UNIVERSIDAD REGIONAL AMAZÓNICA IKIAM

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA VIDA

CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA

Análisis lipidómico del suero de individuos inmunizados con la vacuna AstraZeneca contra la COVID-19 durante diferentes momentos postvacunación mediante LC-MS.

Proyecto de investigación previo a la obtención del Título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Autor: Alejandro Aurelio Triviño Sabando.

Tutor: Noroska Gabriela Salazar Mogollon PhD.

Cotutor: Fernanda Bertuccez Cordeiro PhD.

Tena – Ecuador

2026

Carrera de Biotecnología

Declaración De Derecho De Autor, Autenticidad Y Responsabilidad

Tena, 17 de agosto de 2026

De mi consideración:

Yo, Alejandro Aurelio Triviño Sabando con documento de identidad 1550121295, declaro que los resultados obtenidos en la investigación que presento en este documento final, previo a la obtención del título de Ingeniera en Biotecnología, son absolutamente inéditos, originales, auténticos y personales.

En virtud de lo cual, el contenido, criterios, opiniones, resultados, análisis, interpretaciones, conclusiones, recomendaciones y todos los demás aspectos vertidos en el presente documento, son de mi autoría y de mi absoluta responsabilidad.

Por la favorable atención a la presente, suscribo de usted,

Atentamente,

Validar únicamente en FirmaEC.
Firmado electrónicamente por:
ALEJANDRO AURELIO
TRIVIÑO SABANDO

Alejandro Aurelio Triviño Sabando

CI: 1550121295

Carrera de Biotecnología

Autorización de Publicación en el Repositorio Institucional

Tena, 17 de agosto de 2026

Yo, Alejandro Aurelio Triviño Sabando, con documento de identidad 1550121295 en calidad de autor/y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "Análisis lipidómico del suero de individuos inmunizados con la vacuna AstraZeneca contra la COVID-19 durante diferentes momentos postvacunación mediante LC-MS", de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN, reconozco a favor de la Universidad Regional Amazónica Ikiam una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Así mismo autorizo a la Universidad Regional Amazónica Ikiam para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el Repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Atentamente,



Alejandro Aurelio Triviño Sabando

CI: 1550121295

Carrera de Biotecnología

Certificado De Dirección De Trabajo De Titulación

Tena, 17 de agosto de 2026

Certifico que el trabajo de titulación: “Análisis lipidómico del suero de individuos inmunizados con la vacuna AstraZeneca contra la COVID-19 durante diferentes momentos postvacunación mediante LC-MS”, aprobado bajo el mecanismo de titulación de: tesis, fue realizado por Alejandro Aurelio Triviño Sabando, bajo mi dirección.

El mismo ha sido revisado en su totalidad y analizado por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto, cumple con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad Regional Amazónica Ikiam, para su entrega y defensa.

Tutora

Validar únicamente en FirmaEC.
Firmado electrónicamente por:
NOROSKA GABRIELA SALAZAR MOGOLLON

Noroska Gabriela Salazar Mogollón

C.I: 1757494453

Validar únicamente en FirmaEC.
Firmado electrónicamente por:
FERNANDA BERTUCCEZ CORDEIRO

Cotutora

Fernanda Bertuccez Cordeiro

C.I: 0963435136

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradezco a JESUS, mi guía y fortaleza durante este camino, por brindarme la perseverancia, la sabiduría y la oportunidad de alcanzar una de las metas más importantes de mi vida. A mi abuela y a mi familia, quienes han sido un pilar fundamental durante este proceso. Gracias por su apoyo incondicional, por cada esfuerzo, consejo y palabra de motivación que me impulsaron a seguir adelante. Cada granito de arena aportado por ustedes hizo posible que este sueño se convirtiera en realidad. Expreso mi más sincero agradecimiento a mi tutora, la Dra. Gabriela Salazar, por su orientación, paciencia y acompañamiento durante el desarrollo de este trabajo de titulación. Sus conocimientos y guía fueron fundamentales para la culminación de este proyecto.

De manera especial, agradezco a Jefferson Pastuña, quien además de ser un excelente profesional, fue un gran maestro durante mi formación en el laboratorio. Gracias por compartir sus conocimientos, enseñarme técnicas, aportar su experiencia y brindarme consejos que fueron esenciales para mi crecimiento académico y profesional. A mis mejores amigos, Joel Aguirre y Kenny Valencia, gracias por su amistad, apoyo y por haber estado presentes durante este recorrido.

A mis compañeras y amigas de carrera, Camila Zamora y Laura Rodríguez, Azucena Chanatasig quienes fueron compañeras de batalla en las aulas y colegas de tesis; gracias por extenderme su mano cuando lo necesité y por compartir conmigo momentos importantes de esta etapa académica. A mis amigos y compañeros que formaron parte de este camino, Omar Caiza, Christopher Carrasco, Kenny Muyulema, Ronald Bazantez, gracias por las experiencias compartidas, el compañerismo y los aprendizajes que hicieron más llevadero este proceso. A Edita Valle, por su amistad, apoyo y por compartir sus conocimientos durante mi formación práctica, especialmente en las áreas de espermiograma y hemólisis. Su enseñanza y acompañamiento fueron valiosos para mi desarrollo académico.

A los docentes que fueron parte de mi formación profesional, mi profundo agradecimiento por transmitir sus conocimientos y contribuir a mi crecimiento. En especial, al Dr. Karel Dieguez, quien durante una etapa difícil de mi trayectoria académica supo comprenderme, motivarme y brindarme palabras de apoyo que me ayudaron a continuar. A las asignaturas de Química Analítica, Operaciones Unitarias y Biorreactores, así como a los docentes que estuvieron detrás de ellas, les guardo un agradecimiento especial ya que representaron grandes desafíos en mi formación. Fueron materias que me enseñaron el valor del esfuerzo, la disciplina y la perseverancia, demostrando que con dedicación es posible superar los retos más complejos.

Finalmente, agradezco a Ricardo Correa por su apoyo en la logística y gestión de las muestras provenientes de la Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL), contribuyendo de manera importante al desarrollo de este estudio. A todos quienes formaron parte de este camino, mi más profundo agradecimiento. Cada enseñanza, apoyo y palabra de aliento dejaron una huella importante en mi formación y en la persona que soy el día de hoy.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo, en primer lugar, a mi abuela María Nicolaza, quien ha sido una de las personas más importantes en mi vida y uno de los pilares fundamentales para alcanzar este sueño. Gracias por creer en mí desde el momento en que te conté que había obtenido un cupo para ingresar a la universidad, por confiar en mis capacidades cuando muchas personas dudaron de mí y por brindarme siempre tu apoyo, cariño y motivación para seguir adelante.

Este logro también es tuyo, porque tu confianza fue una de las fuerzas que me impulsó a no rendirme. A mi madre, por acompañarme durante este camino y apoyarme de una u otra manera en cada etapa de mi formación. Gracias por tus esfuerzos, consejos y por estar presente en los momentos en que más lo necesité. A mi hermana Aleyda y a mi tía Sandra, por su cariño, apoyo y por extenderme su mano cuando lo necesité.

Cada gesto de ayuda y cada palabra de aliento fueron importantes para llegar hasta este momento. A mi familia, por ser parte de este proceso y por contribuir, de diferentes maneras, a la construcción de este sueño. Con mucho cariño y gratitud, les dedico este logro.

TABLA DE CONTENIDO

PORTADA

DECLARACIÓN DE DERECHO DE AUTOR, AUTENTICIDAD Y RESPONSABILIDAD i

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL ii

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN iii

AGRADECIMIENTO iv

DEDICATORIA vi

TABLA DE CONTENIDO vii

ÍNDICE DE FIGURAS ix

ÍNDICE DE TABLAS x

RESUMEN xi

ABSTRACT xii

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN 13

1.1. Antecedentes 13

1.2. Planteamiento del problema a investigar 19

1.3. Justificación de la investigación 20

1.4. Objetivos 22

1.4.1. Objetivo general 22

1.4.2. Objetivos específicos 22

CAPÍTULO II: METODOLOGÍA 23

2.1. Declaración ética 23

2.2. Diseño experimental 23

2.3. Obtención de las muestras de suero 25

2.4. Extracción de metabolitos 26

2.5. Análisis por cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS) 27

2.6. Análisis estadístico 28

2.7. Identificación de compuestos 29

2.8. Construcción y análisis de redes metabólicas 29

CAPÍTULO III: RESULTADOS 30

3.1. Evaluación de la calidad y estabilidad analítica mediante análisis de componentes principales (PCA) 30

3.2. Evaluación global del modelo por "Análisis Discriminante por Mínimos Cuadrados Parciales" 32

3.2.1 Variables de importancia en proyección (*VIP score*) 33

3.3. Identificación de lípidos mediante la base de datos LipidMaps 35

3.4. Interaccciones bioquímicas y redes metabólicas 37

CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN 39

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 43

5.1. Conclusiones 43

5.2. Recomendaciones 45

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-3. Proyección de las dos primeras componentes principales (PC1–PC2) obtenidas mediante análisis de componentes principales (PCA) durante la etapa inicial del preprocesamiento (*flag contaminant*). **Nota.** Cada punto representa una muestra individual del conjunto de datos, incluyendo los controles de calidad (QC). 31

Figura 2-3. Proyección de las dos primeras componentes principales (PC1–PC2) obtenidas por PCA posterior a los procedimientos de corrección, normalización e imputación de datos. 32

Figura 3-3. Proyección de las dos primeras componentes (Comp.1–Comp.2) del modelo PLS-DA para evaluar la distribución de las muestras según los diferentes momentos de muestreo. **Nota.** Cada punto representa una muestra individual clasificada según la visita: primera visita (rojo), segunda visita (verde) y tercera visita (azul). 33

Figura 4-3. Variables de importancia en la proyección (VIP score) obtenidas a partir del modelo PLS-DA. **Nota.** Las señales con mayores valores VIP representan las variables con mayor contribución al modelo discriminante. El mapa de calor (derecha) indica la abundancia relativa de cada señal en los tres momentos de muestreo (Visita 1, 2 y 3), donde el color rojo representa una alta concentración y el color azul una baja concentración. 34

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Anotación tentativa de las señales discriminantes mediante comparación con la base de datos LIPID MAPS, clasificadas dentro del nivel 3 de confianza según (MSI). **.....** 36

RESUMEN

Se caracterizó el perfil lipidómico del suero de individuos inmunizados con la vacuna ChAdOx1-S (Oxford/AstraZeneca) mediante un enfoque de metabolómica no dirigida basado en cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS), con el objetivo de evaluar las variaciones del perfil lipídico asociadas al esquema de vacunación. Se analizaron muestras de suero de siete participantes recolectadas en tres momentos: primera dosis (V1), segunda dosis (V2) y dos semanas posteriores a la segunda dosis (V3). El preprocesamiento de los datos incluyó la corrección del efecto de batch y de la deriva instrumental, la imputación de valores faltantes y la normalización, cuya calidad fue evaluada mediante análisis de componentes principales (PCA). Posteriormente, el análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales (PLS-DA) evidenció una diferenciación progresiva del perfil lipidómico entre los tres momentos de muestreo y permitió seleccionar quince señales discriminantes. La anotación tentativa de estas señales mediante la base de datos LIPID MAPS permitió asociarlas con glicerofosfolípidos, incluyendo fosfatidilcolinas (PC), fosfatidiletanolaminas (PE), fosfatidilinositoles (PI) y ácidos fosfatídicos (PA). El análisis de redes metabólicas mediante Cytoscape-MetScape identificó al ácido fosfatídico (PA), al fosfatidilinositol (PI), al 1,2-diacilglicerol y al ácido araquidónico como metabolitos conectados dentro de las rutas reconstruidas. Los resultados evidencian variaciones del perfil lipidómico asociadas al esquema de vacunación y contribuyen al conocimiento inmunológico y metabólico asociado a la respuesta inmune postvacunación. Asimismo, constituyen una base para futuras investigaciones orientadas a profundizar en los mecanismos inmunometabólicos involucrados en la respuesta inmunológica inducida por la vacunación y sus implicaciones para la salud pública.

Palabras clave: Biotecnología; lipidómica; espectrometría de masas; suero; glicerofosfolípidos; redes metabólicas.

ABSTRACT

The serum lipidomic profile of individuals immunized with the ChAdOx1-S (Oxford/AstraZeneca) vaccine was characterized using an untargeted metabolomics approach based on liquid chromatography coupled to mass spectrometry (LC-MS), with the aim of evaluating lipid profile variations associated with the vaccination schedule. Serum samples from seven participants were analyzed at three time points: first dose (V1), second dose (V2), and two weeks after the second dose (V3). Data preprocessing included batch effect and instrumental drift correction, missing value imputation, and normalization, with data quality assessed through principal component analysis (PCA). Subsequently, partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) revealed progressive differentiation of the lipidomic profile among the three sampling time points and enabled the selection of fifteen discriminant signals. Tentative annotation of these signals using the LIPID MAPS database associated them mainly with glycerophospholipids, including phosphatidylcholines (PC), phosphatidylethanolamines (PE), phosphatidylinositols (PI), and phosphatidic acids (PA). Metabolic network analysis using Cytoscape-MetScape identified phosphatidic acid (PA), phosphatidylinositol (PI), 1,2-diacylglycerol, and arachidonic acid as highly connected metabolites within the reconstructed pathways. The results demonstrate variations in the lipidomic profile associated with the vaccination schedule and contribute to the understanding of the immunological and metabolic changes associated with the post-vaccination immune response. Furthermore, these findings provide a basis for future research aimed at further investigating the immunometabolic mechanisms involved in the immune response induced by vaccination and their potential implications for public health.

Keywords: Biotechnology; lipidomics; mass spectrometry; sérum; glycerophospholipids; metabolic networks.

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

1.1. Antecedentes

A finales de 2019 se identificó en Wuhan (China) un nuevo coronavirus, posteriormente denominado SARS-CoV-2, agente causal de la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19). Debido a su rápida propagación y al elevado impacto sobre la salud pública a nivel mundial, la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró la COVID-19 como pandemia el 11 de marzo de 2020 (Organización Mundial de la Salud [OMS], 2020). Como respuesta a esta emergencia sanitaria mundial, se impulsó el desarrollo acelerado de diferentes plataformas vacunales con el propósito de reducir la transmisión viral, la gravedad de la enfermedad y la mortalidad asociada.

El SARS-CoV-2 es un betacoronavirus con envoltura lipídica y un genoma de ARN monocatenario de sentido positivo (+ssRNA), el cual puede ser traducido directamente por la maquinaria celular del huésped. El proceso infeccioso depende principalmente de la interacción entre la proteína de la espícula (Spike o proteína S) y el receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) presente en la superficie celular. Además, la proteasa transmembrana serina 2 (TMPRSS2) se encarga de activar la proteína S, favoreciendo la unión al receptor ACE2 y la entrada del virus mediante fusión de membranas o endocitosis, seguida de la liberación del genoma viral en el citosol. La replicación viral desencadena la activación de la respuesta inmune e inflamatoria del huésped que, en cuadros clínicos severos, puede desregularse y evolucionar hacia una tormenta de citocinas, asociándose con alteraciones metabólicas e inflamatorias sistémicas (Santos et al., 2021; Mehta et al., 2020)

Las vacunas desarrolladas contra SARS-CoV-2 emplean diversas plataformas tecnológicas, entre ellas vacunas de ARN mensajero (ARNm), vectores virales, virus inactivados y proteínas recombinantes. Las vacunas basadas en ARNm, como Pfizer-BioNTech y Moderna, utilizan nanopartículas lipídicas para proteger el material genético y facilitar su transporte hacia el

interior de las células. En contraste, las vacunas de vector viral, como ChAdOx1-S (Oxford-AstraZeneca) y Ad26.COV2.S (Janssen), emplean adenovirus no replicativos como sistema de entrega del material genético. Por su parte, las vacunas de virus inactivado, como CoronaVac (Sinovac) y BBIBP-CorV (Sinopharm), utilizan partículas virales completas incapaces de replicarse, mientras que las vacunas de proteínas recombinantes, como Novavax, contienen proteínas virales purificadas acompañadas de adyuvantes que potencian la respuesta inmunitaria (Castañeda et al., 2021; Plotkin, 2014).

En el caso de la vacuna ChAdOx1-S, el adenovirus transporta el gen que codifica la proteína S del SARS-CoV-2 hacia las células del hospedador. El ADN es transcrito a ARN mensajero (ARNm) y posteriormente traducido por la maquinaria celular para producir la proteína S, cuya expresión permite la presentación del antígeno y la activación de los mecanismos inmunitarios previamente descritos (Deng et al., 2022; Du et al., 2009). A diferencia de las vacunas basadas en virus inactivados, las vacunas de vector viral favorecen la activación de componentes de la respuesta inmune humoral y celular, generando una respuesta inmunológica que comparte ciertas características con la inducida durante una infección viral y promoviendo el desarrollo de una respuesta potencialmente más robusta y duradera (García et al., 2022; Pollard y Bijker, 2021).

Aunque la vacuna ChAdOx1-S no incorpora lípidos como componente estructural, a diferencia de las vacunas basadas en ARN mensajero, en las que los lípidos forman parte del sistema de administración, la activación del sistema inmunitario inducida por esta vacuna desencadena una reprogramación metabólica del hospedador que involucra modificaciones en la síntesis, remodelación y utilización de diversas especies lipídicas. Como consecuencia, estos compuestos adquieren relevancia no como componentes de la vacuna, sino como moléculas que participan en procesos de señalización celular, inflamación y regulación inmunitaria, por lo que pueden ser estudiados mediante enfoques lipidómicos (García et al., 2022; Bennett y Gilroy, 2016).

La activación del sistema inmunitario tras la vacunación no constituye un evento aislado de la fisiología sistémica, ya que requiere una redistribución significativa de nutrientes y energía para sustentar los procesos de defensa y la generación de memoria inmunológica. Por consiguiente, este proceso implica un conjunto de adaptaciones metabólicas en células inmunes, como linfocitos y macrófagos, destinadas a satisfacer las demandas energéticas y biosintéticas necesarias para el desarrollo de sus funciones efectoras (O'Neill et al., 2016; Fagone y Jackowski, 2009). Se ha descrito que, tras la exposición a un antígeno, estas células transitan de un estado de reposo a uno de elevada actividad biosintética, lo que implica una profunda reprogramación metabólica. Dichos cambios pueden reflejarse a nivel sistémico y ser detectados en el suero humano mediante alteraciones en metabolitos como lactato, aminoácidos y diversas especies lipídicas (Ryan et al., 2023; Gupta, 2022). En concordancia con ello, estudios metabolómicos realizados en individuos inmunizados con la vacuna inactivada CoronaVac evidenciaron modificaciones en rutas relacionadas con el metabolismo de aminoácidos, el ciclo de los ácidos tricarboxílicos (TCA) y procesos inmunitarios, lo que respalda la existencia de una reorganización metabólica sistémica asociada a la vacunación (Wang et al., 2022).

Sobre esta base, la reprogramación metabólica comprende cambios coordinados en múltiples rutas, incluyendo el metabolismo energético, la disponibilidad de aminoácidos y la dinámica de los lípidos (Ito, 2025; O'Donnell et al., 2018). Un ejemplo de estas adaptaciones se observa en el ciclo de los ácidos tricarboxílicos (TCA), donde las células del sistema inmunitario innato pueden presentar modificaciones en el flujo metabólico y acumulación de metabolitos como succinato y citrato. Estos compuestos, además de desempeñar funciones bioenergéticas, actúan como moléculas señalizadoras involucradas en la regulación de la respuesta inflamatoria (Sánchez-García et al., 2021; O'Neill y Pearce, 2016). Específicamente, el succinato participa en la estabilización de la subunidad alfa del factor inducible por hipoxia 1 (HIF-1α), promoviendo un estado metabólico asociado con la producción de citocinas proinflamatorias, como la interleucina 1 beta (IL-1β). Por su parte, el citrato contribuye a la generación de precursores para la biosíntesis de lípidos y especies reactivas de oxígeno (Tannahill et al., 2013). En conjunto, estos mecanismos evidencian que la respuesta

inmunológica no depende de metabolitos aislados, sino de la interacción coordinada entre múltiples rutas metabólicas, metabolitos y especies lipídicas involucradas en la regulación inmunitaria (Yang y Han, 2016). Desde esta perspectiva, el análisis de redes metabólicas permite integrar estas interacciones y contribuir a la comprensión de la respuesta inmunológica desde un enfoque sistémico (Karnovsky et al., 2012).

Con el fin de estudiar esta complejidad biológica de manera integral, la biología de sistemas aplicada al estudio de las vacunas se ha consolidado como un enfoque interdisciplinario que permite analizar las respuestas biológicas inducidas por la inmunización, trascendiendo los métodos convencionales basados exclusivamente en la cuantificación de anticuerpos (Pulendran et al., 2010; Rahman et al., 2026). En este marco, las ciencias ómicas, como la genómica, transcriptómica, proteómica y metabolómica, permiten una caracterización integral de los sistemas biológicos frente a estímulos específicos. Dentro de estas disciplinas, la lipidómica ha adquirido especial relevancia como subdisciplina de la metabolómica ya que permite estudiar de forma global las especies lipídicas presentes en sistemas biológicos como el suero humano, el plasma sanguíneo o las células inmunes, así como analizar cambios en su composición y abundancia bajo diferentes condiciones fisiológicas (Johnson y Siuzdak, 2016; Kim et al., 2026). Este enfoque resulta fundamental para investigar procesos relacionados con la señalización celular, la inflamación y la organización estructural de las membranas. En el contexto de la respuesta inmune, la lipidómica contribuye a comprender la reprogramación metabólica desencadenada por la exposición a un antígeno, dado que los lípidos desempeñan funciones clave en la activación, proliferación y diferenciación de las células inmunes. Por ejemplo, las esfingomielinas participan en la formación de microdominios de membrana vinculados a la señalización celular, mientras que las lisofosfatidilcolinas intervienen en procesos inflamatorios y en la modulación de la respuesta inmune (Lee et al., 2023; Liu et al., 2023; Belhaj y Lawler, 2021).

Diversos estudios metabolómicos y lipidómicos han demostrado que la vacunación induce cambios metabólicos transitorios como parte de la respuesta inmunitaria innata y adaptativa.

Estas modificaciones incluyen alteraciones temporales en metabolitos y especies lipídicas circulantes relacionadas con procesos inflamatorios, señalización celular y metabolismo energético (Diray-Arce et al., 2020; Wasilewski y Serrafi, 2026; Wang et al., 2022). No obstante, la magnitud y persistencia de estos cambios dependen de factores como el tipo de vacuna, el momento de muestreo y las características fisiológicas de la población estudiada (Stocks et al., 2025). En este contexto, la respuesta a un agente vacunal puede entenderse como una propiedad emergente del sistema biológico, resultado de la interacción dinámica entre redes génicas, proteicas y metabólicas. Desde esta perspectiva, Chou et al. (2022) señalan que la integración de datos de alta dimensionalidad, como los perfiles lipidómicos obtenidos mediante espectrometría de masas, permite identificar patrones moleculares asociados a la respuesta inmunológica y caracterizar su dinámica durante el proceso de inmunización.

Para caracterizar las modificaciones metabólicas asociadas a la respuesta inmunológica, la cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS) se ha consolidado como una de las principales herramientas analíticas en metabolómica exploratoria y lipidómica, debido a su alta sensibilidad y capacidad para detectar un amplio rango de metabolitos y especies lipídicas en matrices biológicas complejas, como el suero humano (Anh et al., 2024; Yang y Han, 2016). Esta aproximación permite caracterizar perfiles metabólicos globales y explorar patrones moleculares asociados a diferentes estados fisiológicos, facilitando la identificación de posibles biomarcadores mediante el análisis simultáneo de múltiples señales químicas (Emwas et al., 2019). Asimismo, diversos estudios han reportado que la lipidómica constituye una herramienta útil para monitorear dinámicamente la respuesta a la vacunación, permitiendo evaluar variaciones en el perfil lipídico desde condiciones basales hasta etapas posteriores de activación inmunológica (Ewer et al., 2021).

Además de su capacidad analítica, este abordaje permite capturar señales moleculares sistémicas derivadas de la interacción entre el huésped y el estímulo vacunal, proporcionando una visión integral de los procesos asociados a la respuesta inmunológica (Pulendran et al.,

2010; Nakaya et al., 2011). En este contexto, la selección de la matriz biológica constituye un factor determinante para la calidad e interpretación de los datos ómicos, donde el suero humano se ha consolidado como una de las matrices más utilizadas debido a su función como medio de transporte sistémico de moléculas circulantes (Psychogios et al., 2011). En comparación con otras matrices biológicas, como la saliva y la orina, que reflejan principalmente procesos locales y vías de eliminación metabólica, respectivamente, el suero constituye un compartimento biológico dinámico en el que convergen metabolitos y lípidos provenientes de múltiples órganos y tejidos, incluidos aquellos involucrados en la regulación de la respuesta inmunitaria (Chandra et al., 2024)

Desde el punto de vista analítico, el suero presenta ventajas significativas para su estudio mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS), debido a la ausencia de componentes celulares y a la reducción de interferentes derivados del proceso de coagulación sanguínea, lo que favorece una extracción más eficiente y reproducible de metabolitos y lípidos (Dunn et al., 2011). Asimismo, su adecuada estabilidad durante el procesamiento y su elevada riqueza de información molecular lo convierten en una matriz biológica idónea para evaluar la dinámica metabólica asociada a respuestas sistémicas, incluida la respuesta inmunitaria inducida por la vacunación. En este contexto, el análisis lipidómico del suero de individuos inmunizados con la vacuna ChAdOx1-S constituye una estrategia adecuada para explorar las variaciones del perfil lipídico a lo largo de las diferentes etapas del proceso de inmunización, proporcionando información complementaria sobre los cambios metabólicos asociados a la activación de la respuesta inmunitaria (Dunn et al., 2011).

1.2. Planteamiento del problema a investigar

A pesar del éxito de la vacuna ChAdOx1-S (Oxford/AstraZeneca), la cual ha demostrado ser segura y eficaz en la inducción de protección frente al SARS-CoV-2, los mecanismos metabólicos asociados a la respuesta inmunológica posterior a la inmunización aún no han sido completamente caracterizados (Voysey et al., 2021). Hasta el momento, la evaluación de la eficacia vacunal se ha centrado principalmente en indicadores inmunológicos medidos en sangre periférica, tales como los niveles de anticuerpos IgG circulantes y la cuantificación de células T de memoria. Estas mediciones, obtenidas mediante técnicas convencionales como ensayos serológicos y citometría de flujo, proporcionan información relevante sobre la respuesta inmunológica inducida por la vacunación (Folegatti et al., 2020).

Sin embargo, estos enfoques proporcionan información limitada sobre las modificaciones metabólicas y lipídicas que acompañan la activación inmunitaria. En particular, existe un conocimiento limitado sobre la dinámica temporal del perfil lipidómico en individuos inmunizados con vacunas basadas en vectores adenovirales como ChAdOx1-S. (Pulendran et al., 2021; O'Neill et al., 2016).

En este contexto, aún existe una brecha en el conocimiento sobre la caracterización de los perfiles lipidómicos asociados a la inmunización y su relación con los procesos biológicos involucrados en la respuesta inmune. La limitada disponibilidad de estudios que integren datos lipidómicos con herramientas de análisis de redes metabólicas dificulta la comprensión de las adaptaciones metabólicas que acompañan la vacunación, así como la identificación de rutas metabólicas potencialmente relevantes durante este proceso (Poland y Ovsyannikova, 2018; Pulendran et al., 2021).

Aunque la cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS) constituye una de las principales herramientas empleadas en metabolómica debido a su elevada sensibilidad y capacidad para detectar un amplio rango de metabolitos, los estudios orientados a

caracterizar los cambios lipidómicos inducidos por vacunas de vector adenoviral, como ChAdOx1-S, siguen siendo limitados. Asimismo, aún son escasos los trabajos que integran la anotación tentativa de especies lipídicas con herramientas de análisis de redes metabólicas para explorar su posible participación en los procesos inmunológicos asociados a la vacunación (Amara et al., 2022).

En consecuencia, aún existen vacíos de conocimiento sobre las variaciones del perfil lipídico sérico inducidas por la vacunación y su posible relación con los mecanismos inmunometabólicos asociados a la respuesta vacunal. Esta limitación dificulta una comprensión más integral de los procesos biológicos involucrados en la respuesta inmunológica y pone de manifiesto la necesidad de estudios que integren la caracterización lipidómica con herramientas de análisis de redes metabólicas (Amara et al., 2022; Poland y Ovsyannikova, 2018).

1.3. Justificación de la investigación

La presente investigación se justifica por la necesidad de ampliar el conocimiento sobre las alteraciones metabólicas asociadas a la respuesta biológica inducida por la vacunación, las cuales involucran rutas relacionadas con el metabolismo energético, lipídico y de aminoácidos (Pulendran et al., 2021; O'Neill y Pearce, 2016). Dentro del metabolismo lipídico, los glicerofosfolípidos, como las fosfatidilcolinas (PC), fosfatidiletanolaminas (PE), fosfatidilinositoles (PI) y los ácidos fosfatídicos (PA), desempeñan funciones esenciales en la organización estructural de las membranas celulares y en la regulación de procesos de señalización intracelular (Gibellini, 2010). Estas especies lipídicas se encuentran sometidas a procesos continuos de remodelación mediante ciclos de desacilación y reacilación, conocidos como ciclo de Lands. Este mecanismo, mediado por fosfolipasas y aciltransferasas específicas, desempeña un papel fundamental en el mantenimiento de la composición, adaptación y funcionalidad de las membranas celulares (Shindou y Shimizu, 2009). En este contexto, aún persisten interrogantes sobre las modificaciones metabólicas y la remodelación lipídica que

acompañan la activación del sistema inmunitario posterior a la vacunación, lo que justifica la aplicación de enfoques lipidómicos para su estudio (Pulendran et al., 2021).

Desde el punto de vista científico y biotecnológico, este estudio emplea un enfoque de metabolómica no dirigida basado en cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS), una herramienta analítica de alta sensibilidad que permite detectar y analizar una amplia diversidad de especies lipídicas presentes en el suero humano. Esta estrategia posibilita la caracterización del perfil lipidómico en diferentes momentos del proceso de inmunización, aportando información complementaria a los parámetros inmunológicos convencionales (Anh et al., 2024). Además, la integración de la base de datos LIPID MAPS para la anotación tentativa de especies lipídicas y del análisis de redes metabólicas mediante herramientas bioinformáticas favorece una interpretación sistémica de los datos obtenidos, permitiendo explorar las asociaciones funcionales entre las especies lipídicas anotadas y los procesos biológicos relacionados con la respuesta inmunitaria (Amara et al., 2022).

En conjunto, este estudio contribuirá al conocimiento del inmunometabolismo asociado a la vacunación mediante la caracterización exploratoria del perfil lipidómico del suero de individuos inmunizados con la vacuna ChAdOx1-S (Oxford/AstraZeneca). Los resultados obtenidos permitirán ampliar el conocimiento sobre las variaciones del perfil lipidómico asociadas a la respuesta inmunitaria inducida por la vacunación y constituirán una base para futuras investigaciones orientadas a profundizar en la relación entre las especies lipídicas, la remodelación lipídica y los procesos inmunometabólicos asociados a la respuesta inmune postvacunación.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo general.

Caracterizar el perfil lipidómico de individuos inmunizados con la vacuna ChAdOx1-S contra la COVID-19 durante diferentes momentos postvacunación mediante un enfoque de metabolómica no dirigida y analizar su posible relación con procesos biológicos asociados a la respuesta inmune postvacunación.

1.4.2. Objetivos específicos

- Determinar las variaciones del perfil lipidómico del suero en tres momentos postvacunación con la vacuna ChAdOx1-S (primera dosis, segunda dosis y dos semanas posteriores a la segunda dosis) mediante LC-MS.

- Identificar tentativamente los lípidos asociados a las señales discriminantes seleccionadas mediante el modelo PLS-DA, según sus clases lipídicas correspondientes, utilizando la base de datos LIPID MAPS.

- Evaluar la interacción funcional de las especies lipídicas anotadas tentativamente mediante la construcción de redes de interacción con rutas metabólicas y su posible asociación con procesos relacionados con la respuesta inmune postvacunación.

CAPÍTULO II: METODOLOGÍA

2.1. Declaración ética

El presente estudio metabolómico se desarrolló en el marco de la colaboración entre el Laboratorio de Productos Naturales de la Universidad Regional Amazónica Ikiam y el proyecto "Monitoreo de Vacunación Politécnica". Su ejecución fue posible gracias al trabajo en conjunto con la Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL) y el laboratorio biomolecular de la Universidad Espíritu Santo (UESSBIOLAB). Los procedimientos relacionados con la recolección, almacenamiento y procesamiento de las muestras, así como los aspectos éticos vinculados a su manejo, fueron evaluados y aprobados por el Comité Nacional Expedito para Investigación sobre COVID-19, bajo el protocolo n.º 024-2020, con fecha 12 de febrero de 2021. Los participantes fueron informados sobre el alcance del estudio, así como el uso de muestras biológicas, confirmando su participación al firmar el consentimiento aprobado por el comité antes mencionado.

2.2. Diseño experimental

El presente estudio se estructuró bajo un diseño observacional longitudinal de tipo exploratorio, basado en el seguimiento temporal de una cohorte de individuos vacunados con un esquema de dos dosis de la vacuna ChAdOx1-S (Oxford-AstraZeneca) contra la COVID-19. La población de estudio estuvo conformada por siete participantes (cuatro hombres y tres mujeres) pertenecientes al personal de la Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL, Guayas, Ecuador). Se recolectaron muestras de suero en tres momentos del esquema de vacunación con el propósito de caracterizar las variaciones temporales del perfil lipidómico asociadas al proceso de inmunización.

- **Visita 1**

Correspondió a la vinculación de los participantes al estudio, la firma del consentimiento informado y el registro de datos personales. La primera muestra de suero se obtuvo inmediatamente después de la administración de la primera dosis de la vacuna y se utilizó como punto de referencia para el análisis longitudinal del perfil lipidómico mediante LC-MS.

- **Visita 2**

Correspondió al estado lipidómico posterior a la primera inmunización. Aproximadamente dos meses después de la primera dosis, se recolectó una segunda muestra de suero inmediatamente antes de la administración de la segunda dosis, con el fin de evaluar las variaciones del perfil lipidómico asociadas a la primera inmunización.

- **Visita 3**

Correspondió al estado lipidómico posterior a la segunda dosis del esquema de vacunación. La muestra de suero se obtuvo aproximadamente dos semanas después de la administración de la segunda dosis, con el objetivo de evaluar las modificaciones del perfil lipidómico asociadas a la respuesta inmunitaria inducida por la vacunación. Los criterios de inclusión establecidos para la selección de la muestra fueron los siguientes:

1. Haber otorgado el consentimiento informado para la recolección, procesamiento y análisis de muestras biológicas con fines de investigación, así como para el uso de información clínica, antecedentes médicos y datos antropométricos del participante.

2. Ser mayor de 18 años, pertenecer al personal de la ESPOL (Guayas, Ecuador) y formar parte de la campaña de vacunación planificada por el Ministerio de Salud Pública del Ecuador.

3. Ausencia de embarazo, lactancia o antecedentes de cáncer, así como exclusión de la población pediátrica (menores de 18 años).

2.3. Obtención de las muestras de suero

Las muestras de suero utilizadas en este estudio fueron proporcionadas por la Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL), institución responsable de la recolección de sangre periférica durante la primera campaña de inmunización contra COVID-19, desarrollada entre mayo y agosto de 2021 en trabajadores de una universidad de la ESPOL, ubicada en la ciudad de Guayaquil, Ecuador.

El personal del Laboratorio de Investigaciones Biomédicas de la ESPOL llevó a cabo la convocatoria de los participantes, verificando previamente la administración de la dosis vacunal y el cumplimiento de los criterios de inclusión y exclusión establecidos. Asimismo, se registraron datos demográficos, tales como sexo y fecha de nacimiento, además se realizaron mediciones antropométricas.

Las muestras sanguíneas fueron recolectadas en tubos estériles empleando tubos sin anticoagulante para la obtención de suero destinado al análisis lipidomico, así como tubos con anticoagulante para el tamizaje inmunológico. Para la obtención del suero, las muestras se mantuvieron a temperatura ambiente durante 30 minutos con el objetivo de permitir la coagulación, seguido de un proceso de centrifugación. El suero resultante fue fraccionado en alícuotas y almacenado a −80 °C en las instalaciones de la ESPOL. Posteriormente, las muestras fueron transportadas bajo condiciones de criogenia hacia la Universidad Regional Amazónica Ikiam para su análisis correspondiente (Orellana-Manzano et al., 2024).

2.4. Extracción de metabolitos

Las muestras de suero fueron descongeladas a temperatura ambiente durante aproximadamente 1,5 horas, manteniéndose en condiciones de enfriamiento mediante bloques de hielo con el fin de evitar la degradación metabólica. Asimismo, se preparó el disolvente de extracción conformado por cloroformo (≥99,9 %) de Sigma-Aldrich, metanol grado LC-MS de Merck KGaA y agua ultrapura libre de DNasas y RNasas de Thermo Fisher Scientific, en una proporción 1:3:1 (v/v/v).

A continuación, se tomaron alícuotas de 25 µL de suero, las cuales se mezclaron con 1 mL del disolvente de extracción. Las muestras se homogeneizaron mediante agitación en vórtex durante 30 segundos y se centrifugaron a 13 000 × *g* durante 3 minutos a 4 °C, con el fin de favorecer la precipitación de proteínas y la recuperación de metabolitos, particularmente especies lipídicas, en el sobrenadante. Posteriormente, se recuperaron 150 µL del sobrenadante y se transfirieron a microtubos estériles.

Se prepararon muestras de control de calidad (QC) mediante la mezcla de pequeñas alícuotas de las muestras individuales, generando un QC general representativo del conjunto total de muestras. Estos controles se emplearon para la evaluación de la reproducibilidad analítica, la estabilidad instrumental y el control de la deriva durante el procesamiento de datos. Los metabolitos fueron concentrados mediante evaporación del solvente en un concentrador al vacío (miVac Duo Concentrator, GeneVac, Reino Unido) y posteriormente reconstituidos en un volumen adecuado de solvente para su análisis mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS). Los extractos se almacenaron a −80 °C hasta su análisis, siguiendo los lineamientos metodológicos descritos por Glasgow Polyomics (2017).

2.5. Análisis por cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS)

Los extractos previamente secados en un evaporador al vacío se reconstituyeron en 50 µL de una solución de agua ultrapura con ácido fórmico al 0,1 % (Merck KGaA). Posteriormente, las muestras se transfirieron a insertos de vidrio estériles y se colocaron en viales para su análisis mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS). El análisis de las clases lipídicas se llevó a cabo utilizando un sistema de cromatografía líquida de ultra eficiencia acoplado a un espectrómetro de masas Waters Xevo G2 QTOF (Waters Corporation). La separación cromatográfica se realizó empleando una columna ACQUITY UPLC BEH C18 (1,7 µm, 100 mm × 2,1 mm).

El flujo de fase móvil fue de 0,5 mL/min, utilizando como fase A agua con ácido fórmico al 0,1% y como fase B acetonitrilo con ácido fórmico al 0,1 %. Se inyectó un volumen de 10 µL por muestra, aplicando un gradiente de elución que inició con 80 % de fase A y 20 % de fase B durante 1 minuto, seguido de una transición progresiva hasta alcanzar 3 % A y 97 % B, retornando posteriormente a las condiciones iniciales para el reequilibrio de la columna.

El orden de inyección de las muestras fue aleatorizado para minimizar efectos sistemáticos y cada muestra se analizó por duplicado. Para la detección, se utilizó ionización por *electrospray* (ESI) en modo positivo, adquiriendo los datos en modo de escaneo completo dentro de un rango de *m/z* de 100 a 1200 Da. Los parámetros instrumentales incluyeron un voltaje de capilar de 0,5 kV, una temperatura de fuente de 120 °C y una temperatura de desolvatación de 450 °C. Se realizó la infusión continua de leucina-encefalina como estándar de referencia para la corrección de masa durante la adquisición de datos.

Los datos crudos generados (*.raw) se convirtieron al formato *.cdf (NetCDF) mediante el módulo *DataBridge* del software MassLynx (Waters Corporation). Posteriormente, los archivos se procesaron en MZmine, donde se llevó a cabo la detección de picos, el alineamiento, el relleno de huecos y el filtrado de señales provenientes de blancos.

Finalmente, se obtuvo una matriz de datos basada en intensidades (abundancias relativas) de las características detectadas, la cual se empleó para los análisis estadísticos posteriores.

2.6. Análisis estadístico

La matriz de datos lipidómicos fue importada al entorno estadístico *(RStudio, versión 4.2.2)* para realizar las etapas de preprocesamiento y análisis estadístico. Para ello, se empleó el paquete Notame junto con scripts complementarios desarrollados en R. Posteriormente, se aplicaron procedimientos de normalización y escalamiento de las variables con el propósito de corregir diferencias sistemáticas en la intensidad de las señales obtenidas por LC-MS y mejorar la comparabilidad entre las muestras antes de los análisis multivariados (Han y Li, 2022).

El análisis exploratorio de los datos incluyó el análisis de componentes principales (PCA), con el objetivo de evaluar la estructura global del conjunto de datos, la consistencia de las muestras de control de calidad (QC) y la distribución de las muestras correspondientes a los diferentes momentos postvacunación. Adicionalmente, se aplicó un análisis por mínimos cuadrados parciales discriminantes (PLS-DA) con el fin de evaluar la separación entre los grupos experimentales e identificar las variables con mayor capacidad discriminante dentro del perfil lipidómico.

De manera complementaria, los resultados se exploraron mediante la plataforma bioinformática MetaboAnalyst *6.0* (https://www.metaboanalyst.ca/), *para* la visualización de patrones globales de variación entre las condiciones experimentales. Finalmente, las variables con mayor contribución a la variabilidad observada se identificaron a partir de los análisis PCA y PLS-DA, las cuales fueron utilizadas para los análisis posteriores de anotación y caracterización lipidómica.

2.7. Identificación de compuestos

Los lípidos fueron anotados tentativamente mediante la comparación de su masa (*m/z)* con la base de datos LIPID MAPS (https://www.lipidmaps.org/), utilizando una tolerancia de coincidencia de ±0,5 *m/z*. De acuerdo con los criterios establecidos por la Iniciativa de Estándares de Metabolómica (por sus siglas en inglés: MSI, Metabolomics Standards Initiative) (Sumner et al., 2007), las anotaciones obtenidas corresponden a identificaciones tentativas de nivel 3 ya que la asignación de los compuestos se realizó mediante la coincidencia de la masa exacta con bases de datos públicas, sin confirmación mediante estándares químicos auténticos, análisis de fragmentación MS/MS ni otras estrategias complementarias. Estas anotaciones fueron utilizadas para reportar las clases lipídicas y apoyar la interpretación de los perfiles lipidómicos.

2.8. Construcción y análisis de redes metabólicas

Para explorar las relaciones funcionales entre las especies lipídicas anotadas, se empleó el software Cytoscape junto con el complemento MetScape. Las anotaciones lipídicas obtenidas mediante la comparación con bases de datos fueron utilizadas como entrada para la construcción y visualización de redes metabólicas, permitiendo su integración con información de rutas bioquímicas y compuestos relacionados. Este análisis permitió explorar las asociaciones entre los lípidos anotados y las rutas metabólicas representadas en bases de conocimiento biológico, proporcionando una visión integrada del perfil lipidómico y facilitando su interpretación funcional.

CAPÍTULO III: RESULTADOS

3.1. Evaluación de la calidad y estabilidad analítica mediante análisis de componentes principales (PCA)

Con el fin de evaluar la distribución global de las muestras e identificar posibles fuentes de variación técnica, se realizó un análisis de componentes principales (PCA). El componente principal 1 (PC1) explicó el 44 % de la variabilidad total, mientras que el componente principal 2 (PC2) explicó el 11 % de la variabilidad total (Figura 1). Se evidenció una amplia dispersión en la distribución de las muestras, correspondientes a los tres puntos temporales de muestreo: visita 1 (V1), visita 2 (V2) y visita 3 (V3). También se observó una limitada tendencia al agrupamiento de los controles de calidad (QC). Dado que los QC corresponden a una mezcla homogénea del conjunto de muestras, este patrón evidenció un efecto de batch y deriva instrumental durante la adquisición por LC-MS. En consecuencia, se aplicó una corrección de batch para minimizar estas variaciones antes del análisis estadístico posterior.

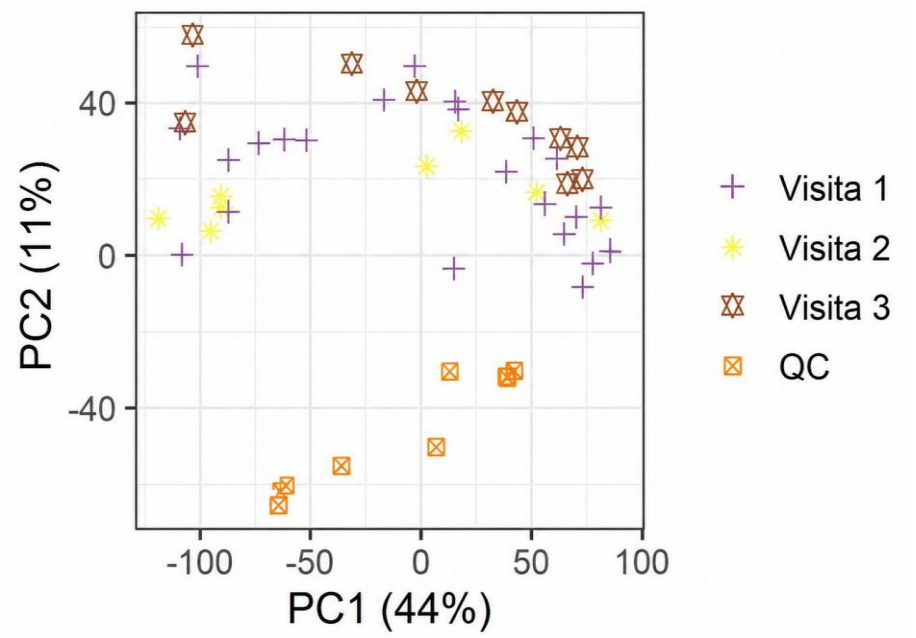

Figura 1. Proyección de las dos primeras componentes principales (PC1–PC2) obtenidas mediante análisis de componentes principales (PCA) durante la etapa inicial del preprocesamiento (*flag contaminant*). **Nota.** Cada punto representa una muestra individual del conjunto de datos, incluyendo los controles de calidad (QC).

Posterior a los procedimientos de corrección, normalización e imputación de datos, el análisis de componentes principales (PCA) mostró una distribución estructurada de las muestras dentro del espacio multivariado. Las dos primeras componentes principales explicaron en conjunto el 29,9 % de la variabilidad total del conjunto de datos (PC1 = 18,2 % y PC2 = 11,7%). Los controles de calidad (QC) presentaron una mayor tendencia al agrupamiento, sugiriendo una adecuada estabilidad analítica y una reducción de la variabilidad asociada al proceso instrumental (Figura 2).

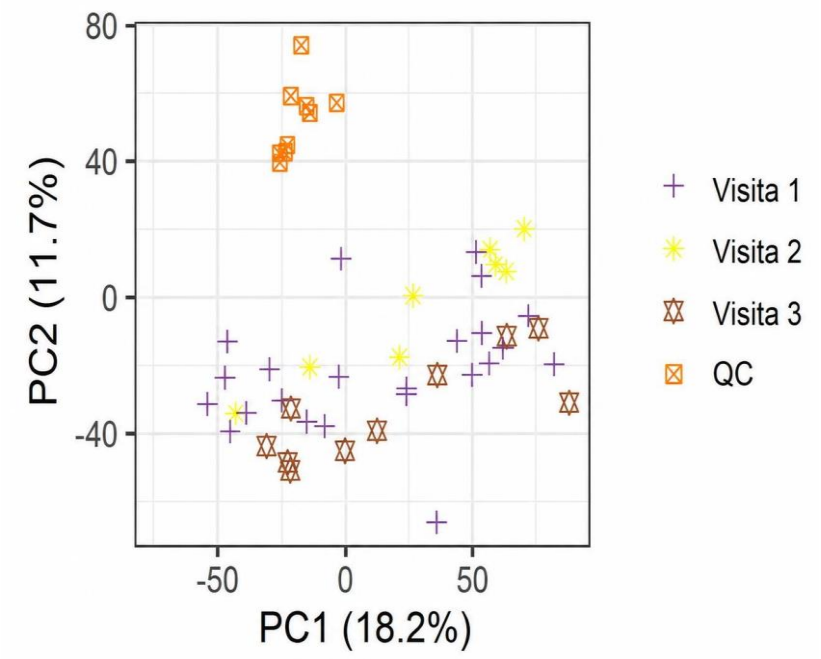

Figura 2. Proyección de las dos primeras componentes principales (PC1–PC2) obtenidas por PCA posterior a los procedimientos de corrección, normalización e imputación de datos.

3.2. Evaluación global del modelo por "Análisis Discriminante por Mínimos Cuadrados Parciales"

El PLS-DA mostró una tendencia de separación entre los diferentes momentos de muestreo evaluados. Las dos primeras componentes explicaron en conjunto el 27,1 % de la variabilidad del modelo, donde la componente 2 (16,8 %) presentó una mayor contribución respecto a la componente 1 (10,3 %). La distribución de las muestras correspondientes a la primera visita (rojo), segunda visita (verde) y tercera visita (azul) evidenció una diferenciación progresiva durante el seguimiento temporal. Las muestras de la visita 1 se distribuyeron principalmente hacia valores negativos de la componente 1 (PC1), mientras que la visita 2 presentó una distribución intermedia con cierto grado de solapamiento respecto a la primera visita. Por su parte, las muestras de la visita 3 mostraron una tendencia hacia valores positivos de PC1, evidenciando una mayor separación respecto a la visita 1 (Figura 3).

Estos resultados evidencian diferencias temporales en el perfil lipidómico sérico de los participantes, reflejadas mediante la distribución diferencial de las muestras dentro del modelo PLS-DA. Debido al carácter exploratorio del análisis multivariado, estas diferencias representan patrones asociados a los distintos momentos de muestreo evaluados.

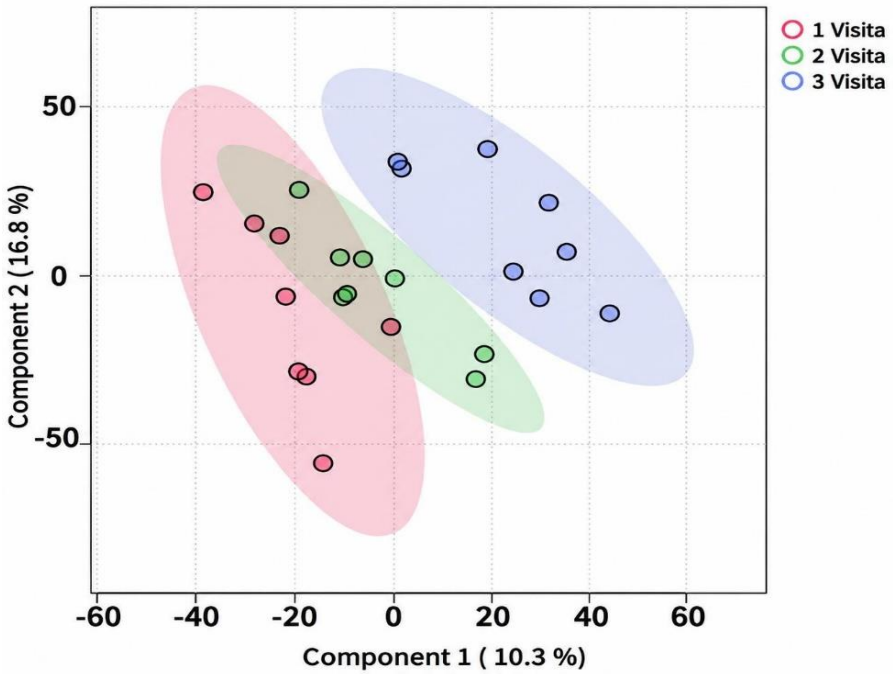

Figura 3. Proyección de las dos primeras componentes (Comp.1–Comp.2) del modelo PLS-DA para evaluar la distribución de las muestras según los diferentes momentos de muestreo. **Nota.** Cada punto representa una muestra individual clasificada según la visita: primera visita (rojo), segunda visita (verde) y tercera visita (azul).

3.2.1 Variables de importancia en proyección (*VIP score*)

La evaluación de la capacidad discriminante mediante puntuaciones VIP (Figura 4), permitió identificar las señales con mayor contribución al modelo PLS-DA y a la diferenciación entre los grupos evaluados. Entre las variables con mayor relevancia destacó la señal *m/z* 714.5297, la cual presentó el valor VIP más elevado, indicando una mayor influencia dentro del modelo. Adicionalmente, se evidenció un incremento en su abundancia relativa durante la visita 3, en contraste con los niveles bajos observados en la visita 1 (estado basal). Un comportamiento similar se observó en el resto de las señales

m/z obtenidas mediante el análisis VIP, a excepción de las señales m/*z* 761.4015, 1039.4481 y 1093.3902, las cuales exhibieron sus mayores niveles de abundancia en la visita 1 y disminuyeron progresivamente hacia la visita 3.

De manera general, se identificó una clara tendencia de incremento en la concentración relativa de la mayoría de las señales lipidómicas conforme avanzó el seguimiento temporal, alcanzando sus niveles más elevados durante la visita 3.

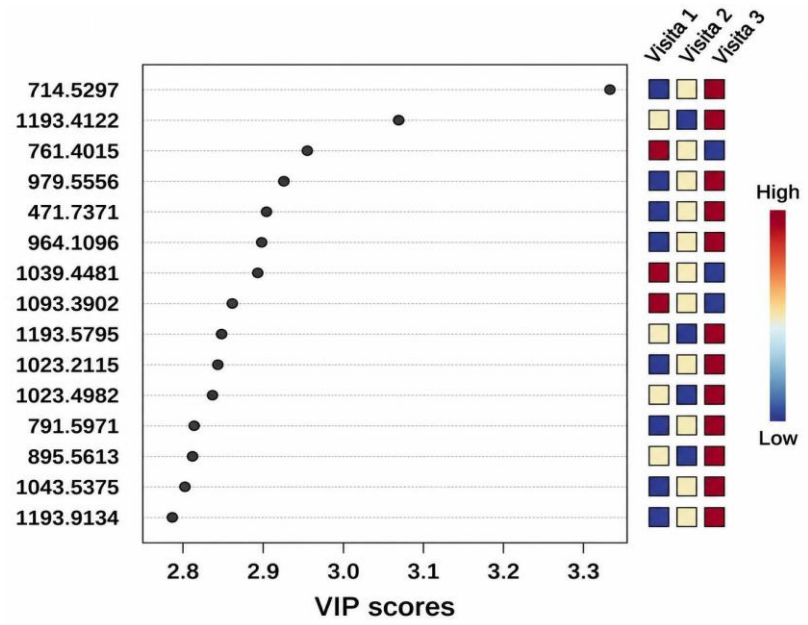

Figura 4. Variables de importancia en la proyección (VIP score) obtenidas a partir del modelo PLS-DA. **Nota.** Las señales con mayores valores VIP representan las variables con mayor contribución al modelo discriminante. El mapa de calor (derecha) indica la abundancia relativa de cada señal en los tres momentos de muestreo (Visita 1, 2 y 3), donde el color rojo representa una alta concentración y el color azul una baja concentración.

3.3. Identificación de lípidos mediante la base de datos LipidMaps

Las señales discriminantes obtenidas mediante el análisis del VIP score fueron sometidas a un proceso de anotación tentativa mediante comparación de su relación (*m/z*) con la base de datos LIPID MAPS. La búsqueda generó un total de 219 coincidencias, proporcionando para cada señal información sobre el grupo, masa experimental, diferencia de masa (Δ), clase principal, nombre y fórmula molecular, así como el aducto observado. Se detectaron predominantemente glicerofosfolípidos como el PE O-18:0/15:0 y PC O-16:0/14:0 (C38H78NO7P, *m/z* 714.5297, aducto $[M+Na]^+$) además de fosfoinosítidos y ácidos grasos activados (Tabla 1). Las diferencias de masa ajustadas (Δ) se ubicaron en un rango de 0.0022–0.0271, evidenciando concordancia entre masa experimental y masa teórica. Entre los modos de ionización observados figuraron especies protonadas $[M+H]^+$, sodiadas $[M+Na]^+$, amoniadas $[M+NH_4]^+$, potasiadas $[M+K]^+$, deshidratadas $[M+H-H_2O]^+$ y especies doblemente sodiadas $[M+2Na-H]^+$.

Debido a la presencia de múltiples coincidencias para algunas señales experimentales, la selección de los candidatos anotados se realizó considerando la menor diferencia de masa (Δ), la plausibilidad química y la coherencia de la clase lipídica asignada con el contexto del estudio (Tabla 1). Las señales que no cumplieron con estos criterios o que no presentaron registros en LIPID MAPS no fueron incluidas en el análisis.

Tabla 1. Anotación tentativa de las señales discriminantes mediante comparación con la base de datos LIPID MAPS, clasificadas dentro del nivel 3 de confianza según (MSI).

Grupo	Masa	Δ	Clase principal	Nombre	Fórmula	Aducto
V3	791.5971	0.0022	Glicerofosfolípidos	PA 22:4(7Z,10Z,13Z,16Z) /22:0	C47H85O8P	$[M+H-H_2O]+$
V3	714.5297	0.0112	Glicerofosfolípidos	PE O-18:0/15:0	C38H78NO7P	[M+Na]+
V3	714.5297	0.0112	Glicerofosfolípidos	PC O-16:0/14:0	C38H78NO7P	[M+Na]+
V1	761.4015	0.0196	Glicerofosfolípidos	PI 12:0/15:1(9Z)	C36H67O13P	[M+Na]+
V3	895.5613	0.0057	Glicerofosfolípidos	PI O-18:0/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z)	C47H85O12P	[M+2Na−H]+
V3	979.5556	0.0116	Glicerofosfolípidos	PI 22:1(11Z) /20:4(5Z,8Z,11Z,14Z)	C51H89O13P	[M+K]+
V2/V3	1093.3902	0.0271	Ácidos grasos	Docosaheptaenoil-CoA	C43H64N7O17P3S	$[M+NH_4]+$
V2/V3	964.1096	0.0112	Ácidos grasos	(3S)-citryl-CoA	C27H42N7O22P3S	[M+Na]+

Nota. Los grupos corresponden a diferentes puntos temporales del esquema vacunal. V1: visita 1 (referencia basal), V2: visita 2 (post-primera dosis) y V3: visita 3 (post-segunda dosis).

3.4. Interacciones bioquímicas y redes metabólicas

Los glicerofosfolípidos anotados tentativamente como ácido fosfatídico (PA 22:4(7Z,10Z,13Z,16Z) /22:0; *m/z* 791.5971) y fosfatidilinositol (PI 22:1(11Z) /20:4(5Z,8Z,11Z,14Z); *m/z* 979.5556) fueron seleccionados como nodos de entrada para la construcción de la red metabólica debido a la consistencia de su anotación estructural y a su relevancia bioquímica, respaldadas por la información disponible en las bases de datos LIPID MAPS y KEGG. El análisis topológico permitió identificar como *hubs* principales al ácido fosfatídico (PA), fosfatidilinositol (PI), 1,2-diacilglicerol y ácido araquidónico (Figura 5). Esta integración reveló que el PA actúa como precursor metabólico directo del 1,2-diacilglicerol y del CDP-diacilglicerol, mientras que el PI ejerce como precursor del fosfatidilinositol 3-fosfato y fosfatidilinositol 4-fosfato. Asimismo, el CDP-diacilglicerol se conecta directamente con el eje del PI mediante la enzima sintasa CDIPT, estableciendo un flujo continuo y coordinado en la biosíntesis de glicerofosfolípidos.

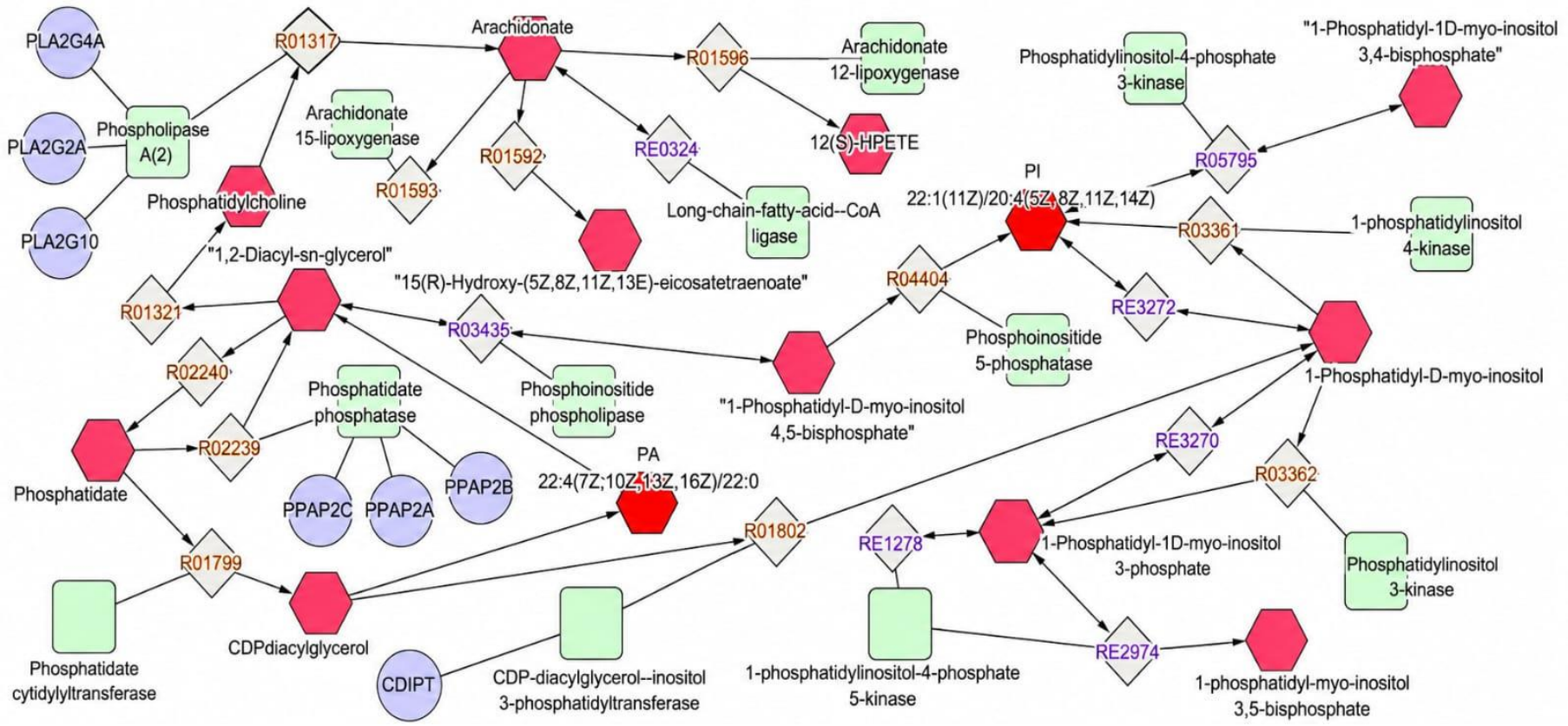

Figura 5. Mapeo en MetScape de las especies lipídicas anotadas tentativamente correspondientes a fosfatidilinositoles (PI 22:1(11Z) /20:4(5Z, 8Z, 11Z, 14Z)) y ácidos fosfatídicos (PA 22:4(7Z, 10Z, 13Z, 16Z)) /22:0). **Nota:** Los nodos hexagonales de color rojo representan las especies lipídicas anotadas tentativamente mediante comparación con la base de datos LIPID MAPS y asociadas a rutas metabólicas descritas en la base de datos KEGG. Los nodos hexagonales de color magenta corresponden a metabolitos intermediarios relacionados con dichas rutas metabólicas, mientras que las enzimas se representan mediante rectángulos verdes y los genes asociados mediante círculos violetas. Los rombos de color gris claro representan las reacciones bioquímicas registradas en KEGG, que conectan los diferentes componentes de las rutas metabólicas. Las flechas indican la dirección de las conversiones metabólicas; las conexiones con una sola punta representan reacciones unidireccionales, mientras que aquellas con flechas en ambos extremos corresponden a reacciones bidireccionales. Las líneas sin flechas representan la participación de genes y enzimas en las reacciones bioquímicas representadas en la red.

CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN

La dispersión observada en el análisis de componentes principales (PCA) durante las etapas iniciales del procesamiento concuerda con lo reportado en estudios de lipidómica no dirigida basados en espectrometría de masas, donde la variabilidad técnica, asociada a efectos de batch, deriva instrumental y orden de adquisición, constituye un factor crítico (Fan et al., 2019). En estudios metabolómicos y lipidómicos, la estabilidad del sistema analítico condiciona la reproducibilidad de los datos; por ello, si estas fuentes de variación no se corrigen mediante procedimientos de normalización y ajustes sistemáticos, pueden enmascarar señales biológicas relevantes (Tseng et al., 2025; Han y Li, 2022). En este estudio, la corrección del efecto *batch* y de la deriva instrumental permitió reducir la variabilidad técnica y obtener un agrupamiento más consistente de las muestras en el PCA (Figura 2).

El modelo PLS-DA evidenció una diferenciación asociada a los distintos momentos del esquema de vacunación. Las dos primeras componentes latentes explicaron el 27,1 % de la variabilidad total (16,8 % y 10,3 %) y mostraron una separación parcial entre los grupos (Figura 3). La separación observada sugiere que el esquema de vacunación se asocia con variaciones detectables en el perfil lipidómico del suero; sin embargo, la superposición parcial entre los grupos refleja la variabilidad biológica interindividual, atribuible a factores como el estado metabólico basal, la composición inicial del lipidoma y el entorno fisiológico de cada individuo (Lang et al., 2025; Xu et al., 2024).

En la Figura 3 se observa una mayor separación entre los grupos correspondientes a la primera (V1) y la tercera visita (V3), lo que sugiere variaciones en el perfil lipidómico del suero a lo largo del esquema de vacunación. Este patrón representa una tendencia compatible con modificaciones metabólicas asociadas a la inmunización, más que una diferenciación absoluta entre los grupos, lo que concuerda con la heterogeneidad biológica descrita en estudios de inmunometabolómica (Wasilewski y Serrafi, 2026; Szymańska et al., 2012).

La anotación tentativa mediante la base de datos LIPID MAPS permitió asignar las señales discriminantes principalmente a glicerofosfolípidos, incluyendo fosfatidiletanolaminas (PE), fosfatidilcolinas (PC), fosfatidilinositoles (PI) y ácidos fosfatídicos (PA), así como a ácidos grasos. A lo largo del esquema de vacunación (V1: basal, V2: post-primera dosis y V3: post-segunda dosis) se observó una mayor representación relativa de los glicerofosfolípidos en V3 con respecto a V1 (Figura 4), con excepción del PI 12:0/15:1(9Z) (*m/z* 761.4015). Estos resultados son consistentes con estudios previos que reportan modificaciones en los perfiles lipídicos posteriores a la vacunación contra SARS-CoV-2, particularmente en glicerofosfolípidos y esfingolípidos, clases involucradas en la organización estructural de las membranas celulares y en la regulación de la señalización celular (Yan et al., 2022). En este contexto, la remodelación lipídica constituye un componente esencial de la respuesta inmunometabólica ya que la composición de la membrana influye en la activación y función de las células inmunes (Garcia y Blesso, 2023; Liebisch et al., 2020).

Al evaluar esta reorganización lipídica mediante el análisis topológico de la red metabólica generada con MetScape, fue posible identificar metabolitos con alta conectividad y explorar sus relaciones funcionales dentro de distintas rutas metabólicas (Karnovsky et al., 2012). En la red reconstruida, el ácido fosfatídico (PA) se identificó como uno de los nodos con mayor conectividad, lo que podría reflejar una mayor participación metabólica de este lípido durante la tercera visita (V3). Asimismo, las conexiones metabólicas reconstruidas entre el PA, el 1,2-diacilglicerol (DAG) y el CDP-diacilglicerol son consistentes con rutas en las que participan las fosfatasas del ácido fosfatídico (PPAP2A-C) (O'Donnell y Wakelam, 2018). Esta ruta metabólica resulta biológicamente relevante, dado que el aumento en los niveles de DAG constituye un requisito para el reclutamiento y activación de la proteína quinasa C (PKC), enzima que desencadena cascadas de señalización intracelular relacionadas con la proliferación, diferenciación y supervivencia de los linfocitos T y B durante la respuesta inmune adaptativa (Chen y Zhong, 2016; Rocha et al., 2014).

Desde una perspectiva molecular, la elevada conectividad del ácido fosfatídico (PA) observada en la red metabólica reconstruida sugiere una posible implicación de este lípido en mecanismos de regulación metabólica asociados a la activación de la respuesta inmunitaria inducida por la vacunación. Aunque el complejo 1 de la diana mecanística de la rapamicina (mTORC1) no forma parte de la red reconstruida, se ha descrito que el PA puede modular su actividad mediante la interacción con componentes de este complejo (Fruman et al., 2017; Tei, 2024). La activación de mTORC1 favorece procesos como la traducción proteica, el crecimiento celular y la adaptación metabólica, funciones esenciales para la activación, proliferación y diferenciación de células inmunes frente a un estímulo antigénico (Foster, 2009; Frias et al., 2023). En este contexto, el incremento relativo observado para la especie anotada tentativamente como PA 22:4(7Z,10Z,13Z,16Z) /22:0 (*m/z* 791.5971) en la tercera visita (V3) podría reflejar una mayor participación de rutas relacionadas con la señalización mediada por el ácido fosfatídico durante la respuesta inmunitaria posterior a la segunda dosis del esquema vacunal.

De modo complementario, la especie anotada tentativamente como PI 22:1(11Z) /20:4 (5Z, 8Z, 11Z, 14Z) (*m/z* 979.5556), perteneciente a la clase de los fosfatidilinositoles (PI), actúa como precursor para la generación de fosfoinosítidos activos, como el fosfatidilinositol 3-fosfato (PI3P) y el fosfatidilinositol 4-fosfato (PI4P), observados en la red metabólica reconstruida. Las transiciones hacia estos derivados fosforilados, mediadas por enzimas como el fosfatidilinositol 4-quinasa (PI4K), son esenciales para modular procesos como la endocitosis de antígenos y la interacción entre las células presentadoras de antígeno y los linfocitos (Kim et al., 2022). Las variaciones observadas en la abundancia relativa de la especie anotada de PI entre las diferentes visitas podrían reflejar una reorganización de rutas dependientes de fosfoinosítidos durante la respuesta inmunometabólica inducida por la vacunación (Liu et al., 2025).

La anotación tentativa de docosaheptaenoil-CoA sugiere la posible participación de rutas metabólicas asociadas al metabolismo de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LC-

PUFAs). No obstante, Wanders et al. (2010) señalan que este intermediario posee una vida media extremadamente corta debido a su rápido procesamiento por la enzima 2,4-dienoil-CoA reductasa. Esta naturaleza transitoria y su baja concentración en estado estacionario suelen dificultar su detección mediante análisis convencionales por LC-MS, por lo que su asignación debe interpretarse con cautela.

Por último, el modelo metabólico incluyó al ácido araquidónico y a algunos de sus derivados, como los HETEs y EETs, incorporados como metabolitos intermediarios a partir de la información bioquímica disponible en KEGG, lo que permitió visualizar rutas relacionadas con la biosíntesis de mediadores lipídicos. Bajo este escenario, el ácido araquidónico, liberado a partir de fosfolípidos de membrana mediante la acción de la fosfolipasa A_2 ($cPLA_2$) durante procesos de activación celular, puede dar origen a HETEs, a través de la vía de las lipooxigenasas (LOX) y a EETs, mediante la vía de los citocromos P450 (CYP), compuestos descritos por su participación en la regulación de procesos inflamatorios e inmunológicos. Aunque estos metabolitos no fueron identificados directamente mediante el análisis por LC-MS, su representación en la red proporciona un contexto bioquímico para interpretar las posibles conexiones funcionales entre las especies lipídicas anotadas y las rutas metabólicas potencialmente involucradas en la regulación de la respuesta inmunitaria y de los procesos inflamatorios asociados a la vacunación (Liu et al., 2022).

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

El enfoque lipidómico no dirigido basado en LC-MS permitió determinar las variaciones del perfil lipidómico sérico de individuos inmunizados con la vacuna ChAdOx1-S durante tres momentos del esquema de vacunación. El análisis multivariado PLS-DA evidenció una diferenciación temporal del perfil lipidómico entre las visitas evaluadas, observándose una mayor separación entre la primera y la tercera visita, mientras que la segunda presentó un comportamiento intermedio con cierto grado de solapamiento. Estos resultados sugieren la existencia de variaciones temporales en el perfil lipidómico sérico asociadas al proceso de inmunización.

La identificación tentativa de los lípidos asociados a las señales discriminantes mediante la base de datos LIPID MAPS permitió clasificarlos principalmente dentro de clases pertenecientes a los glicerofosfolípidos, incluyendo fosfatidilcolinas (PC), fosfatidiletanolaminas (PE), fosfatidilinositoles (PI) y ácidos fosfatídicos (PA). Estas anotaciones proporcionaron una aproximación inicial a las especies lipídicas asociadas a los cambios observados en el perfil lipidómico durante el esquema de vacunación.

La evaluación de la interacción funcional de las especies lipídicas anotadas tentativamente mediante la construcción de redes metabólicas permitió contextualizar sus posibles relaciones con rutas metabólicas asociadas a la respuesta inmune postvacunación. Dentro de la red metabólica reconstruida, el ácido fosfatídico (PA), el fosfatidilinositol (PI), el 1,2-diacilglicerol y el ácido araquidónico presentaron una alta conectividad, asociándose con diversas rutas metabólicas. Particularmente, las especies anotadas como PA y PI mostraron una mayor representación relativa en la tercera visita, lo que sugiere una posible reorganización de rutas relacionadas con el metabolismo de glicerofosfolípidos durante la respuesta asociada a la vacunación. Asimismo, el ácido araquidónico y el 1,2-diacilglicerol

fueron incorporados por la reconstrucción metabólica como intermediarios relacionados con las rutas presentes en KEGG, proporcionando un contexto bioquímico para interpretar las posibles conexiones funcionales entre las especies lipídicas anotadas.

En conjunto, este estudio contribuye al conocimiento del inmunometabolismo asociado a la vacunación mediante la caracterización exploratoria del perfil lipidómico sérico posterior a la inmunización con ChAdOx1-S. Los resultados obtenidos constituyen una base para futuras investigaciones orientadas a confirmar estructuralmente las especies lipídicas anotadas mediante aproximaciones analíticas complementarias, así como para profundizar en los mecanismos inmunometabólicos asociados a la respuesta inmune postvacunación.

5.2. Recomendaciones

Se recomienda complementar la identificación tentativa de las especies lipídicas mediante análisis de espectrometría de masas en tándem (MS/MS) y el empleo de estándares analíticos auténticos, con el objetivo de confirmar la identidad estructural de las señales discriminantes y aumentar el nivel de confianza de las anotaciones obtenidas.

Implementar estrategias de lipidómica dirigida (targeted lipidomics) en cohortes de mayor tamaño y con mayor diversidad poblacional, permitiendo validar y cuantificar con mayor precisión las especies lipídicas identificadas en este estudio.

De la misma forma, integrar aproximaciones multi-ómicas que combinen información lipidómica con datos inmunológicos y otros perfiles moleculares, con la finalidad de establecer asociaciones más robustas entre las modificaciones del metabolismo lipídico y los mecanismos involucrados en la respuesta inmunitaria.

Finalmente, se considera pertinente ampliar el diseño experimental mediante la incorporación de un mayor número de muestras biológicas, grupos de comparación y puntos temporales de seguimiento, permitiendo una evaluación más detallada de la dinámica del perfil lipidómico durante la respuesta posterior a la inmunización.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Amara, A., Frainay, C., Jourdan, F., Naake, T., Neumann, S., Novoa-del-Toro, E. M., Salek, R. M., Salzer, L., Scharfenberg, S. y Witting, M. (2022). Networks and graphs discovery in metabolomics data analysis and interpretation. Frontiers in Molecular Biosciences, 9, 841373. https://doi.org/10.3389/fmolb.2022.841373

Anh, N. K., Thu, N. Q., Tien, N. T. N., Long, N. P. y Nguyen, H. T. (2024). Advancements in mass spectrometry-based targeted metabolomics and lipidomics: Implications for clinical research. Molecules, 29(24), 5934. https://doi.org/10.3390/molecules29245934

Belhaj, M. R., Lawler, N. G. y Hoffman, N. J. (2021). Metabolomics and lipidomics: Expanding the molecular landscape of exercise biology. Metabolites, 11(3), 151. https://doi.org/10.3390/metabo11030151

Bennett, M. R. y Gilroy, D. W. (2016). Mediadores lipídicos en la inflamación. Microbiology Spectrum, 4(4). https://doi.org/10.1128/microbiolspec.mchd-0035-2016

Castañeda Guillot, C. D., Martínez Martínez, R. y Castro Sánchez, F. de J. (2021). La vacunación y sus retos. Dilemas Contemporáneos: Educación, Política y Valores, 9(spe1), 00119. https://doi.org/10.46377/dilemas.v9i.3032

Chandra, A., Kumar, V., Garnaik, U. C., Dada, R., Qamar, I., Goel, V. K. y Agarwal, S. (2024). Unveiling the molecular secrets: A comprehensive review of Raman spectroscopy in biological research. ACS Omega, 9(51), 50049–50063. https://doi.org/10.1021/acsomega.4c00591

Chen, S. S., Hu, Z. y Zhong, X.-P. (2016). Diacylglycerol kinases in T cell tolerance and effector function. Frontiers in Cell and Developmental Biology, 4, 130. https://doi.org/10.3389/fcell.2016.00130

Chou, C.-H., Mohanty, S., Kang, H. A., Kong, L., Avila-Pacheco, J., Joshi, S. R., Ueda, I., Devine, L., Raddassi, K., Pierce, K., Jeanfavre, S., Bullock, K., Meng, H., Clish, C., Santori, F. R., Shaw, A. C. y Xavier, R. J. (2022). Metabolomic and transcriptomic signatures of influenza vaccine response in healthy young and older adults. Aging Cell, 21, e13682. https://doi.org/10.1111/acel.13682

Deng, S., Liang, H., Chen, P., Li y., Li, Z., Fan, S., Wu, K., Li, X., Chen, W., Qin y. yi, L. y Chen, J. (2022). Viral vector vaccine development and application during the COVID-19 pandemic. Microorganisms, 10(7), 1450. https://doi.org/10.3390/microorganisms10071450

Dettmer, K., Aronov, P. A. y Hammock, B. D. (2007). Mass spectrometry-based metabolomics. Mass Spectrometry Reviews, 26(1), 51–78. https://doi.org/10.1002/mas.20108

Diray-Arce, J., Conti, M. G., Petrova, B., Kanarek, N., Angelidou, A. y Levy, O. (2020). Integrative metabolomics to identify molecular signatures of responses to vaccines and infections. Metabolites, 10(12), 492. https://doi.org/10.3390/metabo10120492

Du, L., He y., Zhou y., Liu, S., Zheng, B. J. y Jiang, S. (2009). The spike protein of SARS-CoV — A target for vaccine and therapeutic development. Nature Reviews Microbiology, 7(3), 226–236. https://doi.org/10.1038/nrmicro2090

Dunn, W., Broadhurst, D., Begley, P., et al. (2011). Procedimientos para el perfilado metabólico a gran escala de suero y plasma mediante cromatografía de gases y cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas. Nature Protocols, 6, 1060–1083. https://doi.org/10.1038/nprot.2011.335

Emwas, A. H., Roy, R., McKay, R. T., Tenori, L., Saccenti, E., Gowda, G. A. N., Raftery, D., Alahmari, F., Jaremko, L., Jaremko, M. y Wishart, D. S. (2019). NMR spectroscopy for metabolomics research. Metabolites, 9(7), 123. https://doi.org/10.3390/metabo9070123

Ewer, K. J., Barrett, J. R., Belij-Rammerstorfer, S., et al. y Oxford COVID Vaccine Trial Group. (2021). T cell and antibody responses induced by a single dose of ChAdOx1 nCoV-19 (AZD1222) vaccine in a phase 1/2 clinical trial. Nature Medicine, 27(2), 270–278. https://doi.org/10.1038/s41591-020-01194-5

Fagone, P. y Jackowski, S. (2009). Membrane phospholipid synthesis and endoplasmic reticulum function. Journal of Lipid Research, 50(Suppl.), S311–S316. https://doi.org/10.1194/jlr.R800049-JLR200

Fan, S., Kind, T., Cajka, T., Hazen, S. L., Tang, W. H. W., Kaddurah-Daouk, R., Irvin, M. R., Arnett, D. K., Barupal, D. K. y Fiehn, O. (2019). Systematic error removal using random forest for normalizing large-scale untargeted lipidomics data. Analytical Chemistry, 91(5), 3590–3596. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b05592

Folegatti, P. M., Ewer, K. J., Aley, P. K., et al. (2020). Safety and immunogenicity of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine against SARS-CoV-2: A preliminary report of a phase 1/2, single-blind, randomised controlled trial. The Lancet, 396(10249), 467–478. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31604-4

Foster, D. A. (2009). Phosphatidic acid signaling to mTOR: Signals for the survival of human cancer cells. Biochimica et Biophysica Acta, 1791(9), 949–955. https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2009.02.009

Frias, M. A., Hatipoglu, A. y Foster, D. A. (2023). Regulation of mTOR by phosphatidic acid. Trends in Endocrinology y Metabolism, 34(3), 170–180. https://doi.org/10.1016/j.tem.2023.01.004

Fruman, D. A., Chiu, H., Hopkins, B. D., Bagrodia, S., Cantley, L. C. y Abraham, R. T. (2017). The PI3K pathway in human disease. Cell, 170(4), 605–635. https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.07.029

Garcia, C., Andersen, C. J. y Blesso, C. N. (2023). El papel de los lípidos en la regulación de las respuestas inmunitarias. Nutrients, 15(18), 3899. https://doi.org/10.3390/nu15183899

García Osorno, Z. R., Perón Medina, L. Á., Ramírez Velázquez, I. O., et al. (2021). Vacunas contra la COVID-19. Acta Médica Grupo Ángeles, 19(3), 429–444. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-72032021000300429

Gibellini, F. y Smith, T. K. (2010). The Kennedy pathway--De novo synthesis of phosphatidylethanolamine and phosphatidylcholine. *IUBMB life*, *62*(6), 414–428. https://doi.org/10.1002/iub.337

Glasgow Polyomics. (2017*). Metabolomics service protocol: Sample preparation for serum, plasma or urine samples.* University of Glasgow.

Gupta, G. S. (2022). The lactate and the lactate dehydrogenase in inflammatory diseases and major risk factors in COVID-19 patients. Inflammation, 45(6), 2091–2123. https://doi.org/10.1007/s10753-022-01680-7

Han, W. y Li, L. (2022). Evaluating and minimizing batch effects in metabolomics. Mass spectrometry reviews, 41(3), 421–442. https://doi.org/10.1002/mas.21672

Ito, A. (2025). Lipid metabolic reprogramming in immune regulation and chronic inflammatory diseases.

Endocrine Journal, 72(9), 979–985. https://doi.org/10.1507/endocrj.EJ25-0180

Johnson, C. H., Ivanisevic, J. y Siuzdak, G. (2016). Metabolomics: Beyond biomarkers and towards mechanisms. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 17(7), 451–459. https://doi.org/10.1038/nrm.2016.25

Karnovsky, A., Weymouth, T., Hull, T., Tarcea, V. G., Scardoni, G., Laudanna, C., Sartor, M. A., Stringer, K. A., Jagadish, H. V., Burant, C., Athey, B. y Omenn, G. S. (2012). Metscape 2 bioinformatics tool for the analysis and visualization of metabolomics and gene expression data. Bioinformatics, 28(3), 373–380. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr661

Kim, S. J., Kim, S. H., Kim, J. H., Hwang, S. y Yoo, H. J. (2016). Understanding metabolomics in biomedical research. Endocrinology and Metabolism, 31(1), 7–16. https://doi.org/10.3803/EnM.2016.31.1.7

Kim y. J., Sengupta, N., Sohn, M., Mandal, A., Pemberton, J. G., Choi, U. y Balla, T. (2022). Metabolic routing maintains the unique fatty acid composition of phosphoinositides. EMBO Reports, 23(7), e54532. https://doi.org/10.15252/embr.202154532

Lang, J., Bernal, A., Wist, J., Egan, S., Bong, S. H., Millet, O., Ryan, M., Lee, A. C., Hall, D., Nitschke, P., Masuda, R., Imrie, A., Holmes, E., Nicholson, J. y Loo, R. L. (2025). Longitudinal study on immunologic, lipoproteomic, and inflammatory responses indicates the safety of sequential COVID-19 vaccination. Journal of Molecular Medicine, 103(4), 421–433. https://doi.org/10.1007/s00109-025-02527-y

Lee, M., Lee, S. Y. y Bae y. S. (2023). Functional roles of sphingolipids in immunity and their implication in disease. Experimental y Molecular Medicine, 55, 1110–1130. https://doi.org/10.1038/s12276-023-01018-9

Liebisch, G., Fahy, E., Aoki, J., Dennis, E. A., Durand, T., Ejsing, C. S., Fedorova, M., Feussner, I., Griffiths, W. J., Köfeler, H., Merrill, A. H., Jr., Murphy, R. C., O'Donnell, V. B., Oskolkova, O., Subramaniam, S., Wakelam, M. J. O. y Spener, F. (2020). Update on LIPID MAPS classification, nomenclature, and shorthand notation for MS-derived lipid structures. Journal of Lipid Research, 61(12), 1539–1555. https://doi.org/10.1194/jlr.S120001025

Liu, J., Chen y. y O'Neill, L. (2025). Phospholipid metabolism in innate immunity and inflammation: From basic to clinic. Immunity, Inflammation and Disease, 1, 6. https://doi.org/10.1007/s44466-025-00001-5

Liu, J.-Y. (2022). Editorial: Eicosanoids and cytokines: Resolution of inflammation. Frontiers in Pharmacology, 13, 978331. https://doi.org/10.3389/fphar.2022.978331

Liu, X., Xiao, C., Guan, P., Chen, Q. you, L., Kong, H., Qin, W., Dou, P., Li, Q., Li y., Jiao y., Zhong, Z. yang, J., Wang, X., Wang, Q., Zhao, J., Xu, Z., Zhang, H., Li, R., Gao, P. y Xu, G. (2023). Metabolomics acts as a powerful tool for comprehensively evaluating vaccines approved under emergency: A CoronaVac retrospective study. Frontiers in Immunology, 14, 1168308. https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1168308

Mehta, P., McAuley, D. F., Brown, M., Sanchez, E., Tattersall, R. S., Manson, J. J. y HLH Across Speciality Collaboration, UK. (2020). COVID-19: Consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. The Lancet, 395(10229), 1033–1034. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30628-0

Nakaya, H. I., Wrammert, J., Lee, E. K., Racioppi, L., Marie-Kunze, S., Haining, W. N., Means, A. R., Kasturi, S. P., Khan, N., Li, G. M., McCausland, M., Kanchan, V., Kokko, K. E., Li, S., Elbein, R., Mehta, A. K., Aderem, A., Subbarao, K., Ahmed, R. y Pulendran, B. (2011). Systems biology of vaccination for seasonal influenza in humans. Nature Immunology, 12(8), 786–795. https://doi.org/10.1038/ni.2067

O'Donnell, V. B., Rossjohn, J. y Wakelam, M. J. O. (2018). Phospholipid signaling in innate immune cells. The Journal of Clinical Investigation, 128(7), 2670–2679. https://doi.org/10.1172/JCI97944

O'Neill, L. A., Kishton, R. J. y Rathmell, J. (2016). A guide to immunometabolism for immunologists. Nature Reviews Immunology, 16(9), 553–565. https://doi.org/10.1038/nri.2016.70

Organización Mundial de la Salud. (2020, 11 de marzo). La OMS caracteriza a la COVID-19 como una pandemia. https://www.paho.org/es/noticias/11-3-2020-oms-caracteriza-covid-19-como-pandemia

O'Neill, L. A. y Pearce, E. J. (2016). Immunometabolism governs dendritic cell and macrophage function. Journal of Experimental Medicine, 213(1), 15–23. https://doi.org/10.1084/jem.20151570

Pollard, A. J. y Bijker, E. M. (2021). A guide to vaccinology: From basic principles to new developments. Nature Reviews Immunology, 21(2), 83–100. https://doi.org/10.1038/s41577-020-00479-7

Psychogios, N., Hau, D. D., Peng, J., Guo, A. C., Mandal, R., Bouatra, S., Sinelnikov, I., Krishnamurthy, R., Eisner, R., Gautam, B. young, N., Xia, J., Knox, C., Dong, E., Huang, P., Hollander, Z., Pedersen, T. L., Smith, S. R., Bamforth, F. y Wishart, D. S. (2011). The human serum metabolome. PLoS ONE, 6(2), e16957. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016957

Pulendran, B., Li, S. y Nakaya, H. I. (2010). Systems vaccinology. Immunity, 33(4), 516–529. https://doi.org/10.1016/j.immuni.2010.10.006

Pulendran, B., Arunachalam, P. S. y O'Hagan, D. T. (2021). Emerging concepts in the science of vaccine adjuvants. Nature Reviews Drug Discovery, 20(6), 454–475. https://doi.org/10.1038/s41573-021-00163-y

Plotkin, S. (2014). History of vaccination. Proceedings of the National Academy of Sciences, 111(34), 12283–12287. https://doi.org/10.1073/pnas.1400472111

Rahman, M., Hera, H. N. y Barsha, U. I. (2026). Metabolomics in infectious diseases and vaccine response: Insights into neglected tropical and non-neglected pathogens. Infectious Disease Reports, 18(1), 10. https://doi.org/10.3390/idr18010010

Rocha, S., De Keersmaecker, H., Hutchison, J. A., Vanhoorelbeke, K., Martens, J. A., Hofkens, J. y Uji-i, H. (2014). Membrane remodeling processes induced by phospholipase action. Langmuir, 30(16), 4743–4751. https://doi.org/10.1021/la500121f

Ryan, D. G., Peace, C. G. y Hooftman, A. (2023). Basic mechanisms of immunometabolites in shaping the immune response. Journal of Innate Immunity, 15(1), 925–943. https://doi.org/10.1159/000535452

Sánchez-García, F. J., Pérez-Hernández, C. A., Rodríguez-Murillo, M. y Moreno-Altamirano, M. M. B. (2021). The role of tricarboxylic acid cycle metabolites in viral infections. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 11, 725043. https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.725043

Santos-López, G., Cortés-Hernández, P., Vallejo-Ruiz, V. y Reyes-Leyva, J. (2021). SARS-CoV-2: Generalidades, origen y avances en el tratamiento. Gaceta Médica de México, 157(1), 88–93. https://doi.org/10.24875/gmm.2000050

Sumner, L. W., Amberg, A., Barrett, D., Beale, M. H., Beger, R., Daykin, C. A., Fan, T. W., Fiehn, O., Goodacre, R., Griffin, J. L., Hankemeier, T., Hardy, N., Harnly, J., Higashi, R., Kopka, J., Lane, A. N., Lindon, J. C., Marriott, P., Nicholls, A. W., Reily, M. D., … Viant, M. R. (2007). Proposed minimum reporting standards for chemical analysis Chemical Analysis Working Group (CAWG) Metabolomics Standards Initiative (MSI).

Metabolomics: Official journal of the Metabolomic Society, 3(3), 211–221. https://doi.org/10.1007/s11306-007-0082-2

Stocks, D., Thomas, A., Finn, A., Danon, L. y Brooks-Pollock, E. (2025). Modelos mecanicistas de la cinética humoral tras la vacunación contra la COVID-19. Journal of the Royal Society Interface, 22(222), 20240445. https://doi.org/10.1098/rsif.2024.0445

Shindou, H. y Shimizu, T. (2009). Acyl-CoA:lysophospholipid acyltransferases. Journal of Biological Chemistry, 284(1), 1–5. https://doi.org/10.1074/jbc.R800046200

Szymańska, E., Saccenti, E., Smilde, A. K. y Westerhuis, J. A. (2012). Double-check: Validation of diagnostic statistics for PLS-DA models in metabolomics studies. Metabolomics, 8(Suppl. 1), 3–16. https://doi.org/10.1007/s11306-011-0330-3

Tei, R. (2024). La red reguladora dinámica del metabolismo del ácido fosfatídico: Un análisis del ciclo de sustratos entre el ácido fosfatídico y el diacilglicerol. Biochemical Society Transactions, 52(5), 2123–2132. https://doi.org/10.1042/BST20231511

Tannahill, G. M., Curtis, A. M., Adamik, J., Palsson-McDermott, E. M., McGettrick, A. F., Goel, G., Frezza, C., Bernard, N. J., Kelly, B., Foley, N. H., Zheng, L., Gardet, A., Tong, Z., Jany, S. S., Corr, S. C., Haneklaus, M., Caffrey, B. E., Pierce, K., Walmsley, S. y O'Neill, L. A. (2013). Succinate is an inflammatory signal that induces IL-1β through HIF-1α. Nature, 496(7444), 238–242. https://doi.org/10.1038/nature11986

Tseng, C. Y., Salguero, J. A., Breidenbach, J. D., Solomon, E., Sanders, C. K., Harvey, T., Thornhill, M. G., Palmisano, S. J., Sasiene, Z. J., Blackwell, B. R., McBride, E. M., Luchini, K. A., LeBrun, E. S., Alvarez, M., Mach, P. M., Rivera, E. S. y Glaros, T. G. (2025). Evaluation of normalization strategies for mass spectrometry-based multi-omics datasets. Metabolomics, 21(4), 98. https://doi.org/10.1007/s11306-025-02297-1

Voysey, M., Clemens, S. A. C., Madhi, S. A., Weckx, L. Y., Folegatti, P. M., Aley, P. K., Angus, B., Baillie, V. L., Barnabas, S. L., Bhorat, Q. E., Bibi, S., Briner, C., Cicconi, P., Collins, A. M., Colin-Jones, R., Cutland, C. L., Darton, T. C., Dheda, K., Duncan, C. J. A., … Pollard, A. J. (2021). Safety and efficacy of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine (AZD1222) against SARS-CoV-2: An interim analysis of four randomised controlled trials in Brazil, South Africa, and the UK. The Lancet, 397(10269), 99–111. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32661-1

Wang y., Wang, X., Luu, L. D. W., Chen, S., Jin, F., Wang, S., Huang, X., Wang, L., Zhou, X., Chen, X., Cui, X., Li, J., Tai, J. y Zhu, X. (2022). Proteomic and metabolomic signatures associated with the immune response in healthy individuals immunized with an inactivated SARS-CoV-2 vaccine. Frontiers in Immunology, 13, 848961. https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.848961

Wasilewski, A. y Serrafi, A. (2026). Identification of metabolic signatures of immune response following mRNA and inactivated vaccines against COVID-19: A systematic review. Frontiers in Immunology, 17, 1783878. https://doi.org/10.3389/fimmu.2026.1783878

Xu, S., Bai, C., Chen y. yu, L., Wu, W. y Hu, K. (2024). Comparing univariate filtration preceding and succeeding PLS-DA analysis on the differential variables/metabolites identified from untargeted LC-MS metabolomics data. Analytica Chimica Acta, 1287, 342103. https://doi.org/10.1016/j.aca.2023.342103

Yan, B. yuan, S., Cao, J., Fung, K., Lai, P. M. yin, F., Sze, K. H., Qin, Z., Xie y. ye, Z. W. yuen, T. T., Chik, K. K., Tsang,

J. O., Zou, Z., Chan, C. C., Luo, C., Cai, J. P., Chan, K. H., Chung, T. W., Tam, A. R., … Chan, J. F. (2022). Phosphatidic acid phosphatase 1 impairs SARS-CoV-2 replication by affecting the glycerophospholipid metabolism pathway. International Journal of Biological Sciences, 18(12), 4744–4755. https://doi.org/10.7150/ijbs.73057

Yang, K. y Han, X. (2016). Lipidomics: Techniques, applications, and outcomes related to biomedical sciences. Trends in Biochemical Sciences, 41(11), 954–96 University of Glasgow.9. https://doi.org/10.1016/j.tibs.2016.08.010