,8988	5,6446
	Obesidad	Sobrepeso	-2,12102	3,35911	1,000	-10,6950	6,4530
		Normal	6,70606	5,58606	,721	-7,5521	20,9643
UREA	Sobrepeso	Obesidad	2,12102	3,35911	1,000	-6,4530	10,6950
		Normal	8,82708	5,39579	,340	-4,9454	22,5996
	Normal	Obesidad	-6,70606	5,58606	,721	-20,9643	7,5521
		Sobrepeso	-8,82708	5,39579	,340	-22,5996	4,9454
BUN	Obesidad	Sobrepeso	1,75057	3,09249	1,000	-6,1429	9,6440
		Normal	-10,08485	5,14269	,181	-23,2113	3,0416
	Sobrepeso	Obesidad	-1,75057	3,09249	1,000	-9,6440	6,1429
		Normal	-11,83542	4,96752	,073	-24,5148	,8440
ÁC. ÚRICO	Normal	Obesidad	10,08485	5,14269	,181	-3,0416	23,2113
		Sobrepeso	11,83542	4,96752	,073	-,8440	24,5148
	Obesidad	Sobrepeso	-,55909	,67994	1,000	-2,2946	1,1764
		Normal	,29091	1,13072	1,000	-2,5952	3,1770
BUN	Sobrepeso	Obesidad	,55909	,67994	1,000	-1,1764	2,2946
		Normal	,85000	1,09220	1,000	-1,9378	3,6378
	Normal	Obesidad	-,29091	1,13072	1,000	-3,1770	2,5952
		Sobrepeso	-,85000	1,09220	1,000	-3,6378	1,9378
ÁC. ÚRICO	Obesidad	Sobrepeso	-2,45170	4,20232	1,000	-13,1780	8,2746
		Normal	5,65455	6,98829	1,000	-12,1828	23,4919
	Sobrepeso	Obesidad	2,45170	4,20232	1,000	-8,2746	13,1780
		Normal	8,10625	6,75025	,721	-9,1235	25,3360
BUN	Normal	Obesidad	-5,65455	6,98829	1,000	-23,4919	12,1828
		Sobrepeso	-8,10625	6,75025	,721	-25,3360	9,1235
	Obesidad	Sobrepeso	-,03733	,07846	1,000	-,2376	,1629
		Normal	,20788	,13048	,368	-,1252	,5409
ÁC. ÚRICO	Sobrepeso	Obesidad	,03733	,07846	1,000	-,1629	,2376
		Normal	,24521	,12604	,187	-,0765	,5669
	Normal	Obesidad	-,20788	,13048	,368	-,5409	,1252
		Sobrepeso	-,24521	,12604	,187	-,5669	,0765
ÁC. ÚRICO	Obesidad	Sobrepeso	,50631	,49247	,939	-,7507	1,7633
		Normal	,18818	,81896	1,000	-1,9022	2,2785
	Sobrepeso	Obesidad	-,50631	,49247	,939	-1,7633	,7507
		Normal	-,31813	,79107	1,000	-2,3373	1,7010
ÁC. ÚRICO	Normal	Obesidad	-,18818	,81896	1,000	-2,2785	1,9022
		Sobrepeso	,31813	,79107	1,000	-1,7010	2,3373

COLESTEROL	Obesidad	Sobrepeso	74,2500	38,4136	,201	-25,677	174,177
		Normal	6,5643	21,5351	1,000	-49,456	62,585
	Sobrepeso	Obesidad	67,6857	36,7304	,239	-27,863	163,234
		Normal	-6,5643	21,5351	1,000	-62,585	49,456
	Normal	Sobrepeso	74,2500	36,7304	,239	-163,234	27,863
		Obesidad	6,5643	38,4136	,201	-174,177	25,677

Para Eosinófilos, Basófilos, Glucosa, Creatinina y Triglicéridos se empleó a prueba no paramétrica de Kruskal Wallis, debido a que la distribución no es normal, a un nivel de confianza del 95%.

Estadísticos de contraste^{a,b}

	GLUCOSA	CREATININA	COLESTEROL	TRIGLICÉRIDOS	BASÓFILOS	EOSINÓFILOS
Chi-cuadrado	2,107	2,301	4,017	6,182	2,720	,252
gl	2	2	2	2	2	2
Sig. asintót.	,349	,316	,134	,045	,257	,882

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación: CLASIFICACIÓN DEL IMC

Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La distribución de GLUCOSA es la misma entre las categorías de CLASIFICACIÓN DEL IMC.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,349	Retener la hipótesis nula.
2	La distribución de CREATININA es la misma entre las categorías de CLASIFICACIÓN DEL IMC.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,316	Retener la hipótesis nula.
3	La distribución de TRIGLICÉRIDOS es la misma entre las categorías de CLASIFICACIÓN DEL IMC.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,045	Rechazar la hipótesis nula.
4	La distribución de EOSINÓFILOS es la misma entre las categorías de CLASIFICACIÓN DEL IMC.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,882	Retener la hipótesis nula.
5	La distribución de BASÓFILOS es la misma entre las categorías de CLASIFICACIÓN DEL IMC.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,257	Retener la hipótesis nula.

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,05.

Comparaciones entre parejas de acuerdo a la clasificación del IMC para Triglicéridos

Muestra1-Muestra2	Prueba estadística	Error típico	Desv. Prueba estadística	Sig.	Sig. ady.
NORMAL-OBESIDAD	-12,333	5,734	-2,151	,031	,094
NORMAL-SOBREPESO	-13,708	5,539	-2,475	,013	,040
OBESIDAD-SOBREPESO	1,375	3,448	,399	,690	1,000

Cada fila prueba la hipótesis nula que las distribuciones de la Muestra 1 y la Muestra 2 son las mismas.
Se muestran las significancias asintóticas (pruebas de 2 caras). El nivel de significancia es ,05.

Para los estadísticos de seroprevalencia se empleó la prueba ANOVA para las concentraciones de IgG

Prueba de homogeneidad de varianzas

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.	Conclusión
DO 3º MES	,347	2	27	,710	homogénea
DO 4º MES	,254	2	27	,777	homogénea

ANOVA de un factor

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
DO 3º MES	Inter-grupos	,864	2	,432	1,673	,207
	Intra-grupos	6,972	27	,258		
	Total	7,836	29			
DO 4º MES	Inter-grupos	,076	2	,038	,172	,843
	Intra-grupos	5,964	27	,221		
	Total	6,040	29			

Comparaciones múltiples

Bonferroni

Variable dependiente	(I) Clasificación del IMC	(J) Clasificación del IMC	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
DO 3º MES	NORMAL	SOBREPESO	,101313	,319709	1,000	-,71473	,91736
		OBESIDAD	-,261545	,330983	1,000	-1,10637	,58327
	SOBREPESO	NORMAL	-,101313	,319709	1,000	-,91736	,71473
		OBESIDAD	-,362858	,199033	,238	-,87088	,14516
	OBESIDAD	NORMAL	,261545	,330983	1,000	-,58327	1,10637
		SOBREPESO	,362858	,199033	,238	-,14516	,87088

DO 4º MES	NORMAL	SOBREPESO	,006750	,295685	1,000	-,74797	,76147
		OBESIDAD	-,098636	,306112	1,000	-,87997	,68270
	SOBREPESO	NORMAL	-,006750	,295685	1,000	-,76147	,74797
		OBESIDAD	-,105386	,184077	1,000	-,57523	,36446
	OBESIDAD	NORMAL	,098636	,306112	1,000	-,68270	,87997
		SOBREPESO	,105386	,184077	1,000	-,36446	,57523

En la evaluación del tiempo transcurrido entre las tomas de muestra se empleó Kruskal Wallis, debido a que la distribución no es paramétrica, a un nivel de confianza del 95%.

Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La distribución de Primera toma es la misma entre las categorías de Clasificación del IMC .	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,840	Retener la hipótesis nula.
2	La distribución de Segunda toma es la misma entre las categorías de Clasificación del IMC .	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,696	Retener la hipótesis nula.

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,05.

Anexo 6. Correlación multivariable

Se aplicó la correlación de Ro de Spearman que emplea datos de libre distribución, debido a que no todos los datos a evaluar presentan una distribución normal.

		GENERAL		NORMAL		SOBREPESO		OBESIDAD	
		DO 3º mes	DO 4º mes						
Leucocitos	Coefficiente de correlación	-,138	-,117	-1,000**	-1,000**	-,156	,047	,109	-,136
	Sig. (bilateral)	,467	,539			,564	,863	,750	,689
	N	30	30	3	3	16	16	11	11
Eritrocitos	Coefficiente de correlación	-,116	-,245	,500	,500	-,255	-,322	,136	-,191
	Sig. (bilateral)	,540	,192	,667	,667	,341	,223	,689	,574
	N	30	30	3	3	16	16	11	11
Hemoglobina	Coefficiente de correlación	-,068	-,102	1,000**	1,000**	-,271	-,300	-,118	-,200
	Sig. (bilateral)	,722	,591			,311	,259	,729	,555
	N	30	30	3	3	16	16	11	11
Hematocrito	Coefficiente de correlación	-,005	-,069	,500	,500	-,297	-,276	,182	-,041
	Sig. (bilateral)	,980	,719	,667	,667	,264	,300	,592	,905
	N	30	30	3	3	16	16	11	11
VCM	Coefficiente de correlación	,097	,237	,500	,500	-,038	,093	,245	,282
	Sig. (bilateral)	,609	,207	,667	,667	,888	,733	,467	,401
	N	30	30	3	3	16	16	11	11
HCM	Coefficiente de correlación	,237	,335	1,000**	1,000**	,194	,176	,077	,378
	Sig. (bilateral)	,207	,071			,471	,513	,821	,252
	N	30	30	3	3	16	16	11	11

CMHC	Coeficiente de correlación	-,081	,019	-,500	-,500	,242	,069	-,565	-,087
	Sig. (bilateral) N	,669 30	,921 30	,667 3	,667 3	,367 16	,799 16	,070 11	,800 11
RDW	Coeficiente de correlación	-,166	-,026	-,500	-,500	-,488	-,248	,114	,279
	Sig. (bilateral) N	,380 30	,893 30	,667 3	,667 3	,055 16	,354 16	,738 11	,407 11
Plaquetas	Coeficiente de correlación	,251	,176	-,500	-,500	,203	,297	,464	,127
	Sig. (bilateral) N	,182 30	,353 30	,667 3	,667 3	,451 16	,264 16	,151 11	,709 11
VPM	Coeficiente de correlación	,017	,025	-,500	-,500	,024	,129	,014	-,064
	Sig. (bilateral) N	,929 30	,894 30	,667 3	,667 3	,931 16	,633 16	,968 11	,852 11
Neutrófilos	Coeficiente de correlación	-,119	-,198	-1,000**	-1,000**	-,324	-,349	,424	,210
	Sig. (bilateral) N	,532 30	,294 30			,221 16	,185 16	,194 11	,536 11
Linfocitos	Coeficiente de correlación	,080	,256	1,000**	1,000**	,212	,244	-,291	,055
	Sig. (bilateral) N	,675 30	,173 30			,431 16	,362 16	,385 11	,873 11
Monocitos	Coeficiente de correlación	-,078	-,057	-,500	-,500	,018	,250	-,128	-,323
	Sig. (bilateral) N	,682 30	,767 30	,667 3	,667 3	,948 16	,350 16	,709 11	,332 11
Eosinófilos	Coeficiente de correlación	,069	-,068	,866	,866	,187	,094	,027	-,105
	Sig. (bilateral) N	,718 30	,721 30	,333 3	,333 3	,488 16	,729 16	,936 11	,759 11
Basófilos	Coeficiente de correlación	-,361*	-,222	-,866	-,866	-,414	-,344	-,201	,059
	Sig. (bilateral) N	,050 30	,239 30	,333 3	,333 3	,111 16	,192 16	,554 11	,862 11
DO 3º mes	Coeficiente de correlación	1,000	,729**	1,000	1,000**	1,000	,782**	1,000	,664*
	Sig. (bilateral) N		,000 30				,000 16		,026 11
DO 4º mes	Coeficiente de correlación	,729**	1,000	1,000**	1,000	,782**	1,000	,664*	1,000
	Sig. (bilateral) N	,000 30				,000 16		,026 11	
IMC	Coeficiente de correlación	,163	,055	,500	,500	-,487	-,347	,718*	,336
	Sig. (bilateral) N	,390 30	,773 30	,667 3	,667 3	,056 16	,187 16	,013 11	,312 11
Primera toma	Coeficiente de correlación	-,194	-,455*	-,500	-,500	-,397	-,664**	,142	-,169
	Sig. (bilateral) N	,304 30	,012 30	,667 3	,667 3	,128 16	,005 16	,677 11	,619 11
Segunda toma	Coeficiente de correlación	-,108	-,364*	-1,000**	-1,000**	-,415	-,652**	,374	,055
	Sig. (bilateral) N	,569 30	,048 30			,110 16	,006 16	,257 11	,873 11
Glucosa	Coeficiente de correlación	,118	-,113	1,000**	1,000**	,024	-,200	-,373	-,427
	Sig. (bilateral) N	,536 30	,551 30			,931 16	,458 16	,259 11	,190 11
Urea	Coeficiente de correlación	,203	,045	-,500	-,500	-,115	-,037	,747**	,141
	Sig. (bilateral) N	,282 30	,813 30	,667 3	,667 3	,672 16	,892 16	,008 11	,679 11
BUN	Coeficiente de correlación	,202	,049	-,500	-,500	-,113	-,024	,740**	,146
	Sig. (bilateral)	,284	,797	,667	,667	,676	,931	,009	,668

	N	30	30	3	3	16	16	11	11
Creatinina	Coeficiente de correlación	-,068	-,078	-,500	-,500	-,012	-,018	-,205	-,369
	Sig. (bilateral)	,722	,683	,667	,667	,965	,948	,545	,264
	N	30	30	3	3	16	16	11	11
Ac. Úrico	Coeficiente de correlación	-,036	-,032	-,500	-,500	,018	,165	-,182	-,227
	Sig. (bilateral)	,851	,865	,667	,667	,948	,542	,593	,502
	N	30	30	3	3	16	16	11	11
Colesterol	Coeficiente de correlación	-,180	-,162	-1,000**	-1,000**	,024	-,042	-,575	-,551
	Sig. (bilateral)	,399	,450			,935	,887	,136	,157
	N	24	24	2	2	14	14	8	8
Triglicéridos	Coeficiente de correlación	-,176	,042	-,500	-,500	-,047	,197	-,491	-,018
	Sig. (bilateral)	,351	,824	,667	,667	,863	,464	,125	,958
	N	30	30	3	3	16	16	11	11

*. La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

**.. La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

Anexo 7. Regresión lineal

Usando una regresión lineal, tomando como variante dependiente la concentración al tercer mes de haber recibido la segunda dosis de vacunación (media geométrica de 92,43±21,239) y como variante independiente el IMC de cada paciente obtuvimos la siguiente información:

Correlaciones

		Concentración 1	IMC del paciente
Correlación de Pearson	Concentración 1	1,000	,377
	IMC del paciente	,377	1,000
Sig. (unilateral)	Concentración 1	.	,020
	IMC del paciente	,020	.
N	Concentración 1	30	30
	IMC del paciente	30	30

ANOVA^a

Modelo	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
1 Regresión	1,113	1	1,113	4,634	,040 ^b
Residual	6,723	28	,240		
Total	7,836	29			

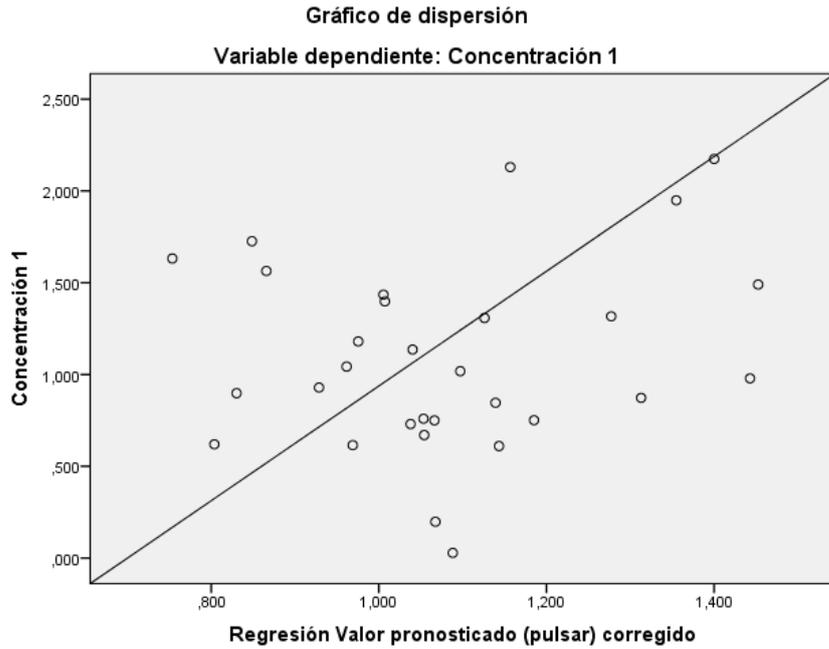
a. Variable dependiente: Concentración 1

b. Variables predictoras: (Constante), IMC del paciente

Coefficientes^a

Modelo	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes tipificados	t	Sig.
	B	Error típ.	Beta		
1 (Constante)	-,192	,603		-,318	,752
IMC del paciente	,044	,020	,377	2,153	,040

a. Variable dependiente: Concentración 1



Adicionalmente se compararon los resultados de la densidad óptica obtenidos de las muestras al tercer mes con los obtenidos de la ecuación de regresión lineal, a través de una prueba t de student para muestras relacionadas, obteniendo los siguientes datos:

Estadísticos de muestras relacionadas

		Media	N	Desviación típ.	Error típ. de la media
Par 1	DOCALC	1,1004	30	,19718	,03600
	Concentración 1	1,09187	30	,519820	,094906

Correlaciones de muestras relacionadas

		N	Correlación	Sig.
Par 1	DOCALC y Concentración 1	30	,377	,040

Prueba de muestras relacionadas

		Diferencias relacionadas					t	gl	Sig. (bilateral)
		Media	Desviación típ.	Error típ. de la media	para la diferencia				
					Inferior	Superior			
Par 1	DOCALC - Concentración 1	,008508	,481500	,087909	-,171287	,188303	,097	29	,924

Anexo 8. Cuantificación de RNA

ID	ng/ μ l	260/280	260/230
2	48	2,075	2,206
3	278	2,002	2,216
4	130	1,998	1,853

6	88	1,935	1,845
7	82	2,929	2,929
8	74	2,846	2,467
9	130	1,855	1,850
10	528	2,063	2,047
11	21	2,400	2,038
12	32	1,600	1,067
13	84	2,000	2,000
14	812	1,952	1,822
15	316	2,135	2,052
16	34	1,545	0,630
17	50	1,250	0,385
19	638	1,873	1,855
20	60	1,579	0,588
21	698	1,903	1,935
22	158	2,257	1,519
23	634	2,045	2,201
24	448	2,113	2,667
25	406	1,952	1,720
26	174	1,706	1,299
27	690	2,018	1,806
28	114	1,629	1,000
29	46	2,091	1,437
30	406	1,971	1,765
31	238	2,288	2,125
32	606	2,104	2,196
33	166	1,886	1,804

¹ Wu, Z., & McGoogan, J. M. (2020). Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72 314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA*, 323(13), 1239–1242. <https://doi.org/10.1001/JAMA.2020.2648>

² *Mapa de COVID-19 - Centro de recursos de coronavirus de Johns Hopkins*. (2021). Retrieved February 1, 2022, from <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>

³ *COVID-19 Tablero México - CONACYT - CentroGeo - GeoInt - DataLab*. (2021). Retrieved February 1, 2022, from <https://datos.covid-19.conacyt.mx/#DOView>

⁴ *Estadísticas COVID-19 | Centro Estatal de Vigilancia Epidemiológica y Control de Enfermedades*. (n.d.). Retrieved February 2, 2022, from https://salud.edomex.gob.mx/cevece/estadisticas_covid19

⁵ Zheng, Z., Peng, F., Xu, B., Zhao, J., Liu, H., Peng, J., Li, Q., Jiang, C., Zhou, Y., Liu, S., Ye, C., Zhang, P., Xing, Y., Guo, H., & Tang, W. (2020). Risk factors of critical & mortal COVID-19 cases: A systematic literature review and meta-analysis. *The Journal of Infection*, 81(2), e16. <https://doi.org/10.1016/J.JINF.2020.04.021>

⁶ Saletti, G. *et al.* (2020) “Older adults lack SARS CoV-2 cross-reactive T lymphocytes directed to human coronaviruses OC43 and NL63”, *Scientific Reports*, 10(1), pp. 1–10. doi: 10.1038/s41598-020-78506-9

⁷ *Informe Integral de Covid-19 En México*. (2021). Retrieved February 2, 2022, from www.gob.mx/salud

- ⁸ Stokes, E. K., Zambrano, L. D., Anderson, K. N., Marder, E. P., Raz, K. M., el Burai Felix, S., Tie, Y., & Fullerton, K. E. (2022). Coronavirus Disease 2019 Case Surveillance — United States, January 22–May 30, 2020. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*, 69(24), 759–765. <https://doi.org/10.15585/MMWR.MM6924E2>
- ⁹ Informe Integral de Covid-19 En México. (2021). Retrieved February 2, 2022, from www.gob.mx/salud
- ¹⁰ Ayuntamiento de Toluca. *Más de 98 mil adultos mayores vacunados en Toluca, se invita a quienes faltan a asistir este viernes*. (2021). Retrieved February 2, 2022, from <https://www2.toluca.gob.mx/mas-de-98-mil-adultos-mayores-vacunados-en-toluca-se-invita-a-quienes-faltan-a-asistir-este-viernes/>
- ¹¹ Kánter Coronel, Irma (2021) “Magnitud del sobrepeso y obesidad en México: Un cambio de estrategia para su erradicación”. Mirada Legislativa No. 197, Instituto Belisario Domínguez, Senado de la República, Ciudad de México, 18p.
- ¹² Rodríguez, M. A. (2018). “Envejecimiento en México: Obesidad”, *Boletín Informativo del ENASEM*, 19-1, Julio. www.ENASEM.org
- ¹³ Petrova, D., Salamanca-Fernández, E., Rodríguez Barranco, M., Navarro Pérez, P., Jiménez Moleón, J. J., & Sánchez, M. J. (2020). La obesidad como factor de riesgo en personas con COVID-19: posibles mecanismos e implicaciones. *Atencion Primaria*, 52(7), 496. <https://doi.org/10.1016/J.APRIM.2020.05.003>
- ¹⁴ Ruiz-Bravo, A. *et al.* (2020) “SARS-CoV-2 y pandemia de síndrome respiratorio agudo (COVID-19)”, *Ars Pharmaceutica (Internet)*, 61(2), pp. 63–79. doi: 10.30827/ars.v61i2.15177
- ¹⁵ Baloch, S., Baloch, M. A., Zheng, T., & Pei, X. (2020). The Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Pandemic. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 250(4), 271–278. <https://doi.org/10.1620/TJEM.250.271>
- ¹⁶ Monroy-Gómez, J., & Torres-Fernández, O. (2020). Effects of the severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) and the Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) on the nervous system. What can we expect from SARS -CoV-2? *Biomedica : Revista Del Instituto Nacional de Salud*, 40(Supl. 2), 173–179. <https://doi.org/10.7705/BIOMEDICA.5682>
- ¹⁷ Das, S. K. (2020). The Pathophysiology, Diagnosis and Treatment of Corona Virus Disease 2019 (COVID-19). *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 35(4), 385–396. <https://doi.org/10.1007/S12291-020-00919-0/FIGURES/4>
- ¹⁸ Hu, B., Guo, H., Zhou, P., & Shi, Z. L. (2021). Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nature Reviews. Microbiology*, 19(3), 1. <https://doi.org/10.1038/S41579-020-00459-7>
- ¹⁹ Alocución de apertura del Director General de la OMS en la rueda de prensa sobre la COVID-19 celebrada el 11 de marzo de 2020. <https://www.who.int/es/dg/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020> (acceso 04/04/2020).
- ²⁰ *Mapa de COVID-19 - Centro de recursos de coronavirus de Johns Hopkins*. (n.d.). Retrieved February 1, 2022, from <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>
- ²¹ Suárez, V., Suarez Quezada, M., Oros Ruiz, S., & Ronquillo De Jesús, E. (2020). Epidemiología de COVID-19 en México: del 27 de febrero al 30 de abril de 2020. *Revista Clínica Espanola*, 220(8), 463. <https://doi.org/10.1016/J.RCE.2020.05.007>
- ²² Das, S. K. (2020). The Pathophysiology, Diagnosis and Treatment of Corona Virus Disease 2019 (COVID-19). *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 35(4), 385–396. <https://doi.org/10.1007/S12291-020-00919-0/FIGURES/4>
- ²³ Centers for Disease Control and Prevention (CDC): Coronavirus Disease 2019 (COVID-19), . People who are at higher risk for severe illness. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/need-extra-precautions/groups-at-higher-risk.html> April 15–2020
- ²⁴ Alwarawrah, Y., Kiernan, K. y MacIver, Nueva Jersey (2018). Los cambios en el estado nutricional afectan el metabolismo y la función de las células inmunitarias. *Fronteras en inmunología*, 9, 1055.
- ²⁵ *Obesity, Race/Ethnicity, and COVID-19 | Overweight & Obesity | CDC*. (2021). Retrieved February 8, 2022, from <https://www.cdc.gov/obesity/data/obesity-and-covid-19.html>

-
- ²⁶ Di Filippo, L., de Lorenzo, R., Sciorati, C., Capobianco, A., Lorè, N. I., Giustina, A., Manfredi, A. A., Rovere-Querini, P., & Conte, C. (2021). Adiponectin to leptin ratio reflects inflammatory burden and survival in COVID-19. *Diabetes & Metabolism*, 47(6), 101268. <https://doi.org/10.1016/J.DIABET.2021.101268>
- ²⁷ Ovsyannikova, I. G., White, S. J., Larrabee, B. R., Grill, D. E., Jacobson, R. M., & Poland, G. A. (2014). Leptin and Leptin-Related Gene Polymorphisms, Obesity, and Influenza A/H1N1 Vaccine-Induced Immune Responses in Older Individuals. *Vaccine*, 32(7), 881. <https://doi.org/10.1016/J.VACCINE.2013.12.009>
- ²⁸ Pellini, R., Venuti, A., Pimpinelli, F., Abril, E., Blandino, G., Campo, F., Conti, L., de Virgilio, A., de Marco, F., Gino Di Domenico, E., di Bella, O., di Martino, S., Ensoli, F., Giannarelli, D., Mandoj, C., Manciocco, V., Marchesi, P., Mazzola, F., Moretto, S., ... DITRAR IRCCS Regina, U. (2021). OBESITY MAY HAMPER SARS-CoV-2 VACCINE IMMUNOGENICITY. *MedRxiv*, 2021.02.24.21251664. <https://doi.org/10.1101/2021.02.24.21251664>
- ²⁹ Polack, F. P., Thomas, S. J., Kitchin, N., Absalon, J., Gurtman, A., Lockhart, S., Perez, J. L., Pérez Marc, G., Moreira, E. D., Zerbini, C., Bailey, R., Swanson, K. A., Roychoudhury, S., Koury, K., Li, P., Kalina, W. v., Cooper, D., Frenck, R. W., Hammitt, L. L., ... Gruber, W. C. (2020). Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine. *The New England Journal of Medicine*, 383(27), 2603–2615. <https://doi.org/10.1056/NEJMOA2034577>
- ³⁰ Dolgin, E. (2021). The tangled history of mRNA vaccines. *Nature*, 597(7876), 318–324. <https://doi.org/10.1038/D41586-021-02483-W>
- ³¹ Layan, M., Gilboa, M., Gonen, T., Goldenfeld, M., Meltzer, L., Andronico, A., Hozé, N., Cauchemez, S., & Regev-Yochay, G. (2021). Impact of BNT162b2 vaccination and isolation on SARS-CoV-2 transmission in Israeli households: an observational study. *MedRxiv*, 2021.07.12.21260377. <https://doi.org/10.1101/2021.07.12.21260377>
- ³² Layan, M., Gilboa, M., Gonen, T., Goldenfeld, M., Meltzer, L., Andronico, A., Hozé, N., Cauchemez, S., & Regev-Yochay, G. (2021). Impact of BNT162b2 vaccination and isolation on SARS-CoV-2 transmission in Israeli households: an observational study. *MedRxiv*, 2021.07.12.21260377. <https://doi.org/10.1101/2021.07.12.21260377>
- ³³ Lavine, J. S., Bjornstad, O. N., & Antia, R. (2021). Immunological characteristics govern the transition of COVID-19 to endemicity. *Science (New York, N. Y.)*, 371(6530). <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.ABE6522>
- ³⁴ Ke, R., Martinez, P. P., Smith, R. L., Gibson, L. L., Achenbach, C. J., McFall, S., Qi, C., Jacob, J., Dembele, E., Bundy, C., Simons, L. M., Ozer, E. A., Hultquist, J. F., Lorenzo-Redondo, R., Opdycke, A. K., Hawkins, C., Murphy, R. L., Mirza, A., Conte, M., ... Brooke, C. B. (2021). Longitudinal analysis of SARS-CoV-2 vaccine breakthrough infections reveal limited infectious virus shedding and restricted tissue distribution. *MedRxiv*, 2021.08.30.21262701. <https://doi.org/10.1101/2021.08.30.21262701>
- ³⁵ Goel, R. R., Painter, M. M., Apostolidis, S. A., Mathew, D., Meng, W., Rosenfeld, A. M., Lundgreen, K. A., Reynaldi, A., Khoury, D. S., Pattekar, A., Gouma, S., Kuri-Cervantes, L., Hicks, P., Dysinger, S., Hicks, A., Sharma, H., Herring, S., Korte, S., Baxter, A. E., ... Vanderbeck, A. N. (2021). mRNA vaccines induce durable immune memory to SARS-CoV-2 and variants of concern. *Science*. https://doi.org/10.1126/SCIENCE.ABM0829/SUPPL_FILE/SCIENCE.ABM0829_SM.PDF
- ³⁶ Variante Delta, el coronavirus con esteroides | *El Economista*. (2021). Retrieved February 5, 2022, from <https://www.economista.com.mx/politica/Variante-Delta-el-coronavirus-con-esteroides-20210829-0002.html>
- ³⁷ Zhou, P., Yang, X. lou, Wang, X. G., Hu, B., Zhang, L., Zhang, W., Si, H. R., Zhu, Y., Li, B., Huang, C. L., Chen, H. D., Chen, J., Luo, Y., Guo, H., Jiang, R. di, Liu, M. Q., Chen, Y., Shen, X. R., Wang, X., ... Shi, Z. L. (2020). A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, 579(7798), 270–273. <https://doi.org/10.1038/S41586-020-2012-7>

-
- ³⁸ Daniloski, Z., Jordan, T. X., Wessels, H. H., Hoagland, D. A., Kasela, S., Legut, M., Maniatis, S., Mimitou, E. P., Lu, L., Geller, E., Danziger, O., Rosenberg, B. R., Phatnani, H., Smibert, P., Lappalainen, T., tenOever, B. R., & Sanjana, N. E. (2021). Identification of Required Host Factors for SARS-CoV-2 Infection in Human Cells. *Cell*, *184*(1), 92-105.e16. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2020.10.030/ATTACHMENT/18B1798C-D90A-4DDF-8AC4-81B6FE25F675/MMC6.XLSX>
- ³⁹ Cagliani, R., Forni, D., Clerici, M., & Sironi, M. (2020). Computational Inference of Selection Underlying the Evolution of the Novel Coronavirus, Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2. *Journal of Virology*, *94*(12). <https://doi.org/10.1128/JVI.00411-20>
- ⁴⁰ Hackbart, M., Deng, X. and Baker, S. C. (2020) 'Coronavirus endoribonuclease targets viral polyuridine sequences to evade activating host sensors', Proceedings of the National Academy of Sciences, *117*(14), pp. 8094–8103. doi: 10.1073/pnas.1921485117.
- ⁴¹ Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Schroeder, S., Krüger, N., Herrler, T., Erichsen, S., Schiergens, T. S., Herrler, G., Wu, N. H., Nitsche, A., Müller, M. A., Drosten, C., & Pöhlmann, S. (2020). SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*, *181*(2), 271-280.e8. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2020.02.052>
- ⁴² Follis, K. E., York, J., & Nunberg, J. H. (2006). Furin cleavage of the SARS coronavirus spike glycoprotein enhances cell-cell fusion but does not affect virion entry. *Virology*, *350*(2), 358–369. <https://doi.org/10.1016/J.VIROL.2006.02.003>
- ⁴³ Hwang, S. S., Lim, J., Yu, Z., Kong, P., Sefik, E., Xu, H., Harman, C. C. D., Kim, L. K., Lee, G. R., Li, H. B., & Flavell, R. A. (2020). Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science (New York, N.Y.)*, *367*(6483), 1255–1260. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.ABB2507>
- ⁴⁴ Heald-Sargent, T. and Gallagher, T. (2012) 'Ready, set, fuse! the coronavirus spike protein and acquisition of fusion competence', *Viruses*, *4*(4), pp. 557–580. doi: 10.3390/v4040557
- ⁴⁵ Walls, A. C., Park, Y. J., Tortorici, M. A., Wall, A., McGuire, A. T., & Velesler, D. (2020). Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell*, *181*(2), 281-292.e6. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2020.02.058>
- ⁴⁶ Rossi, G. P., Sanga, V., & Barton, M. (2020). Potential harmful effects of discontinuing ACE-inhibitors and ARBs in COVID-19 patients. *ELife*, *9*. <https://doi.org/10.7554/ELIFE.57278>
- ⁴⁷ South, A. M., Diz, D. I., & Chappell, M. C. (2020). COVID-19, ACE2, and the cardiovascular consequences. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, *318*(5), H1084–H1090. <https://doi.org/10.1152/AJPHEART.00217.2020>
- ⁴⁸ Fehr, A. R., & Perlman, S. (2015). Coronaviruses: An Overview of Their Replication and Pathogenesis. *Coronaviruses: Methods and Protocols*, *1282*, 1–23. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2438-7_1
- ⁴⁹ Perlman, S., & Netland, J. (2009). Coronaviruses post-SARS: update on replication and pathogenesis. *Nature Reviews Microbiology* *2009* 7:6, *7*(6), 439–450. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2147>
- ⁵⁰ Leung, W. K., To, K., Chan, P. K. S., Chan, H. L. Y., Wu, A. K. L., Lee, N., Yuen, K. Y., & Sung, J. J. Y. (2003). Enteric involvement of severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus infection. *Gastroenterology*, *125*(4), 1011–1017. [https://doi.org/10.1016/S0016-5085\(03\)01215-0](https://doi.org/10.1016/S0016-5085(03)01215-0)
- ⁵¹ Harrison, A. G., Lin, T., & Wang, P. (2020). Mechanisms of SARS-CoV-2 Transmission and Pathogenesis. *Trends in Immunology*, *41*(12), 1100. <https://doi.org/10.1016/J.IT.2020.10.004>
- ⁵² *Symptoms of COVID-19 | CDC.* (s.a.). Consultado el 2 de enero, 2022, de <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/symptoms-testing/symptoms.html>

-
- ⁵³ Ruiz-Bravo, A., Jiménez-Valera, M., Ruiz-Bravo, A., & Jiménez-Valera, M. (2020). SARS-CoV-2 y pandemia de síndrome respiratorio agudo (COVID-19). *Ars Pharmaceutica (Internet)*, *61*(2), 63–79. <https://doi.org/10.30827/ARS.V61I2.15177>
- ⁵⁴ Wu, Y., Xu, X., Chen, Z., Duan, J., Hashimoto, K., Yang, L., Liu, C., & Yang, C. (2020). Nervous system involvement after infection with COVID-19 and other coronaviruses. *Brain, Behavior, and Immunity*, *87*, 18–22. <https://doi.org/10.1016/J.BBI.2020.03.031>
- ⁵⁵ Zheng, Z., Peng, F., Xu, B., Zhao, J., Liu, H., Peng, J., Li, Q., Jiang, C., Zhou, Y., Liu, S., Ye, C., Zhang, P., Xing, Y., Guo, H., & Tang, W. (2020). Risk factors of critical & mortal COVID-19 cases: A systematic literature review and meta-analysis. *The Journal of Infection*, *81*(2), e16. <https://doi.org/10.1016/J.JINF.2020.04.021>
- ⁵⁶ Li, X., Geng, M., Peng, Y., Meng, L., & Lu, S. (2020). Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, *10*(2), 102–108. <https://doi.org/10.1016/J.JPHA.2020.03.001>
- ⁵⁷ Busnadiego, I., Fernbach, S., Pohl, M. O., Karakus, U., Huber, M., Trkola, A., Stertz, S., & Hale, B. G. (2020). Antiviral Activity of Type I, II, and III Interferons Counterbalances ACE2 Inducibility and Restricts SARS-CoV-2. *MBio*, *11*(5), 1–10. <https://doi.org/10.1128/MBIO.01928-20>
- ⁵⁸ Sette, A., & Crotty, S. (2021). Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19. *Cell*, *184*(4), 861–880. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2021.01.007>
- ⁵⁹ Beacon, T. H., Su, R.-C., Lakowski, T. M., Delcuve, G. P., & Davie, J. R. (2020). SARS-CoV-2 multifaceted interaction with the human host . Part II : Innate immunity response , immunopathology , and epigenetics. *IUBMB Life*, 1–24. <https://doi.org/10.1002/iub.2379>
- ⁶⁰ Pons, S., Fodil, S., Azoulay, E., & Zafrani, L. (2020). *The vascular endothelium : the cornerstone of organ dysfunction in severe SARS-CoV-2 infection*. 4–11.
- ⁶¹ Al-Benna, S. (2020). Association of high level gene expression of ACE2 in adipose tissue with mortality of COVID-19 infection in obese patients. *Obesity Medicine*, *19*(July), 100283. <https://doi.org/10.1016/j.obmed.2020.100283>
- ⁶² Iyer, A. S., Jones, F. K., Nodoushani, A., Kelly, M., Becker, M., Slater, D., Mills, R., Teng, E., Kamruzzaman, M., Garcia-Beltran, W. F., Astudillo, M., Yang, D., Miller, T. E., Oliver, E., Fischinger, S., Atyeo, C., Iafate, A. J., Calderwood, S. B., Lauer, S. A., ... Charles, R. C. (2020). Dynamics and significance of the antibody response to SARS-CoV-2 infection. *MedRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.07.18.20155374>
- ⁶³ Li, G., Chen, X., & Xu, A. (2009). Profile of Specific Antibodies to the SARS-Associated Coronavirus. <http://Dx.Doi.Org/10.1056/NEJM200307313490520>, *349*(5), 508–509. <https://doi.org/10.1056/NEJM200307313490520>
- ⁶⁴ Sette, A., & Crotty, S. (2021). Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19. *Cell*, *184*(4), 861–880. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2021.01.007>
- ⁶⁵ Dotan, A., Muller, S., Kanduc, D., David, P., Halpert, G., & Shoenfeld, Y. (2021). The SARS-CoV-2 as an instrumental trigger of autoimmunity. *Autoimmunity Reviews*, *20*(4), 102792. <https://doi.org/10.1016/J.AUTREV.2021.102792>
- ⁶⁶ Dan, J. M., Mateus, J., Kato, Y., Hastie, K. M., Yu, E. D., Faliti, C. E., Grifoni, A., Ramirez, S. I., Haupt, S., Frazier, A., Nakao, C., Rayaprolu, V., Rawlings, S. A., Peters, B., Krammer, F., Simon, V., Saphire, E. O., Smith, D. M., Weiskopf, D., ... Crotty, S. (2021). Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. *Science (New York, N. Y.)*, *371*(6529). <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.ABF4063>
- ⁶⁷ Hsieh, L.-E., Grifoni, A., Dave, H., Wang, J., Johnson, D., Zellner, J., Sidney, J., Chambers,

C., & Franco, A. (2021). SARS-CoV-2-specific T cell responses and immune regulation in infected pregnant women. *Journal of Reproductive Immunology*, 149, 103464. <https://doi.org/10.1016/J.JRI.2021.103464>

⁶⁸ le Bert, N., Tan, A. T., Kunasegaran, K., Tham, C. Y. L., Hafezi, M., Chia, A., Chng, M. H. Y., Lin, M., Tan, N., Linster, M., Chia, W. N., Chen, M. I. C., Wang, L. F., Ooi, E. E., Kalimuddin, S., Tambyah, P. A., Low, J. G. H., Tan, Y. J., & Bertoletti, A. (2020). SARS-CoV-2-specific T cell immunity in cases of COVID-19 and SARS, and uninfected controls. *Nature* 2020 584:7821, 584(7821), 457–462. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2550-z>

⁶⁹ <https://www.nature.com/articles/s41586-021-03647-4#Sec5>

⁷⁰ Morales-Núñez, J. J., Muñoz-Valle, J. F., Torres-Hernández, P. C., & Hernández-Bello, J. (2021). Overview of Neutralizing Antibodies and Their Potential in COVID-19. *Vaccines*, 9(12). <https://doi.org/10.3390/VACCINES9121376>

⁷¹ Zhou, G., & Zhao, Q. (2020). Perspectives on therapeutic neutralizing antibodies against the novel coronavirus sars-cov-2. *International Journal of Biological Sciences*, 16(10), 1718–1723. <https://doi.org/10.7150/IJBS.45123>

⁷² Bachmann, M. F., Mohsen, M. O., Zha, L., Vogel, M., & Speiser, D. E. (2021). SARS-CoV-2 structural features may explain limited neutralizing-antibody responses. *Npj Vaccines* 2021 6:1, 6(1), 1–5. <https://doi.org/10.1038/s41541-020-00264-6>

⁷³ Jiang, S., & Du, L. (2020). Effect of Low-Pathogenic Human Coronavirus-Specific Antibodies on SARS-CoV-2. *Trends in Immunology*, 41(10), 853–854. <https://doi.org/10.1016/J.IT.2020.08.003>

⁷⁴ Khoury, D. S., Cromer, D., Reynaldi, A., Schlub, T. E., Wheatley, A. K., Juno, J. A., Subbarao, K., Kent, S. J., Triccas, J. A., & Davenport, M. P. (2021). Neutralizing antibody levels are highly predictive of immune protection from symptomatic SARS-CoV-2 infection. *Nature Medicine* 2021 27:7, 27(7), 1205–1211. <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01377-8>

⁷⁵ Kallolimath, S., Sun, L., Palt, R., Stiasny, K., Mayrhofer, P., Gruber, C., Kogelmann, B., Chen, Q., & Steinkellner, H. (2021). Highly active engineered IgG3 antibodies against SARS-CoV-2. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118(42). <https://doi.org/10.1073/PNAS.2107249118>

⁷⁶ Gaebler, C., Wang, Z., Lorenzi, J. C. C., Muecksch, F., Finkin, S., Tokuyama, M., Cho, A., Jankovic, M., Schaefer-Babajew, D., Oliveira, T. Y., Cipolla, M., Viant, C., Barnes, C. O., Bram, Y., Breton, G., Hägglöf, T., Mendoza, P., Hurley, A., Turroja, M., ... Nussenzweig, M. C. (2021). Evolution of antibody immunity to SARS-CoV-2. *Nature*, November 2020. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03207-w>

⁷⁷ Goel, R. R., Painter, M. M., Apostolidis, S. A., Mathew, D., Meng, W., Rosenfeld, A. M., Lundgreen, K. A., Reynaldi, A., Khoury, D. S., Pattekar, A., Gouma, S., Kuri-Cervantes, L., Hicks, P., Dysinger, S., Hicks, A., Sharma, H., Herring, S., Korte, S., Baxter, A. E., ... Wherry, E. J. (2021). mRNA vaccines induce durable immune memory to SARS-CoV-2 and variants of concern. *Science*, 374(6572). https://doi.org/10.1126/SCIENCE.ABM0829/SUPPL_FILE/SCIENCE.ABM0829_SM.PDF

⁷⁸ Dan, J. M., Mateus, J., Kato, Y., Hastie, K. M., Yu, E. D., Faliti, C. E., Grifoni, A., Ramirez, S. I., Haupt, S., Frazier, A., Nakao, C., Rayaprolu, V., Rawlings, S. A., Peters, B., Krammer, F., Simon, V., Saphire, E. O., Smith, D. M., Weiskopf, D., ... Crotty, S. (2021). Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. *Science (New York, N.y.)*, 371(6529). <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.ABF4063>

⁷⁹ Ciabattini, A., Pastore, G., Fiorino, F., Polvere, J., Lucchesi, S., Pettini, E., Auddino, S., Rancan, I., Durante, M., Miscia, M., Rossetti, B., Fabbiani, M., Montagnani, F., & Medagliani, D. (2021). Evidence of SARS-CoV-2-Specific Memory B Cells Six Months After Vaccination With the BNT162b2 mRNA Vaccine. *Frontiers in Immunology*, 12.

⁸⁰ Ejemel, M., Li, Q., Hou, S., Schiller, Z. A., Wallace, A. L., Amcheslavsky, A., Yilmaz, N. K., Toomey, J. R., Schneider, R., Close, B. J., Chen, D.-Y., Conway, H. L., Mohsan, S., Cavacini, L. A., Klempner, M. S., Schiffer, C. A., & Wang, Y. (2020). IgA MAb blocks SARS-CoV-2 Spike-ACE2 interaction providing mucosal immunity. *BioRxiv*, 2020.05.15.096719. <https://doi.org/10.1101/2020.05.15.096719>

⁸¹ Wang, Z., Lorenzi, J. C. C., Muecksch, F., Finkin, S., Viant, C., Gaebler, C., Cipolla, M., Hoffman, H.-H., Oliveira, T. Y., Oren, D. A., Ramos, V., Nogueira, L., Michailidis, E., Robbiani, D. F., Gazumyan, A., Rice, C. M., Hatzioannou, T., Bieniasz, P. D., Caskey, M., & Nussenzweig, M. C. (2020). Enhanced SARS-CoV-2 Neutralization by Secretory IgA in vitro. *BioRxiv*, 2020.09.09.288555. <https://doi.org/10.1101/2020.09.09.288555>

⁸² Jaume, M., Yip, M. S., Cheung, C. Y., Leung, H. L., Li, P. H., Kien, F., Dutry, I., Callendret, B., Esciou, N., Altmeyer, R., Nal, B., Daeron, M., Bruzzone, R., & Peiris, J. S. M. (2011). Anti-severe acute respiratory syndrome coronavirus spike antibodies trigger infection of human immune cells via a pH- and cysteine protease-independent FcγR pathway. *Journal of Virology*, 85(20), 10582–10597. <https://doi.org/10.1128/JVI.00671-11>

⁸³ Arvin, A. M., Fink, K., Schmid, M. A., Cathcart, A., Spreafico, R., Havenar-Daughton, C., Lanzavecchia, A., Corti, D., & Virgin, H. W. (2020). A perspective on potential antibody-dependent enhancement of SARS-CoV-2. *Nature*, 584(7821), 353–363. <https://doi.org/10.1038/S41586-020-2538-8>

⁸⁴ Eroshenko, N., Gill, T., Keaveney, M. K., Church, G. M., Trevejo, J. M., & Rajaniemi, H. (2020). Implications of antibody-dependent enhancement of infection for SARS-CoV-2 countermeasures. *Nature Biotechnology*, 38(7), 789–791. <https://doi.org/10.1038/S41587-020-0577-1>

⁸⁵ Wang, Z., Deng, T., Zhang, Y., Niu, W., Nie, Q., Yang, S., Liu, P., Pei, P., Chen, L., Li, H., & Cao, B. (2022). ACE2 can act as the secondary receptor in the FcγR-dependent ADE of SARS-CoV-2 infection. *iScience*, 25(1), 103720. <https://doi.org/10.1016/J.ISCI.2021.103720>

⁸⁶ Vangelista, L., & Secchi, M. (2020). Prepare for the Future: Dissecting the Spike to Seek Broadly Neutralizing Antibodies and Universal Vaccine for Pandemic Coronaviruses. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 7. <https://doi.org/10.3389/FMOLB.2020.00226>

⁸⁷ Yuan, P., Ai, P., Liu, Y., Ai, Z., Wang, Y., Cao, W., Xia, X., & Zheng, J. C. (2021). Safety, Tolerability, and Immunogenicity of COVID-19 Vaccines: A Systematic Review and Meta-Analysis. *MedRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.11.03.20224998>

⁸⁸ Polack, F. P., Thomas, S. J., Kitchin, N., Absalon, J., Gurtman, A., Lockhart, S., Perez, J. L., Pérez Marc, G., Moreira, E. D., Zerbini, C., Bailey, R., Swanson, K. A., Roychoudhury, S., Koury, K., Li, P., Kalina, W. v., Cooper, D., Frenck, R. W., Hammitt, L. L., ... Gruber, W. C. (2020). Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine. *The New England Journal of Medicine*, 383(27), 2603–2615. <https://doi.org/10.1056/NEJMOA2034577>

⁸⁹ Vacunacovid.Gob.Mx . (2021). *Vacunación en México* . <http://vacunacovid.gob.mx/wordpress/informacion-de-la-vacuna/>

⁹⁰ Walsh, E. E., Frenck, R. W., Falsey, A. R., Kitchin, N., Absalon, J., Gurtman, A., Lockhart, S., Neuzil, K., Mulligan, M. J., Bailey, R., Swanson, K. A., Li, P., Koury, K., Kalina, W., Cooper, D., Fontes-Garfias, C., Shi, P.-Y., Türeci, Ö., Tompkins, K. R., ... Gruber, W. C. (2020). Safety and Immunogenicity of Two RNA-Based Covid-19 Vaccine Candidates. *New England Journal of Medicine*, 383(25), 2439–2450. https://doi.org/10.1056/NEJMOA2027906/SUPPL_FILE/NEJMOA2027906_DATA-SHARING.PDF

⁹¹ Yuan, P., Ai, P., Liu, Y., Ai, Z., Wang, Y., Cao, W., Xia, X., & Zheng, J. C. (2021). Safety,

⁹² Cho, A., Muecksch, F., Schaefer-Babajew, D., Wang, Z., Finkin, S., Gaebler, C., Ramos, V., Cipolla, M., Mendoza, P., Agudelo, M., Bednarski, E., DaSilva, J., Shimeliovich, I., Dizon, J., Daga, M., Millard, K., Turroja, M., Schmidt, F., Zhang, F., ... Nussenzweig, M. C. (2021). Anti-SARS-CoV-2 receptor-binding domain antibody evolution after mRNA vaccination. *Nature* 2021 600:7889, 600(7889), 517–522. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-04060-7>

⁹³ Wang, Z., Schmidt, F., Weisblum, Y., Muecksch, F., Barnes, C. O., Finkin, S., Schaefer-Babajew, D., Cipolla, M., Gaebler, C., Lieberman, J. A., Oliveira, T. Y., Yang, Z., Abernathy, M. E., Huey-Tubman, K. E., Hurley, A., Turroja, M., West, K. A., Gordon, K., Millard, K. G., ... Nussenzweig, M. C. (2021). mRNA vaccine-elicited antibodies to SARS-CoV-2 and circulating variants. *Nature* 2021 592:7855, 592(7855), 616–622. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03324-6>

⁹⁴ Khoury, D. S., Cromer, D., Reynaldi, A., Schlub, T. E., Wheatley, A. K., Juno, J. A., Subbarao, K., Kent, S. J., Triccas, J. A., & Davenport, M. P. (2021). Neutralizing antibody levels are highly predictive of immune protection from symptomatic SARS-CoV-2 infection. *Nature Medicine*, 27(7), 1205–1211. <https://doi.org/10.1038/S41591-021-01377-8>

⁹⁵ Tarke, A., Sidney, J., Methot, N., Yu, E. D., Zhang, Y., Dan, J. M., Goodwin, B., Rubiro, P., Sutherland, A., Wang, E., Frazier, A., Ramirez, S. I., Rawlings, S. A., Smith, D. M., da Silva Antunes, R., Peters, B., Scheuermann, R. H., Weiskopf, D., Crotty, S., ... Sette, A. (2021). Impact of SARS-CoV-2 variants on the total CD4 + and CD8 + T cell reactivity in infected or vaccinated individuals. *Cell Reports. Medicine*, 2(7). <https://doi.org/10.1016/J.XCRM.2021.100355>

⁹⁶ Cromer, D., Steain, M., Reynaldi, A., Schlub, T. E., Wheatley, A. K., Juno, J. A., Kent, S. J., Triccas, J. A., Khoury, D. S., & Davenport, M. P. (2021). SARS-CoV-2 variants: levels of neutralisation required for protective immunity. *MedRxiv*, 2021.08.11.21261876. <https://doi.org/10.1101/2021.08.11.21261876>

⁹⁷ Dan, J. M., Mateus, J., Kato, Y., Hastie, K. M., Yu, E. D., Faliti, C. E., Grifoni, A., Ramirez, S. I., Haupt, S., Frazier, A., Nakao, C., Rayaprolu, V., Rawlings, S. A., Peters, B., Krammer, F., Simon, V., Saphire, E. O., Smith, D. M., Weiskopf, D., ... Crotty, S. (2021). Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. *Science (New York, N.Y.)*, 371(6529). <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.ABF4063>

⁹⁸ Post, N., Eddy, D., Huntley, C., van Schalkwyk, M. C. I., Shrotri, M., Leeman, D., Rigby, S., Williams, S. V., Bermingham, W. H., Kellam, P., Maher, J., Shields, A. M., Amirthalingam, G., Peacock, S. J., & Ismail, S. A. (2020). Antibody response to SARS-CoV-2 infection in humans: A systematic review. *PLoS ONE*, 15(12), 1–27. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0244126>

⁹⁹ Duysburgh, E., Mortgat, L., Barbezange, C., Dierick, K., Fischer, N., Heyndrickx, L., Hutse, V., Thomas, I., Van Gucht, S., Vuylsteke, B., Ariën, K. K., & Desombere, I. (2021). Persistence of IgG response to SARS-CoV-2. *The Lancet Infectious Diseases*, 21(2), 163–164. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30943-9](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30943-9)

¹⁰⁰ Yuan, P. *et al.* (2020) “Safety, Tolerability, and Immunogenicity of COVID-19 Vaccines: A Systematic Review and Meta-Analysis”, *medRxiv*. medRxiv. doi: 10.1101/2020.11.03.20224998

¹⁰¹ Gaebler, C., Wang, Z., Lorenzi, J. C. C., Muecksch, F., Finkin, S., Tokuyama, M., Cho, A., Jankovic, M., Schaefer-Babajew, D., Oliveira, T. Y., Cipolla, M., Viant, C., Barnes, C. O., Bram, Y., Breton, G., Hägglöf, T., Mendoza, P., Hurley, A., Turroja, M., ... Nussenzweig, M. C. (2021). Evolution of antibody immunity to SARS-CoV-2. *Nature*, November 2020. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03207-w>

¹⁰² Cho, A., Muecksch, F., Schaefer-Babajew, D., Wang, Z., Finkin, S., Gaebler, C., Ramos, V., Cipolla, M., Mendoza, P., Agudelo, M., Bednarski, E., DaSilva, J., Shimeliovich, I., Dizon, J.,

Daga, M., Millard, K., Turroja, M., Schmidt, F., Zhang, F., ... Nussenzweig, M. C. (2021). Anti-SARS-CoV-2 Receptor Binding Domain Antibody Evolution after mRNA Vaccination. *BioRxiv*, 2021.07.29.454333. <https://doi.org/10.1101/2021.07.29.454333>

¹⁰³ Goel, R. R., Painter, M. M., Apostolidis, S. A., Mathew, D., Meng, W., Rosenfeld, A. M., Lundgreen, K. A., Reynaldi, A., Khoury, D. S., Pattekar, A., Gouma, S., Kuri-Cervantes, L., Hicks, P., Dysinger, S., Hicks, A., Sharma, H., Herring, S., Korte, S., Baxter, A. E., ... Wherry, E. J. (2021). mRNA vaccines induce durable immune memory to SARS-CoV-2 and variants of concern. *Science*, 374(6572). https://doi.org/10.1126/SCIENCE.ABM0829/SUPPL_FILE/SCIENCE.ABM0829_SM.PDF

¹⁰⁴ Sahin, U., Muik, A., Vogler, I., Derhovanessian, E., Kranz, L. M., Vormehr, M., Quandt, J., Bidmon, N., Ulges, A., Baum, A., Pascal, K. E., Maurus, D., Brachtendorf, S., Lörks, V., Sikorski, J., Koch, P., Hilker, R., Becker, D., Eller, A. K., ... Türeci, Ö. (2021). BNT162b2 vaccine induces neutralizing antibodies and poly-specific T cells in humans. *Nature*, 595(7868), 572–577. <https://doi.org/10.1038/S41586-021-03653-6>

¹⁰⁵ Stankov, M. v., Cossmann, A., Bonifacius, A., Dopfer-Jablonka, A., Ramos, G. M., Gödecke, N., Scharff, A. Z., Happle, C., Boeck, A.-L., Tran, A. T., Pink, I., Hoeper, M. M., Blasczyk, R., Winkler, M. S., Nehlmeier, I., Kempf, A., Hofmann-Winkler, H., Hoffmann, M., Eiz-Vesper, B., ... Behrens, G. M. N. (2021). Humoral and cellular immune responses against SARS-CoV-2 variants and human coronaviruses after single BNT162b2 vaccination. *MedRxiv*, 2021.04.16.21255412. <https://doi.org/10.1101/2021.04.16.21255412>

¹⁰⁶ Rahman, M. S., Islam, M. R., Alam, A. S. M. R. U., Islam, I., Hoque, M. N., Akter, S., Rahaman, M. M., Sultana, M., & Hossain, M. A. (2021). Evolutionary dynamics of SARS-CoV-2 nucleocapsid protein and its consequences. *Journal of Medical Virology*, 93(4), 2177–2195. <https://doi.org/10.1002/JMV.26626>

¹⁰⁷ Cheng, Z. J., Li, B., Zhan, Z., Zhao, Z., Xue, M., Zheng, P., Lyu, J., Hu, C., He, J., Chen, R., & Sun, B. (2022). Clinical Application of Antibody Immunity Against SARS-CoV-2: Comprehensive Review on Immunoassay and Immunotherapy. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 1, 1. <https://doi.org/10.1007/S12016-021-08912-Y>

¹⁰⁸ Diao, B., Wen, K., Zhang, J., Chen, J., Han, C., Chen, Y., Wang, S., Deng, G., Zhou, H., & Wu, Y. (2021). Accuracy of a nucleocapsid protein antigen rapid test in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection. *Clinical Microbiology and Infection*, 27(2), 289.e1. <https://doi.org/10.1016/J.CMI.2020.09.057>

¹⁰⁹ Liu, W., Liu, L., Kou, G., Zheng, Y., Ding, Y., Ni, W., Wang, Q., Tan, L., Wu, W., Tang, S., Xiong, Z., & Zheng, S. (2020). Evaluation of Nucleocapsid and Spike Protein-Based Enzyme-Linked Immunosorbent Assays for Detecting Antibodies against SARS-CoV-2. *Journal of Clinical Microbiology*, 58(6). <https://doi.org/10.1128/JCM.00461-20>

¹¹⁰ Ramesh, S., Govindarajulu, M., Parise, R. S., Neel, L., Shankar, T., Patel, S., Lowery, P., Smith, F., Dhanasekaran, M., & Moore, T. (2021). Emerging SARS-CoV-2 Variants: A Review of Its Mutations, Its Implications and Vaccine Efficacy. *Vaccines 2021*, Vol. 9, Page 1195, 9(10), 1195. <https://doi.org/10.3390/VACCINES9101195>

¹¹¹ Planas, D., Veyer, D., Baidaliuk, A., Staropoli, I., Guivel-Benhassine, F., Rajah, M. M., Planchais, C., Porrot, F., Robillard, N., Puech, J., Prot, M., Gallais, F., Gantner, P., Velay, A., le Guen, J., Kassis-Chikhani, N., Edriss, D., Belec, L., Seve, A., ... Schwartz, O. (2021). Reduced sensitivity of SARS-CoV-2 variant Delta to antibody neutralization. *Nature 2021* 596:7871, 596(7871), 276–280. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03777-9>

¹¹² Bernal, J. L., Andrews, N., Gower, C., Gallagher, E., Simmons, R., Thelwall, S., Stowe, J., Tessier, E., Groves, N., Dabrera, G., Myers, R., Campbell, C., Amirthalingam, G., Edmunds, M., Zambon, M., Brown, K., Hopkins, S., Chand, M., & Ramsay, M. (2021). Effectiveness of COVID-19 vaccines against the B.1.617.2 variant. *MedRxiv*, 2021.05.22.21257658. <https://doi.org/10.1101/2021.05.22.21257658>

-
- ¹¹³ Yadav, P. D., Sapkal, G. N., Abraham, P., Ella, R., Deshpande, G., Patil, D. Y., Nyayanit, D. A., Gupta, N., Sahay, R. R., Shete, A. M., Panda, S., Bhargava, B., & Mohan, V. K. (2022). Neutralization of Variant Under Investigation B.1.617.1 With Sera of BBV152 Vaccinees. *Clinical Infectious Diseases*, *74*(2), 366–368. <https://doi.org/10.1093/CID/CIAB411>
- ¹¹⁴ Hoffmann, M., Hofmann-Winkler, H., Krüger, N., Kempf, A., Nehlmeier, I., Graichen, L., Arora, P., Sidarovich, A., Moldenhauer, A. S., Winkler, M. S., Schulz, S., Jäck, H. M., Stankov, M. v., Behrens, G. M. N., & Pöhlmann, S. (2021). SARS-CoV-2 variant B.1.617 is resistant to bamlanivimab and evades antibodies induced by infection and vaccination. *Cell Reports*, *36*(3), 109415. <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2021.109415/ATTACHMENT/39B1E666-BE93-41A9-A42B-526240B8B305/MMC1.PDF>
- ¹¹⁵ Rivera Dommarco Ja, Colchero Ma, Fuentes ml, González de Cosío Martínez T, Aguilar Salinas Ca, Hernández Licona G, Barquera S (2018). La obesidad en México. Estado de la política pública y recomendaciones para su prevención y control. Cuernavaca: Instituto Nacional de Salud Pública.
- ¹¹⁶ Jung, U. J., & Choi, M. S. (2014). Obesity and Its Metabolic Complications: The Role of Adipokines and the Relationship between Obesity, Inflammation, Insulin Resistance, Dyslipidemia and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, *15*(4), 6184. <https://doi.org/10.3390/IJMS15046184>
- ¹¹⁷ World Health Organization (2021) *Obesidad y sobrepeso*. Retrieved February 9, 2022, from <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
- ¹¹⁸ Secretaría de Salud. Norma Oficial Mexicana NOM-043-SSA2-2005, Servicios básicos de salud. Promoción y educación para la salud en materia alimentaria. Criterios para brindar orientación. Diario Oficial de la Federación, México, 23 de enero del 2006
- ¹¹⁹ Frasca, D., Reidy, L., Romero, M., Diaz, A., Cray, C., Kahl, K., & Blomberg, B. B. (2021). The majority of SARS-CoV-2-specific antibodies in COVID-19 patients with obesity are autoimmune and not neutralizing. *International Journal of Obesity* *2021* *46*:2, *46*(2), 427–432. <https://doi.org/10.1038/s41366-021-01016-9>
- ¹²⁰ Bruno, A., Ferrante, G., di Vincenzo, S., Pace, E., & la Grutta, S. (2021). Leptin in the Respiratory Tract: Is There a Role in SARS-CoV-2 Infection? *Frontiers in Physiology*, *12*. <https://doi.org/10.3389/FPHYS.2021.776963>
- ¹²¹ Rebello, C. J., Kirwan, J. P., & Greenway, F. L. (2020). Obesity, the most common comorbidity in SARS-CoV-2: is leptin the link? *International Journal of Obesity* *2020* *44*:9, *44*(9), 1810–1817. <https://doi.org/10.1038/s41366-020-0640-5>
- ¹²² Jung, U. J., & Choi, M. S. (2014). Obesity and Its Metabolic Complications: The Role of Adipokines and the Relationship between Obesity, Inflammation, Insulin Resistance, Dyslipidemia and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, *15*(4), 6184. <https://doi.org/10.3390/IJMS15046184>
- ¹²³ Petrakis, D., Margină, D., Tsarouhas, K., Tekos, F., Stan, M., Nikitovic, D., Kouretas, D., Spandidos, D. A., & Tsatsakis, A. (2020). Obesity - a risk factor for increased COVID-19 prevalence, severity and lethality (Review). *Molecular Medicine Reports*, *22*(1), 9–19. <https://doi.org/10.3892/MMR.2020.11127/HTML>
- ¹²⁴ di Filippo, L., de Lorenzo, R., Sciorati, C., Capobianco, A., Lorè, N. I., Giustina, A., Manfredi, A. A., Rovere-Querini, P., & Conte, C. (2021). Adiponectin to leptin ratio reflects inflammatory burden and survival in COVID-19. *Diabetes & Metabolism*, *47*(6), 101268. <https://doi.org/10.1016/J.DIABET.2021.101268>
- ¹²⁵ Ovsyannikova, I. G., White, S. J., Larrabee, B. R., Grill, D. E., Jacobson, R. M., & Poland, G. A. (2014). Leptin and Leptin-Related Gene Polymorphisms, Obesity, and Influenza A/H1N1 Vaccine-Induced Immune Responses in Older Individuals. *Vaccine*, *32*(7), 881.

¹²⁶ van der Voort, P. H. J., Moser, J., Zandstra, D. F., Muller Kobold, A. C., Knoester, M., Calkhoven, C. F., Hamming, I., & van Meurs, M. (2020). Leptin levels in SARS-CoV-2 infection related respiratory failure: A cross-sectional study and a pathophysiological framework on the role of fat tissue. *Heliyon*, 6(8). <https://doi.org/10.1016/J.HELİYON.2020.E04696>

¹²⁷ Liu, D., Zhang, T., Wang, Y., & Xia, L. (2021). The Centrality of Obesity in the Course of Severe COVID-19. *Frontiers in Endocrinology*, 12, 180. <https://doi.org/10.3389/FENDO.2021.620566/BIBTEX>

¹²⁸ Kearns, S. M., Ahern, K. W., Patrie, J. T., Horton, W. B., Harris, T. E., & Kadl, A. (2021). Reduced adiponectin levels in patients with COVID-19 acute respiratory failure: A case-control study. *Physiological Reports*, 9(7). <https://doi.org/10.14814/PHY2.14843>

¹²⁹ Blüher, M. (2019). Obesity: global epidemiology and pathogenesis. *Nature Reviews Endocrinology* 2019 15:5, 15(5), 288–298. <https://doi.org/10.1038/s41574-019-0176-8>

¹³⁰ Mohammadzadeh, G., Ghaffari, M.-A., Bafandeh, A., Hosseini, S.-M., & Ahmadi, B. (2015). The Relationship between -2548 G/A Leptin Gene Polymorphism and Risk of Breast Cancer and Serum Leptin Levels in Ahvazian Women. *Iranian Journal of Cancer Prevention*, 8(2), 100. <http://pmc/articles/PMC4411471/>

¹³¹ Lee, A. K., & Bishop, J. R. (2011). Pharmacogenetics of leptin in antipsychotic-associated weight gain and obesity-related complications. <http://Dx.Doi.Org/10.2217/Pgs.11.45>, 12(7), 999–1016. <https://doi.org/10.2217/PGS.11.45>

¹³² Marcos-Pasero, H., Aguilar-Aguilar, E., Colmenarejo, G., de Molina, A. R., Reglero, G., & Loria-Kohen, V. (2020). The Q223R Polymorphism of the Leptin Receptor Gene as a Predictor of Weight Gain in Childhood Obesity and the Identification of Possible Factors Involved. *Genes*, 11(5). <https://doi.org/10.3390/GENES11050560>

¹³³ Leońska-Duniec, A., Grzywacz, A., Jastrzębski, Z., Jazdzewska, A., Lulińska-Kuklik, E., Moska, W., Leźnicka, K., Ficek, K., Rzeszutko, A., Dornowski, M., & Cięszczyk, P. (2018). ADIPOQ polymorphisms are associated with changes in obesity-related traits in response to aerobic training programme in women. *Biology of Sport*, 35(2), 165. <https://doi.org/10.5114/BIOLOSPORT.2018.72762>

¹³⁴ Garcés, M., Gomes, B., Stekman, H., Hernández, C., López, A. y Soto de Sanabria, I. (2016). Polimorfismos G2548A del gen de leptina y GLN223ARG del gen del receptor de leptina en pre-púberes con riesgo cardiometabólico. *Archivos Venezolanos de Puericultura y Pediatría*, 79(2), 54-6. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=367948532003>

¹³⁵ Zhang, N., Shi, Y. H., Hao, C. F., Gu, H. F., Li, Y., Zhao, Y. R., Wang, L. C., & Chen, Z. J. (2008). Association of +45G15G(T/G) and +276(G/T) polymorphisms in the ADIPOQ gene with polycystic ovary syndrome among Han Chinese women. *European Journal of Endocrinology*, 158(2), 255–260. <https://doi.org/10.1530/EJE-07-0576>

¹³⁶ Secretaría de Salud. *En México, 55% de la población adulta ha recibido al menos una dosis contra COVID-19 | Gobierno | gob.mx.* (2021). Retrieved February 3, 2022, from <https://www.gob.mx/salud/prensa/324-en-mexico-55-de-la-poblacion-adulta-ha-recibido-al-menos-una-dosis-contra-covid-19?idiom=es>

¹³⁷ Whitehead, A. L., Julious, S. A., Cooper, C. L., & Campbell, M. J. (2016). Estimating the sample size for a pilot randomised trial to minimise the overall trial sample size for the external pilot and main trial for a continuous outcome variable. *Statistical Methods in Medical Research*, 25(3), 1057. <https://doi.org/10.1177/0962280215588241>

¹³⁸ Ramesh, S., Govindarajulu, M., Parise, R. S., Neel, L., Shankar, T., Patel, S., Lowery, P., Smith, F., Dhanasekaran, M., & Moore, T. (2021). Emerging SARS-CoV-2 Variants: A Review of

Its Mutations, Its Implications and Vaccine Efficacy. *Vaccines* 2021, Vol. 9, Page 1195, 9(10), 1195. <https://doi.org/10.3390/VACCINES9101195>

¹³⁹ Peeling, R. W., Heymann, D. L., Teo, Y. Y., & Garcia, P. J. (2022). Diagnostics for COVID-19: moving from pandemic response to control. *The Lancet*, 399(10326), 757–768. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02346-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02346-1)

¹⁴⁰ Goel, R. R., Painter, M. M., Apostolidis, S. A., Mathew, D., Meng, W., Rosenfeld, A. M., Lundgreen, K. A., Reynaldi, A., Khoury, D. S., Pattekar, A., Gouma, S., Kuri-Cervantes, L., Hicks, P., Dysinger, S., Hicks, A., Sharma, H., Herring, S., Korte, S., Baxter, A. E., ... John Wherry, E. (2021). mRNA vaccines induce durable immune memory to SARS-CoV-2 and variants of concern. *Science*, 374(6572). https://doi.org/10.1126/SCIENCE.ABM0829/SUPPL_FILE/SCIENCE.ABM0829_SM.PDF

¹⁴¹ Shang, Y., Liu, T., Li, J., Wang, X., & Zhou, F. (2021). Factors affecting antibody response to SARS-CoV-2 in patients with severe COVID-19. *Journal of Medical Virology*, 93(2), 612–614. <https://doi.org/10.1002/JMV.26379>

¹⁴² Lee, E., & Oh, J. E. (2021). Humoral Immunity against SARS-CoV-2 and the Impact on COVID-19 Pathogenesis. *Molecules and Cells*, 44(6), 392. <https://doi.org/10.14348/MOLCELLS.2021.0075>

¹⁴³ Sette, A., & Crotty, S. (2021). Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19. *Cell*, 184(4), 861–880. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2021.01.007>

¹⁴⁴ Nilles, E. J., Siddiqui, S. M., Fischinger, S., Bartsch, Y. C., Aubin, M. de saint, Zhou, G., Gluck, M. J., Berger, S., Rhee, J., Petersen, E., Mormann, B., Loesche, M., Chen, Z., Yu, J., Gebre, M., Atyeo, C., Gorman, M. J., Zhu, A. L., Burke, J., ... Menon, A. S. (2020). Epidemiological and immunological features of obesity and SARS-CoV-2. *MedRxiv*, 2020.11.11.20229724. <https://doi.org/10.1101/2020.11.11.20229724>

¹⁴⁵ Polack, F. P., Thomas, S. J., Kitchin, N., Absalon, J., Gurtman, A., Lockhart, S., Perez, J. L., Pérez Marc, G., Moreira, E. D., Zerbini, C., Bailey, R., Swanson, K. A., Roychoudhury, S., Koury, K., Li, P., Kalina, W. v., Cooper, D., Frenck, R. W., Hammitt, L. L., ... Gruber, W. C. (2020). Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine. *The New England Journal of Medicine*, 383(27), 2603–2615. <https://doi.org/10.1056/NEJM0A2034577>

¹⁴⁶ Shang, Y., Liu, T., Li, J., Wang, X., & Zhou, F. (2021). Factors affecting antibody response to SARS-CoV-2 in patients with severe COVID-19. *Journal of Medical Virology*, 93(2), 612–614. <https://doi.org/10.1002/JMV.26379>

¹⁴⁷ Dienz, O., Eaton, S. M., Bond, J. P., Neveu, W., Moquin, D., Noubade, R., Briso, E. M., Charland, C., Leonard, W. J., Ciliberto, G., Teuscher, C., Haynes, L., & Rincon, M. (2009). The induction of antibody production by IL-6 is indirectly mediated by IL-21 produced by CD4+ T cells. *The Journal of Experimental Medicine*, 206(1), 69. <https://doi.org/10.1084/JEM.20081571>

¹⁴⁸ Peeling, R. W., Heymann, D. L., Teo, Y. Y., & Garcia, P. J. (2022). Diagnostics for COVID-19: moving from pandemic response to control. *The Lancet*, 399(10326), 757–768. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02346-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02346-1)

¹⁴⁹ Rebello, C. J., Kirwan, J. P., & Greenway, F. L. (2020). Obesity, the most common comorbidity in SARS-CoV-2: is leptin the link? *International Journal of Obesity* 2020 44:9, 44(9), 1810–1817. <https://doi.org/10.1038/s41366-020-0640-5>

¹⁵⁰ van Honacker, E., Coorevits, L., Boelens, J., Verhasselt, B., van Braeckel, E., Bauters, F., de Bus, L., Schelstraete, P., Willems, J., Vandendriessche, S., & Padalko, E. (2020). Sensitivity and specificity of 14 SARS-CoV-2 serological assays and their diagnostic potential in RT-PCR negative COVID-19 infections. <https://doi.org/10.1080/17843286.2020.1861885>