

Expresión de marcadores inflamatorios y de diabetes en una población venezolana con sobrepeso

Expression of inflammatory and diabetic markers in a Venezuelan population with overweight

MARÍA DEL ROSARIO GARRIDO¹, YAIRA MATHISON^{1,2}, EDUARDO ROMERO²,
MARIELLA PASTORELLO, MARÍA GABRIELA MATOS¹, ELSA CAMACHO¹, LETICIA FIGUEIRA¹,
JESÚS HERNÁNDEZ⁴, ELODIE BILLET¹, YUBIZALI LÓPEZ³, ANITA ISRAEL¹

Resumen

La obesidad es una epidemia que afecta tanto a los países ricos como a los pobres. La obesidad y el sobrepeso son los principales contribuyentes mundiales de enfermedades crónicas como la diabetes, las enfermedades cardiovasculares y el cáncer. Hay evidencia que muestra que la inflamación es un mediador importante en el desarrollo de la resistencia a la insulina inducida por la obesidad. Se evaluó la expresión periférica de marcadores inflamatorios y de diabetes en una muestra seleccionada de la población venezolana y su correlación con los parámetros de obesidad y el sobrepeso. 178 individuos, hombres y mujeres, con edades comprendidas entre 19 y 68 años, fueron divididos en 3 grupos de acuerdo con el índice de masa corporal (IMC): Normal (N): $IMC < 25 \text{ Kg/m}^2$, obesidad grado 1 (OB1) con IMC entre 25 y 30 Kg/m^2 y obesidad grado 2 (OB2): $IMC > 30 \text{ Kg/m}^2$. Se determinaron los valores de los parámetros antropométricos, la glicemia, el perfil lipídico y la proteína C-reactiva (PCRus) plasmática. Además se determinó la albúmina y creatinina urinaria. Se determinó la concentración plasmática de interleucinas, quimiocinas y adipocinas mediante el método multiplex Bio-Plex™Pro. Se observaron incrementos en edad, peso, IMC, circunferencia abdominal (CA), porcentaje de grasa y triglicéridos en los sujetos de los grupos de OB1 y OB2 al compararlos con los normales. No se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en cuanto a la talla, glicemia, HDLc y el colesterol total. La proteína C-reactiva (PCRus) mostró incrementos significativos entre OB2 y N. Los niveles plasmáticos de insulina y péptido C fueron significativamente mayores en el grupo OB2 en comparación con N ($p < 0,01$ y $p < 0,001$). Los niveles plasmáticos de leptina y PAI-1 tendieron a un incremento y se observó una reducción significativa de la IL-15, RANTES y la grelina en los pacientes del grupo OB2 en comparación con N ($p < 0,01$ y $p < 0,001$). Se encontró correlación positiva entre el IMC con la peso, CA, insulina, péptido C, leptina, PAI-1 y la resistina. Nuestros hallazgos sugieren que en una muestra seleccionada de la población venezolana, el sobrepeso y la obesidad puede afectar biomarcadores inflamatorios y de diabetes, la presión arterial y el metabolismo de los lípidos con riesgo a desarrollar diabetes y enfermedades cardiovasculares.

Palabras clave: Obesidad, biomarcadores, bioplex, inflamación, diabetes.

Abstract

Obesity is an epidemic problem affecting rich and poor countries. Obesity and overweight are major contributors to the global burden of chronic diseases including diabetes, cardiovascular diseases and cancer. There is evidence showing that inflammation is an important mediator in the development of obesity-induced insulin resistance. We assessed the peripheral expression of inflammatory and diabetes markers in a selected sample of Venezuelan population and their correlation with parameters of obesity and overweight. 178 individuals, male and females, aged between 19 and 68 years old, were divided into 3 groups according with BMI: Normal weigh (N): $BMI < 25 \text{ Kg/m}^2$, grade 1 obesity (OB1): BMI between 25 and 30 Kg/m^2 , and grade 2 obesity (OB2): $BMI > 30 \text{ Kg/m}^2$. Values for anthropometric parameters, glycaemia, lipid profile and C-reactive protein (CRP) were determined. In addition urinary albumin and creatinine was assessed. The peripheral expression of circulating interleukins, chimiokynes and adipokines were evaluated with Bio-Plex Pro™, a magnetic bead-based multiplex assay. An increase in age, weight, BMI, and waist

¹ Laboratorio de Neuropéptidos, Facultad de Farmacia. ²Cátedra de Farmacología y Medicina Clínica A, Escuela JM Vargas. ³Servicio de Medicina 3, Hospital JM Vargas. ⁴Facultad de Odontología, Universidad Central de Venezuela. Email: mrgarrido11@hotmail.com

circumference (WC), fat percentage and triglycerides was observed in patients of Groups OB1 and OB2 compared to N. There was no statistical difference between groups regarding height, glycaemia, HDLc and total cholesterol. Parameters such as hsCRP showed statistical differences between OB2 and N. The plasmatic levels of insulin and C-peptide, were significantly higher in OB2 group when compared with N ($p < 0.01$ y $p < 0.001$). Higher levels of leptin and PAI-1 tended to increase while a significant reduction of IL-15, RANTES and ghrelin were found in patients of OB2 group compared with N ($p < 0.01$ y $p < 0.001$). There was a significant correlation between BMI with weight, WC, insulin, C-peptide, leptin, PAI-1 and resistin. Our results suggest that overweight and obesity in a selected sample of venezuelan population can affect inflammatory and diabetes biomarkers, blood pressure and lipid metabolism with risk of developing diabetes and cardiovascular diseases.

Key words: Obesity, biomarkers, bioplex, inflammation, diabetes.

Introducción

En años recientes se ha observado un incremento sostenido en los niveles de sobrepeso a nivel mundial y el número de personas obesas ha alcanzado proporciones epidémicas (Finucane y col., 2011). La Asociación Internacional para el Estudio de la Obesidad (IASO por sus siglas en inglés) está llamando la atención sobre la necesidad de disminuir los altos niveles de obesidad en todos los países del mundo, ya que la prevalencia mundial se ha duplicado entre los años 1980 y 2008 (World Health Statistics, 2012; Global Health Observatory, 2013). En los Estados Unidos de América, entre 2009 y 2010, la tasa de obesidad fue de 37% en adultos y 17% en niños (Ogden y col., 2012). En el Reino Unido a su vez, la tasa de obesos se ha incrementado en un 30% en mujeres, 40% en hombres y 50% en niños para el 2007 con un pronóstico de 50% para el 2050 (Zeyda y Stulnig, 2009).

Una revisión de la literatura indica que la obesidad induce la mayoría de las patologías metabólicas tales como diabetes, enfermedad cardiovascular, hipertensión e hígado graso (Eckel, 2005) las cuales disminuyen la expectativa de vida de la población. Más aún, la evidencia creciente relaciona a la obesidad con una lista creciente de patologías incluyendo desórdenes respiratorios, enfermedades neurodegenerativas y cáncer, todo lo cual contribuye con la morbilidad y mortalidad asociada a la obesidad y los costos médicos que esto representa (Finkelstein y col., 2009; Flegal y col., 2013).

Las causas que subyacen en esta epidemia de obesidad no están claramente definidas; es importante definir la población que está en riesgo de desarrollar las complicaciones relacionadas directamente con la obesidad y establecer marcadores sensibles y específicos que contribuyan en el diagnóstico y monitoreo clínico, así como determinar nuevos factores de riesgo metabólicos.

La medida antropométrica más frecuente para

determinar el peso relativo y clasificar la obesidad es el Índice de Masa Corporal (IMC). Individuos con un $IMC < 25$ son clasificados como peso normal, individuos con un IMC entre 25 y 29,9 kg/m^2 tienen sobrepeso, mientras que aquellos que superan 30 kg/m^2 de IMC son clasificados como obesos (Orpana y col., 2009).

En los últimos años ha surgido evidencia creciente de que la obesidad está asociada con la inflamación sistémica, que a su vez está relacionada con la resistencia a la insulina y con el síndrome metabólico; este estatus está condicionado por la activación del sistema inmune innato en el tejido adiposo que promueve la producción y liberación de citocinas proinflamatorias que contribuyen a la producción de proteínas responsables de la respuesta de fase aguda (Faloia y col., 2011; Rodríguez-Hernández y col., 2013).

Las citocinas son mediadores inmunológicos cruciales en muchas condiciones fisiológicas y fisiopatológicas, y se ha involucrado a las mismas en la infiltración de macrófagos en el tejido adiposo en la obesidad, pudiendo por lo tanto ejercer un papel principal en el desarrollo de las patologías relacionadas con la obesidad. En pacientes obesos se ha demostrado la presencia de un nivel bajo de inflamación crónica, determinado por incrementos en la concentración plasmática de reactantes de fase aguda tales como la Proteína C-reactiva (PCRus), y de citocinas proinflamatorias las cuales regulan tanto positiva como negativamente el metabolismo lipídico y la glucosa sistémica, dando origen al concepto de inflamación metabólica, que está siendo ampliamente aceptado (Hotamisligil y col., 1996, 2006).

En Venezuela existen pocos estudios que correlacionan a la obesidad con marcadores periféricos de inflamación y diabetes. Es por ello que en el presente estudio se evaluó los niveles de marcadores inflamatorios y de diabetes, así como su correlación con parámetros de sobrepeso en una muestra seleccionada de la población de Venezuela.

Materiales y métodos

PACIENTES

Un grupo de 178 sujetos, de ambos géneros, seleccionados entre los que asisten voluntariamente a la consulta de Medicina Interna del Hospital Vargas de Caracas y a la consulta de la Unidad de Neuropeptidos de la Facultad de Farmacia, desde Julio de 2012 hasta Abril de 2013, con edades comprendidas entre 19 y 68 años de edad. Los sujetos fueron divididos en tres grupos según el Índice de Masa Corporal (IMC): peso normal (N): menor de 25 de IMC; obesidad grado 1 (OB1): IMC entre 25 y 29,9 y obesidad grado 2 (OB2): IMC superior a 30. Fueron excluidos del estudio sujetos con hábito tabáquico, proteinuria franca y/o diagnóstico previo de nefropatías, independientemente de su etiología, cardiopatía isquémica, insuficiencia cardíaca, lupus eritematoso sistémico, mieloma múltiple o con PA superior a 160/ 100 mmHg.

Se aplicó una encuesta a los voluntarios indagando acerca de sus antecedentes médicos, personales, familiares y hábitos de vida. La selección buscó una distribución homogénea de individuos con condiciones socioeconómicas similares. A los grupos en estudio, se les comunicó acerca de las características e importancia del estudio y se obtuvo el consentimiento informado por escrito. Los pacientes fueron sometidos a examen físico determinando talla, peso, circunferencia de cintura, porcentaje de grasa por bioimpedancia eléctrica con el medidor de grasa OMRON Modelo BHF306C y presión arterial efectuándose tres mediciones con un minuto de separación entre ellas, utilizando un equipo automatizado (Accutorr Plus, Datascope, New Jersey, USA). Las condiciones preanalíticas fueron las recomendadas mundialmente para este tipo de valoraciones: ayuno de 8-12 horas y sin dieta previa, evitando ejercicios extenuantes, estrés, entre otros. La muestra de sangre se obtuvo mediante venopunción directa en la región antecubital utilizando tubos con EDTA. Se obtuvo una muestra de orina para determinación de albúmina y creatinina. Antes de un período de dos horas, las muestras previamente mantenidas en frío, se centrifugaron a 3000 rpm durante 15 minutos y en el plasma se cuantificó la concentración plasmática de las citocinas, quimiocinas y perfil lipídico.

Todos los protocolos experimentales fueron revisados y aprobados por el Comité de Ética del Hospital Universitario de Caracas y cumplen con la Declaración de Helsinki para experimentación con seres humanos (1964 y revisión del 2013).

MÉTODOS BIOQUÍMICOS

Todos los métodos fueron procedimientos estándar

utilizados en el laboratorio de la Unidad de Neuropeptidos de la Facultad de Farmacia de la Universidad Central de Venezuela (UCV). Para la medición de los parámetros clínicos, se recogieron muestras de sangre venosa después del ayuno nocturno. La glucosa, el colesterol total, el colesterol HDL y los triglicéridos, se determinaron por métodos enzimáticos Trinder (Stanbio) y las mediciones se realizaron con un espectrofotómetro. La concentración de albúmina y creatinina en orina se determinó por método colorimétrico empleando un estucho comercial (Bio Systems). Se calculó la relación albúmina/creatinina (ACR). Se determinó la proteína C reactiva (PCRus), mediante Kit comercial NycoCard Reader II.

DETERMINACIÓN DE CITOCINAS, QUIMIOCINAS, FACTORES DE CRECIMIENTO Y MARCADORES DE DIABETES

Las muestras se evaluaron por duplicado mediante el análisis multiplex de microesferas (Bio-Plex Pro Assays Cytokine, Chemokine and Growth Factors, Life Science Group, BIORAD). Brevemente, el sistema Bio-Plex® se basa en tres núcleos tecnológicos. El primero constituye una tecnología novedosa que emplea hasta 100 microesferas de poliestireno (5,6µm) o magnéticas (8µm), teñidas fluorescentemente y codificadas con un código espectral (Tecnología xMAP), con detección simultánea de hasta 100 moléculas diferentes por muestra. El segundo es un citómetro de flujo con dos rayos láser asociados a un sistema óptico que permite cuantificar las diferentes moléculas unidas a la superficie de las microesferas. El tercero está constituido por un procesador de señal digital de alta velocidad que maneja los datos de fluorescencia con alta eficiencia. Esta técnica nos permitió estudiar en forma simultánea las concentraciones plasmáticas de las interleucinas (IL)-1alfa/beta, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL13, IL-15, IL-17, de las citocinas: eotaxina, factor de crecimiento básico de fibroblastos (FGFb), factor estimulante de colonia de granulocitos (G-CSF), factor estimulante de colonia de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), interferón-gamma (INF-γ), proteína 10 inducible por INF-γ/ quimiocina 10 motivo C X C (IP-10/CXCL10), proteína quimiotáctica de monocitos tipo-1 (MCP-1), proteína inflamatoria de macrófagos-1 alfa/beta (MIP-1a/b), factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), ligando 5 de motivo C/ proteína expresada y secretada en células T normales reguladas en la activación (CCL5/RANTES), factor de necrosis tumoral - alfa (TNF-α) y factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). Igualmente se determinaron marcadores de diabetes como: péptido-C, grelina, polipéptido inhibitor gástrico (GIP), péptido similar al glucagón tipo -1 (GLP-1), glucagón, insulina, leptina, inhibidor

del activador del plasminógeno-I (PAI-I), resistina, visfatina, adiponectina y adiposina.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos fueron expresados como la media \pm error estándar de la media (E.E.M.). Se evaluó la distribución de los datos a través de la inspección visual y las pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk, Kolmogorov-Smirnov, Jarque-Bera. Se empleó el análisis de varianza (ANOVA) con análisis *post-hoc* para comparar los grupos sujetos a estudio; y la correlación de Pearson para relacionar las variables sujetas a estudio. Se consideró significativo $p < 0,05$. Se utilizó el programa GraphPad InStat (GraphPad Software, Inc.).

Resultados

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LOS SUJETOS

Las características clínicas de los tres grupos de pacientes se muestran en la Tabla I. La distribución en género de los pacientes fue de 85 mujeres (N=20; OB1=23 y OB2=42) y 93 hombres (N=32; OB1=24 y OB2=37). Se observó un incremento significativo en edad, peso, IMC, circunferencia abdominal (CA), porcentaje de grasa corporal, triglicéridos y presión arterial sistólica (PAS) en los pacientes de los Grupos OB1 y OB2 al compararlos con N ($p < 0,0001$). No se observaron diferencias significativas en talla, glicemia y colesterol total entre los tres grupos experimentales. Otros parámetros tales como PCRus, relación albumina/creatinina (ACR) y presión arterial diastólica (PAD) solo mostraron diferencias estadísticamente significativas entre el tercer grupo (IMC>30) y el primero (IMC<25). Igualmente, se observó incrementos significativos en la PAD, en los pacientes del OB2 cuando se comparan con los del Grupo OB1.

NIVELES DE LAS CITOCINAS Y MARCADORES DE DIABETES PLASMÁTICOS EN LOS PACIENTES SUJETOS A ESTUDIO

El método de la microesferas multiplex permitió determinar la concentración plasmática de 27 citocinas y 12 marcadores de diabetes en los pacientes evaluados. En la Tabla II se muestran los niveles plasmáticos de algunas de las citocinas y marcadores de diabetes evaluados. Como puede observarse, los niveles plasmáticos de insulina y péptido C fueron significativamente mayores en los pacientes del grupo OB2 al compararlos con el Grupo N ($p < 0,01$ y $p < 0,001$). Se observó una tendencia a incremento de los niveles de leptina y PAI-I, que no alcanzaron significancia estadística. Por su parte, se observó una reducción significativa de los niveles de las IL-15, RANTES y grelina en los pacientes del grupo OB2 al compararlos con el Grupo N ($p < 0,01$ y $p < 0,001$). Los

valores plasmáticos de las otras citocinas y marcadores de diabetes no mostraron diferencias entre los grupos sujetos a estudio (no mostrados).

Tabla I

Parámetros clínicos de la población estudiada

Parámetro	Control (IMC<25)	IMC entre 25 y 30	IMC > 30
	N= 52	N=47	N=79
Género (F/M)	20/32	23/24	42/37
Edad (años)	32,0 \pm 1,8	39,5 \pm 2,1**	42,7 \pm 1,2****
Peso (kg)	60,0 \pm 1,4	74,2 \pm 1,3***	96,98 \pm 2,01****
Talla (cm)	1,7 \pm 0,01	1,7 \pm 0,01	1,7 \pm 0,01
IMC (Kg/m ²)	21,5 \pm 0,4	27,1 \pm 0,2***	35,2 \pm 0,6****
CA (cm)	79,4 \pm 1,1	91,3 \pm 1,0***	107,8 \pm 1,45****
% Grasa corporal	23,6 \pm 1,5	27,7 \pm 1,8*	34,6 \pm 1,5****
PAS (mmHg)	114,5 \pm 1,6	124,7 \pm 2***	129,4 \pm 1,6***
PAD (mmHg)	74,1 \pm 1,3	80,6 \pm 1,4	85,6 \pm 1,2#
Glicemia(mg/dl)	81,4 \pm 1,1	84,2 \pm 1,7	88,8 \pm 1,4***
Triglic (mg/dl)	88,7 \pm 7,3	135,3 \pm 14**	136,7 \pm 7,8***
HDLc (mg/dl)	43,0 \pm 1,6	42,0 \pm 1,7	37,9 \pm 1,1****
Col T (mg/dl)	157,1 \pm 5,7	168,4 \pm 7,9	164,8 \pm 6,6
PCRus (mg/L)	5,3 \pm 0,5	7,5 \pm 0,8	9,2 \pm 1,2*
ACR (mg/g)	14,6 \pm 1,6	15,5 \pm 2,2	21,9 \pm 1,2**

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ comparado con IMC<25; # $p < 0,05$; ## $p < 0,001$ comparado con IMC 25-30.

Tabla II

Niveles de citocinas y marcadores de diabetes plasmáticos en los pacientes sujetos a estudio

Parámetro	Control (IMC<25)	IMC entre 25 y 30	IMC > 30
	N= 52	N=47	N=79
IL-12	63 \pm 8	45 \pm 5	47 \pm 4
IL-15	83 \pm 8	74 \pm 10	59 \pm 5*
RANTES	99626 \pm 970	22119 \pm 9677***	9029 \pm 846***
PEPTIDE-C	497 \pm 37	607 \pm 37	674 \pm 43**
GHRELIN	812 \pm 92	668 \pm 74	541 \pm 52*
INSULIN	153 \pm 13	207 \pm 18	280 \pm 28***
LEPTIN	3519 \pm 552	4969 \pm 709	5054 \pm 537
PAI-I	6643 \pm 770	6448 \pm 501	8337,5 \pm 766

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ comparado con IMC<25.

CORRELACIÓN DEL IMC CON LOS NIVELES DE CITOCINAS, MARCADORES DE DIABETES PLASMÁTICOS Y PARÁMETROS CLÍNICOS EN LOS PACIENTES SUJETOS A ESTUDIO

El análisis de Pearson de las correlaciones entre el IMC y las características clínicas de los sujetos y los

biomarcadores se muestra en la Tabla III. Como se puede observar el IMC presentó una correlación significativa con el peso, PAS, PAD, CA, péptido C, la insulina, leptina, PAI-1 y resistina. No hubo asociación significativa entre el IMC y el resto de los parámetros clínicos y biomarcadores evaluados.

Tabla III

Análisis de la correlación de Pearson entre IMC, niveles de citocinas y marcadores de diabetes plasmáticos y parámetros clínicos

	r	P
IMC & PESO	0,8519	0,0001
IMC & PAS	0,2229	0,01
IMC & PAD	0,3205	0,0003
IMC & CA	0,8518	0,0001
IMC & PEPTIDO-C	0,1854	0,055
IMC & INSULINA	0,4163	0,0001
IMC & LEPTINA	0,2838	0,0029
IMC & PAI-1	0,2240	0,0198
IMC & RESISTINA	0,2930	0,0021

Discusión

La epidemia del sobrepeso y la obesidad ha incrementado dramáticamente el número de individuos con anomalías metabólicas y enfermedades cardiovasculares prematuras. El sobrepeso y la obesidad, especialmente en casos de acumulación de la grasa abdominal, está asociada con un bajo grado de inflamación sistémica, el cual está caracterizado, entre otros factores, por un incremento en los niveles circulantes de citocinas (Solomon y Manson, 1997; Pi-Sunyer, 2004; van Greevenbroek y col., 2013).

Estudios recientes indican la existencia de una fuerte correlación entre el IMC y el diámetro de cintura, con biomarcadores relacionados con la inflamación; lo cual sugiere que el IMC o el CA representan predictores de riesgo del síndrome metabólico y patologías asociadas (Mojiminiyi y col., 2009).

En el presente trabajo estudiamos en una muestra seleccionada de la población venezolana, la posible relación entre la obesidad y sobrepeso (expresado con el IMC) con los biomarcadores de diabetes e inflamación, a fin de determinar la posible aplicación de esos biomarcadores como factores de riesgo asociados a las complicaciones clínicas vinculadas a esta patología en la población venezolana.

Coincidente con lo reportado en la literatura, nuestros resultados demuestran una asociación entre el incremento en el peso expresado como el IMC

con cambios desfavorables en el perfil lipídico, tales como un incremento triglicéridos y una relación inversa con el HDLc (Visser y col., 1999; Klisic y col., 2014).

La PCRus es un marcador de inflamación sistémica que ha sido implicado como factor de riesgo en enfermedades con riesgo cardiovascular, tales como la obesidad y la hipertensión. Del mismo modo, se ha reportado una fuerte asociación entre la PCRus y la resistencia a la insulina (Birgel y col., 2000). La resistencia a la insulina conduce a hiperglicemia e hiperlipidemia, que puede progresar a diabetes tipo 2. Nuestros resultados sugieren en la muestra seleccionada de la población venezolana estudiada, que el incremento en los valores de PCRus, podría estar asociado a un riesgo aumentado de enfermedad cardiovascular, pues se observó un incremento de las concentraciones plasmáticas de triglicéridos, insulina y péptido C en los pacientes obesos con respecto a los normopeso, lo cual sugiere la existencia de un estado de inflamación sistémica y resistencia a la insulina en la obesidad (Ridker y col., 1998; Chiu y col., 2012; Klisic y col., 2014).

Como se ha mencionado, la obesidad es considerada un factor de riesgo para la resistencia a la insulina y la diabetes tipo 2. La acumulación de grasa abdominal puede inducir inflamación por varios mecanismos, el exceso de ingesta calórica conlleva la expansión del tejido adiposo con hipertrofia de los adipocitos lo que genera a su vez señales que inducen el reclutamiento de macrófagos (Surmi y Hasty, 2008; Tourniaire y col., 2013).

La infiltración del tejido adiposo por los macrófagos está siendo investigada ampliamente, y diversos autores han reportado el papel de las quimiocinas CCL2/MCP-1, RANTES/CCL5 y CXCL14 en la infiltración del tejido adiposo por macrófagos y en la patogénesis de la resistencia a la insulina; demostrándose que varias de estas quimiocinas están incrementadas en el tejido adiposo del obeso, confirmándose la presencia de un estado inflamatorio (Nara y col., 2007; Keophiphath y col., 2009; Chavey y col., 2009). Contrario a lo reportado en la literatura acerca de la incrementada concentración y expresión del RANTES/CCL5 tanto circulante como en el tejido adiposo en el obeso (Wu y col., 2007; Baturcam y col., 2014), nuestros resultados indican que en la muestra seleccionada de la población evaluada, existe una disminución significativa de la quimiocina RANTES/CCL5 circulante en los pacientes obesos con respecto a los normopeso. Estos hallazgos son coincidentes con los de Škopková y col. (2007), quienes reportan mediante la técnica de matriz de proteínas (*protein array*) una disminución de la quimiocina RANTES en

el tejido adiposo subcutáneo del obeso. La diversidad de infiltración de los macrófagos según la distribución del tejido adiposo pudiera explicar estas discrepancias.

Recientemente se ha sugerido a la grasa visceral como un tejido metabólicamente activo; presenta asimismo, una estrecha relación con una mayor producción de mediadores inflamatorios tales como PCRus, TNF- α , IL-6, y el Inhibidor-1 del activador del plasminógeno (*plasminogen activator inhibitor-1* (PAI-1) por sus siglas en inglés), relacionados con síndromes tales como el síndrome metabólico, resistencia a insulina y enfermedades cardiovasculares (Dandona y col., 2004).

Al igual que lo reportado por Škopková y col. (2007), nuestro estudio no mostró diferencias significativas entre los grupos estudiados, en los niveles de TNF- α e IL-6, dos de las principales citocinas mediadoras de la respuesta inflamatoria e inmune. Estos mediadores de la inflamación se encuentran generalmente elevados en la obesidad, habiéndose demostrado una asociación positiva entre ellos y el IMC. Sin embargo, dentro de un rango estrecho de IMC, los individuos pueden variar de modo significativo en cuanto a la resistencia a la insulina, y estas diferencias inter individuales han sido atribuidas a diferencias en la distribución de la grasa corporal, siendo más relevante la grasa central o abdominal (van Greevenbroek y col., 2013).

Más aún, el organismo activa mecanismos implicados en la atenuación de los efectos deletéreos del TNF- α . Uno de esos mecanismos puede involucrar a la IL-15, la cual ha mostrado efectos sobre el metabolismo intermediario, regulando los niveles de glucosa y lípidos y disminuyendo la proteólisis en el músculo estriado. Esto sugiere que la inducción de la producción de la IL-15 endógena es un mecanismo compensatorio, e incluso inhibitorio sobre los efectos negativos en pacientes con obesidad o diabetes tipo II, en los cuales está presente esta condición de baja inflamación (Sánchez-Jiménez y Alvarado-Vásquez, 2013).

En el presente trabajo, encontramos una correlación débil entre el IMC con la resistina, PAI-1 y leptina, y negativa con la grelina. La leptina es considerada como el eslabón entre la obesidad y la diabetes, ya que ha sido demostrado que controla la glicemia vía el control del apetito y almacenamiento de grasa (Bastard y col., 2006). Estudios recientes muestran que los niveles de leptina están incrementados en sujetos obesos en comparación con no obesos (Suzuki y col., 2003; Conroy y col., 2011). Nuestros resultados apoyan esos resultados y los obtenidos por Petrášová y col. (2014). Aunque la leptina actúa prin-

cipalmente a nivel del Sistema Nervioso Central, existe una relación entre los niveles de leptina y la inflamación de bajo grado asociada a la obesidad, sugiriendo que la leptina podría ejercer acciones periféricas en virtud de su estructura como citocina (Ahima y Flier, 2000). La leptina es conocida como un inductor del TNF- α , lo que sugiere un papel en la inflamación y resistencia a la insulina (Uysal y col., 1997).

Asimismo, diversos estudios epidemiológicos han vinculado niveles elevados de resistina con un riesgo incrementado de diabetes tipo 2, infarto de miocardio y aterosclerosis (Burnett y col., 2006; Chen y col., 2009). Esos resultados y los presentados en nuestro estudio, apoyan la idea de que los niveles de resistina podrían servir como un marcador de enfermedad metabólica en el humano.

El PAI-1 es una serpina que actúa como el principal inhibidor del activador tisular del plasminógeno y por lo tanto, de la fibrinólisis. Se ha descrito que el PAI-1 se encuentra elevado en varias enfermedades y su síntesis está aumentada en proporción directa a la cantidad de tejido adiposo e insulinemia; esto genera un estado de hipofibrinólisis e hipercoagulabilidad, y contribuye al mayor riesgo de enfermedad cardiovascular que caracteriza al paciente obeso. Nuestros resultados demostraron una asociación débil positiva entre el IMC con el PAI-1 en los pacientes sujetos a estudio; lo cual está en concordancia con los resultados de Pérez y col., (2014) quienes reportan en una población de Puerto Rico, que pacientes con resistencia a la insulina y diabetes mellitus, presentaron un perfil de riesgo cardiovascular mayor que pacientes normoglicémicos, caracterizados por una mayor prevalencia de obesidad, bajo HDLc, hipertensión, aumento de triglicéridos y PAI-1. Por lo tanto, se sugiere que el PAI-1 podría constituir un marcador de riesgo metabólico en nuestra población de estudio.

En resumen, nuestros resultados sugieren que la obesidad y el sobrepeso observada en una muestra seleccionada de la población venezolana puede afectar la presión arterial, el metabolismo lipídico, marcadores de inflamación y diabetes con riesgo a desarrollo a enfermedades cardiovasculares y diabetes.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Sr. Banni Caraballo por su asistencia técnica. Este estudio fue subvencionado por el Ministerio del Poder Popular de Ciencia Tecnología e Industrias, Proyecto Misión Ciencia, Sub-proyecto 7, ECCV No. 2007001585 y PEI-2012000993 y 20122000760. CDCH: PG-06-8353-2011-1 PG-8345-2011-1.

Referencias bibliográficas

- Ahima RS, Flier JS. 2000. Leptin. *Annu Rev Physiol* 62: 413-37.
- Bastard JP, Maachi M, Lagathu C, Kim MJ, Caron M, Vidal H. 2006. Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. *Eur Cytokine Netw* 17(1):4-12.
- Baturcam E, Abubaker J, Tiss A, Abu-Farha M, Khadir A, Al-Ghimlas F, Al-Khairi I, Cherian P, Elkum N, Hammad M, John J, Kavalakatt S, Lehe C, Warsame S, Behbehani K, Dermime S, Dehbi M. 2014. Physical exercise reduces the expression of RANTES and its CCR5 receptor in the adipose tissue of obese humans. *Mediators Inflamm* 2014:627150.
- Birgel M, Gottschling-Zeller H, Rohrig K, Hauner H. 2000. Role of cytokines in the regulation of plasminogen activator inhibitor-1 expression and secretion in newly differentiated subcutaneous human adipocytes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20:1682-1687.
- Burnett MS, Devaney JM, Adenika RJ, Lindsay R, Howard BV. 2006. Cross-sectional associations of resistin, coronary heart disease, and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 91:64-68.
- Chavey C, Lazennec G, Lagarrigue S, Clape C, Iankova I, Teyssier J, Annicotte JS, Schmidt J, Matakis C, Yamamoto H, Sanches R, Guma A, Stich V, Vitkova M, Jardin-Watelet B, Renard E, Strieter R, Tuthill A, Hotamisligil GS, Vidal-Puig A, Zorzano A, Langin D, Fajas L. 2009. CXC ligand 5 is an adipose-tissue derived factor that links obesity to insulin resistance. *Cell Metab* 9: 339-349.
- Chen BH, Song Y, Ding EL, Roberts CK, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Gaziano JM, Liu S. 2009. Circulating levels of resistin and risk of type 2 diabetes in men and women: results from two prospective cohorts. *Diabetes Care* 32:329-334.
- Chiu FH, Chuang CH, Li WC, Weng YM, Fann WC, Lo HY, Sun Ch, Wang SH. 2012. The association of leptin and C-reactive protein with the cardiovascular risk factors and metabolic syndrome score in Taiwanese adults. *Cardiovasc Diabetol* 25:11-40.
- Conroy SM, Chai W, Lim U, Franke AA, Cooney RV, Maskarinec G. 2011. Leptin, adiponectin, and obesity among Caucasian and Asian women. *Mediators Inflamm* 2011: 253580.
- Dandona P, Aljada A, Bandyopadhyay A. 2004. Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Trends Immunol* 25:4-7.
- Eckel RH. 2005. Obesity. *Circulation* 111(15):e257-e259.
- Faloia E, Michetti G, de Robertis M, Luconi MP, Furlani G, Boscaro M. 2012. Inflammation as a link between obesity and metabolic syndrome. *J Nutrition Metab* 2012: 476380.
- Finkelstein EA, Trogdon JG, Cohen JW, Dietz W. 2009. Annual medical spending attributable to obesity: payer- and service-specific estimates. *Health Aff (Millwood)*, 28(5):w822-w831.
- Finucane MM, Stevens GA, Cowan MJ, Danaei G, Lin JK, Paciorek CJ, Singh GM, Gutiérrez HR, Lu Y, Bahalim AN, Farzadfar F, Riley LM, Ezzati M; Global Burden of Metabolic Risk Factors of Chronic Diseases Collaborating Group (Body Mass Index). 2011. National, regional, and global trends in body-mass index since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960 country-years and 9.1 million participants. *Lancet* 377: 557-567.
- Flegal KM, Kit BK, Orpana H, Graubard BI. 2013. Association of all-cause mortality with overweight and obesity using standard body mass index categories: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 309(1):71-82.
- Global Health Observatory (GHO). 2013. Obesity 2008. World Health Organization. http://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/obesity_text/en/index.html.
- Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, Ellis R, White MF, Spiegelman BM. 1996. IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF- α - and obesity-induced insulin resistance. *Science* 271(5249): 665-668.
- Hotamisligil GS. 2006. Inflammation and metabolic disorders. *Nature* 444(7121):860-867.
- Keophiphath M, Rouault C, Divoux A, Clement K, Lacasa D. 2009. CCL5 promotes macrophage recruitment and survival in human adipose tissue. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 30: 39-45.
- Kliscic AN, Vasiljevic ND, Simic TP, MD, Djukic TI, Milos Z, Maksimovic MZ, Marija G, Matic MG. 2014. Association between C-Reactive Protein, anthropometric and lipid parameters among healthy normal weight and overweight postmenopausal women in Montenegro. *Lab Medicine* 45(1): 12-16.
- Mojiminiyi O, Al Mulla F, Abdella NA. 2009. Which obesity index best explains the link between adipokines, coronary heart disease risk and metabolic abnormalities in type 2 diabetes mellitus? *Med Princ Pract* 8:23-29.
- Nara N, Nakayama Y, Okamoto S, Tamura H, Kiyono M, Muraoka M, Tanaka K, Taya C, Shitara H, Ishii R, Yonekawa H, Minokoshi Y, Hara T. 2007. Disruption of CXC motif chemokine ligand-14 in mice ameliorates obesity induced insulin resistance. *J Biol Chem* 282: 30794-30803.
- Ogden CL, Carroll MD, Kit BK, Flegal KM. 2012. Prevalence of obesity in the United States, 2009-2010. *NCHS data brief* 2012, 82:1-8.
- Orpana HM, Berthelot JM, Kaplan MS, Feeny DH, McFarland B, Ross NA. 2009. BMI and mortality: results from a national longitudinal study of Canadian adults. *Obesity* 18(1):214-218.
- Pérez CM, Soto-Salgado M, Suárez E, Guzmán M, Ortiz AP. 2014. High prevalence of diabetes and prediabetes and their coexistence with cardiovascular risk factors in a Hispanic community. *J Immigr Minor Health* (epub).
- Petrášová D, Bertková I, Petrášová M, Hájová E, Mareková M, Babinská I, Jarčuška P, Pella D, Madarasová A, Gecková, HepaMeta Team. 2014. Biomarkers associated with obesity and overweight in the Roma population residing in eastern Slovakia. *Cent Eur J Public Health, Supplement* 22:S18-S21.
- Pi-Sunyer FX. 2004. The epidemiology of central fat distribution in relation to disease. *Nutr Rev* 62:S120-126.
- Ridker PD, Buring JE, Shih J, Matias M, Hennekens CH. 1998. Prospective study of C-reactive protein and the risk of future cardiovascular events among apparently healthy women. *Circulation* 98(8):731-733.

- Rodríguez-Hernández H, Simental-Mendía LE, Rodríguez-Ramírez G, Reyes-Romero MA. 2013. Obesity and inflammation: epidemiology, risk factors, and markers of inflammation. *Internat J Endocrinol* 2013:67859.
- Sánchez-Jiménez R, Alvarado-Vásquez N. 2013. IL-15 is a regulator of TNF- α in patients with diabetes mellitus type 2. *Med Hypotheses* 80(6):776-777.
- Škopková M, Penesová A, Sell H, Rádiková Z, Vlček M, Imrich R, Koška J, Ukropec J, Eckel J, Klimeš I, Gašperíková D. 2007. Protein array reveals differentially expressed proteins in subcutaneous adipose tissue in obesity. *Obesity* 15: 2396–2406.
- Solomon CG, Manson JE. 1997. Obesity and mortality: a review of the epidemiologic data. *Am J Clin Nutr* 66 (4 Suppl):1044S–1050S.
- Surmi BK, Hasty AH. 2008. Macrophage infiltration into adipose tissue: initiation, propagation and remodeling. *Future Lipidol* 3: 545-556.
- Suzuki K, Ito Y, Ochiai J, Kusuhara Y, Hashimoto S, Tokudome S, Kojima M, Wakai K, Toyoshima H, Tamakoshi K, Watanabe Y, Hayakawa N, Maruta M, Watanabe M, Kato K, Ohta Y, Tamakoshi A: JACC Study Group. 2003. Relationship between obesity and serum markers of oxidative stress and inflammation in Japanese. *Asian Pac J Cancer Prev* 4(3):259-266.
- Tourniaire F, Romier-Crouzet B, Lee JH, Marcotorchino J, Gouranton E, Salles J, Malezet Ch, Astier J, Darmon P, Blouin E, Walrand S, Ye J, Landrier JF. 2013. Chemokine expression in inflamed adipose tissue is mainly mediated by NF- κ B. *PLoS ONE* 8(6): e66515.
- Trinder P. 1969. Determination of blood glucose using an oxidase/peroxidase system with a non-carcinogenic chromogen. *J Clin Path* 22 (2): 158–161.
- Uysal KT, Wiesbrock SM, Marino MW, Hotamisligil GS. 1997. Protection from obesity induced insulin resistance in mice lacking TNF- α function. *Nature* 389: 610–614.
- van Greevenbroek MM, Schalkwijk CG, Stehouwer CD. 2013. Obesity-associated low-grade inflammation in type 2 diabetes mellitus: causes and consequences. *Neth J Med* 71(4):174-187.
- Visser M, Bouter LM, McQuillan GM, Wener MH, Harris TB. 1999. Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. *JAMA* 282:2131-2135.
- World Health Statistics. 2012. World Health Organization. WHO Press, Switzerland.
- Wu H, Ghosh S, Perrard XD, Feng L, García GE, Perrard JL, Sweeney JF, Peterson LE, Chan L, Smith CW, Ballantyne CM. 2007. T-cell accumulation and regulated on activation, normal T cell expressed and secreted upregulation in adipose tissue in obesity. *Circulation* 115(8): 1029–1038.
- Zeyda M, Stulnig TM. 2009. Obesity, inflammation, and insulin resistance: a mini-review. *Gerontology* 55(4): 379-386.