



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Maestría en Ciencias (Neurobiología)
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

“Evaluación de los niveles de prolactina en suero, y su asociación con parámetros del síndrome metabólico en humanos”

TESIS

Que para optar por el grado de:

Maestro en ciencias (Neurobiología)

PRESENTA:

Nutr. Antonio de Jesús Ponce López

DIRECTOR DE TESIS

Dra. Yazmín Macotela Guzmán
Maestría en Ciencias (Neurobiología)

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR

Dra. Brenda Anguiano Serrano
Dr. Francisco Vázquez Cuevas
Maestría en Ciencias (Neurobiología)

Campus Juriquilla, Querétaro, Mayo 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Agradecimientos

Se debe agradecer a esas noches de pláticas pacientes y días con pensamientos elocuentes de todas esas personas que aún están, seguirán estando y para términos de este escrito estuvieron presentes en este camino de mi trabajo de maestría.

Gracias a esas lagrimas tibias y dolidas que **mi madre y mi padre** dejaron salir al saber de mi partida, gracias por la compostura fingida con ese tono de fortaleza mal actuada cuando por fin me despedí; gracias a todos los sabores, almizcles, alegrías, sensaciones y ahogos que deje atrás y nadie conoce, dejándolos todos al exiliarme en el agónico perfume de seguir los sueños.

Agradezco la mirada que entibia y da confianza, la palabra que alienta justo cuando sientes que respirar es un lujo transitorio, gracias **Yazmín Macotella** por la tutela, la guía, la sonrisa humana, por apostar el doble o nada a favor de mi cascaron de nuez, gracias por creer en las ideas, por comprender, por la paciencia, por enseñar un mundo de ciencia, gracias.

Gracias **Brenda Anguiano y gracias Francisco Vásquez** por saludar al andar pero en realidad ayudaban a caminar pues andaba cojo, quisiera aquí agradecer los consejos, la tertulia de cada “tortural” que reforzaba mi camino, gracias por contarme los secretos de esta ronda, gracias por la guía, por ser amigos más que tutores, por ser un puerto seguro disfrazado de tormenta.

Gracias **Carmen Clap** y gracias **Gonzalo Martínez** por la visión, por la palabra pronta, por la comprensión paternal, la mirada con experiencia, por compartir las vacunas para evitar agobios en futuros cercanos, por el lugar, por la oportunidad, gracias.

Gracias **Xaru Ruiz** por la primera enseñanza sin aula, la primera maestra sin pedirlo, por ese primer chute de ilusión con resaca de realidad, gracias por enseñarme que vale más lo que uno piensa, que lo piensan otros, gracias por ser maestra.

Gracias **Juan Pablo** que sin saber recogiste del tendido un barco fracturado casi a punto de naufragar, gracias, porque me enseñaste no solo a usar correctamente el material de laboratorio y las técnicas, también me mostraste que no todo estaba mal.

A los que están de vuelta pero nunca han ido, a los **compañeros de maestría y del instituto**, a los **jaladores** por sus noches “tranquis” y los amigos cómplices de necesidades.

A los **compañeros del laboratorio A14 y A15** que porque muchos somos, existió mucho lados a donde pedir apoyo y que sin duda todos lo brindaron.

Gracias **Leonor Casanova, Guadalupe Amador** por situar las figuras en el empedrado y explicarlas, gracias por hacer fácil los pasajes de los laberintos casi cotidianos de los asuntos académicos, gracias porque su trabajo es sacar la parte humana que vive en la rutina.

Gracias **Jovita** por la sabiduría y las risas que le sobran a tu mirada, gracias por ser doctora corazón, cirujana de melancolías, gracias por naufragar conmigo en islas de sangre fría y no saber cuándo pasara nuestro autobús en la parada, gracias por ser amiga aunque me diera la espalda la almohada, gracias, porque te disgusta tanto que te lo diga, gracias.

Gracias **Belén** por escuchar mis pláticas tan llenas de mí (quiero decir con nada), y rellenarlas para hacerlas tan llenas de ti (quiero decir sin todo), gracias por el arte, las canciones, las risas blanqueando las neuronas, por el boleto de ida a ningún lugar, por el disco de boleros y jugar a ser valientes con un ramito de violetas exhumando las memorias de nuestros traumas en el olvido, gracias amiga por ser mi amiga.

Gracias **María Eugenia** por ser mi lección de español y la mesa donde hablar, por poder hacer las mejores promesas a corazón abierto y boca cerrada por qué sabes a donde quiero llegar, gracias por ser mi familia sin ser de sangre, por dilucidar los espejismos y contármelo, como se lo platicarían dos sordomudos, gracias por cambiarme dos versos por dos risas, gracias por escuchar las canciones y bailar esta pieza, gracias.

Gracias a **Gabriela Pérez** por la compañía en horas que ni tu sabes describir, gracias porque evocaste mis lágrimas de piedras azules con sabor a despedida, gracias por el recuerdo, por ser la Julieta que se desenamora, por ser el perfume con el agravio de recuerdo, por ser amiga tan buena amiga, ahora gracias.

Gracias **Carolina Villada** por tener esos ojos llenando el vacío, gracias por las noches que no entiendes, gracias por seguir aquí a mi lado, gracias por regalarnos una nueva etapa en la vida, por regalarnos una “trucha”, una flor, una princesa, un capullo de amo, una gota de agua que desdoblara nuestras mañanas, un ser humano llamado Yaretzi Sicarú, gracias por el cariño, gracias.

Gracias Dios tu sabes las arenas movedizas, gracias por la cicatrices, gracias por que hoy me he sorprendido sin el permiso de mis manos.

INDICE

1.- RESUMEN	6
2.- INTRODUCCIÓN	7
2.1 Obesidad.....	8
2.2 Tejido adiposo.....	9
2.3 Tejido adiposo blanco (TAB).....	10
2.4 Disfunción del tejido adiposo.....	11
2.5 Resistencia a la insulina.....	12
3.- ANTECEDENTES INMEDIATOS.....	13
4.- HIPOTESIS.....	15
5.- OBJETIVO GENERAL	15
6.- METODOLOGIA	16
6.1 Reclutamiento de pacientes y mediciones antropométricas	16
6.2 Criterios de inclusión.....	16
6.3 Obtención del tejido adiposo.....	16
6.4 Obtención de sueros.....	17
6.5 Histología	17
6.6 Índices y número de signos del síndrome metabólico.....	17
6.7 Estadística	19
7.- RESULTADOS	20
7.1 Índice de masa corporal.....	20
7.2 Resistencia a la insulina.....	20
7.3 Prolactina	24
7.4 Prolactina y signos del síndrome metabólico	24
7.5 Tamaño de los adipocitos	27
7.6 Modelos predictivos HOMA-IR y tamaño de los adipocitos viscerales.....	30
7.7 Resistencia a la insulina entre hombres y mujeres	33
7.8 Niveles de prolactina entre hombres y mujeres	33
8.- DISCUSIÓN	36
9.- CONCLUSIÓN	40
10.- BIBLIOGRAFÍA	42

1.- RESUMEN

El síndrome metabólico (SM) es un conjunto de hallazgos clínicos que incluyen obesidad abdominal, niveles elevados de triglicéridos, hiperglucemia, niveles disminuidos de colesterol HDL, e hipertensión arterial. El diagnóstico de SM se da cuando están presentes tres o más de estos parámetros, y su presencia representa un riesgo en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares. La obesidad o acumulación excesiva de grasa corporal puede resultar en alteraciones en la función del tejido adiposo (inflamación, lipotoxicidad), y esto conlleva a la resistencia a la insulina del organismo, condición que deriva en enfermedades como la diabetes mellitus 2, enfermedades cardiovasculares y a la instalación de los factores de riesgo que describen el síndrome metabólico. Uno de los factores que podría contrarrestar las alteraciones funcionales en el tejido adiposo y la resistencia a la insulina derivadas de la obesidad es la hormona prolactina (PRL), ya que en roedores obesos el tratamiento con PRL revierte la resistencia a la insulina y disminuye la hipertrofia adiposa al tiempo que favorece la expansión saludable del tejido adiposo (hiperplasia). Además, en humanos bajos niveles de PRL en suero correlacionan con mayor prevalencia de obesidad, diabetes tipo 2, hígado graso y resistencia a la insulina. Dado que la disfunción del tejido adiposo conlleva a la resistencia a la insulina y la PRL favorece la funcionalidad del tejido adiposo y la sensibilidad a la insulina, en el presente trabajo analizamos si los niveles de PRL circulante se asocian inversamente con los parámetros del síndrome metabólico, y con el tamaño de los adipocitos en humanos adultos. Encontramos que independientemente del peso corporal, los sujetos con resistencia a la insulina presentan niveles más bajos de PRL ($\leq 12\mu\text{g/l}$) que sujetos sensibles a la insulina, mientras que no existe asociación entre los niveles de PRL y los parámetros del síndrome metabólico. Además, los sujetos con niveles más bajos de PRL presentan mayor acumulación de grasa abdominal y mayor tamaño de los adipocitos viscerales en comparación con sujetos con niveles más altos de PRL circulante ($\geq 12\mu\text{g/l}$). Asimismo, existe un dimorfismo

sexual en las asociaciones entre PRL y parámetros metabólicos, donde los hombres con niveles más bajos de PRL circulante son resistentes a la insulina, tienen mayor grasa abdominal y mayor tamaño de adipocitos viscerales que los hombres con niveles más altos de PRL, pero estas asociaciones no se presentan en las mujeres. Además, se observó que los niveles de PRL circulante son buenos predictores de la resistencia a la insulina estimada por HOMA-IR, y del tamaño de los adipocitos viscerales. En conclusión, bajos niveles de PRL son un marcador de la resistencia a la insulina y de disfunción del tejido adiposo visceral (hipertrofia adiposa), sin embargo no se asocian con los signos clínicos del síndrome metabólico.

2.- INTRODUCCIÓN

El síndrome metabólico es un término que tiene sus orígenes en 1923 cuando se observó por primera vez que patologías como hipertensión arterial, hiperglucemia y gota se presentaban de manera concomitante, por lo que se planteó que se trataba de un síndrome (1,2). Años más tarde, en 1988, se propuso el concepto de “Síndrome X” definido como la asociación entre hipertensión arterial, intolerancia a la glucosa, aumento en los niveles circulantes de triglicéridos y disminución de las lipoproteínas de alta densidad o HDL (High Density Lipoprotein) por sus siglas en inglés. Más adelante se identificó la asociación con otras alteraciones metabólicas como obesidad, microalbuminuria, y anormalidades en la fibrinólisis y en la coagulación (3). Los componentes en común que se han utilizado para describir este síndrome han sido la obesidad central y/o global, la hiperglucemia en ayuno, dislipidemias (triglicéridos elevados y HDL baja) e hipertensión arterial (4). Así el término Síndrome Metabólico (SM) utilizado actualmente, fue formalizado por primera vez por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1998 (5), y aunque los criterios varían según las instituciones que lo formulen, en 2009 la International Diabetes Federation, la American Heart Association, el National Heart, Lung and Blood Institute NHLBI, la World Heart Federation, la International Atherosclerosis Society, y la International Association for the Study of Obesity,

emitieron un comunicado conjunto en relación con la armonización de criterios que incluían los siguientes puntos de corte (6):

-Obesidad abdominal: circunferencia de cintura ≥ 88 cm en mujeres, o ≥ 102 cm en hombres.

-Hipertensión: ≥ 130 mmHg sistólica; ≥ 85 mmHg diastólica.

-Dislipidemia: colesterol HDL ≤ 40 mg en hombres, y ≤ 50 mg en mujeres, y triglicéridos ≥ 150 mg/dl

-Hiperglucemia: glucosa en ayunas ≥ 110 mg/dl (5.5 mmol/L)

En consecuencia, el síndrome metabólico se puede definir como un conjunto de hallazgos clínicos que incluyen: exceso de grasa abdominal, altos niveles de triglicéridos, bajo nivel de colesterol HDL, hiperglicemia e hipertensión arterial. El diagnóstico de síndrome metabólico se da cuando se presentan al menos tres de estas cinco alteraciones (6). El síndrome metabólico aumenta dos veces el riesgo de padecer una enfermedad cardiovascular y al menos cinco veces el riesgo de desarrollar diabetes tipo 2 (7, 8, 9) y también se asocia con una mayor prevalencia de cáncer (10) e hígado graso (11).

2.1 Obesidad

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, la obesidad es la acumulación excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud (12). La prevalencia de obesidad ha aumentado a nivel mundial en los últimos 30 años (24), y en particular en la población Mexicana 7 de cada 10 adultos presentan sobrepeso u obesidad (13), por lo que una elevada proporción de nuestra población está en riesgo de presentar padecimientos relacionados como enfermedades cardiovasculares y diabetes Tipo 2, siendo éstas las principales causas de muerte en México (14).

Estudios previos han mostrado una relación lineal entre el índice de masa corporal y la mortalidad por enfermedades cardiovasculares, diabetes tipo 2 (15,16) y

cáncer (25), además, la asociación entre obesidad y factores de riesgo cardiovascular, incluyendo hipertensión, hipercolesterolemia y diabetes mellitus está bien establecida (21, 22,23); así, la obesidad se considera como el factor de riesgo predominante para el desarrollo de síndrome metabólico (17, 18, 19, 20).

2.2 Tejido adiposo

El sitio principal de almacén de grasa corporal es el tejido adiposo (TA), cuya función primordial es la acumulación de reservas energéticas en forma de triglicéridos y su liberación en forma de ácidos grasos libres en condiciones de ayuno. Además, el tejido adiposo es un órgano endocrino que secreta hormonas y citocinas (denominadas adiposinas) que participan en la regulación de diversos procesos tales como la reproducción, la ingesta de alimento, y la inmunidad.

Aunque la mayor proporción de células que forman el tejido adiposo son los adipocitos maduros, también existe una variedad de tipos celulares en la fracción estroma vascular conformada por: células unipotenciales comprometidas al linaje de adipocito, conocidas como pre-adipocitos (26), células del sistema inmunológico (macrófagos, neutrófilos, linfocitos, etc), fibroblastos, células endoteliales, y células pluripotenciales mesenquimales que pueden dar origen a diferentes tipos celulares incluyendo a los propios adipocitos maduros (27).

Existen dos tipos de tejido adiposo, el Tejido Adiposo Café (TAC) y el Tejido Adiposo Blanco (TAB). El TAC metaboliza los ácidos grasos y libera energía en forma de calor (28), los adipocitos maduros del TAC presentan un alto contenido mitocondrial, son multiloculares con bajo almacenamiento de lípidos y expresan la proteína desacoplante-1 (UCP-1), cuya actividad se incrementa en respuesta a ciertos estímulos, como la exposición al frío (29,30). El TAB, por otro lado, tiene la capacidad de captar glucosa, almacenar triglicéridos, así como de movilizar los depósitos de lípidos liberando ácidos grasos y glicerol que serán transportados a los tejidos, donde serán oxidados para obtener energía (31,32). Además, el TAC principalmente secreta moléculas que afectan al balance energético, la sensibilidad a la insulina y el metabolismo de lípidos y glucosa.

2.3 Tejido adiposo blanco (TAB).

El TAB se clasifica dependiendo de su localización en tejido adiposo visceral y tejido adiposo subcutáneo. El tejido adiposo subcutáneo representa el 80% de toda la grasa corporal y se encuentra por debajo de la piel y por encima del músculo principalmente en regiones femoroglúteas, mientras que el tejido adiposo visceral se localiza en la parte interna de la pared abdominal, esta última constituye del 10 al 20 % en hombres y entre el 5% al 8% en mujeres aunque aumenta con la edad en ambos sexos (33). El tejido adiposo blanco constituye del 12 al 20% del peso corporal total en hombres y del 20 al 30% en mujeres (35).

Entre el tejido adiposo visceral y el tejido adiposo subcutáneo existen diferencias en su función, morfología, expresión de genes y riesgo metabólico (34). El incremento en la masa del tejido adiposo visceral incrementa el riesgo de desarrollar enfermedades metabólicas, mientras que el incremento de tejido adiposo subcutáneo no presenta este riesgo (37); además, el tejido adiposo visceral tiene un mayor grado de infiltración con células inflamatorias y por lo tanto es capaz de generar más factores pro-inflamatorios que el tejido adiposo subcutáneo (38,39,40), y los adipocitos viscerales tienen mayor actividad lipolítica que los adipocitos del tejido adiposo subcutáneo (35, 36).

La expansión del tejido adiposo ocurre mediante dos mecanismos: la hipertrofia, que implica un aumento en el tamaño de las células, y la hiperplasia o aumento del número de células (41). La hiperplasia involucra a su vez la proliferación de los precursores de adipocitos o preadipocitos y su diferenciación hacia adipocitos maduros, proceso denominado como adipogénesis (42). La adipogénesis está mediada principalmente por los factores transcripcionales PPAR γ (receptor gamma activado por el proliferador de peroxisomas) y el CEBP α (proteína alfa de unión al potenciador CCAAT) (43). La hiperplasia de los adipocitos se considera un mecanismo de expansión metabólicamente saludable (45), mientras que la hipertrofia excesiva se asocia con el desarrollo de diversas alteraciones metabólicas.

El número total de adipocitos se determina en la infancia y la adolescencia independientemente del peso corporal, además en un humano adulto un adipocito tiene una vida media de 10 años y el 10% de ellos se renueva cada año, lo que sugiere que la hipertrofia de los adipocitos representa el mecanismo más importante para la expansión del tejido adiposo tras el aumento de peso (46).

La hipertrofia de los adipocitos principalmente del tejido adiposo visceral se caracteriza por adipocitos predominantemente grandes cargados de lípidos, se correlaciona con una sensibilidad a la insulina deteriorada, así como un metabolismo deficiente de la glucosa y de los lípidos (47 48 49).

2.4 Disfunción del tejido adiposo

La obesidad puede derivar en una secuencia de eventos que conducen a la disfunción de tejido adiposo, tales como inflamación, descarga excesiva de ácidos grasos hacia la circulación (lipotoxicidad), una alteración en la secreción de adipocinas, así como una capacidad adipogénica disminuida, disparando de esta forma la cascada de eventos determinante de diversas alteraciones metabólicas, entre las que destaca la resistencia a la insulina, que es una disminución en la magnitud de los efectos de la hormona en sus células blanco (50).

En el tejido adiposo hipertrófico se infiltra un mayor número de macrófagos, monocitos y se incrementa la liberación de factores pro-inflamatorios, que incluyen IL-1, IL-6, IL-8, a la vez disminuyen los niveles de adipocinas relacionadas con la sensibilidad a la insulina, como adiponectina e IL-10 (50,51,54-60), favoreciendo así una pérdida de sensibilidad a la acción de la insulina (50,-53).

La fisiopatología del SM es un conjunto de eventos que tiene su origen en el almacenamiento excesivo de grasa en el tejido adiposo (61), que, como ya se mencionó promueve la aparición de alteraciones en el metabolismo de los ácidos grasos libres así como alteraciones en la expresión de adipocinas, como la adiponectina, y el aumento en la secreción de citocinas pro-inflamatorias (62).

2.5 Resistencia a la insulina

La resistencia a la insulina entendida como la disminución de la capacidad de la insulina para ejercer sus acciones biológicas en tejidos diana típicos, como el músculo esquelético, el hígado o el tejido adiposo, se asocia con el síndrome metabólico (92,93).

La insulina es una hormona de 51 aminoácidos sintetizada en las células beta de los islotes pancreáticos y secretada a la circulación para posteriormente unirse al receptor de la insulina presente en los tejidos diana. Entre sus funciones está el facilitar el almacenamiento de glucosa en el hígado y músculo esquelético en forma de glucógeno y el almacenaje de ácidos grasos en forma de triglicéridos en el tejido adiposo (94).

El receptor de la insulina pertenece al grupo de receptores de membrana con actividad de tirosina cinasa intrínseca, está compuesto por dos subunidades alfa idénticas extracelulares y dos subunidades beta transmembrana también idénticas entre sí. El mecanismo de acción de la insulina consiste en ser reconocida por las subunidades alfa de su receptor, lo que provoca un cambio conformacional de las subunidades beta, lo que induce su autofosforilación, una vez fosforilada la unidad beta seguirá la fosforilación de residuos de tirosina de los sustratos del receptor de la insulina (IRS) y la posterior activación de la fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K) / AKT (95, 96). Esta vía modula los efectos metabólicos de la insulina, como es el transporte y metabolismo de la glucosa y la síntesis de lípidos (95). La insulina, además de estimular la síntesis de glucógeno en el hígado y el músculo esquelético, estimula la lipogénesis en el hígado y en el tejido adiposo, además inhibe la producción de glucosa hepática y la lipólisis en los adipocitos (97). Asimismo, la insulina se conoce en líneas celulares (3T3-L1 y COC) es un factor de crecimiento importante que promueve la proliferación celular y la inhibición de la apoptosis mediada por la vía de señalización MAPK (por sus siglas en inglés Mitogen-Activated Protein Kinases) (98, 99).

La acción de la insulina puede regularse negativamente a partir de los pasos posteriores a la autofosforilación de la subunidad beta del receptor de insulina, ya que los sustratos del receptor de insulina (IRS1, IRS-2) y otras proteínas de la cascada, pueden experimentar fosforilaciones en residuos de serina bloqueando así la vía (PI3K)/AKT, una de las formas en que ocurre esto, es mediante la acción de citocinas pro-inflamatorias como: TNF-alfa, IL-6 e IL-1beta; que favorecen la activación de las cinasas c-Jun amino-terminal (JNK), IκB cinasa (IKK) y proteína cinasa C (PKC) y estas a su vez son capaces de interferir con la función de IRS interrumpiendo la interacción con el receptor de insulina (100,101). La liberación excesiva de ácidos grasos al torrente sanguíneo, también activa JNK, IKK y PKC, al igual que la hiperinsulinemia y el estrés oxidativo presentes en la obesidad y también puede inhibir la acción de la insulina (100,102). Es importante enfatizar que la regulación negativa de la acción de insulina descrita, es solo para la vía metabólica (PI3K/Akt) y no de la vía de crecimiento celular (MAPK), que permanece activa (103).

Por lo anterior, resulta de interés identificar factores que contrarresten la disfunción del tejido adiposo y promuevan la sensibilidad a la insulina; uno de estos factores potenciales es la hormona prolactina (PRL). En los últimos años, diversos grupos de trabajo incluido el nuestro, han reportado que los niveles bajos de PRL circulante dentro del rango fisiológico, se asocian con mayor prevalencia de diabetes tipo 2, resistencia a la insulina, intolerancia a la glucosa e hígado graso (64 – 67, 72). Esto plantea la interrogante, de si los bajos niveles de PRL circulante pudieran tener un papel causal en las alteraciones metabólicas derivadas de la obesidad.

3.- ANTECEDENTES INMEDIATOS

La PRL es una hormona secretada principalmente por la glándula pituitaria o hipófisis anterior, que ejerce una diversidad de efectos que inciden en la reproducción, la respuesta inmune, el crecimiento y el desarrollo, así como en el metabolismo. Dentro de sus efectos metabólicos, la PRL estimula la proliferación de las células beta pancreáticas y promueve la secreción de insulina, estimula la

sensibilidad a la insulina en el hígado, promueve la formación y función del tejido adiposo café, etc. En humanos los niveles bajos de PRL en un rango fisiológico ($\leq 25 \mu\text{g/l}$) correlacionan con mayor prevalencia de intolerancia a la glucosa, diabetes tipo 2, hígado graso e inflamación (69,70), mientras que niveles séricos más elevados de PRL dentro de los rangos fisiológicos correlacionan positivamente con la sensibilidad a la insulina (71).

Además, resultados de nuestro grupo de trabajo muestran que la PRL ejerce un papel benéfico en la funcionalidad del tejido adiposo y en la sensibilidad a la insulina, ya que en un modelo de obesidad inducida por una dieta alta en grasas en ratas, se observó que los niveles circulantes de PRL se encuentran disminuidos en comparación con animales en una dieta control (72), mientras que el tratamiento con PRL revierte la resistencia sistémica a la insulina, y la disfunción del tejido adiposo, a través de estimular la hiperplasia de los adipocitos, lo que se considera como un mecanismo saludable de expansión adiposa (72), además el tratamiento con PRL también revierte la hipertrofia de los adipocitos viscerales e incrementa la secreción de adiponectina (hormona metabólicamente benéfica; anti-inflamatoria, pro-adipogénica y promotora de la sensibilidad a la insulina) (72). En concordancia con estos resultados, ratones carentes del receptor de PRL (*Prlr*^{-/-}) alimentados con una dieta alta en grasas, desarrollan resistencia a la insulina exacerbada, y mayor hipertrofia adiposa en comparación con sus pares silvestres (*Prlr*^{+/+}) alimentados con la misma dieta (72).

Además, en humanos, se encontró que pacientes con resistencia a la insulina (de acuerdo a un corte de HOMA-IR de 3.0) presentan menores concentraciones de PRL sérica, en comparación con sujetos sensibles a la insulina (72). Asimismo, al dividir a los pacientes de acuerdo con sus niveles de PRL circulante: en más alto ($12-20 \mu\text{g/l}$) y más bajo ($4-11.9 \mu\text{g/l}$); se observó que los sujetos que tienen niveles de PRL más altos, presentan concentraciones mayores de adiponectina, mientras que los que tienen niveles de PRL más bajos presentan resistencia a la insulina (72).

Estos antecedentes muestran que la hormona PRL, promueve la sensibilidad a la insulina y previene algunos parámetros de disfunción del tejido adiposo, mientras que favorece su expansión saludable, y que estos efectos se hacen evidentes tanto en roedores como en humanos durante la obesidad, cuando los niveles circulantes de la hormona disminuyen.

Dado que la disfunción del tejido adiposo subyace a una constelación de alteraciones metabólicas, y que la PRL promueve la funcionalidad de este tejido, es posible proponer que los niveles de PRL en el suero se asocien no solo con la sensibilidad/resistencia a la insulina sino también con parámetros del síndrome metabólico y la hipertrofia adiposa en humanos.

Por ello en el presente proyecto propusimos como hipótesis:

4.- HIPOTESIS

Los bajos niveles de PRL circulante se asocian positivamente con los signos clínicos del síndrome metabólico y con la hipertrofia adiposa.

5.- OBJETIVO GENERAL

Analizar los niveles de PRL circulante en asociación con distintos parámetros del síndrome metabólico, y con el tamaño de los adipocitos en humanos.

5.1 Objetivos particulares

- 1) Reclutar pacientes delgados, con sobrepeso, u obesidad y obtener muestras de suero y tejido adiposo visceral y subcutáneo.
- 2) Cuantificar y evaluar la posible correlación entre los niveles circulantes de prolactina con la resistencia a la insulina (HOMA-IR) y los parámetros del síndrome metabólico: exceso de grasa abdominal, altos niveles de triglicéridos, bajo nivel de colesterol HDL, hiperglicemia e hipertensión arterial.
- 3) Determinar el área de los adipocitos del tejido adiposo visceral y subcutáneo para evaluar su posible correlación con los niveles circulantes de prolactina.

6.- METODOLOGIA

6.1 Reclutamiento de pacientes y mediciones antropométricas

Los sujetos de estudio fueron pacientes del Hospital General del Estado de Querétaro, Secretaría de Salud del Estado de Querétaro (SESEQ). Fueron invitados a participar aquellos sujetos que tenían programada una cirugía con acceso a la cavidad abdominal y que cumplían los criterios de inclusión. Se les explicó la naturaleza y los alcances del estudio; de aquellos sujetos que aceptaron firmar un consentimiento informado, se capturó información y se obtuvieron las determinaciones propias del estudio. Se obtuvieron de los participantes la circunferencia de cintura, el peso, la talla, la edad y la presión arterial de los participantes horas previas a la intervención quirúrgica, así como una muestra de suero en ayuno y una muestra del tejido adiposo al momento de la intervención quirúrgica. Se reportan los datos de 39 sujetos para este estudio entre hombres (20 sujetos) y mujeres (19 sujetos).

Este estudio fue aprobado por revisores internos del Hospital general y por el comité de Bioética del Instituto de Neurobiología, UNAM (024.H); todos los procedimientos se realizaron de acuerdo con la declaración de Helsinki.

6.2 Criterios de inclusión

Hombres y mujeres de entre 25 y 65 años de edad, delgados ($18.5 < \text{IMC} < 25$), con sobrepeso u obesidad ($\text{IMC} \geq 25$), sin enfermedades hepáticas, renales, infecciosas o cáncer o tomando medicamentos o con condiciones fisiológicas o patológicas (excepto signos clínicos del síndrome metabólico) que alteren los niveles de PRL.

6.3 Obtención del tejido adiposo

Se obtuvieron muestras de 5 g de tejido adiposo visceral (omento) y subcutáneo (región abdominal) durante cirugías que involucraban el acceso a la cavidad abdominal (apendicetomía, colecistectomías, colectomías, colitis, y gastrectomías parciales). El tejido se transportó del Hospital general de Querétaro al Instituto de Neurobiología UNAM Juriquilla, Querétaro, en tubos con buffer de fosfatos salino

frio (conocido también por sus siglas en inglés como PBS, phosphate buffered saline) para su procesamiento.

6.4 Obtención de sueros

Se obtuvo una muestra de 5 ml de sangre de cada sujeto en ayunas y se midieron los niveles de glucosa, triglicéridos y HDL, el método ocupado fue fotométrico en equipo Architect c8000 en el laboratorio de análisis clínicos del Hospital General, además se determinó concentraciones de insulina y prolactina por método de quimioluminiscencia en laboratorios clínicos Goca.

6.5 Histología

Las muestras de tejido adiposo se deshidrataron de forma automatizada en un aparato deshidratador (Leica TP1020), inmediatamente después se incluyeron de forma manual en una estación de inclusión de parafina (Leica EG 1160), para posteriormente cortarlos a 7 micras en un micrótopo (Leica RM 2135), y finalmente se tiñeron por el método de hematoxilina eosina. Se capturaron imágenes a 20x con un equipo de escaneo de imágenes (ScanScope Scanner GL). El tamaño de los adipocitos se determinó calculando el diámetro de 320 adipocitos aleatorios en 8 campos por paciente usando un software de análisis de imágenes (Image-Pro Plus versión 5.1.2.59 de Media Cybernetics.Inc).

6.6 Índices y número de signos del síndrome metabólico

El modelo HOMA por sus siglas en inglés ("Homeostatic Model Assessment") se utilizó para obtener una estimación de la sensibilidad a la insulina y la función de las células β a partir de las concentraciones de insulina y glucosa en plasma en ayunas. El HOMA-IR se utilizó para evaluar la disminución de la capacidad de responder eficazmente a la insulina (en cuanto a su efecto internalizador de la glucosa a la célula); su inversa es HOMA-S siendo la medida positiva de la acción metabólica de la insulina; por otra parte el HOMA-B evalúa indirectamente la función de la célula beta del páncreas. HOMA-IR, HOMA-S y HOMA-B se calcularon (107):

a) *HOMA-IR*:

$HOMA-IR = [\text{glucosa (nmol / L)} * \text{insulina (\mu U / ml)} / 22,5], (15).$

b) *HOMA-S y HOMA B*:

Se ocupó la calculadora de la universidad de Oxford "HOMA2 Calculator" versión 2,2,3 (Liv2,2,3) © Deabetes Trial Unit University of Oxford <http://www.dtu.ox.ac.uk./homa>

c) *El Índice Aterogénico estima el riesgo de presentar aterosclerosis y se calculó:*

$\text{Índice Aterogénico} = \log (\text{TG (mmol)/L}/\text{HDL (mmol/L)}) (16).$

d) *El Índice de adiposidad visceral (IAV) evalúa el riesgo de enfermedades cardiometabólico, se calculó(108):*

- para las mujer se utilizó la siguiente fórmula:

$IAV_{\text{mujer}} = (\text{circunferencia de cintura (cm)}/36.58 + (1.89 * \text{IMC})) * (\text{triglicéridos (mmol/L)} / 0.81) * (1.52 / \text{HDL (mmol/L)})$ para mujeres

-y para los hombre se utilizó la siguiente fórmula:

$IAV_{\text{hombre}} = (\text{circunferencia de cintura (cm)}/36.68 + (1.88 * \text{IMC})) * (\text{triglicéridos (mmol/L)} / 1.03) * (1.31 / \text{HDL (mmol/L)})$

e) *El índice de conicidad se relaciona con aumento de enfermedades cardiovasculares y metabólicas (109):*

$\text{Índice conicidad} = \text{circunferencia de cintura (m)} / [0.109 * [\text{peso (Kg)}/\text{talla (m)}]^{1/2}]$

f) El número de signos del síndrome metabólico se calculó contando el número de signos fisiopatológicos para el diagnóstico del síndrome metabólico de cada paciente, conforme a la armonización de criterios del 2009 de la International Diabetes Federation, American Heart Association, National Heart, Lung and Blood Institute NHLBI, World Heart Federation, International Atherosclerosis Society, y la International Association for the Study of Obesity (6).

6.7 Estadística

La diferencia de las medias entre los grupos comparados se realizó mediante el análisis de distribución t (de student) y el error estándar (SEM) de cada una de las medias; se realizaron pruebas de normalidad de los datos por medio de la prueba de Shapiro-Wilk, para conocer la correlación entre grupos, se ocupó el coeficiente de correlación de Spearman; además se han realizado dos análisis de regresión lineal múltiple ocupando en el primero como variable dependiente a HOMA-IR y en el segundo se ocupó variable dependiente el tamaño de adipocitos viscerales, las variables independientes en ambos casos fueron elegidas la los parámetros que se encontraban en correlación con la variable dependiente o por su relación biológica mostrando en resultados los resultados con una significancia mayor; en todos los casos estadísticos reportados el umbral de significancia fue puesto en $p < 0.05$. Los datos fueron analizados estadísticamente con el programa IBM, SPSS Statistics versión 25 registrada por International Business Machines Corp., 2017 y con la hoja de cálculo de Microsoft Excel versión: 14.07208.5000 (32 bits) de paquetería de Microsoft Office Professional Plus 2010.

7.- RESULTADOS

7.1 *Índice de masa corporal*

En primer lugar, dividimos a los sujetos de acuerdo a su índice de masa corporal (IMC) en normo peso $18.5 < \text{IMC} < 25$ y sobrepeso/obesidad $\text{IMC} \geq 25$. Los datos clínicos, el diámetro de los adipocitos y los índices de los sujetos de estudio se muestran en la tabla 1. Para este grupo de participantes encontramos que existen diferencias en edad, siendo los participantes con un IMC normal de menor edad en comparación con el grupo de sujetos con sobrepeso/obesidad (normopeso 28.0 ± 3.5 años, sobrepeso/obesidad 42.38 ± 2.68 , $p= 0.004$).

Se observa que la circunferencia de cintura y el tamaño de los adipocitos subcutáneos es mayor en los sujetos con sobrepeso/obesidad en comparación con aquellos en normopeso ($p<0.05$); en contraparte, no se observan cambios estadísticamente significativos en el tamaño de los adipocitos viscerales ($p = 0.84$).

El grupo de sobrepeso/obesidad presenta un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares estimado por el índice de adiposidad visceral ($p=0.03$), así como un mayor número de signos del síndrome metabólico (2.36 ± 0.22) que el grupo normo peso (1.11 ± 0.35 , $p= 0.009$).

También se observa que los niveles de PRL circulante no cambian en asociación con el IMC. Esto confirma y amplía en un grupo independiente de sujetos hombres y mujeres lo reportado recientemente por nuestro grupo de trabajo en un grupo que solo incluyó hombres (72).

7.2 *Resistencia a la insulina*

Como siguiente paso, clasificamos a los participantes según su grado de resistencia a la insulina en sensibles ($\text{HOMA-IR} \leq 2.0$) o resistentes ($\text{HOMA-IR} > 2.0$), observamos que los sujetos con resistencia a la insulina presentan niveles menores de PRL circulante (dentro del rangos fisiológicos) que los sujetos sensibles a la insulina ($p=0.05$) (Tabla 3). Esto corrobora y amplía, en un grupo de

participantes hombres y mujeres, los hallazgos publicados recientemente por nuestro grupo de trabajo en un grupo de hombres (72).

Además, los participantes con resistencia a la insulina presentaron mayor circunferencia de cintura que los participantes sensibles a la insulina ($p=0.03$), y un mayor grado de adiposidad abdominal ($p=0.03$) evaluado por el índice de conicidad, así como un mayor tamaño de los adipocitos subcutáneos ($p=0.05$) (Tabla 2).

Los niveles de glucosa e insulina también mostraron diferencias, siendo mayores en los sujetos resistentes a la insulina que en los sensibles, esto es esperado dado que estos dos parámetros se usan para obtener el HOMA-IR (Tabla 2).

Tabla 1. Los niveles de PRL no se alteran en sujetos con sobrepeso y obesidad.

Índice de masa corporal	Normopeso	Sobrepeso y Obesidad	p
	BMI <25 n = 9	BMI ≥ 25 n = 29	
Datos clínicos			
Edad (años)	28.00 ± 3.50	42.38 ± 2.68	0.004
IMC (Kg/ m2)	23.18 ± 0.31	30.58 ± 0.65	<0.01
Circunferencia de cintura (cm)	79.79 ± 2.40	99.12 ± 1.85	<0.01
Presión sistólica (mmHg)	117.25 ± 3.93	126.05 ± 2.96	0.09
Presión diastólica (mmHg)	76.25 ± 3.10	77.58 ± 1.90	0.72
Glucosa (mmol/L)	4.26 ± 0.56	5.08 ± 0.20	0.20
Triglicéridos (mg/dL)	117.54 ± 24.98	166.14 ± 16.09	0.12
Colesterol total (mg/dL)	167.04 ± 15.33	178.40 ± 8.67	0.53
Colesterol HDL (mg/dL)	44.53 ± 5.96	37.76 ± 1.90	0.32
Insulina (µU/mL)	5.88 ± 1.93	9.36 ± 1.34	0.16
Prolactina (µg/L)	13.78 ± 3.10	13.33 ± 1.67	0.90
Diámetro de adipocitos			
Adipocitos subcutáneos (µm)	74.04 ± 5.37	88.79 ± 2.57	0.03
Adipocitos viscerales (µm)	70.48 ± 6.98	85.86 ± 4.56	0.84
Índices y signos			
HOMA-IR	1.37 ± 0.65	2.12 ± 0.35	0.42
HOMA-S	201.30 ± 32.98	127.68 ± 15.87	0.07
HOMA-B	120.37 ± 21.17	110.69 ± 10.34	0.69
Índice aterogénico	2.76 ± 0.92	4.76 ± 0.67	0.11
Índice de adiposidad visceral	4.05 ± 1.08	7.69 ± 1.09	0.03
Índice de conicidad	1.17 ± 0.03	1.24 ± 0.05	0.31
Signos de síndrome metabólico	1.11 ± 0.35	2.45 ± 0.23	0.01
<i>Promedio ± SEM</i>			

Punto de corte de signos del síndrome metabólico: **Circunferencia de cintura:** ≥88 cm en mujeres, o ≥102 cm en hombres. **Presión arterial:** ≥130 mmHg sistólica; ≥85 mmHg diastólica. **Glucosa:** ≥ 5.5mmol/L. **Triglicéridos:** ≥150 mg/dl. **HDL** ≤40 mg.

Tabla 2. El grupo de sujetos con resistencia a la insulina presenta niveles más bajos de PRL

Sensibilidad a la insulina	Sensible	Resistente	p
	HOMA-IR < 2.0 n = 24	HOMA-IR ≥ 2.0 n = 15	
Datos clínicos			
Edad (años)	39.46 ± 2.99	38.40 ± 3.89	0.83
IMC (Kg/ m2)	28.23 ± 0.99	29.75 ± 1.00	0.29
Circunferencia de cintura (cm)	90.50 ± 2.21	100.08 ± 3.54	0.03
Presión sistólica (mmHg)	115.67 ± 6.44	129.88 ± 3.44	0.06
Presión diastólica (mmHg)	72.62 ± 4.00	78.63 ± 3.29	0.26
Glucosa (mmol/L)	4.38 ± 0.25	5.57 ± 0.29	<0.01
Triglicéridos (mg/dL)	155.86 ± 14.10	143.57 ± 30.57	0.72
Colesterol total (mg/dL)	173.27 ± 8.87	183.19 ± 13.44	0.54
Colesterol HDL (mg/dL)	38.45 ± 3.57	40.53 ± 3.64	0.69
Insulina (µU/mL)	4.13 ± 0.48	15.15 ± 1.68	<0.01
Prolactina (µg/L)	15.42 ± 2.00	10.24 ± 1.53	0.05
Diámetro de adipocitos			
Adipocito subcutáneos (µm)	81.65 ± 3.32	91.39 ± 3.38	0.05
Adipocitos viscerales (µm)	79.09 ± 4.51	94.18 ± 8.76	0.14
Índices y signos			
HOMA-IR	0.77 ± 0.11	3.72 ± 0.47	<0.001
HOMA-S	204.86 ± 16.08	60.31 ± 6.88	<0.001
HOMA-B	100.18 ± 9.95	204.86 ± 16.09	0.08
Índice aterogénico	4.18 ± 0.68	3.66 ± 1.02	0.68
Índice de adiposidad visceral	3.72 ± 1.61	1.46 ± 0.48	0.20
Índice de conicidad	1.17 ± 0.06	1.31 ± 0.03	0.04
Signos de síndrome metabólico	2.00 ± 0.28	2.27 ± 0.33	0.54
Promedio ± SEM			

Punto de corte de signos del síndrome metabólico: **Circunferencia de cintura:** ≥88 cm en mujeres, o ≥102 cm en hombres. **Presión arterial:** ≥130 mmHg sistólica; ≥85 mmHg diastólica. **Glucosa:** ≥ 5.5mmol/L. **Triglicéridos:** ≥150 mg/dl. **HDL** ≤40 mg.

7.3 Prolactina

Posteriormente, para responder si los niveles de PRL se asocian con los distintos parámetros del síndrome metabólico, se clasificó a los participantes de acuerdo a sus niveles de PRL (Tabla 3), en más altos (igual o mayor de 12µg/L) y más bajos (menor de 12µg/L) y se observó que los niveles de insulina, el valor de HOMA-IR y HOMA-S son significativamente mayores en el grupo con niveles de PRL más bajos, en comparación con el grupo con niveles de PRL más altos ($p < 0.01$, $p = 0.05$, $p = 0.3$, respectivamente) (Tabla 3).

Además, encontramos que el tamaño de los adipocitos viscerales fue mayor en los pacientes con niveles de PRL más bajos en comparación con los de aquellos sujetos con niveles de PRL más altos ($p = 0.002$) (Tabla 3).

7.4 Prolactina y signos del síndrome metabólico

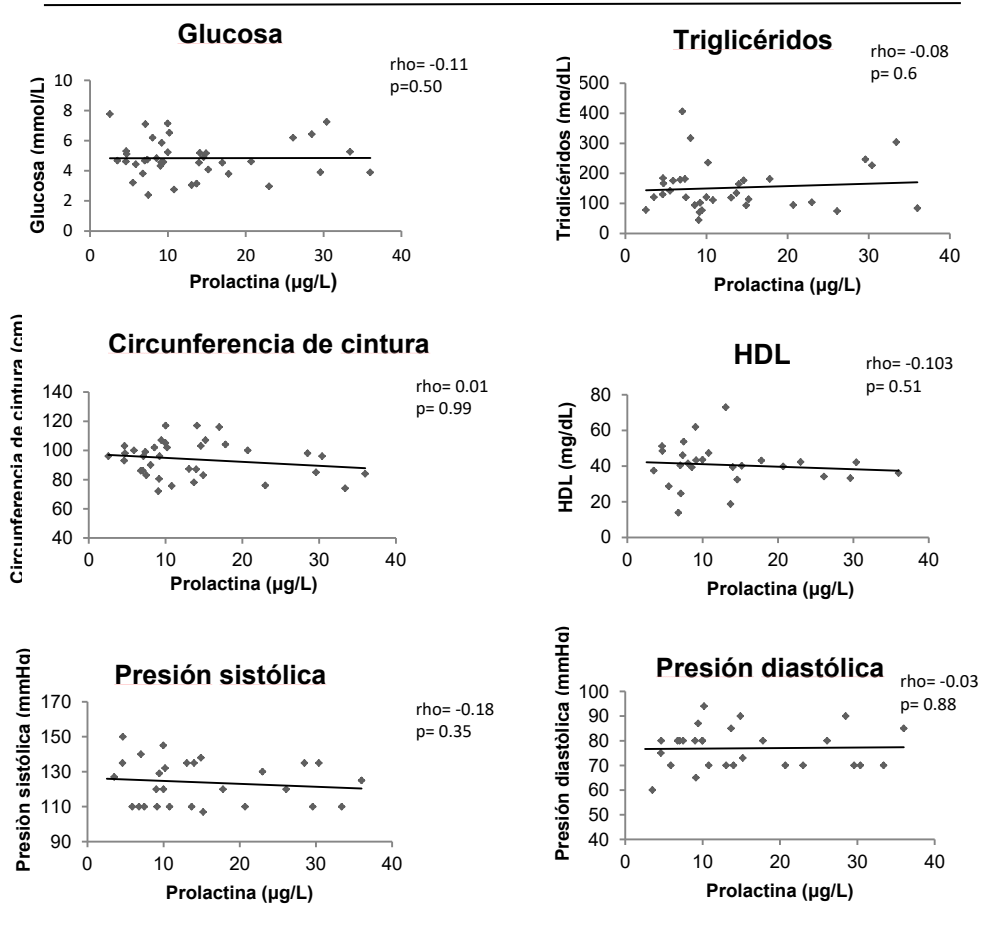
En cuanto a los signos del síndrome metabólico, encontramos que ninguno de ellos fue diferente entre los pacientes con niveles de PRL más bajos y aquellos con niveles de PRL más altos (Tabla 3). Además, realizamos análisis de correlación por coeficiente de correlación de Spearman entre los niveles de PRL y los niveles de glucosa, triglicéridos, HDL, así como circunferencia de cintura, y presión arterial diastólica y sistólica, y en concordancia con los resultados observados en la Tabla 3, encontramos que no existe correlación entre los signos del síndrome metabólico y los niveles de PRL (Figura 1).

Tabla 3. El grupo de sujetos con niveles de PRL más bajos presenta resistencia a la insulina y adipocitos viscerales más grandes.

Niveles de PRL	más bajo	más alto	p
	<12 µg/L n = 22	≥ 12 µg/L n = 17	
Datos clínicos			
Edad (años)	42.14 ± 3.61	35.06 ± 2.44	0.11
IMC (Kg/ m2)	28.20 ± 0.73	29.68 ± 1.39	0.36
Circunferencia de cintura (cm)	94.36 ± 2.51	93.46 ± 3.41	0.83
Presión sistólica (mmHg)	124.86 ± 3.78	122.86 ± 3.15	0.69
Presión diastólica (mmHg)	77.21 ± 2.33	76.64 ± 2.15	0.86
Glucosa (mmol/L)	4.99 ± 0.29	4.64 ± 1.90	0.40
Triglicéridos (mg/dL)	152.53 ± 19.38	150.96 ± 18.41	0.95
Colesterol total (mg/dL)	181.34 ± 11.36	170.74 ± 8.45	0.46
Colesterol HDL (mg/dL)	41.40 ± 3.09	36.48 ± 4.50	0.38
Insulina (µU/mL)	10.27 ± 1.56	5.91 ± 1.40	0.04
Prolactina (µg/L)	7.35 ± 0.50	21.30 ± 1.90	<0.01
Diámetro de adipocitos			
Adipocito subcutáneo (µm)	87.61 ± 3.73	82.97 ± 3.08	0.34
Adipocitos visceral (µm)	96.22 ± 6.28	70.76 ± 4.60	0.002
Índices y signos			
HOMA-IR	2.38 ± 0.45	1.28 ± 0.31	0.05
HOMA-S	119.77 ± 18.82	187.42 ± 22.53	0.03
HOMA-B	120.93 ± 11.91	104.32 ± 13.86	0.37
índice aterogénico	4.37 ± 0.93	3.96 ± 0.58	0.72
índice de adiposidad visceral	3.88 ± 1.71	1.48 ± 0.55	0.2
índice de conicidad	1.21 ± 0.07	1.24 ± 0.03	0.71
Signos de síndrome metabólico	2.00 ± 0.29	2.35 ± 0.30	0.4
Promedio ± SEM			

Punto de corte de signos del síndrome metabólico: **Circunferencia de cintura:** ≥88 cm en mujeres, o ≥102 cm en hombres. **Presión arterial:** ≥130 mmHg sistólica; ≥85 mmHg diastólica. **Glucosa:** ≥ 5.5mmol/L. **Triglicéridos:** ≥150 mg/dl. **HDL** ≤40 mg.

Figura 1. La PRL sérica no correlaciona con los signos del síndrome metabólico



7.5 Tamaño de los adipocitos

Dado que encontramos que el tamaño de los adipocitos es mayor en sujetos con niveles de PRL menores (Tabla 3, Figura 2), y que en trabajos previos mostramos que el tratamiento con PRL en ratas obesas reduce la hipertrofia de los adipocitos viscerales derivada de la obesidad, nos interesó investigar si el tamaño de los adipocitos de nuestros participantes tenían relación con sus niveles de PRL. Para esto, evaluamos la distribución del tamaño de los adipocitos de los pacientes, divididos según su diámetro en intervalos de 25 μm (Figura 3). Observamos que en los sujetos con niveles de PRL de $<12 \mu\text{g/L}$, el 27.7% de los adipocitos viscerales son de tamaños menores a 75 μm , mientras que en los sujetos con niveles de PRL de $\geq 12 \mu\text{g/L}$ el porcentaje de adipocitos en este rango de tamaño ($<75 \mu\text{m}$) es del doble, 54.8% ($p=0.05$). En contraparte, en los sujetos con PRL de $<12 \mu\text{g/L}$, el 35% de los adipocitos viscerales presenta un diámetro mayor a 100 μm , mientras que esta proporción es solamente del 7.9% en los sujetos con PRL más alta (Figura 3a) ($p= 0.0002$).

De manera interesante, no se observaron diferencias significativas en la frecuencia del tamaño de los adipocitos subcutáneos al clasificarlos según el nivel de PRL circulante de los participantes (Figura 3b).

En cuanto al tamaño de los adipocitos en relación con la resistencia a la insulina, observamos que el grupo de sujetos con sensibilidad a la insulina ($\text{HOMA-IR} < 2$) presentaron una mayor proporción de adipocitos viscerales con un diámetro $\geq 100 \mu\text{m}$ en comparación a los participantes más sensibles a la insulina (33.8% vs 15.8%, respectivamente) ($p=0.02$).

En el tejido adiposo subcutáneo, observamos que los sujetos sensibles a la insulina presentaron una menor frecuencia de adipocitos en el rango de tamaño de 25 a 50 μm que los sujetos con resistencia a la insulina ($\text{HOMA IR} \geq 2$) (3.5% y 10.2%, respectivamente) ($p= 0.047$). También observamos que el grupo de sujetos con resistencia a la insulina tiene el 9,5% de sus adipocitos subcutáneos entre los

rangos de 126 a 150 μm y $>150\mu\text{m}$, mientras que el grupo de sujetos sensibles a la insulina sólo tiene el 2.6% de adipocitos en este rango de tamaño ($p=0.05$).

Figura 2. Imagen de adipocitos viscerales de acuerdo a los niveles de PRL e IMC.

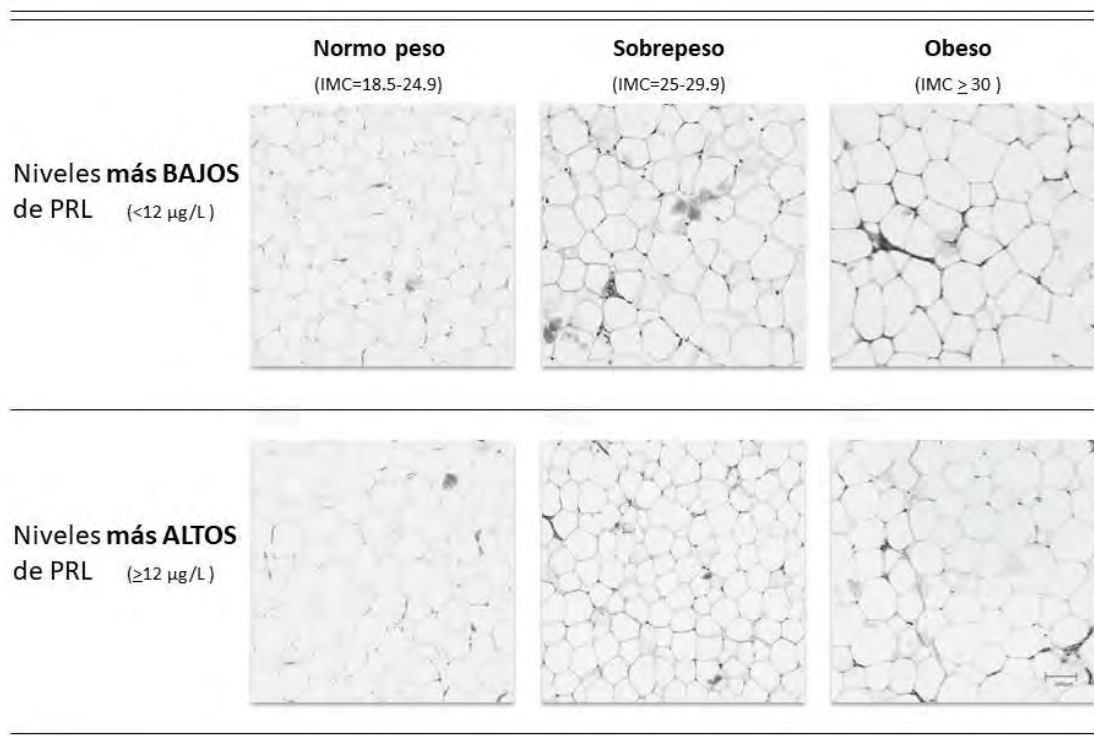
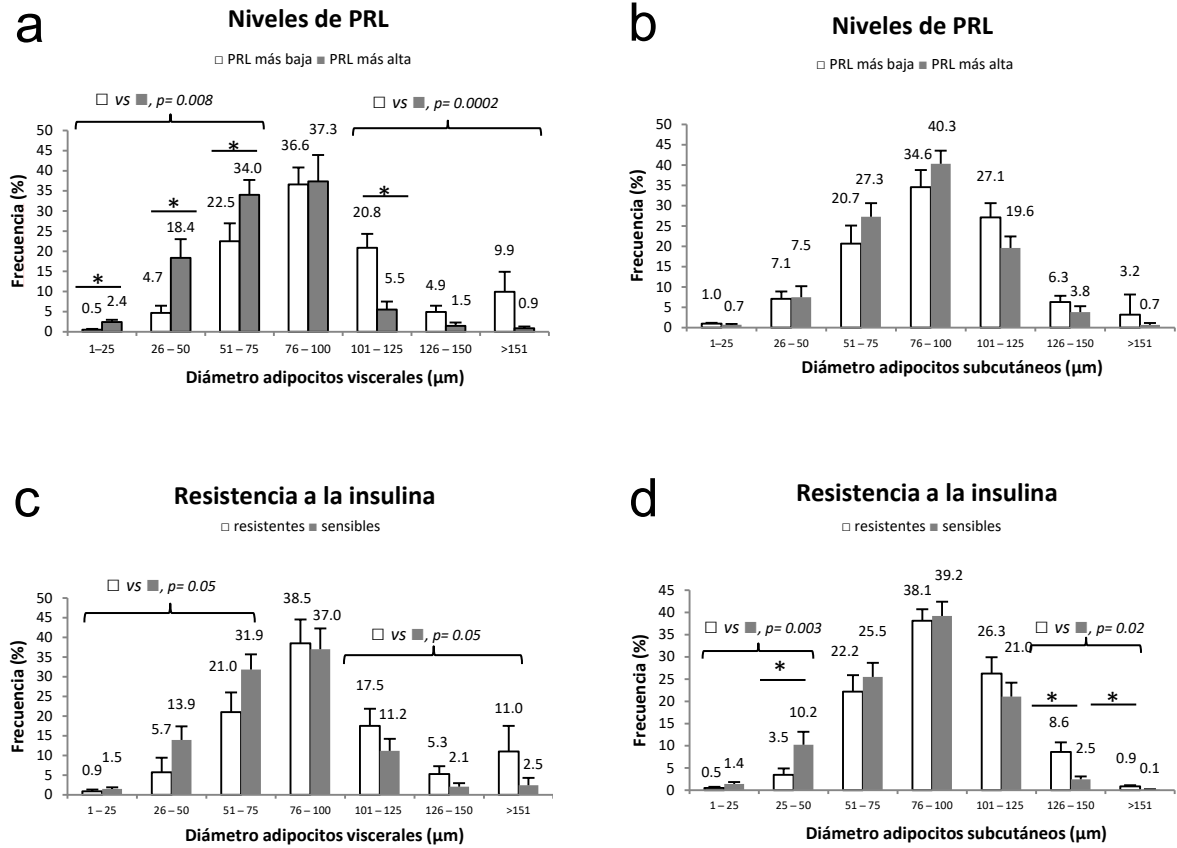


Figura 3. Tamaño de adipocitos de acuerdo a los niveles de PRL y HOMA-IR



Adipocitos a) viscerales y b) subcutáneos de sujetos con niveles más bajos de PRL ($<12 \mu\text{g/L}$) y más altos niveles de PRL ($\geq 12 \mu\text{g/L}$) dividido por su tamaño en rangos de $25 \mu\text{m}$; Adipocitos c) viscerales y d) subcutáneos de sujetos con resistencia a la insulina (HOMA IR ≥ 2) y con sensibilidad a la insulina (HOMA IR < 2) dividido por su tamaño en rangos de $25 \mu\text{m}$; * $p < 0.05$.

7.6 Modelos predictivos HOMA-IR y tamaño de los adipocitos viscerales.

Finalmente, con el objetivo de encontrar un modelo estadístico que permitiera predecir la resistencia a la insulina medida por HOMA-IR así como el tamaño de los adipocitos viscerales, se realizaron análisis de regresión lineal múltiple.

Para el análisis se incluyeron las variables que de acuerdo a datos en la literatura se asocian con cambios en los valores de HOMA-IR, se observó que la circunferencia de cintura es el mejor predictor ya que explica el 13% de la varianza del modelo para HOMA-IR ($p=0.01$). Posteriormente seleccionamos otros predictores que pudiera aportar al modelo una mejor explicación de la varianza, y encontramos que la circunferencia de cintura y los niveles de PRL circulante son los mejores predictores en conjunto para explicar la varianza del modelo HOMA-IR (21%, $p_{\text{modelo}}=0.008$) (Tabla 4).

Por otra parte se observó que los predictores que mejor describe la varianza del tamaño de los adipocitos viscerales fueron los niveles de PRL sérica (7%, $p=0.046$) y los niveles de glucosa en sangre (11%, $p=0.02$), y en conjunto (glucosa-PRL) predecían el 18%, con una $p_{\text{modelo}}=0.012$ (Tabla 5).

Tabla 4. Modelos predictivos para HOMA-IR.

HOMA IR		β	p	R ²	p _{modelo}
Modelo 1	Circunferencia de cintura	0.45	0.01	0.13	0.01
Modelo 2	Edad	-0.20	0.36	0.13	0.03
	Circunferencia de cintura	0.40	0.01		
Modelo 3	Peso	0.35	0.74	0.11	0.05
	Circunferencia de cintura	0.07	0.12		
Modelo 4	Tamaño adipocitos visceral	0.19	0.24	0.13	0.04
	Circunferencia de cintura	0.37	0.03		
Modelo 5	Tamaño adipocitos subcutáneo	0.23	0.16	0.14	0.03
	Circunferencia de cintura	0.34	0.04		
Modelo 6	Prolactina	-0.30	0.05	0.21	0.01
	Circunferencia de cintura	0.39	0.01		

La beta de cada predictor representa la beta estandarizada con su nivel de significancia (p), coeficiente de determinación (R²) y nivel de significancia del modelo (p modelo).

Tabla 5. Modelos predictivos para el tamaño de los adipocitos viscerales.

Tamaño adipocitos viscerales		β	p	R ²	ρ_{modelo}
Modelo 1	Glucosa	0.217	0.02	0.11	0.02
Modelo 2	Glucosa	0.35	0.04	0.07	0.07
	Insulina	0,06	0.7		
Modelo 3	PRL	-0.322	0.049	0.07	0.05
Modelo 4	PRL	-0.298	0.056	0.18	0.01
	Glucosa	0.34	0.026		

La beta de cada predictor representa la beta estandarizada con su nivel de significancia (p), coeficiente de determinación (R²) y el nivel de significancia del modelo (ρ_{modelo}).

7.7 Resistencia a la insulina entre hombres y mujeres

Adicionalmente, nos preguntamos si existía un dimorfismo sexual en la asociación entre los bajos niveles de PRL circulante con la resistencia a la insulina y la hipertrofia adiposa. Para evaluar esto, dividimos a los participantes por su sensibilidad a la insulina y por sexos (hombre y mujer). Observamos que los hombres sensibles a la insulina tienen niveles mayores de PRL sérica que los hombres insulino-resistentes (14.42 ± 2.99 vs 7.64 ± 1.07 , respectivamente, $p=0.05$) y que los hombres con resistencia a la insulina tienen una mayor circunferencia de cintura ($p=0.02$) y mayor riesgo cardiovascular (Índice aterogénico) que los hombres sensibles a la insulina ($p=0.05$), mientras que en el grupo de mujeres no se observan diferencias en ninguna variable (Tabla 6).

7.8 Niveles de prolactina entre hombres y mujeres

Posteriormente evaluamos las distintas variables en hombres y mujeres divididos por sus niveles de PRL sérica (Tabla 6). Se observa que las asociaciones encontradas, se conservan solo en hombres, siendo los sujetos con niveles más altos de PRL los que presentan menor resistencia a la insulina ($p=0.005$) y menor tamaño de sus adipocitos viscerales ($p=0.003$), con respecto a los que tienen niveles bajos de PRL, lo que no ocurre en las mujeres ya que no se observa ninguna diferencia (todas las $p \geq 0.15$) excepto en mujeres con más altos niveles de PRL que presentan un mayor IMC en comparación a los de de más bajos niveles de PRL ($p = 0.03$). Además, los hombres con niveles más altos de PRL tienen menor circunferencia de cintura ($p=0.02$) que los hombres con niveles de PRL más bajos.

Tabla 6. Sensibilidad a la insulina entre hombres y mujeres.

Sensibilidad a la insulina	Mujer			Hombre		
	Sensible	Resistente	p	Sensible	Resistente	p
	HOMA-IR < 2.0 n = 12	HOMA-IR ≥ 2.0 n = 7		HOMA-IR < 2.0 n = 12	HOMA-IR ≥ 2.0 n = 8	
Datos clínicos						
Edad (años)	40.67 ± 3.69	36.63 ± 4.87	0.52	38.55 ± 5.30	38.88 ± 5.88	0.97
IMC (Kg/ m2)	29.52 ± 1.61	30.23 ± 1.67	0.77	27.36 ± 1.23	29.26 ± 0.93	0.24
Circunferencia de cintura (cm)	91.90 ± 3.23	98.57 ± 6.13	0.36	90.59 ± 3.05	102.00 ± 2.85	0.02
Presión sistólica (mmHg)	125.70 ± 4.77	103.00 ± 26.06	0.44	118.00 ± 3.52	131.00 ± 5.28	0.09
Presión diastólica (mmHg)	74.30 ± 2.17	63.00 ± 15.78	0.52	79.11 ± 2.93	78.50 ± 6.99	0.94
Glucosa (mmol/L)	4.31 ± 0.44	4.92 ± 0.20	0.23	4.38 ± 0.25	6.14 ± 0.41	<0.01
Triglicéridos (mg/dL)	140.31 ± 12.24	167.63 ± 52.39	0.42	157.98 ± 23.26	124.95 ± 23.10	0.33
Colesterol total (mg/dL)	189.31 ± 8.35	173.20 ± 17.13	0.42	155.81 ± 15.89	194.17 ± 18.48	0.14
Colesterol HDL (mg/dL)	45.48 ± 3.71	42.07 ± 4.93	0.59	34.46 ± 4.26	36.20 ± 4.07	0.77
Insulina (µU/mL)	3.70 ± 0.61	14.68 ± 1.45	<0.01	4.67 ± 0.82	15.51 ± 2.90	0.01
Prolactina (µg/L)	14.84 ± 2.61	13.39 ± 2.37	0.69	14.42 ± 2.99	7.64 ± 1.07	0.05
Diámetro de adipocitos						
Adipocitos subcutáneos (µm)	84.06 ± 3.15	88.90 ± 4.03	0.36	80.38 ± 6.04	94.71 ± 4.98	0.08
Adipocitos viscerales (µm)	76.33 ± 5.93	79.12 ± 6.88	0.76	84.34 ± 6.70	108.53 ± 13.39	0.14
Índices y signos						
HOMA-IR	0.75 ± 0.16	3.19 ± 0.26	<0.01	0.77 ± 0.17	4.17 ± 0.83	<0.01
HOMA-S	211.02 ± 24.25	56.36 ± 4.20	<0.01	196.96 ± 24.09	63.60 ± 12.50	<0.01
HOMA-B	106.12 ± 15.01	158.15 ± 17.74	0.04	98.25 ± 14.13	114.20 ± 22.84	0.56
índice aterogenico	3.21 ± 0.40	4.39 ± 1.37	0.44	5.91 ± 1.30	2.79 ± 0.24	0.05
índice de adiposidad visceral	5.83 ± 3.65	1.84 ± 0.51	0.33	2.14 ± 0.66	0.66 ± 0.66	0.20
índice de conicidad	1.24 ± 0.03	1.29 ± 0.05	0.40	1.11 ± 0.11	1.34 ± 0.03	0.07
Signos de síndrome metabólico	2.55 ± 0.47	2.57 ± 0.20	0.20	1.80 ± 0.25	2.38 ± 0.53	0.35
<i>Promedio ± SEM</i>						

Punto de corte de signos del síndrome metabólico: **Circunferencia de cintura:** ≥88 cm en mujeres, o ≥102 cm en hombres. **Presión arterial:** ≥130 mmHg sistólica; ≥85 mmHg diastólica. **Glucosa:** ≥ 5.5mmol/L. **Triglicéridos:** ≥150 mg/dl. **HDL** ≤40 mg.

Tabla 7. Niveles de PRL sérica entre hombres y mujeres.

Niveles de PRL	Mujer			Hombre		
	Más bajos	Más altos	p	Más bajos	Más altos	p
	<12 µg/L n = 8	≥ 12 µg/L n = 11		<12 µg/L n = 14	≥ 12 µg/L n = 6	
Datos clínicos						
Edad (años)	43.00 ± 6.18	37.18 ± 2.67	0.41	41.64 ± 4.62	31.17 ± 4.78	0.14
IMC (Kg/ m2)	27.02 ± 1.35	32.08 ± 1.59	0.03	28.88 ± 0.83	25.70 ± 1.69	0.13
Circunferencia de cintura (cm)	87.23 ± 4.32	98.73 ± 4.10	0.07	98.19 ± 2.60	84.67 ± 4.22	0.02
Presión sistólica (mmHg)	127.50 ± 6.80	125.88 ± 4.21	0.84	122.88 ± 4.50	118.83 ± 4.62	0.54
Presión diastólica (mmHg)	77.50 ± 1.71	74.13 ± 2.58	0.30	77.00 ± 4.00	80.00 ± 3.42	0.58
Glucosa (mmol/L)	4.05 ± 0.39	4.89 ± 0.40	0.15	5.53 ± 0.33	4.19 ± 0.34	0.01
Triglicéridos (mg/dL)	162.78 ± 37.71	133.85 ± 17.93	0.50	145.70 ± 21.62	173.78 ± 35.71	0.52
Colesterol total (mg/dL)	191.30 ± 15.46	176.36 ± 9.58	0.43	175.21 ± 15.93	161.37 ± 16.39	0.55
Colesterol HDL (mg/dL)	47.37 ± 3.99	42.90 ± 4.48	0.47	36.18 ± 3.95	26.22 ± 7.67	0.29
Insulina (µU/mL)	8.35 ± 2.05	7.34 ± 2.06	0.73	11.37 ± 2.15	3.28 ± 0.42	<0.01
Prolactina (µg/L)	6.73 ± 0.81	19.70 ± 1.92	<0.01	7.70 ± 0.64	24.23 ± 4.04	<0.01
Diámetro de adipocitos						
Adipocitos subcutáneos (µm)	88.33 ± 4.09	83.55 ± 3.27	0.38	87.24 ± 5.32	82.00 ± 6.59	0.55
Adipocitos viscerales (µm)	82.60 ± 6.09	72.96 ± 6.49	0.30	103.02 ± 8.47	67.10 ± 6.25	<0.01
Índices y signos						
HOMA-IR	1.67 ± 0.45	1.65 ± 0.45	0.98	2.80 ± 0.65	0.60 ± 0.06	<0.01
HOMA-S	147.23 ± 37.26	159.11 ± 31.00	0.81	104.09 ± 20.49	239.33 ± 15.67	<0.01
HOMA-B	145.06 ± 17.06	111.71 ± 18.68	0.20	107.14 ± 15.18	90.78 ± 20.14	0.53
índice aterogenico	3.80 ± 1.16	3.30 ± 0.53	0.70	4.93 ± 1.52	5.28 ± 1.23	0.86
índice de adiposidad visceral	5.30 ± 3.13	2.05 ± 0.71	0.35	2.22 ± 0.70	1.27 ± 1.01	0.47
índice de conicidad	1.23 ± 0.04	1.28 ± 0.03	0.36	1.20 ± 0.10	1.17 ± 0.02	0.80
Signos de síndrome metabólico	1.75 ± 0.53	2.64 ± 0.41	0.20	2.00 ± 0.36	1.83 ± 0.31	0.73
<i>Promedio ± SEM</i>						

Punto de corte de signos del síndrome metabólico: **Circunferencia de cintura:** ≥88 cm en mujeres, o ≥102 cm en hombres. **Presión arterial:** ≥130 mmHg sistólica; ≥85 mmHg diastólica. **Glucosa:** ≥ 5.5mmol/L. **Triglicéridos:** ≥150 mg/dl. **HDL** ≤40 mg.

8.- DISCUSIÓN

El principal objetivo de este estudio fue analizar los niveles de PRL circulante y su asociación con distintos parámetros del síndrome metabólico, así como con el tamaño de los adipocitos en humanos. Para alcanzar este objetivo, se obtuvieron muestras sanguíneas y muestras de tejido adiposo visceral y subcutáneo de adultos hombres y mujeres. Encontramos que existe una asociación inversa entre los niveles de PRL y la resistencia a la insulina sistémica, así como con el tamaño de los adipocitos, pero no así con los signos clínicos del síndrome metabólico.

En este trabajo los participantes con sobrepeso y obesidad presentaron mayor circunferencia de cintura y mayor tamaño de adipocitos subcutáneos; estos datos son esperados ya que la acumulación excesiva de grasa es una característica del sobrepeso y la obesidad. Además, los participantes con sobrepeso y obesidad mostraron mayor número de signos del síndrome metabólico y mayor riesgo cardiovascular (estimado por el índice de adiposidad visceral) que los participantes con peso normal; estos datos concuerdan con literatura previa centrada en el estudio de la relación de la obesidad con enfermedades cardiovasculares (12, 15, 16,). Aunado a esto, observamos que a mayor edad aumentaba el número de participantes con sobrepeso y obesidad. Este dato va en línea con estudios previos que han reportado una asociación entre la edad y la acumulación de tejido adiposo abdominal, es decir, parece que a mayor edad se incrementa la acumulación de tejido adiposo abdominal (74,75).

En nuestro grupo de participantes, los niveles de PRL no presentaron diferencias entre los grupos de normo peso y sobrepeso/obesidad, confirmando así los hallazgos previamente reportados por Ruiz-Herrera en un grupo de participantes con características similares (72).

Por otra parte, los participantes con resistencia a la insulina, presentaron mayor circunferencia de cintura y mayor tamaño en sus adipocitos subcutáneos en comparación a los participantes del grupo sensibles a la insulina; estos datos son coherentes ya que la circunferencia de cintura se considera una herramienta en

la práctica clínica para predecir la resistencia a la insulina (77), y además, se conoce que el aumento de la masa grasa está relacionada con una mayor resistencia a la insulina (78).

También encontramos que los participantes resistentes a la insulina presentaban un mayor riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, esto lo evaluamos con el índice de conicidad, donde encontramos un mayor índice en los participantes resistentes a la insulina. En este mismo sentido el grupo de Ghoreishial et al., 2015 (79), concluyó que la resistencia a la insulina es un factor de riesgo para desarrollar enfermedades cardiovasculares. Además, los participantes con resistencia a la insulina presentaron los niveles más bajos de PRL circulante, este hallazgo amplía los resultados previos encontrados en nuestro laboratorio en un grupo que solamente incluyó sujetos hombres (72).

La obesidad es una enfermedad que se caracteriza por la acumulación de grasa excesiva, lo que deriva en hipertrofia del adipocito y su disfunción, lo que detona resistencia a la insulina además de otras alteraciones metabólicas. Se ha reportado en la literatura que los niveles de PRL sérica se asocian negativamente con eventos cardiovasculares (80), diabetes (81) y resistencia a la insulina evaluados por HOMA-IR (82). En nuestros resultados se observó que los signos clínicos del síndrome metabólico (nivel de glucosa, triglicéridos, HDL, presión arterial y circunferencia de cintura) no correlacionaron con los niveles de PRL de los participantes, al dividirlos por sus niveles de PRL sérica en más bajos o más altos tampoco se existen diferencias significativas, pero si se observa que los pacientes con niveles más bajos de PRL tienen mayor resistencia a la insulina medida por HOMA-IR y mayor hipertrofia en adipocitos viscerales que los participantes con niveles altos de PRL. Estos resultados van en el mismo sentido que los resultados obtenidos recientemente por Ruiz-Herrera y colaboradores en el 2017 en modelos animales de obesidad (72); uno de pérdida (ratones carentes del receptor de PRL, Prlr^{-/-}) y otro con de ratas obesas implantadas con mini-bombas osmóticas de liberación de PRL. En estos modelos se encontró que la PRL aminora la resistencia a la insulina inducida por la obesidad a través de

promover la expansión saludable (reducción de la hipertrofia y aumento de la hiperplasia) y la funcionalidad del tejido adiposo, lo que complementa y apoya nuestros resultados de que en seres humanos los niveles altos de PRL se asocian con mayor sensibilidad a la insulina y un tamaño menor de los adipocitos viscerales.

Al observar el diámetro de los adipocitos de los sujetos con resistencia a la insulina de nuestro estudio, se encontró que tienen una mayor frecuencia de adipocitos viscerales y subcutáneos grandes, es decir con tamaños (diámetro) mayores a 100 μ m, en comparación con los sujetos sensibles a la insulina. Esta diferencia de tamaño tiene relevancia y concuerda con la literatura ya que se conoce que adipocitos hipertróficos se asocian con menor sensibilidad a la insulina sistémica junto con aumento de biomarcadores de inflamación y un mayor número de macrófagos dentro del tejido adiposo (89,90).

Por otro lado al observar a los sujetos con niveles más bajos de PRL, estos presentan mayor frecuencia de adipocitos viscerales con un tamaño mayor a 100 μ m, (que se consideran adipocitos grandes) lo que podría explicar por qué estos sujetos con niveles más bajos de PRL también muestran mayor resistencia a la insulina, mientras que la mayoría de los adipocitos viscerales de los sujetos con niveles más altos de PRL tienen tamaños menores a 75 μ m, en comparación con los que tienen niveles más bajos de PRL. Estos datos plantean la interrogante de si los niveles de PRL circulante son un regulador del tamaño de los adipocitos viscerales. En apoyo a esta posibilidad está el que en modelos animales de obesidad en los que se elevaron los niveles de PRL circulante, se redujo el tamaño de los adipocitos viscerales (72).

En apoyo a que los bajos niveles de PRL son un marcador de la resistencia a la insulina y de la disfunción adiposa (evaluada por la hipertrofia de sus adipocitos), encontramos que al realizar el análisis de regresión lineal múltiple con los datos obtenidos en este estudio pudimos observar que la mejor forma de predecir la resistencia a la insulina (medido por HOMA-IR) es mediante un modelo que incluya la circunferencia de cintura y los niveles de prolactina circulante (21%

$p_{\text{modelo}}=0.01$) , esto refuerza la idea que la acumulación de grasa abdominal es importante en la sensibilidad a la insulina así como la relevancia de los niveles de prolactina en la sensibilidad a la insulina. Por otro lado, al predecir la variabilidad del tamaño de los adipocitos viscerales, observamos que en un modelo que solo incluya como predictor a la PRL, se puede predecir un 7% la variabilidad del tamaño de adipocitos viscerales, mientras que un modelo que incluya PRL y glucosa combinadas explica de mejor manera la varianza del tamaño de adipocitos viscerales (18%, $p_{\text{modelo}}=0.01$).

En nuestros resultados existe un dimorfismo sexual ya que observamos que los hombres con resistencia a la insulina tienen mayor tamaño en la circunferencia de cintura, mayor riesgo cardiovascular (evaluado por índice aterogénico) y niveles bajos de PRL que los hombres sensibles a la insulina. También que en el grupo de los hombres se conserva la relación negativa entre los niveles de PRL en suero con insulina, resistencia a la insulina y tamaño de los adipocitos viscerales, pero en las mujeres no se observa esta relación. Una posible explicación a estas diferencias entre sexos puede ser la acción de las hormonas sexuales, en particular los estrógenos, brindando un factor protector en la obesidad en mujeres; ya que se conoce que el estrógeno favorece que el tejido adiposo tenga una disminución de la inflamación y mejora su sensibilidad a la insulina, (104), también se conoce que en roedores las hembras ganan menor peso en comparación a los machos tras una dieta alta en grasas, diferencia que se deja de observar después de retirar los ovarios a las hembras (105).

Una de las limitaciones de este estudio es que el número de participantes es pequeño, aunque a pesar de esto se observaron los resultados expuestos, es posible que un número mayor de participantes den mayor información en variables que no mostraron diferencias o asociaciones en este estudio.

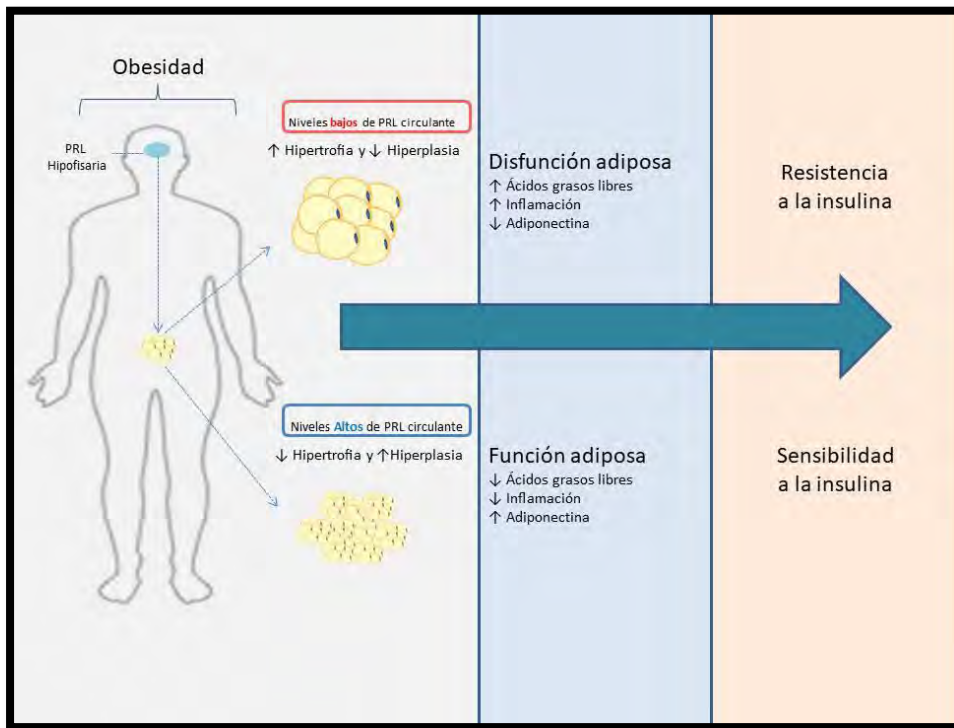
Otra limitación es que al ser sujetos con intervención quirúrgica programada, la preparación preoperatoria de los participantes pudo influir en los niveles de glucosa, presión arterial y perfil lipídico, presentando así algunos participantes niveles normales en sus estudios clínicos.

9.- CONCLUSIÓN

Es importante destacar los crecientes reportes en la literatura sobre los efectos de la PRL sobre la homeostasis metabólica, ya que se ha observado que la PRL promueve la función de las células beta tanto en roedores como en humanos (94,95), y en hígado de roedores se sabe que la PRL estimula la sensibilidad a la insulina (96). Además la PRL favorece la expresión de PPAR γ factor que promueve procesos importantes en el tejido adiposo: la secreción de adiponectina (hormona que favorece la sensibilidad a la insulina), la adipogénesis, además de la disminución de la inflamación (72), estos hallazgos apoyan la idea del papel protagónico que puede tener la PRL en el metabolismo y aunado a la conclusión de este trabajo, que los bajos niveles de PRL son un marcador de la resistencia a la insulina y de disfunción del tejido adiposo visceral (hipertrofia de los adipocitos), aunque no se asocian con los signos clínicos del síndrome metabólico. Por lo que proponemos que los efectos benéficos de los niveles altos de PRL sérica fisiológica en la obesidad pueden estar mediados por la estimulación de la expansión saludable del tejido adiposo (evento estrechamente relacionado con la funcionalidad del tejido adiposo), un aumento en la producción de adiponectina y disminución de citoquinas pro-inflamatorias derivando en sensibilidad a la insulina (Figura 3).

Por otro lado hay datos que requieren mayor estudio ya que si proponemos que el papel de la PRL en la resistencia a la insulina y la funcionalidad del adipocito depende de su concentración circulante, es importante conocer entonces los límites inferiores para que ocurran dichos efectos, también evaluar la interacción que existe entre los niveles de PRL circulante y los procesos inflamatorios que ocurren en el tejido adiposo, y como afecta a la inflamación sistémica en la obesidad, también resultaría interesante observar lo que ocurre en el tejido adiposo pardo en diferentes niveles de PRL sérico ya que se conoce que el tejido adiposo pardo expresa el receptor de prolactina y existe evidencia de efectos en procesos en diferenciación y crecimiento de los adipocitos marrones (106).

Figura 3. Efectos benéficos de los niveles altos de PRL sérica fisiológica en la obesidad



10.- BIBLIOGRAFÍA

1. Kahn, R., Buse, J., Ferrannini, E., & Stern, M. (2005). The Metabolic Syndrome: Time for a Critical Appraisal: Joint statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes Care*, 28(9), 2289-2304. doi: 10.2337/diacare.28.9.2289
2. S. Rossner Eskil Kylin (1885–1974) *Obes Rev*, 10 (2009), p. 362
3. Reaven, G. (1988). Role of Insulin Resistance in Human Disease. *Diabetes*, 37(12), 1595-1607. doi: 10.2337/diab.37.12.1595
4. Reaven, G. (2004). The metabolic syndrome or the insulin resistance syndrome? Different names, different concepts, and different goals. *Endocrinology And Metabolism Clinics Of North America*, 33(2), 283-303. doi: 10.1016/j.ecl.2004.03.002
5. Alberti, K., & Zimmet, P. (1998). Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO Consultation. *Diabetic Medicine*, 15(7), 539-553. doi: 10.1002/(sici)1096-9136(199807)15:7<539::aid-dia668>3.0.co;2-s
6. Alberti, K., Eckel, R., Grundy, S., Zimmet, P., Cleeman, J., & Donato, K. et al. (2009). Harmonizing the Metabolic Syndrome: A Joint Interim Statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*, 120(16), 1640-1645. doi: 10.1161/circulationaha.109.192644
7. Florez, J., Jablonski, K., Bayley, N., Pollin, T., de Bakker, P., & Shuldiner, A. et al. (2006). TCF7L2 Polymorphisms and Progression to Diabetes in the Diabetes Prevention Program. *New England Journal Of Medicine*, 355(3), 241-250. doi: 10.1056/nejmoa062418
8. Wilson, P. (2005). Metabolic Syndrome as a Precursor of Cardiovascular Disease and Type 2 Diabetes Mellitus. *Circulation*, 112(20), 3066-3072. doi: 10.1161/circulationaha.105.539528
9. Wilson, P., & Meigs, J. (2008). Cardiometabolic risk: a Framingham perspective. *International Journal Of Obesity*, 32(S2), S17-S20. doi: 10.1038/ijo.2008.30
10. Warodomwicht, D., Arnett, D., Kabagambe, E., Tsai, M., Hixson, J., & Straka, R. et al. (2009). Polyunsaturated Fatty Acids Modulate the Effect of TCF7L2 Gene Variants on Postprandial Lipemia. *The Journal Of Nutrition*, 139(3), 439-446. doi: 10.3945/jn.108.096461

11. Loos, R., & Rankinen, T. (2005). Gene-Diet Interactions on Body Weight Changes. *Journal Of The American Dietetic Association*, 105(5), 29-34.
12. <http://www.fao.org/docrep/018/i3300e/i3300e.pdf>.
13. Hernández M. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016: Resultados ponderados. Instituto Nacional de Salud Pública. 14 de diciembre 2016.
14. INEGI 2018 en <http://www.beta.inegi.org.mx/proyectos/registros/vitales/mortalidad/>
15. Peeters, A., Barendregt, J., Willekens, F., Mackenbach, J., Mamun, A., & Bonneux, L. (2003). Obesity in Adulthood and Its Consequences for Life Expectancy: A Life-Table Analysis. *Annals Of Internal Medicine*, 138(1), 24. doi: 10.7326/0003-4819-138-1-200301070-00008
16. Whitlock G, Lewington S, Sherliker P, Clarke R, Emberson J, Halsey J, Qizilbash N, Collins R, Peto R, Collaboration PS. (2009). Body-mass index and cause-specific mortality in 900 000 adults: collaborative analyses of 57 prospective studies. *The Lancet*, 373(9669), 1083-1096. doi: 10.1016/s0140-6736(09)60318-4
17. Carr DB, Utzschneider KM, Hull RL, Kodama K, Retzlaff BM, Brunzell JD, Shofer JB, Fish BE, Knopp RH, Kahn SE. Intra-abdominal fat is a major determinant of the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III criteria for the metabolic syndrome. *Diabetes*. 2004;53:2087–2094.
18. Lemieux I, Pascot A, Couillard C, Lamarche B, Tchernof A, Alméras N, Bergeron J, Gaudet D, Tremblay G, Prud'homme D, Nadeau A, Després JP. Hypertriglyceridemic waist: A marker of the atherogenic metabolic triad (hyperinsulinemia; hyperapoprotein B; small, dense LDL) in men? *Circulation*. 2000;102:179–184.
19. Lemieux I, Poirier P, Bergeron J, Alméras N, Lamarche B, Cantin B, Dagenais GR, Després JP. Hypertriglyceridemic waist: a useful screening phenotype in preventive cardiology? *Can J Cardiol*. 2007;23(Suppl B):23B–31B.
20. Park YW, Zhu S, Palaniappan L, Heshka S, Carnethon MR, Heymsfield SB. The metabolic syndrome: prevalence and associated risk factor findings in the US population from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988–1994. *Arch Intern Med*. 2003;163:427–436.
21. Abate N. Obesity and cardiovascular disease. Pathogenetic role of the metabolic syndrome and therapeutic implications. *J Diabetes Complications*. 2000;14:154–174.
22. Madala MC, Franklin BA, Chen AY, Berman AD, Roe MT, Peterson ED, Ohman EM, Smith SC, Gibler WB, McCullough PA, Investigators C. Obesity and age of first non-ST-segment elevation myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52:979–985.
23. Nguyen NT, Magno CP, Lane KT, Hinojosa MW, Lane JS. Association of hypertension, diabetes, dyslipidemia, and metabolic syndrome with obesity:

- findings from the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999 to 2004. *J Am Coll Surg*. 2008;207:928–934.
24. Finucane MM, Stevens GA, Cowan MJ, Danaei G, Lin JK, Paciorek CJ et al. 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* 2011;377:557-67.
 25. Calle EE, Rodríguez C, Walker-Thurmond K, Thun MJ: Overweight, Obesity and Mortality from Cancer in a Prospectively Studied Cohort of U.S. Adults. *N Engl J Med* 2003;348:1625- 38.
 26. Ben-Jonathan, N., C.R. Lapensee and E.w. la pensee(2008) what can we learn from rodents about prolactin in humans?. *Endocr Rev* 29(1): 1-41.
 27. Cook, A and C. Cowan (2008) *Adipose*. Stembook. Cambridge (MA)
 28. Ravussin E, Galgani J. The Implication of Brown Adipose Tissue for Humans. *Annual Review of Nutrition*. 2011;31(1):33-47
 29. M. Harms, P. Seale Brown and beige fat: development, function and therapeutic potential *Nat Med*, 19 (2013), pp. 1252-1263
 30. A. Park, WK Kim, K.H. Bae Distinction of White, beige and Brown adipocytes derived from mesenchymal stem cell *World J Stem Cells*, 6(2014), pp. 33-42.
 31. M. Vaughan The production and release of glycerol by adipose. Tissue incubated in vitro *J Biol Chem*, 237 (1962), pp. 3354-3358
 32. V. Large, O. Peroni, D. Letexier, H. Ray, M. Beylot Metabolism of lipids in human white adipocyte *Diabetes Metab*, 30 (2004), pp. 294-309
 33. Wajchenberg BL. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. *Endocr Rev* 2000; 21: 679–738.
 34. Gesta S, Tseng Y, Kahn C. Developmental Origin of Fat: Tracking Obesity to Its Source. *Cell*. 2007;131(2):242-256.
 35. Amer P. Differences in lipolysis between human subcutaneous and omental adipose tissues. *Ann Med* 1995; 27: 435–438.
 36. Lemieux S, Despres SP. Metabolic complications of visceral obesity: contribution to the etiology of life of type 2 diabetes and implications for prevention and treatment. *Diabetes Metab* 1994; 20: 375–393.
 37. Ahima R. Adipose Tissue as an Endocrine Organ. *Obesity*. 2006;14:242S-249S.
 38. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003; 112: 1796–1808.
 39. Lemieux I, Pascot A, Prud'homme D, Alméras N, Bogaty P, Nadeau A, Bergeron J, Després JP. Elevated C-reactive protein: another component of the atherothrombotic profile of abdominal obesity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21: 961–967.

40. Pepys MB, Hirschfield C-M. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest* 2003; 111: 1805–1812.
41. Otto T, Lane M. Adipose Development: From Stem Cell to Adipocyte. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*. 2005;40(4):229-242.
42. Rosen E, Spiegelman B. Molecular Regulation of Adipogenesis. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. 2000;16(1):145-171.
43. Rosen E, Spiegelman B. Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis. *Nature*. 2006;444(7121):847-853.
44. Klötting N, Fasshauer M, Dietrich A, et al. Insulin-sensitive obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2010;299:E506–15.
45. Hoffstedt J, Arner E, Wahrenberg H, et al. Regional impact of adipose tissue morphology on the metabolic profile in morbid obesity. *Diabetologia*. 2010;53:2496–503.
46. Spalding KL, Arner E, Westermark PO, et al. Dynamics of fat cell turnover in humans. *Nature*. 2008;453:783–7.
47. Blüher M. Adipose tissue dysfunction contributes to obesity related metabolic diseases. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2013;27:163–77.
48. Arner E, Westermark PO, Spalding KL, et al. Adipocyte turnover: relevance to human adipose tissue morphology. *Diabetes*. 2010;59:105–9.
49. Hoffstedt J, Arner E, Wahrenberg H, et al. Regional impact of adipose tissue morphology on the metabolic profile in morbid obesity. *Diabetologia*. 2010;53:2496–503
50. Klötting N, Fasshauer M, Dietrich A, et al. Insulin-sensitive obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2010;299:E506–15.
51. Cotillard A, Poitou C, Torcivia A, et al. Adipocyte size threshold matters: link with risk of type 2 diabetes and improved insulin resistance after gastric bypass. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99:E1466–70.
52. Salans LB, Knittle JL, Hirsch J. The role of adipose cell size and adipose tissue insulin sensitivity in the carbohydrate intolerance of human obesity. *J Clin Invest*. 1968;47:153–65.
53. Stern JS, Batchelor BR, Hollander N, Cohn CK, Hirsch J. Adipose-cell size and immunoreactive insulin levels in obese and normal-weight adults. *Lancet*. 1972;2:948–51
54. Blüher M. Are there still healthy obese patients? *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2012;19:341–6.
55. Skurk T, Alberti-Huber C, Herder C, Hauner H. Relationship between adipocyte size and adipokine expression and secretion. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92:1023–33.
56. Hoffstedt J, Arner E, Wahrenberg H, et al. Regional impact of adipose tissue morphology on the metabolic profile in morbid obesity. *Diabetologia*. 2010;53:2496–503.

57. Canello R, Henegar C, Viguerie N, et al. Reduction of macrophage infiltration and chemoattractant gene expression changes in white adipose tissue of morbidly obese subjects after surgery-induced weight loss. *Diabetes*. 2005;54:2277–86.
58. Andersson DP, Eriksson Hogling D, Thorell A, et al. Changes in subcutaneous fat cell volume and insulin sensitivity after weight loss. *Diabetes Care*. 2014;37:1831–6.
59. Heinonen S, Saarinen L, Naukkarinen J, et al. Adipocyte morphology and implications for metabolic derangements in acquired obesity. *Int J Obes (Lond)*. 2014.
60. Stienstra R, Stefan N. Tipping the inflammatory balance: inflammasome activation distinguishes metabolically unhealthy from healthy obesity. *Diabetologia*. 2013;56:2343–6.
61. Cotillard A, Poitou C, Torcivia A, Bouillot J, Dietrich A, Klöting N et al. Adipocyte Size Threshold Matters: Link with Risk of Type 2 Diabetes and Improved Insulin Resistance After Gastric Bypass. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2014;99(8):E1466-E1470.
62. Kaur J. A Comprehensive Review on Metabolic Syndrome. *Cardiology Research and Practice*. 2014;2014:1-21.
63. Boden G, Lebed B, Schatz M, Homko C, Lemieux S Effects of acute changes of plasma free fatty acids on intramyocellular fat content and insulin resistance in healthy subjects. *Diabetes*. 2001 Jul; 50(7):1612-7.
64. Balbach L, Willaschowski H, Volzke H, Nauck M, Dorr M, Haring R. Serum Prolactin concentrations as risk factor of metabolic syndrome or type 2 diabetes? *BMC Endocr Disord*. 2013; 13:12.
65. Glinborg D, Altinok M, Mumm H, Buch K, Ravn P, Andersen M. Prolactin is associated with metabolic risk and cortisol in 1007 women with polycystic ovary syndrome. *Human Reproduction*. 2014;29(8):1773-1779.
66. Wargner R, Heni M, Linder K et al. Age-dependent association of serum prolactin with glycaemia and insulin sensitivity in humans. *Acta Diabetol*. 2014; 51(1):71-78.
67. Wang T, Lu J, Xu Y, et al. Circulating prolactin associates with diabetes *Care*. 2013;36(7):1974-1980.
68. Chirico V, Cannavo S, Lacquaniti A, et al Prolactin in obese children: a bridge between inflammation and metabolic- endocrine dysfunction. *Clin Endocrinol(Oxf)*. 2013;79:537-544.
69. Kaur J. A Comprehensive Review on Metabolic Syndrome. *Cardiology Research and Practice*. 2014;2014:1-21.
70. Balbach, L., Wallaschowski, H., Völzke, H., Nauck, M., Dörr, M. and Haring, R. (2013). Serum prolactin concentrations as risk factor of metabolic syndrome or type 2 diabetes?. *BMC Endocrine Disorders*, 13(1).
71. Motamed, N., Perumal, D., Zamani, F., Ashrafi, H., Haghjoo, M., Saeedian, F., Maadi, M., Akhavan-Niaki, H., Rabiee, B. and Asouri, M. (2015). Conicity Index

- and Waist-to-Hip Ratio Are Superior Obesity Indices in Predicting 10-Year Cardiovascular Risk Among Men and Women. *Clinical Cardiology*, 38(9), pp.527-534.
72. Ruiz-Herrera X, de Los Ríos EA, Díaz JM, Lerma-Alvarado RM, de la Escalera LM, López-Barrera F, Lemini M, Arnold E, de la Escalera GM, Clapp C, Macotela Y (2017) Prolactin Promotes Adipose Tissue Fitness and Insulin Sensitivity in Obese Males. *Endocri.*158 (1): 56-68.
 73. Wagner, R., Heni, M., Linder, K., Ketterer, C., Peter, A., Böhm, A., Hatzigelaki, E., Stefan, N., Staiger, H., Häring, H. and Fritsche, A. (2013). Age-dependent association of serum prolactin with glycaemia and insulin sensitivity in humans. *Acta Diabetologica*, 51(1), pp.71-78.
 74. Rutkowski, J.M., Stern, J.H. & Scherer, P.E. (2015) The cell biology of fat expansion. *J Cell Biol* 208, 501-512.
 75. Rigo F, Frontera G, Llobera J, Rodríguez T, Borrás I, Fuentespina E. Prevalence of cardiovascular risk factors in the Balearic Islands (CORSAIB Study). *Rev Esp Cardiol* 2005;58(12):1411-9.
 76. Daniels SR, Arnett DK, Eckel RH, Gidding SS, Hayman LL, Kumanyika S et al. Overweight in children and adolescents: pathophysiology, consequences, prevention, and treatment. *Circulation* 2005;111:1999-2012. –Mónica González Bardanca. Tesis doctoral– 226
 77. Weiss R, Dziura J, Burgert TS, Tamborlane WV, Taksali SE, Yeckel CW et al. Obesity and the metabolic syndrome in children and adolescents. *N Engl J Med* 2004;350:2362-74.
 78. Das UN. Is obesity an inflammatory condition?. *Nutrition* 2001;17:953-66.
 79. Steven M, Haffner MD. Abdominal adiposity and cardiometabolic risk: Do we have all the answers?. *T Am J Med* 2007;120:10-7.
 80. Ritchie SA, Connell JMC. The link between abdominal obesity, metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2007;17:31926.
 81. Oda E. The metabolic syndrome as a concept of adipose tissue disease. *Hypertens res* 2008;431:1283-91.
 82. Brown CD, Higgins M, Donato KA, Rohde FC, Garrison R, Obarzanek E et al. Body mass index and the prevalence of hypertension and dyslipidemia. *Obes Res* 2000;8(9):605-19.
 83. Nguyen NT, Magno CP, Lane KT, Hinojosa MW, Lane JS. Association of hypertension, diabetes, dyslipidemia, and metabolic syndrome with obesity: findings from the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999 to 2004. *J Am Coll Surg* 2008;207(6):928-34.
 84. Davis BR, Blaufox MD, Oberman A, Wassertheil-Smoller S, Zimbaldi N, Cutler JA, et al. Reduction in long-term antihypertensive medication requirements. Effects of

- weight reduction by dietary intervention in overweight persons with mild hypertension. *Arch Intern Med* 1993;153(15):1773-82.
85. Dattilo AM, Kris-Etherton PM. Effects of weight reduction non blood lipids and lipoproteins: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr* 1992;56(2):320-8.
 86. Vaverkova H, Harasek D, Novotny D, Jackuliakova D. Apolipoprotein B versus LDL-cholesterol: association with other risk factors for atherosclerosis. *Clin Biochem* 2009;42:1246-51.
 87. Corti R, Hutter R, Badimon JJ, Fuster V. Evolving concepts in the triad of atherosclerosis, inflammation and thrombosis. *J Thromb Thrombolysis* 2004;17:3744.
 88. Fuster V, Moreno PR, Fayad ZA, Corti R, Badimon JJ. Atherothrombosis and high-risk plaque: part I: evolving concepts. *J Am Coll Cardiol* 2005;46:937-54.
 89. Llese AD, Mayer-Davis EJ, Tyroler HA, Davis CE, Keil U, Schmidt MI et al. Familial components of the multiple metabolic syndrome: the ARIC study. *Diabetologia* 1997;40:963-70.
 90. Kissebah AH, Sonnenberg GE, Myklebust J, Goldstein M, Broman K, James RG et al. Quantitative trait loci on chromosomes 3 and 17 influence phenotypes of the metabolic syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:14478-83.
 91. Hamilton MT, Hamilton DG, Zderic TW. Role of low energy expenditure and sitting in obesity, metabolic syndrome, type 2 diabetes, and cardiovascular disease. *Diabetes* 2007;56:2655-67.
 92. Regidor E, Gutiérrez-Fisac JL, Banegas JR, Vicente D, Rodríguez-Artalejo F. Life socioeconomic circumstances, physical inactivity and obesity influences on metabolic syndrome. *Rev Esp Salud Publica*. 2007;81:25-31.
 93. Despres JP, Lemieux I. Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature* 2006;444(7121):881-7
 94. Saltiel AR, Pessin JE. Insulin signaling pathways in time and space. *Trends Cell Biol* 2002;12(2):65-71.
 95. Taniguchi CM, Emanuelli B, Kahn CR. Critical nodes in signalling pathways: insights into insulin action. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2006;7(2):85-96.
 96. Aronis KN, Mantzoros CS. A brief history of insulin resistance: from the first insulin radioimmunoassay to selectively targeting protein kinase C pathways. *Metabolism* 2012;61(4):445-9.
 97. Schenk S, Saberi M, Olefsky JM. Insulin sensitivity: modulation by nutrients and inflammation. *J Clin Invest* 2008;118(9): 2992-3002.
 98. Medema RH, de Vries-Smiths AM, van der Zon GC, et al. Ras activation by insulin and epidermal growth factor through enhanced exchange of guanine nucleotides on p21ras. *Mol Cell Biol* 1993;13(1):155-62.

99. Goalstone M, Carel K, Leitner JW, et al. Insulin stimulates the phosphorylation and activity of farnesyltransferase via the Ras-mitogen-activated protein kinase pathway. *Endocrinology* 1997;138(12):5119–24.
100. Gual P, Le Marchand-Brustel Y, Tanti JF. Positive and negative regulation of ... insulin signaling through IRS-1 phosphorylation. *Biochimie* 2005;87(1):99–109.
101. Zick Y. Ser/Thr phosphorylation of IRS proteins: a molecular basis for insuli resistance. *Sci STKE* 2005(268):e4.
102. Boucher J, Kleinridders A, Kahn C. Insulin Receptor Signaling in Normal and Insulin-Resistant States. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2014;6(1):a009191-a009191.
103. Draznin B. Mitogenic action of insulin: friend, foe or 'frenemy'? *Diabetologia* 2010;53(2):229–33.
104. Palmer B, Clegg D. The sexual dimorphism of obesity. *Molecular and Cellular endocrinology*. 2015;402:113-119.
105. Stubbins R, Holcomb V, Hong J, Núñez N. Estrogen modulates abdominal adiposity and protects female mice from obesity and impaired glucose tolerance. *European Journal of Nutrition*. 2011;51(7):861-870.
106. Viengchareun S, Servel N, Fève B, Freemark M, Lombès M, Binart N. Prolactin receptor Signaling Is Essential for Perinatal Brown Adipocyte Function: A Role for insulin-like Growth Factor-2. *PLoS ONE*. 2008;3(2):e1535.
107. Wallace TM, Levy JC, Mathews DR. Use and abuse of HOMA modeling. *Diabetes Care* 2004;27:1487-1495
108. Amato M, Giordano C. Visceral Adiposity Index: An Indicator of Adipose Tissue Dysfunction. 2018.
109. Valdez R, Seidell JC, Ahn YI, Weiss KM. A new index of abdominal adiposity as an indicator of risk for cardiovascular disease. A cross-population study. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1993; 17: 77-82.