

Leptinemia y riesgo cardiometabólico en sujetos venezolanos. Aplicación del método "MULTIPLEX"

Leptinemia and cardiovascular risk in venezuelan subjects. Application of "MULTIPLEX" method

32

¹Jesús Hernández, ²María del Rosario Garrido, ^{2,3}Yaira Mathison, ³Eduardo Romero, ²Mariella Pastorello, ²María Gabriela Matos, ²Elsa Camacho, ²Leticia Figueira, ²Elodie Billet, ⁴Yubizali López, ²Anita Israel.
¹Cátedra de Bioquímica, Facultad de Odontología, ²Laboratorio de Neuropeptidos, Facultad de Farmacia, ³Cátedra de Farmacología y Medicina Clínica A, Escuela JM Vargas, ⁴Servicio de Medicina, ³Hospital JM Vargas, Universidad Central de Venezuela.

Enviado: 07/08/2013 Recibido: 14/10/2013

Resumen

Objetivo: Evaluar el comportamiento de la leptinemia cuantificada por "multiplex", en una muestra seleccionada de la población venezolana estratificada por sexo y Circunferencia Abdominal (CA) y su correlación con factores de riesgo de Enfermedades Cardiometabólicas (ECM). Metodología: Se estudiaron 173 sujetos adultos, divididos en 4 grupos, 2 del sexo femenino con CA < o > a 88 cm y 2 masculinos con CA < o > 102 cm respectivamente. Se determinó el índice de masa corporal, CA, porcentaje de grasa corporal, presión arterial, glicemia, perfil lipídico y leptina en plasma; encontrándose diferencias estadísticamente significativas al estratificar dichos grupos según la CA, en los parámetros antropométricos y cardiovasculares y entre los grupos del sexo femenino, en la glicemia y leptinemia, la cual tuvo correlación positiva con la CA. Conclusión: La determinación de leptinemia por multiplex en una población venezolana parece tener utilidad para medir riesgo a ECM.

Palabras clave: Leptina, Circunferencia Abdominal, Factores de riesgo

Abstract

Objective: To evaluate the behavior of the leptinemia, quantified by "multiplex", in a venezuelan population stratified by sex and abdominal circumference (AC) and its correlation with risk factors for cardiometabolic diseases (CD). Methods: 173 adult subjects, were divided into 4 groups, 2 female with AC < or > 88 cm and 2 male with AC < or > 102 cm respectively. It was assessed the Body Mass Index, AC, Body Fat%, Blood Pressure, Glucose, Lipid Profile and Leptinemia. It was found statistically significant difference after stratifying these groups according to the AC in anthropometric and cardiovascular parameters between groups, and in females in Glycaemia and Leptinemia, which was positively correlated with AC. Conclusion: The determination leptinemia by multiplex in a venezuelan population seem useful to measure CD risk.

KEY WORDS: Leptin, Abdominal Circumference, Risk factor.

Introducción

Hoy en día se acepta que las Enfermedades Cardiometabólicas (ECM) pueden ser el resultado de la conjunción de una red intrincada de factores predisponentes, pero es difícil precisar si alguno de estos cumple un papel protagónico, lo que ha dado lugar a muchas controversias. Así por ejemplo, se ha demostrado que el Índice de Masa Corporal (IMC), es una herramienta útil en el despistaje de ECM¹;

sin embargo, en los sujetos con masa muscular significativa, la determinación de este parámetro no tiene ningún valor²; por lo que actualmente se ha optado por la medición de la grasa corporal^{3,4,5} o de la circunferencia abdominal (CA), mostrando esta última mayor poder predictivo².

Por otra parte, es importante destacar que los factores predisponentes a las ECM, presentan un patrón de comportamiento diferente, dependiendo de la raza o grupo

étnico que se estudie. Así, se ha reportado que los asiáticos, tienen mayor riesgo de Hipertensión Arterial (HTA) y diabetes a menor IMC respecto a los caucásicos^{6,7,8} y que las mujeres afroamericanas, tienen mayor riesgo a desórdenes metabólicos cuando se comparan con las europeo-americanas, independientemente de su IMC⁹; por lo que se plantea que este comportamiento puede deberse a diferencias étnicas en la composición y distribución de la grasa corporal. De hecho, la mayor cantidad de grasa visceral respecto a la subcutánea entre los asiáticos y los caucásicos^{10,11}, pudiera constituir la causa de la resistencia a la insulina y otros desórdenes metabólicos en estos grupos étnicos¹².

Ahora bien, no siempre el patrón de distribución de la grasa corporal puede explicar la variabilidad existente en el riesgo a ECM entre las poblaciones; en este sentido, se ha descrito que los afroamericanos, aún teniendo mayor proporción de tejido adiposo periférico respecto al visceral¹³, presentan mayor prevalencia de HTA si se les compara con los caucásicos¹⁴. Es por ello que recientemente se ha propuesto, que la concentración plasmática de diversas adipocitoquinas, más que la propia distribución de la grasa corporal pueda explicar las diferencias en la prevalencia del riesgo a ECM presentadas entre las razas; es por ello que la evidencia sugiere que cada raza tiene un determinado patrón de secreción de dichas hormonas¹⁵.

Una de las adipocitoquinas más estudiada es la leptina, péptido pleiotrópico sintetizado principalmente en el tejido adiposo, por lo que su concentración plasmática es directamente proporcional a la cantidad de grasa en el organismo¹⁶, el cual se describió inicialmente como una hormona capaz de regular el apetito al actuar a nivel del hipotálamo¹⁷; sin embargo, hoy en día se sabe que está involucrada en muchas funciones como la reproducción, la angiogénesis, la respuesta inmune inflamatoria, la modulación de la Presión Arterial (PA) y el metabolismo energético entre otras¹⁸.

Los efectos producidos por la leptina dependen de sus niveles plasmáticos, así, a bajas concentraciones resulta favorable para el organismo, mientras que sucede lo contrario a medida que ésta se incrementa; donde se hace evidente su asociación con la HTA y con desórdenes metabólicos¹⁹; por lo que se propone la existencia de un estado de resistencia a la leptina en el obeso, el cual puede darse por diferentes mecanismos aún no del todo esclarecidos²⁰.

Partiendo del hecho que tanto la leptinemia como el diámetro de la CA tienen un importante papel predictivo de las ECM, y tomando en cuenta además que la expresión de este péptido pudiese estar modulada por factores étnicos, decidimos evaluar el comportamiento de esta hormona en sujetos con diferentes valores de CA en una población venezolana seleccionada, donde debido a la presencia de un mestizaje significativo, es difícil inferir el patrón de secreción de la leptina y la manera como se asocia con

diferentes factores de riesgo a ECM, para lo cual, además de medir su concentración, determinamos si sus niveles plasmáticos se correlacionan con algunos parámetros antropométricos y cardiometabólicos comúnmente usados para medir dichos riesgos.

Por otra parte, debido al auge y la diversificación del uso que recientemente han mostrado las técnicas que determinan la concentración de varias citoquinas simultáneamente como el "multiplex"^{21,22}, se utilizó dicha metodología para cuantificar la concentración de leptina plasmática y de esta manera tener resultados comparables con los que se reportan a nivel mundial.

Población y Muestra. Reclutamiento y selección de los sujetos

La población estuvo constituida por adultos en edades comprendidas entre 19-68 años que acudieron de manera voluntaria a la consulta y evaluación Cardiometabólica en la Unidad de Farmacología Clínica de la Facultad de Farmacia y de la Escuela de Medicina José María Vargas de la Universidad Central de Venezuela (Caracas, Venezuela) desde Julio de 2012 hasta Abril de 2013. La muestra estuvo conformada por 173 sujetos adultos de ambos géneros, seleccionados de la población; de los cuales 99 eran del sexo femenino.

Fueron excluidos del estudio, sujetos con hábito tabáquico, proteinuria franca y/o diagnóstico previo de nefropatías, independientemente de su etiología, cardiopatía isquémica, insuficiencia cardíaca, lupus eritematoso sistémico, mieloma múltiple o con PA superior a 160/100 mmHg.

Todos los protocolos experimentales fueron revisados y aprobados por el Comité de Bioética del Hospital Universitario de Caracas y cumplen con la Declaración de Helsinki para experimentación con seres humanos (1964 y revisión del 2013) y sólo se realizó en aquellos sujetos que firmaron el Consentimiento Informado, todo esto en apego a la Ley del Ejercicio de la Medicina y a las Normas de Investigación Clínica del Ministerio del Poder Popular para la Salud y el Desarrollo Social.

Procedimiento Metodológico. Evaluación antropométrica y cardiometabólica

Los pacientes fueron citados a la Unidad de Farmacología Clínica de la Facultad de Farmacia y de la Escuela de Medicina José María Vargas de la Universidad Central de Venezuela (Caracas, Venezuela) entre las 7 y las 8 de la mañana. Todos los pacientes fueron sometidos a examen físico determinando talla, peso, CA, porcentaje de grasa y PA. Se registraron los valores de PA Sistólica (PAS), Diastólica (PAD) y Media (PAM), luego de 15 minutos de reposo, efectuándose tres mediciones con un minuto de separación entre ellas, utilizando un equipo automatizado (Accutorr Plus, Datascope, New Jersey, USA). Seguidamente, se midió la talla (en cm), el peso (en Kg), empleando una

balanza, el diámetro de la circunferencia abdominal (en cm) y el porcentaje de grasa corporal por bioimpedancia eléctrica con el medidor de grasa (OMRON, Modelo BHF306C). Posteriormente, a cada paciente se le tomó una muestra de sangre periférica previo ayuno de 12 horas mediante venopunción directa en la región antecubital utilizando tubos con EDTA. Posteriormente, fueron centrifugadas a 3000 rpm durante 15 minutos, reservando el plasma, el cual se congeló a -70°C hasta el momento de su procesamiento, el cual fue destinado para la determinación plasmática de la glicemia, triglicéridos, colesterol total, colesterol asociado a las lipoproteínas de alta densidad (c-HDL) y leptina.

Siguiendo los lineamientos establecidos por el ATP III (National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of the High Blood Cholesterol in Adult) y tomando en cuenta que la leptinemia es significativamente mayor en las mujeres, se decidió evaluar las posibles diferencias en los parámetros registrados, según el diámetro de la CA, por lo que se conformaron 4 grupos de estudio, dos del sexo femenino (G1 y G2), con diámetro de CA menor o mayor a 88 cm, respectivamente y dos del sexo masculino (G3 y G4), con diámetro de CA menor o mayor a 102 cm, respectivamente.

Métodos Bioquímicos

Se determinó la concentración plasmática de glicemia, triglicéridos, colesterol total y c-HDL, por métodos enzimáticos, utilizando el estuche comercial (Stanbio). Los valores de referencia para las variables estudiadas fueron 70–105 mg/dL; <200 mg/dL; >60 mg/dL; <150 mg/dL para la glicemia, colesterol total, c-HDL y triglicéridos, respectivamente.

Para la determinación de la leptina plasmática, todas las muestras de plasma se evaluaron por duplicado mediante el análisis multiplex de microesferas (Bio-Plex Pro Assays Cytokine, Chemokine and Growth Factors, Life Science Grup, BIORAD). Brevemente, el sistema Bio-Plex® se basa en tres núcleos tecnológicos. El primero constituye una tecnología novedosa que emplea hasta 100 microesferas de poliestireno ($5.6\mu\text{m}$) o magnéticas ($8\mu\text{m}$), teñidas fluorescentemente codificadas con un código espectral (Tecnología xMAP), la

cual permite la detección simultánea de hasta 100 moléculas diferentes por muestra. El segundo es un citómetro de flujo con dos rayos láser asociados a un sistema óptico que permite cuantificar las diferentes moléculas unidas a la superficie de las microesferas. El tercero está constituido por un procesador de señal digital de alta velocidad que maneja los datos de fluorescencia con alta eficiencia.

Análisis estadístico

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

Resultados

Al medir los parámetros antropométricos y cardiovasculares, se encontró que hubo diferencias estadísticamente significativas en la edad, IMC, CA, porcentaje de grasa corporal, PAS, PAM y PAD ($p<0,01$) entre los grupos del sexo femenino y del masculino. Se encontró diferencias en el IMC, PAD, porcentaje de grasa corporal CA ($p<0,05$) entre los sujetos masculinos con $CA<102$ cm al compararlos con las mujeres con $CA<88$ cm (Tabla I). Se encontró diferencias estadísticamente significativas, en la glicemia y la leptinemia entre los grupos del sexo femenino y en la concentración de c-HDL entre los sexos (Tabla II). Por otra parte, al hacer la correlación de Pearson entre las variables en estudio y la CA, se encontró correlación positiva con la Edad, Peso, Talla, IMC, PAS, PAD, glicemia, triglicéridos y leptina y negativa con el c-HDL (Tabla III).

Tabla 1. Parámetros antropométricos y cardiovasculares estratificados según el sexo y la CA

	GRUPO 1 Femenino (CA<88cm)	GRUPO 2 Femenino (CA>88 cm)	GRUPO 3 Masculino (CA<102cm)	GRUPO 4 Masculino (CA>102cm)
N° de sujetos (Total= 173)	48	51	48	26
Edad (años)	34,22 \pm 1,92	44,25 \pm 1,61***	34,61 \pm 1,80	44,52 \pm 2,03##
IMC (Kg/m2)	23,31 \pm 0,57	34,17 \pm 0,84***	26,93 \pm 0,45*	35,65 \pm 1,02###
CA (cm)	77,97 \pm 0,97	104,4 \pm 1,73***	91,0 \pm 1,22***	114,85 \pm 2,17###
% Grasa Corporal	27,02 \pm 0,88	38,4 \pm 0,59***	22,57 \pm 0,8**	32,87 \pm 1,09###
PAS (mm Hg)	114,63 \pm 1,79	128,37 \pm 2,2***	122,35 \pm 1,11	134,81 \pm 3,35###
PAD (mm Hg)	74,53 \pm 1,24	82,73 \pm 1,41**	82,73 \pm 1,41*	91,15 \pm 2,15###
PAM (mmHg)	87,90 \pm 1,36	97,94 \pm 1,58***	94,25 \pm 1,19	105,7 \pm 2,43###

Cada valor corresponde a la media \pm E.E.M. (** $p<0,01$ y *** $p<0,001$, al comparar G2 con G1; # $p<0,01$ y ## $p<0,001$ al comparar G4 y G3; * $p<0,05$, ** $p<0,01$ y *** $p<0,001$ al comparar G3 con G1).

Tabla 2. Parámetros bioquímicos estratificados según el sexo y la CA

	GRUPO 1 Femenino (CA<88cm)	GRUPO 2 Femenino (CA>88 cm)	GRUPO 3 Masculino (CA<102cm)	GRUPO 4 Masculino (CA>102cm)
Glicemia (mg/dL)	81,31 ± 1,13	88,77 ± 1,91*	85,11 ± 1,68	87,65 ± 2,04
Colesterol Total (mg/dL)	167,07 ± 6,02	153,08 ± 8,37	167,3 ± 8,38	167,34 ± 7,74
Triglicéridos (mg/dL)	93,8 ± 8,62	128,98 ± 10,20	120,02 ± 9,3	146,8 ± 12,44
c-HDL (mg/dL)	44,18 ± 1,48	41,75 ± 1,48	37,06 ± 1,42#	35,98 ± 1,74
Leptina (ng/mL)	3,97 ± 0,58	6,70 ± 0,778*	3,42 ± 0,61	4,14 ± 0,61

Cada valor corresponde a la media ± E.E.M. (*p<0,05 al comparar G2 y 1; #p<0.05 al comparar G3 con G1).

Tabla 3. Correlación de Pearson entre la Circunferencia Abdominal y las variables cardiovasculares y bioquímicas

	R	P
CA y PAS	0,4848	0,0001
CA y PAD	0,5138	0,0001
CA y Glicemia	0,2189	0,0034
CA y Triglicéridos	0,2523	0,0007
CA y c-HDL	-0,2103	0,005
CA y Edad	0,3290	0,0001
CA y Peso	0,918	0,0001
CA y Talla	0,2567	0,0006
CA e IMC	0,9011	0,0001
CA y Leptina	0,2186	0,0063

Tabla 4 Leptinemia según la raza, sexo y técnica para cuantificar

GRUPO ÉTNICO	SEXO	IMC	MÉTODO	LEPTINEMIA (ng/mL)	AUTOR
			ELISA		Khan y col. (2012)
Afroamericana	F	32,8 (7,7)		41,3 (25,5)	
China	F	23,6 (4,0)		14 (9,4)	
Japonesa	F	23,9 (4,3)		13,9 (10,4)	
Caucásica	F	28,6 (6,9)		28,3 (21,6)	
			RIA		Azrad y col. (2013)
Europeo americana	F	28,3 (0,14)		25,1 (2,4)	
Afro americana	F	28,2 (0,17)		22,7 (2,6)	
					Loo y col., (2011)
Finlandeses	F+M		ELISA	19,9 (rango:1,23-125)	
	F+M		MULTIPLEX	9 (rango:1,5-44,6)	
Venezolanos			IRMA		Velázquez y col. (2006)
	M	28,8		10 (1)	
	F	28		28 (2)	
Venezolanos	M+F	25,3(3)	RIA		Contreras y col. (2011)
	M			6,9 (3,6)	
	F			9,1 (2,4)	
Venezolanos			ELISA		Solano y col. (2009)
	M+F	32,3 (5)		23,4 (14)	

Cada valor representa la media (D.E)

Discusión

Los resultados obtenidos en el presente estudio confirman que la población evaluada, sigue el mismo comportamiento que el reportado a nivel mundial; es decir, se evidencia un incremento del porcentaje de grasa corporal, IMC, PAS, PAD y PAM, proporcional al aumento de la CA y además se observa que el promedio de edad es mayor en el grupo con mayor diámetro de CA.

Muchos estudios realizados en diferentes poblaciones a nivel mundial, coinciden en que el IMC aumenta propor-

cionalmente con la edad; de esta manera, el norteamericano lo incrementa significativamente hasta los 50 o 60 años y en menor proporción hasta los 70 u 80 años, siendo mayor en las mujeres adultas jóvenes afroamericanas, respecto a las caucásicas del mismo grupo etario²³. Curiosamente, los japoneses presentan en promedio, el mismo IMC en los diferentes grupos etarios; sin embargo, la cantidad de grasa corporal aumenta con la edad⁵, mientras que los tailandeses, a pesar de tener en su mayoría un IMC normal, muestran un ligero incremento entre los 40 y 60 años de edad²⁴. En la población evaluada en el

presente estudio, a diferencia de lo reportado en los japoneses o tailandeses, el incremento en el IMC con la edad es evidente, encontrándose que en promedio los sujetos que son 10 años mayores, independientemente del sexo, incrementan hasta en 10 Kg/m² su IMC.

Por otra parte, en esta investigación se corroboró la utilidad que tiene la medición de la CA como herramienta útil para evaluar riesgo a ECM, previamente reportada por otros autores^{2,12}, ya que se evidenció diferencias estadísticamente significativas en los parámetros cardiovasculares y el porcentaje de grasa corporal, al estratificar a los sujetos con respecto al diámetro de la CA, evidenciándose correlación positiva de esta variable con factores de riesgo conocidos de ECM; además, el hecho de que los valores de glicemia y perfil lipídico usados clásicamente para el diagnóstico del Síndrome Metabólico²⁵, resultaron estar dentro del rango de referencia, independientemente de los valores antropométricos, le da mayor relevancia al diámetro de la CA como parámetro útil en la evaluación de riesgo a ECM.

Actualmente se postula que el efecto deletéreo que tiene el incremento del Tejido Adiposo Abdominal (TAA), viene dado por la modificación del perfil de compuestos que éste elabora en los sujetos con sobrepeso u obesidad. Hoy en día se considera al TAA, como un órgano endocrino y paracrino²⁶, capaz de elaborar diferentes citoquinas, muchas de éstas no exclusivas del tejido adiposo, que contribuyen al estado proinflamatorio observado en el obeso²⁷, esto debido al incremento en estos sujetos, de la proporción de macrófagos en el TAA hasta en un 50%²⁸. Además, este órgano sintetiza sustancias propias como la adiponectina y otras casi exclusivas del tejido adiposo como la leptina²⁷, la cual al aumentar su producción, puede propiciar un estado de resistencia a esta hormona, contribuyendo de esta manera también a la resistencia a la insulina y a todas las consecuencias que ello acarrea^{20,29}.

También se ha determinado que la leptina puede propiciar la formación de la placa ateromatosa^{30,31,32}, estimular la producción de endotelina I y de especies reactivas de oxígeno e inducir a la expresión de moléculas de adhesión³³, todo esto en concordancia con el hecho que el aumento de sus niveles plasmáticos, se ha asociado a un incremento de la PA, tanto en sujetos normotensos³⁴ como en los hipertensos³⁵. En la presente investigación, se evidenció una correlación positiva entre la leptinemia y la CA y entre la CA y la PA, lo cual pudiese tener un valor predictivo al evaluar el riesgo a ECM, por todas las implicaciones explicadas previamente que tiene este péptido en dichas enfermedades.

El comportamiento mostrado por la leptina en la población estudiada, es similar al dado en otras localidades; de esta manera, la correlación positiva con el diámetro de la CA, además de la mayor leptinemia en el sexo femenino (que se hizo más evidente en las mujeres de mayor CA),

ya ha sido reportados en diversas investigaciones, lo cual era de esperarse, ya que por una parte, generalmente el incremento de la CA va acompañado de un aumento de TAA, el cual es productor de leptina y por otra, que el porcentaje de grasa corporal es mayor en el sexo femenino³⁶.

Es preciso destacar que es necesario ser muy cautelosos al momento de comparar los resultados de leptinemia dados en diferentes estudios, ya que estos varían significativamente bien sea por el sexo, la raza y los diferentes parámetros antropométricos^{36,37}, además de que su rango depende de la técnica empleada para su cuantificación²².

Existen estudios realizados en diferentes grupos étnicos a nivel mundial, que arrojan resultados de leptinemia difíciles de interpretar, ya que difieren no sólo en las características antropométricas de los sujetos evaluados, sino en las técnicas que estos emplean^{15,22,37,38,39,40} (Tabla IV). Una de las técnicas más ampliamente usadas para la cuantificación de leptina es la del ELISA, la cual a pesar de que ha mostrado muy buena correlación con la técnica de multiplex ($r=0,9$), difiere de esta; ya que tanto el valor de su media aritmética como el rango en el cual oscilan sus valores, son significativamente mayores si se les compara con el multiplex²² (Tabla IV).

Además de las ventajas que clásicamente se le describen a la técnica de Multiplex, como la capacidad de detección simultánea de varias citoquinas y el menor volumen de muestra requerida, esta técnica tiene un rango dinámico más amplio y un límite inferior de detección ligeramente menor si se le compara con el ELISA; sin embargo, la comparación de los datos entre las técnicas se dificulta debido a que en muchas ocasiones el tipo de anticuerpo utilizado es diferente para cada metodología²².

De acuerdo a los condiciones metodológicas del presente estudio, los valores medios de leptina obtenidos parecen ser inferiores a los reportados previamente en nuestro país por la técnica de ELISA³⁸ (Tabla IV); sin embargo, no se pueden establecer comparaciones entre los resultados obtenidos por diferentes metodologías, debido a que existen muchos factores que intervienen en la interpretación de los mismos, como el alto grado de mestizaje en nuestra población y la falta de uniformidad entre los datos antropométricos en cada estudio, por lo que sería ideal realizar estos ensayos, midiendo la leptinemia simultáneamente con las técnicas que se deseen evaluar, utilizando las mismas muestras en cada metodología.

Por lo tanto, en el presente estudio se confirma la utilidad de la cuantificación de la leptina plasmática, como uno de los componentes que participa en el establecimiento de los factores de riesgo a ECM y que la técnica de multiplex aparentemente puede usarse para estos fines, sin embargo, es necesario dar continuidad a estos estudios utilizando este ensayo como herramienta.

Referencias

- Kuczmarski R, Flegal K. Criteria for definition of overweight in transition: background and recommendations for the United States. *Am J Clin Nutr.* 2000; 72: 1074-1081.
- Jansen I, Katzmarzyk P, Ross R. Waist circumference and not body mass index explains obesity-related health risk. *Am J Clin Nutr.* 2004;79: 379-84.
- Ronnen R. Applications of bioelectrical impedance analysis for body composition to epidemiologic studies. *Am J Clin Nutr* 1996; 64: 459S-462S.
- Mateo-Gallego R, Bea AM, Jaraúta E, Perez-Ruiz MR, Civeira F. Age and sex influence the relationship between waist circumference and abdominal fat distribution measured by bioelectrical impedance. *Nutr Res.* 2012;32(6):466-469
- Hori A, Nanri A, Sakamoto N, Kuwahara K, Nagahama S, Kato N, Fukasawa K, Nakamoto K, Ohtsu M, Matsui A, Kochi T, Eguchi M, Imai T, Nishihara A, Tomita K, Murakami T, Shimizu C, Shimizu M, Miyamoto T, Uehara A, Yamamoto M, Nakagawa T, Yamamoto S, Honda T, Okazaki H, Sasaki N, Kurotani K, Pham NM, Kabe I, Mizoue T, Sone T, Dohi S; Japan Epidemiology Collaboration on Occupational Health Study Group. Comparison of body mass index, waist circumference, and waist-to-height ratio for predicting the clustering of cardiometabolic risk factors by age in Japanese workers-Japan Epidemiology Collaboration on Occupational Health study. *Circ J.* 2014;78(5):1160-1168.
- Huxley R, James WP, Barzi F, Patel JV, Lear SA, Suriyawongpaisal P, Janus E, Caterson I, Zimmet P, Prabhakaran D, Reddy S, Woodward M. Obesity in Asia Collaboration. Ethnic comparisons of the cross-sectional relationships between measures of body size with diabetes and hypertension. *Obes Rev.* 2008 Suppl 1:53-61.
- Maskarinec G, Erber E, Grandinetti A, Verheus M, Oum R, Hopping BN, Schmidt MM, Uchida A, Juarez DT, Hodges K, Kolonel LN. Diabetes incidence based on linkages with health plans: the multiethnic cohort Diabetes. 2009; 58(8):1732-1738.
- Stommel M, Schoenborn C. Variations in BMI and prevalence of health risks in diverse racial and ethnic populations. *Obesity.* 2010; 18(9): 1821-1826
- Golden SH, Brown A, Cauley JA, Chin MH, Gary-Webb TL, Kim C, Sosa JA, Sumner AE, Anton B. Health disparities in endocrine disorders: biological, clinical, and non-clinical factors an Endocrine Society scientific statement. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012; 97(9):E1579-1639.
- Lear SA, Humphries KH, Kohli S, Chockalingam A, Frohlich JJ, Birmingham CL. Visceral adipose tissue accumulation differs according to ethnic background: results of the Multicultural Community Health Assessment Trial (M-CHAT). *Am J Clin Nutr.* 2007; 86(2):353-359.
- Tanaka S, Horimai C, Katsukawa F. Ethnic differences in abdominal visceral fat accumulation between Japanese, African-Americans, and Caucasians: a meta-analysis. *Acta Diabetol.* 2003; 40 Suppl 1:S302-304.
- Fox C, Massaro J, Hoffmann U, Pou K, Maurovich-Horvat P, Liu C, Vasan R, Murabito M, Meigs J, Cupples A, D'Agostino R, O'Donnell C. Abdominal visceral and subcutaneous adipose tissue compartments. Association with metabolic risk factors in the Framingham Heart Study. *Circulation.* 2007; 116:39-48.
- Camhi SM, Bray GA, Bouchard C, Greenway FL, Johnson WD, Newton RL, Ravussin E, Ryan DH, Smith SR, Katzmarzyk PT. The relationship of waist circumference and BMI to visceral, subcutaneous, and total body fat: sex and race differences. *Obesity.* 2011;19(2):402-408.
- Lloyd-Jones D, Adams RJ, Brown TM, Carnethon M, Dai S, De Simone G, Ferguson TB, Ford E, Furie K, Gillespie C, Go A, Greenlund K, Haase N, Hailpern S, Ho PM, Howard V, Kissela B, Kittner S, Lackland D, Lisabeth L, Marelli A, McDermott MM, Meigs J, Mozaffarian D, Mussolino M, Nichol G, Roger VL, Rosamond W, Sacco R, Sorlie P, Roger VL, Thom T, Wasserthiel-Smoller S, Wong ND, Wylie-Rosett J. American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics 2010 update: a report from the American Heart Association *Circulation.* 2010; 23(1217):e46-e215.
- Khan UI, Wang D, Sowers MR, Mancuso P, Everson-Rose SA, Scherer PE, Wildman RP. Race-ethnic differences in adipokine levels: the Study of Women's Health Across the Nation (SWAN). *Metabolism.* 2012; 61(9):1261-1269.
- Minocci A, Savia G, Lucantoni R, Berselli M, Tagliaferri M, Calò G, Petroni ML, Medici C, Viberti GC, Liuzzi A. Leptin plasma concentrations are dependent on body fat distribution in obese patients. *Int J Obesity* 2000; 24: 1139-1144.
- Isse N, Ogawa Y, Tamura N, Mazusaki H, Mori K, Okazaki T, Satoh N, Shigemoto M, Yoshimasa M, Nishi S, Hosoda K, Inazawa J, Nakao K. Structural organization and chromosomal assignment of the human obese gene. *J Biol Chem.* 1995; 270: 27728-27733.
- Fruhbeck G. Role of adipocytokines in metabolism and disease. *Nut Res.* 2004; 24: 803-826.
- Margetic S, Gazzola C, Peg GC, Hill RA. Leptin: a review of this peripheral actions and interactions. *Int J Obes.* 2002; 26: 1407-1433.
- Martin S.S, Qasim A, Reilly M.P. Leptin resistance: a possible interface of inflammation and metabolism in obesity-related cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol.* 2008; 52(15):1201-1210
- Schipper HS, de Jager W, van Dijk ME, Meerding J, Zelissen PM, Adan RA, Prakken BJ, Kalkhoven E. A multiplex immunoassay for human adipokine profiling. *Clin Chem.* 2010; 56(8):1320-1328
- Loo BM, Marniemi J, Jula A. Evaluation of multiplex immunoassays, used for determination of adiponectin, resistin, leptin, and ghrelin from human blood samples, in comparison to ELISA assays. *Scand J Clin Lab Invest.* 2011; 71(3):221-226
- Kahn HS, Cheng YJ. Longitudinal changes in BMI and in an index estimating excess lipids among white and black adults in the United States. *Int J Obes.* 2008; 32:136-143
- Chittawatanarat K, Pruenglampoo S, Kongsawadi S, Chuatrakoon B, Trakulhoon V, Ungpinitpong W, Patumanond J. The variations of body mass index and body fat in adult Thai people across the age spectrum measured by bioelectrical impedance analysis. *Clin Interv Aging.* 2011; 6:285-294
- Alberti K.G, Eckel R.H, Grundy S.M, Zimmet P.Z, Cleeman J.I, Donato K.A, Fruchart J.C, James W.P, Loria C.M., Smith S.C. Jr. 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.* 2009; 120(16):1640-1645
- Ailhaud G. Adipose tissue as a secretory organ: from adipogenesis to the metabolic syndrome. *C.R. Biologies.* 2006 ; 329: 570-577
- Lafontan M, Girard J. Impact of visceral adipose tissue on liver metabolism Part I: Heterogeneity of visceral adipose tissue. *Diabetes Metab.* 2008; 34(4 Pt 1):317-327
- Weisberg S, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel R, Ferrante A. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest.* 2003; 112(12): 1796-1808
- Wilsey J, Scarpace P.J. Caloric restriction reverses the deficits in leptin receptor protein and leptin signaling capacity associated with diet-induced obesity: role of leptin in the regulation of hypothalamic long-form leptin receptor expression. *J Endocrinol.* 2004; 181: 297-306
- O'Rourke L, Gronning L.M., Yeaman S.J., Shepherd P.R. Glucose-dependent regulation of cholesterol ester metabolism in macrophages by insulin and leptin. *J Biol Chem.* 2002; 277: 42557-42562
- Yamagishi S.I, Edelstein D, Du X.L, Kaneda Y, Guzman M, Brownlee M. Leptin induces mitochondrial superoxide production and monocyte chemoattractant protein-1 expression in aortic endothelial cells by increasing fatty acid oxidation via protein kinase A. *J Biol Chem* 2001; 276: 25096-25100
- Park HY, Kwon HM, Lim HJ, Hong BK, Lee JY, Park BE, Jang Y, Cho SY, Kim HS. Potential role of leptin in angiogenesis: leptin induces endothelial cell proliferation and expression of matrix metalloproteinases in vivo and in vitro. *Exp Mol Med.* 2001; 33(2):95-102
- Quehenberger P, Exner M, Sunder-Plassmann R, Ruzicka K, Bieglmayer C, Endler G, Muellner C, Speiser W, Wagner O. Leptin induces endothelin-1 in endothelial cells in vitro. *Circ Res.* 2002; 90(6):711-718
- Schorr U, Blaschke K, Turan S, Distler A, Sharma A.M. Relationship between angiotensinogen, leptin and blood pressure levels in young normotensive men. *J Hypertens.* 1998; 16 :1475-1480
- Agata J, Masuda A, Takada M, Higashiura K, Murakami H, Miyazaki Y, Shimamoto K. High plasma immunoreactive leptin level in essential hypertension. *Am J Hypertens* 1997;10: 1171-1174
- Kennedy A, Gettys TW, Watson P, Wallace P, Ganaway E, Pan Q, et al. The metabolic significance of leptin in humans: gender-based differences in relationship to adiposity, insulin sensitivity, and energy expenditure. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82:1293-1300
- Azrad M, Gower BA, Hunter GR, Nagy TR. Racial differences in adiponectin and leptin in healthy premenopausal women *Endocrine.* 2013;43(3):586-592
- Solano R, Baron M, Portillo Z, Fajardo Z. Leptina e insulina sérica en adultos con sobrepeso y obesos en régimen hipocalórico con alto contenido de carbohidratos complejos. *Rev. Chil. Nutr.* 2009; 36(2):129-135
- Velázquez E, Bencomo M, Villarreal V, Arata G. Relación entre leptina y presión arterial en individuos no diabéticos. Posible Efecto de la edad y el sexo. *Med. Clin. (Barc)* 2006; 126 (18): 690-692
- Contreras F, Lares M, Gutiérrez R., Velasco M. Leptina e Hipertensión. *Rev. Lat. Hipert.* 011; 6(3):52-59.