



UNIVERSIDAD  
**NACIONAL**  
DE COLOMBIA

**Niveles séricos de Galanina en hombres jóvenes  
obesos no diabéticos y no obesos sanos durante una  
prueba de tolerancia oral a la glucosa**

**Héctor Fabio Sandoval Alzate**

Universidad Nacional de Colombia  
Facultad de Medicina  
Departamento de Medicina Interna  
Unidad de Endocrinología  
Bogotá, Colombia  
2016

# **Niveles séricos de Galanina en hombres jóvenes obesos no diabéticos y no obesos sanos durante una prueba de tolerancia oral a la glucosa**

**Héctor Fabio Sandoval Alzate**

Trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:  
Especialista en Endocrinología

Director:  
Ph.D. Jorge Eduardo Caminos Pinzón  
Codirector:  
Dr. Juan Manuel Arteaga Díaz

Línea de Investigación:  
Endocrinología y Nutrición

Grupo de Investigación:  
Endocrinología y Nutrición Básica A1

Universidad Nacional de Colombia  
Facultad de Medicina  
Departamento de Medicina Interna  
Unidad de Endocrinología  
Bogotá, Colombia  
2016

*A Dios, por ser siempre ese sentimiento de alegría y tranquilidad en cada etapa de mi vida,  
espero ser digno por tan valioso esfuerzo.*

*A mi hijo y a mi esposa, por ser los pilares fundamentales en todo lo que soy,  
por su incondicional apoyo perfectamente mantenido a través del tiempo.  
Todo este trabajo ha sido posible gracias a ellos.*

# Agradecimientos

*Al Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación –Colciencias- con el cual se obtuvo la financiación del proyecto maestro “Identificación de Potenciales Blancos Terapéuticos para la Obesidad Humana Mediante el Análisis del Transcriptoma de Estómago e Íleon de Rata” en la convocatoria 657-2014 con el código 110165740394 y del cual hace parte este trabajo.*

Al profesor Jorge Eduardo Caminos Pinzón, Director del departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia, investigador principal del proyecto maestro “Identificación de Potenciales Blancos Terapéuticos para la Obesidad Humana Mediante el Análisis del Transcriptoma de Estómago e Íleon de Rata” del cual hace parte este trabajo y por sus infinitas enseñanzas y participación en el desarrollo de este documento.

Al Dr Juan Manuel Arteaga Díaz, Profesor titular del departamento de Medicina Interna, Unidad de Endocrinología Universidad Nacional de Colombia y codirector de este trabajo, por su confianza, apoyo y colaboración.

A mis profesores de especialidad en Endocrinología, Dr. Roberto Franco Vega y Dr. Luis Miguel Maldonado Acosta, por sus constantes enseñanzas en el día a día con nuestros pacientes.

A mis compañeros de especialidad y amigos, Yessica Agudelo Zapata y Camilo Andrés Quintero Cadavid, por su apoyo y compañía en esta etapa de mi vida.

Por último y muy especialmente, a ellos, a nuestros pacientes, que son y serán siempre nuestra razón de ser.



## Resumen

Glanina (GAL) es un neuropéptido que participa en la homeostasis del metabolismo energético y en el control del peso corporal. El objetivo de este estudio fue investigar el comportamiento de los niveles séricos de GAL durante una prueba de tolerancia oral a la glucosa (PTOG) en hombres jóvenes obesos no diabéticos y no obesos sanos. Este estudio de corte transversal incluyó a 30 hombres jóvenes obesos no diabéticos (mediana 22 años; media IMC 37.8 kg/m<sup>2</sup>) y a 30 hombres no obesos sanos pareados por edad (mediana 23 años; media IMC 22.1 kg/m<sup>2</sup>). GAL sérica fue medida durante la PTOG (a los 0, 30, 60 y 120 minutos). En este estudio se demostró que los niveles séricos de GAL tuvieron una reducción durante la PTOG cuando se compararon con su nivel basal en el grupo de hombres sanos. Contrariamente, los niveles séricos de GAL tuvieron un incremento significativo en el grupo de obesos. Los niveles séricos de GAL también tuvieron un valor más alto en el grupo de obesos comparados con los sanos tanto en el valor basal como en cada uno de los momentos de la PTOG ( $p < 0.001$ ). Los niveles de GAL sérica tuvieron una correlación positiva con IMC, grasa corporal total, grasa visceral, HOMA-IR, colesterol total, triglicéridos, Leptina y tuvieron una correlación negativa con Adiponectina. En conclusión, los niveles séricos de GAL fueron significativamente más altos en el grupo de obesos, comparados con el grupo de no obesos sanos durante una PTOG.

Palabras clave: Galanina, obesidad, resistencia a la insulina, neuropéptidos.

## Abstract

Galanin (GAL) is a neuropeptide involved in the homeostasis of energy metabolism and body weight control. The objective of this study was to investigate the serum levels of GAL during an oral glucose tolerance test (OGTT) in healthy lean young men and obese non-diabetic young men. This cross sectional study included 30 obese non-diabetic young men (median 22 years; mean BMI 37.8 kg/m<sup>2</sup>) and 30 age-matched healthy lean men (median 23 years; mean BMI 22.1 kg/m<sup>2</sup>). Serum GAL was determined during OGTT (at 0, 30, 60 and 120 minutes). Within the results of this study include that serum GAL levels showed a reduction during OGTT compared with basal levels in the lean subjects group. Conversely, serum GAL levels increased significantly during OGTT in obese subjects. Serum GAL levels were also higher in obese non diabetic men compared with lean subjects during fasting and in every period of the OGTT ( $p < 0.001$ ). Serum GAL levels were positively correlated with BMI, total fat, visceral fat, HOMA-IR, total cholesterol, triglycerides, Leptin and were negatively correlated with Adiponectin. In conclusion, serum GAL levels are significantly higher in the obese group compared with lean subjects during an OGTT.

Keywords: Galanin, obesity, insulin resistance, neuropeptides.

# Contenido

	Pág.
Resumen.....	V
Lista de figuras.....	VIII
Lista de tablas.....	IX
Lista de símbolos y abreviaturas.....	X
Introducción .....	1
1. Marco teórico .....	3
1.1 Generalidades de Galanina.....	3
1.2 Galanina en sistema nervioso central .....	4
1.3 Participación de Galanina en la homeostasis de la Glucosa.....	4
1.4 Galanina y esteroides sexuales.....	6
2. Objetivos.....	7
2.1 Objetivo general.....	7
2.2 Objetivos específicos.....	7
3. Materiales y métodos .....	8
3.1 Pacientes .....	8
3.2 Métodos .....	9
3.3 Análisis estadístico.....	10
4. Resultados .....	11
4.1 Descripción de la población y reportes de los parámetros antropométricos y bioquímicos.....	11
4.2 Correlaciones entre Galanina y mediciones antropométricas, índice HOMA-IR, perfil de lípidos y las adipocitoquinas Leptina y Adiponectina.....	18
5. Discusión.....	26
6. Conclusiones.....	30
7. Bibliografía .....	31

## Lista de figuras

	Pág.
Figura 1.....	13
Figura 2.....	14
Figura 3.....	15
Figura 4.....	16
Figura 5.....	17
Figura 6.....	18
Figura 7.....	19
Figura 8.....	20
Figura 9.....	21
Figura 10.....	23
Figura 11.....	24

# Lista de Tablas

	Pág.
Tabla 1.....	11
Tabla 2.....	22
Tabla 3.....	25

## Lista de símbolos y abreviaturas

AMPc	Adenosín monofosfato cíclico
AMPK	Proteína quinasa activada por AMP
AKT	Proteína quinasa B
ARNm	Acido Ribonucleico mensajero
c-HDL	Colesterol de alta densidad
c-LDL	Colesterol de baja densidad
GAL	Galanina
GALP	Péptido similar a Galanina
GALR	Receptor de Galanina
GIP	Polipéptido insulínico dependiente de glucosa
GLP-1	Péptido similar a glucagón tipo 1
GLUT4	Transportador de glucosa tipo 4
IL-6	Interleucina 6
IMC	Índice de masa corporal
IRS	Substrato del receptor de Insulina
NPV	Núcleo paraventricular del Hipotálamo
PKC	Proteína quinasa C
PTOG	Prueba de tolerancia oral a la glucosa
TNF alfa	Factor de necrosis tumoral alfa

# Introducción

El sobrepeso y la obesidad se definen como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud y es considerado actualmente como un problema mundial que ha ido creciendo con el paso del tiempo. En el boletín No 311 de enero de 2015, la Organización Mundial de la Salud (OMS) informó que en el año 2014, en el mundo habían más de 1900 millones de personas adultas mayores de 18 años con exceso de peso, y de éstas, 600 millones presentaban obesidad, correspondiente al 39% y 13% de la población en este grupo etario. Además, en el mismo reporte, se describe que 42 millones de niños menores de 5 años presentaban sobrepeso u obesidad (1). La Encuesta Nacional de la Situación Nutricional en Colombia (ENSIN) en el año 2010, reportó un aumento de la población en estado de exceso de peso en 5,3 puntos porcentuales en comparación al año 2005, encontrándose que 1 de cada 2 colombianos están en exceso de peso, con un 51,2% de la población y de estos, un 16,5% en rango de obesidad (2).

La obesidad es el resultado de la pérdida de equilibrio en la balanza entre la ingesta calórica y la energía consumida en los diferentes procesos fisiológicos. Las principales causas del sobrepeso y la obesidad son atribuibles a la dieta, a la respuesta fisiológica a los nutrientes ingeridos, a la microbiota del individuo y al estilo de vida sedentario. Entre las principales consecuencias del sobrepeso y la obesidad, se encuentran las enfermedades crónicas no transmisibles tales como la diabetes mellitus tipo 2, la hipertensión arterial, las enfermedades cardiovasculares y la asociación con diferentes tipos de cáncer como el cáncer de colón y el cáncer de endometrio (1).

En cuanto a la respuesta fisiológica a los nutrientes ingeridos, el tracto gastrointestinal juega un papel fundamental. Considerado como uno de los órganos endocrinos más extensos del organismo, al haberse identificado múltiples moléculas con actividad hormonal, tiene una enorme participación en la aproximación al estudio de la obesidad, dado que es el responsable de producir hormonas involucradas en la captación de agua, en la captación de nutrientes, en el control del peso corporal y el balance energético mediante la regulación de circuitos metabólicos y neuronales donde se incluye la influencia de estas moléculas sobre los núcleos centrales del apetito/saciedad. El estudio de las interacciones neuroendocrinas de los diferentes ejes que involucran el tracto gastrointestinal, ha permitido la identificación de diferentes hormonas que regulan el peso corporal y que son blanco terapéutico para la obesidad. Las señales periféricas producidas en el tracto gastrointestinal y tejidos como el tejido adiposo, son integradas a nivel del sistema nervioso central, principalmente en el hipotálamo, para mediar las señales de corta y larga duración relacionadas con el balance

energético. Esta comunicación periférica–central y viceversa, es la que permite en parte el control de la homeóstasis energética corporal. Sin embargo, la obesidad es un claro ejemplo donde este equilibrio se encuentra alterado.

Con el objetivo de mejorar la comprensión del comportamiento de los péptidos liberados por las células intestinales en los procesos fisiopatológicos de la obesidad, se construyó el proyecto maestro de investigación *“Identificación de Potenciales Blancos Terapéuticos para la Obesidad Humana Mediante el Análisis del Transcriptoma de Estómago e Íleon de Rata”* presentado a la convocatoria 657-2014 del Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación –Colciencias- con el código 110165740394 con el cual se obtuvo su financiación. En el proyecto *“Identificación de Potenciales Blancos Terapéuticos para la Obesidad Humana Mediante el Análisis del Transcriptoma de Estómago e Íleon de Rata”* se determinó la expresión diferencial de cientos de genes en mucosa gástrica y de íleon, bajo diferentes condiciones fisiológicas en ratas *Zucker “lean”* y obesas.

De esta manera, uno de los genes identificados con expresión génica diferencial fue el gen de Galanina, con lo que en el presente trabajo, se pretende evaluar el comportamiento de esta molécula en humanos, en la población de hombres jóvenes sanos y hombres jóvenes obesos no diabéticos e intentar aclarar la función de este péptido en obesidad.

# 1. Marco teórico

## 1.1 Generalidades de Galanina

Galanina (GAL) es un péptido de 29/30 aminoácidos según la especie, descubierto por Tatemoto K. y cols., en el año de 1.983 a partir de intestino de porcino, cuyo nombre se deriva del hecho de que contiene en su extremo N-terminal el aminoácido glicina y en su extremo C-terminal el aminoácido alanina (3). Se ha relacionado con una variedad de funciones fisiológicas como la alimentación, el metabolismo energético, el comportamiento sexual, el aprendizaje, la memoria, la inflamación y la nocicepción (4). GAL se encuentra ampliamente distribuida en el sistema nervioso central y periférico, en el tejido adiposo, músculo esquelético y en el tracto gastrointestinal de diferentes mamíferos (4). GAL hace parte de la familia de péptidos de GAL y comprenden los miembros: GAL, péptido similar a GAL (GAL-like peptide, GALP) y Alarin (5). Se sintetiza inicialmente como parte de una proteína precursora mayor, la preprogalanina, cuyo gen es una región de 35-kb localizado en el cromosoma 11, posición 11q13.3-q13.5. En las especies en donde se ha encontrado GAL, la porción N-terminal tiende a conservarse completamente, mientras la región C-terminal se modifica ligeramente (3).

GAL ejerce sus efectos biológicos por medio de tres receptores (GALR) acoplados a proteínas G: GALR1, GALR2 y GALR3, aplicando sus efectos por múltiples vías de señalización (4). GALR1 está distribuido principalmente en hipotálamo, amígdala, hipocampo, tálamo, tallo cerebral, ganglios de la raíz dorsal y medula espinal; también se ha localizado en corazón, hígado, pulmón, riñón, intestino, músculo, adipocitos y testículos de ratas (4). Por su parte GALR2 se distribuye en corteza cerebral, hipotálamo, hipocampo, amígdala, cerebelo, ganglios de la raíz dorsal, corazón, hígado, pulmón, riñón, intestino, útero, ovario, estómago páncreas y testículo. (4). Con respecto a GALR3, se expresa en hipotálamo, ganglio de la raíz dorsal, *locus coeruleus* y amígdala (4). GALR1 y GALR3 se acoplan selectivamente a la proteína G/G<sub>i</sub> inhibitoria (6,7), mientras que GALR2 tiene una cascada de señalización más compleja, debido a la interacción con varias proteínas G, incluyendo G<sub>i</sub> y G<sub>q/11</sub> produciendo una respuesta celular tanto inhibitoria como excitatoria (8). Si bien, su presencia a diferentes niveles y en diferentes órganos, se ha demostrado que la GAL circulante medida, proviene principalmente de su producción intestinal (9).

## 1.2 Galanina en sistema nervioso central

Estudios iniciales se enfocaron en entender la función de GAL en el sistema nervioso central, evidenciado una estrecha relación entre la alimentación y el peso corporal (5). Kyrkouli et al, demostraron que la inyección de GAL en la región del núcleo paraventricular (NPV) del hipotálamo, estimulaba la ingesta de alimento en modelo animal hasta en un 200% a 300% (10). Corwin, también demostró que la inyección de GAL en el NPV del hipotálamo aumentó la ingesta de alimentos, y que este efecto, pudo ser bloqueado por la administración central de los antagonistas de GAL, el C7 y el M40 (11). Adicionalmente, se ha demostrado que los efectos de GAL, relacionados con la regulación ingesta de alimento y el control del peso corporal, son mediados a través de GalR1, mediante el empleo del agonista selectivo M617 (12). De esta manera, diferentes estudios han demostrado la relación de GAL con la homeostasis energética y el control del peso corporal.

## 1.3 Participación de Galanina en la homeostasis de la Glucosa

Se ha demostrado que GAL participa en la regulación del metabolismo y la homeostasis de la glucosa a través de mecanismos de regulación de la liberación de insulina y de sensibilidad a esta hormona (13–15). Inicialmente, se describió en modelo animal que GAL inhibía la secreción de insulina en perros (16), cerdos y ratones (17), pero este efecto no parece ser tan eficaz en humanos (18,19). Recientemente se ha demostrado en cultivo de células L y K del intestino delgado de murinos, que GAL y el agonista selectivo del receptor GAL1R, M617, inhiben la secreción del polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP) y del péptido similar a glucagón tipo 1 (GLP-1) (20) por lo que, por lo menos en animal, GAL parece tener un efecto anti-incretínico en experimentos de administración de GAL sintética, así como otros efectos de reducción de liberación de insulina por hiperpolarización de la célula B pancreática (21). Poritsanos et al., en un modelo de ratón obeso GAL-Tg, demostró que los niveles incrementados de GAL pueden contribuir al desarrollo de síndrome metabólico (22).

De manera contraria, en animales y humanos con alteraciones metabólicas, GAL parece tener un efecto fisiológico muy diferente a lo descrito previamente con experimentos de infusión de GAL sintética. En modelo animal con cambios metabólicos en GAL, se demostró que fácilmente desarrollaron diabetes mellitus 2 (13) y en ratones *knock out* del gen GAL hicieron compromiso en el metabolismo de los carbohidratos (23), mientras que en ratones

transgénicos homocigotos de GAL mostraron una reducción en la resistencia a la insulina y un incremento en el metabolismo de lípidos y carbohidratos (22). Bu et al, también demostraron que con la coadministración de GAL e insulina, mejoraron la translocación de GLUT4 a la membrana celular con la consecuente mejoría de la sensibilidad a la insulina en ratas con diabetes tipo 2 (24).

Así mismo en humanos, en individuos obesos, los niveles séricos de GAL se han encontrado en valores mucho más elevados al ser comparados con controles sanos (25,26). De la misma manera, se ha demostrado también que los niveles de GAL están significativamente más elevados en mujeres embarazadas con diabetes gestacional (27). Las concentraciones plasmáticas de GAL parecen ser reguladas entonces, por los niveles circulantes de glucosa e insulina (28). La hiperglicemia y el hiperinsulinismo inducen a la elevación de los niveles circulantes de GAL, por lo que se postula que la GAL endógena en estos contextos metabólicos favorece la translocación de los transportadores GLUT4, tratando de mejorar la sensibilidad a la insulina como mecanismo compensatorio, e incluso se ha demostrado una reducción de la actividad del GALR1 en estos mismos escenarios, por lo que se ha planteado a este fenómeno como “*resistencia a la actividad de GAL*” en sujetos con diabetes mellitus tipo 2 (27,29), similar a su fenómeno homólogo de resistencia a la insulina.

Otro estudio sobre el beneficio de GAL en el metabolismo de la glucosa ha sido publicado por Liang Y. y cols, quienes encontraron en modelo animal un aumento de la translocación de los transportadores GLUT4 en los adipocitos de ratas diabéticas, al inducir la liberación de GAL con el ejercicio y al ser comparados con ratas sedentarias. En este mismo estudio, se encontró un efecto inhibitorio sobre la expresión de ARNm de los GLUT4 al utilizar un antagonista de GALR, el M3 (15). He B. y cols, también demostraron un efecto similar a Liang Y. pero esta vez sobre las células musculares de ratas con diabetes tipo 2 (14).

De acuerdo a los estudios realizados en cuanto al control glucémico, GAL tiene un comportamiento diferente en seres vivos sin patología metabólica, dando como resultado que tras su administración exógena, tiene un efecto predominantemente inhibitorio sobre la secreción de insulina en la célula B pancreática por diferentes mecanismos. Por otro lado, al realizar la medición de GAL endógena y tratar de entender sus efectos en seres vivos con obesidad y diabetes mellitus 2, parece tener un efecto benéfico al mejorar la sensibilidad a la insulina en estos escenarios, por mecanismos dentro de los cuales se encuentran el aumento de la translocación de los transportadores GLUT4 a la membrana de los adipocitos y de las células musculares.

## 1.4 Galanina y esteroides sexuales

Otro aspecto a destacar del comportamiento de GAL en el ser humano, es que según estudios previos tiene un comportamiento con dimorfismo sexual. Entre mujeres con índice de masa corporal normal (IMC) y mujeres en sobrepeso, GAL fue significativamente más baja si estas mujeres estaban en edad post-menopáusicas comparadas con mujeres jóvenes, sin embargo, esta diferencia se perdía si las mujeres se encontraban con un IMC en rango de obesidad (25). Este comportamiento en mujeres, se encontró previamente en modelo animal, donde la expresión de GAL se incrementó significativamente con terapia estrogénica en ratas femeninas ooforectomizadas (30). Ahora, en cuanto a las diferencias con el género masculino, Grenback y cols, demostraron unos niveles mayores en hombres cuando se compararon con los obtenidos en mujeres, indicando un probable efecto más acentuado ante la presencia de andrógenos (31) .

## 2. Objetivos

### 2.1 Objetivo general

- Determinar el comportamiento de los niveles séricos de GAL durante una PTOG en un grupo de hombres jóvenes obesos no diabéticos y compararlos con un grupo de hombres jóvenes sanos no obesos.

### 2.2 Objetivos específicos

- Determinar los niveles séricos de GAL en tiempo basal (previo a la carga oral de glucosa) y durante una PTOG a los 30, 60 y 120 minutos en un grupo de hombres jóvenes obesos no diabéticos.
- Determinar los niveles séricos de GAL en tiempo basal (previo a la carga oral de glucosa) y durante una PTOG a los 30, 60 y 120 minutos en un grupo de hombres jóvenes sanos no obesos.
- Establecer la magnitud de las diferencias de los niveles séricos de GAL entre los dos grupos de estudio en tiempo basal y durante la PTOG.
- Hacer mediciones de parámetros antropométricos, bioquímicos metabólicos y de composición corporal por Absorciometría de Energía Dual de Rayos X en el grupo de hombres jóvenes obesos no diabéticos y en el grupo de hombres jóvenes sanos no obesos y establecer la magnitud de sus diferencias.
- Establecer las correlaciones entre los niveles séricos de GAL y mediciones antropométricas, bioquímica metabólica incluyendo las adipocitoquinas Leptina y Adiponectina, y mediciones de composición corporal entre los dos grupos.

## 3. Materiales y métodos

### 3.1 Pacientes

El protocolo de este estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia como parte del proyecto matriz “*Identificación de potenciales blancos terapéuticos para la obesidad humana mediante el análisis del transcriptoma de estómago e íleon de rata*”. Los procedimientos fueron claramente explicados y todos los participantes firmaron el consentimiento informado escrito antes de su participación en el estudio.

Los criterios de inclusión fueron ser hombre con edad  $\geq 18$  años y  $\leq 30$  años, en el grupo de obesos tener un IMC  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup> y en el grupo de no obesos un IMC entre 20 y 25 kg/m<sup>2</sup>; los criterios de exclusión fueron tener un diagnóstico previo o durante el estudio de diabetes mellitus, tener un diagnóstico de cualquier enfermedad crónica (enfermedad renal, enfermedad coronaria, enfermedad tiroidea, entre otras), o pacientes que hubiesen sido llevados a cualquier tipo de cirugía bariátrica. También se excluyeron pacientes que venían recibiendo cualquier medicación en los últimos doce meses tales como levotiroxina, metformina u hormonas esteroides.

El reclutamiento de pacientes se llevó a cabo durante el año 2.015 en dos grupos de estudio. El primer grupo incluyó a 30 hombres jóvenes obesos no diabéticos con una mediana de edad de 23 (21-26) años y una media de IMC (índice de masa corporal) 37.83 ( $\pm 4.92$ ) kg/m<sup>2</sup>; el segundo grupo fue pareado por edad y lo conformaron 30 hombres jóvenes sanos no obesos con una mediana de edad de 22 (21-26) años y una media de IMC 22.18 ( $\pm 1.75$ ) kg/m<sup>2</sup>.

Todos los participantes fueron sometidos a evaluación en consulta médica donde se les elaboró su historia clínica donde se consignaron sus antecedentes, se verificaron los criterios de inclusión y la ausencia de criterios de exclusión, así como la realización de un examen físico dirigido; de la misma manera se les realizó una historia clínica nutricional y la toma de medidas antropométricas por parte de una nutricionista. La composición corporal fue evaluada por medio Absorciometría de Energía Dual de Rayos X (DXA, Dual- Energy X-ray absorptiometry) Lunar Radiation, Madison, WI.

Obesidad fue definida como un IMC  $>30 \text{ kg/m}^2$ , de acuerdo a la definición y clasificación de la Organización Mundial de la Salud y a los criterios de clasificación del *International Obesity Task Force* (32).

## 3.2 Métodos

Este es un estudio de corte transversal y hace parte del proyecto matriz “*Identificación de potenciales blancos terapéuticos para la obesidad humana mediante el análisis del transcriptoma de estómago e íleon de rata*”, el cual fue avalado y financiado por el Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación - Colciencias - en la convocatoria 657-2014 bajo el código número 110165740394. En el proyecto “*Identificación de Potenciales Blancos Terapéuticos para la Obesidad Humana Mediante el Análisis del Transcriptoma de Estómago e Íleon de Rata*” se determinó la expresión diferencial de cientos de genes en mucosa gástrica y de íleon mediante metodologías de mRNA-Seq y micro RNA-Seq, bajo diferentes condiciones fisiológicas en ratas Zucker “lean” y obesas. De esta manera, uno de los genes identificados con expresión diferencial fue el gen de GAL, con lo que se pretende evaluar el comportamiento de esta molécula en hombres jóvenes sanos y hombres jóvenes obesos no diabéticos.

Todos los sujetos fueron citados para la realización de la PTOG a las 07:00 horas, luego de un ayuno nocturno mayor a 8 horas, con una obtención de muestra de sangre venosa periférica al tiempo 0 de la prueba (basal); posteriormente se les administró a cada uno 75g/300ml de glucosa en solución por vía oral, con nuevas tomas de muestra de sangre venosa periférica a los 30, 60 y 120 minutos completando así la PTOG.

Las muestras fueron llevadas a centrifugación a 1000g por 15 minutos, separadas y almacenadas a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta la realización de los ensayos.

GAL sérica humana fue medida usando un kit de ELISA comercialmente disponible (catálogo número CEB084Hu - Wuhan USCN Business Co., Ltd). Los coeficientes de variación (CVs) intra e inter ensayo fueron  $<10\%$  y  $<12\%$  respectivamente.

Se midieron igualmente niveles séricos de glucosa, insulina, triglicéridos, colesterol total, colesterol HDL (c-HDL), colesterol LDL (c-LDL), colesterol VLDL (c-VLDL) (33). Se calculó a partir de estos datos el índice HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment – Insulin Resistance) en todos los sujetos, como lo describió Matthews *et al.* (34).

Las concentraciones de Leptina sérica humana fueron medidas por un kit comercial de ELISA (catálogo número KAC2281 – Thermo Fisher Scientific Inc.) con unos CVs intra e inter ensayo  $<3,9\%$  y  $<5,3\%$  respectivamente. Adiponectina sérica humana fue medida con un kit comercial de ELISA (catálogo número KHP0041 – Thermo Fisher Scientific Inc.) con unos CVs intra e interensayo  $<3,8\%$  y  $<5,5\%$  respectivamente.

Todas las muestras fueron analizadas en duplicado y el valor reportado corresponde a la media de las dos mediciones.

### 3.3 Análisis estadístico

Para el análisis estadístico fue usado el software estadístico *R* (versión 3.2.1). Para determinar la distribución normal de los datos se usó la prueba de Shapiro. Los resultados con distribución normal son mostrados como medias y desviaciones estándar (DS); los datos con distribución no-normal son mostrados como medianas y rangos intercuartiles (IQR). La significancia estadística entre los dos grupos fue determinada con una prueba *T de Student* si las variables en ambos grupos tenían una distribución normal. Si una o ambas variables tenían una distribución no-normal, se realizó un análisis no paramétrico usando una prueba signo-rango de Wilcoxon.

Se realizó un análisis univariado para evaluar la correlación entre los niveles de GAL sérica y las variables antropométricas y bioquímicas, usando el coeficiente de correlación de Pearson para los datos de distribución normal o el coeficiente de correlación de Spearman para los datos con distribución no-normal.

Un análisis de regresión múltiple fue realizado para evaluar la relación independiente entre los niveles séricos de GAL basal con respecto a las otras variables. En los tiempos de la PTOG (30, 60 y 120 minutos) se realizó un análisis de regresión múltiple evaluando los niveles de insulina y glucosa en comparación con los niveles séricos de GAL en esos mismos momentos.

Los resultados fueron considerados estadísticamente significativos en todos los análisis con un valor de  $p < 0.05$ .

## 4. Resultados

### 4.1 Descripción de la población y reportes de los parámetros antropométricos y bioquímicos

En la tabla 1 se hace una descripción de los parámetros antropométricos, clínicos, bioquímicos y hormonales de los sujetos involucrados en el estudio.

**Tabla 1. Parámetros antropométricos, clínicos y bioquímicos del grupo de hombres jóvenes no obesos y del grupo de hombres jóvenes obesos no diabéticos.**

Variable	Hombres jóvenes no obesos <i>n</i> =30	Hombres jóvenes Obesos <i>n</i> =30	Valor de <i>p</i>
Edad, años (mediana, IQR)	23 (21-26)	22 (21-26)	0.49
IMC, Kg/m <sup>2</sup> (media ±DS)	22.18 (± 1.75)	37.83 (± 4.92)	<0.001
Circunferencia de cintura, cm (media ±DS)	78.20 (± 4.45)	110.92 (± 8.54)	<0.001
Grasa corporal total, % (media ±DS)	21.14 (± 4.46)	45.07 (±3.70)	<0.001
Grasa visceral, % (media ±DS)	29.93 (± 6.68)	55.66 (± 3.16)	<0.001
PA sistólica, mmHg (media ±DS)	111.90 (± 10.73)	129.43 (± 12.12)	<0.001
PA diastólica, mmHg (media ±DS)	70.27 (± 7.90)	85.03 (± 10.45)	<0.001
PA media, mmHg (media ±DS)	82.24 (± 6.98)	100.07 (± 9.70)	<0.001
Glucemia basal, mg/dL (mediana, IQR)	82.50 (78.0-86.25)	87.5 (79.25-94.75)	0.058
Glucemia 30 min, mg/dL (mediana, IQR)	116 (102.20-128.80)	125 (108.80-142.80)	0.101
Glucemia 60 min, mg/dL (media ±DS)	86.87 (± 19.36)	112.40 (± 31.28)	<0.001
Glucemia 120 min, mg/dL (media ±DS)	75.17 (± 13.75)	90.77 (± 27.63)	0.008
Insulina basal, µUI/mL (media ±DS)	7.93 (± 3.08)	28.06 (± 12.77)	<0.001
Insulina 30 min, µUI/mL (mediana, IQR)	74.10 (41.58-109.40)	213.70 (128.7-262.2)	<0.001
Insulina 60 min, µUI/mL (mediana, IQR)	50.50 (32.55-73.43)	134.60 (95.25-184.40)	<0.001
Insulina 120 min, µUI/mL (mediana, IQR)	23.30 (12.88-35.92)	74.30 (34.22-119.80)	<0.001
HOMA-IR (mediana, IQR)	1.56 (1.01-2.03)	5.77 (3.99-7.70)	<0.001

**Continuación Tabla 1.**

Variable	Hombres jóvenes no obesos n=30	Hombres jóvenes obesos n=30	Valor de p
Colesterol total, mg/dL (media $\pm$ DS)	165.73 ( $\pm$ 25.28)	189.30 ( $\pm$ 27.65)	0.001
Colesterol de HDL, mg/dL (mediana, IQR)	47.0 (40.0-52.75)	39.0 (35.0-43.0)	<0.001
Colesterol de LDL, mg/dL (media $\pm$ DS)	100.77 ( $\pm$ 22.70)	113.43 ( $\pm$ 27.0)	0.054
Colesterol de VLDL, mg/dL (mediana, IQR)	16.60 (13.70-21.60)	30.90 (21.70-44.05)	<0.001
Triglicéridos, mg/dL (mediana, IQR)	83.0 (68.50-109.80)	158.50 (116.80-220.20)	<0.001
Galanina basal, pg/mL (mediana, IQR)	47.47 (42.13-54.70)	64.46 (57.75-70.32)	<0.001
Galanina 30 min, pg/mL (media $\pm$ DS)	46.18 ( $\pm$ 9.79)	73.48 ( $\pm$ 13.97)	<0.001
Galanina 60 min, pg/mL (media $\pm$ DS)	43.57 ( $\pm$ 13.34)	75.25 ( $\pm$ 14.35)	<0.001
Galanina 120 min, pg/mL (mediana, IQR)	42.68 (36.95-50.41)	77.18 (68.62-83.25)	<0.001
Leptina, pg/mL (mediana, IQR)	7389 (6722-7882)	21640 (17090-32110)	<0.001
Adiponectina, $\mu$ g/mL (media $\pm$ DS)	15.09 ( $\pm$ 1.92)	13.29 ( $\pm$ 1.96)	0.001

Los datos con distribución normal están representados como medias y desviaciones estándar (DS). Los datos con distribución no-normal están representados como mediana y rango intercuartil (IQR). Si las variables en ambos grupos tienen una distribución normal, se realizó una prueba-T. Si una o ambas variables tenían una distribución no-normal, se realizó un análisis no paramétrico usando una prueba signo-rango de Wilcoxon. Un valor de  $p < 0.05$  fue considerada estadísticamente significativa.

PA: presión arterial. HOMA-IR Homeostasis model assessment – Insuline resistance

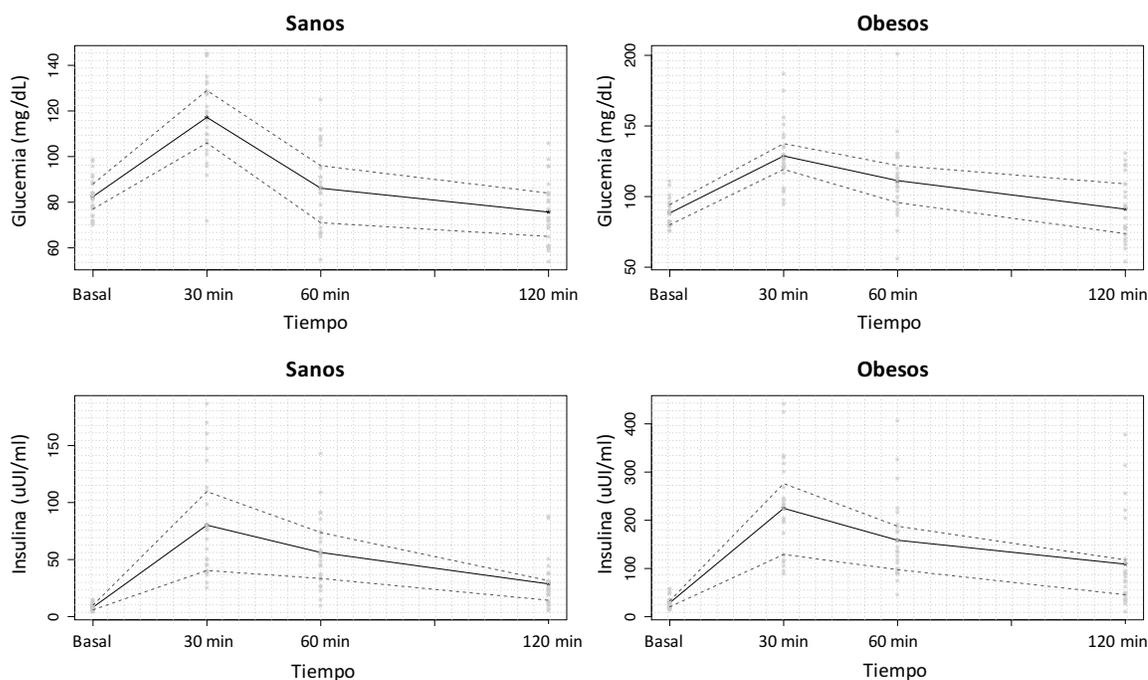
Se puede observar que no existen diferencias estadísticamente significativas en la edad al comparar los hombres jóvenes no obesos con el grupo de obesos con una mediana de 23 y 22 años respectivamente ( $p=0.49$ ) ya que se hizo pareamiento por edad. Con excepción de la glucemia basal, glucemia a los 30 minutos y los valores de c-LDL, todos los demás parámetros antropométricos, bioquímicos y hormonales son significativamente diferentes al comparar los dos grupos estudiados (tabla 1).

Al comparar los dos grupos dentro de las variables clínicas y antropométricas, hay diferencia estadísticamente significativa entre el IMC ( $p < 0.001$ ), el porcentaje de grasa total ( $p < 0.001$ ), el porcentaje de grasa visceral ( $p < 0.001$ ) y la circunferencia de cintura en cm ( $p < 0.001$ ).

En cuanto a la glucemia, los valores comparativos en el grupo de hombres no obesos Vs el grupo de hombres obesos no diabéticos fueron en tiempo basal 82 vs 87 mg/dL ( $p=0.058$ ), a los 30 minutos de la PTOG 116 Vs 125 mg/dL ( $p=0.101$ ), con estos dos valores iniciales

sin diferencia estadísticamente significativa entre los dos grupos; a los 60 minutos de la PTOG los valores fueron de 86 Vs 112 mg/dL ( $p < 0.001$ ) y a los 120 minutos de 75 Vs 90 mg/dL ( $p = 0.008$ ) de la PTOG, siendo significativamente diferente en los dos últimos tiempos de esta (Tabla 1, Figura 1).

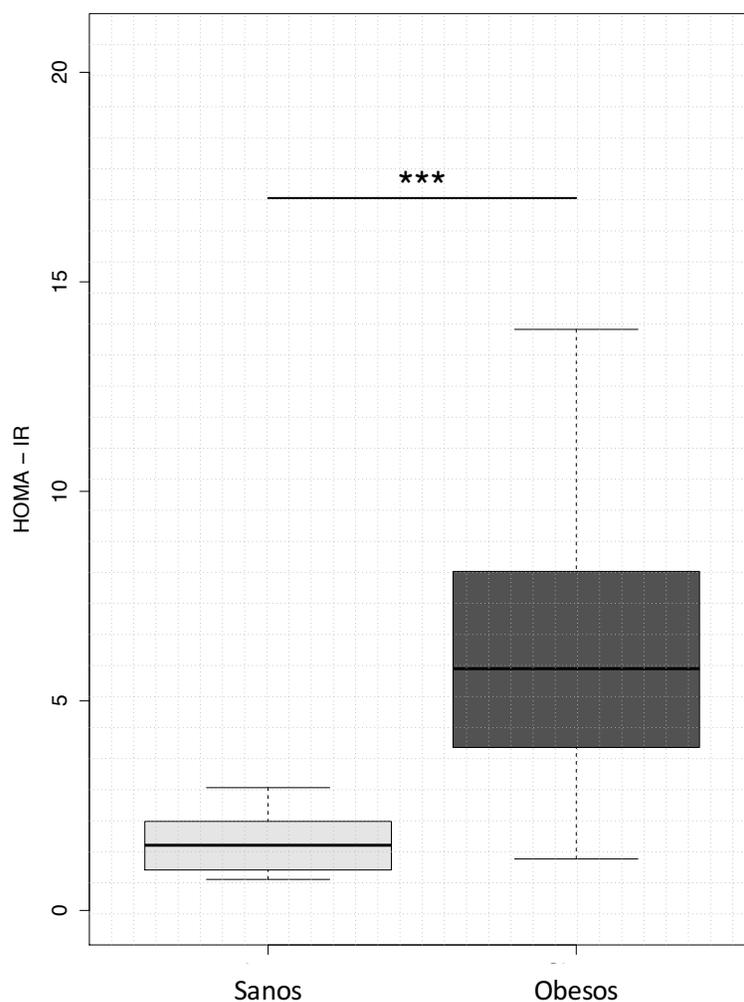
**Figura 1. Niveles de glucosa e insulina sérica en el grupo de hombres no obesos y hombres obesos no diabéticos durante la prueba de tolerancia oral a la glucosa (PTOG).**



Adicionalmente, también se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre los niveles de Insulina basal 7.93 Vs 28.06  $\mu\text{UI}/\text{mL}$  ( $p < 0.001$ ), a los 30 minutos 74.10 Vs 213.70  $\mu\text{UI}/\text{mL}$  ( $p < 0.001$ ), a la hora 50.50 Vs 134.60  $\mu\text{UI}/\text{mL}$  ( $p < 0.001$ ) y a las dos horas 23.30 Vs 74.30  $\mu\text{UI}/\text{mL}$  ( $p < 0.001$ ) de la PTOG, entre los grupos de hombres no obesos Vs hombres obesos no diabéticos respectivamente (Tabla 1, Figura 1).

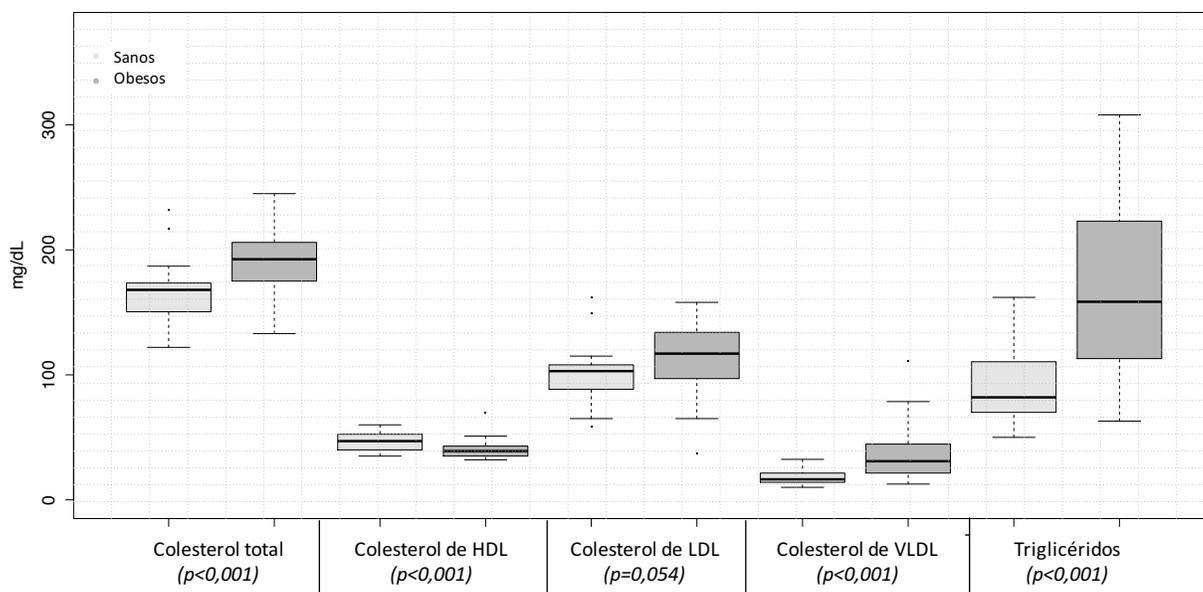
El índice HOMA-IR es significativamente diferente entre los dos grupos 1.56 Vs 5.77 ( $p < 0.001$ ) (Tabla 1, Figura 2).

**Figura 2. Comparación del índice HOMA-IR entre el grupo de hombres jóvenes no obesos y el grupo de hombres jóvenes obesos no diabéticos.** Gráfico de cajas y bigotes con valores de la mediana, del rango intercuartil y de los valores superior e inferior. Los valores muestran diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. \*\*\*  $p < 0.001$



En el perfil de lípidos, el reporte del colesterol total fue de 165 Vs 189 mg/dL ( $p < 0.001$ ), el c-HDL fue de 47 Vs 39 mg/dL ( $p < 0.001$ ), el c-LDL fue de 100 Vs 113mg/dL ( $p = 0.054$ ), c-VLDL de 16 Vs 30 mg/dL ( $p < 0.001$ ) y el valor de triglicéridos fue de 83 Vs 158 mg/dL ( $p < 0.001$ ), siendo significativamente diferente entre los dos grupos en todos los parámetros del perfil de lípidos, con excepción del c-LDL (Tabla 1, Figura 3).

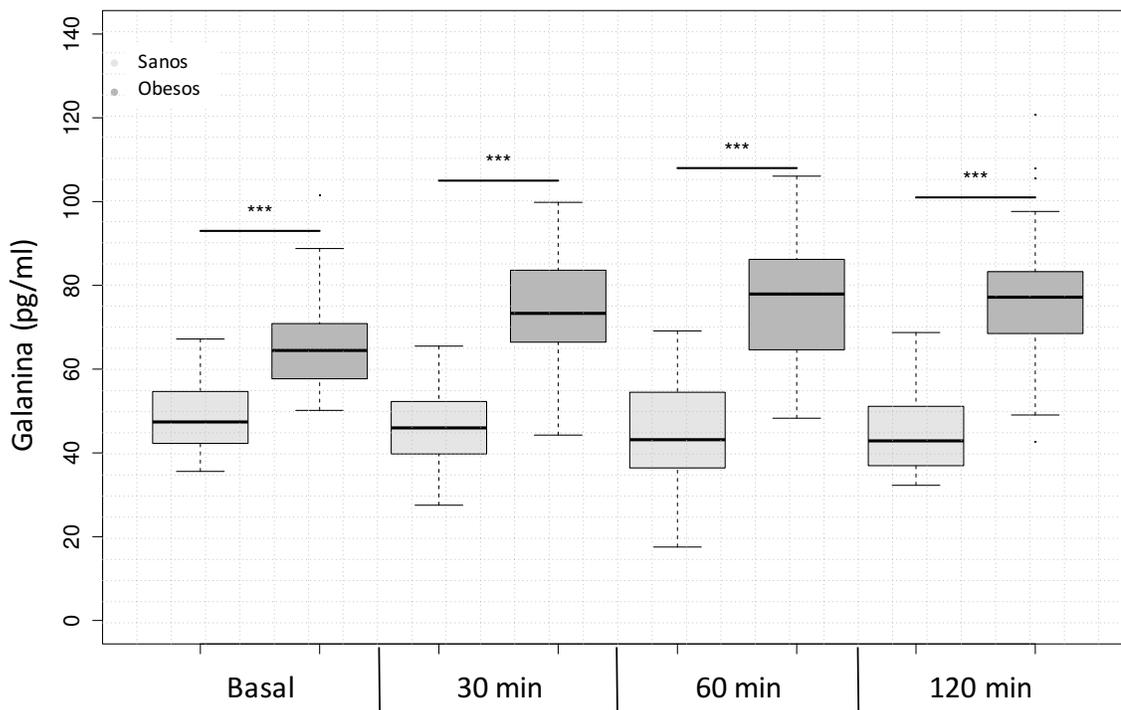
**Figura 3. Valores del perfil de lípidos entre el grupo de hombres jóvenes no obesos y el grupo de hombres jóvenes obesos no diabéticos.** Gráfico de cajas y bigotes con valores de la mediana, del rango intercuartil y de los valores superior e inferior. Los valores del perfil de lípidos medidos son Colesterol total, Colesterol HDL, Colesterol LDL, Colesterol VLDL y Triglicéridos. El valor de  $p$  esta entre paréntesis.



Respecto a los niveles hormonales, los niveles basales de Leptina fueron significativamente más bajos en el grupo de hombres no obesos con un valor de 7389 Vs 21640 pg/mL ( $p < 0,001$ ) (Tabla 1). Adicionalmente, las concentraciones basales séricas de Adiponectina estuvieron elevadas en el grupo de los hombres no obesos 15.09 Vs 13.29  $\mu\text{g/mL}$  ( $p < 0,001$ ) (Tabla 1).

Por otro lado, se encontró una diferencia estadísticamente significativa en los niveles séricos basales de GAL con un valor de 47 Vs 64 pg/mL ( $p < 0,001$ ) en el grupo de hombres no obesos Vs hombres obesos no diabéticos respectivamente, a los 30 minutos 46 Vs 73 pg/mL ( $p < 0,001$ ), a los 60 minutos 43 Vs 75 pg/mL ( $p < 0,001$ ) y a los 120 minutos 42 Vs 77 pg/mL ( $p < 0,001$ ) (Tabla 1, Figura 4).

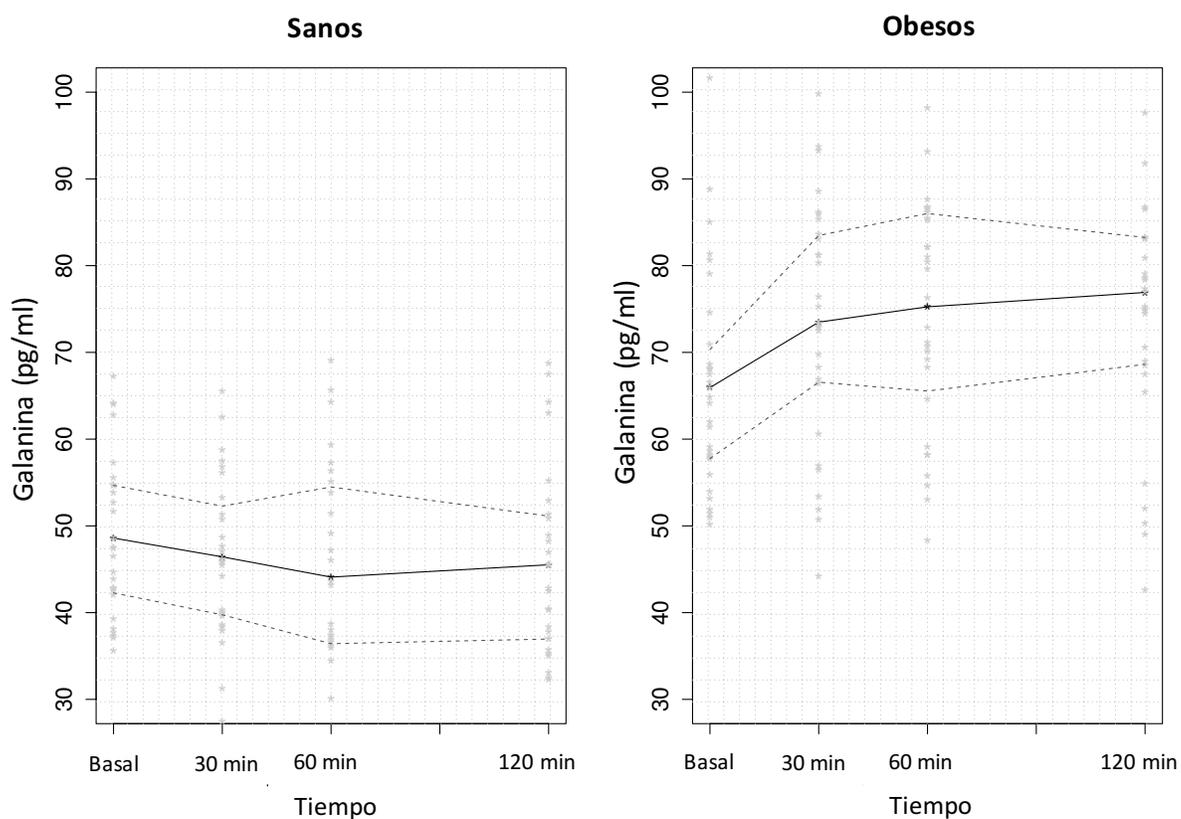
**Figura 4. Comparación de los niveles séricos de Galanina entre el grupo de hombres jóvenes no obesos y el grupo de hombres jóvenes obesos no diabéticos.** Gráfico de cajas y bigotes representando los niveles séricos de GAL durante la PTOG (basal, 30, 60 y 120 minutos) en los dos grupos. \*\*\*  $p < 0.001$ .



Finalmente, se puede observar que en el grupo de hombres obesos no diabéticos durante la PTOG, los niveles séricos de GAL fueron significativamente más bajos al inicio de la prueba (basal) que cuando se compararon con los resultados de este mismo grupo a los 30, 60 y 120 minutos, es decir que tuvo un comportamiento con una curva ascendente (Figura 5).

Por su parte, en el grupo de hombres sanos no obesos, los niveles séricos de GAL tuvieron una reducción durante la PTOG, siendo estadísticamente significativo el cambio de su valor a los 60 minutos cuando se compararon con su valor de inicio de la prueba (basal) ( $p < 0.05$ ); así mismo, tiende a volver a sus valores basales hacia el minuto 120 de la PTOG ( $p > 0.05$ ) (Figura 5).

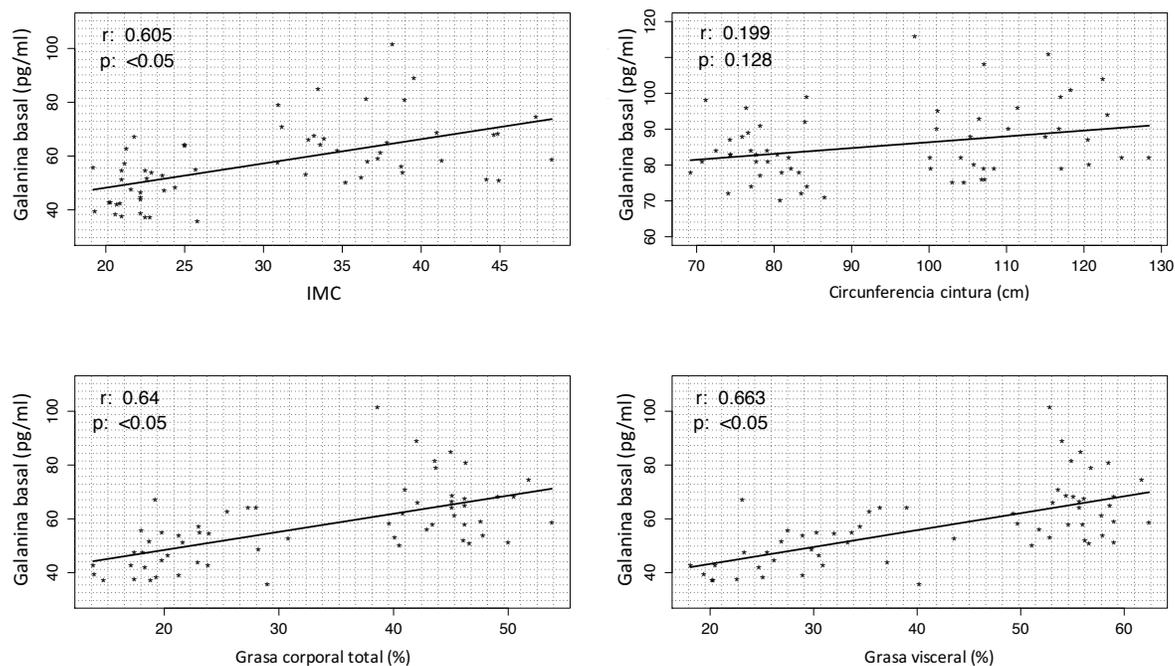
**Figura 5. Niveles séricos de Galanina en el grupo de hombres jóvenes no obesos y en el grupo de hombres jóvenes obesos no diabéticos.** Se muestra el comportamiento de los niveles séricos de GAL en los dos grupos en basal y a los 30, 60 y 120 minutos de la PTOG.



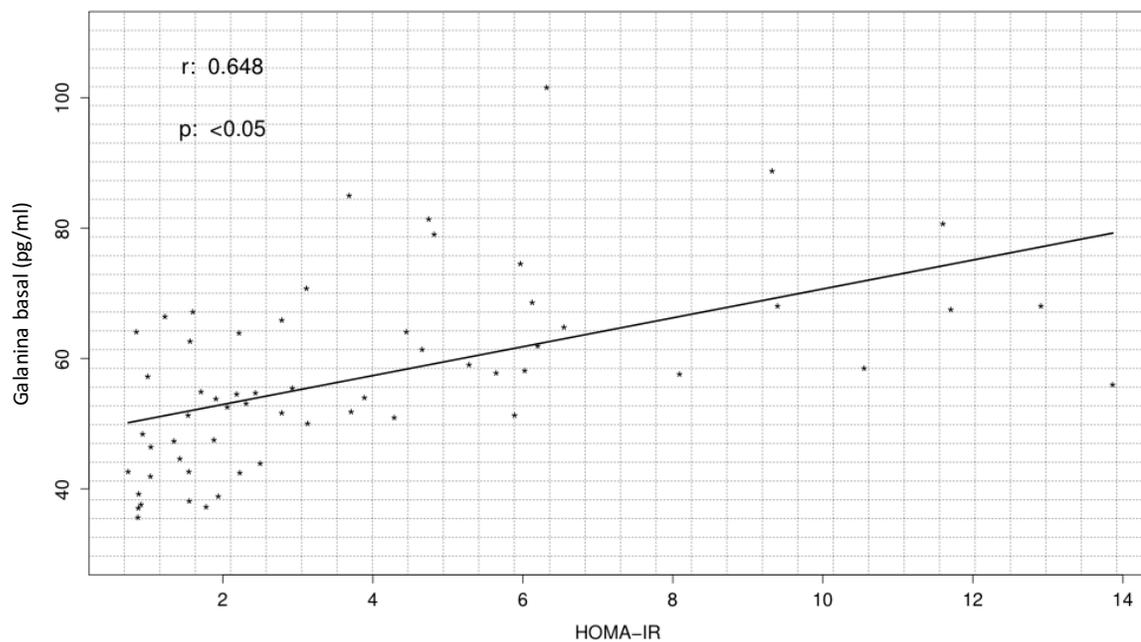
## 4.2 Correlaciones entre Galanina y mediciones antropométricas, índice HOMA-IR, perfil de lípidos y las adipocitoquinas Leptina y Adiponectina.

Al evaluarse la correlación entre los niveles séricos basales de GAL y las mediciones antropométricas, se encontró una correlación positiva con el IMC ( $r=0.605$ ;  $p<0.05$ ), con el porcentaje de grasa total ( $r=0.640$ ;  $p<0.05$ ) y con el porcentaje de grasa visceral ( $r=0.663$ ;  $p<0.05$ ) pero sin encontrarse una correlación significativa con la circunferencia de cintura ( $r=0.199$ ;  $p=0.128$ ) (Figura 6); así mismo, hubo una correlación positiva con el índice HOMA-IR ( $r=0.648$ ;  $p<0.05$ ) (Figura 7). En cuanto a los valores del perfil de lípidos, hubo una correlación positiva con los valores de colesterol total ( $r=0.577$ ;  $p<0.05$ ) y con los valores de triglicéridos ( $r=0.466$ ;  $p<0.001$ ) (Figura 8); y por último también hubo correlación positiva con los niveles de la adipocitoquina Leptina ( $r=0.35$ ;  $p<0.05$ ) (Figura 9). Los valores de correlación ( $r$ ) se presentan en la tabla 2.

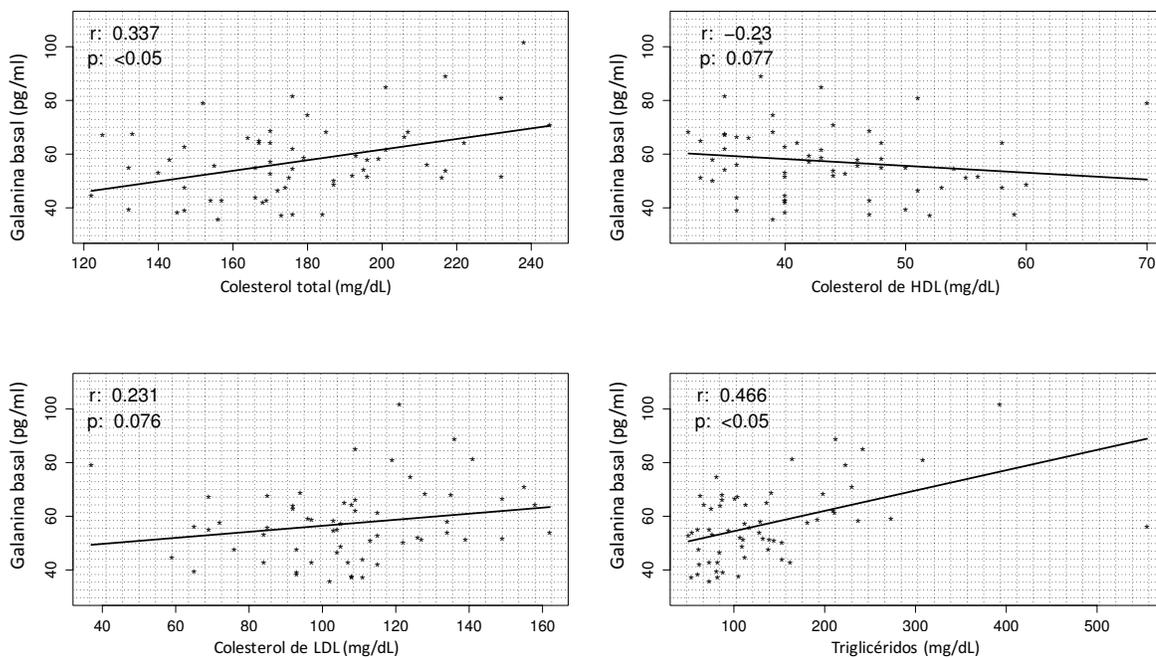
**Figura 6. Gráficos de dispersión mostrando la correlación entre los niveles séricos basales de Galanina y el IMC, la grasa corporal total, la grasa visceral y la circunferencia de cintura en el grupo de hombres jóvenes no obesos y el grupo de los hombres jóvenes obesos no diabéticos.** La gráfica muestra una correlación positiva y estadísticamente significativa entre las variables descritas entre los dos grupos, con excepción de la circunferencia de cintura.



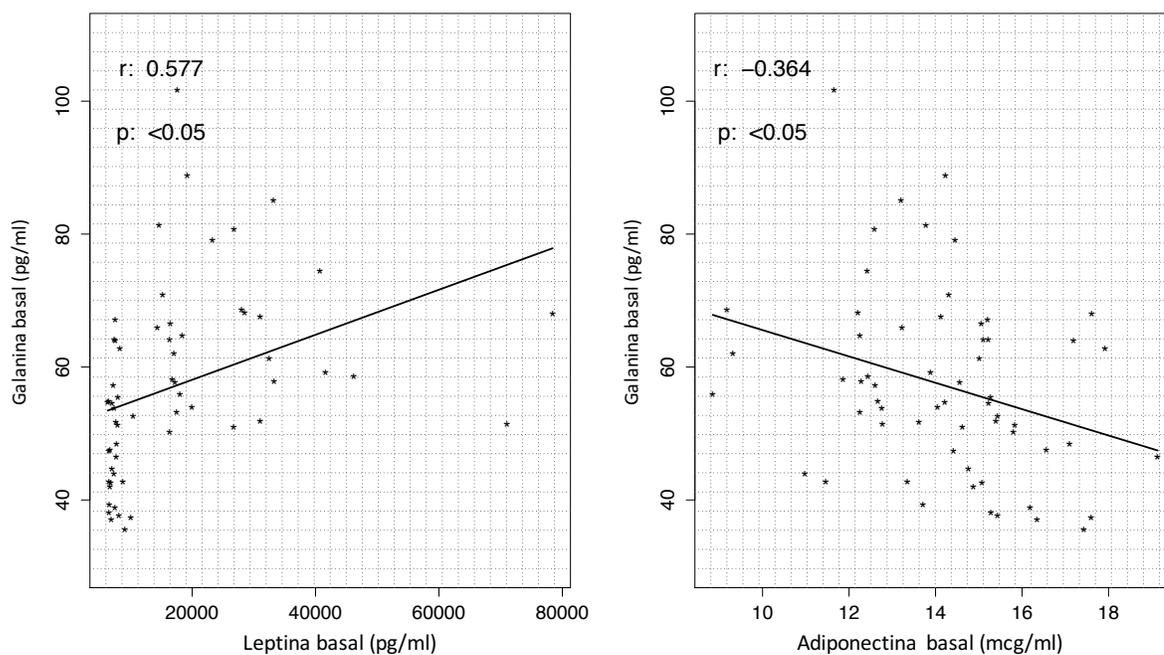
**Figura 7. Gráfico de dispersión mostrando la correlación entre los niveles séricos basales de Galanina y el índice de HOMA-IR en los hombres jóvenes no obesos y los hombres jóvenes obesos no diabéticos. La gráfica muestra una correlación positiva y estadísticamente significativa entre los dos grupos.**



**Figura 8. Gráficos de dispersión mostrando la correlación entre los niveles séricos basales de Galanina y los valores del perfil de lípidos en el grupo de hombres jóvenes no obesos y el grupo de hombres jóvenes obesos no diabéticos. Hay una correlación positiva y estadísticamente significativa entre GAL basal y los niveles de colesterol total y triglicéridos.**



**Figura 9. Gráficos de dispersión mostrando la correlación entre los niveles séricos basales de Galanina y los niveles séricos de las adipocitoquinas Leptina y Adiponectina. Hay una correlación positiva con los niveles de Leptina y una correlación negativa con los niveles de Adiponectina, ambas estadísticamente significativas.**



**Tabla 2. Valores de correlación entre los niveles séricos de Galanina y valores antropométricos y bioquímicos.**

Variable	<i>r</i>	Valor <i>p</i>
<b>GAL basal</b>		
IMC, Kg/m <sup>2</sup>	0.605	<0.05
Grasa corporal total, %	0.640	<0.05
Circunferencia de cintura, cm	0.199	0.128
Grasa visceral, %	0.663	<0.05
Glucemia basal, mg/dL	0.210	0.107
Insulina basal, μUI/mL	0.649	<0.05
HOMA-IR	0.648	<0.05
Colesterol total, mg/dL	0.337	<0.05
Colesterol de HDL, mg/dL	-0.230	0.077
Colesterol de LDL, mg/dL	0.231	0.076
Triglicéridos, mg/dL	0.466	<0.05
Leptina, pg/mL	0.577	<0.05
Adiponectina, μg/mL	-0.364	<0.05
<b>GAL 30 min</b>		
Glucosa 30 min, mg/dL	0.201	0.123
Insulina 30 min, μUI/mL	0.605	<0.05
<b>GAL 60 min</b>		
Glucose 60 min, mg/dL	0.394	<0.05
Insulin 60 min, μUI/mL	0.694	<0.05
<b>GAL 120 min</b>		
Glucose 120 min, mg/dL	0.336	<0.05
Insulin 120 min, μUI/mL	0.561	<0.05

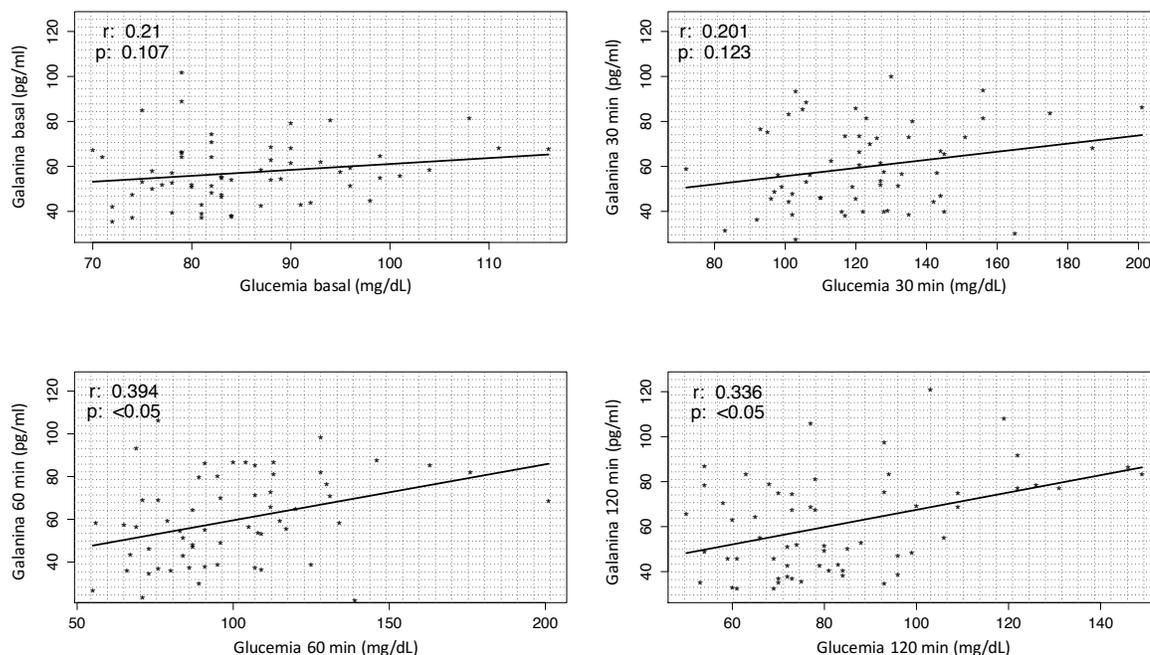
Análisis univariado usando el coeficiente de correlación de Pearson. Se consideró estadísticamente significativo un valor de  $p < 0.05$ .

Hubo correlación negativa y estadísticamente significativa entre los valores séricos basales de GAL y la adipocitoquina Adiponectina ( $r = -0.364$ ;  $p < 0.05$ ) (Figura 9, Tabla 2).

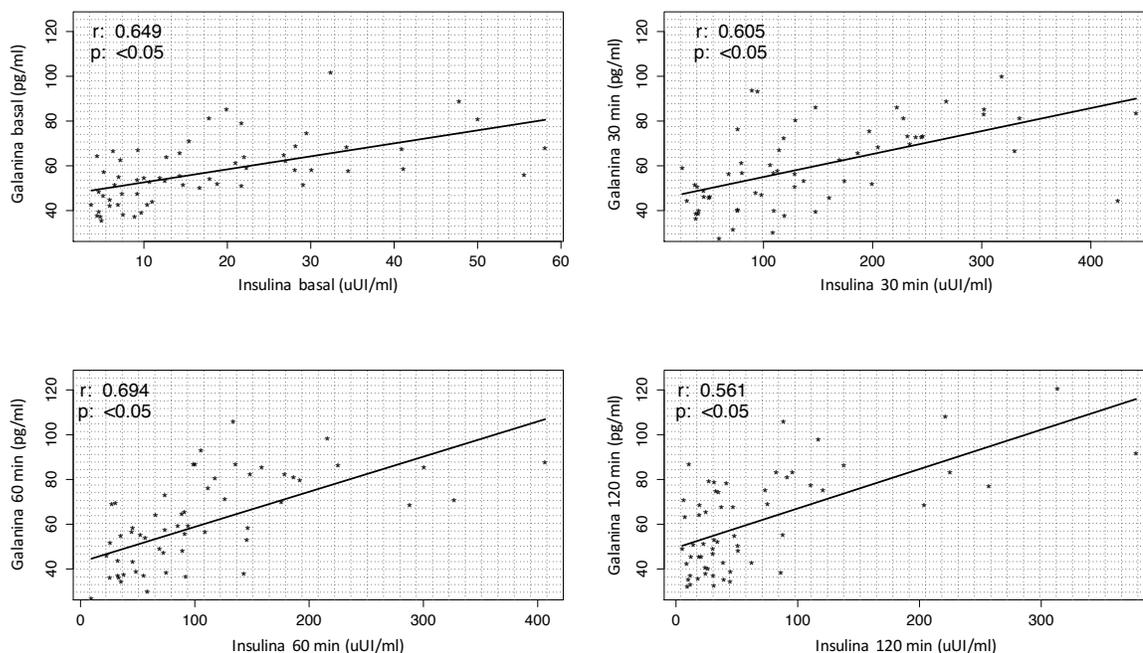
No hubo correlación estadísticamente significativa entre los niveles séricos basales de GAL y los valores de circunferencia de cintura (Figura 6), tampoco con los niveles de c-HDL ( $r = -0.165$ ;  $p = 0.221$ ) ni con los niveles de c-LDL ( $r = 0.21$ ;  $p = 0.116$ ) (Figura 8) así como tampoco con los valores de glucemia basal (Figura 10, Tabla 2).

Adicionalmente, durante la PTOG, la correlación entre los niveles séricos de GAL y los valores séricos de glucosa se comportaron así: una correlación no significativa con los niveles de glucosa a los 30 min ( $r=0.201$ ;  $p=0.123$ ); una correlación positiva y estadísticamente significativa con los niveles de glucosa a los 60 min ( $r=0.394$ ;  $p<0.05$ ) y con los niveles de glucosa a los 120 min ( $r=0.336$ ;  $p<0.05$ ) (Figura 10, Tabla 2). En cuanto a los niveles de insulina, los valores de correlación fueron así: con insulina basal ( $r=0.649$ ;  $p<0.05$ ), con insulina a los 30 min ( $r=0.605$ ;  $p<0.05$ ), con insulina a los 60 min ( $r=0.694$ ;  $p<0.05$ ) y con los niveles de insulina a los 120 min ( $r=0.561$ ;  $p<0.05$ ) (Figura 10, Tabla 2), siendo todos los valores con insulina estadísticamente significativos.

**Figura 10. Gráficos de dispersión mostrando la correlación entre los niveles séricos de Galanina y los valores de glucemia durante la PTOG, en el grupo de hombres jóvenes no obesos y el grupo de hombres jóvenes obesos no diabéticos. Correlación positiva y estadísticamente significativa a los 60 y 120 minutos de la PTOG.**



**Figura 11. Gráficos de dispersión mostrando la correlación entre los niveles séricos de Galanina y los niveles de insulina durante la PTOG, en el grupo de hombres jóvenes no obesos y el grupo de hombres jóvenes obesos no diabéticos. Correlación positiva y estadísticamente significativa al tiempo basal y a los 30, 60 y 120 minutos de la PTOG.**



En el análisis de regresión múltiple, se encontró que los niveles séricos de insulina a los 30, 60 y 120 min de la PTOG, fueron las variables más predictivas de los niveles séricos de GAL cuando se ajustó por las demás variables (Tabla 3).

**Tabla 3. Análisis de regresión múltiple entre los niveles séricos de Galanina y valores antropométricos y bioquímicos.**

<b>Variable</b>	<b><math>\beta</math></b>	<b>Valor p</b>
<b>GAL basal</b>		
IMC, Kg/m <sup>2</sup>	0.234	0.795
Grasa corporal total, %	-0.291	0.737
Circunferencia de cintura, cm	-0.339	0.478
Grasa visceral, %	0.996	0.128
Glucemia basal, mg/dL	0.148	0.621
Insulina basal, $\mu$ UI/mL	1.935	0.072
HOMA-IR	-6.553	0.155
Colesterol total, mg/dL	-0.253	0.422
Colesterol de HDL, mg/dL	0.499	0.198
Colesterol de LDL, mg/dL	0.275	0.373
Triglicéridos, mg/dL	0.065	0.330
Leptina, pg/mL	-0.000	0.138
Adiponectina, $\mu$ g/mL	-0.215	0.793
<b>GAL 30 min</b>		
Glucemia 30 min, mg/dL	0.052	0.544
Insulina 30 min, $\mu$ UI/mL	0.098	<0.001
<b>GAL 60 min</b>		
Glucemia 60 min, mg/dL	-0.088	0.411
Insulina 60 min, $\mu$ UI/mL	0.178	<0.001
<b>GAL 120 min</b>		
Glucemia 120 min, mg/dL	-0.061	0.656
Insulina 120 min, $\mu$ UI/mL	0.189	<0.001

## 5. Discusión

En el presente estudio se demuestra que los niveles de GAL están significativamente elevados en hombres jóvenes obesos no diabéticos al ser comparados con sujetos sanos no obesos en todos los momentos de la PTOG (basal, a los 30, 60 y 120 min). Además, se demuestra una correlación positiva y estadísticamente significativa entre los niveles séricos de GAL y el índice HOMA – IR, c-total y triglicéridos, e igualmente con los niveles séricos de insulina en cada uno de los tiempos de la PTOG. Así mismo, se encuentra una correlación positiva y estadísticamente significativa entre los niveles séricos de GAL y los niveles séricos de glucosa a los 60 y 120 minutos de la PTOG, pero no al tiempo basal (previo al inicio de la PTOG) ni a los 30 minutos. En cuanto a la antropometría y a la composición corporal medida por DXA, se demuestra una correlación positiva entre los niveles séricos de GAL y el IMC, el porcentaje de grasa corporal total y el porcentaje de grasa. También se puede observar, que los niveles séricos de GAL se correlacionan positiva y significativamente con los niveles séricos de Leptina, mientras que por el contrario, se observa una correlación negativa y estadísticamente significativa con los niveles séricos de Adiponectina. En el análisis de regresión múltiple, se demostró que los niveles séricos de insulina, fue la variable más predictiva de los niveles séricos de GAL. Adicionalmente, se demuestra en el presente estudio, que en los sujetos sanos los niveles séricos de GAL disminuyeron a los 60 min de la PTOG con respecto a su nivel basal y retornaron este nivel a los 120 min. Por el contrario, en el grupo de hombres obesos no diabéticos, los niveles séricos de GAL se elevaron durante todos los tiempos de la PTOG (30, 60 y 120 min) respecto a sus niveles séricos basales.

Estudios recientes han evidenciado que GAL está estrechamente relacionado con la sensibilidad a la insulina en el músculo esquelético y tejido adiposo de ratas (35). Además, se ha demostrado que GAL contribuye a la regulación de la homeostasis de la glucosa y el metabolismo de los carbohidratos en los tejidos periféricos (14,15,24,35–38). Estudios previos también han demostrado una correlación positiva entre GAL y glucosa, con lo que se podría pensar en la hipótesis de que los niveles elevados de GAL son una consecuencia de los niveles elevados de glucosa (13,28). Zhang y colaboradores también demostraron una correlación significativamente positiva entre los niveles de GAL y el HOMA – IR, pero sin correlación significativa con los niveles de insulina (27). Fang y cols, proponen que los niveles elevados de GAL en pacientes diabéticos, podrían estar relacionados con un proceso de compensación en la señal del receptor de GAL (35,39). De esta manera, también se ha considerado la hipótesis de que los niveles séricos elevados de GAL en pacientes con diabetes, podrían estar contribuyendo a reducir la resistencia a la insulina y a mejorar el

transporte de la glucosa. Otros estudios demostraron que los niveles plasmáticos de GAL están significativamente elevados en mujeres gestantes con diabetes gestacional, al ser comparados con los niveles plasmáticos de GAL en mujeres gestantes con tolerancia normal a la glucosa (27). Adicionalmente, en el mismo estudio de Zhang, se demuestra que GAL se correlaciona positivamente con el IMC y la glucemia en ayunas, en el grupo de las mujeres que desarrollaron diabetes gestacional (27).

Contrario a los resultados del presente estudio, Legakis et al., demostraron en individuos sanos durante una PTOG, que los niveles de GAL se elevaron significativamente después de 30 minutos del inicio de la prueba y estos niveles retornaron a las concentraciones basales a los 180 minutos de este inicio (40). Sin embargo, en este estudio de Legakis solo se incluyeron 4 hombres y 7 mujeres sanos con una edad promedio de  $48 \pm 3.56$  años y un IMC de  $27 \pm 0.5$  kg/m<sup>2</sup>, concluyendo que dado el tamaño de la muestra, no se podrían establecer correlaciones con significancia estadística.

Los resultados del presente estudio muestran que el índice HOMA –IR tuvo una correlación positiva y estadísticamente significativa con los niveles séricos de GAL, similar al estudio de Legakis (40). Sin embargo, en este estudio no encontramos diferencias significativas en la muestra en tiempo basal entre los niveles de glucemia en el grupo de hombres jóvenes obesos y el grupo de hombres no obesos, así como tampoco se presentó una diferencia estadísticamente significativa entre los niveles de GAL basal y glucosa basal. En cambio, si hubo una correlación positiva y estadísticamente significativa entre los niveles de GAL y la glucemia a los 60 y 120 min de la PTOG, con unos niveles de glucemia significativamente diferentes entre los dos grupos durante la misma PTOG. En cuanto a la insulina, hubo una diferencia estadísticamente significativa en los niveles séricos de ambos grupos (sujetos obesos y no obesos), tanto en el tiempo basal, como en los diferentes tiempos de la PTOG. En la correlación entre insulina y GAL se obtuvo un valor positivo y con significancia estadística en los niveles séricos de estas dos tanto en tiempo basal como durante la PTOG, así como en el análisis de regresión múltiple, donde la insulina a los 30, 60 y 120 minutos fue la variable más predictiva de los niveles séricos de GAL . Por lo anterior, es razonable considerar que los niveles elevados de insulina tengan un impacto significativo sobre los niveles circulantes e igualmente elevados de GAL en el escenario de pacientes con obesidad, como se demuestra en el presente estudio.

En estudios desarrollados en humanos, se ha demostrado que la infusión de GAL intravenosa, inhibe de manera significativa la elevación de los niveles de glucosa e insulina postprandiales (41). En otro estudio de Legakis et al., demostraron una correlación positiva y significativa entre los niveles de GAL y la glucemia en ayunas en paciente con diabetes mellitus tipo 2 (13), situación que no podemos evaluar en este estudio ya que en nuestra muestra, no incluimos pacientes diabéticos.

Es suficientemente conocido el modelo fisiopatológico de la diabetes mellitus tipo 2, caracterizado por obesidad, resistencia a la insulina, hiperinsulinismo y finalmente hiperglicemia, sumado ahora, de acuerdo a experimentos en modelo animal y en humanos, a la elevación de los niveles circulantes de GAL con disminución de la actividad de su receptor GAL-R (42). Se ha planteado que GAL desempeña un papel importante en la obesidad y la diabetes mellitus tipo 2, llegando a ser considerada incluso, como un biomarcador para la predicción de estas patologías (42). Otros autores han demostrado que GAL incrementa el almacenamiento de la grasa, contribuyendo con el aumento de la obesidad, mediante el favorecimiento de la utilización de la glucosa frente al de los lípidos (5). Estudios en rata han demostrado que la expresión del ARN mensajero (ARNm) de GAL fue estimulada por el ayuno en el tejido adiposo de estos animales (43). Además, en experimentos en ratones transgénicos para GAL, se ha demostrado un incremento en el peso corporal, colesterol total, triglicéridos, adiposidad visceral e hiperinsulinemia (22). También se ha demostrado que los niveles circulantes de GAL están elevados en pacientes obesos al ser comparados con los controles sanos no obesos (26), similar a los resultados del presente estudio. En cuanto a la posibilidad de dimorfismo sexual, se ha demostrado igualmente en mujeres jóvenes obesas una elevación en los niveles circulantes de GAL al ser comparados con mujeres control eumenorreicas de peso normal, lo que continúa reforzando que GAL se encuentra relacionada con la obesidad y la sobre alimentación (25). Todos estos estudios permiten concluir que el aumento del peso corporal, se asocia con la elevación de los niveles circulantes de GAL. De esta manera, estudios previos coinciden con los resultados de esta investigación, donde GAL tuvo una correlación positiva y estadísticamente significativa con el IMC, los niveles de colesterol y los niveles de triglicéridos.

Desde otra perspectiva, existe el concepto emergente de resistencia a GAL, similar al conocido fenómeno de resistencia a la insulina. Este concepto se consolida al tener un perfil bioquímico con niveles circulantes séricos elevados de GAL, con un comportamiento que podría hacer inferir, es un intento para mantener los niveles séricos de glucosa en rangos de normalidad (39). Como decíamos, este concepto es similar al de resistencia a insulina, donde ocurre un aumento compensatorio de los niveles séricos circulantes de insulina para intentar aumentar la translocación de los transportadores de glucosa GLUT 4 (dependientes de insulina) a la membrana plasmática en las células del músculo y del tejido adiposo, con la participación corriente a bajo de la proteína quinasa C (PKC) y la activación de la proteína AS160 que es sustrato de la Proteína-quinasa B (AKT), lo que finalmente se traduce en mantener la normoglicemia (39). De forma similar, GAL induce la translocación de los GLUT 4 por medio de dos vías. La primera vía, a través de GALR1 y GALR3 disminuyendo la actividad de Adenosín monofosfato cíclico (AMPc) y los elementos de respuesta de AMPc, por la activación de las proteínas Gi/0, lo que resulta igualmente en la activación corriente abajo de AS160 (39). La segunda vía, activa GALR2 a través de Gq/11, generando la hidrólisis de inositolfosfato y la activación de PKC y de AS160 (39). La intersección entre ambas vías de señalización, dan como resultado la amplificación de la señal de la insulina,

vía que es el punto de encuentro con otras adipocitoquinas como Leptina y Adiponectina (44). El grupo de Baranoskova et al., describió hiperleptinemia y hipergalaninemia en pacientes obesas (26). Estudios previos describen que Leptina ejerce efectos positivos y similares a la insulina sobre el metabolismo de la glucosa a través de la Proteína quinasa activada por AMP (AMPK), particularmente en el músculo (45). Adicionalmente, la hipoadiponectinemia encontrada en pacientes obesos, se considera en parte como el resultado del aumento de las citoquinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa) y la interleucina (IL-6) que conllevan a la metilación de las islas CpG del gen de la Adiponectina y que se traduce en la hipoadiponectinemia descrita (46). Esta condición proinflamatoria aumenta la ubiquitinización y degradación del sustrato del receptor de la insulina tipo 1 (IRS-1), que se requiere para la función adecuada de la vía de señalización de insulina (47). Dentro del papel anti-inflamatorio de la Adiponectina, se conoce que tiene un efecto estimulante sobre la actividad de la AMPK y la oxidación de ácidos grasos, resultando en mejoría de la sensibilidad a la insulina y aumento de la translocación de los transportadores GLUT4 (45). Así, en el presente trabajo se encontró que los niveles séricos de GAL tuvieron una correlación positiva y estadísticamente significativa con los niveles séricos de Leptina y una correlación negativa con los niveles séricos de Adiponectina, lo que contribuiría a explicar la participación de estas hormonas en la patología de la obesidad. Un posible punto de encuentro entre insulina, GAL, Leptina y Adiponectina, es el papel que ejercen sobre la balanza, para favorecer la translocación de los transportadores GLUT 4 en la membrana celular.

## 6. Conclusiones

En el presente estudio se demuestra: 1) los niveles séricos de GAL disminuyen durante la PTOG en hombres jóvenes no obesos, 2) los niveles séricos de GAL aumentan significativamente durante la PTOG en hombres jóvenes obesos no diabéticos, 3) los niveles séricos de GAL están significativamente elevados en ayuno y durante toda la PTOG en los hombres obesos al ser comparados con los hombres no obesos, 4) los niveles séricos de GAL se correlacionan de manera positiva y estadísticamente significativa con parámetros antropométricos como el IMC, el porcentaje de grasa corporal y el porcentaje de grasa visceral 5) los niveles séricos de GAL se correlacionan de forma positiva y estadísticamente significativa con parámetros como HOMA-IR, niveles de insulina, glucosa, colesterol total y triglicéridos, 6) los niveles séricos de GAL se correlacionan de manera estadísticamente significativa y positiva con los niveles séricos de Leptina y negativamente con los niveles séricos de Adiponectina y, por último, 7) los niveles séricos de insulina a los 30, 60 y 120 minutos de la PTOG, fueron los más fuertes predictores de los niveles séricos de GAL tras el análisis de regresión múltiple.

De esta manera, es posible que el aumento en los niveles séricos de GAL relacionados con la resistencia a la insulina y el aumento de peso en hombres obesos no diabéticos, al ser comparados con los hombres jóvenes no obesos, estén también relacionados con un fenómeno de resistencia a GAL.

## 7. Bibliografía

1. OMS | La Cumbre de Desarrollo Sostenible 2015. World Health Organization; Available from: <http://www.who.int/mediacentre/events/meetings/2015/un-sustainable-development-summit/es/#>.
2. Ministerio de la Protección Social. Encuesta Nacional de la Situación Nutricional en Colombia 2010. ENSIN. 2011;1–512.
3. Crawley JN. Biological actions of galanin. *Regul Pept.* 1995;59(1):1–16.
4. Fang P, Yu M, Guo L, Bo P, Zhang Z, Shi M. Galanin and its receptors: A novel strategy for appetite control and obesity therapy. *Peptides.* Elsevier Inc.; 2012;36(2):331–9.
5. Fang P, Yu M, Shi M, Zhang Z, Sui Y, Guo L, et al. Galanin peptide family as a modulating target for contribution to metabolic syndrome. *Gen Comp Endocrinol.* Elsevier Inc.; 2012;179(1):115–20.
6. Parker EM, Izzarelli DG, Nowak HP, Mahle CD, Iben LG, Wang J, et al. Cloning and characterization of the rat GALR1 galanin receptor from Rin14B insulinoma cells. *Mol Brain Res.* 1995;34(2):179–89.
7. Tang G, Wang Y, Park S, Bajpayee NS, Vi D, Nagaoka Y, Birnbaumer L JM. Go2 G protein mediates galanin inhibitory effects on insulin release from pancreatic  $\beta$  cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012;109(7):2636–41.
8. Lang R, Kofler B. The galanin peptide family in inflammation. *Neuropeptides.* 2011. p. 1–8.
9. Harling H, Holst JJ. Circulating galanin: origin, metabolism, and pharmacokinetics in anesthetized pigs. *Am J Physiol.* 1992;262:E52–7.
10. Kyrkouli SE1, Stanley BG, Seirafi RD LS. Stimulation of feeding by galanin: anatomical localization and behavioral specificity of this peptide's effects in the brain. *Peptides.* 1990;11(5):995–1001.
11. Corwin RL1, Robinson JK CJ. Galanin antagonists block galanin-induced feeding in the hypothalamus and amygdala of the rat. *Eur J Neurosci.* 1993;1;5(11):1528–33.
12. Saar I, Runesson J, McNamara I, Järv J, Robinson JK, Langel Ü. Novel galanin receptor subtype specific ligands in feeding regulation. *Neurochem Int.* 2011;58(6):714–20.

13. Legakis IN. The role of galanin in metabolic disorders leading to type 2 diabetes mellitus. *Drug News Perspect.* 2005;18(3):173–7.
14. He B, Shi M, Zhang L, Li G, Zhang L, Shao H, et al. Beneficial effect of galanin on insulin sensitivity in muscle of type 2 diabetic rats. *Physiol Behav. Elsevier Inc.;* 2011;103(3-4):284–9.
15. Liang Y, Sheng S, Fang P, Ma Y, Li J, Shi Q, et al. Exercise-induced galanin release facilitated GLUT4 translocation in adipocytes of type 2 diabetic rats. *Pharmacol Biochem Behav. Elsevier Inc.;* 2012;100(3):554–9.
16. McDonald TJ, Dupre J, Tatemoto K, Greenberg GR, Radziuk J, Mutt V. Galanin inhibits insulin secretion and induces hyperglycemia in dogs. *Diabetes.* 1985;34(2):192–6.
17. Gregersen S, Hermansen K, Langel L, Fisone G, Bartfai T, Ahrén B. Galanin-induced inhibition of insulin secretion from rat islets: effects of rat and pig galanin and galanin fragments and analogues. *Eur J Pharmacol.* 1991;203(1):111–4.
18. Holst JJ, Bersani M, Hvidberg A, Knigge U, Christiansen E, Madsbad S, et al. On the effects of human galanin in man. *Diabetologia.* 1993;36(7):653–7.
19. McDonald TJ, Tu E, Brenner S, Zabel P, Behme M, Panchal C, et al. Canine, human, and rat plasma insulin responses to galanin administration: species response differences. *Am J Physiol.* 1994;266:E612–7.
20. Psichas A, Glass LL, Sharp SJ, Reimann F, GF. Galanin inhibits GLP-1 and GIP secretion via the GAL1 receptor in enteroendocrine L and K cells. *Br J Pharmacol.* 2015;Dec 12.
21. Ahrén B, Arkhammar P, Berggren PO, Nilsson T. Galanin inhibits glucose-stimulated insulin release by a mechanism involving hyperpolarization and lowering of cytoplasmic free Ca<sup>2+</sup> concentration. *Biochem Biophys Res Commun.* 1986;140(14):1059–63.
22. Poritsanos NJ, Mizuno TM, Lautatzis M-E, Vrontakis M. Chronic increase of circulating galanin levels induces obesity and marked alterations in lipid metabolism similar to metabolic syndrome. *Int J Obes.* 2009 Dec;33(12):1381–9.
23. Ahrén B, Pacini G, Wynick D, Wierup N SF, Ahrén B, Pacini G, Wynick D, Wierup N, Sundler F. Loss-of-function mutation of the galanin gene is associated with perturbed islet function in mice. *Endocrinology.* 2004;145(7):3190–6.
24. Bu L, Yao Q, Liu Z, Tang W, Zou J QS. Combined galanin with insulin improves insulin sensitivity of diabetic rat muscles. *J Endocrinol.* 2014;221(1):157–65.

25. Baranowska B, Radzikowska M, Wasilewska-Dziubinska E, Roguski K, Borowiec M. Disturbed release of gastrointestinal peptides in anorexia nervosa and in obesity. *Diabetes, Obes Metab.* 2000 Mar;2(2):99–103.
26. Baranowska B, Wasilewska-Dziubinska E, Radzikowska M, Plonowski A, Roguski K. Neuropeptide Y, galanin, and leptin release in obese women and in women with anorexia nervosa. *Metabolism*; 1997 Dec;46(12):1384–9.
27. Zhang Z, Fang P, Shi M, Gu C, Wang Y, Bo P, et al. Association between circulating levels of galanin and pre-pregnancy body mass index in patients with gestational diabetes mellitus. *Eat Behav*; 2015;19:57–60.
28. Fang P, Bo P, Shi M, Yu M, Zhang Z. Circulating galanin levels are increased in patients with gestational diabetes mellitus. *Clin Biochem. The Canadian Society of Clinical Chemists*; 2013 Jun;46(9):831–3.
29. Zhang Z, Gu C, Fang P, Shi M, Wang Y, Peng Y, et al. Endogenous galanin as a novel biomarker to predict gestational diabetes mellitus. *Peptides*; 2014;54:186–9.
30. Kaplan LM, Gabriel SM, Koenig JI, Sunday ME, Spindel ER, Martin JB, et al. Galanin is an estrogen-inducible, secretory product of the rat anterior pituitary. *Proc Natl Acad Sci.* 1988;85(19):7408–12.
31. Grenbäck E, Hulting a. L, Bucht E. Galanin in human plasma. *Neuropeptides.* 2005;39(3):337–40.
32. WHO. Obesity and overweight. 2015. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>
33. Garcés MF, Vallejo SA, Sanchez E, Palomino-Palomino MA, Leal LG, Ángel-Muller E, et al. Longitudinal analysis of maternal serum Follistatin concentration in normal pregnancy and preeclampsia. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2015 Feb.
34. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia.* 1985 Jul;28(7):412–9.
35. Fang P, Shi M, Guo L, He B, Wang Q, Yu M, et al. Effect of endogenous galanin on glucose transporter 4 expression in cardiac muscle of type 2 diabetic rats. *Peptides*; 2014 Dec;62(4):159–63.
36. Guo L, Shi M, Zhang L, Li G, Zhang L, Shao H, et al. Galanin antagonist increases insulin resistance by reducing glucose transporter 4 effect in adipocytes of rats. *Gen Comp Endocrinol*; 2011;173(1):159–63.

37. Jiang L, Shi M, Guo L, He B, Li G, Zhang L, et al. Effect of M35, a neuropeptide galanin antagonist on glucose uptake translated by glucose transporter 4 in trained rat skeletal muscle. *Neurosci Lett*; 2009 Dec;467(2):178–81.
38. Zhang Z, Sheng S, Guo L, Li G, Zhang L, Zhang L, et al. Intracerebroventricular administration of galanin antagonist sustains insulin resistance in adipocytes of type 2 diabetic trained rats. *Mol Cell Endocrinol*; 2012 Sep;361(1-2):213–8.
39. Fang P, Shi M, Zhu Y, Bo P, Zhang Z. Type 2 diabetes mellitus as a disorder of galanin resistance. *Exp Gerontol*. 2016 Jan;73:72–7.
40. Legakis I, Mantzouridis T, Mountokalakis T. Positive Correlation of Galanin with Glucose in Healthy Volunteers during an Oral Glucose Tolerance Test. *Horm Metab Res*; 2007 Jan;39(1):53–5.
41. Bauer FE, Zintel A, Kenny MJ, Calder D, Ghatei MA, Bloom SR. Inhibitory effect of galanin on postprandial gastrointestinal motility and gut hormone release in humans. *Gastroenterology*. 1989 Aug;97(2):260–4.
42. Fang P, He B, Shi M, Kong G, Dong X, Zhu Y, et al. The regulative effect of galanin family members on link of energy metabolism and reproduction. *Peptides*; 2015 Sep;71:240–9.
43. Li RY, Song HD, Shi WJ, Hu SM, Yang YS, Tang JF et al. Galanin inhibits leptin expression and secretion in rat adipose tissue and 3T3-L1 adipocytes. *J Mol Endocrinol*. 2004;33:11–9.
44. Yadav A, Kataria MA, Saini V, Yadav A. Role of leptin and adiponectin in insulin resistance. *Clin Chim Acta*; 2013 Feb;417:80–4.
45. Pittas AG, Joseph NA, Greenberg AS. Adipocytokines and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab*; 2004 Feb;89(2):447–52.
46. Kim AY, Park YJ, Pan X, Shin KC, Kwak S-H, Bassas AF, et al. Obesity-induced DNA hypermethylation of the adiponectin gene mediates insulin resistance. *Nat Commun*; 2015 Jul 3;6:7585.
47. Gregor MF, Hotamisligil GS. Inflammatory Mechanisms in Obesity. *Annu Rev Immunol*; 2011 Apr 23;29(1):415–45.