



UNIVERSIDAD DE MÁLAGA

Programa de Doctorado en Biomedicina, Investigación
Traslacional y Nuevas Tecnologías en Salud

Facultad de Medicina

Tesis Doctoral

NIVELES SÉRICOS DEL FACTOR DE CRECIMIENTO DEL ENDOTELIO VASCULAR B (VEGFB) EN LA COHORTE DI@BET.ES Y SU RELACIÓN CON LA INCIDENCIA DE ENFERMEDADES METABÓLICAS PREVALENTES

Autora:
ANA MARÍA LAGO SAMPEDRO

Directoras:
Dra. Gemma Rojo Martínez y Dra. Eva García Escobar

Tutor:
Dr. Gabriel M^a Olveira Fuster

Málaga, 2025





UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

AUTORA: Ana María Lago Sampedro

 <http://orcid.org/0000-0002-3072-9981>

EDITA: Publicaciones y Divulgación Científica. Universidad de Málaga



Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional:

Cualquier parte de esta obra se puede reproducir sin autorización pero con el reconocimiento y atribución de los autores.

No se puede hacer uso comercial de la obra y no se puede alterar, transformar o hacer obras derivadas.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/legalcode>

Esta Tesis Doctoral está depositada en el Repositorio Institucional de la Universidad de Málaga (RIUMA): riuma.uma.es





UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA



Escuela de Doctorado

D./Dña ANA MARIA LAGO SAMPEDRO

Estudiante del programa de doctorado BIOMEDICINA, INVESTIGACIÓN TRASLACIONAL Y NUEVAS TECNOLOGÍAS EN SALUD de la Universidad de Málaga, autor/a de la tesis, presentada para la obtención del título de doctor por la Universidad de Málaga, titulada: NIVELES SÉRICOS DEL FACTOR DE CRECIMIENTO DEL ENDOTELIO VASCULAR B (VEGFB) EN LA COHORTE DI@BET.ES Y SU RELACIÓN CON LA INCIDENCIA DE ENFERMEDADES METABÓLICAS PREVALENTES.

Realizada bajo la tutorización de DR. GABRIEL OLVEIRA FUSTER y dirección de DRA. GEMMA ROJO MARTÍNEZ Y DRA. EVA GARCÍA ESCOBAR (si tuviera varios directores deberá hacer constar el nombre de todos)

DECLARO QUE:

La tesis presentada es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, conforme al ordenamiento jurídico vigente (Real Decreto Legislativo 1/1996, de 12 de abril, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Propiedad Intelectual, regularizando, aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), modificado por la Ley 2/2019, de 1 de marzo.

Igualmente asumo, ante a la Universidad de Málaga y ante cualquier otra instancia, la responsabilidad que pudiera derivarse en caso de plagio de contenidos en la tesis presentada, conforme al ordenamiento jurídico vigente.

En Málaga, a
29 de ENERO de 2025

<p>Fdo.: ANA MARIA LAGO SAMPEDRO Doctorando/a</p>	<p>Fdo.: GABRIEL OLVEIRA FUSTER Tutor/a</p>
<p>Fdo.: GEMMA ROJO MARTINEZ Director/a</p>	<p>Fdo.: EVA GARCÍA ESCOBAR Director/a</p>



EFQM AENOR



Edificio Pabellón de Gobierno. Campus El Ejido.
29071
Tel.: 952 13 10 28 / 952 13 14 61 / 952 13 71 10
E-mail: doctorado@uma.es





UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

D. **Gabriel Olveira Fuster**, profesor titular de la Universidad de Málaga en el Área de conocimiento de Medicina, adscrito al Departamento de Medicina y Dermatología con vinculación a plaza de Facultativo especialista de Área de Endocrinología y Nutrición en el Hospital Regional Universitario de Málaga.

D^a. **Gemma Rojo Martínez**, investigadora del Sistema Nacional de Salud en el Hospital Regional Universitario de Málaga, perteneciente al Instituto de Biomedicina de Málaga (IBIMA) y al CIBER de Diabetes y enfermedades asociadas (CIBERDEM) y D^a. **Eva García Escobar**, investigadora del Sistema Nacional de Salud en el Hospital Regional Universitario de Málaga, perteneciente al CIBER de Diabetes y enfermedades asociadas (CIBERDEM).

CERTIFICAN Que D^a. **Ana María Lago Sampedro** ha obtenido y estudiado personalmente bajo mi dirección los datos clínicos necesarios para la realización de su Tesis Doctoral, titulada: **“Niveles séricos del factor de crecimiento del endotelio vascular b (VEGFb) en la cohorte Di@bet.es y su relación con la incidencia de enfermedades metabólicas prevalentes”**, que considero tiene el contenido y rigor científico necesario para ser sometido al superior juicio de la Comisión que nombre la Universidad de Málaga para optar a grado de Doctor. Y que la publicación en coautoría que avala la presentación de esta tesis y cuya referencia es:

Lago-Sampedro A, Lhamyani S, Valdés S, Colomo N, Maldonado-Araque C, González-Molero I, Doulatram-Gamgaram V, Delgado E, Chaves FJ, Castaño L, Calle-Pascual A, Franch-Nadal J, Rojo-Martínez G, García-Serrano S, García-Escobar E. Serum vascular endothelial growth factor b and metabolic syndrome incidence in the population based cohort Di@bet.es study. Int J Obes (Lond). 2022 nov;46(11):2013-2020. doi: 10.1038/s41366-022-01212-1. Epub 2022 Aug 20. PMID: 35987953; PMCID: PMC9584818

no ha sido utilizada en tesis anteriores, ni en la Universidad de Málaga, ni en otras Universidades.

Y, para que conste, en cumplimiento de las disposiciones vigentes, expido el presente certificado en Málaga, 29 de enero 2025.

Firman todos:

Directoras: Gemma Rojo Martínez y Eva García Escobar.

Tutor: Gabriel Olveira Fuster.



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

PRÓLOGO



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

El presente trabajo se ha realizado en un grupo de investigación multidisciplinar ligado a un servicio clínico de un hospital de tercer nivel, el Hospital Regional Universitario de Málaga.

Forma parte de la línea de investigación clínico-epidemiológica del grupo consistente en la realización de estudios poblacionales acerca de enfermedades metabólicas prevalentes. Las directoras de esta tesis han basado gran parte de su trabajo de investigación en describir y analizar la epidemiología de estas enfermedades, así como sus factores de riesgo.

La doctoranda se unió al grupo en la fase de seguimiento de una gran cohorte poblacional (estudio di@bet.es), participando activamente en la organización y la logística de movimientos de la colección de muestras biológicas. Asimismo, se responsabilizó del procesamiento de muestras y de algunas de las determinaciones experimentales que se debían realizar en el contexto de varios proyectos financiados en los que ha figurado como investigadora colaboradora:

- INCIDENCIA DE DIABETES TIPO 2 EN EL ESTUDIO DI@BET.ES: PAPEL DE LOS ACIDOS GRASOS Y DEL SISTEMA DE TRANSPORTE REGULADO POR VEGFB EN EL DESARROLLO DE ENFERMEDADES METABÓLICAS. Instituto Salud Carlos III. PI14/00710. IP: Gemma Rojo Martínez / Sergio Valdés Hernández
- INCIDENCIA DE DIABETES TIPO 2 EN ANDALUCÍA (ESTUDIO DI@BET.ES). Sociedad Andaluza De Endocrinología, Diabetes Y Nutrición. AÑO 2015-2016. IP: Gemma Rojo Martínez
- POLUCIÓN DEL AIRE Y RIESGO DE DIABETES EN POBLACIÓN ADULTA ESPAÑOLA. EFECTO MEDIADOR DE LOS MIRNA. ESTUDIO DI@BET.ES. Instituto Salud Carlos III. PI17/02136. IP: Sergio Valdés Hernández / Gemma Rojo Martínez
- ESTUDIO DE LOS MICRORNAS CIRCULANTES IMPLICADOS EN LA REGULACIÓN DEL FACTOR VEGF-B Y SU MODULACIÓN POR LOS ALIMENTOS EN EL ESTUDIO DI@BET.ES. ESTUDIO FUNCIONAL IN VITRO Y MECANISMOS DE REGULACIÓN POR ÁCIDOS GRASOS. Instituto Salud Carlos III. PI18/01165. IP: Eva García Escobar / Sara García Serrano

Y contratada a cargo de proyecto:

- VALIDACIÓN DE UN PERFIL DE MICRORNAS (miRNAs) SÉRICOS QUE PREDICEN LA PROBABILIDAD DE DESARROLLO DE DIABETES TIPO 2 (DM2) EN LOS SUJETOS DEL ESTUDIO DI@BET.ES. Sociedad Española de Diabetes. AÑO 2016-2017. IP: Sara García Serrano
- VALOR PREDICTIVO DE LOS MIRNA SÉRICOS EN EL DESARROLLO DE ENFERMEDADES METABÓLICAS Y SU RELACIÓN CON EL GRADO DE EXPOSICIÓN A PARTÍCULAS Y OTROS CONTAMINANTES DEL AIRE. Instituto Salud Carlos III. PI20/01322. IP: Gemma Rojo Martínez / Sergio Valdés Hernández.
- ESTADO DE NUTRICIÓN DE SELENIO EN LA POBLACIÓN ESPAÑOLA. RELACIÓN CON LA PREVALENCIA E INCIDENCIA DE ENFERMEDAD TIROIDEA Y DIABETES TIPO 2. ESTUDIO DI@BET.ES. Instituto de Salud Carlos III. PI23/00347. IP: Gemma Rojo Martínez / Sergio Valdés Hernández.

Los resultados de algunos de esos análisis bioquímicos son los que presentamos como memoria de tesis doctoral. En la introducción se hace un resumen de las principales características de las patologías cuya epidemiología se ha estudiado, seguida de una exposición acerca de la etiopatogenia que tienen en común. En un segundo bloque de información, se hace una introducción a los biomarcadores seguida del estado del arte acerca del VEGFb, la proteína principal protagonista de este trabajo. Finalmente se describe el estudio epidemiológico nacional “estudio Di@bet.es” sobre el que se ha realizado este trabajo de tesis. Ha sido un proyecto coordinado por nuestro grupo de investigación, en el que han participado diversos investigadores por todo el país y que se ha llevado a cabo como un “proyecto río”, en el que numerosos estudios han ido contribuyendo a la riqueza de datos común que permite ir más allá de un estudio de prevalencia/incidencia de enfermedad y convertirse en un banco de pruebas para el estudio de numerosos factores de riesgo endógenos y ambientales y sus interacciones. En la introducción se resumen algunos de los trabajos publicados antes de la incorporación de la doctoranda al equipo. En los resultados se muestran datos no publicados aún y publicados por la doctoranda una vez incorporada al equipo. La categoría de las revistas donde han sido publicados los resultados que presentará la doctoranda como memoria de tesis doctoral avalan su importancia y calidad.

Directoras

Dra. Eva García Escobar y Dra. Gemma Rojo
Martínez

ABREVIATURAS

AACE (*American Association of Clinical Endocrinologists*): Asociación americana de endocrinólogos clínicos

ADA (*American Diabetes Association*): Asociación americana de diabetes

ADN: Ácido desoxirribonucleico

ACO: Acil CoA oxidasa

ADO: Tratamiento Antidiabético Oral

AHA (*American Heart Association*): Asociación americana del corazón

AKT (*PKB Protein Kinase B*): Proteína quinasa B

ALT: Alanina aminotransferasa

AMP: Adenosín Monofosfato

AMPK (*AMP-activated protein kinase*): Proteína quinasa activada por AMP

ARN: Ácido ribonucleico

AST: Aspartato aminotransferasa

ATP_III (*Adult Treatment Panel III from NCEP*): Panel de tratamiento en adultos de la NCEP

AOVE: Aceite de Oliva Virgen Extra

BIA (*Bioelectrical Impedance Analysis*): Análisis de impedancia bioeléctrica

CaMkk β (*Calcium/Calmodulin-dependent protein kinase β*): Proteína quinasa dependiente de calcio/calmodulina

CPT1 (*Carnitine Palmitoyltransferase 1*): Carnitina Palmitoiltransferasa 1

DAG: Diacilglicerol

DHA (*Docosahexaenoic Acid*): Ácido Docosahexaenoico

DM2: Diabetes Mellitus tipo 2

DXA: Absorciometría de rayos X de doble energía

ECV: Enfermedad Cardiovascular

EGIR (*European Group for the Study of Insulin Resistance*): Grupo europeo para el estudio de la insulinorresistencia

ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*): Inmunoensayo ligado a enzimas

eNOS: Enzima óxido nítrico sintasa endotelial

EPA (*Eicosapentanoic Acid*): Ácido Eicosapentanoico

FLI (*Fatty Liver Index*): Índice de Hígado Graso

GBA: Glucemia Basal Alterada

GGT: Gamma-glutamilttransferasa

GIP: Polipéptido insulínico gástrico

GLP1: Péptido similar a glucacón

HbA1C: Hemoglobina Glicosilada

HDL (*High Density Lipoprotein cholesterol*): Lipoproteínas de alta densidad

HIF-1 (*Hypoxia-Inducible Factor 1*): Factor Inducible por Hipoxia 1

HOMA-IR (*Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance*): Modelo homeostático de evaluación de la resistencia a la insulina

HPLC (*High-Performance Liquid Chromatography*): Cromatografía líquida de alta resolución

HSL (*Hormone-Sensitive Lipase*): Lipasa sensible a hormona

HTA: Hipertensión Arterial

IDF (*International Diabetes Federation*): Federación internacional de diabetes

IL1: Interleucina 1

IL6: Interleucina 6

IMC: Índice de Masa Corporal

IR (*Insulin Receptor*): Receptor de insulina

IRS (*Insulin Receptor substrate*): Sustrato del receptor de insulina

JAK-STAT (*Janus Kinase-Signal Transducer and Activator of Transcription*): Quinasa Janus y Transductor de Señales/Activador de Transcripción

JNK (*C-Jun N-terminal Kinase*): Quinasa N-terminal de c-Jun

KDa: kiloDaltons

LDL (*Low Density Lipoprotein cholesterol*): Lipoproteínas de baja densidad

M1: Macrófagos tipo 1

M2: Macrófagos tipo 2

MAFLD (*Metabolic Associated Fatty Liver Disease*): Enfermedad del hígado graso asociada a disfunción metabólica

MASLD (*Metabolic Associated Steatotic Liver Disfunction*): Esteatosis hepática asociada a disfunción metabólica

MAPK (*Mitogen-Activated Protein Kinase*): Proteína quinasa activada por mitógenos

MCP-1: Proteína quimioatrayente de monocitos

mTOR (*Mammalian Target of Rapamycin*): Diana de Rapamicina en mamíferos

NADH: Nicotinamida Adenina Dinucleótido Hidrogenada

NF- κ B (*Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*): Factor nuclear kappa B

NHLBI (*National Heart, Lung, and Blood Institute (USA)*): Instituto nacional del corazón, pulmón y de la sangre (EEUU)

NO: Óxido nítrico

NO²: Dióxido de nitrógeno

NCEP (*National Cholesterol Education Program (USA)*): Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol

NRP: Neuropeptidina

OMS (*WHO del inglés Word Health Organization*): Organización Mundial de la Salud

PAD: Presión Arterial Diastólica

PAS: Presión Arterial Sistólica

PCRus: Proteína C Reactiva ultrasensible

PI3K: Fosfatidilinositol 3-quinasa

PLGF (*Placental Growth Factor*): Factor de crecimiento placentario

PM¹⁰: Partículas con diámetro aerodinámico inferior a 10 micrómetros

PM^{2.5}: Partículas con diámetro aerodinámico inferior a 2.5 micrómetros

PGC1 α (*Peroxisome proliferator-activated receptor γ Coactivator 1- α*): Coactivador γ y 1- α del receptor activado por proliferadores de peroxisomas

PPAR α (*Peroxisome Proliferator-Activated Receptor alpha*): Receptor activado por proliferadores de peroxisomas α

PKC (*Protein Kinase C*): Proteína quinasa C

RMN: Resonancia Magnética Nuclear

ROS (*Reactive Oxygen Species*): Especies Reactivas de Oxígeno

SCORE (*Systematic Coronary Risk Evaluation*): Evaluación sistemática del riesgo coronario

SF-IPAQ (*Short Form of the International Physical Activity Questionnaire*): Cuestionario corto internacional de actividad física

SNC: Sistema nervioso central

SOG: Sobrecarga Oral de Glucosa

TAC: Tomografía Axial Computerizada

TAG: Tolerancia Alterada a la Glucosa

TLR (*Toll-Like Receptors*): Receptores tipo Toll

TNF α (*Tumor Necrosis Factor α*): Factor de necrosis tumoral α

VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*): Factor de crecimiento del endotelio vascular

VEGFb (*Vascular Endothelial Growth Factor b*): Factor de crecimiento del endotelio vascular b

VEGFR (*Vascular Endothelial Growth Factor Receptor*): Receptor del factor de crecimiento del endotelio vascular

VLDL (*Very Low-Density Lipoprotein*): Lipoproteínas de muy baja densidad



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

INTRODUCCIÓN	1
1. Las enfermedades metabólicas prevalentes	3
1.1. Definición de enfermedad metabólica prevalente	3
1.2. Impacto económico	3
2. Obesidad	5
2.1. Definición de obesidad como enfermedad metabólica	6
2.2. Epidemiología de la obesidad	9
2.3. Criterios de diagnóstico para la obesidad	11
2.3.1. El índice de masa corporal	11
2.3.2. Otras medidas antropométricas	12
3. Diabetes Mellitus Tipo 2	13
3.1. Definición de diabetes mellitus	13
3.2. Epidemiología de la diabetes mellitus	16
3.3. Criterios de diagnóstico para la diabetes mellitus	18
4. Síndrome Metabólico	20
4.1. Definición de síndrome metabólico	21
4.2. Epidemiología del síndrome metabólico	22
4.3. Criterios de diagnóstico del síndrome metabólico	24
5. Enfermedad del Hígado Graso	25
5.1. Definición de hígado graso	25
5.2. Epidemiología de la enfermedad del hígado graso	26
5.3. Criterios de diagnóstico de la enfermedad del hígado graso	27
6. Complicaciones de las enfermedades metabólicas prevalentes	29
7. Etiopatogenia y fisiopatología de las enfermedades metabólicas prevalentes	31
7.1. La insulinorresistencia y el papel clave de la insulina	31
7.2. Mecanismos moleculares implicados en enfermedades metabólicas	37
7.3. Factores de riesgo para enfermedades metabólicas prevalentes	40
7.3.1. Factores de riesgo genéticos	40
7.3.2. Factores de riesgo ambientales	41
8. Biomarcadores	49
8.1. Definición de biomarcador	49
8.2. Tipos de Biomarcadores	50
8.2.1. Biomarcadores no genéticos	50
8.2.2. Biomarcadores genéticos	50
8.3. Características de los biomarcadores	50
8.4. Identificación de biomarcadores	51

9. El factor de crecimiento del endotelio vascular b (VEGFb)	53
9.1. Homeostasis lipídica y endotelio vascular	53
9.2. Transporte de ácidos grasos a través del endotelio vascular	55
9.3. Familia de proteínas VEGF	55
9.4. Características de la proteína VEGFb	58
9.5. Funciones de VEGFb	59
9.5.1. Regulador del transporte de ácidos grasos	59
9.5.2. Facilitador de la angiogénesis	61
9.5.3. VEGFb como activador de la termogénesis	63
9.5.4. Molécula implicada en supervivencia celular	63
9.6. Regulación de los niveles de VEGFb	66
10. El Estudio Di@bet.es	67
10.1. Historia	67
10.2. Diseño	68
10.3. Fases del estudio	70
10.4. Datos publicados previamente del estudio Di@bet.es	70
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	79
MATERIAL Y MÉTODOS	85
1. Población de estudio y muestreo	87
2. Tamaño muestral	88
2.1. Tamaño muestral fase transversal	88
2.2. Tamaño muestral fase prospectiva	88
3. Consideraciones éticas y protección de datos	89
4. Recogida de datos y mediciones de laboratorio	90
4.1. Datos sociodemográficos y clínicos	90
4.2. Datos antropométricos	91
4.3. Información sobre dieta y hábitos	91
4.4. Toma de muestras biológicas	92
4.5. Variables calculadas	94
4.6. Determinación de niveles séricos de la proteína VEGFb	97
4.6.1. Principio de la prueba	98
4.6.2. Características del kit ELISA	99
4.6.3. Cálculo de los resultados	99
5. Análisis estadístico	100
RESULTADOS	103
1. Estudio transversal	105
1.1. Niveles de VEGFb en población general española y factores asociados.	105

1.1.1. Edad y Sexo	107
1.1.2. Variables antropométricas	107
1.1.3. Regulación alterada del metabolismo de la glucosa e insulino resistencia	108
1.1.4. Lípidos plasmáticos y lipoproteínas	109
1.1.5. Tensión arterial	110
1.1.6. Enzimas hepáticas y esteatosis hepática	111
1.1.7. Marcadores de inflamación	111
1.1.8. Dieta y estilo de vida	111
1.2. Valores de referencia de VEGFb en población aparentemente sana	113
2. Estudio de incidencia	114
2.1. Descripción de la población en seguimiento.	114
2.2. Asociación de VEGFb con patología incidente	117
2.2.1. Obesidad	118
2.2.2. Aumento de perímetro abdominal	121
2.2.2.1. Interacción categorías VEGFb y factores de riesgo para el incremento de perímetro abdominal.	125
2.2.3. Hipertensión	127
2.2.4. Síndrome metabólico	129
2.2.5. Diabetes mellitus tipo 2	133
2.2.6. Enfermedad hepática: aumento del marcador FLI	136
2.2.6.1. Interacción categorías de VEGFb y factores de riesgo incremento FLI	140
DISCUSIÓN	143
1. Niveles séricos de VEGFb y prevalencia de enfermedades metabólicas.	145
2. Niveles séricos de VEGFb e incidencia de enfermedades metabólicas	154
3. Relación entre los niveles séricos de VEGFb y diversos factores ambientales	163
3.1. Relación entre VEGFb y ejercicio físico:	163
3.2. Relación entre VEGFb y el consumo de alcohol y tabaco:	165
3.3. Relación entre VEGFb y componentes de la dieta	166
3.3.1. Consumo de aceite de oliva:	166
3.3.2. Consumo de fruta:	167
3.3.3. Consumo de lácteos:	168
4. Fortalezas y limitaciones	171
CONCLUSIONES	175
BIBLIOGRAFÍA	179
PUBLICACIÓN	225
PRODUCCIÓN CIENTÍFICA	229



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

INTRODUCCIÓN



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

1. Las enfermedades metabólicas prevalentes

1.1. Definición de enfermedad metabólica prevalente

Una enfermedad metabólica prevalente es aquella que, afectando al metabolismo y a la homeostasis energética, está presente en un porcentaje muy elevado de la población. Las alteraciones metabólicas que se observan con mayor frecuencia en la población son la obesidad, la diabetes mellitus, las dislipemias y la hipertensión arterial, que, a pesar de ser entidades clínicas diferentes, presentan componentes comunes que las interconectan, como disfunción endotelial e inflamación, pero, principalmente, una elevada adiposidad corporal y resistencia a la hormona insulina como fenómenos etiopatogénicos subyacentes (Reaven, 1988). Estas enfermedades también forman parte o están muy relacionadas con otras condiciones como el síndrome metabólico o el hígado graso, por ello las incluimos en esta definición.

La obesidad, la diabetes mellitus tipo 2, el síndrome metabólico o el hígado graso, han sido descritas como enfermedades crónicas multifactoriales, adquiridas y no transmisibles. Hoy sabemos que todas ellas presentan un importante componente genético complejo, donde múltiples genes proporcionan una predisposición hereditaria a padecerlas, pero, a su vez, interaccionan con factores ambientales influyendo en su aparición y posterior gravedad, siendo, por ello, consideradas enfermedades potencialmente prevenibles.

1.2. Impacto económico

El elevado número de casos registrados para estas enfermedades a nivel mundial suponen graves consecuencias para el adecuado mantenimiento de los sistemas de salud públicos. Esto es debido a la saturación del sistema ante la atención de pacientes o al incesante incremento del gasto sanitario derivado de los costes directos; bajas laborales, diagnósticos, tratamientos farmacológicos e

intervenciones quirúrgicas, o indirectos; asociados a otras complicaciones derivadas (Finkelstein, 2004). En el mundo occidental, el gasto sanitario asociado a estas enfermedades oscila entre un 5 y un 20% del presupuesto total. Se estima que el coste anual medio de un individuo con obesidad es un 44% mayor que el de un individuo con normopeso (Rodríguez-Martín, 2009) y en el caso de un paciente con diabetes mellitus tipo 2, este cuadruplica el de un sujeto sin la enfermedad (IDF, 2015). Lo más preocupante es el aumento de estos datos (Bray, 2017), paralelo al aumento exponencial de estas enfermedades. Es por ello interesante afrontar el problema desde diversos ámbitos para evitar el colapso de los sistemas sanitarios. Actualmente, existen tratamientos farmacológicos para el manejo de obesidad, diabetes, esteatosis por hígado graso o componentes del síndrome metabólico (Merlotti, 2014; Gómez y Stanford, 2018; Rebello y Greenway, 2019), pero, por su carácter de enfermedades potencialmente prevenibles, existen maneras de evitar su aparición o la de sus complicaciones, por ejemplo, desde el punto de vista de sus componentes comunes, el exceso de adiposidad, manteniendo el peso corporal en niveles saludables y evitando la aparición de la resistencia a la insulina (Soriguer, 2012 C).

Debido al carácter prevenible de estas enfermedades es interesante buscar biomarcadores que identifiquen estos procesos patológicos o predigan su aparición años antes del diagnóstico, para así, disponer de nuevas herramientas para su manejo. Por ello, en este trabajo de tesis, nos centramos en el estudio de un biomarcador bioquímico; el factor de transcripción VEGFB sérico y sus asociaciones con estas enfermedades, así como las posibles interacciones con el ambiente.

A continuación, se detallarán individualmente las enfermedades metabólicas prevalentes y de interés en esta tesis, incluyendo en cada una de ellas; definición, epidemiología y criterios para su diagnóstico.

2. Obesidad

Desde la segunda mitad del siglo XX, la humanidad ha experimentado importantes avances científicos y tecnológicos que han dado lugar a grandes cambios en la sociedad actual. Esto ha llevado a un desarrollo urbano con cambios infraestructurales de comunicación, transporte, industria y socioeconómicos, que, a su vez, han dado lugar a una sociedad más sedentaria, con actividad física reducida y disponibilidad continuada de alimentos (muchos de ellos de baja calidad y alta densidad calórica). Estos factores favorecen la generación de un ambiente obesogénico propicio para que el ser humano se encuentre en desequilibrio energético positivo (figura 1). Esto ha llevado en las últimas décadas a incrementar exponencialmente la aparición de sobrepeso, obesidad y sus complicaciones asociadas (Yadav, 2020), especialmente en países desarrollados y aquellos en vías de desarrollo.



Figura 1. Modificada de "Foresight Obesity System Map (Government Office for Science UK. 2007). Creado en BioRender. Lago, A. (2024) <https://BioRender.com/t99p608>. La interacción entre el ambiente obesogénico y la susceptibilidad genética individual desempeña un papel crucial en el aumento global de la prevalencia de obesidad, significativamente influenciado por los estilos de vida contemporáneos y las prácticas de la industria alimentaria. También es importante tener en cuenta la modulación de estos factores ambientales por influencias sociales y variables psicológicas, que contribuyen a la complejidad multifactorial de la epidemia de obesidad.

2.1. Definición de obesidad como enfermedad metabólica

Podemos definirla como la expansión del tejido adiposo alcanzando niveles considerados patológicos (Carobbio, 2019). En adultos, el porcentaje de grasa fisiológico normal oscila entre un 12-20% en varones y un 20-30% en mujeres. Porcentajes superiores a estos estarían indicando un exceso de adiposidad.

Denominamos entonces individuos con obesidad a aquellos con una acumulación anormal o excesiva de adiposidad corporal superior al 25% en hombres y 33% en mujeres. Actualmente, la obesidad debería incluirse dentro de la definición de enfermedad metabólica por sus múltiples comorbilidades relacionadas con el metabolismo energético (Salas-Salvadó, 2007).

En condiciones fisiológicas normales, el ser humano presenta una homeostasis energética en equilibrio para el correcto funcionamiento metabólico y una adecuada composición corporal; la energía que entra mediante la ingesta y la que sale en forma de gasto calórico es constante y estable (Frayn, 2010). Cuando tiene lugar un balance energético positivo y la ingesta supera al gasto, ese exceso se acumula, de manera fisiológica, en forma de gotas lipídicas en los adipocitos del tejido adiposo, principalmente del blanco (Hruby y Hu, 2015). Esto ocurre acompañado de la expansión o diferenciación de nuevos adipocitos y un consecuente incremento del peso corporal (Aranceta-Batrina, 2005). Esto permite al organismo disponer de reservas energéticas en momentos de necesidad. Por ello, la principal función de los adipocitos es almacenar y movilizar lípidos, aunque pueden presentar otras funciones, ya que existen varios tipos de tejido adiposo en función de las características de sus adipocitos (Carobbio, 2019) (figura 2).

La acumulación de lípidos en el tejido adiposo blanco, principalmente subcutáneo, sirve en primera instancia como mecanismo amortiguador para evitar los efectos nocivos que el exceso de ácidos grasos libres desencadenaría en el organismo (Karpe, 2011).

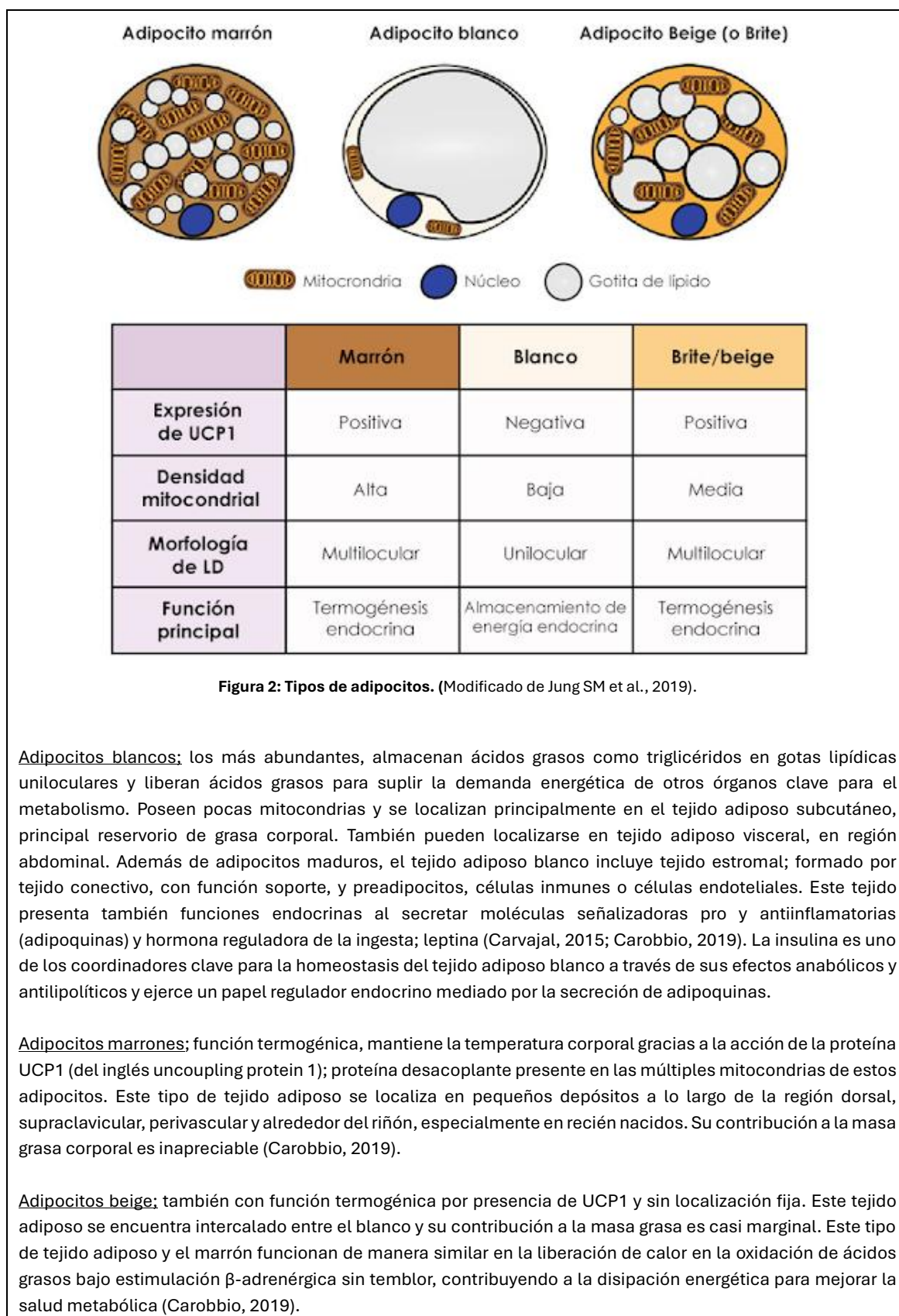


Figura 2: Tipos de adipocitos. (Modificado de Jung SM et al., 2019).

Adipocitos blancos: los más abundantes, almacenan ácidos grasos como triglicéridos en gotas lipídicas uniloculares y liberan ácidos grasos para suplir la demanda energética de otros órganos clave para el metabolismo. Poseen pocas mitocondrias y se localizan principalmente en el tejido adiposo subcutáneo, principal reservorio de grasa corporal. También pueden localizarse en tejido adiposo visceral, en región abdominal. Además de adipocitos maduros, el tejido adiposo blanco incluye tejido estromal; formado por tejido conectivo, con función soporte, y preadipocitos, células inmunes o células endoteliales. Este tejido presenta también funciones endocrinas al secretar moléculas señalizadoras pro y antiinflamatorias (adipoquinas) y hormona reguladora de la ingesta; leptina (Carvajal, 2015; Carobbio, 2019). La insulina es uno de los coordinadores clave para la homeostasis del tejido adiposo blanco a través de sus efectos anabólicos y antilipolíticos y ejerce un papel regulador endocrino mediado por la secreción de adipoquinas.

Adipocitos marrones; función termogénica, mantiene la temperatura corporal gracias a la acción de la proteína UCP1 (del inglés uncoupling protein 1); proteína desacoplante presente en las múltiples mitocondrias de estos adipocitos. Este tipo de tejido adiposo se localiza en pequeños depósitos a lo largo de la región dorsal, supraclavicular, perivascular y alrededor del riñón, especialmente en recién nacidos. Su contribución a la masa grasa corporal es inapreciable (Carobbio, 2019).

Adipocitos beige; también con función termogénica por presencia de UCP1 y sin localización fija. Este tejido adiposo se encuentra intercalado entre el blanco y su contribución a la masa grasa es casi marginal. Este tipo de tejido adiposo y el marrón funcionan de manera similar en la liberación de calor en la oxidación de ácidos grasos bajo estimulación β -adrenérgica sin temblor, contribuyendo a la disipación energética para mejorar la salud metabólica (Carobbio, 2019).

Pero un crecimiento desproporcionado del tejido adiposo blanco, con aumento en número y tamaño de los adipocitos, puede contribuir a superar su capacidad de almacenamiento y expansión (Coelho, 2013). Esto da lugar a alteraciones en el funcionamiento de las células adiposas, aumentando el flujo al torrente sanguíneo de ácidos grasos libres (Raimann, 2011) que se redirigen finalmente hacia órganos con capacidad limitada de almacenamiento de lípidos (hígado, páncreas o músculo esquelético), a lo que se denomina acumulación ectópica, asociada fuertemente con resistencia a la insulina (Samuel, 2010; Karpe, 2011).

El exceso de adiposidad se puede acumular también en tejido adiposo blanco de la zona abdominal, denominado visceral, pues rodea órganos internos. En este caso, ante un exceso de adiposidad en este tejido, la liberación de ácidos grasos hacia el torrente sanguíneo ocurre directamente a vena portal, dirigiendo esos ácidos grasos libres hacia el hígado, lo que es metabólicamente peor que la liberación desde el subcutáneo (Lee, Wu y Fried, 2013; Guglielmi y Sbraccia, 2018).

La disfunción del tejido adiposo también genera secreción alterada de citoquinas, principalmente proinflamatorias (Grundy, 2004), desde los propios adipocitos y desde células inmunes presentes en el tejido adiposo. Esto da lugar a una inflamación crónica de bajo grado característica de pacientes con obesidad, la cual se asocia con mayor riesgo de desarrollar resistencia a la insulina (DeFronzo, 2010).

La disfunción de los adipocitos también se observa en mayor grado en el tejido adiposo visceral (Lee, 2013; Guglielmi, 2018) presentando mayor liberación de adipocinas proinflamatorias (Grundy, 2004).

2.2. Epidemiología de la obesidad

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), entre 1975 y 2014, la prevalencia de obesidad en el mundo se triplicó en hombres y duplicó en mujeres (Di Cesare, 2016). Los estudios más recientes indican que más de 1900 millones de adultos presentan sobrepeso y más de 650 millones padecen obesidad, encontrándose la mayoría de los casos en países de ingresos bajos y medios (WHO, 2021; GBD 2021 Adult BMI Collaborators, 2025), especialmente en zonas urbanas (figuras 3 y 4). El número de personas con este problema aumenta de manera alarmante (Ataey, 2020). Para el año 2030 se estima que más de mil millones de personas en todo el mundo, incluyendo 1 de cada 5 mujeres y 1 de cada 7 hombres, vivirán con obesidad (World Obesity Atlas, 2022).

En España, en los últimos 30 años, la proporción de obesidad, tanto en hombres como en mujeres de cualquier segmento de edad, también ha ido en ascenso. Según una encuesta nacional del año 2017, el 37% de los españoles presentaban sobrepeso y más de un 17% obesidad (Encuesta Nacional de Salud de España, 2017). Pero esta cifra sería actualmente más elevada, pues la Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad (SEEDO) ha alertado que la prevalencia de sobrepeso en población adulta española supera ya el 60% (Guía GIRO, 2024). Con la tendencia en aumento, se prevé que la obesidad en adultos afecte al 35% de las mujeres y al 39% de los hombres en 2035 en Europa (Lobstein, 2023).

Lo más preocupante es que cada año en el mundo mueren al menos 2'8 millones de personas a causa de problemas derivados de la obesidad (WHO,2021) y ya es el mayor problema de salud crónica en adultos y cada vez más niños y adolescentes la padecen (Engin, 2017). Por ello, la OMS la ha descrito como la epidemia del S. XXI (WHO,2021).

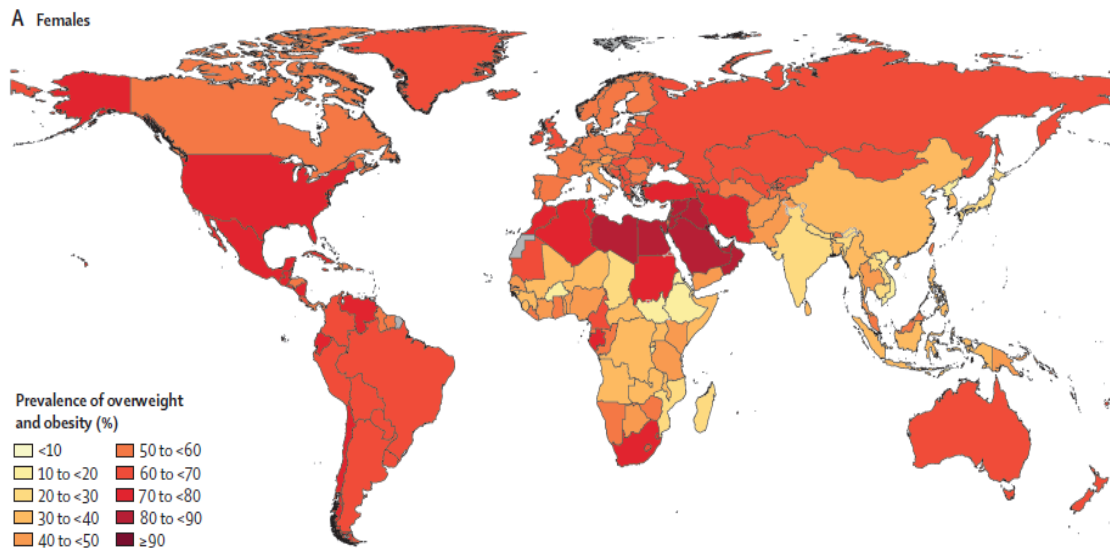


Figura 3: Prevalencia de sobrepeso y obesidad global en mujeres \geq de 18 años. Fuente GBD 2021 Adult BMI Collaborators (2025). Global, regional, and national prevalence of adult overweight and obesity, 1990-2021, with forecasts to 2050: a forecasting study for the Global Burden of Disease Study 2021. *Lancet* (London, England), 405(10481), 813–838.

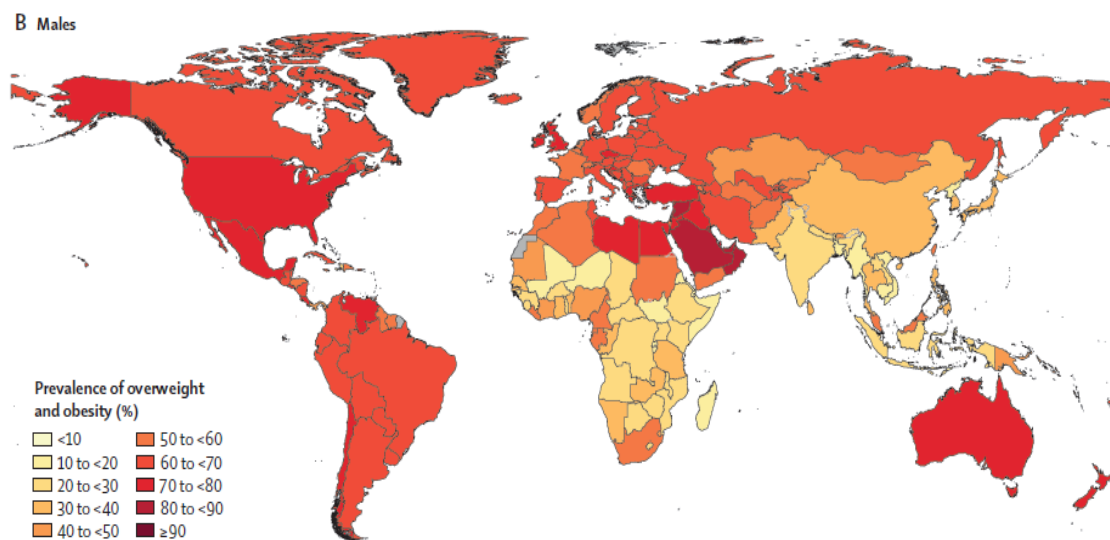


Figura 4: Prevalencia de sobrepeso y obesidad global en hombres \geq de 18 años. Fuente GBD 2021 Adult BMI Collaborators (2025). Global, regional, and national prevalence of adult overweight and obesity, 1990-2021, with forecasts to 2050: a forecasting study for the Global Burden of Disease Study 2021. *Lancet* (London, England), 405(10481), 813–838.

2.3. Criterios de diagnóstico para la obesidad

Para evaluar con exactitud la adiposidad corporal se pueden emplear diversos métodos; tomografía axial computarizada (TAC), resonancia magnética nuclear (RMN), absorciometría de doble energía (DXA), impedanciometría bioeléctrica (BIA) o pesada bajo agua; métodos precisos, algunos distinguen entre los diferentes depósitos grasos, pero son pruebas costosas y complejas de llevar a cabo en la práctica clínica habitual. Por ello, para estimar la adiposidad, especialmente en estudios epidemiológicos, se emplean métodos antropométricos fáciles de llevar a cabo como, el índice de masa corporal (IMC), calculado a partir del peso y la talla, o las circunferencias de la cintura y la cadera (Carmienke, 2013). Aunque en consultas especializadas es cada vez más frecuente el uso de medidas impedanciométricas, dada la, cada vez mayor, facilidad de uso de los instrumentos necesarios. En cualquier caso, las sociedades científicas y la OMS definen la obesidad en función del IMC por ser éste el indicador más fácilmente obtenible y por su excelente correlación con las comorbilidades de la obesidad (WHO, 2021).

2.3.1. El índice de masa corporal

Este índice representa el cociente entre el peso de un individuo en kilogramos y su estatura en metros al cuadrado (kg/m^2) (WHO, 2021; Eknoyan, 2008). Para considerar que un individuo presenta obesidad debe presentar un $\text{IMC} > 30 \text{ kg}/\text{m}^2$ y para sobrepeso un IMC entre 25 y $29.9 \text{ kg}/\text{m}^2$ (figura 5).

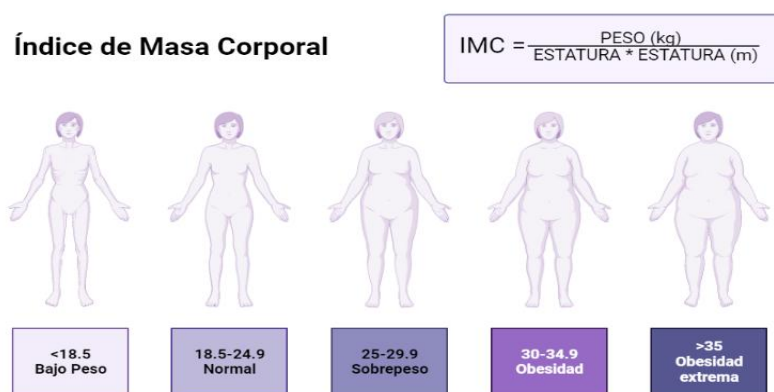


Figura 5. Fórmula para el cálculo del índice de masa corporal y clasificación OMS.

Otras organizaciones generaron sus propias definiciones (Sacks, 2009), siguiendo criterios similares a los de la OMS (figura 6).

AHA 2009	SEEDO 2007	OMS 2000	IMC (kg/m ²)
Bajo peso	Peso insuficiente	Insuficiencia ponderal	< 18'5
Peso aceptable	Normopeso	Intervalo normal	18'5 – 24'9
Sobrepeso	Sobrepeso grado I	Preobesidad	25 – 26'9
Sobrepeso	Sobrepeso grado II	Preobesidad	27 – 29'9
Obesidad grado I	Obesidad tipo I	Obesidad clase I	30 – 34'9
Obesidad grado II	Obesidad tipo II	Obesidad clase II	35 – 39'9
Obesidad grado III	Obesidad tipo III (mórbida)	Obesidad clase III	40 – 49'9
Obesidad grado IV	Obesidad tipo IV (extrema)	Obesidad clase III	> 50
Obesidad grado V	---	---	> 60

Figura 6: Clasificación de la obesidad según IMC. Definición según diversos organismos.

2.3.2. Otras medidas antropométricas

Aunque el uso del IMC como criterio diagnóstico de obesidad en los estudios epidemiológicos esté ampliamente extendido (Flegal, 2013; Heymsfield y Cefalu, 2013), presenta ciertas limitaciones; por ejemplo, en población infantil y juvenil es necesario tener en cuenta la edad y el sexo del sujeto para utilizar el IMC como método diagnóstico de obesidad (Cole, 2000). Además, el IMC es un estimador de la cantidad de masa total pero no específicamente de la cantidad de grasa, ni de su distribución, pues no tiene en cuenta las diferencias entre hombres y mujeres y es un indicador pobre en personas de baja estatura, ancianos, personas con elevada masa muscular o embarazadas (Carmienke, 2013). De este modo, aparecen otras medidas e índices antropométricos tales como el perímetro abdominal (circunferencia de la cintura) o los índices cintura/cadera y cintura/altura, que sí tienen en cuenta la distribución de la grasa corporal y la diferencia entre sexos (Lee, 2008; Browning, Hsieh y Ashwell, 2010; Langenberg, 2012; Ashwell, Gunn y Gibson, 2012; Lam, 2015). Además, para la clasificación de obesidad también se deberían valorar otros factores como la evaluación del riesgo del paciente y los antecedentes familiares (WHO, 2021).

3. Diabetes Mellitus Tipo 2

3.1. Definición de diabetes mellitus

Enfermedad crónica caracterizada principalmente por una producción y secreción insuficiente de insulina en las células β del páncreas o un deficiente empleo de esta hormona en las células de sus órganos diana; tejido adiposo, músculo esquelético, músculo cardíaco e hígado, principalmente, debido a fallos en la acción de la insulina sobre esos tejidos insulino-sensibles, situación denominada insulinoresistencia (Zheng, 2018; ADA, 2020). Esto da lugar a una elevación de los niveles de glucosa circulante en sangre, siendo ésta la principal manifestación clínica de la enfermedad (Chatterjee, 2018). Existen diferentes tipos de diabetes (figura 7), pero la más frecuente en población adulta y considerada enfermedad metabólica prevalente es la diabetes tipo 2.

Figura 7: Tipos de Diabetes (“Report of the Expert Committee”, 1997; SED, 2021):

Diabetes mellitus tipo 1	Se caracteriza por la destrucción irreversible de células beta con una deficiencia absoluta en la producción de insulina. Normalmente de aparición temprana en la infancia o adolescencia. Afecta a un 5-10% de pacientes con diabetes. Puede ser: <ul style="list-style-type: none">- Autoinmune- Idiopática
Diabetes mellitus tipo 2	Se caracteriza por insulinoresistencia. Aparece normalmente en población adulta. La más frecuente, afecta al 90-95% de pacientes con diabetes. Asociada a la obesidad.
Diabetes gestacional	De aparición durante el embarazo, es de origen hormonal.
Otros tipos de Diabetes mellitus	Formas de diabetes menos frecuentes, pueden ser: <ul style="list-style-type: none">- Monogénicas, donde una única mutación está implicada en su aparición, como diabetes neonatal y MODY (<i>Maturity Onset Diabetes of the Young</i>). Más de 15 genes diferentes han sido identificados como responsables de las diabetes monogénicas (Murphy, 2008).- Diabetes secundaria como consecuencia de complicaciones de otras enfermedades (Cushing, acromegalia, pancreatitis) o por uso de algunos medicamentos (como corticosteroides).

La diabetes tipo 2 es la punta del iceberg de un largo proceso fisiopatológico que puede durar años y seguir diversos caminos en función de los factores genéticos y medioambientales presentes. En general se pueden observar varias etapas en el desarrollo de la enfermedad:

1º) Los niveles de glucosa en sangre aún son normales, pero se observa hiperinsulinemia. Los niveles fisiológicos de insulina en sangre, ante un estado de insulinoresistencia, son insuficientes para mantener la homeostasis de la glucosa (Solis-Herrera, 2018), por lo que se requiere de mayor cantidad a modo de mecanismo compensatorio para mantener la glucemia estable. Los pacientes que presentan este primer estadio de la enfermedad suelen presentar muchas veces obesidad abdominal, un alto contenido de triglicéridos plasmáticos, presión arterial elevada y un riesgo cardiovascular elevado, debido a las alteraciones en el funcionamiento de la insulina (Fernández M, 1996), características también típicas las otras enfermedades metabólicas prevalentes.

2º) Ocurren alteraciones en la tolerancia a la glucosa, con niveles postprandiales de glucosa elevados, aumento de producción hepática de glucosa y disminución del transporte de glucosa al interior de las células. Comienza a tener lugar un déficit en la secreción de insulina. La diabetes sobreviene cuando las células beta no producen la cantidad extra de insulina necesaria para contrarrestar los efectos de la insulinoresistencia.

3º) La diabetes se hace clínicamente detectable cuando hasta un 50% de las células β dejan de funcionar correctamente (Holman, 2008). Esta pérdida se cree que ocurre vía apoptosis y autofagia desregulada; la producción compensatoria de insulina ante insulinoresistencia crónica degenera en hipertrofia de células β y preponderancia de α , que finalmente lleva a la disminución de la masa de las células productoras de insulina. Las causas que desencadenan la apoptosis son múltiples; desde acumulación de proteínas defectuosas, estrés del retículo endoplasmático, autofagia, el propio efecto lipotóxico de los ácidos grasos libres o el efecto glucotóxico de la hiperglucemia (Bartolomé, 2012). Esto lleva al decrecimiento de los niveles de la hormona, lo que implica un aumento de la

glucemia. La falta de insulina produce una disminución de la entrada de glucosa al músculo, tejido adiposo e hígado y se da un exceso en la producción de glucagón, aumentando la degradación del glucógeno y la gluconeogénesis, lo que ocasiona un incremento adicional de la glucosa en sangre, que el riñón no es capaz de reabsorber y comienza a eliminar glucosa por la orina, arrastrando agua y sales. La escasez de glucosa como fuente de energía da como resultado la necesidad de emplear grasas y degradar proteínas, principalmente musculares para la obtención de aminoácidos. La degradación proteica aumenta la producción de urea y un balance negativo de nitrógeno y la lipólisis también se favorece por la falta de glucosa en el adipocito. Además, el aumento de glucagón produce la salida de ácidos grasos, parte de los cuales se emplean como combustible y/o se transforman en cuerpos cetónicos en el hígado (Fernández, 1996). En este estadio se incrementa la presencia de macroangiopatía y microangiopatía, que ya ocurren en individuos con curva de tolerancia a la glucosa alterada, para aumentar en proporciones desmesuradas cuando la diabetes tipo 2 está mal controlada (Matthaei, 2000).

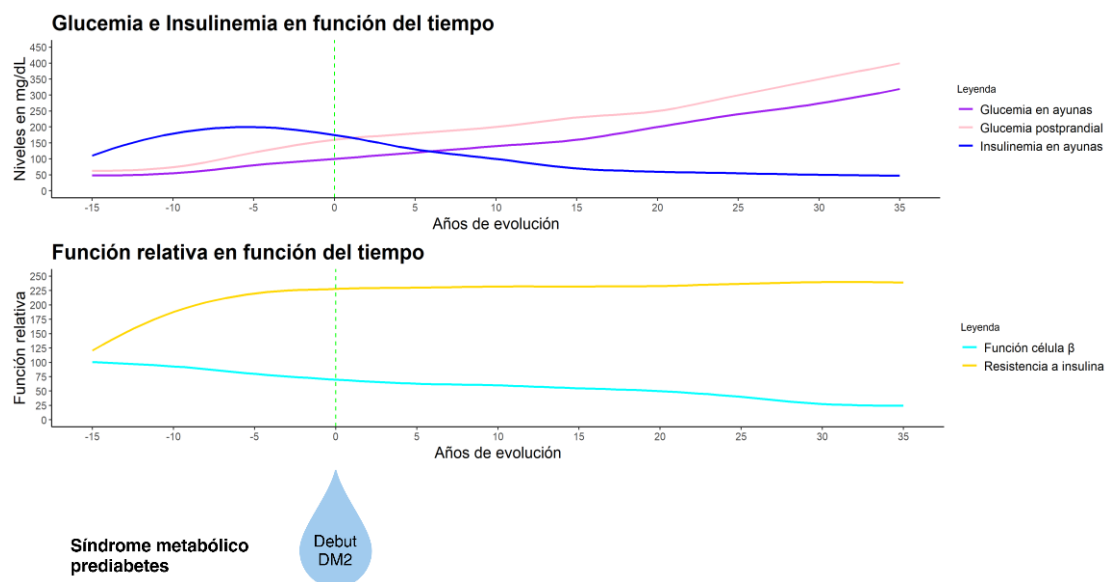


Figura 8: Comparación de los niveles de glucosa en sangre con los niveles de insulina en función de los años de evolución (gráfica a) y comparación de la función de la célula β con la insulinoresistencia en función de los años de evolución en la progresión a diabetes tipo 2. Creado con R software (librería ggplot2) por Lago, A. (2024).

3.2. Epidemiología de la diabetes mellitus

La prevalencia global de la diabetes tipo 2 ha aumentado hasta alcanzar proporciones epidémicas (ADA, 2018; Ashner, 2021). Actualmente, más de 537 millones de personas en el mundo de entre 20 y 79 años padecen diabetes y su incidencia crece anualmente (figura 9). Se estima que para el año 2030 se alcancen los 643 millones de casos y los 783 millones para el año 2045 (Ashner, 2021). Pero la prevalencia de diabetes tipo 2 varía según la región geográfica, con más del 80% de los pacientes viviendo en países con ingresos medio-bajos, aunque en general la tendencia es de incremento en todos los países desde 1980 (Chatterjee, 2017).



Figura 9. Diabetes alrededor del mundo. Año 2021. N° de adultos (20-79 años) con diabetes en todo el mundo. Federación Internacional de Diabetes. Atlas de la diabetes de la FID. 10ª Ed. 2021. <http://www.diabetesatlas.org.2021>

El crecimiento de la población urbana en los países en desarrollo, donde predomina un ambiente obesogénico, junto con el envejecimiento general de la población, son las principales causas demográficas que inciden en la prevalencia de la diabetes (Ashner, 2021). Aunque estos datos podrían ser incluso mayores, ya que la prevalencia de intolerancia a la glucosa es también muy alta (Ashner, 2021), lo que supone un elevado riesgo de desarrollar diabetes en un futuro.

El inicio de la diabetes tipo 2, frecuentemente, tiene lugar años antes del diagnóstico. Se estima que alrededor del 45% de todos los casos de diabetes tipo 2 en adultos no están diagnosticados, lo que hace que exista un mayor riesgo en estos pacientes para desarrollar complicaciones cardiovasculares que en aquellos pacientes diagnosticados que reciben tratamiento (Zheng, 2017).

Hasta la publicación del estudio Di@bet.es en el 2012, no existían estudios nacionales que evaluaran la prevalencia de diabetes en España y todos los datos disponibles provenían de estudios regionales, calculando así una prevalencia entre el 6 y el 10% en España hasta ese momento (Goday, 2002). En 2007, Valdés y colaboradores analizaron la evolución de la prevalencia de diabetes en España basándose también en diversos estudios transversales regionales, estimando que se había producido un incremento de la población con diabetes y que entre un 10 y un 15% de adultos españoles podrían estar afectados (Valdés, 2007). El estudio Di@bet.es, dirigido por nuestro grupo, determinó que en nuestro país había casi un 30% de la población con alguna alteración en el metabolismo hidrocarbonado, con una prevalencia de diabetes tipo 2 ajustada por edad y sexo del 13'8%, de los cuales, aproximadamente la mitad presentaban diabetes desconocida, un 6'8% de la población. La prevalencia de diabetes, así como la presencia de alteraciones en la homeostasis de la glucosa, aumentan significativamente con la edad y son mayores en hombres que en mujeres. Además, la prevalencia de obesidad, obesidad central e hipertensión arterial son significativamente mayores en todos los sujetos con diabetes o prediabetes (Soriguer, 2012 A).

3.3. Criterios de diagnóstico para la diabetes mellitus

Clásicamente, la diabetes tipo 2 se diagnostica en función del aumento de un único metabolito; la glucosa, cuando esta supera un umbral de concentración en sangre determinado. Los niveles de glucosa en sangre elevados pueden encontrarse en diferentes rangos; glucemia basal alterada (GBA), tolerancia alterada a la glucosa (TAG) o ambas a la vez (ADA, 2019). La GBA y la TAG reflejan la progresión de un estado de normoglucemia hacia diabetes tipo 2 al que clasificamos como prediabetes.

En el estudio Di@bet.es, población estudiada en esta tesis, el diagnóstico de diabetes se basó en criterios de la OMS de 1999 (WHO, 1999; 2011) (figura 10).

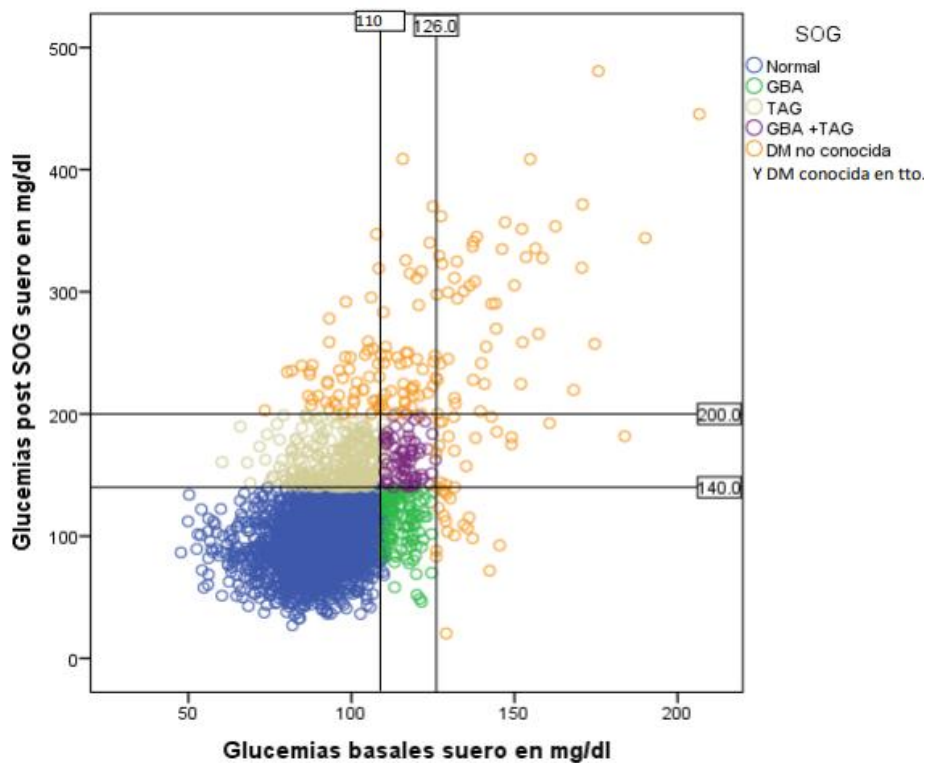


Figura 10. Criterios de diagnóstico de diabetes (WHO, 1999, 2011):

SOG: Sobrecarga oral de glucosa. GBA: Glucemia basal alterada. TAG: Tolerancia alterada a la glucosa. DM: diabetes mellitus. Tto: tratamiento.

Pero existen diversas definiciones según las diferentes organizaciones, clasificando la diabetes tipo 2 y la prediabetes según las recomendaciones de la OMS y la asociación americana de diabetes (ADA) (ADA, 2010; ADA, 2019; WHO, 2006; WHO, 2011) (figura 11):

		OMS 2006 OMS 2011	ADA 2019
DM2	Glucemia en ayunas	≥126 mg/dL (≥7'0 mmol/L)	≥126 mg/dL (≥7'0 mmol/L)
	o	o	o
	Glucemia tras 2h SOG	>200 mg/dl (>11'1 mmol/L)	≥200 mg/dl (≥11'1 mmol/L)
	o	o	o
	Glucemia aleatoria	Síntomas DM2* o ≥200 mg/dL	Síntomas DM2* o ≥200 mg/dL
	HbA1c	≥6'5%	≥6'5%
PreDM2 GBA	Glucemia en ayunas	110-125 mg/dL (6'1-6'9 mmol/L)	100-125 mg/dL (5'6-6'9 mmol/L)
	y	y	y
	Glucemia tras 2h SOG	126-140 mg/dl (7'0-7'8 mmol/L)	126-140 mg/dl (7'0-7'8 mmol/L)
	HbA1c	--	5'7% – 6'4%
PreDM2 TAG	Glucemia en ayunas	<126 mg/dL (<7'0 mmol/L)	<126 mg/dL (<7'0 mmol/L)
	y	y	y
	Glucemia tras 2h SOG	140-200 mg/dl (7'8-11'1 mmol/L)	140-199 mg/dl (7'8-11'0 mmol/L)
	HbA1c	--	5'7% - 6'4%

Figura 11: Clasificación diabetes mellitus tipo 2. DM2: Diabetes mellitus tipo 2. GBA: Glucemia basal alterada. TAG: Tolerancia alterada a la glucosa.

*Síntomas diabetes tipo 2: poliuria, polidipsia, pérdida de peso, visión borrosa y polifagia. SOG: Sobrecarga Oral con 75gr de Glucosa. En ausencia de hiperglucemia sintomática inequívoca, el diagnóstico de diabetes debe ser confirmado en días posteriores mediante repetición de la prueba alterada.

4. Síndrome Metabólico

En 1947, Vague describió como la acumulación de grasa en la parte superior del cuerpo predisponía al desarrollo de diabetes, arterioesclerosis, gota y cálculos renales (Vague, 1947; Vague, 1980) y en 1967, Avogaro y colaboradores describieron 6 pacientes obesos con diabetes, hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia que mejoraron tras realizar dieta baja en carbohidratos e hipocalórica (Avogaro, 1967). En 1977, Haller describió la asociación entre obesidad, diabetes, hiperlipoproteinemia, hiperuricemia y esteatosis hepática para la aparición de aterosclerosis (Haller, 1977) y en 1978, Phillips describió la agrupación de varios factores de riesgo para infarto de miocardio incluyendo hiperinsulinemia, intolerancia a la glucosa, hiperlipidemia e hipertensión arterial, asociadas además con obesidad y envejecimiento de la población (Phillips, 1978). Pero no fue hasta 1988, cuando Reaven definió por primera vez lo que sería el síndrome metabólico, que él denominó “Síndrome X”, como un conjunto de factores de riesgo cardiovascular que tienden a encontrarse en el mismo individuo, donde la insulinoresistencia tenía un papel principal junto con la intolerancia a la glucosa, la dislipidemia y la hipertensión arterial. Raven señaló la obesidad y el sedentarismo como factores ambientales que afectan a la sensibilidad a la insulina, pero no los incluyó en el síndrome (Reaven, 1988). En 1991, Ferrannini remarcó el papel de la resistencia a la insulina y lo denominó “Síndrome de resistencia a insulina” (Ferrannini, 1991). En 1998, la OMS formalizó la primera definición de síndrome metabólico, donde era necesaria una glucemia en ayunas alterada, una tolerancia alterada a la glucosa o presentar diabetes tipo 2 junto con dos o más componentes adicionales: hipertensión arterial, triglicéridos elevados, colesterol HDL bajo, obesidad central o microalbuminuria, para determinar la presencia del síndrome metabólico (Alberti, 1998). Esta definición fue revisada por el “*European group for the study of insulin resistance*” (EGIR) en 1999, renombrándolo de nuevo “Síndrome de resistencia a insulina”, excluyendo a pacientes con diabetes y la insulinoresistencia se definió como niveles de insulina

en ayunas por encima del percentil 75 (Balkau, 1999). En 2001, la “*National Cholesterol Education Program*” (NCEP) “*Adult Treatment panel III*” (ATP III) reconoció que estos elementos metabólicos múltiples eran factores de riesgo cardiovascular y lo renombraron de nuevo como “Síndrome Metabólico” (NCEP ATP III, 2001). En 2003, la “*American Association of Clinical Endocrinologist* (AAACE) modificó el criterio ATP III y restableció el nombre de “Síndrome de resistencia a insulina”, destacando el papel central de la insulinoresistencia en su patogénesis (Einhorn, 2003). En 2005, la “*International Diabetes Federation*” (IDF) ideó una definición sencilla y clínicamente útil para identificar individuos de cualquier país con alto riesgo de enfermedad cardiovascular (ECV) y diabetes tipo 2 y permitir la realización de estudios epidemiológicos comparativos para síndrome metabólico (Alberti, 2005; 2006). Aunque en ese mismo año, la “*American Heart Association*” (AHA) del “*National Heart, Lung and Blood Institute*” (NHLBI) también sugirió criterios de diagnóstico para el síndrome metabólico, basando su definición en los criterios ATP III (Grundy, 2005). Finalmente, en un esfuerzo por proporcionar una mayor coherencia tanto en la atención clínica como en la investigación de los pacientes con síndrome metabólico; la IDF, el NHLBI, la AHA, la “*World Heart Federation*” y la “*Association for the study of obesity*” publicaron una declaración conjunta en 2009 que proporcionaba una definición "armonizada" para el síndrome metabólico (Alberti, 2009).

4.1. Definición de síndrome metabólico

Actualmente, podemos definirlo como una condición clínica determinada por la aparición simultánea de un grupo de alteraciones metabólicas e inflamatorias a nivel molecular o celular, asociadas principalmente a insulinoresistencia; presencia de adiposidad abdominal, dislipidemia, hipertensión y alteración del metabolismo de la glucosa (Sookoian, 2011; Neuhauser, 2005; Eckel, 2005). No es necesario que ocurran todas a la vez, pero sí han de estar presentes al menos tres para su diagnóstico:

- Adiposidad abdominal, es aquella obesidad central medida como circunferencia de la cintura o ratio cintura-cadera que predice el riesgo de síndrome metabólico independientemente del IMC (Prado, 2014). Los puntos de corte de la circunferencia de la cintura son específicos de cada etnia, pues se ha demostrado que ciertos grupos étnicos tienen mayor grado de adiposidad central (Alberti, 2009; Lear, 2007) (figura 12).
- Dislipidemia, definida como un aumento de los niveles plasmáticos de triglicéridos y disminución del HDL colesterol.
- Hipertensión, definida como presión arterial sistólica y diastólica elevadas, siendo uno de los principales factores de riesgo modificables de enfermedad cardiovascular (Alberti, 2009; Yusuf, 2020).
- Niveles de glucosa en sangre elevados, definido como glucemia en ayunas y/o tras 2 horas de la ingesta elevada. Así como valores de hemoglobina glicosilada (HbA1C) elevados indicadores de prediabetes, debidos a insulinoresistencia.

4.2. Epidemiología del síndrome metabólico

La prevalencia global para este síndrome es muy variable y depende de los criterios empleados para su definición, localización geográfica, factores sociodemográficos, etnia, sexo o edad de las poblaciones de referencia estudiadas (Desroches, 2007; Cornier, 2008). Realizar comparaciones entre distintas poblaciones es complejo debido a las diversas definiciones existentes para síndrome metabólico, aunque las más empleadas son las del ATP III/AHA/NHLBI (Grundy, 2005), la de la IDF (Alberti, 2005) y la definición armonizada (Alberti, 2009).

El estudio norteamericano NHANES III (1994-1998), demostró una prevalencia del 24% según criterios ATP III y seguimientos posteriores (1999-2000) demostraron que la prevalencia continuaba incrementándose (Ford, 2002; Ford, 2004). Esta misma población con criterios IDF describió una prevalencia mayor, donde el 39% presentaban síndrome metabólico (pues esta definición considera la obesidad

abdominal como criterio obligatorio) (Ford, 2005). En 2009 se publicaron datos NHANES 2003-2006, estimando una prevalencia de síndrome metabólico del 34% según NCEP ATP III (Ervin, 2009). Por su parte, el “*Framingham Heart Study*” calculó una prevalencia basal de síndrome metabólico en 1999 del 26’8% en hombres y 16’6% en mujeres (Wilson, 2005) que, tras 10 años de seguimiento, duplicó la prevalencia (Franco, 2009). Datos publicados en los últimos años sugieren una elevada prevalencia en todo el mundo, en torno a un 25-40%, especialmente en poblaciones más envejecidas (Ford, 2010; Hildrum, 2007; Assmann, 2007), siendo además independiente de los criterios empleados (Lorenzo, 2006). Los datos más recientes indican que la prevalencia promedio del síndrome metabólico podría rondar el 31% (Engin, 2017).

En España, en el año 2012 se publicó el estudio DARIOS que describió una prevalencia del 31% según criterios de ATP III (Fernández-Bergés, 2012). El estudio ENRICA dio a conocer un incremento en la obesidad abdominal, empleando los puntos de corte de perímetro de cintura clásicos; ≥ 102 cm en hombres y ≥ 88 cm en mujeres, siendo del 32% en hombres y del 39% en mujeres (Gutiérrez-Fisac, 2012). El estudio Di@bet.es, por su parte, determinó que en nuestro país había un 38% de hombres y un 29% de mujeres con presencia de síndrome metabólico en presencia de obesidad central empleando una definición con puntos de corte para la cintura específicos de población española, pero si la obesidad no se tomaba como criterio obligatorio para su definición ascendía a un 42% en hombres y un 32% en mujeres (Marcuello, 2013), siendo la combinación de obesidad abdominal, hipertensión y alteración del metabolismo hidrocarbonado, los patrones más comunes de síndrome metabólico en esta población.

4.3. Criterios de diagnóstico del síndrome metabólico

Para el diagnóstico de síndrome metabólico se han sugerido múltiples criterios (Neuhauser 2005; Eckel, 2005) basados en las diversas definiciones. Los más conocidos y empleados han sido; el del IDF (Alberti, 2006) y el ATP III (NCEP ATP III, 2001), pero todos reconocen la obesidad central o abdominal. Sin embargo, discrepan en sus estrategias de medición, puntos de corte y, en algunos casos, hay énfasis en un rasgo particular que está obligado a cumplirse (figuras 12 y 13).

Población/etnia	Circunferencia de la cintura (cm)	
	Hombre	Mujer
Norteamericanos (EE.UU.)	≥102	≥88
Europeos	≥94	≥80
Surasiáticos y chinos	≥90	≥80
Japoneses	≥90	≥90
Centroamericanos y suramericanos	Criterios surasiáticos y chinos	Criterios surasiáticos y chinos
Africanos y árabes	Criterios europeos	Criterios europeos

Figura 12. Circunferencia de la cintura según área geográfica. Puntos de corte sugeridos para determinar la obesidad abdominal a partir de los criterios de síndrome metabólico armonizados del 2009 (Alberti et al. 2009).

Medida clínica	EGIR (1989)	OMS (1998)	NCEP ATP III (2001)	AACE (2003)	IDF (2005)	AHA (2005)	Criterios unificados (2009)
Resistencia a la insulina (IR)	Insulina plasmática >percentil 75	DM2, GBA, TAG	Ninguno	GBA, TAG	Ninguno	Ninguno	Ninguno
Criterios	IR + otros 2 criterios de los 5	IR + otros 2 criterios de los 5	3 criterios de los 5	IR + otro criterio de los 5	↑CC + otros 2 criterios de los 5	3 criterios de los 5	3 criterios de los 5
Índice cintura/cadera:							
1. Obesidad central	CC ≥94 cm ♂ CC ≥80 cm ♀	>0.9 ♂ >0.84 ♀ IMC >30 kg/m ²	CC ≥102 cm ♂ CC ≥88 cm ♀	IMC ≥25 kg/m ²	CC ≥90 cm ♂ CC ≥80 cm ♀	CC ≥102 cm ♂ CC ≥88 cm ♀	CC según el área geográfica (tabla)
2. Triglicéridos	≥150 mg/dL	≥150 mg/dL	≥150 mg/dL	≥150 mg/dL	≥150 mg/dL o en tratamiento	≥150 mg/dL o en tratamiento	≥150 mg/dL
3. HDL-col	<39 mg/dL ♂ <39 mg/dL ♀	<35 mg/dL ♂ <39 mg/dL ♀	<40 mg/dL ♂ <50 mg/dL ♀	<40 mg/dL ♂ <50 mg/dL ♀	<40 mg/dL ♂ <50 mg/dL ♀ o en tratamiento	<40 mg/dL ♂ <50 mg/dL ♀ o en tratamiento	<40 mg/dL ♂ <50 mg/dL ♀
4. Presión Arterial (PAS/PAD)	≥140/90mmHg o en tratamiento	≥140/90mmHg	≥130/85mmHg	≥130/85mmHg	≥130/85mmHg o en tratamiento HTA	≥130/85mmHg o en tratamiento HTA	≥130/85mmHg o en tratamiento HTA
5. Glucosa	GBA o TAG (pero no DM2)	GBA, TAG o DM2	Glucemia en ayunas >110 mg/dL o DM2	GBA o TAG (pero no DM2)	Glucemia en ayunas >100 mg/dL o DM2 diagnosticada	Glucemia en ayunas >100 mg/dL o en tratamiento DM2	Glucemia en ayunas >100 mg/dL o en tratamiento DM2

Figura 13. Criterios y definiciones de síndrome metabólico según las diferentes organizaciones. IR: Insulinorresistencia. DM2: Diabetes mellitus tipo 2. GBA: Glucemia basal alterada. TAG: Tolerancia alterada a la glucosa. CC: Circunferencia de la cintura. PAS: Presión arterial sistólica. PAD: Presión arterial diastólica. HTA: Hipertensión arterial.

5. Enfermedad del Hígado Graso

5.1. Definición de hígado graso

Esta enfermedad se caracteriza por la presencia de esteatosis hepática, definida como un almacenamiento excesivo de grasa en forma de triglicéridos en el hígado (superior al 5% de su peso) y que ocurre en ausencia de un consumo excesivo de alcohol (LaBrecque, 2014). Pues, la esteatosis hepática puede clasificarse en alcoholica; si es debida a un alto consumo de alcohol, y en no alcoholica; si es debida a causas metabólicas. Clásicamente se ha denominado a esta última como NAFLD (*Non Alcoholic Fatty Liver Disease*, por sus siglas en inglés) cuando la esteatosis progresa con inflamación y/o fibrosis, siendo una importante complicación metabólica en población con obesidad y/o síndrome metabólico, que incluye un amplio espectro de afecciones hepáticas; desde esteatosis hepática asintomática, esteatohepatitis, hasta fibrosis avanzada, cirrosis o cáncer (Neuschwander-Tetri, 2017) (figura 14).

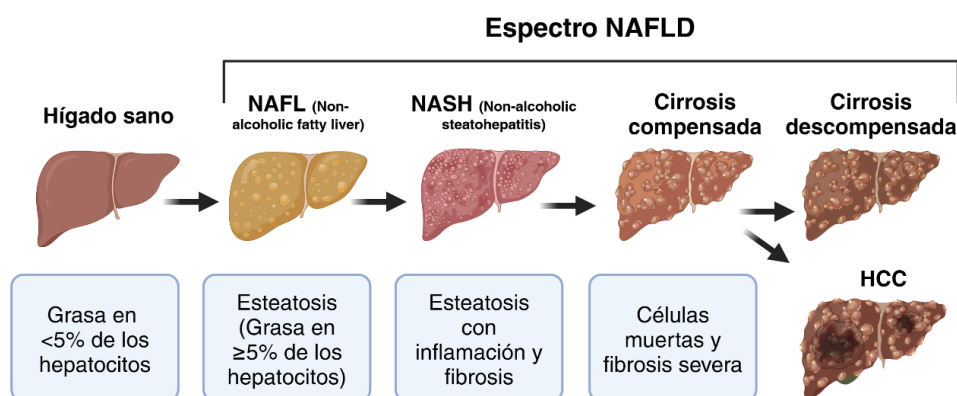


Figura 14. Los diferentes estadios de NAFLD. Primero, el hígado sano desarrolla la enfermedad con esteatosis hepatocelular como característica principal. Si no se trata, el hígado graso no alcohólico (NAFL del inglés *Non-alcoholic fatty liver*) puede progresar a una forma más severa de esteatosis hepática no alcohólica (NASH del inglés *Non-alcoholic steatohepatitis*), definido como inflamación y fibrosis además de esteatosis hepatocelular. Si la enfermedad progresa, NASH puede continuar con cirrosis e incluso carcinoma hepatocelular (HCC del inglés *Hepatocellular carcinoma*). Modificado de Guo, X et al (2022); creado con BioRender. Lago, A. (2024) <https://BioRender.com/t99p608>

En los últimos años, debido a las comorbilidades metabólicas que comúnmente afectan a los pacientes que padecen esta enfermedad, se ha propuesto una nueva

nomenclatura y definición para la enfermedad del hígado graso no alcohólica; MAFLD (*Metabolic Dysfunction Associated Fatty Liver Disease*, por sus siglas en inglés). Este término incluye a aquellos sujetos con evidencia de esteatosis hepática y que, además, presentan alguna de las siguientes condiciones; sobrepeso u obesidad, diabetes mellitus tipo 2 y/o disfunción metabólica (Eslam, 2020; Méndez-Sánchez, 2022). Así, MAFLD es más prevalente que NAFLD, con dos quintas partes de los individuos presentando criterios de diagnóstico (Huang, 2023) y también presentan diferentes características clínicas con un mayor riesgo para diabetes mellitus tipo 2, hipertensión y fibrosis entre los sujetos con MAFLD que los sujetos con NAFLD (Kim, 2021). En 2024 se ha actualizado nuevamente el término y actualmente pasa a denominarse MASLD (*metabolic dysfunction associated steatotic liver disease*, por sus siglas en inglés) (EASL-EASD-EASO, 2024), esta definición hace hincapié en la presencia de esteatosis y fibrosis en esta enfermedad, pero se clasifica de la misma forma que la anterior MAFLD.

5.2. Epidemiología de la enfermedad del hígado graso

Es la enfermedad hepática más frecuente en países occidentales, con una prevalencia mundial estimada en torno al 25% (Younossi, 2019). En España, su prevalencia se ha estimado en un 26% en población adulta (Caballeria, 2010) y es la causa más común de enfermedad hepática crónica en países occidentales. Se prevé que, para el año 2030, se convierta en la indicación más frecuente de trasplante hepático. Su relación con la obesidad y otras alteraciones metabólicas se ha demostrado ampliamente (Armandi, 2024; Keating, 2024), por ejemplo, los individuos con enfermedad del hígado graso diagnosticado tienen más de dos veces mayor riesgo de presentar diabetes tipo 2 (Cao, 2024; Mantouvani, 2021; Chen C, 2023; Liang, 2022). Además, la prevalencia de esteatosis hepática aumenta sustancialmente en sujetos con diabetes tipo 2 (Younossi, 2019). Un estudio en población estadounidense ha informado de la presencia de esteatosis en el 78-85% de pacientes con diabetes tipo 2, basándose en marcadores no invasivos de esteatosis hepática (Ciardullo, 2020). Además, cada vez existe más

evidencia epidemiológica sugiriendo una relación bidireccional entre la enfermedad de hígado graso y la diabetes tipo 2 (Zhao J, 2024; Jeeyavudeen, 2023), pues la diabetes es un factor de riesgo para esta enfermedad independientemente de la obesidad (Xiao Y, 2023) y al revés (Lago-Sampedro, 2024).

5.3. Criterios de diagnóstico de la enfermedad de hígado graso

El *gold standard* para el diagnóstico de hígado graso es la biopsia hepática, una técnica invasiva, sólo justificada en casos graves (Baršić, 2012). Otras como la espectroscopia de resonancia magnética permite cuantificar el contenido lipídico hepatocelular y diagnosticar con exactitud el grado de la enfermedad, mientras que la ecografía y la tomografía computerizada proporcionan estimaciones semicuantitativas (Baršić, 2012; Webb, 2009), aunque estas técnicas son caras y requieren mucho tiempo o no están disponibles en la rutina diaria.

Como alternativa se emplean paneles de puntuación que consisten en combinaciones de parámetros antropométricos y bioquímicos para el diagnóstico y cuantificación únicamente de la esteatosis y/o fibrosis hepática, como por ejemplo el “*Fibrosis-4 Index*” (FIB-4, por sus siglas en inglés), un índice no invasivo utilizado para evaluar la fibrosis hepática avanzada en pacientes con enfermedad hepática crónica como la enfermedad de hígado graso, combinando datos de laboratorio rutinarios; edad, niveles de AST, ALT, y recuento plaquetario (Park H, 2023), o el “*Fatty Liver Index*” (FLI, por sus siglas en inglés) (Bedogni, 2006; de Alwis, 2016). Este FLI es un método no invasivo y bien establecido para diagnosticar esteatosis hepática (Bedogni, 2006; Koehler, 2013; Kahl, 2014; Yang BL, 2015; de Alwis, 2016). Incluye cuatro variables; IMC, circunferencia de la cintura, triglicéridos séricos y gamma glutamil transferasa (GGT) (Bedogni, 2006). FLI se ha descrito como predictor para el desarrollo de diabetes tipo 2 en población general (Jung CH, 2013; Jager, 2015; Yadav, 2016; Hirata, 2018; García-Escobar, 2021; Lago-Sampedro, 2024) y en población en riesgo especialmente elevado (prediabetes) (Balkau, 2010; Nishi T, 2015; Franch-Nadal, 2018; Wargny, 2019).

Basándonos en estos marcadores, para el diagnóstico específico de MASLD nos basamos en la coexistencia de esteatosis hepática (mediante FLI (Bedogni, 2006)) y uno de los siguientes criterios (Eslam, 2020):

- Sobrepeso u obesidad ($IMC \geq 25 \text{ kg/m}^2$) u obesidad abdominal (cintura $\geq 90\text{cm}$ en ♂ y $\geq 80\text{cm}$ en ♀).
- Presencia de diabetes tipo 2 (diagnóstico previo o niveles de glucosa en ayunas $\geq 126 \text{ mg/dL}$, hemoglobina glicosilada (HbA1c) $\geq 6.5\%$ o glucosa post SOG $\geq 200 \text{ mg/dL}$)
- Disfunción metabólica, presentando al menos dos de las siguientes:
 - ✓ Circunferencia de cintura aumentada.
 - ✓ Hipertensión arterial ($\geq 130/85 \text{ mmHg}$ o en tratamiento específico).
 - ✓ Dislipemia (niveles séricos de triglicéridos $\geq 150\text{mg/dL}$, colesterol HDL $< 40\text{mg/dL}$ en ♂ o $< 50\text{mg/dL}$ en ♀ o en tratamiento específico).
 - ✓ Prediabetes (glucemia en ayunas $\geq 100\text{mg/dL}$ y/o tras SOG $\geq 140\text{mg/dL}$ y $< 200\text{mg/dL}$).
 - ✓ Insulinorresistencia (medido mediante HOMA-IR superior al percentil 75 de la población de estudio excluyendo sujetos con diabetes tipo 2).
 - ✓ Niveles séricos de PCRus $> 2\text{mg/dL}$.

De este modo, podemos clasificar según subgrupos de MASLD dependiendo del perfil metabólico;

1. MASLD con obesidad/sobrepeso.
2. MASLD con diabetes tipo 2.
3. MASLD en personas con peso normal, pero con disfunción metabólica.

6. Complicaciones de las enfermedades metabólicas prevalentes

La obesidad presenta complicaciones sobre diversos sistemas del organismo, desde complicaciones físicas, debidas al peso corporal, que afectan al sistema locomotor, muscular, urinario o respiratorio, hasta otras complicaciones afectando a sistemas como el gastrointestinal, neurológico o endocrino. Pero en relación al metabolismo, se ha descrito que la obesidad se asocia directamente con presencia de hipertensión arterial, dislipemia o insulinoresistencia (Hall, 2015; Masmiquel, 2016), siendo factor de riesgo para otras enfermedades metabólicas como el síndrome metabólico o la diabetes tipo 2 (Swinburn, 2011; Salmon, 2016; Masmiquel, 2016) y para enfermedades cardiovasculares (Plourde, 2014; Chaterjee, 2017), siendo la grasa visceral la principal culpable y un marcador más fiable que la grasa corporal total (Hayashi, 2004; Després, 2006; Yusuf, 2005). Además, también incrementa el riesgo de padecer algunos tipos de cánceres (Calle, 2003; Deutsch, 2003; Lauby-Secretan, 2016; Avgerinos, 2019).

La OMS ha estimado que el 44% del riesgo de diabetes, el 23% del riesgo de cardiopatía isquémica y del 7 al 41% del riesgo de algunos cánceres son atribuibles a la obesidad (WHO, 2021). Por todo ello, la obesidad disminuye la calidad y esperanza de vida (Di Angelantonio, 2016; Lin y Li, 2021) y aumenta el riesgo de mortalidad por cualquier causa (Forouzanfar, 2016; Berrington de González, 2010; Plourde, 2014), habiéndosele atribuido, a la obesidad o a sus complicaciones, el 71% de las muertes globales (Global Health Estimates, 2016). Por otra parte, tras la edad, la obesidad fue el principal predictor de complicaciones y mortalidad en pacientes con COVID19 (World Obesity Atlas, 2022).

Muchas de las complicaciones propias de la obesidad aparecen como criterios diagnósticos del síndrome metabólico, como la acumulación central de la grasa, la dislipemia, la hipertensión y alteraciones del metabolismo de la glucosa (Engin,

2017). Y, por tanto, también se encuentra estrechamente relacionado y es factor de riesgo para la aparición de diabetes tipo 2 y enfermedades cardiovasculares (Ford, 2008; Lam, 2019; Yavad, 2020), aumentando 5 y 2 veces respectivamente la probabilidad de desarrollar estas patologías (Grundy, 2011) e incrementar 1 vez y media el riesgo de mortalidad por todas las causas (Engin, 2017).

En cuanto a diabetes tipo 2, la mayoría de las personas con esta enfermedad presentan obesidad central, con una mayor deposición de grasa ectópica asociada a la presencia de insulinoresistencia e inflamación crónica de bajo grado (Torres-Leal, 2010), hipertensión, dislipemia y disfunción del endotelio vascular, dando lugar a mayor riesgo cardiovascular (Solis-Herrera, 2018). Todo esto contribuye al desarrollo de complicaciones microvasculares (retinopatía, nefropatía o neuropatía) y macrovasculares (cardiopatía y aterosclerosis) (Russell, 2015), siendo factor de riesgo para mortalidad cardiovascular (Yavad, 2020). Los sujetos con diabetes presentan una morbilidad vascular de 2 a 4 veces mayor que la población sin diabetes y un riesgo de infarto similar al de pacientes sin diabetes que ya habían sufrido un infarto (Zimmet, 2001; The emerging risk factors collaboration, 2010). Además, la hiperglucemia e insulinoresistencia características de la diabetes tipo 2 contribuyen a la aparición de complicaciones hepáticas, como la enfermedad del hígado graso. Actualmente, existe una creciente evidencia de que la carga clínica de la enfermedad del hígado graso no solo se limita a la morbilidad y mortalidad relacionadas con el hígado, sino que es una enfermedad multisistémica que afecta órganos extrahepáticos y vías reguladoras. Se podría considerar la manifestación hepática del síndrome metabólico (Yki-Jarvinen, 2014; Ballestri, 2016). Y cada vez hay más pruebas epidemiológicas que sugieren una relación bidireccional entre MASLD y diabetes tipo 2, pudiendo estar relacionado con la inflamación e insulinoresistencia (Targher, 2016; Smith, 2020; Bril, 2017; Yoshitaka, 2021) al ser un factor de riesgo independiente de prediabetes o diabetes tipo 2 (Zelber-sagi, 2013; Hazlehurst, 2016; Nishi T, 2015) y de enfermedad cardiovascular (Anstee, 2013), pues la mayoría de muertes en estos pacientes se atribuyen a esta última (Byrne, 2015).

7. Etiopatogenia y fisiopatología de enfermedades metabólicas prevalentes

Las causas que llevan a padecer estas enfermedades y los mecanismos moleculares implicados tanto en su aparición como en la evolución de las mismas no se han descrito por completo, pero se sabe que existe una fuerte asociación entre ellas. Como ya se ha comentado anteriormente, existen características comunes tanto para obesidad, como para diabetes, síndrome metabólico o hígado graso, destacando diversos factores de riesgo que estarían afectando a todas ellas, de los que hablaremos a continuación, y eventos a nivel fisiológico que suelen tener lugar en la mayoría de los pacientes que las padecen, entre los cuales podemos destacar una expansión alterada del tejido adiposo, el aumento de los ácidos grasos libres, la presencia de inflamación crónica de bajo grado y finalmente, la aparición de insulinoresistencia. Aunque también pueden existir otros mecanismos asociados, como son el estrés del retículo endoplasmático, los procesos de autofagia, un diálogo metabólico con el microbioma intestinal (Agus, Clement y Sokol, 2021; Martin, 2019) e incluso se han descrito mecanismo epigenéticos como metilación del ADN, modificaciones de histonas o la acción de diferentes ARNs no codificantes sobre dianas de la ruta de señalización de la insulina o sobre genes del metabolismo lipídico entre otros, todos ellos con potencial implicación en el desarrollo de la insulinoresistencia (Li M, 2022); sin embargo, su relación está menos establecida.

7.1. La insulinoresistencia y el papel clave de la insulina

Es un proceso fisiopatológico complejo caracterizado por la disminución en la capacidad de la hormona insulina para ejercer sus acciones biológicas en sus tejidos diana (Zhou L, 2023). De este modo, todos los procesos estimulados por esta hormona se ven disminuidos y todos los que son inhibidos por ella se ven aumentados en el estado de insulinoresistencia, pudiendo dar lugar a enfermedades crónicas prevalentes (Reaven, 1998; Zhao X, 2023) y se considera

factor de riesgo independiente para esteatosis hepática, ECV y otras comorbilidades (Zheng Y, 2018; Zhao X, 2023).

La insulina es una hormona anabólica, anticatabólica, antilipolítica e hipoglucemiante. Capaz de regular la captación de nutrientes: proteínas, lípidos y glucosa, de manera tejido-dependiente, para abastecer a las células de energía. Sus principales tejidos diana son el músculo esquelético, el hígado y el tejido adiposo; aunque se ha comprobado la existencia de receptores para la hormona en otros órganos como cerebro, corazón, riñón, intestino delgado, islotes pancreáticos, alvéolos pulmonares, endotelio vascular, monocitos, eritrocitos o fibroblastos (DeFronzo, 2009). Esta hormona es producida y liberada por los islotes de Langerhans del páncreas, específicamente por las principales células que lo constituyen; las células β pancreáticas, cuando los niveles de glucosa en sangre superan el umbral fisiológico (Oluwamodupe, 2024). Los restantes tipos celulares que componen el islote de Langerhans son las células α productoras de glucagón, células δ productoras de somatostatina y otras células productoras de polipéptidos pancreáticos (Holst et al, 2004). La hormona antagónica a la insulina es el glucagón, que presenta capacidad hiperglucemiante y actúa cuando la glucemia cae por debajo del umbral fisiológico y su función principal es la de aumentar la producción hepática de glucosa.

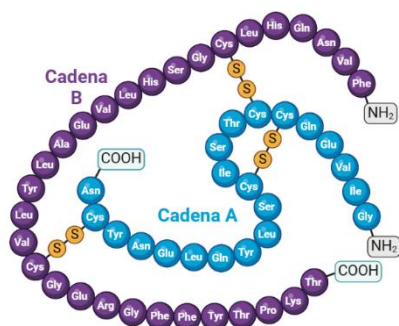


Figura 15. Estructura proteica de la molécula de la insulina. La insulina está formada por dos cadenas polipeptídicas (cadena A; constituida por 21 aminoácidos y cadena B; constituida por 30 aminoácidos) unidas por dos enlaces disulfuro intercadena y otro enlace disulfuro intracadena en la cadena A (Ataie-Ashtiani, 2023). Creado en BioRender.com.

El mecanismo de acción de la insulina en tejidos diana se basa en la activación de complejas cascadas de señalización en función de las necesidades energéticas del organismo (figura 16).

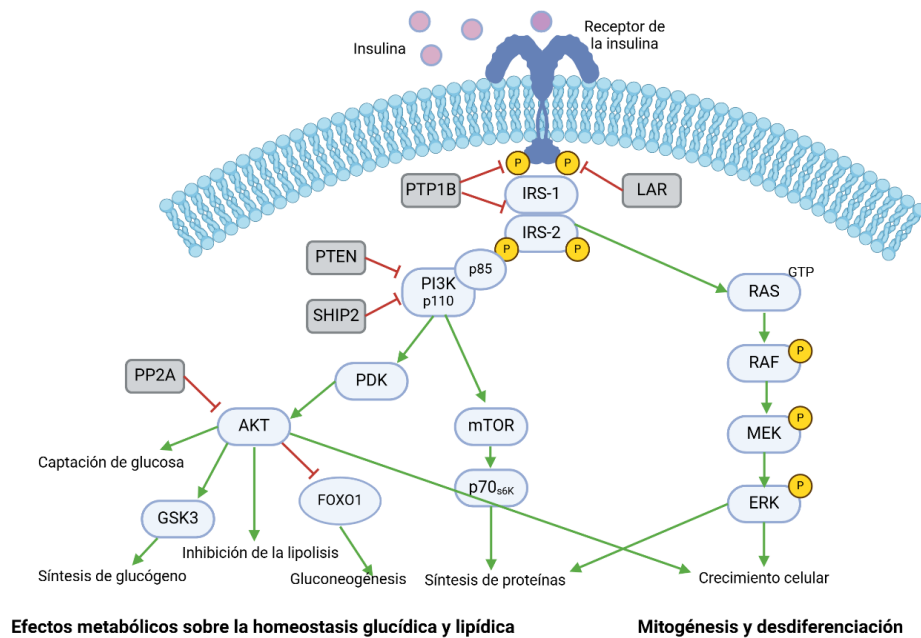


Figura 16. Cascada de señalización de la insulina, creado con BioRender Lago A, 2024. Comienza con la unión de esta hormona a su receptor con dominio de unión extracelular y dominio tirosin-quinasa citoplasmático. La unión favorece la activación del receptor mediante su autofosforilación en residuos de tirosina que desencadena el reclutamiento y fosforilación de sustratos específicos del receptor de la insulina (IRS). Estos IRS activos reclutan proteínas señalizadoras encargadas de transducir la señal intracelularmente de un modo tejido-específico, activando enzimas y factores de transcripción implicados en el control metabólico y en la homeostasis glucídica y lipídica (vía PI3K), así como en mitogénesis y diferenciación para el control del desarrollo celular (vía Ras/MAPK) (Boucher, 2014; Saltiel, 2021). 1. La vía de activación de PI3K, promueve la mayoría de sus acciones metabólicas. El IRS-1 activa PI3K generando PIP3, que recluta y activa PKB/AKT. Esta cascada de señalización facilita la translocación de GLUT4 a la membrana plasmática para captar glucosa, estimula la síntesis de glucógeno mediante GSK3, inhibe lipólisis e impulsa la síntesis de proteínas a través de mTOR. 2. La vía Ras/MAPK, media las acciones mitogénicas de la insulina; proliferación, diferenciación y supervivencia. La fosforilación en residuos serina/treonina del receptor de la insulina, IRS o proteínas de la ruta con actividad fosfatasa provoca la disociación del receptor, a modo de mecanismo de retroalimentación negativa para evitar la hiperestimulación de la ruta. Citoquinas proinflamatorias, ácidos grasos libres o ROS son capaces de inhibir la señalización de la insulina (Rehman, 2016).

De este modo, en condiciones fisiológicas normales, unos altos niveles de glucosa en sangre conducen al aumento de la secreción de insulina desde las células β pancreáticas al torrente circulatorio. La insulina actúa sobre células diana insulino-sensibles estimulando la captación y el transporte de glucosa en esos tejidos; se activa la oxidación de la glucosa y la síntesis de glucógeno en músculo esquelético, se promueve la lipogénesis y se suprime la lipólisis en tejido adiposo, al tiempo que

se activa la síntesis de glucógeno y la lipogénesis de novo y se inhiben la gluconeogénesis y glucogenolisis en hígado (Carvajal, 2015) (figura 17).

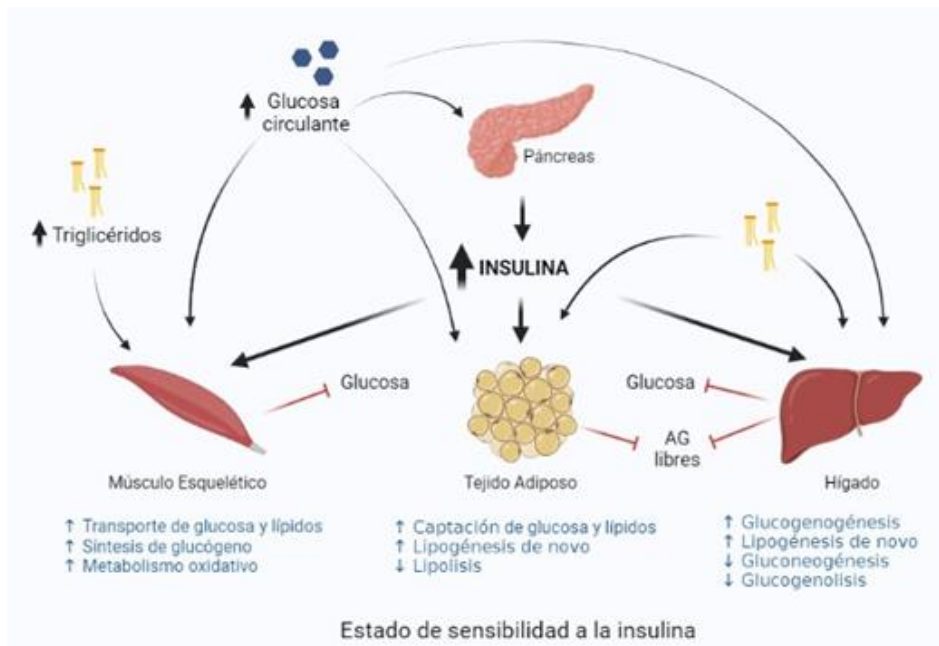


Figura 17. Estado de sensibilidad a la insulina. Modificado de Feingold KR et al, 2000, con BioRender por Lago A, 2024.

Mientras, en condiciones fisiopatológicas de insulinoresistencia, las acciones clave de la insulina se revierten, con consecuencias para la homeostasis metabólica (Zhou L, 2023). Se desregula la captación de glucosa estimulada por insulina en tejidos como músculo esquelético y adiposo y se afecta la supresión de la síntesis hepática de glucosa activada por insulina (Muniyappa, 2008), dando lugar a hiperglucemia (Lillioja, 1988, Unger, 2002). En hígado, además, se incrementan la glucogenólisis y la gluconeogénesis. Las células β pancreáticas, en un primer momento, contrarrestan esa hiperglucemia incrementando la secreción de insulina, lo que favorece la hiperplasia de islotes y el incremento en producción de glucagón desde las células α pancreáticas (Erdmann, 2012; Unger, 2002). En tejido adiposo, la falta de inhibición de la lipólisis mediada por insulina aumenta la liberación de ácidos grasos al torrente sanguíneo pudiendo estos acumularse en tejidos periféricos y contribuir más al estado de resistencia a la insulina (Roden, 1996; Goossens, 2008). La acumulación ectópica de lípidos en condiciones de insulinoresistencia se ve además incrementada por el aumento en la lipogénesis

de novo en hígado, y por la regulación al alza de captación de lípidos en músculo (Berk, 1997; Flamment, 2012), empeorando todo ello la acción de la insulina en estos tejidos (Lanthier, 2010) (figura 18).

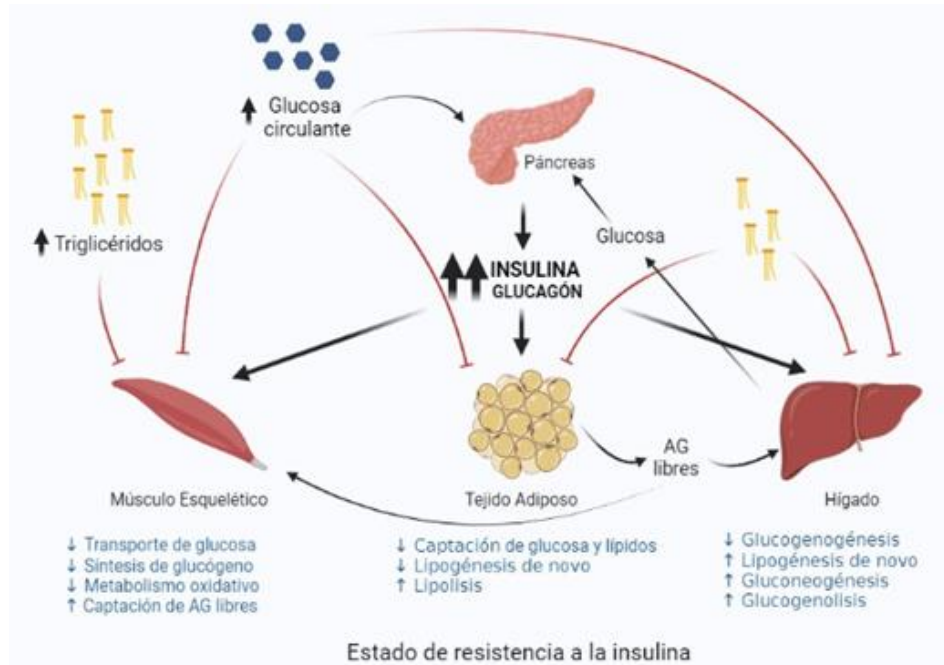


Figura 18. Estado de resistencia a la insulina. Modificado de Feingold KR et al, 2000, con BioRender por Lago A, 2024.

DeFronzo en 2009 definió lo que él denominó el “ominoso octeto”; una síntesis de todos los órganos y tejidos implicados en la fisiopatología de la hiperglucemia. Pues, a parte del tejido adiposo, músculo e hígado, también se ha detectado la presencia de receptores de insulina en otros tejidos, pudiendo así verse también afectados por la resistencia a esta hormona (DeFronzo, 2009). En este estado, en las células α del páncreas aumenta la secreción de glucagón, lo que favorece la liberación de glucosa desde el hígado y aumenta lipólisis en tejido adiposo. En las células β , la secreción de insulina disminuye paulatinamente a causa de la hiperglucemia y el aumento de los ácidos grasos libres, llevando a la apoptosis de este tipo celular. En el riñón se incrementa la reabsorción tubular de glucosa agravando la hiperglucemia (Thrasher, 2017). En intestino disminuye el efecto de las hormonas incretinas como GLP1 o GIP, liberadas por el intestino en respuesta a la ingesta, que actúan sobre células β para liberar insulina y sobre células α para disminuir la secreción de glucagón. A nivel del sistema nervioso central, la insulina

puede cruzar la barrera hematoencefálica y actuar sobre este suprimiendo el apetito mediante la modulación de neuropéptidos, pero en estado de resistencia a la insulina la producción de péptidos anorexigénicos y la inhibición de los orexigénicos se ve disminuida, estimulando la ingesta en estado postprandial (Heni, 2024).

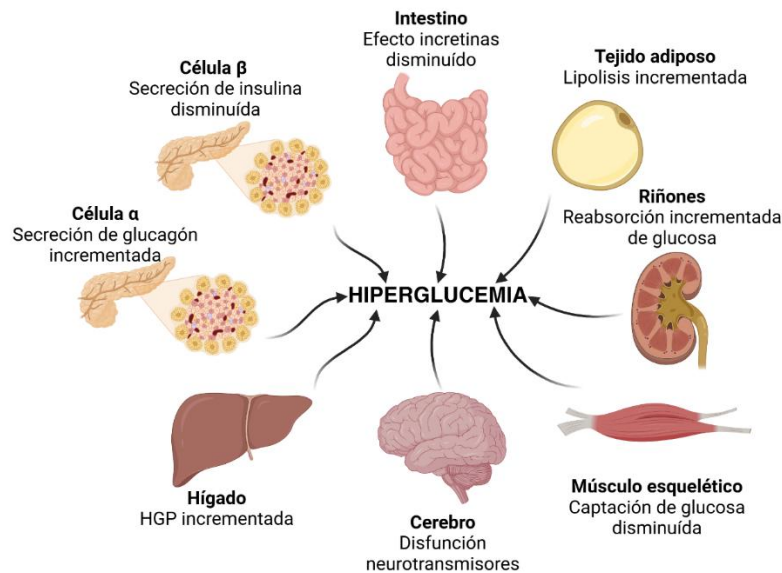


Figura 19. El ominoso octeto de DeFronzo. Modificado de DeFronzo, 2009. Creado con <https://BioRender.com>

A parte de este octeto de tejidos, se pueden incluir otros afectados por la insulinoresistencia, como el tejido óseo, donde la insulina presenta papel clave en su desarrollo, favoreciendo la diferenciación de osteoblastos con secreción de osteocalcina, hormona importante en la secreción pancreática de insulina y para mejorar la sensibilidad a esta en tejidos periféricos (Bilotta, 2018). Y en endotelio vascular, la acción vasodilatadora de la insulina, a través de la producción de óxido nítrico (NO) por un mecanismo dependiente de PI3K, se ve afectada por insulinoresistencia, lo cual está asociado a la aparición de hipertensión y aterosclerosis (Schulman, 2009).

7.2. Mecanismos moleculares implicados en enfermedades metabólicas prevalentes

Como ya se comentó en el apartado de obesidad, la acumulación excesiva de grasa en el tejido adiposo superando su capacidad de carga, especialmente en la zona abdominal (Carobbio, 2019), hace que este tejido se vuelva disfuncional (Samuel, 2010). Un tejido adiposo disfuncional favorece procesos como la lipólisis y con ello la liberación de ácidos grasos al torrente sanguíneo. Estos ácidos grasos libres se dirigen y acumulan entonces en tejidos con capacidad limitada para almacenar lípidos, como son; el hígado, el páncreas o el músculo esquelético y cardíaco, entre otros. Los ácidos grasos libres en circulación presentan efectos lipotóxicos, proceso que se conoce como “Lipotoxicidad” (Roden, 1996; Goossens, 2008).

En primer lugar, un tejido adiposo alterado aumenta su expresión y producción en citoquinas proinflamatorias, que favorecen la activación de vías como la β oxidación mitocondrial y la producción de ROS (por sus siglas en inglés “Reactive Oxygen Species”), así como otras vías que se activan en respuesta a estímulos proinflamatorios como la PKC, MAPK, mTOR o JAK/STAT u otras fosfatasa (Rabe, 2008). Lo que ocurre es que se desregulan a la baja rutas antiinflamatorias, con moléculas implicadas como adiponectina, quemerina, apelina o leptina y al alza las proinflamatorias, con aumento de interleuquinas como IL1 o IL6, TNF α (Li M, 2022) y rutas como NF κ B o JNK, que fosforilan al sustrato del receptor de la insulina, inhibiendo la cascada de señalización de la ruta de la insulina (Bhargava, 2012; Hotamisligil, 2008) mediante activación de receptores TLR, entre otros, o indirectamente a través de la secreción de esas citoquinas proinflamatorias (Martins, 2012). Este proceso influye entonces en la aparición de la resistencia a la hormona insulina local en tejido adiposo. Es bien conocido que las personas con obesidad presentan una inflamación crónica de bajo grado debida al aumento de citoquinas, pero una polarización inflamatoria de las células inmunes presentes en este tejido adiposo también estaría contribuyendo (Wu H, 2020). Las células inmunes del tejido adiposo se encargan de vigilar y mantener la integridad y sensibilidad a hormonas de los adipocitos. En condiciones normales liberan

citoquinas antiinflamatorias, manteniendo los macrófagos residentes en estado polarizado M2 (Lumeng, 2007), que a su vez secretan más citoquinas contribuyendo al estado de sensibilidad a insulina en los adipocitos. Durante la obesidad, especialmente en tejido adiposo visceral, los macrófagos experimentan cambios aumentando la infiltración de estos en estado polarizado M1, con fenotipo proinflamatorio y un mayor influjo de monocitos atraídos por MCP-1 (proteína 1 quimioatrayente de monocitos) producida por los propios adipocitos disfuncionales. El estado M1 de los macrófagos del tejido adiposo promueve la liberación de citoquinas proinflamatorias como TNF α , IL6, MCP-1 o IL1 β por parte de esos macrófagos residentes, promoviendo todavía más el cambio hacia estado M1, generando esa inflamación crónica de bajo grado local (Torres-Leal, 2010) y posteriormente sistémico (Carvajal, 2015), implicando células inmunes de otros tejidos. El aumento en el número de macrófagos con mayor proporción de M1 frente a M2, atenúa la fosforilación de IRS-1 (sustrato específico del receptor de la insulina, implicado en la ruta de señalización de esta hormona) e induce desarrollo de insulinoresistencia (Saltiel, 2017; Ozes, 2001). Esto a su vez estimula la lipólisis y secreción de más ácidos grasos por el tejido adiposo a la sangre (Kawakami, 1987; Ranjit, 2011), al disminuir los niveles de adiponectina (hormona que mantiene la sensibilidad a la insulina). Además, las células de Kupffer (macrófagos hepáticos residentes) pueden sufrir activación de vías inflamatorias durante la obesidad (Lanthier, 2010), generando insulinoresistencia en hepatocitos y la lipogénesis aumentada en hígado ocasiona o empeora la esteatosis hepática (Carvajal, 2015; Unger, 2002).

En segundo lugar, según la hipótesis de Randle, el aumento de los ácidos grasos libres promueve procesos de oxidación mitocondrial de estos y con ello la acumulación de acetil-coA y NADH en estos orgánulos celulares, lo que inactivaría a la enzima piruvato deshidrogenasa conduciendo a un aumento de los niveles de citrato intracelular y a la acumulación de glucosa-6-fosfatasa provocando una disminución en la actividad hexoquinasa. Este proceso estaría favoreciendo el aumento de glucosa circulante (Fragozo-Ramos, 2022).

El aumento de la actividad oxidativa mitocondrial favorece la producción de ROS y disminuye la expresión de enzimas antioxidantes (Furukawa, 2004), dando lugar al estrés oxidativo. Este estrés oxidativo, a su vez, estaría implicado en la disminución en la secreción de adiponectina en tejido adiposo (Soares, 2005; Otani, 2011) y obstaculizando la ruta de señalización de la insulina y la traslocación de glucosa para su captación hacia tejidos insulino-sensibles (Bloch-Damti, 2005), especialmente en miocitos (Koves, 2008).

Por otra parte, la acumulación de ácidos grasos en tejidos no adiposos da lugar a la síntesis de derivados lipídicos como el diacilglicerol (DAG) o las ceramidas. Estos productos también interfieren en la ruta de señalización de la insulina, disminuyendo la señal de su receptor (Gallagher, 2011; Yki-Javinen 2002; Martins 2012) y activando enzimas fosfatasa que inhiben la acción de la insulina y la función de proteínas traslocadoras de glucosa a través de membrana, disminuyendo su captación por los tejidos insulino-sensibles (Summers 2010; Ussher 2010). Además, disminuyen la síntesis de glucógeno mediado por insulina, contribuyendo también al aumento de la glucemia (Blouin 2010; Summers 2010; Ussher 2010). La glucosa que no es captada (especialmente por el músculo) es redirigida al hígado aumentando la lipogénesis hepática con producción y secreción de VLDLs cargadas de triglicéridos. La acumulación progresiva de lípidos en hígado, a pesar de aumentar en VLDLs, empeora la acción de la insulina, aumentando la gluconeogénesis y disminuyendo la síntesis de glucógeno. Se favorece la glucogenolisis hepática y liberación de glucosa a circulación. Mantenido en el tiempo, un estado de hiperglucemia crónico presenta efectos negativos sobre las células β pancreáticas, pues disminuyen su viabilidad y alteran su función. En primer lugar, provoca sobreestimulación de las células β , alterando la expresión del gen de la insulina, seguido de aumento del estrés oxidativo, pérdida de diferenciación del fenotipo celular e hipoxia, entre otros efectos, llevando a largo plazo hacia la apoptosis y pérdida de masa celular con la consecuente disminución en la secreción de insulina, agravando el estado de insulinoresistencia (Bensellam, 2012) con progresión a diabetes tipo 2.

7.3. Factores de riesgo para enfermedades metabólicas prevalentes

Conocer los mecanismos etiopatogénicos que conducen al desarrollo de estas enfermedades es un punto clave para conocer qué es lo que las causa, pero es importante, también, conocer aquellos factores de riesgo implicados para que tengan lugar y poder llevar un mejor manejo y/o prevención de estas enfermedades.

Actualmente se han descrito diversos factores de riesgo asociados a la aparición de estas enfermedades metabólicas prevalentes y la exposición a estos contribuye a una mayor probabilidad de desarrollar alguna de ellas. Algunos de los más conocidos son la edad, el origen étnico, el sexo del individuo o los antecedentes familiares de primer grado, que aportan una mayor predisposición a padecerlas, unido a la genética del individuo y a la influencia de factores ambientales. Siendo estos últimos los factores de riesgo que más contribuyen en conjunto.

7.3.1. Factores de riesgo genéticos

Por un lado, se encuentra la susceptibilidad genética, que da lugar a una mayor probabilidad de desarrollar la enfermedad y se basa en la composición genética del individuo, siendo heredable a su descendencia. En las últimas décadas, diversos estudios de asociación del genoma completo han identificado múltiples loci asociados a la presencia o desarrollo de obesidad, síndrome metabólico o diabetes tipo 2 (Goodarzi, 2017; Singh, 2017; Wierzbicki, 2019; DeForest, 2022; Abou Ziki, 2016), aunque el efecto que presentan sobre el riesgo global de desarrollar estas enfermedades es modesto y el conjunto de loci asociados o riesgo poligénico no explicaría más de un 10-20% de la heredabilidad (Qi, 2013). Se ha hipotetizado entonces que la baja influencia que presentan los factores genéticos podría deberse a la heterogeneidad genética que existe en estas enfermedades entre individuos y poblaciones o, a interacciones entre loci de susceptibilidad con determinantes ambientales, como ya habían sugerido otros autores (Hinney, 2010; Speliotes, 2010; Gaulton, 2017). Es conocido que los factores ambientales pueden

modular la expresión génica a través de mecanismos epigenéticos como la metilación del ADN, la modificación de histonas o post-transcripcionalmente a través de los ARNs no codificantes, entre otros (Li & Yang, 2021). Recientemente se ha propuesto un origen epigenético ligado al desarrollo de ciertas enfermedades metabólicas durante la etapa fetal/neonatal (Kappeler, 2022) que pone de relieve la influencia del medio ambiente en esta etapa crítica del desarrollo.

7.3.2. Factores de riesgo ambientales

Los factores ambientales comúnmente asociados a estas enfermedades son; la dieta, el sedentarismo, factores socioeconómicos, tabaquismo, el consumo de alcohol, la polución ambiental o el uso de ciertos medicamentos (Cameron, 2004; Bellou, 2018).

➤ Factores dietéticos y alimentarios:

Multitud de factores dietéticos se han asociado (positiva o negativamente) con el riesgo de desarrollar enfermedades metabólicas. De hecho, la manipulación de la dieta, junto con el aumento de actividad física, es la primera línea de prevención y tratamiento de estas enfermedades (Salas-Salvadó, 2016; Franz, 2015; Piepoli, 2016; Vilar-Gómez, 2015). Aunque sale del ámbito de este trabajo la revisión exhaustiva de todos los factores dietéticos estudiados en este aspecto, hay algunos que, por su importancia, merecen ser señalados. La densidad energética de la dieta y la ingesta elevada de calorías se ha probado que aumenta el riesgo de obesidad e hígado graso (Rouhani, 2016; Tsompanaki, 2023), diabetes y síndrome metabólico (Bazshahi, 2021) entre otros desórdenes. Se ha encontrado un elevado riesgo de diabetes tipo 2 asociado a un consumo de dietas ricas en almidones y bajas en fibra (Alessa, 2015; Reynolds, 2019), de alto índice glucémico (Greenwood, 2013; Livesey, 2019; Bhupathiraju, 2014) y con la ingesta de bebidas azucaradas (Tsilas, 2017); mientras que la alimentación baja en carbohidratos simples y abundante en alimentos ricos en fibra como la fruta, verdura, legumbres o cereales integrales han

presentado efectos beneficiosos a nivel de control del metabolismo de la glucosa y los lípidos (Hallberg, 2018; Sainsbury, 2018; Snorgaard, 2017; Meng, 2017) y una disminución en el riesgo de diferentes alteraciones metabólicas como la hipertensión arterial, la diabetes tipo 2 o el síndrome metabólico (Ley; 2014). La restricción dietética, el ayuno intermitente o la hora de comer, también se han asociado al riesgo de enfermedades metabólicas (Liu J, 2023), factores muy relacionados con los biorritmos y sistemas de reloj endógenos (Boege, 2021).

Como elementos dietéticos protectores se pueden mencionar al aceite de oliva, y en general a los patrones de dieta ricos en este aceite, como la Dieta Mediterránea* (Estruch, 2018; Lago-Sampedro, 2024). Se ha demostrado que el consumo de aceite de oliva, especialmente virgen extra (AOVE), previene del aumento de peso (Bes-Rastrollo, 2006) y disminuye la incidencia de obesidad en comparación con otros tipos de aceites (Soriguer, 2009), así como del riesgo de desarrollar síndrome metabólico, hipertensión (Tortosa, 2007), diabetes mellitus tipo 2 y enfermedades cardiovasculares (Soriguer, 2004; Buckland, 2012; Guasch-Ferré, 2014; Martínez-González, 2022). En España se consume en AOVE entre un 15 y un 20% de las calorías totales de la dieta, esto podría estar asociado con el disminuido riesgo cardiovascular en nuestra población a pesar de la elevada tasa de obesidad (Soriguer, 2013; Gutiérrez-Repiso, 2013). La protección que proporciona el AOVE puede ser debida a su composición en ácidos grasos, principalmente monoinsaturados como el ácido oleico, al aporte de vitaminas liposolubles como la E, A, D o K con capacidad antiinflamatoria y/o a la presencia de componentes minoritarios (polifenoles y otros antioxidantes).

*La Dieta Mediterránea (Keys, 1986) presenta elevada ingesta de alimentos basados en plantas; frutas, vegetales, cereales no refinados, legumbres y frutos secos, alimentos mínimamente procesados, estacionales y de producción local, elevada ingesta de AOVE empleado como principal fuente de grasa, e ingesta moderada de productos lácteos, huevos, pescado y aves, poco vino en las comidas y bajo consumo de dulces y carnes rojas (Trichopoulou, 2003; Guasch-Ferré y Willett, 2021). El AOVE y los frutos secos aportan los principales beneficios para la salud (Gaforio, 2019), por su alto contenido en ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados y la presencia de compuestos bioactivos (Estruch *et al.*, 2018).

Otros ácidos grasos como los poliinsaturados; omega-3 como el α -linolénico, presente en frutos secos, semillas u otros aceites vegetales o el ácido eicosapentanoico (EPA) y el ácido docohexaenoico (DHA), presentes en pescados y mariscos, también han presentado propiedades beneficiosas para la salud (Patted, 2024), pero la relación de estos últimos con respecto al riesgo de enfermedades metabólicas sigue sin ser concluyente (Sala-Vila, 2022). Sin embargo, está bien establecido el beneficio de la ingesta de frutos secos en el síndrome metabólico y el riesgo cardiovascular (Eslami, 2022; Nishi SK, 2021). Por su parte, el consumo de ácidos grasos saturados parece asociarse con un mayor riesgo cardiovascular (Schwingshackl, 2018). El consumo de lácteos también se asoció con un mejor perfil metabólico, menor presencia de obesidad e hipertensión arterial (Jin S, 2021; Lago-Sampedro, 2019).

Pero, en conjunto, los patrones dietéticos, combinando los efectos sinérgicos de estos alimentos, como puede ser la Dieta Mediterránea, serían los que aportan mayores beneficios para la salud (Estruch, 2018). Pues, la adherencia a la Dieta Mediterránea ha reflejado resultados positivos en sujetos con diabetes tipo 2, síndrome metabólico, dislipemia, hipertensión (Salas-Salvadó, 2016) y enfermedades cardiovasculares (Sala-Vilas, Estruch y Ros, 2015), o aquellos en riesgo, reduciendo su incidencia (Esposito, 2009; Nordmann, 2011; Boucher, 2017; Estruch, 2018).

En el estudio Di@bet.es, se ha observado que la baja adherencia a la Dieta Mediterránea se asocia al riesgo de prediabetes y diabetes tipo 2 desconocida independientemente de otros factores de riesgo (Ortega, 2013). Por su parte, la adherencia a este patrón dietético se asoció con un 50% de reducción del riesgo de síndrome metabólico en un metaanálisis (Kastorini, 2011). Y, a largo plazo, sin restricción calórica y con una ingesta alta en grasa de procedencia vegetal, se asoció con pequeños cambios en el peso corporal y menor ganancia de adiposidad visceral en el estudio PREDIMED (Estruch, 2020). Este estudio PREDIMED, además, ha descrito la capacidad de esta dieta para reducir el riesgo cardiovascular hasta un 30% en pacientes con diabetes tipo 2 y prediabetes (Estruch, 2018), en parte debido a los efectos que presenta sobre factores de riesgo como síndrome

metabólico o sus componentes, ayudando a mantener un buen control glucémico (Esposito, 2015) y reduce hasta un 40% la incidencia de diabetes tipo 2, especialmente en aquellos con mayor consumo de AOVE (Salas-Salvadó, 2014).

➤ **Actividad física y sedentarismo:**

La asociación inversa entre la actividad física diaria y la mortalidad por cualquier causa se ha demostrado en numerosos estudios (Banach, 2023). Hay que destacar que, a igualdad de actividad física, el número de horas sentado o viendo la televisión, se asocian de manera significativa a la mortalidad total y por enfermedad cardiovascular o cáncer (Patterson, 2018). El sedentarismo está claramente asociado al riesgo de diabetes y enfermedades metabólicas (Bellou, 2018), independientemente de la actividad física. El estudio Di@bet.es describió que el sedentarismo se asocia a obesidad y un mayor perímetro abdominal, hipertensión, dislipemia, índice HOMA-IR elevado, hiperglucemia, niveles de triglicéridos altos y colesterol HDL más bajo, así como una mayor presencia de diabetes mellitus tipo 2, tanto conocida como desconocida y alteración en la regulación del metabolismo de la glucosa, asociándose así al desarrollo de enfermedades metabólicas prevalentes. Siendo los sujetos más inactivos, aquellos que fuman más, presentan una más baja adherencia a la dieta mediterránea y un nivel educacional inferior (Brugnara, 2016). Por tanto, se recomienda realizar al menos 30 minutos al día de ejercicio físico regular con una intensidad moderada entre 5 y 7 días a la semana e incluso aumentar la intensidad con ejercicios de resistencia en personas con dislipidemia, hipertensión arterial y/o diabetes tipo 2 entre 2 y 3 días a la semana, incluso si no tienen sobrepeso (Huffman, 2012; Piepoli, 2016).

➤ **Factores socioeconómicos:**

La desigualdad social debida a las diferencias socioeconómicas es un factor de riesgo de gran importancia para padecer enfermedades metabólicas. El bajo nivel de ingresos condiciona la libertad de elección de residencia, aumentando la

probabilidad de vivir en barrios con mayor posibilidad de entornos disruptivos, baja disponibilidad de comida saludable, inseguridad callejera y hostilidad constante que hacen que los niveles de estrés psicológico puedan ser bastante elevados (Walker, 2014; Bravo, 2020). Las personas pertenecientes a minorías sociales y raciales tienen mayor probabilidad de vivir en este tipo de ambientes por lo que pueden estar sometidos con mayor probabilidad a este tipo de estrés (Meeks, 2015). Además, este tipo de ambientes suelen tener unos altos niveles de contaminación, tanto auditiva como ambiental. Estos dos factores perjudican el descanso y aumentan los niveles de estrés y la resistencia a la insulina (Münzel, 2017). Un menor nivel educativo condiciona un peor acceso a la información. Una población desinformada es mucho más susceptible a las estrategias de marketing de la industria alimentaria. Estas estrategias implican aumentar la disponibilidad de alimentos ultra procesados respecto a la comida saludable y a precios más reducidos de los mismos. Menor nivel de ingresos aumenta la probabilidad de basar la alimentación en este tipo de productos por ser más económicos (Tang, 2016). Las redes sociales pueden ayudar a reforzar la desinformación debido a la facilidad de difusión de ideas erróneas sobre salud y la implantación de un sistema de publicidad muy agresivo (Powell, 2015).

➤ **Situación psicosocial:**

Las situaciones psicosociales de la vida diaria, familiares, laborales o personales también predisponen al desarrollo de obesidad y/o alteraciones metabólicas como síndrome metabólico, sus componentes y otras enfermedades relacionadas. Esto se debe al factor estrés principalmente y sus consecuencias sobre la regulación endocrina del eje hipotálamo-hipofisario-adrenal (Serrano-Ríos, 2005). El estrés puede alterar este eje y con ello la homeostasis general (Bjorntorp, 1997). Bjorntorp postuló que los factores psicosociales (ansiedad, depresión o cualquier otra forma de estrés crónico) eran determinantes para la aparición de alteraciones metabólicas como el síndrome metabólico y sus componentes (Bjorntorp, 1996).

Además, se ha descrito que el estrés puede desencadenar diabetes tipo 2 en individuos predispuestos, al aumentar los niveles de glucosa en sangre. La evidencia de que el estrés puede descontrolar la diabetes se ha reflejado en diversos estudios (Plummer, 2016). Esto se debe a esa respuesta fisiológica hormonal al estrés, donde estarían implicadas la adrenalina y el cortisol, que pueden actuar sobre los niveles de glucemia (Garay-Sevilla, 2000).

➤ **Tabaquismo:**

A corto plazo la nicotina aumenta el gasto energético y puede reducir el apetito, sin embargo, los grandes fumadores tienden a presentar más obesidad que los no fumadores, lo que refleja la agrupación de comportamientos de riesgo asociados al tabaquismo (baja actividad física y dieta pobre) (Chiolero, 2008). Existe una relación dosis-respuesta entre la cantidad de cigarrillos y riesgo de síndrome metabólico y se ha demostrado un papel causal del tabaquismo en la aparición de sus componentes e insulinoresistencia (Xie, 2010). Además, los fumadores actuales tienen un 45% mayor riesgo que los no fumadores y mayor probabilidad de presentar acumulación de grasa abdominal (Canoy, 2005; Kim AH, 2022). También se ha descrito que el tabaco provoca aumento agudo de la presión arterial y de la frecuencia cardíaca (Balhara, 2012). Por otra parte, estudios recientes han establecido el tabaquismo como factor de riesgo independiente de fibrosis hepática, debido a los efectos del tabaco sobre la inflamación, el estrés oxidativo y la resistencia a la insulina (Premkumar, 2021).

➤ **Consumo de alcohol:**

El consumo bajo o moderado de alcohol se ha asociado repetidamente a riesgo reducido de síndrome metabólico y diabetes (Sun K, 2014; Bellou, 2018; Schrieks, 2015), pero existe debate, porque no existe evidencia suficiente que demuestre que la ingesta moderada sea beneficiosa para la salud cardiometabólica (Galán, 2024). Sin embargo, se sabe que un consumo elevado proporciona calorías vacías que

favorecen el incremento del peso a expensas del depósito visceral, lo que se asocia a deterioro metabólico, insulinoresistencia y diabetes (Lampenius, 2023; Sogabe, 2022). Según la ADA, dejar el consumo de alcohol ayudaría a perder peso y mantener la sensibilidad a la insulina adecuada, pero, además, disminuye la hipertensión y el riesgo de enfermedad cardiovascular (ESCAV, 2022).

➤ **Polución ambiental:**

Hasta la fecha, un amplio número de estudios epidemiológicos han tratado de investigar la relación entre contaminantes del aire y el desarrollo de diabetes tipo 2 y otras enfermedades metabólicas. Aunque estos estudios han sido heterogéneos respecto a su diseño, al tipo de exposición a contaminante valorado, el método para considerar la exposición a los contaminantes del aire y los casos de diabetes y al ajuste de covariables, la mayor parte de ellos ha reportado asociaciones significativas entre los distintos contaminantes estudiados (fundamentalmente $PM^{2.5}$, PM^{10} y NO_2) y el riesgo de enfermedades metabólicas. Esta asociación ha sido confirmada en diversos metaanálisis (Yang BY, 2020; Ning J, 2021). Respecto a los posibles mecanismos implicados, tanto estudios experimentales como epidemiológicos han sugerido que la exposición a contaminantes del aire puede generar disfunción endotelial, inflamación a nivel pulmonar y sistémico, estrés oxidativo e insulinoresistencia (Haberzettl, 2016; Wolf, 2016), todos ellos "*hallmark*" en el desarrollo de diabetes tipo 2. Sin embargo, los mecanismos intermedios para explicar la toxicidad de los contaminantes sobre el riesgo de diabetes tipo 2 no han sido suficientemente aclarados.

➤ **Medicamentos:**

Son varios los medicamentos asociados con mayor riesgo de desarrollo de enfermedades metabólicas. Existe una larga lista de medicamentos descritos como hiperglucemiantes o que aumentan el riesgo metabólico (Millaruelo, 2016). Entre ellos encontramos las estatinas, ampliamente empleadas en el tratamiento

de desórdenes lipídicos y que han recibido una gran atención debido al aumento de riesgo de desarrollo de diabetes tipo 2 en los pacientes que las consumen (Keni, 2021). Su efecto depende de la estatina en concreto, de la dosis y la presencia de otros factores de riesgo (Chrysant, 2017), pero los beneficios de su uso sobre la mortalidad e incidencia de eventos cardiovasculares, usualmente compensa el riesgo metabólico que conlleva. Otros medicamentos con efectos hiperglucemiantes son los corticoesteroides; aunque se ha descrito que estas hiperglucemias suelen ser pasajeras, no aumentando el riesgo de diabetes posterior (Colomo, 2013). También se ha descrito que las tiazidas, ampliamente utilizadas en el tratamiento de la hipertensión, se asocian a un mayor riesgo de síndrome metabólico y diabetes a través de sus efectos sobre la uricemia y la kalemia (Reungjui, 2008). De nuevo los importantes beneficios de estos medicamentos suelen compensar los posibles efectos deletéreos que presentan. Otros fármacos que pueden ser causantes de hiperglucemia son los antiinflamatorios no esteroideos, ciertos antipsicóticos y psicofármacos, ciertos antiinfecciosos y antineoplásicos, algunos inmunosupresores, bloqueadores betaadrenérgicos, diuréticos tiacídicos, algunos broncodilatadores, antihistamínicos u hormonas como los anticonceptivos orales y levotiroxina, entre otros.

8. Biomarcadores

Disponer de biomarcadores que predigan estas enfermedades metabólicas antes de que aparezcan es esencial para poder establecer estrategias efectivas para su prevención y poder plantear acciones que favorezcan la detección precoz de los sujetos en riesgo, el diagnóstico correcto, para pautar estrategias o los tratamientos más adecuados, especialmente en los primeros estadios de la enfermedad, con el fin de retrasar o prevenirla. Y en vista de todos los factores de riesgo asociados a estas enfermedades, determinar si existen interacciones con estos para desarrollar programas de prevención más adecuados.

8.1. Definición de biomarcador

Un biomarcador es una observación biológica indicadora de un estado biológico y que sustituye e idealmente predice un punto final clínicamente relevante o un estado intermedio que es más difícil de observar. El uso de biomarcadores clínicos es más fácil y suele ser menos caro que la medida directa del punto final clínico o el abordaje de sus consecuencias y los biomarcadores son normalmente medidos en un lapso más corto de tiempo.

Pueden ser empleados para (Aronson, 2017):

- Predicción de estados fisiológicos
- Detección de estados patológicos
- Pronóstico de enfermedades
- Identificación de tipos celulares (marcadores histológicos)
- Respuesta a tratamiento
- Estudios farmacodinámicos y dosis-respuesta
- Medición de eficacia de ensayos clínicos
- Definición de efectos secundarios a fármacos candidatos

8.2. Tipos de Biomarcadores

8.2.1. Biomarcadores no genéticos:

Son los tradicionales o clásicos, como evaluación física (signos y síntomas), componentes de la sangre (bioquímicos, hematológicos, inmunológicos, microbiológicos, histológicos, farmacológicos), estilo de vida y factores ambientales (evaluación física y antropométrica, factores dietéticos, historial médico y psicosocial) y nuevos biomarcadores circulantes como algunos metabolitos específicos (determinados por técnicas como espectrofotometría, radiográficas o resonancia magnética nuclear entre otros) o biomarcadores epigenéticos como ARN no codificantes de pequeño tamaño.

8.2.2. Biomarcadores genéticos:

Biomarcadores basados en el ADN, se transmiten según las leyes básicas de la herencia mendeliana como genes, polimorfismos, scores de riesgo genético, aunque su poder predictivo es bajo, especialmente para enfermedades crónicas prevalentes donde la influencia del ambiente es importante (Laakso, 2019).

8.3. Características de los biomarcadores

De entre las diferentes características que definen a un biomarcador ideal podemos destacar (Howick, 2009; Osahon, 2017):

- Seguridad y facilidad en su medición.
- Fuerza de asociación entre el marcador y el resultado o efectos de un tratamiento.
- Consistencia; asociaciones reproducibles persistiendo en sujetos y poblaciones diferentes.
- Sensibilidad; marcador con alta capacidad para detectar el resultado.
- Especificidad; marcador con alta capacidad para detectar el no resultado.
- Temporalidad; cambios temporales en el marcador y el resultado han de ser

paralelos.

- Plausibilidad; mecanismos creíbles que conecten el marcador y la patogénesis de la enfermedad o el modo de acción de la intervención.
- Coherencia; asociación consistente con la historia natural de la enfermedad y el marcador.
- Evidencia experimental; la intervención debe dar resultados consistentes con la asociación.
- Coste-efectividad; el empleo del biomarcador debe ser más económico que el tratamiento.

8.4. Identificación de biomarcadores

El primer paso para identificar biomarcadores apropiados es entender la fisiopatología de la enfermedad y los factores asociados a ella. Posteriormente identificar potenciales biomarcadores basados en mecanismos donde la intervención afecta la fisiopatología de la condición. Finalmente, el biomarcador debería correlacionar con el proceso (Aronson, 2017).

Para testear su capacidad real para diagnosticar o predecir una enfermedad, es necesario un número elevado de sujetos, así los grandes estudios de cohortes suelen ser un escenario ideal. Finalmente, para su uso real en la práctica clínica será necesario establecer métodos de estandarización universales de medición y análisis y establecer apropiados puntos de corte e intervalos de confianza para el diagnóstico y pronóstico de cada enfermedad.

Como casi cualquier biomarcador por sí solo suele tener limitaciones, la combinación de varios biomarcadores puede hacer mucho más precisa la identificación de situaciones de alto riesgo para desarrollar, en este caso, enfermedades crónicas prevalentes (Dorcely, 2017).

Para este trabajo, hemos estudiado la potencial capacidad de un nuevo biomarcador sérico, la proteína VEGFB, en un estudio de cohortes poblacional, el estudio Di@bet.es, evaluando su capacidad como predictor de enfermedades metabólicas prevalentes y sus interacciones con otras variables ambientales.

9. El factor de crecimiento del endotelio vascular b (VEGFb)

La proteína VEGFb es uno de los miembros de la conocida familia de factores de crecimiento del endotelio vascular (por sus siglas en inglés “*Vascular Endothelial Growth Factor*”). Presenta pobre poder angiogénico por sí solo, pero sí como potencial facilitador de la angiogénesis, aunque su papel *in vivo* continúa sin esclarecerse completamente hoy en día. En los últimos años se ha propuesto un papel para VEGFb en el transporte de lípidos a través del endotelio y en la acumulación ectópica de los mismos (Zhu H, 2018). Esto ha llevado a suscitar interés sobre esta proteína como diana terapéutica para el tratamiento enfermedades metabólicas asociadas a procesos de desregulación de la homeostasis lipídica, como puede ser la diabetes, entre otras (Zhu H, 2018).

Por ello, para entender el funcionamiento de VEGFb relacionado con el desarrollo de enfermedades metabólicas, primero, es fundamental tener unas nociones básicas acerca de la regulación de la homeostasis lipídica y la implicación del endotelio en este equilibrio.

9.1. Homeostasis lipídica y endotelio vascular

Las enfermedades metabólicas prevalentes, ya descrito anteriormente, están íntimamente relacionadas con perturbaciones de la homeostasis lipídica. En condiciones fisiológicas normales, los nutrientes procedentes de la ingesta o aquellos movilizados desde reservorios endógenos durante el ayuno, son enviados a través del torrente circulatorio a las células de tejidos diana para ser metabolizados y mantener el correcto funcionamiento del organismo. En el caso de los lípidos, estos son dirigidos, según las necesidades metabólicas, a procesos catabólicos (β oxidación y lipólisis) para la obtención de energía, o a procesos anabólicos (lipogénesis) para almacenarlos y que sirvan de reservorio.

Los lípidos plasmáticos, consistentes principalmente en triglicéridos, fosfolípidos, colesterol y ácidos grasos de cadena larga no esterificados, son transportados en el plasma unidos a proteínas anfipáticas (apolipoproteínas) formando lipoproteínas (quilomicrones, VLDL, LDL, HDL), mientras que los ácidos grasos libres pueden moverse también por el torrente sanguíneo unidos a albúmina (Dallinga-Thie, 2019).

Todo el movimiento de lípidos en circulación es posible gracias al sistema vascular, el cual está constituido desde un plexo primario a una organizada red de vasos sanguíneos caracterizados por un revestimiento formado por una monocapa de células endoteliales estrechamente conectadas, con disposición luminal en contacto directo con la sangre. Estas células endoteliales suponen una barrera física para los nutrientes, fluidos o moléculas que han de atravesarla mediante sistemas de transporte específicos para llegar a los tejidos diana adyacentes y viceversa (Adair, 2011; Mallick, 2022). Además, presenta heterogeneidad basada en diferencias existentes entre los tejidos adyacentes, siendo esto clave para un funcionamiento especializado, para la permeabilidad vascular o su capacidad homeostática. El endotelio vascular, por tanto, presenta un importante papel sobre el control del transporte de nutrientes y el aporte de energía de acuerdo con las necesidades de cada órgano, permitiendo además al organismo adaptarse a las fluctuaciones derivadas de cambios metabólicos (Mehrotra, 2014; Zafar, 2017), de modo que alteraciones en la homeostasis endotelial pueden resultar en condiciones fisiopatológicas (Mallick, 2022).



Figura 20. Endotelio vascular (corte histológico).

9.2. Transporte de ácidos grasos a través del endotelio vascular

Históricamente se pensaba que el transporte de ácidos grasos a través del endotelio ocurría por difusión pasiva, pero hoy sabemos que es necesario un transporte activo y regulado por múltiples y complejas rutas de señalización para que esto ocurra y, así, poder responder a las necesidades del organismo de manera específica. Existe una orquestación del transporte de ácidos grasos endotelial mediado por moléculas especializadas que determinan la capacidad de este órgano para mantener el balance energético (Mehrotra, 2014). Fue en 2010, cuando Hagberg y sus colaboradores describieron un mecanismo de regulación de la captación de ácidos grasos a través del endotelio de miocitos de ratón, donde la proteína VEGFb, secretada desde células tisulares, ejercía una señal paracrina sobre el endotelio adyacente a esos tejidos, para así inducir la expresión de determinadas proteínas transportadoras de ácidos grasos de cadena larga (Hagberg, 2010; 2012).

9.3. Familia de proteínas VEGF

En mamíferos esta familia de proteínas incluye a las glicoproteínas, VEGFa, VEGFb, VEGFc, VEGFd, y PlGF (Tammela, 2004), las cuales, junto con sus receptores (VEGFRs), se han asociado tradicionalmente al control del crecimiento y la remodelación vascular debido a su implicación en los procesos de vasculogénesis (formación de vasos sanguíneos durante el desarrollo embrionario), angiogénesis (formación de nuevos vasos en el adulto) y linfangiogénesis (formación de vasos linfáticos) (Lohela, 2009; Olsson, 2006). No obstante, evidencias posteriores han destacado el papel de estas en diferentes procesos metabólicos asociados al desarrollo de obesidad e insulinoresistencia (Mazidi, 2017; Hagberg, 2010; Hagberg, 2012; Gómez-Ambrosi, 2010).

Para poder llevar a cabo sus funciones, estas proteínas, secretadas por diversos tejidos y de un modo paracrino, se unen con diferente especificidad a tres receptores endoteliales de tipo tirosina quinasa presentes en células diana; VEGFR1 o Flt1, VEGFR2 o Flk1 y VEGFR3 o Flt4 (Koch, 2011) así como a sus

correceptores NRP-1 y NRP-2, siendo la vía de señalización VEGFa/VEGFR2 la implicada en la mayoría de los eventos angiogénicos en estados fisiológicos y patológicos (Chung y Ferrara, 2011).

VEGFa se une tanto a VEGFR1 como VEGFR2, pero con mucha más afinidad por VEGFR1 (Koch, 2011), mientras que VEGFb y PlGF sólo se unen al VEGFR1, pero a diferencia de PlGF, VEGFb no desencadena la cascada de señalización angiogénica asociada a dicho receptor (Anisimov, 2013). Se considera que VEGFb actúa desplazando a VEGFa de VEGFR1 hacia VEGFR2 (Bry, 2014; Shibuya y Claesson-Welsh, 2006). VEGFc y VEGFd se unen al receptor VEGFR3 promoviendo la formación de nuevos vasos linfáticos.

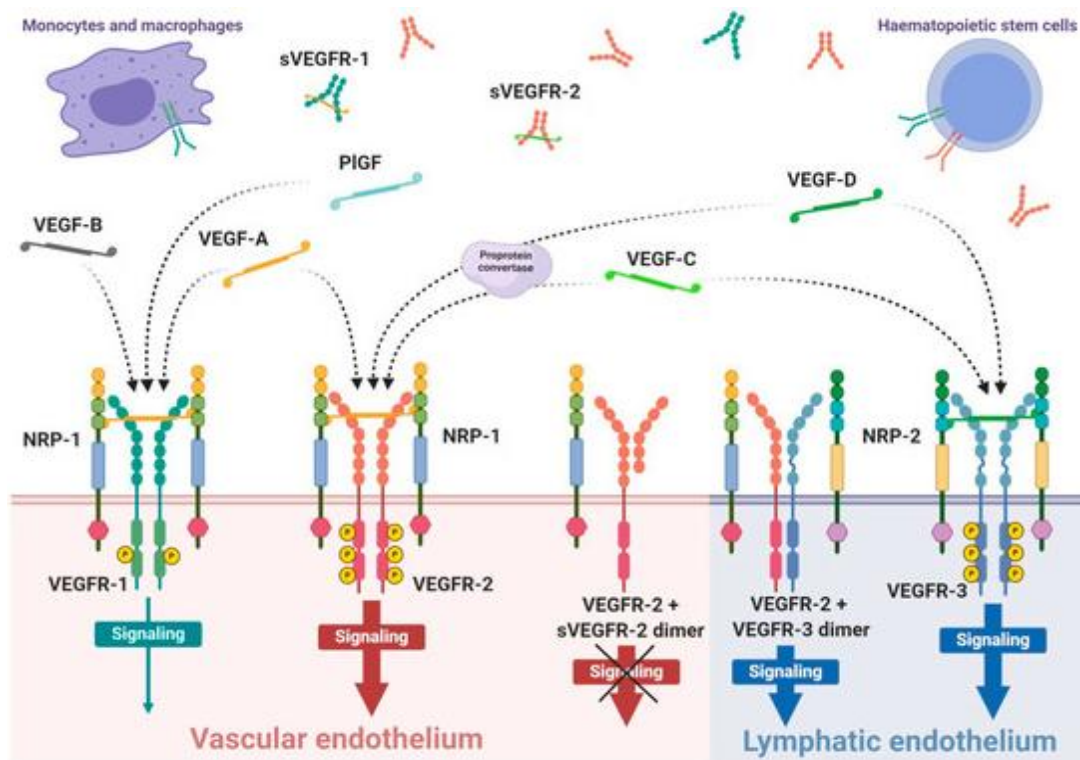


Figura 21. Receptores del VEGF y especificidad de los ligandos del VEGF, adaptado de Mastowska, 2021.

Dentro de esta familia de proteínas, VEGFa es la más estudiada y ha sido descrita como un potente inductor de vasculogénesis y angiogénesis (Carmeliet, 1996; Ferrara, 2000; Takahashi, 2005). Modelos in vitro de célula β han presentado un descenso en la síntesis de esta proteína bajo condiciones de hipoglucemia inducida por insulina (Xiao X, 2013); mientras que sus niveles están elevados en

suero de sujetos obesos comparados con individuos sanos, en muestras de líquido vítreo de sujetos con diabetes y distinto espectro de severidad de retinopatía, en estados de hipertrigliceridemia y en hipertensión arterial (Mazidi, 2017). Se ha correlacionado positivamente también con síndrome metabólico, hiperglucemia, hipertrigliceridemia, hipertensión arterial y enfermedades cardiovasculares (Lieb, 2009). Además, su expresión está inducida por hipoxia, frío y privación de nutrientes a través de HIF-1 (Arany, 2008), estimulando la producción de NO en células endoteliales, incrementando la permeabilidad vascular, estimulando crecimiento de vasos para llevar a cabo remodelado vascular y previniendo la apoptosis, por lo cual se ha estudiado ampliamente en procesos como el cáncer. VEGFc and VEGFd están principalmente asociados a los procesos de linfangiogénesis (Haiko, 2008) y se ha visto que ejercen un efecto beneficioso en los estados de hipertensión dependientes de sal (Machnik, 2009; López Gelston, 2018). PIGF está estructuralmente ligada a VEGFa, pero une exclusivamente a VEGFR1. PIGF presenta propiedades angiogénicas estando particularmente involucrada en procesos angiogénicos y de remodelación vascular durante el embarazo y el desarrollo placentario (Dewerchin, 2014). A diferencia de las otras proteínas de la familia, VEGFb presenta pobre poder angiogénico, aunque un importante papel como facilitador de la vascularización tisular (Bry, 2014; Robciuc, 2016). Los estudios de Hagberg y colaboradores (Hagberg, 2010; 2012) en modelos animales han llevado a proponer que VEGFb actúa como factor de transcripción para transportadores de ácidos grasos a través del endotelio de tejidos como el corazón, músculo esquelético y tejido adiposo marrón principalmente. Además, sugieren que la inhibición de VEGFb podría ser una aproximación terapéutica para el tratamiento de la diabetes tipo 2, de modo que el bloqueo de VEGFb prevendría la acumulación ectópica de lípidos, incrementaría la captación periférica de glucosa y mejoraría la tolerancia a la glucosa y la sensibilidad a la insulina (Zhu, 2018; Zafar, 2017; Zafar, 2018; Lal, 2018). Aunque la mayoría de los trabajos han demostrado una asociación directa de sus niveles en suero o plasma con algunos de los componentes del síndrome metabólico (Ye, 2020; Cheng, 2016; Wu J, 2017; Gómez-Ambrosi, 2010), estos resultados no han sido completamente replicados en otros

estudios (Sun CY, 2014; Tinahones, 2012). Sus niveles séricos se han asociado con la acumulación patológica de lípidos tanto en estudios preclínicos como en estudios clínicos (Zafar 2017; 2018), habiéndose sugerido un papel dual para VEGFb en la patogénesis de las alteraciones metabólicas. Desde el punto de vista de esta tesis, profundizaremos en este miembro de la familia de VEGF.

9.4. Características de la proteína VEGFb

El gen que codifica a la proteína VEGFb tiene una longitud de 1197 pb, constituida por 7 exones y da lugar a dos isoformas de la proteína; VEGFb¹⁶⁷ y VEGFb¹⁸⁶ (LaI, 2018), aunque presentan efectos similares. Las diferencias entre ambas isoformas se encuentran en el dominio C-terminal, confiriéndole propiedades que afectan a la distribución de la proteína en el organismo. La isoforma VEGFb¹⁶⁷ presenta dominio de unión a heparina, así permanece anclada a proteoglicanos heparin-sulfato de NRP-1 en superficie extracelular de los tejidos que la expresan. Sin embargo, la isoforma VEGFb¹⁸⁶ que no presenta dominio de unión a heparina no se ancla en la superficie extracelular siendo más difusible. En humanos, la isoforma VEGFb¹⁸⁶ es la más prevalente (Chen Y, 2023).

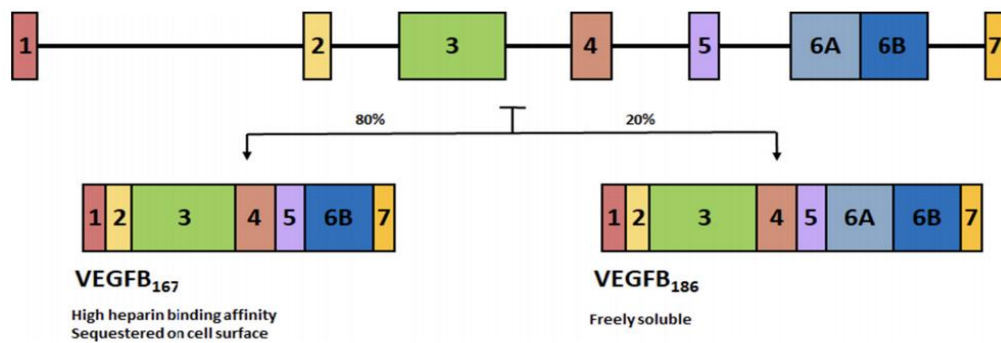


Figura 22. Splicing alternativo de VEGFb, adaptado de LaI, 2018: da lugar a dos isoformas de la proteína. VEGFb¹⁶⁷ supone aproximadamente el 80% de los transcritos y contiene un dominio C-terminal de unión a heparina que le permite estar secuestrada por la superficie celular. La otra isoforma, VEGFb¹⁸⁶ tiene un dominio C-terminal hidrofóbico que la hace soluble.

VEGFb se expresa en la mayoría de los tejidos en adultos, pero lo hace en mayor medida en aquellos metabólicamente más activos como corazón, músculo esquelético o tejido adiposo marrón (Olofsson, 1996; Li X, 2001; Hagberg, 2010); son tejidos ricos en mitocondrias que emplean principalmente ácidos grasos como

fuentes de energía. Aunque en menor medida, también se expresan en otros tejidos como hígado, tejido adiposo blanco, macrófagos (Li YQ, 2023) o páncreas (Ning FC, 2020), entre otros. Pudiendo presentar diversidad funcional dependiente de tejido para mantener la homeostasis lipídica (Li YQ, 2023).

Por tanto, VEGFb es una glicoproteína que forma un homodímero a través de unión covalente de puentes disulfuro y necesita combinarse con su receptor tirosin-quinasa con alta afinidad; VEGFR-1 y NRP1, para desencadenar las rutas de señalización específicas, llevar a cabo sus funciones y ejercer sus efectos biológicos, de un modo probablemente tejido-dependiente (Li YQ, 2023).

9.5. Funciones de VEGFb

9.5.1. Regulador del transporte de ácidos grasos:

La unión de VEGFb a VEGFR-1 y NRP1 desencadena la ruta de señalización que induce la expresión de RNA mensajero de proteínas transportadoras de ácidos grasos de cadena larga; FATP3 y FATP4 (Hagberg, 2010; 2012), característica única que le confiere a VEGFb, dentro de la familia de VEGF, un papel en la regulación de la captación de ácidos grasos a través de endotelio, facilitando el transporte de ácidos grasos libres, principalmente hacia tejidos metabólicamente activos. Estudios en modelos animales con delección sistémica del gen *vegfb* o la utilización de anticuerpos anti-VEGFb mostraron una disminución de las proteínas FATP3 y FATP4 en endotelio adyacente a; corazón, músculo esquelético y tejido adiposo marrón, con captación disminuida de ácidos grasos en estos tejidos. Al igual que ocurrió tras la delección del receptor VEGFR-1 y co-receptor NRP1, indicando que la función transportadora de ácidos grasos por VEGFb depende de su unión a estos receptores (Hagberg, 2010). En ese estudio, la inhibición de esta ruta de señalización mejoró la dislipemia en animales diabéticos alimentados con dieta alta en grasa, mejorando la insulinoresistencia en músculo y corazón, y disminuyendo la lipotoxicidad renal, con una menor acumulación lipídica en estos órganos (Hagberg, 2012; Falkevall, 2017; Ning FC; 2020; Moessinger, 2020; Hu L, 2021). Sin embargo, aumentaron su peso corporal, hecho que indicaron que podía

ser debido a una redirección de los ácidos grasos hacia el tejido adiposo blanco (Hagberg, 2010; Hosooka, Nomura y Ogawa, 2013) mediado por otros transportadores de ácidos grasos. Por su parte, la sobreexpresión cardíaca de VEGFb en modelos animales indujo hipertrofia, lisis mitocondrial y acumulación de ceramidas implicadas en lipotoxicidad e insulinoresistencia en corazón (Karpanen, 2008). Aunque, en otros estudios preclínicos con dieta alta en grasa, la delección del gen VEGFb no reprodujo los datos publicados por Hagberg y colaboradores en relación con el estado metabólico (Dijkstra, 2014) y la sobreexpresión de VEGFb revirtió la intolerancia a la glucosa, estimulando la quema de grasa en animales sanos (Robciuc, 2016). Por otra parte, estudios bioinformáticos permitieron observar una co-expresión del gen *vegfb* con diversos genes nucleares que codifican para proteínas mitocondriales (Hagberg, 2010; Melhem, 2016; Zafar, 2017). De este modo, la captación de ácidos grasos a través del endotelio hacia tejidos metabólicamente activos y su oxidación en las mitocondrias estarían estrechamente coordinados, asegurando la biodisponibilidad de ácidos grasos en combinación con la capacidad oxidativa del tejido (Muoio y Koves, 2007). Existen estudios que afirman que VEGFb induce la expresión de genes diana responsables de la oxidación lipídica (PPAR α , PGC1 α , HSL, ACO y CPT1) mientras reduce la síntesis de ácidos grasos *in vivo* e *in vitro*, especialmente en músculo e hígado en condiciones fisiológicas normales (Hu L, 2021). El mecanismo propuesto para este fenómeno sería mediado a través de la quinasa CaMkk β ; la unión de VEGFb al VEGFR-1 actuaría activando esta CaMkk β dependiente de Ca²⁺, molécula implicada en la activación mediante fosforilación de AMPK (sensor del estado energético celular), aumentando la expresión de los genes implicados en la β oxidación y disminuyendo la expresión de los implicados en síntesis lipídica (Hu L, 2021; Li M, 2022), indicando un papel regulador para VEGFb sobre el metabolismo lipídico (Li YQ, 2023). Por tanto, VEGFb presentaría un papel crítico en la coordinación de la captación de ácidos grasos de cadena larga a través del endotelio con la demanda energética del tejido circundante o para acumulación en tejido adiposo, evitando efectos deletéreos de la lipotoxicidad y mantener la homeostasis lipídica.

En resumen, en condiciones fisiológicas, VEGFb estaría favoreciendo la captación de lípidos por tejidos metabólicamente activos que emplean ácidos grasos como principal fuente de energía, impulsando a su vez la función mitocondrial oxidativa. Pero en condiciones fisiopatológicas, un aumento de captación de ácidos grasos hacia tejidos no adiposos favorecido por VEGFb y una desregulación de la β oxidación, podrían conducir a la alteración de la señalización de la insulina y sus consecuencias. Este hecho le confiere a VEGFb un potencial papel en la patogénesis de enfermedades metabólicamente prevalentes asociadas a lipotoxicidad (Zafar, 2017; Zhu, 2018; Zafar, 2018; Lal, 2018; Li YQ, 2023) y lo convierte en una posible diana terapéutica.

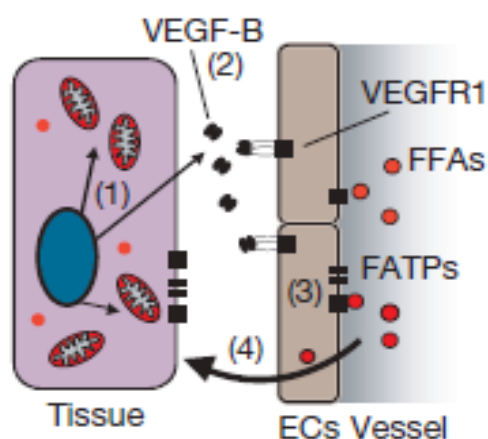


Figura 23. Ilustración esquemática del papel de VEGFb en el transporte de ácidos grasos, adaptado de Hagberg et al, 2010:

1. VEGFB está co-expresado con proteínas mitocondriales que coordinan la captación y la beta oxidación.
2. Señalización de VEGFB de un modo paracrino sobre receptores VEGFR-1 y NRP1 presentes en endotelio adyacente al tejido que libera VEGFB.
3. Estimulación de células endoteliales con VEGFB para inducir la expresión de FATPs.
4. Subsecuente transporte de ácidos grasos a través de la monocapa celular endotelial (ECs) y captación por tejidos adyacentes.

9.5.2. Facilitador de la angiogénesis:

Por homología con los otros miembros de la familia VEGF, se pensaba que VEGFb presentaría una importante actividad angiogénica, pero posteriormente se vió que no era así (Li X, 2008). Aunque, VEGFb puede influir indirectamente sobre el crecimiento endotelial a través de VEGFa (Lal, 2018). Por un lado, se había descrito la capacidad de inducir crecimiento de células endoteliales mediante la formación de heterodímeros VEGFa/VEGFb (Bry, 2014), posteriormente se describió un mecanismo por el cual VEGFb actuaría desplazando a VEGFa de VEGFR-1, ya que la unión de VEGFa a este receptor actúa de señuelo para regular negativamente la angiogénesis (Bry, 2014; Kivelä, 2014). De este modo, VEGFa se une al VEGFR-2, especialmente en tejido adiposo (Robciuc, 2016), receptor por el cual VEGFa tenía

una afinidad 10 veces menor que por VEGFR-1 (Koch, 2011), activando así la auténtica cascada de señalización angiogénica VEGFa/VEGFR-2 (Chung y Ferrara, 2011) (figura 24). El tejido adiposo tiene la capacidad de remodelarse para adaptarse a las demandas metabólicas, pero ante un aporte de ácidos grasos excesivo, los adipocitos aumentan tanto su tamaño que se genera hipoxia debida a una vascularización insuficiente y una perfusión subóptima, esto contribuye a una limitada capacidad de expansión del tejido adiposo que provoca inflamación y la disfunción de este tejido, promoviendo así desarrollo de insulinoresistencia y complicaciones metabólicas asociadas (Virtue y Vidal-Puig, 2010). La inducción indirecta de la angiogénesis tras la unión de VEGFa al VEGFR-2, mediado por VEGFb, contribuiría a regular este fenómeno mediante impulso de la vascularización del tejido adiposo, ante un aumento de VEGFa, que también ocurre en musculo e hígado, y activación de la termogénesis en tejido adiposo marrón y blanco, así como disminución de la inflamación, de la obesidad y de la insulinoresistencia (Cao, 2013; Sung, 2013; Sun CY, 2014). Aunque los efectos de VEGFb sobre la vasculatura del tejido adiposo no se habían investigado previamente, a pesar de que el tejido adiposo expresa el nivel más alto de ARNm de VEGFb tras los tejidos metabólicamente activos (corazón y músculo esquelético) (Bry, 2014). Por ello, estudios de Robciuc y colaboradores, mediante la administración sistémica de vectores adenovirales para expresar VEGFb en modelos animales sanos, mostraron cómo, tras esto, incrementó la expresión de VEGFb con un efecto vascular en el tejido adiposo con aumento de la densidad capilar, mediante efecto indirecto de VEGFb sobre VEGFa, desplazando esta última de su unión a VEGFR-1 para unirse al VEGFR-2, debido a la menor disponibilidad de VEGFR-1 ya unido al VEGFb (Robciuc, 2016). Esto, finalmente, implicó incremento de la vascularización en el tejido adiposo, aumento de la perfusión sanguínea, oxigenación tisular y disminución de la hipoxia, así como de sus efectos negativos también en otros tejidos, con un mayor aporte de insulina y mejora en su suministro, señalización y función (Raffi, 2016). La participación de VEGFb para mejorar la perfusión en músculo esquelético e hígado, además del tejido adiposo, podría ser de mayor beneficio para los pacientes con diabetes tipo 2 (Zheng y Liu, 2015).

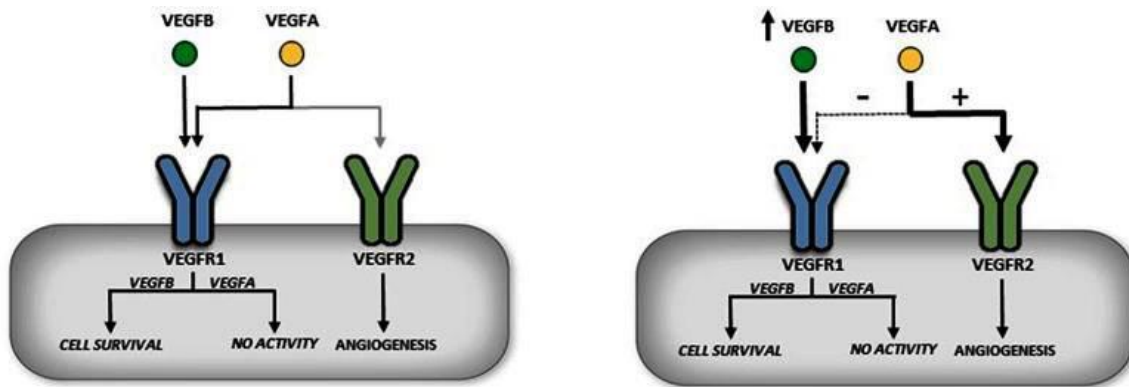


Figura 24. Papel indirecto de VEGFb en angiogénesis, adaptado de Lal N et al. 2018. VEGFa presenta una afinidad 10 veces mayor por VEGFR-1 que por VEGFR-2 (imagen izquierda). La sobreexpresión de VEGFb se sugiere que ocupa y desplaza a VEGFa del receptor VEGFR-1. Esto permite que más VEGFa se una a VEGFR-2 y pueda iniciar la angiogénesis (imagen derecha).

9.5.3. VEGFb como activador de la termogénesis:

La unión de VEGFb al VEGFR-1 favorece la expresión del gen que codifica para la proteína desacoplante mitocondrial UCP1, encargada de activar la termogénesis (Chen Y, 2023). Pues se había observado que el aumento inducido de la expresión de VEGFb (Robciuc, 2016) también aumentó el programa termogénico en tejido adiposo, evitando obesidad y complicaciones metabólicas, disminuyó la inflamación asociada a obesidad y protegió ante un incremento de la ingesta calórica (Robciuc, 2016). Esto proporciona una opción terapéutica para el tratamiento de la insulinoresistencia en tejido adiposo y diabetes tipo 2, ya que alteraciones en la comunicación entre adipocitos y células endoteliales juegan un papel importante en la patogénesis de la obesidad y otras enfermedades metabólicas (Raffi, 2016).

9.5.4. Molécula implicada en supervivencia celular:

Estudios más recientes han descrito un posible papel para VEGFb en la supervivencia celular, presentando función antioxidante, antiinflamatoria y antiapoptótica.

1. Como antioxidante se ha descrito que activa la expresión de genes que codifican para proteínas antioxidantes como; la enzima glutatión peroxidasa, la superóxido dismutasa o las tiorredoxín reductasas (Arjunan, 2018) y reprimiendo genes responsables del estrés oxidativo, a través de la activación de la vía AMPK-eNOS-NO (Mallick, 2022). El estrés oxidativo está presente en un alto porcentaje de enfermedades metabólicas prevalentes, principalmente a consecuencia de la sobrecarga de ácidos grasos libres y ocurre cuando el balance entre antioxidantes y prooxidantes se rompe, dando lugar a una sobreproducción de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, cuyos radicales libres dañan las células (Allen, 2000) conduciendo a la patogénesis de, entre otras, enfermedades cardiovasculares y metabólicas (Dhalla, 2000; Cai, 2000). Diversos estudios demostraron que el aumento de VEGFb impedía la generación de especies reactivas de oxígeno y su inhibición eliminaba ese efecto protector en modelos animales y celulares de corazón isquémico (Yang L, 2016). De este modo, VEGFb presentaría un prometedor potencial terapéutico en el tratamiento de enfermedades relacionadas con estados de estrés oxidativo (Chen R, 2019).
2. Como molécula antiinflamatoria ha sido descrito que, bajo condiciones inflamatorias se favorecía el aumento de VEGFb (Kusuhara, 2018) y su unión a VEGFR-1 en monocitos y macrófagos. También se describió que el posible mecanismo de acción estaría mediado por la activación de AMPK tras la unión de VEGFb/VEGFR-1, que a su vez inhibe la ruta NF-kB (Li YQ, 2023) disminuyendo la migración de macrófagos y su polarización a M1, así como las citoquinas proinflamatorias en modelos animales tras lesión de miocardio (Li Y, 2020) y en células cardiacas donde la ruta AMPK/eNOs/NO activada por VEGFb es cardioprotectora (Feng, 2019), pero todavía no está del todo claro.
3. Finalmente, como molécula antiapoptótica, en condiciones patológicas, VEGFb actuaría previniendo la apoptosis y muerte celular, pues se ha descrito un posible papel reprimiendo la expresión de genes pro-

apoptóticos (Zhu, 2018). Durante insulinorresistencia se activa la apoptosis celular (Yang N, 2020). Se observó que la disminución de VEGFb aumentaba la apoptosis, describiendo que la vía VEGFb/VEGFR-1 aumenta la expresión de genes antiapoptóticos en células cardíacas y endoteliales en modelos de ratón diabéticos (Lal, 2017), aunque ya se había descrito previamente un papel en la supervivencia celular inducida por VEGFb en corazón en modelo animal (Kivela, 2014; Karpanen, 2008). Se ha descrito que VEGFb unido a VEGFR-1 podría inducir proliferación y diferenciación celular, inmunidad tumoral y otros beneficios en distintos tejidos, posiblemente a través de la activación de la vía PI3K/AKT. Además, VEGFb también activó la vía de señalización PI3K/AKT/mTOR independientemente de VEGFR-1 (Ling, 2021). Pero debemos tomar estos datos con precaución, pues se ha descrito también un papel antiapoptótico de VEGFb en un contexto tumoral (Janes, 2024).

En definitiva, evaluando todas sus funciones en conjunto, se cree que VEGFb es más posiblemente un factor de transcripción para proteínas transportadoras endoteliales, proteínas implicadas en termogénesis e implicadas en la supervivencia celular, que un factor de crecimiento vascular, ya que por sí sola presenta escaso poder angiogénico (Zhu, 2018).

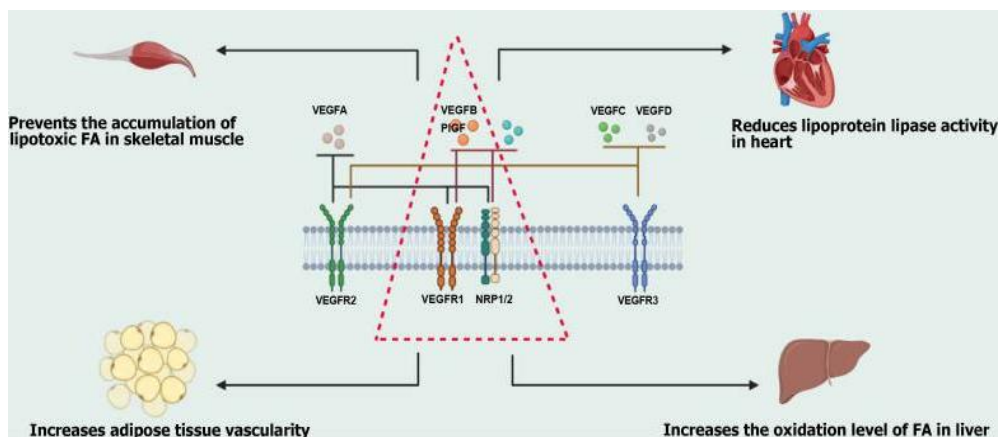


Figura 25. La familia del factor de crecimiento del endotelio vascular y sus receptores y la función biológica del factor de crecimiento endotelial vascular B, adaptada de Li YQ et al, 2023. VEGFa se combina con VEGFR-1, VEGFR-2 o NRP1/2. VEGFb y el factor de crecimiento placentario se combinan con VEGFR-1 o NRP1/2. VEGFc y VEGFd se combinan con VEGFR-2 o VEGFR-3 para ejercer sus funciones biológicas. VEGFb puede prevenir la acumulación de ácidos grasos libres lipotóxicos en el músculo esquelético al aumentar la β oxidación, reducir la actividad de las lipoproteínas en el corazón e hígado, aumentar la vascularización del tejido adiposo disminuyendo la hipoxia e incrementar el nivel de oxidación de los ácidos grasos libres en el hígado, con disminución de la inflamación. PIGF: Factor de crecimiento placentario; FA: Ácido graso; NRP1/2: Neuropilina 1/2; VEGF: Factor de crecimiento endotelial vascular.

9.6. Regulación de los niveles de VEGFb

Los mecanismos moleculares asociados a la regulación de los niveles de expresión o circulantes de VEGFb son poco conocidos. A diferencia de lo que ocurre con VEGFa, el promotor de VEGFb no presenta en su estructura el elemento de respuesta a estados de frío o hipoxia, por lo que estos estímulos no modificarían los niveles de VEGFb (Enholm, 1997; Asano, 1999). Del mismo modo, otros factores que se han visto que modularían VEGFa como factores de crecimiento, prostaglandinas u hormonas esteroideas, no se ha visto que presenten ningún efecto regulador sobre los niveles de VEGFb (Zafar, 2017). La regulación de VEGFb en músculo esquelético y cardíaco de ratones se ha analizado en profundidad in vivo e in vitro (Hagberg, 2010; Bry, 2014; Karpanen, 2008) encontrándose que la expresión de VEGFb estaba estrechamente co-regulada con un conjunto de genes nucleares mitocondriales (Hagberg, 2010), postulándose que los factores que regulan la expresión de este clúster de genes mitocondriales también regulen la expresión de VEGFb en estos tejidos. Concretamente observaron que VEGFb presentaba un patrón de expresión similar a los marcadores mitocondriales del subcomplejo 5 de la NADH deshidrogenasa 1a y el citocromo C ante diferentes estímulos nutricionales. En relación a la regulación de VEGFb por elementos nutricionales, nuestro grupo ha publicado un estudio que demuestra una regulación por ácidos grasos de la dieta sobre los niveles de expresión y proteína VEGFb in vivo en tejido adiposo de rata, e in vitro en células adipocitarias 3T3-L1 de ratón (Monastero, 2017), donde además se aportan evidencias de que los cambios en el porcentaje de metilación del promotor de VEGFb, asociados a los tratamientos con los diferentes ácidos grasos, podrían ser los responsables de las variaciones observadas en VEGFb. Por otro lado, Mehlem y colaboradores demostraron la hipótesis de Hagberg (Hagberg, 2010) a cerca de la regulación de VEGFb durante la cascada de señalización de la vía de PGC-1 α /ERR- α (Mehlem, 2016). De este modo, factores reguladores de PGC-1 α como el ejercicio o el ayuno, aumentan los niveles de esta proteína, al desencadenar la cascada de señalización de la vía PGC-1 α /ERR- α , que conduce al aumento en la captación de ácidos grasos por las células y los tejidos mediada por el incremento en los niveles de VEGFb.

10. El Estudio Di@bet.es

El estudio Di@bet.es fue diseñado inicialmente como un estudio epidemiológico cuyo objetivo principal era conocer la prevalencia e incidencia de diabetes y enfermedades metabólicas relacionadas en España. Además, sirvió para estudiar factores de riesgo relacionados con estas enfermedades, con especial atención a la alimentación y el ejercicio, estudiar la mortalidad en nuestro país y disponer de una colección de muestras y datos para otros estudios bioquímicos, genéticos, etc. Como es la población de estudio empleada y analizada en este trabajo de tesis doctoral, en las líneas siguientes haremos una presentación de antecedentes y principales resultados obtenidos hasta el inicio del estudio específico de esta tesis.



Figura 26. Logo del estudio Di@bet.es

10.1. Historia

En el año 2006, la Estrategia Nacional de Diabetes observó la necesidad de realizar algún estudio acerca de la epidemiología de la diabetes tipo 2 en nuestro país, pues no existían datos globales a nivel nacional de la prevalencia de esta enfermedad. La Sociedad Española de Diabetes (SED) fue la encargada de diseñarlo y ejecutarlo. Así, el grupo de trabajo de Epidemiología de esta sociedad proyectó e inició el trabajo de campo en 2007 mediante un estudio piloto, dando a conocer la complejidad y coste del proyecto. Fue entonces cuando el CIBER de Diabetes y Enfermedades Metabólicas (CIBERDEM), en 2008, se hizo cargo de la financiación de la fase transversal, convirtiéndolo en un proyecto estratégico de la entidad, siendo coordinado desde el nodo andaluz, dirigido por el Dr. Federico Soriguer, del Hospital Regional Universitario de Málaga. Las interrelaciones entre la SED y CIBERDEM han hecho posible que el proyecto continuase en el tiempo con la cohorte prospectiva y esto ha sido gracias a que numerosos investigadores han

conseguido financiación de diversas agencias, especialmente de la Acción Estratégica en Salud (FIS), para, aparte de la realización del estudio de seguimiento, desarrollar numerosos proyectos empleando las muestras y datos obtenidos de esta cohorte. Por tanto, el estudio Di@bet.es es un conjunto de trabajos colaborativos de muchos investigadores de diversos puntos de nuestra geografía.

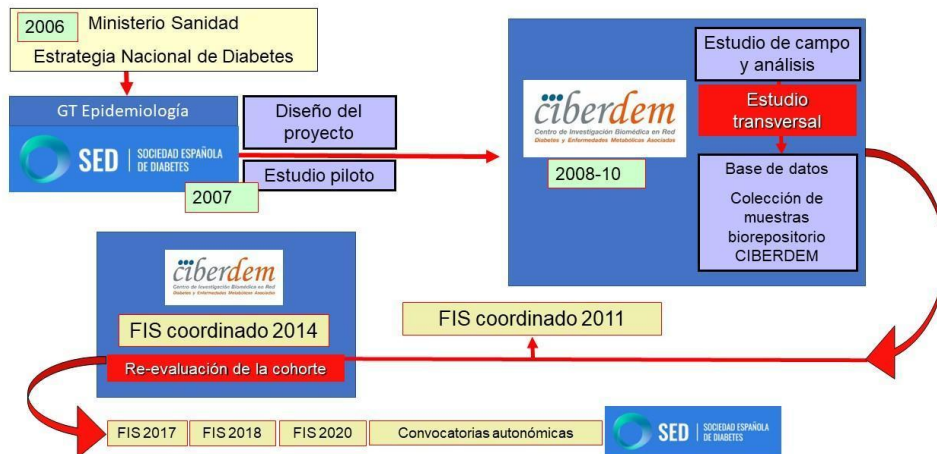


Figura 27. Esquema del estudio Di@bet.es

(<https://www.sediabetes.org/cientifico-y-asistencial/investigacion/proyectos-de-investigacion/estudio-dibet-es/>)

10.2. Diseño

Para obtener una muestra representativa de toda la población española, se dividió el país en 5 áreas (zona norte, zona noroeste, zona centro, zona este y zona sur) y se realizó un muestreo poblacional aleatorio por conglomerados (Soriguer, 2012 A) (figura 28).



Figura 28. Distribución territorial (o geográfica) de las áreas de estudio que se integran en el estudio Di@bet.es.

El reclutamiento fue llevado a cabo por 7 equipos, cada uno compuesto por enfermera y dietista entrenados previamente para este cometido y tuvo lugar en centros de Atención Primaria, asignándose a cada una de las 5 zonas un número de centros proporcional a su población de referencia (110 centros en toda España) (figura 29). Los sujetos susceptibles de elección fueron toda la población española mayor de 18 años, salvo que fuesen excluidos por presentar enfermedad grave o cirugía que impidiese la realización del estudio, embarazo, lactancia o falta del consentimiento informado. La selección fue aleatoria y los participantes fueron contactados por vía telefónica e invitados a participar. La participación consistió en una visita a su centro de salud para realizar la extracción de muestras (sangre capilar y venosa en ayunas y tras SOG y orina), una exploración física, la realización de una encuesta estructurada para recoger aspectos sociodemográficos y clínicos y una encuesta sobre hábitos, calidad de vida y nutricional.

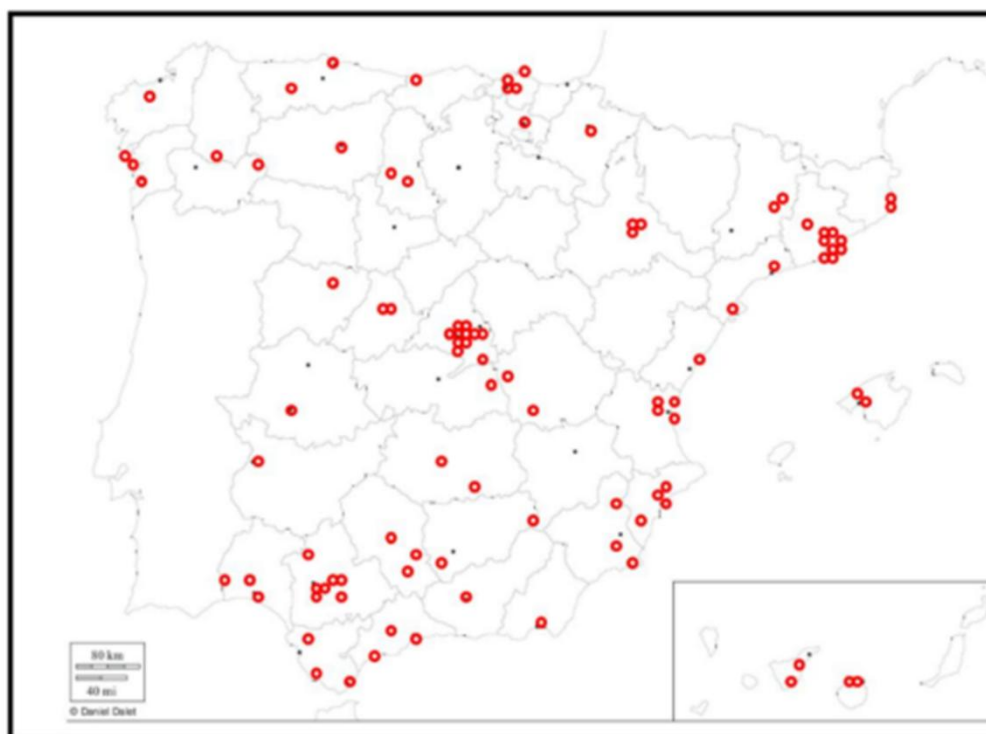


Figura 29. Reparto de centros de muestreo proporcional a la población en el estudio Di@bet.es.

10.3. Fases del estudio

Hasta el momento, el estudio Di@bet.es lo constituyen dos fases; una transversal y una reevaluación (con una mediana de seguimiento de aproximadamente 7'5 años). En ambas fases, el procedimiento de recogida de datos y muestras fue similar, obteniéndose diversas variables antropométricas, bioquímicas y de hábitos de vida. Esto ha posibilitado, aparte de la determinación de prevalencias e incidencias de las enfermedades de interés, el análisis de numerosos factores de riesgo asociados a diabetes y enfermedades metabólicas relacionadas.

La fase transversal la componen más de 5000 sujetos. La recolección de datos de esta fase se realizó entre 2008 y 2010 y los primeros resultados se publicaron en 2012 (Soriguer, 2012 A). Actualmente hay más de 30 artículos publicados en revistas indexadas. La fase longitudinal o estudio de cohortes prospectivo se realizó entre 2015 y 2017 y la componen los 2700 sujetos procedentes de la fase transversal que aceptaron participar en el seguimiento. Para el estudio de la mortalidad, se incluyeron todos los participantes del estudio inicial.

10.4. Datos publicados previamente del estudio Di@bet.es

Algunos de los datos más destacados obtenidos de la fase transversal del estudio han sido la descripción de prevalencias de enfermedades cardiometabólicas, como la presencia de diabetes y alteraciones del metabolismo hidrocarbonado, la prevalencia de obesidad, síndrome metabólico y otros factores de riesgo cardiovascular como hipertensión arterial, dislipidemia, estado de inflamación medido mediante la proteína C reactiva ultrasensible (PCRus), el estado tiroideo en la población, la estimación del riesgo cardiovascular en nuestro país, así como los factores de riesgo asociados a estas enfermedades.

Casi el 30% de la población española presenta alguna alteración del metabolismo de los carbohidratos y la prevalencia de diabetes ajustada por edad y sexo en nuestro país se sitúa en el 13'8%, de los cuales un 6% presentan diabetes

desconocida (figura 30), incrementándose significativamente con la edad y siendo más elevada en hombres que en mujeres (figura 31) (Soriguier, 2012 A).

	Prevalence	IC 95%
Total Diabetes Mellitus (DM)	13,8%	12,8-14,7%
DM conocida	7,8%	6,97- 8,59%
DM unkno conocida	6%	5,4-6,7%
Glucemia basal Alterada aislada (GBA)	3,4%	2,9-4%
Tolerancia alterada a la glucosa aislada (TAG)	9,2%	8,2-10,2%
GBA + TAG	2,2%	1,7-2,7%

Figura 30. Prevalencia de diabetes ajustada en España.

En cuanto a factores de riesgo relacionados con estas alteraciones de la glucemia, se observó que una baja calidad de vida tanto física como mental, según las encuestas realizadas en el estudio, se asociaba con una mayor presencia de prediabetes y diabetes en mujeres y solo la baja calidad de vida física se asociaba con estas condiciones también en hombres (Marcuello, 2012). Además, una mayor media anual de la temperatura ambiental se asoció positivamente con los niveles de glucemia en ayunas, tras SOG y con el HOMA-IR mediante modelos ajustados, además de una mayor presencia de prediabetes, diabetes e insulinoresistencia según el percentil 75 del HOMA-IR, pudiendo estar relacionado con la actividad del tejido adiposo marrón en el riesgo de desarrollar diabetes (Valdés, 2019).

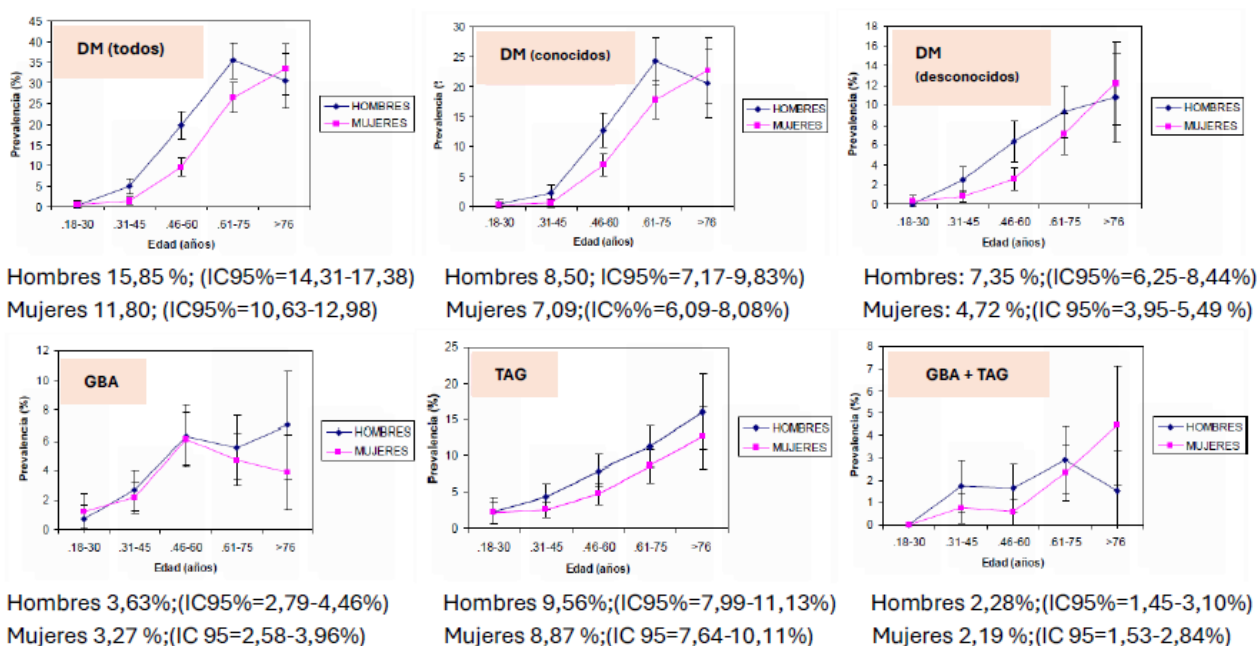
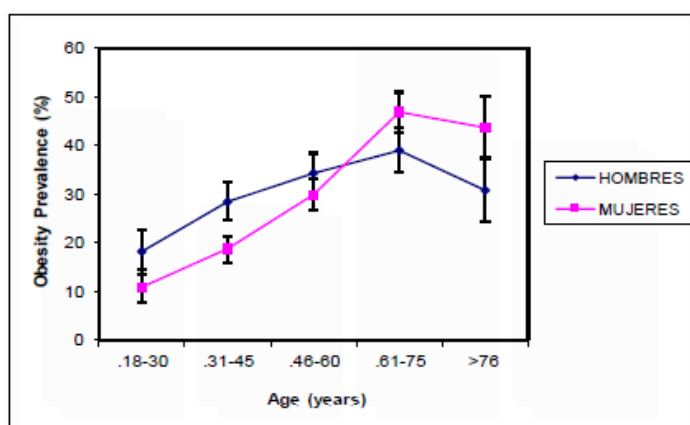


Figura 31. Prevalencia de disglucemia en función de la edad y el sexo. DM (Diabetes Mellitus); GBA (Glucemia basal alterada); TAG (Tolerancia alterada a la glucosa).

También se ha descrito que el 28'25% de la población presenta obesidad (IMC \geq 30) tras ajustar por edad y sexo, siendo la prevalencia más elevada en el grupo de hombres que en el de mujeres en población menor de 60 años, y al contrario a partir de esta edad (figura 32). Un factor de riesgo para la mayor prevalencia de obesidad fue la temperatura ambiental, gracias a este estudio se pudo comprobar como aquellas regiones con una media de temperatura anual más elevada presentaba mayor probabilidad de obesidad entre su población, incluso ajustado por variables confundentes conocidas (Valdés., 2014). También, una baja condición física, según las encuestas de calidad de vida, se asoció con mayor presencia de obesidad y mayor edad de la población (Marcuello, 2012).



Prevalencia global obesidad en hombres
28,97 % (27,01-30,93%)

Prevalencia global obesidad en mujeres
27,55 % (25,88-29,23%)

Figura 32. Prevalencia de obesidad en función del sexo y la edad.

El 38'37% de hombres en la población estudiada y el 29'62% de mujeres presentaban síndrome metabólico mediante la nueva definición armonizada cuando la obesidad abdominal era un requisito obligatorio para el diagnóstico y un 42'13% de hombres y un 32'31% de mujeres cuando no lo era (figura 33). La prevalencia de síndrome metabólico incrementa con la edad y en mujeres con nivel educacional más bajo. Los sujetos con síndrome metabólico, además, tenían peor estado físico que incrementa con la edad (figura 34) y la combinación de obesidad abdominal, hipertensión arterial y alteraciones del metabolismo hidrocarbonado fue el patrón más común en estos sujetos (Marcuello, 2013).

Age n (M/W)	Abdominal Obesity not obligatory		Abdominal Obesity obligatory	
	Men	Women	Men	Women
18-30 years	15.4	8.9	14.3	7.2
279/348	(11.4-20.2)	(6.13-12.4) ^a	(10.4-19)	(4.7-10.4) ^b
31-45 years	33.8	15.2	29.3	13.7
557/802	(29.8-37.8)	(12.8-17.9) ^c	(25.5-33.2)	(11.4-16.3) ^c
46-60 years	54.9	34.2	49.1	31.5
544/760	(50.6-59.2)	(30.8-37.7) ^c	(44.8-53.4)	(28.2-34.9) ^c
61-75 years	65.7	59.3	63.2	55.9
457/572	(61.1-69.9)	(55.1-63.3) ^a	(58.6-67.7)	(51.8-60.1) ^a
>76 years	65.8	72.8	61.4	66.5
184/224	(58.4-72.6)	(66.4-78.5)	(53.9-68.5)	(59.9-72.7)
All*	42.1	32.3	38.4	29.6
2,021/2,706	(39.4-44.9)**	(30.2-34.5)**	(35.7-40.9)**	(27.6-31.7)**

WC waist circumference

*Global prevalences of MetS were standardized by age using the direct standardization method. Data are % 95 CI

** $p < 0.001$ for increment of MetS with age (for trend)

^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$; ^c $p < 0.001$, for difference in prevalence in men versus women of the same age group

Figura 33. Prevalencia de síndrome metabólico estratificado por sexo y edad, de acuerdo con la definición harmonizada (puntos de corte de circunferencia de cintura para hombres > 94'5cm y para mujeres > 89'5cm).

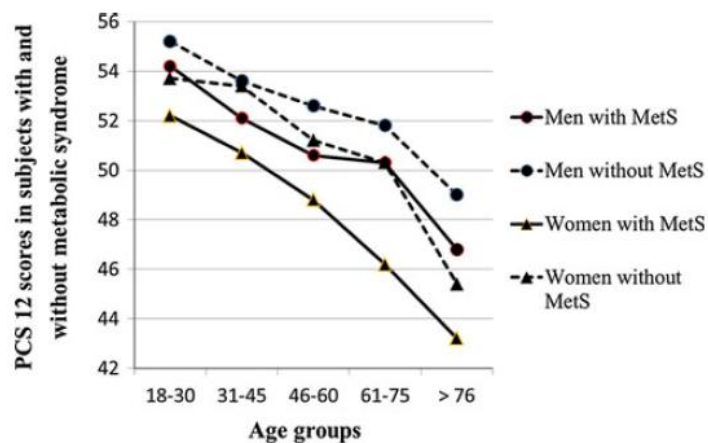


Figura 34. Puntaje del componente físico 12 (PCS 12) en sujetos con y sin síndrome metabólico según grupos de edad y sexo. $P < 0.05$ para todos los grupos de edad (según tendencia).

El 42'6% de la población presentaba hipertensión (tensión arterial sistólica ≥ 140 mmHg y/o diastólica ≥ 90 mmHg y/o prescripción de terapia antihipertensiva), siendo más común en hombres que en mujeres (figura 35). Además, la presencia de hipertensión era mayor en personas con prediabetes (67'9%) y con diabetes (79'4%). También se identificó un 37'4% de pacientes con hipertensión que no estaban diagnosticados. De los sí diagnosticados, el 88'3% de pacientes estaba recibiendo tratamiento y sólo el 30% tenían la hipertensión controlada. Esto indicó

una elevada prevalencia de hipertensión en población adulta española y un elevado número de pacientes sin diagnosticar, siendo factor de riesgo, pues se asocia con diabetes y prediabetes (Menéndez, 2016).

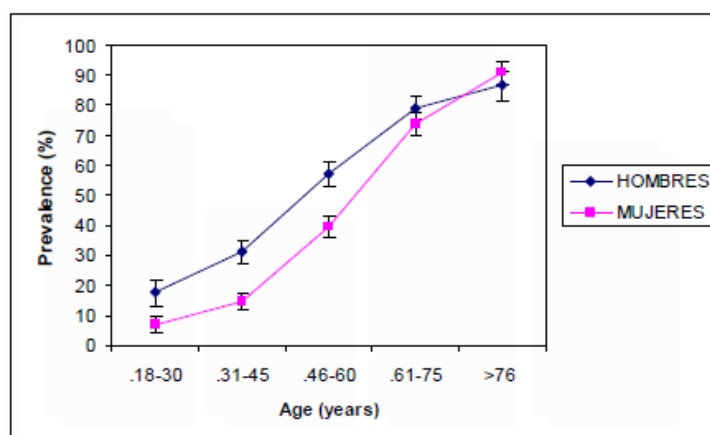


Figura 35. Prevalencia de HTA en función de la edad y el sexo.

El 56'8% fueron diagnosticados con dislipidemia, de los cuales solo el 13'2% estaban tratados, presentando el 23'3% elevado colesterol LDL, el 21'5% elevados triglicéridos, el 35'8% elevado colesterol no-HDL y el 17'2% bajo colesterol HDL. Esto indica que en población española adulta existe una alta prevalencia de dislipidemia y un bajo uso de fármacos hipolipemiantes, además entre los pacientes con diabetes pocos alcanzan valores adecuados de colesterol LDL (Martínez-Hervás, 2014).

Por otra parte, se observó que de los sujetos entre 40 y 65 años un 22'8% presentaba riesgo cardiovascular alto – muy alto según la ecuación SCORE (*Systematic Coronary Risk Evaluation*) estandarizado por edad y sexo, un 43'5% presentaba riesgo moderado y un 33'7% riesgo bajo. Siendo el IMC, los triglicéridos elevados, la tensión arterial diastólica alta y una baja adherencia a la dieta mediterránea las variables asociadas independientemente con riesgo moderado en comparación con el bajo riesgo. Aunque el riesgo cardiovascular en general es moderado en hombres y bajo en mujeres (Amor, 2015). Aquí pueden tener vital importancia los patrones de alimentación como la dieta mediterránea o la elevada ingesta de aceite de oliva en España, pues el consumo de este tipo de aceite se asoció negativamente con prevalencia de alteraciones cardiometabólicas, pudiendo

explicar, en parte, la baja-moderada prevalencia de esta patología en nuestro país (Gutiérrez-Repiso, 2013) a pesar de los elevados niveles de obesidad y otras enfermedades metabólicas (Soriguer, 2007).

Como marcador de riesgo cardiovascular también se empleó la PCRus y en esta población se observó que el 30% presentaba niveles superiores a 3 mg/dL y el 38% entre 1-3 mg/dL. Siendo el IMC el factor asociado más fuertemente a niveles moderados- altos de PCRus, así como la edad, el sexo, la ratio cintura-cadera, el incremento de peso, los niveles lipídicos en suero, el HOMA-IR y alteración del metabolismo de la glucosa, el tratamiento farmacológico, el hábito de fumar, la actividad física, diferentes patrones dietéticos, la calidad de vida y el nivel educacional (Rojo-Martínez, 2013 A).

Este trabajo también sirvió para determinar la adherencia a la dieta Mediterránea mediante el MedScore de 14 puntos en España y su relación con alteraciones del metabolismo hidrocarbonado. Se estudió la adherencia en sujetos con prediabetes, diabetes desconocida y diabetes conocida en comparación con individuos con metabolismo normal de la glucosa. Se observó que una mayor adherencia, ajustada por edad, se encontraba asociada con una menor prevalencia de prediabetes y diabetes comparada con individuos normoglucémicos, pero sin diferencias en el riesgo en los sujetos con diabetes conocida, aunque esto último podría deberse a la intervención terapéutica (Ortega, 2013). Por su parte, el consumo de aceite de oliva, al menos para aliñar, se observó en un 90% de la población, asociándose positivamente con la edad, el nivel educacional y negativamente con la ingesta de alcohol, el IMC y los niveles de glucemia, insulinemia y lipidemia. Así, los sujetos que consumían aceite de oliva como principal fuente de grasa en su dieta presentaron un menor riesgo de obesidad, alteraciones del metabolismo de los carbohidratos, hipertrigliceridemia y bajo colesterol HDL, mejorando el perfil de riesgo cardiovascular, particularmente en presencia de obesidad, alteraciones de la glucemia o una vida sedentaria (Soriguer, 2013). Un mayor consumo de lácteos, que se observó principalmente en mujeres y en regiones del norte de España, se asoció inversamente con la presencia de hipertensión arterial ajustado por edad, sexo, región geográfica e IMC. Además, los

sujetos con obesidad consumían menos productos lácteos que los sujetos con normopeso, aunque este consumo de lácteos no se asoció con la presencia de diabetes, pero sí se asoció con un mejor perfil metabólico (Lago-Sampedro, 2019). También el consumo de café y vino tinto moderado se asoció inversamente con niveles séricos de un posible biomarcador de diabetes tipo 2 como el sCD163 (Rojo-Martínez, 2014)

El estudio Di@bet.es también sirvió para dar información sobre la actividad física de la población española y el consumo de fármacos antidiabéticos y otros factores de riesgo. Se observó que, mediante la realización del cuestionario internacional de actividad física (SF-IPAQ), la prevalencia de sedentarismo en nuestro país era del 32'3% en hombres y 39% en mujeres, existiendo diferencias notables entre ambos sexos especialmente en edades tempranas y mayores, además, los individuos sedentarios presentaron mayor IMC y prevalencia de obesidad. La actividad física era baja en el 44% de personas con diabetes conocida, en el 43% de sujetos con prediabetes o diabetes desconocida y el 38% en personas con normogluceemia, pero sin diferencias significativas. Las variables independientemente asociadas con sedentarismo fueron la edad, el sexo, el IMC, la obesidad central, la baja adherencia a Dieta Mediterránea, el hábito de fumar, bajos niveles de colesterol HDL, elevados de triglicéridos y dislipidemia (Brugnara, 2016). En el caso del uso de fármacos, se observó que el 66% de la población tomaba al menos alguna medicación, y su uso se asociaba positivamente con la edad y casi el 30% de los pacientes con diabetes tomaban al menos 6 medicaciones a diario, especialmente antihipertensivos, agentes hipolipemiantes y antiinflamatorios no esteroideos además de los antidiabéticos (Rojo-Martínez, 2013 B).

La fase transversal del estudio Di@bet.es también sirvió para determinar prevalencia de disfunción tiroidea (Valdés, 2017), ingesta de yodo (Soriguer, 2012 B), deficiencia de este yodo y hierro afectando a función tiroidea (Maldonado-Araque, 2018; 2021) o el índice de resistencia a hormona tiroidea (Alonso, 2021) y su asociación con mortalidad en la población española.

Por su parte, la fase longitudinal también ha arrojado algunos datos sobre la incidencia de enfermedades metabólicas comunes en nuestro país (Cuesta, 2020; Rojo-Martínez, 2020) y asociación con factores de riesgo (Doulatram-Gamgaram, 2021) o biomarcadores para estas enfermedades (García-Escobar, 2021; Lago-Sampedro, 2022). Algunos de estos resultados son los que presentaremos en este trabajo de tesis doctoral.

Incidencia DM:

11.6 (11.1-12.1) casos / 1000 personas-año (CI95%)*

* Ajustado por forma de diagnóstico, edad, sexo y área de muestreo.

386.003 nuevos casos de diabetes al año en España

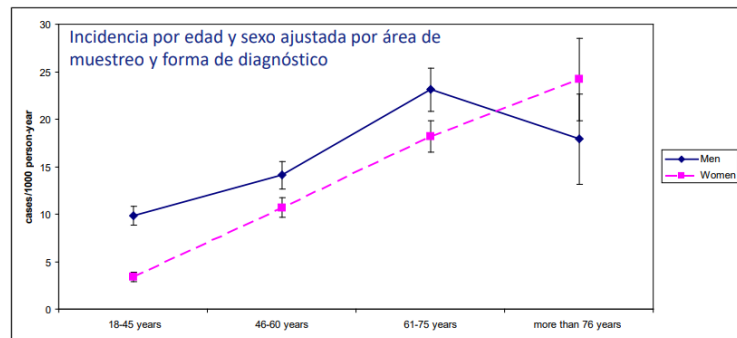
1.057 nuevos casos por día

Incidencia of diabetes mellitus in Spain as results of the nation-wide cohort di@bet.es study.

Rojo-Martínez G, Valdés S, Soriquer F, Vendrell J, Urrutia I, Pérez V, Ortega E, Ocón P, Montanya E, Menéndez E, Lago-Sampedro A, González-Frutos T, Gomis R, Goday A, García-Serrano S, García-Escobar E, Galán-García JL, Castell C, Badia-Guillén R, Aguilera-Venegas G, Gírbés J, Gaztambide S, Franch-Nadal J, Delgado E, Chaves FJ, Castaño L, Calle-Pascual A.

Sci Rep. 2020 Feb 17;10(1):2765.

doi: 10.1038/s41598-020-59643-7. PMID: 32066839



	N° at risk	n° developing diabetes	person/years	Incidence rate per 1000 person-years (95% CI)	OR ^a (95% CI)	OR ^b (95% CI)
All sample	2408	156	18088	8.6 (7.3–10.1)	—	—
Sex						
Women	1451	81	10883	7.4 (5.9–9.3)	Ref. cat.	Ref. cat.
Men	957	75	7205	10.4 (8.2–13)	1.5 (1.1–2.1)	2.7 (1.6–4.5)
OGTT result						
Normoglycemia	2115	75	15892	4.7 (3.7–5.9)	Ref. cat.	Ref. cat.
Isolated IGT	154	35	1156	30.3 (21.1–42.1)	10.8 (5.7–20.2)	7.9 (4–15.5)
Isolated IFG	102	27	761	35.5 (23.4–51.6)	14.4 (7.5–27.6)	11.7 (5.9–23.3)
Combined IFG-IGT	37	19	278	68.3 (41.1–106.6)	42.3 (16.3–109.5)	48.8 (17.1–139.8)
P for trend					<0.0001	<0.0001
Obesity						
BMI < 25 kg/m ²	749	15	5628	2.7 (1.5–4.4)	Ref. cat.	Ref. cat.
BMI 25–30 kg/m ²	1018	57	7662	7.4 (5.6–9.6)	1.9 (0.9–3.9)	1.2 (0.6–2.3)
BMI ≥ 30 kg/m ²	626	82	4691	17.5 (13.9–21.7)	4.6 (2.3–9.2)	2.3 (1.1–4.6)
P for trend					<0.0001	<0.0001
Central obesity (Waist ≥94 cm in men and ≥80 cm in women)						
No	718	8	5400	1.5 (0.6–2.9)	Ref. cat.	Ref. cat.
Yes	1677	146	12596	11.6 (9.8–13.6)	10.6 (2.6–43.5)	3.4 (1.5–7.8)
Family History of diabetes (first-degree relatives)						
No	1569	73	11794	6.2 (4.9–7.8)	Ref. cat.	Ref. cat.
Yes	839	83	6294	13.2 (10.5–16.3)	2.4 (1.5–3.9)	2.3 (1.6–3.3)

Incidencia de diabetes en función de los principales factores de exposición

Rojo-Martínez G, et al. Sci Rep. 2020;10:2765.

Figura 36. Incidencia de diabetes según los principales factores de exposición presentes en el estudio transversal.

^aORs (odd ratios) se calcularon para cada variable mediante regresión logística ajustada por edad y sexo (el sexo se ajustó por edad). ^bORs (odd ratios ajustados en el modelo completo) se calcularon utilizando un único modelo de regresión logística (todas las variables enumeradas se introducen en el análisis de manera simultánea) y se ajustaron adicionalmente por la presencia de hipertensión arterial, nivel de actividad física (IPAQ), nivel educativo y puntuación de la dieta mediterránea. Ref. cat. = Categoría de referencia.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS





UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

1. Hipótesis principal:

Los niveles séricos de la proteína VEGFb en humanos se asocian con alteraciones del metabolismo hidrocarbonado y lipídico, lo que podría estar relacionado con un mayor riesgo de desarrollar enfermedades metabólicas como obesidad, síndrome metabólico, esteatosis hepática y/o diabetes mellitus tipo 2.

2. Hipótesis secundarias:

VEGFb medido en suero podría tener utilidad como biomarcador temprano para predecir la incidencia de estas enfermedades metabólicas prevalentes en adultos, permitiendo intervenciones tempranas.

Posibles interacciones entre los niveles séricos de VEGFb y factores de riesgo metabólico, como factores ambientales y estilo de vida, podrían modular el desarrollo de alteraciones metabólicas.

1. Objetivo general:

Determinar los niveles séricos de la proteína VEGFb en una muestra representativa de la población general española adulta y su asociación con la presencia e incidencia de enfermedades metabólicas prevalentes como obesidad, síndrome metabólico, esteatosis hepática y diabetes mellitus tipo 2.

2. Objetivos específicos:

Determinar una aproximación a los valores de referencia de esta proteína VEGFb en población española adulta general y en aquella aparentemente sana.

Investigar el posible papel de VEGFb sérico como biomarcador predictivo para enfermedades metabólicas prevalentes en esta población.

Investigar su relación con diferentes variables y factores de riesgo asociados a estas enfermedades metabólicas prevalentes, analizando como interactúan los niveles séricos de VEGFb con factores ambientales como la dieta, la actividad física u otros hábitos de vida en este contexto de enfermedad metabólica.

MATERIAL Y MÉTODOS





UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

1. Población de estudio y muestreo

La población empleada en esta tesis está compuesta por aquellos participantes procedentes del estudio di@bet.es, el cual ya se ha descrito ampliamente en la introducción (Soriguer, 2012 A).

El estudio di@bet.es es una cohorte de base poblacional. El estudio transversal inicial se llevó a cabo entre 2008 y 2010 utilizando un muestreo aleatorio por conglomerados de la población española (Soriguer et al, 2012 A). La muestra del estudio di@bet.es consistió en 5072 sujetos mayores de 18 años, seleccionados aleatoriamente de los registros del Sistema Nacional de Salud distribuidos en 100 conglomerados (centros de atención primaria). La figura 37 muestra la distribución de los conglomerados.

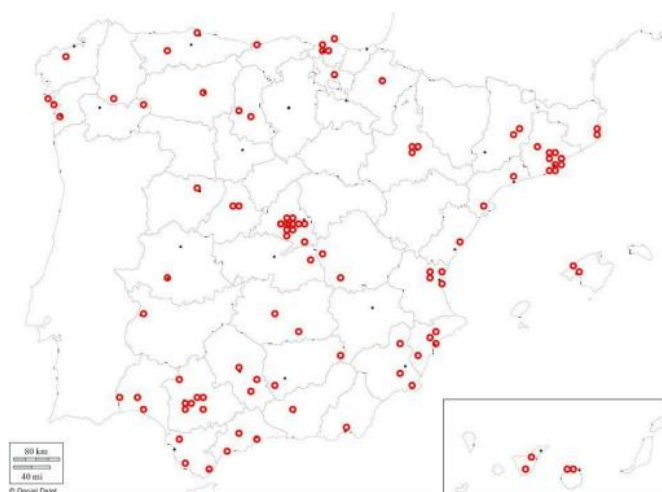


Figura 37. Localización en todo el territorio español de los centros de salud participantes en el estudio Di@bet.es

Los criterios de exclusión en el estudio transversal fueron: enfermedad grave, embarazo, parto o lactancia, cirugía en el mes anterior o cualquier otra situación discapacitante que impidiera la participación o la otorgación de consentimiento.

La cohorte fue reevaluada en 2016-17 (el tiempo de seguimiento fue de $7,5 \pm 0,6$ años). Todos los sujetos que habían completado el estudio inicial fueron invitados por carta y por teléfono a asistir a otro examen clínico. Al igual que en el estudio transversal, se excluyó a las personas con enfermedades graves, embarazo, parto reciente o lactancia, o cirugía dentro del mes anterior.

2. Tamaño muestral

2.1. Tamaño muestral fase transversal

El tamaño de la muestra se calculó para estimar la prevalencia de diabetes en España, asumiendo una prevalencia del 15%, con un error inferior al 1% (confianza=95% y poder estadístico=80%).

Fueron localizados 9653 sujetos y de ellos un 58% (n=5604) acudieron a la cita establecida para una revisión en su centro de salud. De estos, un 9'5% (n=532) fueron excluidos por protocolo (institucionalizados, enfermedad grave o cirugía que impida la realización del estudio, embarazo, parto reciente o lactancia) obteniéndose una muestra final de 5072 individuos mayores de 18 años (41'6% hombres y 58'4% mujeres) (figura 38).

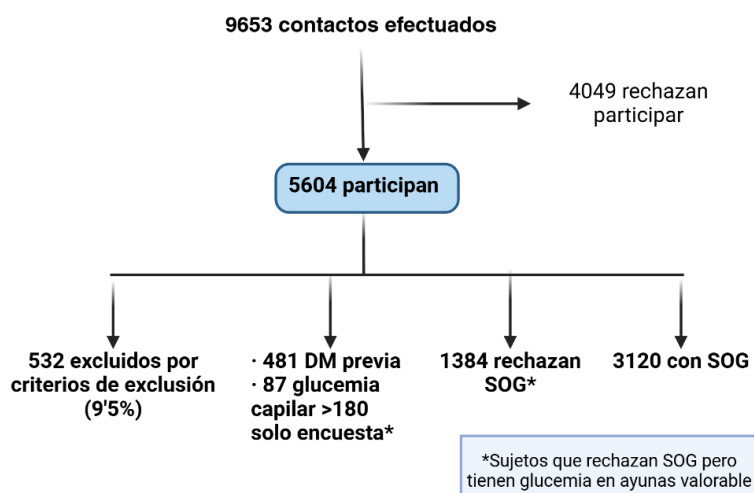


Figura 38: Diagrama de flujo en la selección de sujetos del estudio di@bet.es fase transversal.

2.2. Tamaño muestral fase prospectiva

Para este trabajo se evaluaron los participantes procedentes del estudio transversal a los que se le había determinado la proteína VEGFb y tenían datos de seguimiento. De un total de 4774 sujetos iniciales con esta proteína medida, presentaron datos de seguimiento el 56,6%, es decir, 2767 participantes (donde el 41'2% eran hombres y el 58'8% mujeres). En función de la enfermedad metabólica de interés

en cada caso, para calcular su incidencia, se seleccionaron aquellos sujetos sin dicha enfermedad en la fase transversal (figura 39). Con el número de sujetos con seguimiento, el poder estadístico fue superior al 80% para detectar como significativos odd ratios de 1'4 con una confianza del 95% asumiendo una proporción de casos en riesgo del 25% (percentil 75 de la distribución poblacional del factor de riesgo) y tamaños muestrales a partir de 700 sujetos.

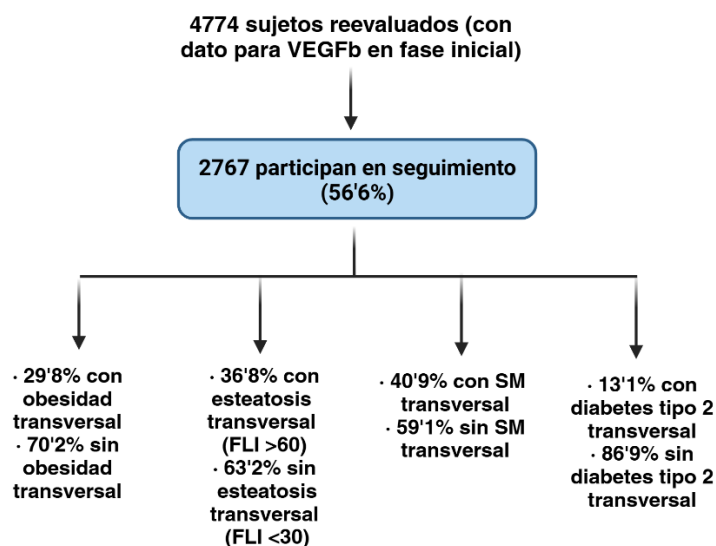


Figura 39: Diagrama de flujo en la selección de sujetos del estudio di@bet.es fase prospectiva.

3. Consideraciones éticas y protección de datos

El estudio Di@bet.es se llevó a cabo de acuerdo con la Declaración de Helsinki (OMS 2011) de la “*World Medical Association*” y fue aprobado por el Comité Ético y de Investigación Clínica del Hospital Carlos Haya de Málaga, actualmente Hospital Regional Universitario de Málaga (código 21022019), así como por otros comités éticos y de investigación clínica del territorio español participantes en este estudio. Además, todos los participantes firmaron su correspondiente consentimiento informado y se les informó en todo momento del tratamiento de los datos obtenidos y de su participación en el estudio, siendo esta participación voluntaria, tanto para la fase transversal como prospectiva. La información recogida se registró de manera codificada siguiendo las leyes y normas de protección de datos en vigor.

4. Recogida de datos y mediciones de laboratorio

Todos los participantes, en ambas fases del estudio, fueron invitados a asistir a una visita a su centro de salud para la realización de una exploración física realizada por personal sanitario, Se recogieron datos sociodemográficos, clínicos y se les realizó un cuestionario de estilo de vida y nutricional. También se obtuvo una muestra de sangre en ayunas y se les realizó una sobrecarga oral con 75 gramos de glucosa (SOG). El trabajo de campo fue realizado por diversos equipos repartidos por todo el territorio nacional, compuestos por enfermeras y dietistas entrenadas previamente para este proyecto.

4.1. Datos sociodemográficos y clínicos:

Mediante la realización de una encuesta estructurada se recogieron los siguientes datos;

- ✓ Edad
- ✓ Sexo
- ✓ Nivel educacional (clasificado en tres categorías; sin estudios, estudios primarios o secundarios y universitarios).
- ✓ Antecedentes personales de diabetes mellitus.
- ✓ Tratamientos farmacológicos (especialmente aquellos para tratar la hipertensión arterial, hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia, por su implicación en enfermedades metabólicas de interés en esta tesis).
- ✓ Historia familiar de diabetes u otras enfermedades metabólicas asociadas.

Y se midieron las siguientes variables clínicas en la visita;

- ✓ Niveles de presión sanguínea (empleando un monitor *Hem-703 C de Omron* (Barcelona). Después de varios minutos de reposo en sedestación, se realizaron tres mediciones tomadas con una diferencia de 1-2 minutos y se empleó la media para la obtención del resultado.

- ✓ Glucemia capilar pre y post SOG (a los sujetos con una glucemia capilar <180 mg/dl y sin tratamiento previo para la diabetes mellitus, se les ofreció realizar una sobrecarga oral con 75 gramos de glucosa, obteniendo muestras basales de glucosa y a las 2 horas (un 27% aproximadamente rechazaron la realización de la prueba)).

4.2. Datos antropométricos:

También se tomaron diversas medidas antropométricas, obteniendo los siguientes datos;

- ✓ Peso y talla con instrumentos certificados para uso sanitario con el sujeto en ropa ligera y sin zapatos.
- ✓ Medidas de circunferencia de la cintura y cadera empleando cinta métrica flexible (se midió el perímetro de la cintura y la cadera estando la persona de pie sin ropa y relajada, localizando la parte superior de la cresta iliaca y posteriormente rodeando todo el abdomen con la cinta métrica a nivel del ombligo, anotando los centímetros después de haber expulsado todo el aire. Después se procedió con la cadera a la altura de la prominencia máxima de las nalgas).

4.3. Información sobre dieta y hábitos:

- ✓ Se realizó un cuestionario cualitativo de frecuencia de consumo de alimentos mediante entrevista con nutricionista, valorándose la frecuencia de consumo de 50 alimentos/grupos de alimentos en 11 categorías de la siguiente manera: nunca/rara vez, 1 vez/mes, 2–3 veces/mes, 1 vez/semana, 2–3 veces/semana, 4–6 veces/semana y 1 vez/día, 2 veces/día, 3 veces/día, 4 veces/día y más de 4 veces/día (Rojo-Martínez, 2014).
- ✓ Se calculó un índice de adherencia a la Dieta Mediterránea empleando un puntaje de 14 puntos MEDAS (*MEdDiet Adherence Screener*, por sus siglas

en inglés) derivada y simplificada de la puntuación PREDIMED (Schröder, 2011), con un punto de corte establecido para definir alta o baja adherencia a esta dieta a partir de 9 puntos (Cuesta M, 2020).

- ✓ El consumo de alcohol se estimó a partir de la misma encuesta de frecuencia, estableciendo cuatro categorías: NUNCA; aquellos sujetos que no consumen alcohol, BAJO; aquellos que toman <1 vaso a la semana, MODERADO; aquellos hombres que toman entre 1 vaso a la semana y dos al día y aquellas mujeres que toman 1 vaso al día y ALTO; aquellos hombres que toman >2 vasos al día y aquellas mujeres que toman >1 vaso al día.

- ✓ Se documentó el hábito de fumar clasificado en cuatro categorías: No haber fumado NUNCA, ser exfumador actualmente, ser fumador activo de <15 cigarrillos/día y ser fumador activo de ≥ 15 cigarrillos/día.

- ✓ El nivel de actividad física se determinó mediante el “*Short Form of International Physical Activity Questionnaire (SF-IPAQ)*” (Craig, 2003), de acuerdo con este, a cada individuo se le asignó una de las tres categorías; ALTA, MODERADA o BAJA actividad física.

4.4. Toma de muestras biológicas:

A todos los participantes se les extrajo muestra de sangre venosa, antes y 2 horas después de una SOG con 75 g de glucosa diluidos en 200 ml de agua, para llevar a cabo análisis de diversas determinaciones en laboratorio. Los tubos con gel separador se dejaron coagular un máximo de 30 minutos y se centrifugaron a 1400 rpm durante 10 minutos para la separación del suero y fueron inmediatamente alicuotadas y congeladas a -15°C , enviándose en pocos días al laboratorio donde las muestras se congelaron a -80°C hasta el posterior análisis.



Figura 40. Tubos colectores para extracción de sangre BD Vacutainer® (tapón amarillo incluye gel para separación de suero, tapón violeta incluye EDTA para conservar sangre entera).

Algunas de las variables bioquímicas de interés en esta tesis, se determinaron mediante métodos directos de rutina en laboratorio de diagnóstico clínico, empleando los autoanalizadores *AU 5800*[®] (*Beckman Coulter*) y *Architect c8000*[®] (*Abbott SA*) (figuras 41 y 42) (Rojo-Martínez, 2013 A).

. Fueron las siguientes;

- ✓ Niveles de glucosa e insulina séricas pre y post SOG.
- ✓ Perfil lipídico en suero; niveles de colesterol total, HDL colesterol y triglicéridos. El LDL colesterol se calculó indirectamente mediante la fórmula de Friedewald (Friedewald, 1972).
- ✓ Perfil hepático en suero; si midieron los niveles de las enzimas aspartato transaminasa (AST), alanina transaminasa (ALT) y gamma glutamil transferasa (GGT).
- ✓ Como estimador del estado inflamatorio subclínico de los participantes, se midieron niveles séricos de la proteína C reactiva mediante método altamente sensible (PCRus) empleando la técnica de inmunoquimioluminiscencia.



Figura 41. Autoanalizador AU 5800[®], Beckman Coulter.



Figura 42. Analizador Architect c8000[®], Abbott SA.

- ✓ La HbA1c se determinó en el seguimiento mediante cromatografía líquida (HPLC) de intercambio iónico en gradiente con un analizador *Tosoh G8*®, *Tosoh Europe* (figura 43).



Figura 43. Tosoh G8® Automated Glycohemoglobin Analyzer HLC-723G8.

4.5. Variables calculadas:

- Se calculó el IMC como: peso (en kg) / altura² (en metros).
- Para estimar la insulinoresistencia se calculó el índice HOMA-IR (por sus siglas en inglés “*homeostasis model assessment*”) (Matthews, 1985), utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Insulina en ayunas (mU/ml)} \times \text{Glucosa en ayunas (mmol/l)} / 22,5$$

- Se consideró como valor diagnóstico de insulinoresistencia el cálculo del percentil 75 del HOMA-IR en nuestra población, excluyendo aquellos sujetos con diabetes mellitus tipo 2. Se establecen así dos categorías para el riesgo de insulinoresistencia gracias a este punto de corte (HOMA-IR elevado (sujeto insulinoresistente) versus HOMA-IR no elevado) (Matthews, 1985).

Definiciones y criterios para el diagnóstico de las enfermedades metabólicas de interés en este trabajo de tesis:

- Definición de obesidad; mediante la fórmula del IMC y los puntos de corte de clasificación para obesidad asignados por la OMS ($IMC > 30 \text{ kg/m}^2$).

- Definición de diabetes mellitus tipo 2 o presencia de otras alteraciones del metabolismo hidrocarbonado. Para el diagnóstico de las diferentes alteraciones del metabolismo hidrocarbonado se utilizaron los criterios de la OMS de 1999 (WHO, 1999). La población fue dividida en los siguientes grupos:
 - Metabolismo hidrocarbonado normal definido por una glucosa plasmática en ayunas $<110 \text{ mg/dl}$ y $<140 \text{ mg/dl}$ dos horas tras la SOG.
 - Prediabetes: glucosa alterada en ayunas (definida como una glucosa plasmática en ayunas entre 110 y 125 mg/dl) o intolerancia hidrocarbonada (definida como una glucosa 2 horas tras la SOG entre 140 y 199 mg/dl).
 - Diabetes no conocida definida como glucemia en ayunas $\geq 126 \text{ mg/dl}$ o ≥ 200 tras la SOG sin diagnóstico previo de diabetes o una $HbA1c \geq 6.5\%$.
 - Diabetes conocida, cuando el sujeto ya disponía de un diagnóstico previo de diabetes mellitus y estaba en tratamiento con dieta y/o fármacos.

- Definición de síndrome metabólico:
 - Según criterios del “*National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (ATP III)*” (Grundy, 2005), se requiere la presencia de al menos tres de los siguientes componentes; obesidad abdominal (circunferencia de la cintura $\geq 102 \text{ cm}$ para hombres europeos o $\geq 88 \text{ cm}$ para mujeres europeas), hipertrigliceridemia (triglicéridos $\geq 150 \text{ mg/dL}$ o recibiendo tratamiento hipolipemiante), bajos niveles de HDL-colesterol ($\leq 40 \text{ mg/dL}$ para hombres o 50 mg/dL para mujeres o recibiendo tratamiento hipolipemiante), hipertensión (PAS/PAD $\geq 130/85 \text{ mmHg}$ o recibiendo tratamiento antihipertensivo) e

hiperglucemia (glucemia en ayunas ≥ 100 mg/dL o recibiendo tratamiento hipoglucemiante).

- Según criterios de la “*Internacional Diabetes Federation (IDF)*” (Alberti, 2006) se requiere la presencia obligatoria de obesidad abdominal (circunferencia de la cintura ≥ 94 cm para hombres europeos o ≥ 80 cm para mujeres europeas o $IMC > 30$ si la medida de la cintura no está disponible) junto con la presencia de al menos dos de los cuatro criterios restantes idénticos a los de la definición de la ATP-III.

- Definición de esteatosis hepática o enfermedad del hígado graso:

Se calcularon los niveles del índice de hígado graso o FLI (*Fatty Liver Index*, por sus siglas en inglés) como medida indirecta de esteatosis hepática. Dicho índice se basa en las mediciones de triglicéridos, GGT, IMC y circunferencia de la cintura, empleando la fórmula previamente descrita por Bedogni y colaboradores (Bedogni, 2006), cuya validez está ampliamente demostrada (Yang BL, 2015; Koehler, 2013; Kahl, 2014).

$$FLI = \frac{(e^{0.953 * \log_e(\text{triglycerides})} + 0.139 * BMI + 0.718 * \log_e(\text{ggt}) + 0.053 * \text{waist circumference} - 15.745)}{(1 + e^{0.953 * \log_e(\text{triglycerides})} + 0.139 * BMI + 0.718 * \log_e(\text{ggt}) + 0.053 * \text{waist circumference} - 15.745)} * 100$$

Los valores FLI, cuyos rangos están comprendidos entre 0 y 100, se clasificaron en tres categorías: FLI bajo (nivel < 30), FLI intermedio (entre 30 y 60) y FLI alto (nivel > 60) (Bedogni, 2006) y se estableció como criterio el estado libre de esteatosis cuando presentaban categoría FLI bajo y confirmación de la presencia de esteatosis hepática cuando presentaban categoría FLI alto (Bedogni, 2006; Koehler, 2013; Kahl, 2014). En el caso de enfermedad de hígado graso, su definición se basa en la coexistencia de esteatosis hepática (FLI alto (nivel > 60) (Bedogni, 2006) y uno de los siguientes criterios; sobrepeso/obesidad o disfunciones metabólicas. La presencia de anormalidades metabólicas se define como la presencia de al menos dos de las siguientes características; obesidad abdominal (circunferencia de la cintura ≥ 90 cm para hombres o ≥ 80 cm para mujeres), hipertensión (presión arterial sistólica media ≥ 130 mmHg y/o la presión arterial diastólica media ≥ 85 mmHg o en tratamiento específico), dislipemia (nivel de triglicéridos séricos en ayunas ≥ 150

mg/dl o HDL colesterol <40 mg/dl en hombres y <50 mg/dl en mujeres o en tratamiento específico), prediabetes (glucosa plasmática en ayunas ≥ 100 mg/dl y/o ≥ 150 mg/dl tras SOG y <200 mg/dl), insulinoresistencia (cálculo del percentil 75 del HOMA-IR en nuestra población, excluyendo aquellos sujetos con diabetes mellitus tipo 2) o PCRus sérica elevada (>2 mg/l) (Eslam, 2020).

- Definición dislipemia mixta:

Esta definición incluyó los criterios para niveles séricos en ayunas de triglicéridos y HDL colesterol iguales a los establecidos para las definiciones de síndrome metabólico y MAFLD (Grundy, 2005; Eslam, 2020), añadiéndole además los niveles de LDL colesterol en suero por encima de 100 mg/dl.

- Definición hipercolesterolemia:

Para definir se emplearon también los niveles de colesterol total ≥ 200 mg/dl o LDL-colesterol ≥ 100 mg/dl.

- Definición hipertensión arterial:

Para definir esta se emplearon los mismos criterios empleados para la definición del síndrome metabólico y de MAFLD (Grundy, 2005; Eslam, 2020).

4.6. Determinación de niveles séricos de la proteína VEGFb:

Para la medición de esta proteína se empleó un kit comercial “*human VEGFb ELISA kit*” (Cloud-Clon Corp.), siguiendo las indicaciones del fabricante (figura 44).



Figura 44. La técnica ELISA (por sus siglas en inglés “*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*”) se basa en el enzimoimmunoensayo mediante el cual se detecta un antígeno al que se une un anticuerpo enlazado a un enzima capaz de generar un producto detectable, como un cambio de color. El tipo de ELISA empleado en este kit es el tipo “*sandwich*”, que emplea un anticuerpo primario inmovilizado que reconoce al antígeno y que a su vez es reconocido por un anticuerpo secundario que lleva unido el enzima antes mencionado. La generación de colorante es proporcional a la cantidad de antígeno presente, lo que permite medir indirectamente, mediante espectrofotometría, el antígeno de la muestra.

4.6.1. Principio de la prueba

La microplaca proporcionada en este kit ha sido previamente recubierta con un anticuerpo específico para VEGFb. Los estándares o las muestras se añaden a su pocillo apropiado de la placa con un anticuerpo conjugado con biotina específica para VEGFb. Luego, la avidina conjugada con peroxidasa es añadida a cada pocillo e incubada. Tras esto, se añade solución sustrato TMB y solo aquellos pocillos que contengan VEGFb, anticuerpo conjugado con biotina y avidina conjugada con enzima exhibirán un cambio de color (figura 46). La reacción enzima-sustrato termina al añadir una solución de ácido sulfúrico y el cambio de color es medido espectrofotométricamente a una longitud de onda de $450\text{nm} \pm 10\text{nm}$. La concentración de VEGFb en las muestras es determinada al comparar la densidad óptica (D.O.) de las muestras y la curva estándar. Para la medición se ha empleado el equipo *VERSAmax*, *Molecular Devices Corp. California* (figura 45).



Figura 45: Espectrofotómetro VERSAmax

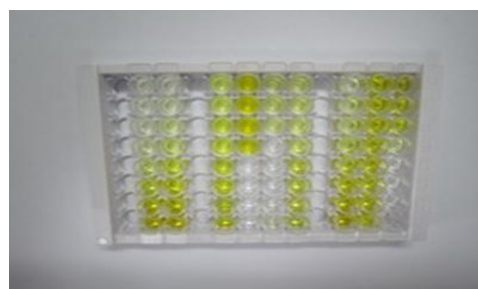


Figura 46. Reacción colorimétrica en placa ELISA

4.6.2. Características del kit ELISA

El rango de detección de este ELISA va de 15'6 a 1000 pg/ml, presenta una variabilidad intra e Inter ensayo de menos del 10% y menos del 12% respectivamente. El límite de detección de este kit es de 5'9pg/ml. Este ensayo presenta elevada sensibilidad y excelente especificidad para detectar VEGFb, sin reactividad cruzada o interferencia entre VEGFb y posibles análogos.

Las mediciones se llevaron a cabo en todos los participantes incluidos en la fase transversal del estudio Di@bet.es de los que se disponía de muestra de suero.

4.6.3. Cálculo de los resultados

Se calculó la media de las lecturas duplicadas para cada estándar, control y muestras y se restó la densidad óptica (D.O.) promedio del estándar cero. Se construyó una curva estándar trazando la D.O. media y la concentración para cada estándar y se dibujó una curva con el mejor ajuste a través de los puntos del gráfico para crear la curva estándar con la concentración de VEGFb en el eje Y y la absorbancia en el eje X (figura 47). Se llevó a cabo empleando el propio software del equipo VERSAmax. Si las muestras se habían diluido, la concentración leída en la curva estándar se multiplicó por el factor de dilución.

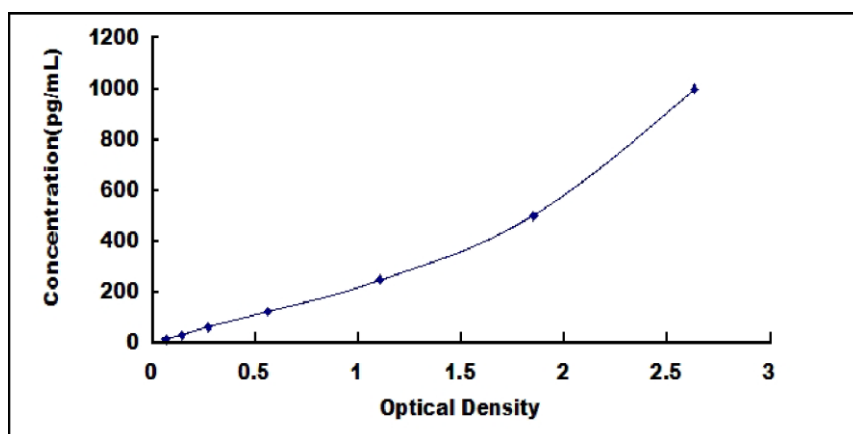


Figura 47: Curva estándar típica para ELISA de VEGFB Humano.

5. Análisis estadístico

Los datos se presentan como medias \pm desviación estándar, proporciones u *odds ratios* (95% intervalo de confianza). Las variables que no seguían una distribución normal fueron log-transformadas para los análisis estadísticos. La prueba de Levene se usó para evaluar la homogeneidad de las varianzas y en caso de ser necesario se aplicaron transformaciones estabilizantes (generalmente logaritmos) para llevar a cabo las pruebas de contraste de hipótesis.

La relación entre los niveles séricos de VEGFb y variables clínicas y metabólicas continuas se estudiaron mediante correlaciones parciales ajustadas por edad y sexo. En las gráficas de niveles de VEGFb en función de variables categóricas se representaron los valores medios y errores típicos de la variable VEGFb log-transformada y el nivel de significación presentado es el resultante del modelo lineal general ajustado por edad y sexo según corresponda.

Las categorías de VEGFb, como bajo y alto, se definieron de acuerdo con el punto de corte establecido por el percentil 75 de la distribución de valores de la variable en los sujetos de estudio aparentemente sanos (que no presentaban ninguna de las siguientes alteraciones metabólicas en el corte transversal ni estaban siendo medicados para ellas: diabetes, hiperglicemia, obesidad abdominal, hiperlipidemia ni hipertensión).

Las diferencias en las variables del estudio transversal de acuerdo con el sexo o a las categorías de VEGFb se determinaron mediante modelos lineales generales univariantes ajustados por edad, sexo e IMC según correspondiese, o mediante el test de Chi-cuadrado para variables cualitativas.

La asociación de las categorías de VEGFb con el desarrollo de las diferentes enfermedades metabólicas estudiadas en el seguimiento se determinó mediante modelos de regresión logística ajustados por diferentes variables potencialmente confundentes, tales como la edad, sexo, glucemia en ayunas, circunferencia de la cintura, lípidos séricos, presión arterial, así como variables de dieta y estilo de vida como el consumo de determinados alimentos, el ejercicio físico, tabaquismo o

consumo de alcohol. Además, se estudió la posible interacción entre las categorías de VEGFb y distintas variables confundentes en la explicación del riesgo de desarrollar las diferentes enfermedades metabólicas objeto de estudio, mediante la inclusión en los modelos de regresión del término de interacción correspondiente. La prueba de *Hosmer-Lemeshow* fue usado para comprobar la bondad del ajuste de los modelos.

La hipótesis nula en todos los casos fue rechazada con un error tipo I menor de 0.05 ($\alpha < 0.05$). El análisis estadístico fue realizado utilizando el programa SPSS 20.0 para Windows. (SPSS, Chicago, IL, USA).

Toda la información procedente del estudio Di@bet.es está informatizada en una base de datos especialmente diseñada, a la cual se le han ido añadiendo nuevos resultados obtenidos en este proyecto.

RESULTADOS



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

1. Estudio transversal

1.1. Niveles de VEGFb en población general española y factores asociados.

Los niveles circulantes de VEGFb se determinaron en 4774 sujetos participantes del estudio transversal. Las características generales de esta población ya han sido ampliamente publicadas con anterioridad (Soriguer, 2012 A; Gutiérrez-Repiso, 2013; Rojo-Martínez, 2012; Marcuello, 2013; Martínez-Hervás, 2014; Menéndez, 2012) por lo que no entraremos en detalle en ellas; sin embargo, los resultados referentes a los niveles de VEGFb en estos 4774 sujetos representativos de población general española, así como su relación con otras variables y factores de riesgo metabólicos recogidas en el Estudio Di@bet.es, son propios de este trabajo de tesis y como tal serán objeto de estudio.

El valor medio en suero de VEGFb en esta población fue de 42.08 ± 26.10 pg/ml con un rango de valores que oscilaba entre 1.26 y 330.30 pg/ml siendo la mediana 36.73 pg/ml en esta población completa estudiada transversalmente. El percentil 75 de la distribución de valores de VEGFb en estos sujetos fue 53.02 pg/ml.

En la tabla 1 se presentan los resultados del estudio de correlación parcial, ajustada por edad y sexo, entre los niveles séricos de VEGFb y diferentes variables biológicas con impacto metabólico en la población total en el estudio transversal (n=4774). Se hará referencia a los diferentes resultados incluidos en esta tabla en los siguientes subapartados.

Tabla 1. Correlaciones parciales entre los niveles de VEGFb y diferentes variables biológicas controlando por edad y sexo (n=4774)

Variable	r	p-valor
<u>Variables Antropométricas</u>		
IMC (Kg/m ²)	0.005	0.742
Cintura (cm)	0.023	0.114
Índice Cintura/Cadera	0.043	<0.01
<u>Metabolismo de la glucosa y resistencia a la insulina</u>		
Glucosa (mg/dl)	-0.046	0.002
Insulina (mUI/ml)	0.014	0.356
HOMA-IR	0.022	0.138
<u>Lípidos plasmáticos y lipoproteínas</u>		
Triglicéridos (mg/dl)	0.108	<0.001
Colesterol (mg/dl)	0.074	<0.001
HDL colesterol (mg/dl)	-0.019	0.207
LDL colesterol (mg/dl)	0.056	<0.001
<u>Tensión arterial</u>		
Tensión sistólica	0.019	0.199
Tensión diastólica	0.049	0.001
<u>Enzimas hepáticas e índice de hígado graso</u>		
AST (U/L)	0.015	0.301
ALT (U/L)	0.043	0.003
FLI	0.080	<0.001
<u>Marcadores de inflamación (pro y antiinflamatorio)</u>		
PCRus	0.097	<0.001

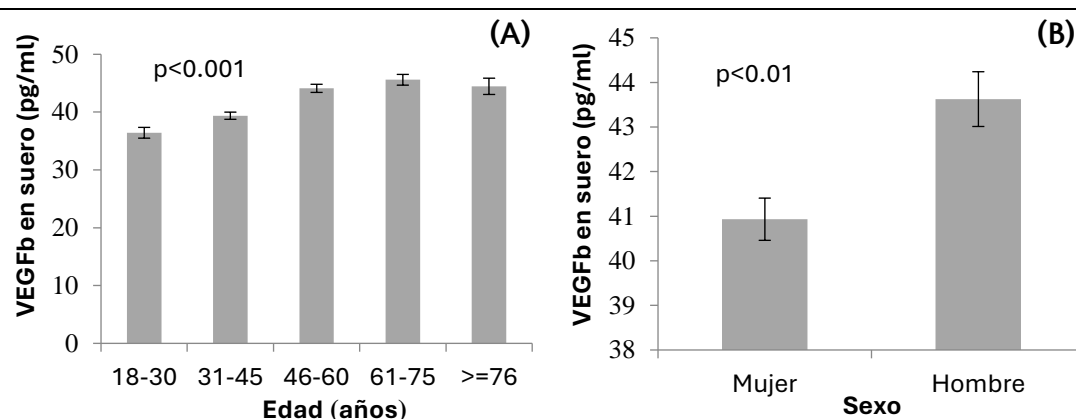
p-valor: Nivel de significación para las correlaciones parciales controladas por edad y sexo. Aquellas variables que no cumplían el criterio de normalidad fueron log transformadas.

r: correlación parcial.

1.1.1. Edad y Sexo

Se observó que los niveles circulantes de VEGFb aparecían significativamente asociados a la edad (gráfica 1A) y al sexo de estos individuos (gráfica 1B), aumentando a medida que aumenta la edad y presentando los hombres niveles séricos de este factor significativamente mayores que las mujeres.

Gráfica 1. Niveles de VEGFb en suero en función de los grupos de edad estandarizados (A) y del sexo (B) de los sujetos del estudio transversal (n=4774).

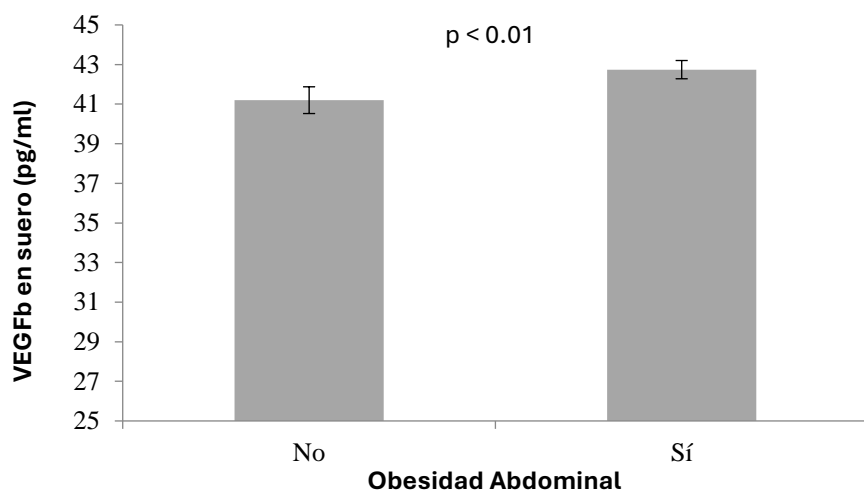


Las barras representan valores medios y errores típicos. p: Nivel de significación para las diferencias en la variable log-transformada niveles de VEGFb medidas por modelo lineal general univariante ajustado por sexo (A), edad (B) e IMC (A y B).

1.1.2. Variables antropométricas

No se encontró asociación por correlación parcial ajustada por edad y sexo entre los niveles de VEGFb y el IMC, la circunferencia de la cintura, pero sí con el índice cintura-cadera (tabla 1). En cuanto a las diferencias en los niveles séricos de VEGFb en función de la presencia de obesidad general u obesidad abdominal en los sujetos, encontramos que no había diferencias significativas entre sujetos con obesidad o normopeso (VEGFb_Normopeso: 42.10 ± 0.46 ; VEGFb_Obesidad: 41.07 ± 0.69 . p (modelo lineal general univariante ajustado por edad y sexo) = 0.15), pero sí niveles significativamente mayores de la proteína en sujetos que presentaban obesidad abdominal según criterio de la IDF respecto de aquellos que no la presentaban (gráfica 2).

Gráfica 2. Niveles séricos de VEGFb en función de la presencia de Obesidad abdominal en sujetos del estudio transversal (n=4774)



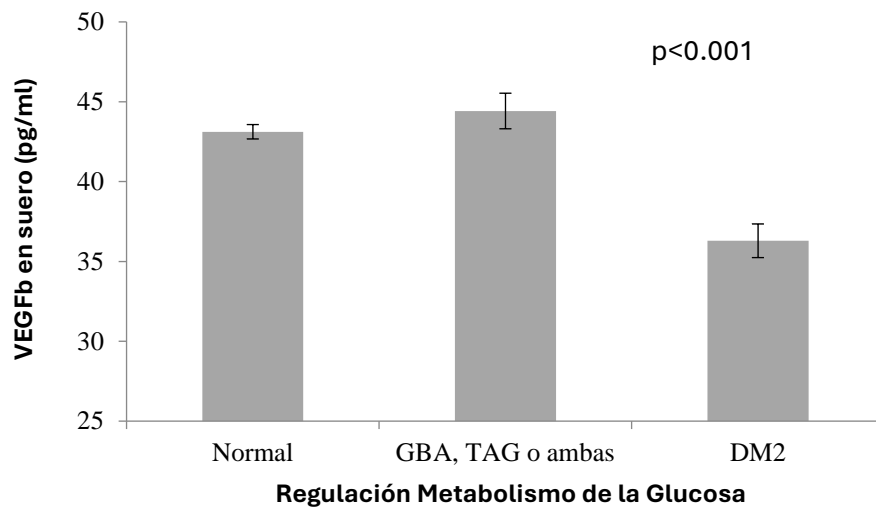
Las barras representan valores medios y error típico. p: Nivel de significación para las diferencias en la variable log transformada niveles de VEGFb medidas por modelo lineal general univariante ajustado por edad, sexo e IMC.

1.1.3. Regulación alterada del metabolismo de la glucosa e insulino resistencia

A nivel transversal se observa que los niveles séricos de VEGFb correlacionaron de manera inversa con los niveles de glucemia basal en ayunas controlando por edad y sexo (tabla 1). Con relación a esto, se encontró que aquellos participantes con diabetes tipo 2 presentaban significativamente menores niveles de VEGFb comparados con aquellos con normoglucemia, así como con los individuos con glucemia basal alterada, tolerancia alterada a la glucosa o ambas (gráfica 3). No se observaron diferencias en los niveles de VEGFb entre los sujetos con normoglucemia y otra alteración del metabolismo de la glucosa diferente de la diabetes tipo 2.

Respecto a la relación entre el estado de resistencia a la insulina y los niveles de VEGFb en población general española, no se observaron correlaciones parciales entre los niveles de la proteína y los valores del índice HOMA-IR (tabla 1); ni asociaciones con la presencia de resistencia a la insulina determinada por el indicador percentil 75 del HOMA (VEGFb No-IR: 42.15 ± 0.47 , VEGFb IR: 42.44 ± 0.77 . p-valor (modelo lineal general univariante ajustado por edad, sexo e IMC) = 0.32).

Gráfica 3. Niveles séricos de VEGFb en función de la regulación del metabolismo de la glucosa en sujetos del estudio transversal (n=4774)



Las barras representan valores medios y error típico.

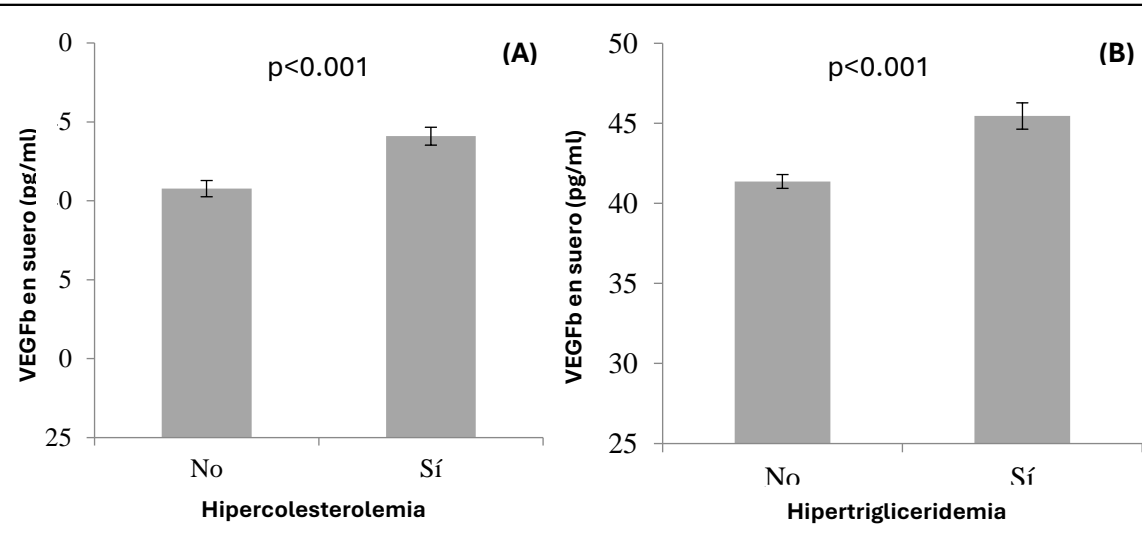
p: Nivel de significación para las diferencias en la variable log transformada niveles de VEGFb medidas por modelo lineal general univariante ajustado por edad, sexo e IMC.

1.1.4. Lípidos plasmáticos y lipoproteínas

En la tabla 1 se observa como existe una correlación directa significativa entre los niveles séricos de VEGFb y los niveles de triglicéridos, colesterol y LDL colesterol.

Adicionalmente, se encontró que la presencia de hipercolesterolemia (entendida como sujetos con niveles de colesterol ≥ 200 mg/dl o de LDL-colesterol ≥ 110 mg/dl) e hipertrigliceridemia (entendida como sujetos con niveles de triglicéridos ≥ 150 mg/dl) se asociaba a niveles significativamente mayores de VEGFb respecto de los sujetos que no presentaban estas alteraciones metabólicas (gráfica 4; paneles A y B, respectivamente).

Gráfica 4. Niveles séricos de VEGFb en función de la presencia o ausencia de hipercolesterolemia (A) e hipertrigliceridemia (B) en sujetos del estudio transversal (n=4774)

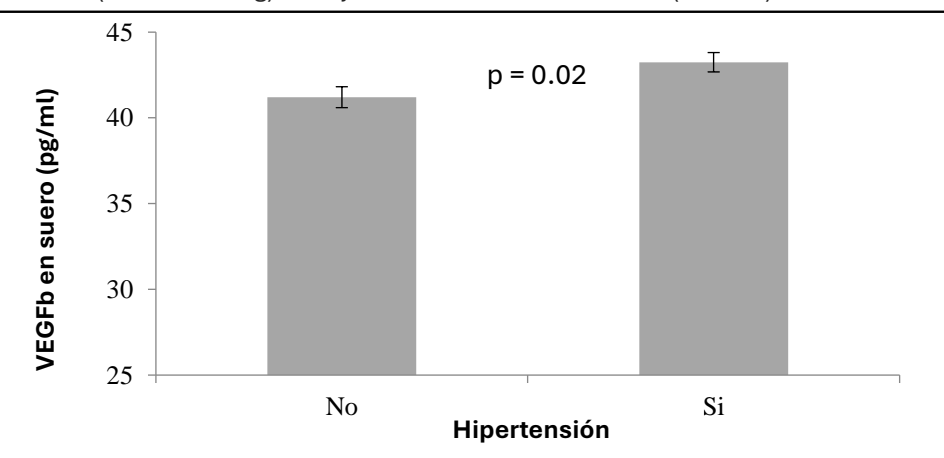


Las barras representan valores medios y error típico. p: Nivel de significación para las diferencias en la variable log transformada niveles de VEGFb medidas por modelo lineal general univariante ajustado por edad, sexo e IMC.

1.1.5. Tensión arterial

La presencia de hipertensión se asoció significativamente a mayores niveles de VEGFb en suero (gráfica 5). Aunque los valores de presión arterial sistólica y diastólica presentaron una relación directa con los niveles séricos de VEGFb, la correlación parcial ajustada únicamente alcanzó significación estadística en el caso de la presión diastólica (tabla 1).

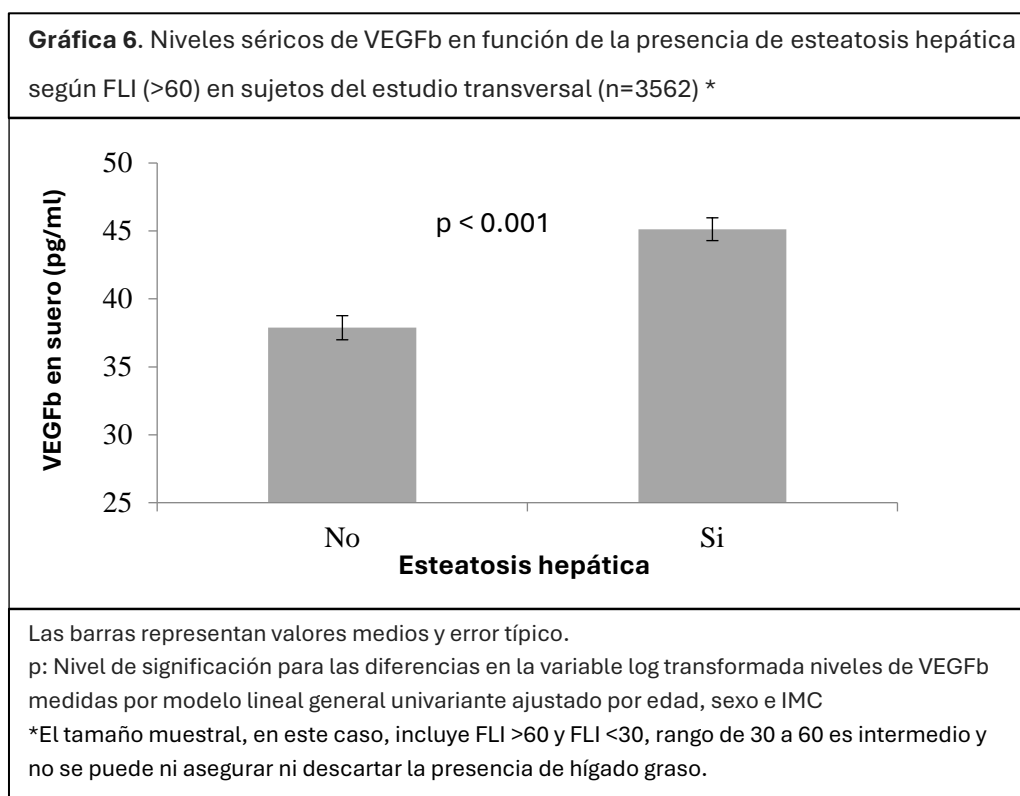
Gráfica 5. Niveles séricos de VEGFb en función de la presencia de hipertensión arterial (85/130 mmHg) en sujetos del estudio transversal (n=4774)



Las barras representan valores medios y error típico.
p: Nivel de significación para las diferencias en la variable log transformada niveles de VEGFb medidas por modelo lineal general univariante ajustado por edad, sexo e IMC.

1.1.6. Enzimas hepáticas y esteatosis hepática

Los niveles séricos de VEGFb presentaron una relación directa significativa tanto con los niveles circulantes de la enzima ALT, como con los valores del índice de hígado graso según FLI (tabla 1). Del mismo modo, observamos que aquellos sujetos que presentaban esteatosis hepática según FLI tenían unos niveles de VEGFb circulante más elevados que aquellos individuos que no la presentaban (gráfica 6).



1.1.7. Marcadores de inflamación

Niveles séricos de VEGFb correlacionaron de manera directa y significativa con los niveles de PCRus (tabla 1).

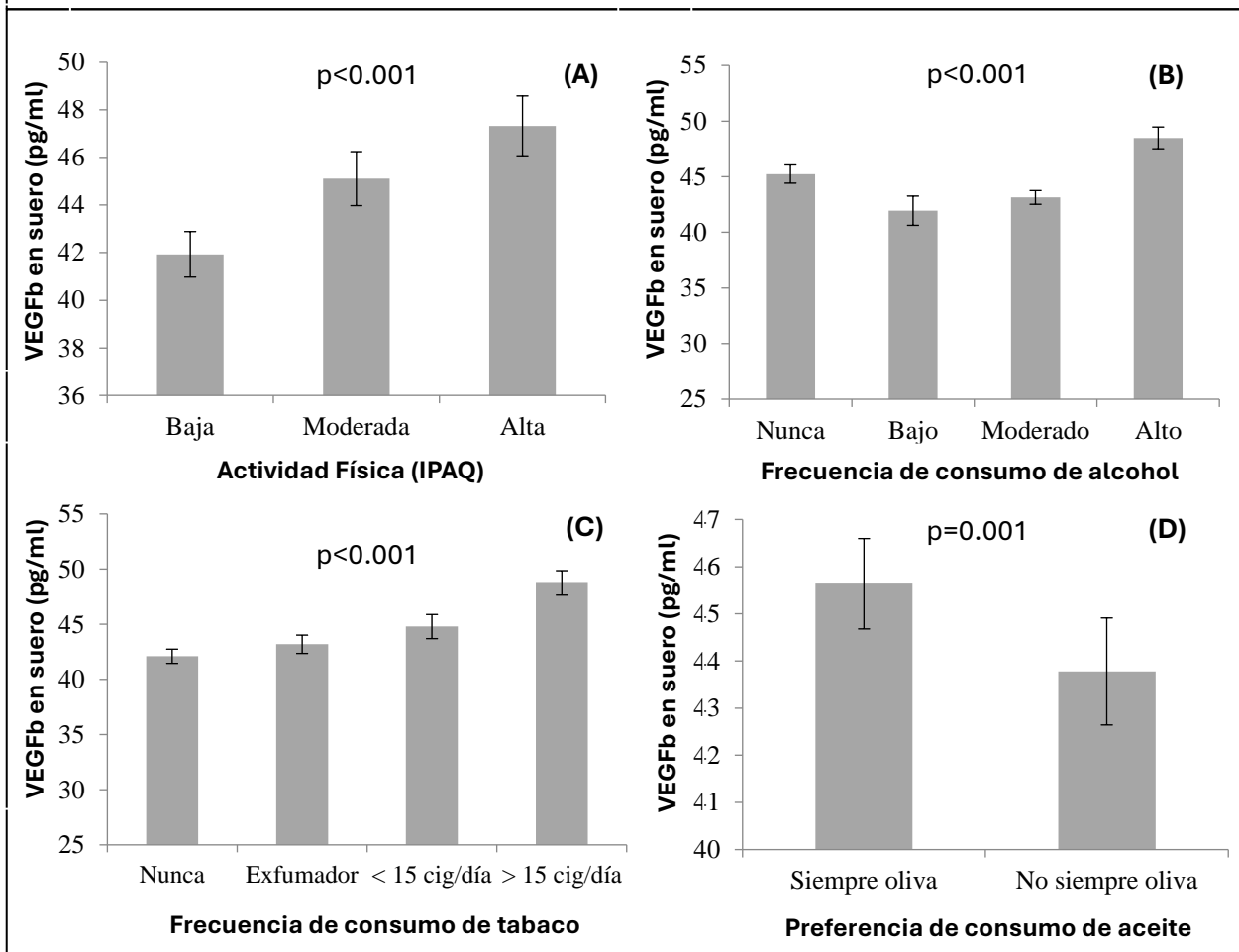
1.1.8. Dieta y estilo de vida

El estudio de asociación de los niveles en suero de VEGFb con las variables nutricionales y de estilo de vida de sujetos del estudio transversal ajustados por edad y sexo revelaron que a medida que los sujetos son más activos físicamente,

consumen más alcohol o más tabaco, los niveles de VEGFb aumentaban (gráfica 7 paneles A, B y C, respectivamente). Adicionalmente se observaron significativamente mayores niveles de VEGFb en el suero de aquellos sujetos que consumían preferentemente aceite de oliva siempre respecto de aquellos que consumían también otros tipos de aceites (gráfica 7 panel D).

La frecuencia de consumo de otros alimentos típicos de la Dieta Mediterránea como lácteos, frutas, verduras o pescados no se asociaron a los niveles de VEGFb.

Gráfica 7. Niveles séricos de VEGFb en función de los niveles de actividad física (A), la frecuencia de consumo de alcohol (B) y tabaco (C) así como la preferencia en el consumo de aceites (D) en sujetos del estudio transversal (n=4774)



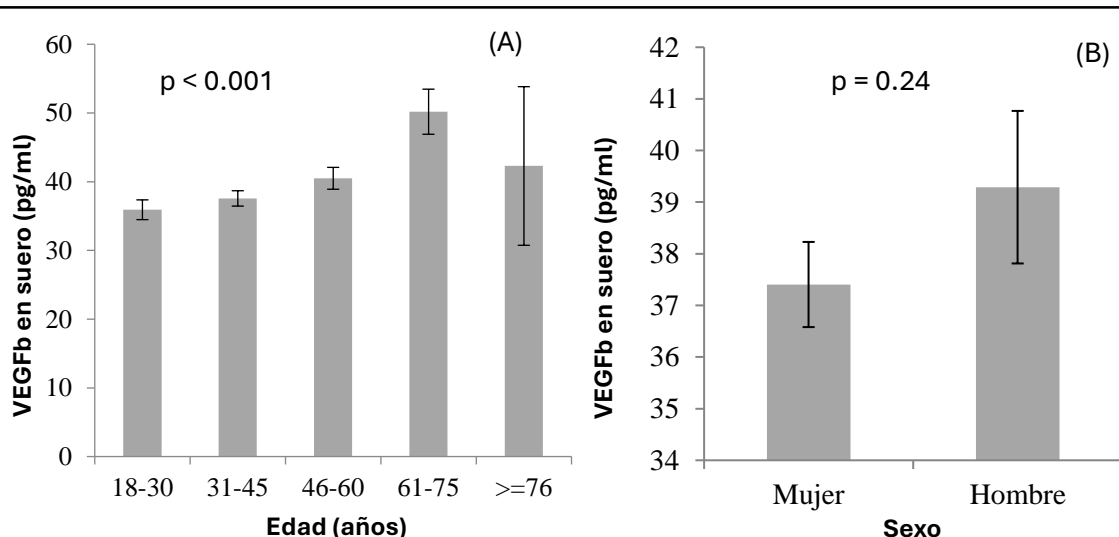
Las barras representan valores medios y error típico.

p: Nivel de significación para las diferencias en la variable log transformada niveles de VEGFb medidas por modelo lineal general univariante ajustado por edad y sexo.

1.2. Valores de referencia de VEGFb en población aparentemente sana

El estudio de los valores de referencia de VEGFb se realizó sobre los 1035 sujetos del estudio Di@bet.es que no presentaban ninguna de las siguientes alteraciones en el corte transversal, ni estaban siendo medicados para ellas: diabetes, hiperglicemia, obesidad abdominal, hiperlipidemia o hipertensión. El rango de valores de VEGFb en suero en sujetos sin alteraciones metabólicas fue de 1.26 a 214.37 pg/ml con una mediana de 33.33 pg/ml y siendo el percentil 75 de esta distribución 48.70 pg/ml, valor que se ha considerado como punto de corte general para categorizar la variable en los estudios de asociación con enfermedad metabólica en 2 grupos: VEGFb_bajo si los niveles del factor eran inferiores o iguales a 48.70 pg/ml; y VEGFb_alto si los niveles de VEGFb en suero estaban por encima de 48.70 pg/ml. En esta población de sujetos aparentemente sanos del estudio transversal, los niveles de VEGFb estaban significativamente asociados a la edad de los sujetos (gráfica 8 A), pero el incremento en los valores de VEGFb en hombres respecto de mujeres no alcanzó significación estadística (gráfica 8 B).

Gráfica 8. Niveles de VEGFb en suero en función de los grupos de edad estandarizados (A) y del sexo (B) de los sujetos sanos del estudio transversal (n=1035).



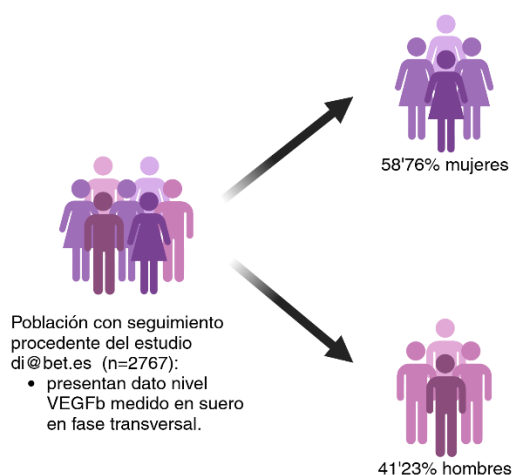
Las barras representan valores medios y errores típicos.

P: Nivel de significación para las diferencias en la variable log transformada niveles de VEGFb medidas por modelo lineal general univariante ajustado por edad, sexo e IMC.

2. Estudio de incidencia

2.1. Descripción de la población en seguimiento.

Las características generales de las diferentes subpoblaciones en seguimiento de la cohorte del estudio Di@bet.es ya han sido publicadas previamente por nuestro grupo: por ejemplo, la subpoblación en riesgo de diabetes (Rojo-Martínez, 2020; García-Escobar, 2021), de síndrome metabólico (Cuesta, 2020; Lago-Sampedro, 2022) o de hipertensión (Doulatram-Gamgaram, 2021). Para responder a los objetivos de este trabajo de tesis, se ha definido una población total que incluye a aquellos sujetos del estudio transversal que participaron a los 7.5 años de seguimiento y se le había determinado el nivel de VEGFb en suero en el estudio transversal. Posteriormente, se seleccionaron, dentro de esta población, aquellos en riesgo de desarrollar las diferentes patologías de interés. De este modo, obtuvimos una población de 2767 sujetos con seguimiento que presentaba un mayor porcentaje de mujeres que hombres (58.76% de mujeres versus 41.23% de hombres, $p\chi^2 < 0.001$) sin diferencias en las edades medias entre ambos grupos (Mujer: 50.07 ± 15.23 años versus Hombre: 49.38 ± 15.80 años; $p=0.24$) (gráfica 9).



Gráfica 9. Diagrama de flujo; población estudio en esta tesis

Las características generales en el estudio transversal de la población total en seguimiento y en función de las categorías de VEGFb aparecen en la tabla 2.

Tabla 2 Características generales de la población con seguimiento según las categorías de VEGFb en fase transversal.

	Total seguimiento (n=2767)	VEGFb_bajo (n=1758)	VEGFb_alto (n= 1009)	P-valor
Sexo (% hombres)	41.2	38.3	46.3	<0.001
Edad (años)	49.79±15.46	48.42±15.53	52.17±15.06	<0.001
IMC (Kg/m2)	28.01±4.989	27.94±5.11	28.14±4.75	0.15
Cintura (cm)	93.82±13.86	93.31±14.19	94.71±13.22	0.20
Índice cintura/cadera	0.902	0.903±0.004	0.901±0.005	0.48
Tensión sistólica	130.60±19.26	129.67±19.20	132.23±19.27	0.48
Tensión diastólica	76.84±10.43	76.31±10.36	77.75±10.47	0.18
Colesterol (mg/dl)	197.16±39.18	195.26±39.51	200.47±38.39	0.02
HDLcol (mg/dl)	52.22±12.83	52.80±12.60	51.22±13.17	0.02
LDLcol (mg/dl)	105.72±29.48	104.64±29.81	107.61±28.81	0.20
Triglicéridos (mg/dl)	120.61±89.37	116.47±86.01	127.81±94.61	<0.001
Glucosa (mg/dl)	98.66±27.12	99.51±27.49	97.17±26.39	<0.001
Insulina (mUI/ml)	9.70±12.29	9.69±11.89	9.72±12.97	0.85
HOMA	2.61±5.68	2.60±4.96	2.61±6.76	0.05
AST (U/L)	18.23±7.47	17.79±6.84	18.96±8.34	<0.01
ALT (U/L)	14.78±10.02	14.16±9.42	15.84±10.8	<0.001
FLI	45.95±30.66	44.23±31.11	48.94±29.64	0.001
PCRus	3.01±4.70	2.84±4.19	3.31±5.45	0.02
Diabetes (%)	13.1	15.2	9.4	<0.001
Resistencia a la insulina (%)	28.4	28.7	27.7	0.60
Dislipemia (%)	74.4	72.0	78.6	<0.001
Obesidad (%)	29.8	30.2	29.0	0.54
Obesidad Central IDF (%)	72.7	71.7	74.5	0.12
Hipertensión IDF (%)	57.7	55.5	61.7	0.002
SM IDF (%)	42.1	42.5	45.3	0.02
SM ATP-III (%)	38.0	37.5	39.0	0.49
Esteatosis según FLI (%) #	48.9	45.4	55.2	<0.001

Consumo preferente aceites				<0.001
Oliva siempre	41.3	36.5	49.6	
Oliva no siempre	58.7	63.5	50.4	
Consumo de lácteos				0.001
<= 1vez/día	31.0	28.7	35.0	
2 veces/día	35.5	35.9	34.7	
>= 3veces/día	33.5	35.4	30.2	
Consumo de fruta				<0.001
<= 1vez/día	24.1	24.2	23.6	
2 veces/día	57.1	59.5	53.2	
>= 3veces/día	18.7	16.3	23.2	
Consumo de alcohol				<0.001
Nunca	24.4	23.3	26.4	
Bajo	9.6	10.7	7.7	
Moderado	50.2	52.7	46.0	
Alto	15.8	13.3	20.0	
Tabaquismo				0.007
Nunca	50.6	52.7	46.9	
Exfumador	24.9	24.1	26.5	
Fumador activo < 15 cig/día	13.3	13.3	13.3	
Fumador activo >= 15 cig/día	11.2	10.0	13.3	
Nivel educativo				0.63
Sin estudios	10.7	10.8	10.5	
Primaria y Secundaria	72.8	72.2	73.8	
Universitario	16.5	17.0	15.7	
Actividad física (SF-IPAQ)				<0.001
Baja	43.2	48.9	33.4	
Moderada	34.0	31.7	38.1	
Alta	22.8	19.5	28.5	

Datos presentados como media±desviación estándar o proporciones. * Nivel de significación para las diferencias en las variables según la categoría de VEGFb medidas por modelos lineales generales ajustados por edad, sexo e IMC o Test de Chi-cuadrado. Aquellas variables que no cumplían el criterio de normalidad fueron log transformadas. Categorías VEGFb según punto de corte en población aparentemente sana con seguimiento (VEGFb_bajo ≤48'7pg/ml; VEGFb_alto >48'7pg/ml). # El tamaño muestral total en seguimiento en relación con hígado graso sólo incluye FLI>60 y FLI<30 (n=2063), rango de 30 a 60 es intermedio y no se puede asegurar ni descartar para determinar su presencia y, de estos, presentan VEGFb_bajo n=1335 y VEGFb_alto n=728.

El porcentaje de hombres era mayor entre los sujetos incluidos en la categoría VEGFb_alto estando además este grupo más envejecido. Adicionalmente, aquellos individuos incluidos en la categoría VEGFb_alto presentaron mayores niveles circulantes de colesterol, triglicéridos, AST y ALT, así como valores más altos de FLI que los sujetos con los niveles de más VEGFb bajos. No así los niveles de glucemia y HDL colesterol, cuyos valores se encontraron elevados en los sujetos de la categoría VEGFb_bajo (tabla 2).

Respecto a la presencia de enfermedades metabólicas, existen diferencias significativas en el porcentaje de sujetos con diabetes, dislipemia, hipertensión, esteatosis hepática y síndrome metabólico (criterio IDF) en el estudio transversal, según la categoría de VEGFb, encontrando un mayor porcentaje de sujetos con dislipemia, hipertensión, esteatosis o síndrome metabólico, y un menor porcentaje de sujetos con diabetes, en el grupo de sujetos con VEGFb_alto (tabla 2).

Existen también diferencias en los hábitos de consumo de alimentos y estilo de vida de los sujetos en seguimiento según las categorías de VEGFb como se observa en la tabla 2. Así encontramos que los sujetos incluidos en la categoría de VEGFb_alto presentan una menor frecuencia de consumo de lácteos y un mayor consumo de aceite de oliva, y diferencias en el consumo de alcohol y tabaco que los que presentan VEGFb_bajo; además, los sujetos con VEGFb_alto realizan más ejercicio físico.

2.2. Asociación de VEGFb con patología incidente

A continuación, se muestran los resultados de los análisis de asociación de las categorías de referencia en población aparentemente sana de VEGFb con el riesgo de desarrollar diferentes alteraciones metabólicas (obesidad, síndrome metabólico, incremento abdominal, hipertensión, dislipemia, diabetes, esteatosis hepática) en la población con seguimiento del estudio Di@bet.es al cabo de 7'5 años.

2.2.1. Obesidad

De un total de 1286 sujetos no obesos ($IMC < 30$) en el estudio transversal que participaron en el seguimiento, 134 desarrollaron obesidad a los 7.5 años. La incidencia acumulada de obesidad en esta población fue del 10.4%, lo que supone una tasa de incidencia de 13.9 casos/1000 personas-año. Las incidencias acumuladas de obesidad en esta población según las categorías de VEGFb y estratificadas en función del sexo y el IMC aparecen en la tabla 3.

En esta tabla 3 vemos que, aunque existe una tendencia a presentar mayores porcentajes de incidencia de obesidad bajo la categoría de VEGFb_alto en la población completa y estratificada por sexos, las diferencias con respecto a la categoría VEGFb_bajo no son significativas. Del mismo modo, aunque las mujeres parecen presentar tasas de incidencia de obesidad más altas que los hombres, no existen diferencias significativas en función del sexo.

Cuando consideramos la población estratificada según su IMC en sujetos delgados ($IMC < 25 \text{ kg/m}^2$) y con sobrepeso ($IMC = 25-30 \text{ kg/m}^2$), encontramos una incidencia acumulada de obesidad significativamente mayor en aquellos sujetos que tenían sobrepeso basalmente respecto de los individuos delgados, independientemente de la categoría de VEGFb (tabla 3). Del mismo modo, la presencia de obesidad abdominal incrementó significativamente el porcentaje de incidencia acumulada de obesidad en ambas categorías de VEGFb (tabla 3). Por otro lado, dentro de los sujetos delgados, la mayor tasa de incidencia de obesidad la presentaron aquellos incluidos en la categoría mayor de VEGFb (tabla 3).

En la tabla 3 también podemos ver que la incidencia de obesidad disminuye al aumentar la actividad física, siendo el efecto especialmente evidente en las personas con VEGFb elevado. Así como también una actividad física sedentaria se asocia con aumento de incidencia de obesidad en este grupo de personas con VEGFb_alto, en comparación con el grupo de personas con VEGFb_bajo.

Tabla 3 Incidencia acumulada de obesidad en la población en seguimiento y estratificada por sexo, IMC, obesidad abdominal y actividad física en el estudio transversal según las categorías de VEGFb

	N en riesgo	Nuevos casos	IA	IA en grupo VEGFb_bajo	IA en grupo VEGFb_alto	p-valor*
Total	1286	134	10.4%	10.1%	11.1%	0.56
Sexo						
Hombre	524	46	8.8%	7.8%	10%	0.44
Mujer	762	88	11.5%	11.2%	12.2%	0.71
p-valor#			0.16	0.07	0.27	
IMC						
Delgado	498	7	1.4%	0.6%	3.0%	0.04
Sobrepeso	788	127	16.1%	16.4%	15.5%	0.41
p-valor#			<0.001	<0.001	<0.001	
Obesidad central (ATPIII)						
Si	391	83	21.2%	19.7%	23.9%	0.34
No	894	51	5.7%	5.8%	5.6%	0.94
p-valor#			<0.001	<0.001	<0.001	
Actividad física						
Baja	534	63	11.8%	9.8%	17.0%	0.02
Moderada	441	39	8.8%	8.7%	9.1%	0.88
Alta	307	32	10.4%	12.6%	7.8%	0.16
p-valor#			<0.001	0.44	0.01	

IA: Incidencia acumulada.

Categorías VEGFb según punto de corte en población aparentemente sana con seguimiento (VEGFb_bajo ≤ 48 pg/ml; VEGFb_alto >48 pg/ml).

p-valor*: Nivel de significación bilateral para las diferencias según las categorías de VEGFb medido por el test de Chi-cuadrado.

p-valor#: Nivel de significación bilateral para las diferencias según el sexo, las categorías de IMC, Obesidad abdominal ATPIII o Actividad física, según corresponda, medido por el test de Chi-cuadrado.

Los resultados del análisis de asociación multivariante entre las categorías de VEGFb y el riesgo de desarrollar obesidad a los 7.5 años aparecen en la tabla 4. En dicha tabla se presentan los odd ratios e intervalos de confianza para obesidad incidente en función de las categorías de VEGFb calculados en modelos de regresión logística ajustados por diferentes variables metabólicas y de estilo de vida, así como por los términos de interacción entre las categorías de VEGFb y otros posibles factores de riesgo.

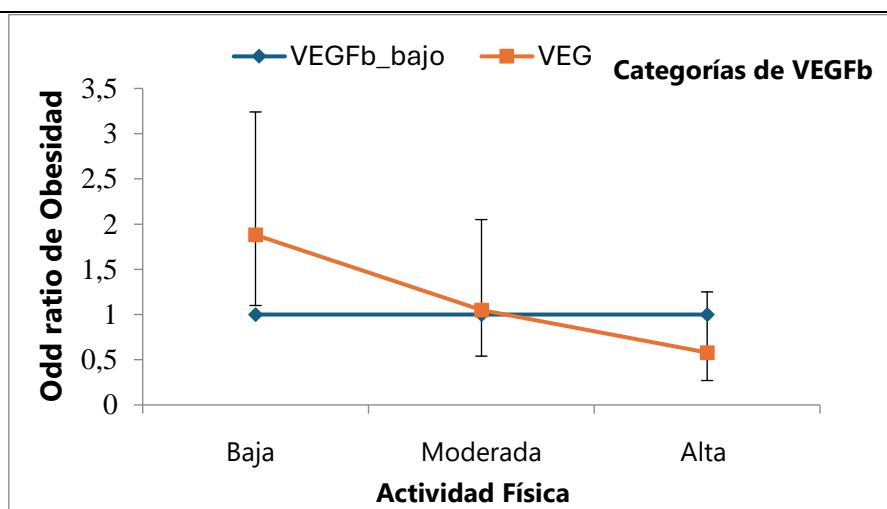
En dicho modelo se pone de manifiesto un aumento en la probabilidad de 2.15 veces de que los sujetos con VEGFb alto desarrollen obesidad comparados con VEGFb bajo, siendo significativa la interacción entre ambos factores. La gráfica 10 muestra cómo el ejercicio tiene efecto únicamente en los sujetos con VEGFb elevado.

Además de las asociaciones mostradas en la tabla 4, también se realizó el análisis de interacción entre las categorías de VEGFb con las variables nivel de estudios, tabaquismo, consumo de alcohol y consumo de frutas con resultados no significativos.

En este estudio encontramos que las categorías de VEGFb se asocian de manera significativa al riesgo de obesidad incidente en el modelo que incluye un término de interacción entre el VEGFb y la actividad física (gráfica 10). Se observa como los sujetos con estilo de vida sedentario, a pesar de encontrarse en la categoría de VEGFb_alto, se asocian con una mayor probabilidad de desarrollar obesidad en el seguimiento, respecto a aquellos sujetos con VEGFb_bajo.

La tendencia, aunque no llega a ser significativa, en sujetos con elevada actividad física, a pesar de pertenecer a la categoría de VEGFb_bajo, no aumenta el riesgo de obesidad.

Gráfica 10. Gráfico de interacción entre las categorías de VEGFb y el nivel de actividad física en la explicación del riesgo (odd ratio) de obesidad incidente.



Las barras de error representan los intervalos de confianza del 95% para las odd ratios (OR).

Tabla 4. Odd Ratio e Intervalo de confianza del 95% de modelos multivariantes de regresión logística binaria para el riesgo de obesidad incidente tras 7.5 años de seguimiento de acuerdo con las categorías de VEGFb.

	VEGFb_alto vs VEGFb_bajo	P'	Interacción	P#
Modelo basal: Obesidad incidente ajustada por edad, sexo e IMC	1.34(0.88-2.05)	0.17		
Modelo basal + HOMA75+VEGFb*HOMA75	1.06(0.64-1.74)	0.81	2.54(0.97-6.61)	0.056
Modelo basal + Dislipemia ^a +VEGFb* Dislipemia	0.79(0.30-2.03)	0.62	1.60(0.58-4.43)	0.36
Modelo basal + Hipertensión ^b +VEGFb* Hipertensión	1.36(0.76-2.44)	0.29	0.80(0.39-1.66)	0.55
Modelo basal + FLI ^c +VEGFb* FLI	1.12(0.47-2.67)	0.80	1.11(0.35-3.48)	0.86
Modelo basal + Dieta y estilo de vida ^d +VEGFb* Aceite	1.45(0.75-2.80)	0.27	0.77(0.31-1.80)	0.51
Modelo basal + Dieta y estilo de vida ^d +VEGFb* Lácteos	1.26(0.59-2.68)	0.54	1.16(0.45-3.47)	0.77
Modelo basal + Dieta y estilo de vida ^d +VEGFb* Actividad física	2.15(1.11-4.16)	0.02	0.26(0.08-0.78)	0.01

IMC: índice de masa corporal en estudio transversal; HOMA75: Categoría de riesgo de insulinoresistencia estimada por el percentil 75 de los valores de la evaluación del modelo homeostático (HOMA) en nuestra población sin DM2; Categorías VEGFb según punto de corte en población aparentemente sana con seguimiento (VEGFb_bajo ≤ 48 pg/ml; VEGFb_alto > 48 pg/ml).

a Dislipemia: LDL ≥ 100 mg/dl, triglicéridos ≥ 150 mg/dl, HDL ≤ 40 mg/dl en hombres y ≤ 50 mg/dl en mujeres o a tratamiento hipolipemiente

b Hipertensión: $\geq 85/130$ mmHg

c Categorías de FLI: alto FLI ≥ 60 y bajo FLI ≤ 30

d Dieta y estilo de vida: Consumo preferente de aceite de oliva, nivel educativo, tabaquismo, frecuencia de consumo de alcohol, lácteos y frutas y actividad física-

*: Término interacción

P': Nivel de significación en modelo de regresión logística binaria de la variable VEGFb

P#: Nivel de significación en modelo de regresión logística binaria del término de interacción

2.2.2. Aumento de perímetro abdominal

Se evaluó la posible asociación entre las categorías de VEGFb y el riesgo a aumentar el perímetro abdominal en al menos un 5% respecto del valor inicial en el estudio transversal. Para ello, se incluyeron en los análisis a aquellos sujetos de nuestra población en seguimiento de los que disponemos tanto del dato de perímetro de cintura basal como a los 7.5 años (n=1905 individuos). De ellos, 611

sujetos (un 12.8% del total) aumentaron su perímetro abdominal un mínimo de un 5% respecto del basal.

Tabla 5 Porcentajes de sujetos que incrementan su cintura al menos un 5% respecto del valor basal en la población en seguimiento y estratificada por sexo, grado de obesidad, metabolismo hidrocarbonado y actividad física en el estudio transversal según las categorías de VEGFb.

	N en riesgo	Aumentan cintura	IA	VEGFb_bajo	VEGFb_alto	p-valor*
Total	1905	611	32.1%	33.7%	29.0%	0.03
Sexo						
Hombre	813	285	35.0%	36.5%	32.9%	0.16
Mujer	1092	326	28.8%	32.0%	25.3%	0.01
p-valor#			0.02	0.11	0.03	
Grado de obesidad						
Delgado	512	186	36.3%	39.0%	37.5%	0.08
Sobrepeso	806	265	32.8%	35.05%	29.4%	0.10
Obesidad	581	158	27.2%	27.5%	26.5%	0.84
p-valor#			0.004	0.03	0.63	
Metabolismo hidrocarbonado (OGTT)						
Normal	1449	480	33.1%	35.4%	29.2%	0.02
Prediabetes	205	63	30.7%	30.2%	31.5%	0.88
Diabetes	251	68	27.1%	28.1%	23.2%	0.50
p-valor#			0.15	0.11	0.55	
Actividad física						
Baja	853	264	30.9%	29.2%	35.2%	0.1
Moderada	644	226	35.1%	39.6%	28.2%	0.003
Alta	404	120	29.7%	36.1%	21.4%	0.001
p-valor#			0.12	0.009	0.002	

IA: Incidencia acumulada. Prediabetes: Incluye glucemia basal alterada, tolerancia alterada a la glucosa o ambas.

Categorías VEGFb según punto de corte en población aparentemente sana con seguimiento (VEGFb_bajo ≤ 48.7 pg/ml; VEGFb_alto > 48.7 pg/ml).

p-valor*: Nivel de significación bilateral para las diferencias según las categorías de VEGFb medido por el test de Chi-cuadrado.

p-valor#: Nivel de significación bilateral para las diferencias según el sexo, las categorías de Grado de obesidad, Metabolismo hidrocarbonado o Actividad física, según corresponda, medido por el test de Chi-cuadrado.

La tabla 5 muestra los porcentajes de sujetos que incrementan su perímetro abdominal en al menos un 5% respecto al valor basal en nuestra población en seguimiento y estratificando por diferentes factores potencialmente asociados a las variaciones en el perímetro de la cintura. El sexo y el grado de obesidad se asocian a los cambios en el perímetro abdominal.

Globalmente los niveles de VEGFb se asocian de manera inversa al incremento de cintura. El análisis estratificado pone de manifiesto el efecto sólo en mujeres, en sujetos con OGTT normal y aquellos con actividad física moderada o alta.

A continuación, evaluamos la posible asociación entre las categorías de VEGFb y el riesgo de incrementar el perímetro abdominal al menos un 5% a los 7.5 años mediante modelos de regresión logística ajustados por diferentes variables metabólicas y de estilo de vida, así como por los términos de interacción entre las categorías de VEGFb y otros posibles factores de riesgo asociados al incremento de cintura. Los resultados de estos modelos aparecen en la tabla 6.

Nuestros resultados muestran que las categorías de VEGFb se asocian de manera significativa al riesgo de incrementar el perímetro abdominal como mínimo un 5% en todos los modelos estudiados excepto en el que incluye entre los ajustes el término interacción entre las categorías de VEGFb y la actividad física (tabla 6) en el que esta interacción es estadísticamente significativa.

En la tabla 6 encontramos además que los términos de interacción entre las categorías de VEGFb y el grado de insulinoresistencia, la presencia de dislipemia, el consumo de lácteos y la actividad física se asocian significativamente con el riesgo de aumentar el perímetro abdominal en el seguimiento por encima del 5% respecto del basal.

Tabla 6. Odd Ratio e Intervalo de confianza del 95% de modelos multivariantes de regresión logística binaria para el riesgo de aumentar el perímetro abdominal un 5% tras 7.5 años de seguimiento de acuerdo con las categorías de VEGFb.

	VEGFb_alto vs VEGFb_bajo	P'	Interacción	P#
Modelo basal: Incremento de perímetro abdominal > 5% ajustado por edad, sexo, IMC y perímetro abdominal en estudio transversal	0.77(0.62-0.97)	0.02		
Modelo basal + HOMA75+VEGFb*HOMA75	0.68(0.52-0.88)	0.004	1.59(0.96-2.62)	0.07
Modelo basal + Dislipemia ^a +VEGFb* Dislipemia	0.47(0.28-0.80)	0.006	1.79(1.01-3.22)	0.04
Modelo basal + Hipertensión ^b +VEGFb* Hipertensión	0.68(0.48-0.97)	0.03	1.23(0.79-1.93)	0.35
Modelo basal + FLI ^c +VEGFb* FLI	0.69(0.49-0.97)	0.03	1.16(0.71-1.90)	0.54
Modelo basal + Dieta y estilo de vida ^d +VEGFb* Aceite	0.71(0.51-0.97)	0.03	1.20 (0.78-1.83)	0.39
Modelo basal + Dieta y estilo de vida ^d +VEGFb* Lácteos	0.54(0.37-0.79)	0.002	1.71(1.01-2.81)	0.04
Modelo basal + Dieta y estilo de vida ^d +VEGFb* Fruta	0.59(0.38-0.90)	0.01	1.62(0.88-3.01)	0.12
Modelo basal + Dieta y estilo de vida ^d +VEGFb* Tabaco	0.69(0.51-0.95)	0.02	1.46(0.73-2.92)	0.27
Modelo basal + Dieta y estilo de vida ^d +VEGFb* Actividad física	1.30(0.93-1.80)	0.12	0.37(0.21-0.65)	0.001

IMC: índice de masa corporal en estudio transversal; HOMA75: Categoría de riesgo de insulino resistencia estimada por el percentil 75 de los valores de la evaluación del modelo homeostático (HOMA) en nuestra población sin DM2; Categorías VEGFb según punto de corte en población aparentemente sana con seguimiento (VEGFb_bajo ≤48'7pg/ml; VEGFb_alto >48'7pg/ml).

*: Término interacción

^aDislipemia: LDL ≥100mg/dl, triglicéridos ≥150mg/dl, HDL ≤40mg/dl en hombres y ≤50mg/dl en mujeres o a tratamiento hipolipemiente

^bHipertensión: ≥ 85/130 mmHg

^cCategorías de FLI: alto FLI ≥60 y bajo FLI ≤30

^dDieta y estilo de vida: Consumo preferente de aceite de oliva, nivel educativo, tabaquismo, frecuencia de consumo de alcohol, lácteos y frutas y actividad física

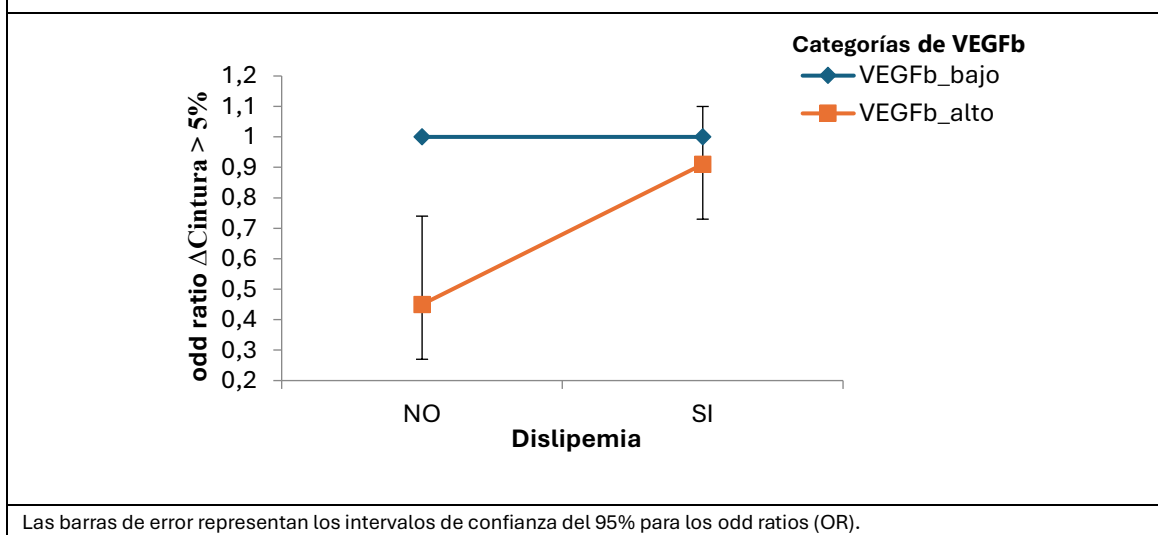
P': Nivel de significación en modelo de regresión logística binaria de la variable VEGFb.

P#: Nivel de significación en modelo de regresión logística binaria del término de interacción.

2.2.2.1. Interacción entre categorías de VEGFb y factores de riesgo en el incremento de perímetro abdominal.

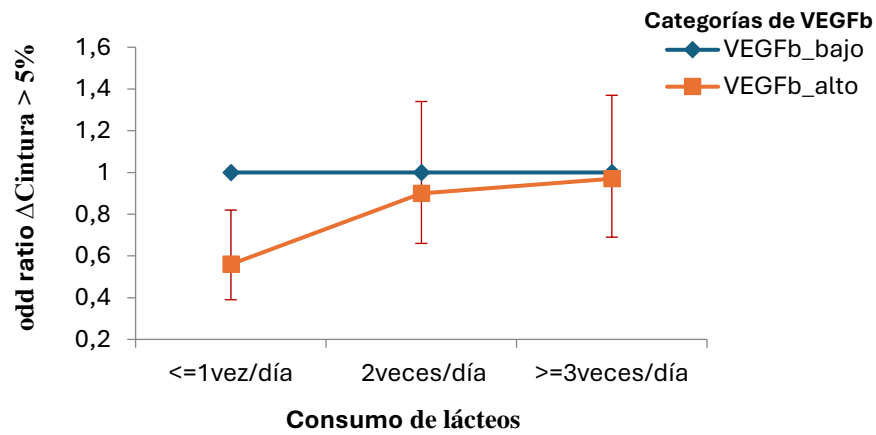
En la gráfica 11 se observa una menor probabilidad de aumentar la cintura por encima del 5% en aquellos sujetos con VEGFb alto respecto de los que tienen VEGFb bajo sólo cuando los individuos no tienen dislipemia (OR 0.45; IC [0.27-0.73]). Si los sujetos tienen dislipemia, los niveles de VEGFb no se asocian al riesgo de incrementar el perímetro de cintura.

Gráfica 11. Gráfico de interacción entre las categorías de VEGFb y la presencia de dislipemia en la explicación del riesgo (odd ratio) de incrementar el perímetro abdominal por encima del 5%.



En la gráfica 12 aparecen reflejados los resultados de los estudios de interacción entre las categorías de VEGFb y el consumo diferencial de lácteos. En ella podemos ver que sólo los sujetos que consumen lácteos 1 o menos veces al día, es decir, los que presentan el menor consumo de lácteos, las categorías de VEGFb se asocian al riesgo de aumentar la cintura por encima del 5% respecto del valor basal, de modo que aquellos sujetos con niveles de VEGFb_alto presentaron una menor probabilidad de aumentar la cintura que los que tienen niveles de VEGFb bajo (OR 0.56; IC [0.39-0.82]).

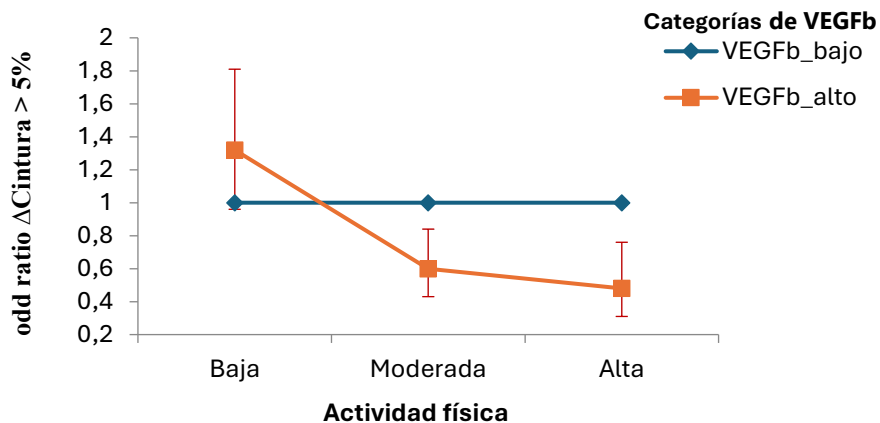
Gráfica 12. Gráfico de interacción entre las categorías de VEGFb y los hábitos de consumo de lácteos en la explicación del riesgo (odd ratio) de incrementar el perímetro abdominal por encima del 5%.



Las barras de error representan los intervalos de confianza del 95% para los odd ratios (OR).

A continuación, se evaluó la interacción encontrada entre las categorías de VEGFb y el grado de actividad física (IPAQ) en la explicación del riesgo de incrementar la cintura un mínimo de un 5% a los 7.5 años y la gráfica 13 muestra como la realización de una actividad física moderada o alta disminuye la probabilidad de incrementar la cintura en los sujetos de la categoría VEGFb_alto, respecto de los de la categoría VEGFb_bajo.

Gráfica 13. Gráfico de interacción entre las categorías de VEGFb y el grado de actividad física en la explicación del riesgo (odd ratio) de incrementar el perímetro abdominal por encima del 5%.



Las barras de error representan los intervalos de confianza del 95% para los odd ratios (OR).

2.2.3. Hipertensión

Los resultados del estudio de incidencia de hipertensión en el estudio di@bet.es han sido previamente publicados en un artículo propio, con relación a la exposición de partículas contaminantes del aire (Doulatram-Gamgaram, 2021). En ese trabajo se comprobó que un total de 1103 sujetos no presentaban hipertensión inicialmente, de los cuales 282 la desarrollaron en los 7.5 años de seguimiento; esto supone una incidencia acumulada de hipertensión en esta población del 25.56%. Los datos de incidencia aparecen en la gráfica 14.

Respecto a las características generales de la población aparecen en el artículo anteriormente mencionado (Doulatram-Gamgaram, 2021) así que las resumiremos aquí indicando que el rango medio de edad iba desde los 18 a 83 años, el porcentaje de mujeres fue del 63.4%. La mayoría de la población era caucásica. El nivel educacional, la proporción de fumadores, los hábitos de bebida, la adherencia a la dieta mediterránea, la actividad física y el IMC estaban dentro de los rangos esperados de acuerdo con el *background* de esta población.

	PM 10 (µg/l)					PM 10	
	12.21-16.95	16.96-20.00	20.01-22.79	22.80-30.18	p for trend	Per 5-µg/m ³ increment	p
Number at risk	278	280	279	266			
Number developing HT	63	61	74	84			
OR no weighting (95% CI)	1 (reference)	0.95 (0.64-1.42)	1.23 (0.84-1.81)	1.58 (1.08-2.31)	0.008	1.22 (1.02-1.45)	0.026
OR with IPW* (95% CI)	1 (reference)	0.82 (0.59-1.14)	1.28 (0.93-1.78)	1.45 (1.05-2.01)	0.003	1.22 (1.06-1.41)	0.007
	PM 2.5 (µg/l)					PM 2.5	
	7.25-9.31	9.32-10.77	10.78-11.79	11.80-16.49	p for trend	Per 5-µg/m ³ increment	p
Number at risk	280	275	279	269			
Number developing HT	68	60	68	86			
OR no weighting (95% CI)	1 (reference)	0.87 (0.59-1.29)	1.00 (0.68-1.48)	1.47 (1.01-2.13)	0.032	1.36 (0.99-1.88)	0.06
OR with IPW* (95% CI)	1 (reference)	0.80 (0.57-1.13)	1.11 (0.80-1.53)	1.48 (1.09-2.00)	0.004	1.39 (1.07-1.81)	0.02

Gráfica 14. Incidencia de hipertensión de acuerdo con la exposición de partículas PM¹⁰ y PM^{2.5} tomada del artículo "Association between long term exposure to particulate matter and incident hypertension in Spain" Doulatram-Gamgaram A et al. Sci Rep (2020) 11:19702. Tasas de incidencia y razones de probabilidades (odd ratios) brutas y ajustadas por múltiples variables para desarrollar hipertensión según las concentraciones de PM¹⁰ y PM^{2.5} durante el seguimiento (2008-2016). CI: intervalo de confianza; HT: hipertensión; IPAQ: cuestionario internacional de actividad física; IPW: ponderación por probabilidad inversa; MedScore: puntuación dieta mediterránea; PM¹⁰: partículas con diámetro aerodinámico inferior a 10 µm; PM^{2.5}: partículas con diámetro aerodinámico inferior a 2.5 µm; OR: razón de probabilidades (*odd ratios*). *La ponderación por probabilidad inversa (IPW) utilizó como variables de confusión: edad, sexo, etnia, nivel educativo, MedScore, IPAQ, consumo de alcohol, tabaquismo, IMC, niveles de presión arterial al inicio del estudio, temperatura ambiental y humedad.

Como resultado específico de este trabajo de tesis, se evaluó la posible asociación entre las categorías de VEGFb con el riesgo de aparición de hipertensión a los 7.5

años de seguimiento. Estos resultados se muestran en la tabla 7, donde se presentan los datos de odd ratios e intervalos de confianza para el riesgo de hipertensión incidente según las categorías de VEGFb en diferentes modelos de regresión logística, ajustados por variables metabólicas y de estilo de vida, así como por los términos de interacción entre las categorías de VEGFb y otros posibles factores de riesgo que puedan estar relacionados con la aparición de hipertensión en el estudio de seguimiento.

Observamos que el desarrollo de hipertensión no se asoció de manera significativa con las categorías de VEGFb en ninguno de los modelos multivariantes estudiados. Con relación a los términos de interacción, tampoco encontramos ninguna interacción significativa que explique el riesgo de incidencia de hipertensión entre los niveles de VEGFb y otros posibles factores de riesgo como el sexo, la presencia de insulinoresistencia, dislipemia, esteatosis hepática y variables de dieta y estilo de vida (tabla 7).

Tabla 7. Odd Ratio e intervalo de confianza del 95% de modelos multivariantes de regresión logística binaria para el riesgo de hipertensión incidente tras 7.5 años de seguimiento de acuerdo con las categorías de VEGFb.

	VEGFb_alto vs VEGFb_bajo	P'	Interacción	P#
Modelo basal: Hipertensión incidente ajustada por edad, sexo, IMC, TAS y TAD	1.10(0.77-1.56)	0.60		
Modelo basal + HOMA75+VEGFb*HOMA75	1.10(0.74-1.62)	0.63	1.01(0.40-2.56)	0.98
Modelo basal + Dislipemia ^a +VEGFb* Dislipemia	1(0.48-2.06)	0.99	1.13(0.48-2.06)	0.77
Modelo basal + FLI ^b +VEGFb* FLI	1.25(0.75-2.10)	0.38	0.60(0.38-2.08)	0.26
Modelo basal + Dieta y estilo de vida ^c +VEGFb* Aceite	0.92(0.54-1.57)	0.76	1.37(0.65-2.85)	0.40
Modelo basal + Dieta y estilo de vida ^c +VEGFb* Lácteos	0.90(0.74-1.70)	0.75	1.16(0.48-2.85)	0.73
Modelo basal + Dieta y estilo de vida ^c +VEGFb* Actividad física	1.21(0.67-2.17)	0.51	0.95(0.36-2.46)	0.91

IMC: índice de masa corporal en estudio transversal; HOMA75: Categoría de riesgo de insulino resistencia estimada por el percentil 75 de los valores de la evaluación del modelo homeostático (HOMA) en nuestra población sin DM2; Categorías VEGFb según punto de corte en población aparentemente sana con seguimiento (VEGFb_bajo ≤48'7pg/ml; VEGFb_alto >48'7pg/ml). *: Término interacción; ^a Dislipemia: LDL ≥100mg/dl, triglicéridos ≥150mg/dl, HDL ≤40mg/dl en hombres y ≤50mg/dl en mujeres o a tratamiento hipolipemiente; ^b Categorías de FLI: alto FLI ≥60 y bajo FLI ≤30; ^c Dieta y estilo de vida: Consumo preferente de aceite de oliva, tabaquismo, frecuencia de consumo de lácteos y frutas y actividad física. P': Nivel de significación en modelo de regresión logística binaria de la variable VEGFb. P#: Nivel de significación en modelo de regresión logística binaria del término de interacción.

Además de las mostradas en la tabla 7, se realizó el análisis de interacción entre las categorías de VEGFb con otras variables de estilo de vida como el nivel de estudios, tabaquismo, consumo de alcohol y consumo de frutas con resultados no significativos.

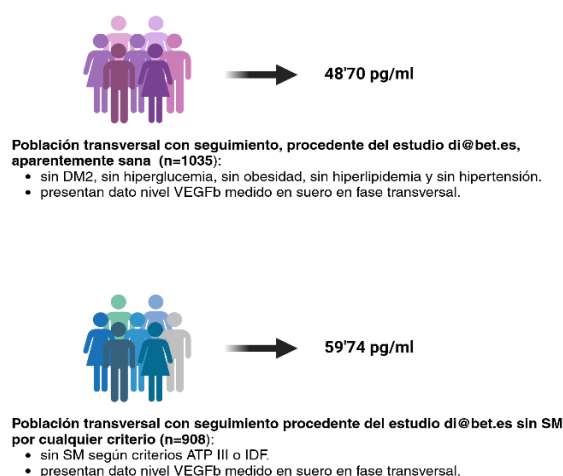
2.2.4. Síndrome metabólico

A continuación, se describen los resultados respecto de la asociación entre los niveles de VEGFb y el desarrollo de síndrome metabólico y sus componentes en el estudio Di@bet.es, los cuales han sido publicados en otro artículo propio (Lago-Sampedro, 2022). Los resultados que se describen a continuación son los que se presentan en dicho artículo y avalan la presente tesis.

Se tuvo en cuenta las posibles diferencias en los datos de incidencia de síndrome metabólico y sus componentes introducidas por la existencia de diferentes criterios diagnósticos. Concretamente se valoraron los datos de incidencia de síndrome metabólico diagnosticado según los criterios de *la International Diabetic Federation* (IDF) y del *National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III* (ATP-III). Brevemente, las principales diferencias entre ambos criterios es que la IDF considera la existencia de obesidad abdominal como prerrequisito para el diagnóstico de síndrome metabólico y el punto de corte usado para definir la obesidad abdominal en cada caso (puntos de corte_IDF: σ =94 cm y φ =80 cm; Puntos de corte_ATP-III: σ =102 cm y φ =88 cm).

En nuestro artículo podemos ver que 908 individuos con una media de edad de 45 años (rango de edad de 18 a 57 años) y un porcentaje de hombres del 36.9% estaban libres de síndrome metabólico por cualquier criterio (ATP-III ni IDF) en el estudio transversal. En la gráfica 15 se representa el diagrama de flujo de esta subpoblación. Se calculó el percentil 75 de la distribución de valores de VEGFb de esta población específica de sujetos, de ahí que el punto de corte para definir las categorías de VEGFb no coincidan exactamente con el presentado en los resultados anteriores como valor de referencia en población sana. Así, el punto de

corte de las categorías de bajos y altos niveles de VEGFb para este artículo fue de 59.74 pg/ml.



Gráfica 15. Puntos de corte percentil 75 para categorizar según presencia de VEGFb alto y bajo empleados en subpoblación aparentemente sana y en subpoblación sin síndrome metabólico empleado en el artículo Lago-Sampedro A, 2022. Se calcula el p75 de la distribución de valores de VEGFb en cada subpoblación para emplearlo como punto de corte diferenciador de categoría presencia de VEGFb_alto (datos por encima del punto de corte) y VEGFb_bajo (datos por debajo del punto de corte).

Las características basales de la población de acuerdo con las categorías de VEGFb (VEGFb_bajo y VEGFb_alto) ajustada por edad, sexo e IMC, según corresponda, se presentan en la gráfica 16.

	Low_VEGFb (n = 681)	High_VEGFb (n = 227)	p value*
Age (years)	43.65 ± 13.33	49.23 ± 14.34	<0.001
Sex (% men)	34.8	43.2	0.02
BMI (Kg/m2)	26.11 ± 4.10	26.21 ± 3.74	0.11
Waist circumference (cm)	87.68 ± 12.16	89.49 ± 11.61	0.54
Fasting glucose (mg/dl)	88.80 ± 12.04	89.20 ± 13.11	0.53
Fasting insulin (mU/dl)	7.14 ± 4.59	7.12 ± 3.71	0.65
HOMA index	1.38 (0.96–1.91)	1.43 (1.02–1.87)	0.81
Total cholesterol (mg/dl)	193.85 ± 35.20	200.38 ± 36.16	0.39
HDL cholesterol (mg/dl)	55.67 ± 11.95	54.88 ± 12.24	0.30
LDL cholesterol (mg/dl)	103.54 ± 29.21	107.79 ± 27.62	0.58
Triacylglycerides (mg/dl)	84.1 (64.7–108.9)	91.2 (73.7–116.0)	0.008
Systolic blood pressure (mmHg)	123.25 ± 16.70	123.49 ± 16.25	0.004
Diastolic blood pressure (mmHg)	73.29 ± 9.38	73.69 ± 8.94	0.172
hs-CRP	1.1 (0.57–3.4)	1.4 (0.7–3.1)	0.008
SF-IPAQ score			0.005
Low %(CI%)	42.2 (38.5–45.9)	34.1 (27.9–40.3)	
Moderate %(CI%)	36.0 (32.4–39.6)	33.6 (27.5–39.7)	
High %(CI%)	21.8 (18.7–24.9)	32.3 (26.2–38.4)	

Gráfica 16. Características generales de la población en riesgo de síndrome metabólico de acuerdo con las categorías de VEGFb, tomada del artículo “Serum vascular endothelial growth factor b and metabolic syndrome incidence in the population based cohort di@bet.es study” Lago-Sampedro A et al. Int. J. Ob. (2022) 46:2013-2020. Los datos se presentan como Media ± desviación estándar, mediana (percentil 25–75) o proporciones (intervalo de confianza). *Las diferencias según las categorías de VEGFb se analizaron mediante un modelo lineal generalizado univariado ajustado por sexo, edad e IMC, o mediante la prueba Chi-cuadrado. VEGFb: factor de crecimiento endotelial vascular b, IMC: índice de masa corporal, HDL: lipoproteína de alta densidad, LDL: lipoproteína de baja densidad, HOMA: modelo de evaluación de homeostasis, PCRus: proteína C reactiva de alta sensibilidad, SF-IPAQ score: puntuación de la versión corta del Cuestionario Internacional de Actividad Física.

En la tabla que aparece en esta gráfica 16 se observa como el número de sujetos de la categoría VEGFb_alto en esta población eran mayores y con un mayor porcentaje de hombres que aquellos con niveles más bajos de VEGFb. Los niveles séricos de triglicéridos y PCRus, así como la presión sistólica se encontraban elevados en los sujetos incluidos en la categoría de VEGFb_alto. La actividad física también fue diferente en base a las categorías de VEGFb. Ninguna de las otras variables estudiadas presentó diferencias según las categorías de VEGFb.

Tras 7.5 años de seguimiento, 181 individuos desarrollaron síndrome metabólico según los criterios diagnósticos de la IDF, mientras que según el criterio diagnóstico de la ATP-III fueron 146 los nuevos casos de síndrome metabólico en el seguimiento (gráfica 17). La proporción nuevos casos de síndrome metabólico según criterios de la ATP-III fue menor en los sujetos incluidos en la categoría VEGFb_alto, sin embargo, esta diferencia no alcanzó significación cuando el criterio diagnóstico de síndrome metabólico aplicado era el de la IDF (gráfica 17).

El análisis de la incidencia de síndrome metabólico estratificado por actividad física mostró que aquellas personas con un mayor grado de sedentarismo presentaban una mayor incidencia de síndrome metabólico si se encontraban en la categoría VEGFb_alto, aunque esta diferencia no alcanzase significación independientemente del criterio diagnóstico utilizado. Por otro lado, las personas que realizaban actividad física moderada o alta presentaron una incidencia de síndrome metabólico significativamente menor si se encontraban en la categoría VEGFb_alto (gráfica 17).

Los resultados del análisis multivariante para el riesgo de desarrollo de síndrome metabólico en 7.5 años mostraron que, para ambos criterios diagnósticos IDF y ATP-III, la presencia de la categoría VEGFb_alto fue un factor protector independiente para el desarrollo de síndrome metabólico. Este efecto fue altamente significativo en el caso del uso del criterio de la ATP-III de síndrome metabólico (gráfica 18), tanto para el modelo con el mínimo ajuste (modelo 1) como para el modelo completo, donde la PCRus y la actividad física se habían tenido en cuenta como covariables. El modelo 4 también incluyó el término interacción entre

las categorías de VEGFb y las de actividad física, el cual resultó ser no significativo y no alteraba las relaciones entre el resto de las variables.

	All population			Low VEGFb group	High VEGFb group	p value*
	N at risk	New cases	Incidence (%(CI%))	Incidence (%(CI%))	Incidence (%(CI%))	
IDF	908	181	19,9 (17.3–22.5)	20,7 (18.1–23.3)	17,6 (15.1–20.1)	0.33
ATP-III	908	146	16,1 (13.7–18.5)	17,6 (15.3–20.2)	11,01 (9.0–13.0)	0.01
Low physical activity						
IDF	365	82	22,5 (18.2–26.8)	21,6 (17.4–25.8)	26,0 (21.5–30.5)	0.2
ATP-III	365	64	17,5 (13.6–21.4)	16,7 (12.9–20.5)	20,8 (16.6–25.0)	0.2
Moderate physical activity						
IDF	322	65	20,2 (15.8–24.6)	20,8 (16.4–25.2)	18,4 (14.2–22.6)	0.4
ATP-III	322	54	16,8 (12.7–20.9)	19,6 (15.3–23.9)	7,9 (7.4–8.3.4)	0.01
High physical activity						
IDF	221	73	15,4 (10.6–20.2)	18,9 (13.7–24.1)	8,2 (4.6–11.8)	0.03
ATP-III	221	28	12,7 (8.3–17.1)	16,9 (12.0–21.8)	4,1 (1.5–6.7)	0.004

Gráfica 17. Incidencia acumulativa de síndrome metabólico en la población total en riesgo y estratificada según niveles de actividad física de acuerdo con las categorías de VEGFb, tomada del artículo “Serum vascular endothelial growth factor b and metabolic syndrome incidence in the population based cohort di@bet.es study” Lago-Sampedro A et al. Int. J. Ob. (2022) 46:2013-2020.

*Valor de p para las diferencias según las categorías de VEGFb, medido mediante la prueba de Chi-cuadrado.

CI: intervalo de confianza, VEGFb: factor de crecimiento endotelial vascular b, IDF: Federación Internacional de Diabetes, ATP-III: Panel de Tratamiento para Adultos III del Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol.

	IDF criteria		ATP-III criteria	
	OR (95%CI)	p value	OR (95%CI)	p value
Model 1 ^a				
High_VEGFb vs Low VEGFb	0.65 (0.43–1.006)	0.053	0.45 (0.27–0.75)	0.002
Model 2 ^b				
High_VEGFb vs Low VEGFb	0.61 (0.39–0.96)	0.035	0.38 (0.23–0.65)	<0,001
Model 3 ^c				
High_VEGFb vs Low VEGFb	0.65 (0.41–1.02)	0.066	0.41 (0.24–0.70)	0.001
Model 4 ^d				
High_VEGFb vs Low VEGFb	0.79 (0.47–1.31)	0.4	0.51 (0.29–0.93)	0.03

Gráfica 18. Odd ratios e intervalos de confianza al 95% de los modelos de regresión logística para el riesgo de síndrome metabólico incidente según los niveles séricos de VEGFb en el estudio transversal, tomados del artículo “Serum vascular endothelial growth factor b and metabolic syndrome incidence in the population based cohort di@bet.es study” Lago-Sampedro A et al. Int. J. Ob. (2022) 46:2013-2020.

^a Razones de probabilidades (odds ratios) calculadas mediante regresión logística ajustada por sexo, edad e IMC.

^b Razones de probabilidades calculadas mediante regresión logística ajustada por sexo, edad, circunferencia de cintura, presión arterial sistólica, presión arterial diastólica, triglicéridos séricos, glucosa en ayunas y niveles de colesterol HDL.

^c Razones de probabilidades calculadas mediante regresión logística ajustada por las mismas variables que en el modelo 2, más proteína C reactiva de alta sensibilidad (PCRus) y actividad física (categorías del IPAQ).

^d Razones de probabilidades calculadas mediante regresión logística ajustada por las mismas variables que en el modelo 3, más un término de interacción entre los niveles de VEGFb y la actividad física (categorías del IPAQ).

Por otro lado, los resultados del análisis multivariante para el riesgo de desarrollo de los diferentes componentes del síndrome metabólico (gráfica 19) mostraron que las categorías de VEGFb estaban significativamente asociadas con la aparición de obesidad abdominal según criterios de la ATP-III, donde los sujetos con VEGFb_bajo presentaban hasta 7 veces más probabilidades de desarrollar obesidad abdominal que aquellos incluidos en la categoría de VEGFb_alto. Sin embargo, cuando se aplicaba el criterio de la IDF para diagnosticar la obesidad

abdominal, la diferencia según las categorías de VEGFb no llegaba a ser significativa. Ninguno de los otros componentes del síndrome metabólico estuvo significativamente asociado a las categorías de VEGFb en ninguno de los modelos estudiados.

	High_VEGFb vs Low_VEGFb Minimal adjusted		High_VEGFb vs Low_VEGFb Full adjusted	
	OR(95%CI)	p	OR(95%CI)	p
Abdominal obesity_IDF ^a	0.71 (0.41–1.25)	0.2	0.70 (0.39–1.25)	0.2
Abdominal obesity_ATP ^a	0.14 (0.03–0.61)	0.009	0.11 (0.02–0.5)	0.005
Hypertriglyceridemia ^b	0.87 (0.52–1.49)	0.6	0.91 (0.52–1.59)	0.7
Low HDL cholesterol ^c	0.691 (0.376–1.269)	0.234	0.65 (0.34–1.24)	0.1
Hypertension ^d	0.899 (0.566–1.427)	0.652	0.91 (0.56–1.45)	0.6
Hyperglycemia ^e	0.763 (0.494–1.178)	0.222	1.01 (0.65–1.58)	0.9

Gráfica 19. Odd ratios e intervalos de confianza al 95% de los modelos de regresión logística para el riesgo de desarrollar los componentes del síndrome metabólico según los niveles séricos de VEGFb en el estudio transversal, tomados del artículo “Serum vascular endothelial growth factor b and metabolic syndrome incidence in the population based cohort di@bet.es study” Lago-Sampedro A et al. Int. J. Ob. (2022) 46:2013-2020.

^a Subpoblación: Sujetos sin obesidad abdominal según cualquiera de los criterios de ATPIII o IDF al inicio del estudio. Ajuste mínimo: Ajustado por edad, sexo y circunferencia de cintura en el estudio transversal.

^b Subpoblación: Sujetos sin hipertrigliceridemia al inicio del estudio. Ajuste mínimo: Ajustado por edad, sexo y niveles de triglicéridos en ayunas en el estudio transversal.

^c Subpoblación: Sujetos sin niveles bajos de colesterol HDL al inicio del estudio. Ajuste mínimo: Ajustado por edad, sexo y niveles de colesterol HDL en ayunas en el estudio transversal.

^d Subpoblación: Sujetos sin hipertensión al inicio del estudio. Ajuste mínimo: Ajustado por edad, sexo, y presión arterial sistólica y diastólica en el estudio transversal.

^e Subpoblación: Sujetos sin hiperglucemia al inicio del estudio. Ajuste mínimo: Ajustado por edad, sexo, niveles de glucosa basal y en ayunas al inicio del estudio. Ajuste completo: Ajustado además por niveles séricos de PCR-us y actividad física (categorías del IPAQ).

VEGFb: Factor de crecimiento endotelial vascular b. IDF: Federación Internacional de Diabetes. ATP-III: Panel de Tratamiento para Adultos III del Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol. HDL: Lipoproteína de alta densidad. OR: Razón de probabilidades (odd ratios). CI: Intervalo de confianza.

2.2.5. Diabetes mellitus tipo 2

Los resultados del estudio de incidencia de diabetes en esta población han sido previamente publicados en un artículo propio (Rojo-Martínez, 2020). En ese trabajo se observó que de un total de 2405 sujetos de nuestra población en seguimiento que no presentaban diabetes inicialmente, 154 personas desarrollaron la enfermedad en los 7.5 años de seguimiento (Rojo-Martínez, 2020).

La incidencia acumulada de diabetes en esta población fue del 6.4%, con una incidencia de diabetes ajustada por edad, sexo y forma de diagnóstico de la enfermedad de 11.6 casos/1000 personas-año ((IC95% = 11.1–12.1).

La presencia de prediabetes y obesidad central en el estudio transversal, el incremento de peso a los 7.5 años, los antecedentes familiares de diabetes, la edad y el sexo fueron los principales factores de riesgo asociados al desarrollo de la

enfermedad (gráfica 20). Así, la incidencia de diabetes aumentó con la edad de los individuos y los odd ratios para el desarrollo de diabetes fueron casi 3 veces mayor en hombres que en mujeres y casi el doble entre los que presentaban antecedentes familiares de diabetes respecto de los que no, ajustados por el resto de las variables de estudio (gráfica 19). Respecto a la glucemia basal alterada y la tolerancia alterada a la glucosa, se asociaron al riesgo de diabetes tanto por sí solas como en combinación e interaccionando con el sexo de los sujetos (gráfica 20); y si bien la presencia de obesidad y obesidad central se relacionaron con un mayor riesgo de desarrollo de diabetes, el sobrepeso por sí sólo no alcanzó significación en el estudio de asociación, aunque sí existía un gradiente de riesgo como pone de manifiesto la p de tendencia significativa (gráfica 20). Otras variables como la presión arterial, la actividad física, la adherencia a la dieta mediterránea o la dislipemia no alcanzaron asociación significativa.

	N° at risk	n° developing diabetes	person/years	Incidence rate per 1000 person-years (95% CI)	OR ^a (95% CI)	OR ^b (95% CI)
All sample	2408	156	18088	8.6 (7.3–10.1)	—	—
Sex						
Women	1451	81	10883	7.4 (5.9–9.3)	Ref. cat.	Ref. cat.
Men	957	75	7205	10.4 (8.2–13)	1.5 (1.1–2.1)	2.7 (1.6–4.5)
OGTT result						
Normoglycemia	2115	75	15892	4.7 (3.7–5.9)	Ref. cat.	Ref. cat.
Isolated IGT	154	35	1156	30.3 (21.1–42.1)	10.8 (5.7–20.2)	7.9 (4–15.5)
Isolated IFG	102	27	761	35.5 (23.4–51.6)	14.4 (7.5–27.6)	11.7 (5.9–23.3)
Combined IFG-IGT	37	19	278	68.3 (41.1–106.6)	42.3 (16.3–109.5)	48.8 (17.1–139.8)
P for trend					<0.0001	<0.0001
Obesity						
BMI < 25 kg/m ²	749	15	5628	2.7 (1.5–4.4)	Ref. cat.	Ref. cat.
BMI 25–30 kg/m ²	1018	57	7662	7.4 (5.6–9.6)	1.9 (0.9–3.9)	1.2 (0.6–2.3)
BMI ≥ 30 kg/m ²	626	82	4691	17.5 (13.9–21.7)	4.6 (2.3–9.2)	2.3 (1.1–4.6)
P for trend					<0.0001	<0.0001
Central obesity (Waist ≥94 cm in men and ≥80 cm in women)						
No	718	8	5400	1.5 (0.6–2.9)	Ref. cat.	Ref. cat.
Yes	1677	146	12596	11.6 (9.8–13.6)	10.6 (2.6–43.5)	3.4 (1.5–7.8)
Family History of diabetes (first-degree relatives)						
No	1569	73	11794	6.2 (4.9–7.8)	Ref. cat.	Ref. cat.
Yes	839	83	6294	13.2 (10.5–16.3)	2.4 (1.5–3.9)	2.3 (1.6–3.3)

Gráfica 20. Incidencia de diabetes de acuerdo con los principales factores de riesgo presentes en el estudio transversal, tomada del artículo “Incidence of diabetes mellitus in Spain as results of the nation-wide cohort di@bet.es study” Rojo-Martínez et al. Sci Rep (2020) 10:2765.

^a Las razones de probabilidades (ORs) se calcularon para cada variable mediante regresión logística ajustada por edad y sexo (el sexo fue ajustado por edad).

^b Las ORs se calcularon utilizando un único modelo de regresión logística (todas las variables enumeradas se introdujeron en el análisis simultáneamente) y, además, se ajustaron por la presencia de hipertensión arterial, nivel de actividad física (IPAQ), nivel educativo y puntuación de adherencia a la dieta mediterránea. Ref. cat. = Categoría de referencia.

Para este trabajo de tesis se estudiaron específicamente los niveles de VEGFb como posible factor de riesgo asociado a la aparición de diabetes. Nuestros hallazgos indican que el riesgo de diabetes incidente es independiente de las categorías de VEGFb, no habiendo encontrado asociación significativa en ninguno de los modelos multivariantes estudiados (tabla 8). En la tabla 8 se presentan los datos de odd ratios e intervalos de confianza para el riesgo de diabetes incidente según las categorías de VEGFb en diferentes modelos de regresión logística estudiados y ajustados por variables metabólicas y de estilo de vida, así como los términos de interacción entre las categorías de VEGFb y otros posibles factores de riesgo de diabetes incidente.

Tabla 8. Odd Ratio e Intervalo de confianza del 95% de modelos multivariantes de regresión logística binaria para el riesgo de diabetes incidente tras 7.5 años de seguimiento de acuerdo con las categorías de valores de referencia de VEGFb.

	VEGFb_alto vs VEGFb_bajo	P'	Interacción	P#
Modelo basal: DM2 incidente ajustada por edad, sexo, IMC, GB y antecedentes familiares de DM2	1.18(0.81-1.71)	0.35		
Modelo basal + HOMA75+VEGFb*HOMA75	1.22(0.73-2.03)	0.44	0.94(0.45-1.98)	0.88
Modelo basal + Dislipemia ^a +VEGFb* Dislipemia	1.89(0.61-5.87)	0.27	0.56(0.17-1.85)	0.34
Modelo basal + hipertensión ^b +VEGFb* hipertensión	1.58(0.74-3.36)	0.23	0.64(0.26-1.55)	0.33
Modelo basal + FLI ^c +VEGFb* FLI	1.59(0.59-4.29)	0.36	0.87(0.29-2.60)	0.81
Modelo basal + Dieta y estilo de vida ^d +VEGFb* Aceite	1.12(0.61-2.07)	0.71	1.02(0.47-2.21)	0.96
Modelo basal + Dieta y estilo de vida ^d +VEGFb* Lácteos	1.15(0.59-2.24)	0.68	0.99(0.37-2.65)	0.99
Modelo basal + Dieta y estilo de vida ^d +VEGFb* Actividad física	1.15(0.62-2.12)	0.65	0.98(0.34-2.80)	0.97

DM2: Diabetes mellitus tipo 2; IMC: índice de masa corporal en estudio transversal; GB: Glucemia basal en estudio transversal; HOMA75: Categoría de riesgo de insulino resistencia estimada por el percentil 75 de los valores de la evaluación del modelo homeostático (HOMA) en nuestra población sin DM2; Categorías VEGFb según punto de corte en población aparentemente sana con seguimiento (VEGFb_bajo ≤ 48 pg/ml; VEGFb_alto > 48 pg/ml).

^a Dislipemia: LDL ≥ 100 mg/dl, triglicéridos ≥ 150 mg/dl, HDL ≤ 40 mg/dl en hombres y ≤ 50 mg/dl en mujeres o a tratamiento hipolipemiente.

^b Hipertensión: $\geq 85/130$ mmHg.

^c Categorías de FLI: alto FLI ≥ 60 y bajo FLI ≤ 30 .

^d Dieta y estilo de vida: Consumo preferente de aceite de oliva, nivel educativo, tabaquismo, frecuencia de consumo de alcohol, lácteos y frutas y actividad física.

*: Término interacción.

P': Nivel de significación en modelo de regresión logística binaria de la variable VEGFb.

P#: Nivel de significación en modelo de regresión logística binaria del término de interacción.

Con relación a los términos de interacción, la tabla 8 también nos muestra que no encontramos ninguna interacción significativa que explique el riesgo de incidencia de diabetes entre los niveles de VEGFb y otros posibles factores de riesgo como el sexo, la presencia de insulinoresistencia, dislipemia, hipertensión, esteatosis hepática y variables de dieta y estilo de vida.

Además de las mostradas en la tabla 8, se realizó el análisis de interacción entre las categorías de VEGFb con las variables nivel de estudios, tabaquismo, consumo alcohol y consumo de frutas con resultados no significativos.

2.2.6. Enfermedad hepática: aumento del marcador FLI

En este trabajo de tesis nos propusimos evaluar si los niveles de VEGFb se asocian al riesgo de desarrollar esteatosis hepática estimada por el marcador FLI (índice de hígado graso del inglés, “*fatty liver index*”).

Los resultados sobre el marcador FLI y sus categorías en el estudio Di@bet.es se han publicado previamente en relación con su asociación con la aparición de diabetes incidente en otro artículo propio (García-Escobar, 2021).

Para definir la población en seguimiento en riesgo de desarrollar esteatosis hepática, consideramos la presencia de esteatosis como estar incluidos en la categoría de FLI_alto ($FLI > 60$) y la No Esteatosis como pertenecer a la categoría de FLI_bajo ($FLI < 30$). Así tendríamos un total de 733 sujetos incluidos en alguna de estas 2 categorías, que participaron en el estudio de seguimiento y presentan dato para FLI en fase prospectiva. De ellos, 355 sujetos no tenían esteatosis en el estudio transversal, y de estos, 25 la presentaron a los 7.5 años. Esto supone una incidencia acumulada del 7.0%.

Hemos realizado un estudio sobre la asociación de las categorías de VEGFb con el riesgo de aumentar el valor de FLI por encima del 25% a los 7.5 años respecto del nivel basal. De este modo nuestra población de estudio serán 1219 sujetos que hacen seguimiento con dato de FLI basales y a los 7.5 años, de los cuales 353 (el 7.4% del total) tienen un aumento en FLI superior al 25%.

La tabla 9 muestra los porcentajes de sujetos que incrementan FLI por encima del 25% respecto al valor basal en nuestra población en seguimiento, de manera global y según categorías de VEGFb, y estratificando por diferentes factores potencialmente asociados a las variaciones en el estimador FLI y que no están incluidos en su definición.

Tabla 9. Porcentajes de sujetos que incrementan FLI por encima del 25% respecto del valor basal en la población en seguimiento y estratificada por sexo, metabolismo hidrocarbonado, consumo de alcohol y ejercicio físico según las categorías de VEGFb.

	N en riesgo	Aumentan FLI (n)	IA	VEGFb_bajo	VEGFb_alto	p-valor*
Total	1219	353	28.9	30.7	25.5	0.06
Sexo						
Hombre	543	125	23.0	22.9	23.1	0.96
Mujer	676	228	33.7	36.2	28.0	0.04
p-valor#			<0.001	<0.001	0.25	
Metabolismo hidrocarbonado (OGTT)						
Normal	947	310	32.7	35.0	28.6	0.04
Prediabetes	112	22	19.6	25	13.3	0.05
Diabetes	160	21	13.1	13.4	12.1	0.85
p-valor#			<0.001	<0.001	0.004	
Consumo de alcohol						
Nunca	246	87	35.3	39.7	20.0	0.04
Bajo	130	41	31.5	38.3	13.8	0.007
Moderado	659	180	27.3	27.7	26.5	0.75
Alto	183	45	24.6	22.8	26.8	0.52
p-valor#			0.04	<0.001	0.76	
Actividad física						
Baja	535	144	26.9	26.4	28.1	0.69
Moderada	433	134	30.9	34.4	25.4	0.04
Alta	249	75	30.1	34.9	22.6	0.03
p-valor#			0.35	0.01	0.32	

IA: Incidencia acumulada. Prediabetes: Incluye glucemia basal alterada, tolerancia alterada a la glucosa o ambas. Categorías VEGFb según punto de corte en población aparentemente sana con seguimiento (VEGFb_bajo ≤ 48.7 pg/ml; VEGFb_alto > 48.7 pg/ml). p-valor*: Nivel de significación bilateral para las diferencias según las categorías de VEGFb medido por la prueba de Chi-cuadrado. p-valor#: Nivel de significación bilateral para las diferencias según el sexo, las categorías de IMC, Metabolismo hidrocarbonado, Consumo de alcohol y Actividad física, según corresponda, medido por la prueba de Chi-cuadrado.

Globalmente, los niveles de VEGFb se asocian de manera inversa al incremento del FLI. Además, el análisis estratificado pone de manifiesto como el aumento de FLI se asocia al sexo, la presencia de alteraciones del metabolismo hidrocarbonado y el consumo de alcohol, pero no a la actividad física.

Respecto a las tasas de sujetos que incrementan FLI por encima del 25% respecto del valor basal según las categorías de VEGFb se observa una tendencia, donde aquellos sujetos incluidos en la categoría niveles basales de VEGFb sérico bajos presentan una mayor tasa de aumentos en los valores FLI por encima del 25% respecto al basal, que aquellos sujetos incluidos en la categoría niveles basales de VEGFb sérico altos, siendo estadísticamente significativa esta tendencia en el grupo de mujeres, sujetos con OGTT normal, aquellos que tienen un consumo de alcohol bajo o nulo y aquellos que tienen una actividad física moderada o alta.

A continuación, se evaluó la posible asociación entre las categorías de VEGFb y el riesgo de incrementar FLI al menos un 25% a los 7'5 años mediante modelos de regresión logística ajustados por diferentes variables metabólicas y de estilo de vida, así como por los términos de interacción entre las categorías de VEGFb y otros posibles factores de riesgo asociados a esteatosis hepática. El análisis multivariante se muestra en la tabla 10. Los sujetos incluidos en la categoría de VEGFb_alto presentaron significativamente menores probabilidades de incrementar el marcador FLI por encima del 25% respecto del basal que aquellos sujetos incluidos en la categoría de VEGFb_bajo, en los modelos que incluían entre sus ajustes; variables de dieta y estilo de vida y los términos de interacción entre las categorías de VEGFb y los hábitos de consumo de alcohol, consumo de lácteos y de frutas (tabla 10). Por otra parte, sólo los términos de interacción entre las categorías de VEGFb con el consumo de lácteos y con la actividad física se asociaron de manera significativa con el riesgo de incrementar el marcador FLI por encima del 25% independientemente de otras variables de ajuste (tabla 10). Además de las mostradas en la tabla 10, se realizó el análisis de interacción entre las categorías de VEGFb con otras variables de estilo de vida como el nivel de estudios, tabaquismo, consumo alcohol y consumo de frutas con resultados no significativos.

Para interpretar correctamente los resultados de interacción se calcularon los odd ratios e intervalos de confianza del 95% para el riesgo de aumentar un mínimo del 25% el FLI tanto de la categoría VEGFb_alto respecto de VEGFb_bajo dentro de cada factor con el que interacciona; como dentro de las categorías de VEGFb, comparando las condiciones de hábitos de consumo de lácteos y actividad física respecto del nivel más bajo de ambos factores (categoría de referencia).

Tabla 10 Odd Ratio e Intervalo de confianza del 95% de modelos multivariantes de regresión logística binaria para el riesgo de aumentar el marcador FLI por encima del 25% tras 7.5 años de seguimiento de acuerdo con las categorías de VEGFb.

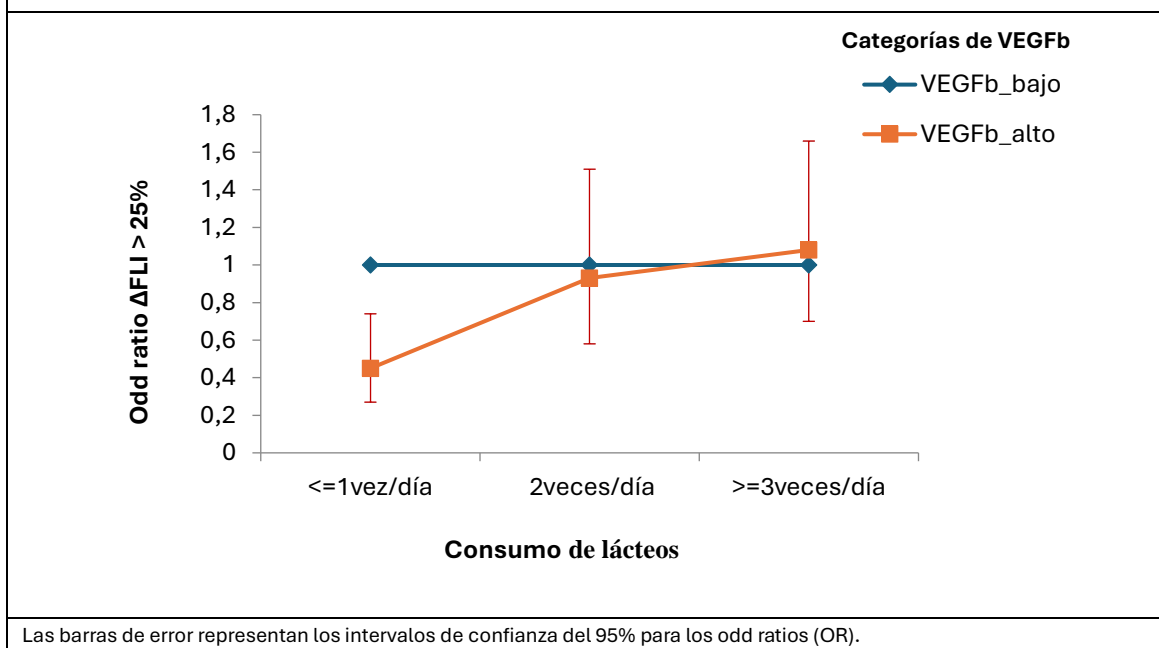
	VEGFb_alto vs VEGFb_bajo	P'	Interacción	P#
Modelo basal: Incremento de FLI > 25 % ajustado por edad, sexo, IMC, GOTs, GGTS, GGPTS, LDL-col, HDL-col y consumo alcohol	0.76(0.56-1.03)	0.08		
Modelo basal + HOMA75+VEGFb*HOMA75	0.74(0.54-1.02)	0.07	1.09(0.47-2.55)	0.83
Modelo basal + Dislipemia ^a +VEGFb* Dislipemia	0.67(0.35-1.27)	0.22	1.17(0.57-2.41)	0.67
Modelo basal + Hipertensión ^b +VEGFb* Hipertensión	0.68(0.44-1.05)	0.09	1.20(0.66-2.19)	0.55
Modelo basal + Dieta y estilo de vida ^c +VEGFb* Aceite	0.73(0.46-1.15)	0.18	1.09(0.59-2.02)	0.77
Modelo basal + Dieta y estilo de vida ^c +VEGFb* Alcohol	0.50(0.26-0.95)	0.03	1.97(0.71-5.46)	0.18
Modelo basal + Dieta y estilo de vida ^c +VEGFb* Lácteos	0.45(0.26-1.79)	0.06	2.32(1.07-5.03)	0.03
Modelo basal + Dieta y estilo de vida ^c +VEGFb* Frutas	0.43(0.22-0.80)	0.009	1.97(0.80-4.84)	0.14
Modelo basal + Dieta y estilo de vida ^c +VEGFb* Actividad física	1.20(0.73-1.97)	0.47	0.32(0.14-0.72)	0.006

IMC: índice de masa corporal en estudio transversal; HOMA75: Categoría de riesgo de insulinoresistencia estimada por el percentil 75 de los valores de la evaluación del modelo homeostático (HOMA) en nuestra población sin DM2; Categorías VEGFb según punto de corte en población aparentemente sana con seguimiento (VEGFb_bajo ≤48'7pg/ml; VEGFb_alto >48'7pg/ml).
^a Dislipemia: LDL ≥100mg/dl, triglicéridos ≥150mg/dl, HDL ≤40mg/dl en hombres y ≤50mg/dl en mujeres o a tratamiento hipolipemiente
^b Hipertensión: ≥ 85/130 mmHg
^c Dieta y estilo de vida: Consumo preferente de aceite de oliva, tabaquismo, frecuencia de consumo de lácteos y frutas y actividad física. *: Término interacción.
P': Nivel de significación en modelo de regresión logística binaria de la variable VEGFb.
P#: Nivel de significación en modelo de regresión logística binaria del término de interacción

2.2.6.1. Interacción categorías de VEGFb y factores de riesgo en el incremento de FLI

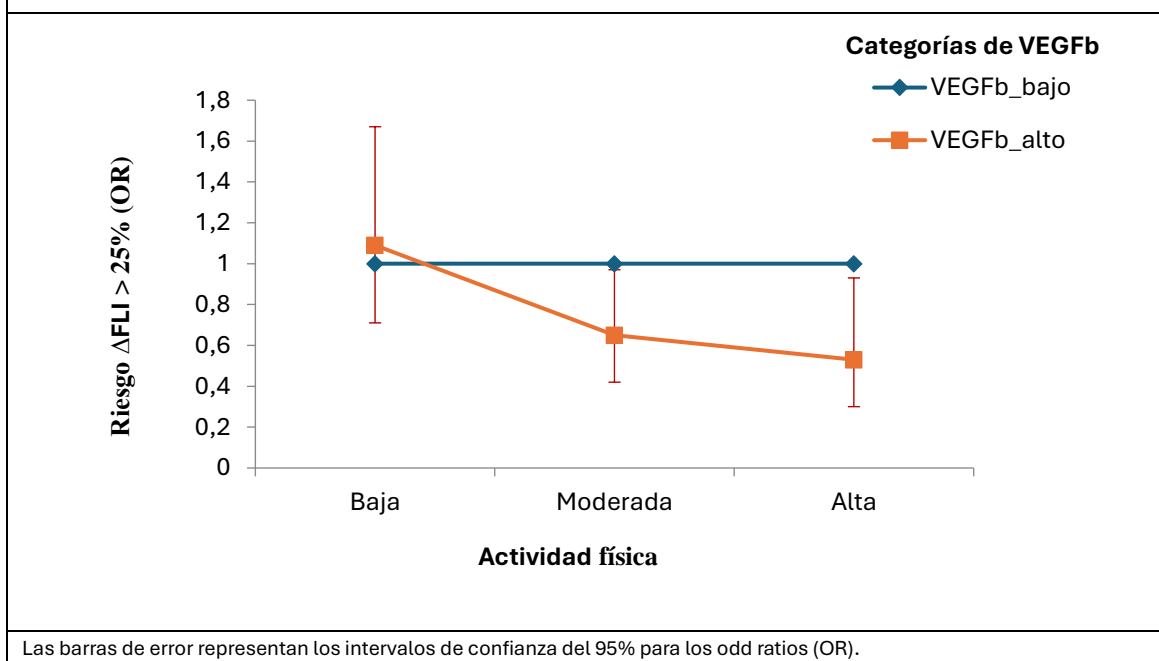
En la gráfica 21 vemos que sólo en el grupo de sujetos que consumen lácteos 1 o menos veces al día, las categorías de VEGFb se relacionan con el riesgo de incrementar FLI en el seguimiento. De este modo, aquellos sujetos con bajo consumo de lácteos e incluidos en la categoría de VEGFb_alto presentaron una menor probabilidad de aumentar el marcador FLI por encima del 25% respecto del valor basal en comparación con los sujetos dentro de la categoría VEGFb_bajo (OR 0.45; IC [0.27-0.74]). Así, a pesar de un bajo consumo de lácteos, el presentar niveles elevados de VEGFb tendría un efecto protector evitando el incremento del valor FLI por encima del 25% respecto al basal.

Gráfica 21. Gráfico de interacción entre las categorías de VEGFb y los hábitos de consumo de lácteos en la explicación del riesgo (odd ratio) de incrementar FLI por encima del 25% en el seguimiento.



En la gráfica 22 se muestra como la presencia de niveles altos de VEGFb disminuye la probabilidad de incrementar FLI en los sujetos que realizan una actividad física moderada-alta (OR 0.65; IC [0.42-0.99]) o alta (OR 0.53; IC [0.29-0.93]). Así, aquellos sujetos incluidos en la categoría VEGFb_alto y que realizan actividad física moderada o alta, presentan una menor probabilidad de aumentar el valor del FLI por encima del 25% respecto al basal en comparación con aquellos sujetos que incluidos en la categoría VEGFb_bajo.

Gráfica 22. Gráfico de interacción entre las categorías de VEGFb y el grado de actividad física en la explicación del riesgo (odd ratio) de incrementar FLI por encima del 25% en el seguimiento.



Estos resultados sugieren que el efecto combinado de unos altos niveles de VEGFb y la práctica moderada-alta de ejercicio físico podría reducir el riesgo de aumentar los valores FLI por encima del 25% tras 7,5 años de seguimiento, más allá de sus efectos independientes.

DISCUSIÓN



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

1. Niveles séricos de la proteína VEGFb y prevalencia de enfermedades metabólicas.

A nivel genético, un estudio GWAS del año 2015 identificó 49 loci en diversos genes, entre ellos el *vegfb*, implicados en la distribución de la grasa corporal, asociando estas variantes a diabetes tipo 2, hipertensión arterial e hiperlipidemia, entre otras enfermedades (Shungin, 2015), lo que podía sugerir una implicación de esta molécula en diferentes enfermedades metabólicas. Posteriormente, estudios clínicos y preclínicos han sugerido el potencial de VEGFb como diana terapéutica en el tratamiento de diferentes enfermedades metabólicas asociadas a procesos de desregulación de la homeostasis lipídica que pueden conducir, entre otros, a estados de resistencia a la insulina (Zhu H, 2018; Zafar, 2017); de ahí que el estudio de sus niveles y los factores que los regulan, así como su asociación con patología metabólica, hayan despertado un notable interés.

Debido a nuestro interés particular en la búsqueda de biomarcadores circulantes para la predicción y diagnóstico de enfermedades metabólicas en humanos, nos hemos centrado en el estudio de los niveles séricos de VEGFb, y los factores potencialmente asociados, en la cohorte di@bet.es con seguimiento a los 7 años y medio. Además de nuestras investigaciones (Lago-Sampedro, 2022), los estudios previos en los que se ha evaluado los niveles sistémicos de VEGFb en humanos y factores potencialmente asociados son escasos y limitados principalmente a estudios caso-control de corte transversal y estudios con un número reducido de participantes (Zhou R, 2024; Wei, 2022; Ye, 2020; Wu J, 2017; Cheng F, 2016; Sun CY, 2014; Gómez-Ambrosi, 2010). Hasta donde alcanza nuestro conocimiento, el nuestro es el primer estudio en el que se describen los niveles séricos de VEGFb en población general y sus relaciones con diferentes variables y factores de riesgo metabólico, contando para ello con una cohorte de 4774 individuos adultos españoles y, además, se hace una aproximación a los valores de referencia de esta proteína en población española aparentemente sana; entendiendo como tal a la

constituida por aquellos individuos que presentan ausencia de; diabetes, hiperglucemia, obesidad abdominal, hiperlipidemia o hipertensión, sin medicación para ellas. Así, se encontró que la mediana para la distribución de niveles de VEGFb en población aparentemente sana era inferior a la de población general, con un rango de valores para la proteína también menor en la población sin alteraciones metabólicas conocidas; esto nos lleva a pensar que unos niveles elevados de VEGFb en suero podrían estar indicando la presencia de alteraciones metabólicas en población española.

En nuestro estudio se muestra que los niveles séricos de VEGFb en población general se encontraron íntimamente asociados a la edad y el sexo de los sujetos, presentando mayores niveles de VEGFb a medida que la población envejecía, y entre los hombres respecto a las mujeres. Las investigaciones previas que hacen referencia al efecto de la edad y/o el sexo en los niveles de VEGFb lo han estudiado en subgrupos pequeños de población con diferentes alteraciones metabólicas. Investigaciones de Cheng y colaboradores (Cheng, 2016) muestran que, si bien los niveles plasmáticos de VEGFb de 103 mujeres con síndrome de ovario poliquístico no se asociaban a la edad de éstas, en el grupo control de 96 mujeres sin la enfermedad, los niveles de VEGFb correlacionaron positivamente con la edad. Por otra parte, Wei y colaboradores no encuentran relación entre los niveles de VEGFb y la edad o el sexo de 213 sujetos con diabetes tipo 2 (Wei, 2022), mientras que los estudios de Gómez-Ambrosi y colaboradores (Gómez-Ambrosi, 2010) con una n=39 y Ye y colaboradores (Ye, 2020) con una n=186 muestran la misma ausencia de correlación, en grupos de sujetos con y sin obesidad, y con y sin NAFLD, respectivamente. Además de por la diferencia en los tamaños muestrales y los distintos grupos metabólicos de sujetos que se estudian en cada caso, las diferencias entre nuestros hallazgos y los anteriores estudios pueden ser debidas a la distinta naturaleza de la muestra para la determinación de los niveles de VEGFb, que en nuestro trabajo son muestras de suero, mientras que en el de Ye son muestras de plasma; o a la distinta técnica de medición de niveles de VEGFb empleada, ya que en nuestro trabajo se utiliza un kit ELISA comercial y en el estudio de Gómez-Ambrosi se realizó mediante técnicas de Western-blot.

La asociación entre los niveles séricos de VEGFb con enfermedades metabólicas prevalentes se ha estudiado previamente en algunos estudios clínicos y preclínicos (Zafar, 2017 y 2018). En la mayoría de los estudios preclínicos se sugiere un papel dual para VEGFb; por un lado, por su implicación en la captación de ácidos grasos libres a través del endotelio unido a su papel para impulsar la β oxidación en tejidos metabólicamente activos y tejido adiposo (Hagberg, 2010 y 2012; Muhl, 2016) y, por otro lado, por su función sobre la modulación de la vascularidad tisular, al impulsar la angiogénesis a través de facilitar la unión de VEGFa a VEGFR-2 (Robciuc, 2016; Tong, 2020). Pero su importancia en relación con enfermedades metabólicas prevalentes todavía no está del todo clara. Por su parte, en los estudios clínicos, muchos autores han descrito asociaciones directas entre los niveles séricos o plasmáticos de VEGFb con presencia de componentes del síndrome metabólico, hipertensión arterial (Zafar, 2018), NAFLD (Ye, 2020), diabetes tipo 2 u obesidad (Wu J, 2017; Cheng F, 2016; Gómez-Ambrosi, 2010), con resultados discordantes (Sun CY, 2014; Tinahones, 2012). Sin embargo, hasta el momento, son escasos los datos en relación a la posible asociación entre los niveles de VEGFb con el desarrollo de estas complicaciones metabólicas en humanos (Lago-Sampedro, 2022), y tampoco hay información acerca de las interacciones con factores de riesgo bien establecidos como la práctica de actividad física, la dieta u otros hábitos de vida. Por ello, su posible papel como biomarcador para estas enfermedades es todavía desconocido.

Se ha descrito que los niveles circulantes de la proteína VEGFb, así como sus niveles de expresión en tejido adiposo, se encuentran incrementados en sujetos con obesidad comparado con sujetos delgados, observándose también una correlación directa para los niveles de VEGFb con el IMC, el porcentaje de grasa total, los niveles séricos de leptina e inversa para los niveles de adiponectina, indicando una posible relación entre VEGFb y el aumento de la masa grasa y la presencia de obesidad (Gómez-Ambrosi, 2004; 2010). La misma relación directa entre los niveles plasmáticos de VEGFb e IMC fue reportada en el trabajo de Cheng y colaboradores en mujeres con y sin síndrome de ovario poliquístico, donde, además, los niveles de VEGFb se relacionaron con el porcentaje de grasa corporal

(Cheng F, 2016). Se ha sugerido que el aumento de VEGFb en obesidad podría ser el resultado de una expresión y secreción normal derivada de la elevada masa grasa (Gómez-Ambrosi, 2010). Otros autores por el contrario han informado de resultados diferentes, mostrando una ausencia de correlación entre los niveles circulantes de VEGFb y el IMC (Wei 2022; Wu J, 2017; Ye 2020; Sun CY, 2014) o niveles de expresión de la proteína en tejido adiposo de sujetos con obesidad significativamente disminuidos en comparación con individuos delgados (Tinahones, 2012). En línea con los autores que no observan relación entre los niveles circulantes de VEGFb y el IMC, en nuestro estudio los niveles séricos de VEGFb no correlacionaron con el IMC ni presentaron diferencias según la presencia o no de obesidad total.

Hasta la fecha, no se han descrito asociaciones entre los niveles séricos de VEGFb y la presencia de síndrome metabólico, aunque sí con algunos de sus componentes aislados (Ye, 2020; Wu J, 2017; Sun CY, 2014). En este trabajo hemos observado diferencias significativas entre los niveles de esta proteína y la presencia de síndrome metabólico según el criterio de clasificación de la IDF, donde las personas incluidas en la categoría niveles altos de VEGFb presentaban una mayor prevalencia de esta enfermedad comparado con aquellas incluidas en la categoría niveles bajos. Sin embargo, cuando el criterio utilizado es el ATP III las diferencias de prevalencia son menores, aunque existe una tendencia, pero no llegan a alcanzar significación. Esta discordancia puede explicarse porque los criterios IDF y ATP III utilizan distintos puntos de corte en algunos de sus componentes; el hecho de que solo sea significativo según criterios IDF es, posiblemente, debido a que la clasificación ATP III al necesitar presentar mayor diámetro de cintura para entrar en la clasificación, tanto en hombres como en mujeres, define un fenotipo más extremo y hace que el tamaño muestral para esta se reduzca y se pierda poder estadístico.

Teniendo en cuenta los componentes del síndrome metabólico por separado, observamos cómo en esta población, las personas con niveles séricos elevados de VEGFb mostraron una mayor prevalencia de hipertensión arterial y una mayor tensión arterial sistólica, en comparación con los que presentaban niveles más

bajos. Las personas incluidas en la categoría niveles séricos altos de VEGFb también presentaron hipertrigliceridemia y HDL colesterol bajo con mayor frecuencia, con una mayor presencia de hipercolesterolemia y, en general, de dislipidemia, comparado con el grupo incluido en la categoría niveles bajos, sugiriendo una asociación entre VEGFb circulante y la dislipidemia en humanos. En cuanto a la obesidad abdominal como componente del síndrome metabólico observamos una asociación directa con los niveles de esta proteína sérica en la población transversal completa (n=4774), solo por criterio IDF, que desaparece en la población que hace seguimiento (n=2767), debido probablemente a la reducción del tamaño muestral. Por el contrario, las personas con niveles séricos de VEGFb más elevados presentaron glucemias más bajas, asociación que desaparecía al ajustar por el tratamiento con antidiabéticos orales; así como una menor presencia de diabetes tipo 2 en comparación con las personas con niveles más bajos de la proteína. Por otro lado, en nuestra población, los niveles de VEGFb sólo se asociaron de manera directa al índice de insulinoresistencia (HOMA-IR) tras el ajuste por el uso de medicamentos antidiabéticos orales, siendo esta correlación evidente sólo en el grupo de sujetos que no tomaban antidiabéticos orales. Esta relación desaparecía al tener también en cuenta los niveles de triglicéridos circulantes entre los ajustes, coincidiendo con los resultados de Wu y colaboradores (Wu J, 2017), donde las asociaciones observadas entre los niveles de VEGFb y el índice de insulinoresistencia e hipofunción de célula β pancreática desaparecían tras ajustar por ácidos grasos libres y triglicéridos.

En línea con nuestros resultados, estudios clínicos previos, habían descrito que las personas con hipertensión arterial presentan también niveles plasmáticos de VEGFb más elevados respecto de sujetos control sin hipertensión y se observó una correlación positiva entre los niveles de esta proteína y la tensión arterial sistólica y diastólica en los sujetos de estudio (Ye, 2020), sugiriendo que VEGFb podría ser un biomarcador apropiado para la detección temprana de hipertensión en humanos. La relación entre VEGFb y la tensión arterial se ha puesto de manifiesto también en modelos animales (Zhu X, 2021) en los que muestran que VEGFb participa en la progresión de la hipertensión asociada a obesidad y describen como

la inhibición de VEGFb podría presentar beneficios para el tratamiento de la hipertensión arterial asociada a obesidad. Nuestros resultados, aunque han mostrado una cierta correlación VEGFb con tensión diastólica en población general, no han podido demostrar ninguna capacidad de predicción sobre la incidencia de hipertensión arterial.

Al igual que ocurre en nuestro trabajo donde los niveles de VEGFb se relacionaron de manera directa con los lípidos plasmáticos; triglicéridos, colesterol total y LDL colesterol, apareciendo diferencias en los niveles de la proteína según la presencia de hipertrigliceridemia o hipercolesterolemia, otros autores también han mostrado previamente una correlación positiva entre los niveles séricos de VEGFb y los niveles de triglicéridos circulantes (Wei, 2022, Ye, 2020; Wu J, 2017; Sun CY, 2014) y colesterol total (Wu J, 2017; Sun CY, 2014) en personas con diabetes tipo 2, así como con ácidos grasos libres (Wu J, 2017) y correlación negativa con los niveles de HDL colesterol (Wei, 2022; Ye, 2020) pero no con el LDL colesterol (Sun CY, 2014), llevando a la conclusión de que los niveles séricos elevados de VEGFb podrían correlacionarse positivamente con la presencia de hiperlipidemia y daño a órganos diana en pacientes con diabetes tipo 2, sugiriendo que esta proteína afectaría al metabolismo lipídico (Sun CY, 2014). Además, estudios preclínicos ya habían demostrado previamente que VEGFb modificaba la expresión de proteínas reguladoras del transporte de lípidos a través de endotelio; FATP3 y FATP4 (Hagberg, 2012).

Existe una gran controversia respecto a la relación entre los niveles de VEGFb y el estado glucémico o la presencia de diabetes tipo 2 en humanos donde los factores que explican los diferentes resultados observados son aún desconocidos. Estudios de Sun y colaboradores compararon los niveles séricos de VEGFb en 180 personas con diabetes tipo 2 y 62 controles sanos, independientemente de su IMC, no encontrando diferencias significativas entre ellos, ni tampoco con insulinoresistencia según el HOMA-IR (Sun CY, 2014), resultados que concuerdan parcialmente con los nuestros. Por el contrario, Wei y colaboradores observaron que la presencia de diabetes, en 213 sujetos con la enfermedad, se asociaba a unos mayores niveles de VEGFb comparado con 31 controles sanos, aunque al

igual que en el estudio de Sun y nuestras propias investigaciones, no encontraron asociaciones significativas entre los niveles de la proteína y el índice HOMA-IR (Wei, 2022). En oposición a nuestros resultados, los estudios de Wu y colaboradores también apuntaban a un incremento en los niveles plasmáticos de VEGFb en 45 sujetos recién diagnosticados de diabetes tipo 2 y en 37 personas con regulación alterada de la glucosa comparado con 39 personas sanas (Wu J, 2017), que podría estar relacionado con un posible efecto de la hiperglucemia sobre la expresión génica de VEGFb mediado por modificaciones epigenéticas sobre el estado de metilación del promotor de VEGFb, fenómeno observado en leucocitos de sujetos con diabetes (Liu X, 2021;Hu S, 2023); sin embargo, hay que aclarar que no se conocen los tejidos de origen del VEGFb presente en la sangre, ni si los niveles de VEGFb en suero o plasma correlacionan con los niveles de expresión de la proteína en diferentes células o tejidos. Los estudios de Wu y colaboradores sugirieron además una relación de VEGFb con los primeros estadios de la enfermedad en la secreción de insulina estimulada por glucosa en célula β pancreática, que asociaron a una mayor probabilidad de hipofunción de la célula β , asociación que desaparecía tras ajustar por ácidos grasos libres y triglicéridos (Wu J, 2017). Coincidiendo con Wu y colaboradores, la existencia de una relación directa entre los niveles circulantes de VEGFb y el índice de resistencia a la insulina ha sido descrita en otros estudios (Cheng F, 2016; Ye, 2020); así, Cheng y colaboradores observaron que las mujeres con síndrome de ovario poliquístico presentaban una correlación positiva entre niveles séricos de VEGFb e insulinoresistencia, así como con una peor funcionalidad de la célula β , donde además, el tratamiento con metformina disminuía VEGFb, a la vez que mejoraba la insulinoresistencia; mientras que por su parte, Ye y colaboradores observaron esta correlación positiva entre los niveles de VEGFb y el índice HOMA-IR en una población que incluía 186 sujetos con y sin NAFLD. Los resultados de los estudios preclínicos tampoco aportan certeza respecto a la relación de VEGFb con el estado de resistencia a la insulina, con trabajos que muestran tanto el aumento en la expresión del gen de la insulina en célula β sin afectación de la homeostasis de la glucosa ni aumento de la captación de lípidos por las células (Ning FC, 2020), como

la disminución de la secreción de la hormona con una hiperglucemia más elevada que ratones normales (Li YQ, 2023), en animales con una delección local o KO para VEGFb, respectivamente.

Como se ha dicho previamente, los posibles factores que pueden estar explicando los resultados contradictorios en humanos entre los diferentes trabajos publicados hasta la fecha, e incluso respecto a nuestra investigación, sobre la relación de VEGFb con la presencia de diabetes o el índice HOMA-IR son aún desconocidos. Se ha descrito que el tratamiento con metformina o tiazolidinedionas, dos antidiabéticos orales de uso común, no sólo mejoran el estado de insulinoresistencia, sino que también disminuyen los niveles de VEGFb (Cheng F, 2016; Sun CY, 2014); en relación a esto, en nuestra población transversal, donde aproximadamente la mitad de los sujetos con diabetes se medicaban con antidiabéticos orales, los niveles de VEGFb no difirieron entre los sujetos con diabetes tipo 2 que tomaban o no antidiabéticos orales. Además, en nuestro trabajo, los niveles de VEGFb no se relacionaron con el índice de insulinoresistencia en la población general, pero sí lo hacían tras ajustar por tratamiento, de manera directa y significativa en el grupo de sujetos que no tomaban antidiabéticos orales, lo que podría estar indicando un efecto del tratamiento que module la relación entre VEGFb y el índice de resistencia a la insulina, así como la importancia del tratamiento como factor confundente en las discrepancias encontradas entre los diferentes estudios. En línea con esta idea, y de manera similar a lo que observamos en nuestro trabajo considerando los grupos de sujetos con y sin tratamiento con antidiabéticos orales, en los estudio de Sun y colaboradores (Sun CY, 2014) o en el de Wei y colaboradores (Wei, 2022), donde no encontraron asociación entre el índice HOMA-IR y los niveles de la proteína, lo estudiaron en sujetos con diabetes tipo 2, donde un alto porcentaje de los mismos estaban siendo tratados con antidiabéticos orales; mientras que en los estudios de Wu, Ye o Cheng, en los que sí encontraron asociaciones con la presencia de diabetes y/o insulinoresistencia (Wu J, 2017; Ye, 2020, Cheng F, 2016), los participantes (sujetos con y sin alteraciones del metabolismo de la glucosa incluida diabetes tipo 2 recientemente diagnosticada, sujetos con y sin NAFLD y

mujeres con y sin PCOS, respectivamente) no estaban recibiendo este tipo de tratamientos.

Aunque no hay muchos datos sobre la relación de VEGFb con la presencia de esteatosis hepática en humanos, en los últimos años, diversos estudios han observado una relación entre esta proteína y la presencia de esteatosis hepática no alcohólica (NAFLD), con investigaciones que sugieren que VEGFb podría reducir la acumulación hepática de lípidos y restablecer la sensibilidad a la insulina en NAFLD (Li YQ, 2023). Autores como Li y colaboradores revisaron los posibles mecanismos subyacentes al papel de VEGFb en esta enfermedad y describieron la participación de este factor en la regulación del metabolismo lipídico en hígado, así como su participación en reacciones inflamatorias asociadas a NAFLD, en la disfunción adipocitaria y en la supervivencia celular (Li YQ, 2023). En este trabajo de tesis, hemos observado cómo los niveles de VEGFb se encontraban elevados en aquellos sujetos que presentaban esteatosis hepática según FLI, existiendo una asociación directa significativa entre los niveles de la proteína y el índice de hígado graso FLI, el cual no solo es un marcador diagnóstico de esteatosis hepática sino también un predictor de riesgo de diabetes tipo 2 en nuestra población de estudio, como ha sido publicado por nuestro grupo (García-Escobar, 2021). En línea con nuestros hallazgos, los estudios de Ye y colaboradores ya habían descrito elevados niveles plasmáticos de VEGFb en personas con NAFLD comparado con controles sanos (Ye, 2020). A nivel tisular investigaciones previas también han mostrado un efecto de la presencia de NAFLD en los niveles de VEGFb, con los estudios de Osorio-Conles y colaboradores, quienes encontraron una sobreexpresión de los niveles de VEGFb en tejido adiposo de mujeres con obesidad en presencia de NAFLD respecto a aquellas que no tenían NAFLD (pareadas por edad, IMC y diabetes tipo 2) (Osorio-Conles, 2023).

2. Niveles séricos de la proteína VEGFb e incidencia de enfermedades metabólicas

En una extensa búsqueda bibliográfica no hemos encontrado estudios de incidencia de enfermedad que asocien VEGFb con el riesgo prospectivo de enfermedades metabólicas. Hasta donde sabemos, nuestro estudio es el primero en analizar la asociación entre los niveles séricos de VEGFb, como biomarcador para el riesgo de desarrollar enfermedades como obesidad, síndrome metabólico o sus componentes, diabetes mellitus tipo 2 y esteatosis hepática.

Observando la cohorte longitudinal del estudio Di@bet.es, constituida por aquellas personas en riesgo de desarrollar alteraciones metabólicas prevalentes y evaluadas tras 7 años y medio de seguimiento, encontramos que los niveles séricos basales de la proteína VEGFb se asociaron inversamente con el riesgo de desarrollar síndrome metabólico y obesidad abdominal como componente del síndrome metabólico, así como al riesgo de incrementar el marcador de esteatosis hepática FLI por encima del 25%, independientemente de otros factores de riesgo para estas enfermedades. Sin embargo, no afectaron al riesgo de desarrollar otros componentes individuales del síndrome metabólico, como hipertensión arterial o diabetes tipo 2 aisladamente.

Por otro lado, en nuestro estudio, los análisis multivariantes mostraron que niveles altos de VEGFb sérico incrementaron el riesgo de desarrollar obesidad en el seguimiento, lo cual está íntimamente relacionado con un incremento del IMC, sin embargo, se asociaron a un riesgo reducido de aumentar la circunferencia de la cintura. Considerando que el IMC es una medida de adiposidad general, que no diferencia entre masa grasa o masa magra, ni en la localización de la grasa, mientras que el perímetro abdominal está más asociado a la masa grasa y grasa visceral, nuestros resultados sugieren que niveles de VEGFb elevados podrían estar asociados a un aumento de la grasa subcutánea más que a la visceral, contribuyendo a la expansibilidad natural del tejido adiposo y protegiéndolo así de

patología metabólica, ya que, es bien sabido que la grasa visceral está estrechamente asociada al riesgo de síndrome metabólico, más que la subcutánea, debido principalmente a su mayor actividad lipolítica y mayor perfil inflamatorio (Lee MJ, 2013), por lo que un aumento preferencial de la grasa subcutánea frente a la visceral daría lugar a un mejor perfil metabólico.

Esta relación directa entre VEGFb y desarrollo de obesidad, se ha observado significativamente en sujetos que partían con normopeso. Estas personas con normopeso, es más probable que no partan con alteraciones previas, siendo metabólicamente sanas y presentan una mayor capacidad de incrementar su tejido adiposo sin que se desencadenen alteraciones a corto plazo en este tejido ante un aumento de la ingesta. En condiciones fisiológicas, un aumento de la ingesta lleva a incrementar los ácidos grasos libres, los cuales son dirigidos al tejido adiposo para su retirada de circulación, acumulándose en este tejido de manera adecuada para evitar la acumulación ectópica en tejidos no adiposos y la lipotoxicidad; mecanismo fisiológico clave para amortiguar efectos deletéreos de los ácidos grasos libres, previniendo así la aparición de insulinoresistencia y enfermedades cardiometabólicas, en línea con estudios preclínicos ya publicados (Zhu H, 2018). En tejido adiposo humano se ha descrito que se expresa VEGFb (Bry, 2014) y podría estar favoreciendo el transporte de ácidos grasos libres hacia este tejido en sujetos metabólicamente sanos, ante un aumento de estos, evitando efectos lipotóxicos, a la vez que favorece la β oxidación en otros tejidos (Hagberg, 2010), aumentando su actividad metabólica.

Apoiando la idea del papel protector de VEGFb sobre el metabolismo adiposo, una serie de estudios preclínicos han demostrado como la delección, sistémica o específica de tejido adiposo, del gen que codifica para la proteína VEGFb, en modelos animales alimentados con dieta alta en grasa, favorece el aumento del tejido adiposo blanco, lo que induce un fenotipo obeso, pero acompañado de una disminución en la actividad metabólica, disminuyendo la β oxidación en tejido no adiposo (Jin H, 2018) y aumentando la síntesis lipídica, especialmente en músculo e hígado (Hu L, 2021), disminuyendo también la termogénesis en tejido adiposo marrón (Chen Y, 2020). La sobreexpresión transgénica de VEGFb condujo a una

asociación entre una mayor expresión de la proteína con la disminución del tejido adiposo blanco (Chen Y, 2023), que se alineaba con los resultados en modelos animales alimentados con dieta alta en grasa en los que el aporte dirigido de esta proteína a tejido adiposo reprimía la ganancia de peso inducida por la dieta (Hu L, 2021), pero que aliviaba el síndrome metabólico al aumentar la vasculatura adipocitaria y disminuir la hipoxia (Tong Y, 2020). Este efecto de VEGFb sobre la angiogénesis adipocitaria ya había sido descrito previamente por Robciuc y colaboradores (Robciuc, 2016) quienes demostraron que VEGFb induce la expansión del tejido adiposo, favoreciendo la angiogénesis y mejorando el metabolismo glucémico y la insulinosensibilidad al aumentar su perfusión para favorecer el suministro de insulina. Así, nuestras observaciones epidemiológicas podrían explicarse a partir de este modelo y de la teoría del origen adipogénico de las enfermedades metabólicas asociadas a insulinoresistencia (Virtue y Vidal Puig, 2010): los sujetos con elevados niveles de VEGFb en sangre pueden estar compensando una ingesta elevada o una vida más sedentaria, favoreciendo el aumento del tejido adiposo, subcutáneo principalmente, de un modo metabólicamente sano, a la vez que disminuye el riesgo de insulinoresistencia, síndrome metabólico y otras patologías asociadas. No obstante, no hay que olvidar que existen diferencias en la distribución de la grasa corporal entre ratones y humanos que podrían afectar a las relaciones descritas, además, en los modelos animales descritos, la modificación de los niveles de VEGFb se hace a nivel genético y se mide a nivel tisular, pero los niveles séricos de la proteína no son conocidos en estos modelos, e igualmente se desconoce si los niveles de VEGFb en suero o plasma correlacionan con los niveles de expresión en los diferentes tejidos y más concretamente con el tejido adiposo.

Por otro lado, a pesar de los estudios transversales y en modelos animales que sugieren un potencial papel de VEGFb en la aparición de diabetes tipo 2 (Wei, 2022; Wu J, 2017; Hagberg, 2012), hasta la fecha no existen trabajos publicados que hayan demostrado tal relación, siendo nuestras investigaciones las primeras en analizar de manera longitudinal la asociación de los niveles séricos de esta

proteína con el riesgo de desarrollar diabetes, en las que no hemos encontrado relación entre ambos en ninguno de los modelos aplicados.

Los estudios en humanos realizados hasta la fecha no alcanzan un consenso respecto a la relación de los niveles de VEGFb con la presencia de diabetes tipo 2 e insulinoresistencia, con autores que defienden tanto el aumento (Wei, 2022; Wu J, 2017), como la no diferencia (Sun CY, 2014) en los niveles de VEGFb circulante entre sujetos con y sin diabetes tipo 2; así como una relación directa (Wu J, 2017; Ye, 2020, Cheng F, 2016) o la falta de ella (Sun CY, 2014; Wei, 2022) de los niveles de la proteína con el estado de insulinoresistencia.

Los resultados de los estudios preclínicos tampoco son concluyentes respecto a la relación de VEGFb con la homeostasis de la glucosa y el estado de resistencia a la insulina (Zafar, 2017), de modo que mientras en algunos estudios con animales alimentados con dieta alta en grasa la sobreexpresión de VEGFb revertía el estado de intolerancia a la glucosa y estimulaba la quema de grasa (Hu L, 2021; Chen Y, 2023), en otros, se promovía la acumulación ectópica de lípidos y la lipotoxicidad (Hagberg, 2012); además, parece existir una relación bidireccional que dificulta el entendimiento de la misma y según la cual no sólo VEGFb podría afectar al estado glucémico sino que la hiperglucemia podría ser, a su vez, un factor regulador directo de los niveles de VEGFb, tanto a nivel de liberación de la isoforma VEGFb¹⁶⁷ unida a proteoglicanos heparan-sulfato presentes en superficie celular de células endoteliales cardiacas tras la acción de la enzima heparinasa inducida por glucosa (Lal, 2017), como a nivel epigenético (Liu X, 2021); modulando el estado de metilación del promotor del gen de VEGFb (Hu S, 2023), pues se ha observado que sujetos con diabetes presentan hipometilación del promotor de VEGFb en leucocitos con aumento de su expresión. También se ha descrito que la hiperglucemia favorece la ruta AMPK/CaMkk β , reguladora del metabolismo energético, al incrementar la expresión de CaMkk β mediado por un aumento del flujo de calcio intracelular (Kakoti, 2024), lo que desencadena la liberación de vesículas de insulina (Sabatini, 2019) y a su vez aumenta la expresión de VEGFb (Reihill, 2011; Hu L, 2021). La unión de VEGFb a su receptor VEGFR-1 también se ha descrito que incrementa CaMkk β , favoreciendo más la liberación de vesículas de

insulina a través de un mecanismo dependiente de VEGFb, indicando que esta proteína podría regular la hiperglucemia (Li YQ, 2023). En estudios preclínicos se ha visto que ratones KO para VEGFb en páncreas, presentan una disminución más acusada en la secreción de insulina y una hiperglucemia más elevada que ratones normales, mientras que ratones que sobreexpresan VEGFb en islotes, mejoraron su insulinosensibilidad y regulan la hiperglucemia al disminuir la secreción de glucagón mediada por insulina, inhibiendo la gluconeogénesis y activando la síntesis de glucógeno (Li YQ, 2023). Aunque, estos resultados se contradicen con otros donde la delección local de VEGFb provocaba un aumento en la expresión del gen de la insulina en célula β sin afectación de la homeostasis de la glucosa ni aumento de la captación de lípidos por las células (Ning FC, 2020) y estudios in vitro donde el tratamiento con VEGFb sobre una línea celular de células β de ratón disminuyó la secreción de insulina, mientras que la represión de VEGFb producía el efecto contrario (Jia, 2021).

En nuestro estudio, con relación al riesgo de desarrollar síndrome metabólico en el estudio longitudinal, se observó como las personas con bajos niveles séricos de VEGFb al inicio del estudio presentaban una mayor tasa de incidencia de síndrome metabólico en comparación con las personas con niveles altos, independientemente de otros factores de riesgo asociados a esta enfermedad, indicando que la presencia de niveles altos de VEGFb es un factor protector independiente, por ambos criterios de clasificación para síndrome metabólico empleados en esta tesis. También se observó esta asociación para el riesgo de desarrollar obesidad abdominal como componente individual del síndrome metabólico. Del mismo modo que en relación con el riesgo de desarrollar esteatosis hepática, donde observamos una tendencia general a que las personas con bajos niveles séricos de VEGFb presentasen una mayor probabilidad de incrementar al menos un 25% su índice FLI. Sin embargo, no se observaron asociaciones entre las categorías de VEGFb con los demás componentes del síndrome metabólico por separado, posiblemente debido a que la reducción del tamaño muestral hace perder poder estadístico en los contrastes de hipótesis.

Nuestros resultados sobre el efecto beneficioso de unos altos niveles de VEGFb, estarían en línea con los estudios en modelos animales alimentados con dieta alta en grasa, donde el KO de VEGFb en tejido adiposo y en todo el cuerpo presentaban mayor volumen de tejido adiposo blanco, con actividades metabólicas y termogénicas reducidas respecto al fenotipo salvaje (Jin H, 2018; Chen Y, 2020). Y a nivel hepático, se ha observado como la inhibición de VEGFb sistémica disminuye la oxidación de lípidos y aumenta la síntesis lipídica en hígado (Luo, 2022), con empeoramiento de la insulinoresistencia en este tejido (Li YQ, 2023) y favoreciendo la esteatosis hepática (Luo, 2022). Esta disminución de la actividad metabólica se observó también en otros tejidos no adiposos como músculo (Jin H, 2018). Por su parte, el aumento de la expresión de VEGFb específicamente en tejido adiposo, como ya se había comentado anteriormente, aumentó la perfusión tisular en este tejido y el suministro de insulina aliviando el deterioro metabólico (Robciuc, 2016), con disminución del tejido adiposo blanco en ratones sanos, acompañado de un aumento en la termogénesis en tejido adiposo marrón (Chen Y, 2023), aumento de la β oxidación y disminución de la síntesis lipídica en tejidos no adiposos como músculo esquelético y cardíaco o hígado (Hu L, 2021). La administración de un constructo proteico de VEGFb dirigido a tejido adiposo alivió el síndrome metabólico, acompañado de una disminución de la obesidad en modelos murinos (Tong, 2020). VEGFb también evitó la acumulación ectópica de los ácidos grasos libres en tejido cardíaco y disminuyó la formación de intermediarios lipídicos como ceramidas y diacilgliceroles (Shang, 2021). De este modo, los estudios que ponen el énfasis en la función paracrina de estimulación del transporte a través de endotelio de ácidos grasos por VEGFb hacia tejidos diana (Hagberg, 2010; Zhu H, 2018) enlazan esta función con el papel protector de la proteína frente a la lipotoxicidad, al inducir la captación de ácidos grasos para su oxidación y obtención de energía en tejidos de alta actividad metabólica principalmente (músculo estriado, cardíaco y tejido adiposo marrón).

Todos estos resultados juntos podrían explicar por qué nuestros sujetos de estudio con menores niveles de VEGFb serían más propensos a desarrollar alteraciones

metabólicas como obesidad abdominal, síndrome metabólico o esteatosis hepática, en comparación con aquellos con niveles más altos de VEGFb.

Es bien sabido que, ante una expansión alterada del tejido adiposo o mayor tejido adiposo visceral, derivado de un aumento de la ingesta o una vida sedentaria, aumenta la hipoxia en este tejido, con síntesis de NO alterada (por disminución de eNOS y vasodilatación con menor perfusión de insulina); produciendo inflamación y estrés oxidativo, lo que lleva a la aparición de insulinoresistencia, disminuyendo la acumulación de ácidos grasos en este tejido. El aumento de los ácidos grasos libres lleva a su acumulación ectópica en tejidos no adiposos, produciendo lipotoxicidad e insulinoresistencia también en éstos. Si la acumulación de ácidos grasos libres se produce en el hígado provoca hepatotoxicidad, incrementando la permeabilidad de las membranas celulares, con destrucción de la función mitocondrial e inhibición de enzimas relacionadas (Day, 1998). Por otra parte, los triglicéridos sintetizados por ese exceso de ácidos grasos en el hígado no pueden empaquetarse correctamente en VLDL para ser transportados hacia tejido adiposo y se quedan en el hígado (Li YQ, 2023). La acumulación de lípidos en hígado favorece su peroxidación, aumentando también a nivel hepático la producción de ROS y la inflamación, favoreciendo la apoptosis y la progresión a esteatosis hepática (Li YQ, 2023).

Por ello, en estados iniciales o condiciones fisiológicas previas al desarrollo de la insulinoresistencia, VEGFb podría mejorar esta secuencia de procesos por medio de varios mecanismos a diferentes niveles, para mejorar la sensibilidad a la insulina:

- La unión de VEGFb a su receptor VEGFR-1 favorece la expresión de genes implicados en la β oxidación de lípidos y disminuye aquellos implicados en la síntesis de ácidos grasos en músculo e hígado, ayudando a retirar ácidos grasos de la sangre.
- VEGFb reduce la actividad lipoproteín lipasa del corazón para protegerlo del exceso de ácidos grasos o acumulación de lípidos intermediarios como DAG y ceramidas (Shang, 2021).

- VEGFb también incrementa la vascularidad del tejido adiposo blanco permitiendo su crecimiento (Robciuc, 2016; Tong, 2020).

Así, su principal papel sobre el transporte de ácidos grasos transendotelial hacia tejidos diana se ve acompañado de los otros roles de la proteína implicados en regulación de la salud metabólica y también de la supervivencia celular.

Sin embargo, estudios empleando modelos de ratón diabético alimentados con dieta alta en grasa, habían descrito que la disminución de la expresión o la supresión sistémica del gen *vegfb* disminuía la lipidemia, reduciendo la acumulación ectópica de lípidos, mejorando la sensibilidad a la insulina y normalizando los niveles de glucosa (Hagberg, 2012; Moessinger, 2020).

Como una posible explicación a la existencia de los dos comportamientos aparentemente opuestos observados en los modelos animales, Zhu y colaboradores compararon estos estudios y propusieron un cambio dependiente de contexto en el papel de VEGFb (Zhu H, 2018). De acuerdo con Zhu, una ganancia de función de la proteína aplicable al inicio de la insulinoresistencia, cuando el organismo posee todavía islotes funcionales y niveles normales de insulina, estaría actuando principalmente sobre tejido adiposo para mejorar su vascularización y con ello la perfusión de la insulina por medio de la activación de la vía angiogénica VEGFa/VEGFR-2 mediado por VEGFb (Robciuc, 2016), unido a las funciones de VEGFb como regulador del metabolismo lipídico en otros tejidos; uniendo el transporte de lípidos a su metabolización en tejidos no adiposos y como molécula para la supervivencia celular (antiapoptótica, antioxidante y antiinflamatoria) en músculo o hígado principalmente (Lal, 2017; Chen R, 2019; Kusuhara, 2018), lo que ayudaría a aliviar o prevenir el síndrome metabólico u otras alteraciones asociadas a insulinoresistencia. Mientras que una terapia de pérdida de función de VEGFb sería adecuada para las fases avanzadas de la insulinoresistencia o en presencia de alteraciones como la diabetes tipo 2 con disfunción de células β , dirigida específicamente a tejido no adiposo, evitando la acumulación ectópica de lípidos (Zhu H, 2018).

Por ello, en situación fisiopatológica, con insulinoresistencia avanzada o presencia de enfermedades metabólicas el incremento de los niveles de VEGFb podría ser contraproducente por el rol que desempeñan sus funciones. Se ha demostrado que el aumento prolongado de la β oxidación mitocondrial favorece la producción del intermediario acetil coA inhibiéndola (Schulz, 1994), aumentando la lipólisis y un mayor flujo de ácidos grasos hacia circulación. Además, el papel de VEGFb sobre el transporte transendotelial de ácidos grasos hacia tejidos no adiposos se vería favorecido, aumentando la acumulación ectópica en estos (Hagberg, 2012). La acumulación ectópica de ácidos grasos en músculo, hígado o páncreas produce lipotoxicidad que deriva en insulinoresistencia en estos tejidos (Virtue y Vidal Puig, 2010).

Esta hipótesis no solo podría explicar las discrepancias halladas entre estudios preclínicos con animales sanos e insulinoresistentes o con alteraciones metabólicas previas, sino que también podría justificar los elevados niveles de VEGFb asociados a una mayor presencia transversal de obesidad abdominal, síndrome metabólico y algunos de sus componentes en nuestro estudio, a la vez que a un menor riesgo de enfermedad metabólica incidente. No obstante, hay que insistir en que, en nuestro trabajo, no sólo se desconoce el origen del VEGFb presente en el suero, sino también el destino del mismo y no podemos saber sobre que tejido iba a actuar o en cuál se había producido, por lo que la aplicabilidad de las hipótesis de Zhu y colaboradores (Zhu H, 2018) o Robciuc y colaboradores (Robciuc, 2016) a nuestros resultados, aunque plausible, no puede ser confirmada.

3. Relación entre los niveles séricos de la proteína VEGFb y diversos factores ambientales

En la fase transversal del estudio di@bet.es, observamos como aquellas personas con niveles séricos altos de VEGFb realizaban más ejercicio físico, presentaban un consumo preferente de aceite de oliva, consumían más fruta o menor cantidad de productos lácteos, y también consumían más alcohol y cigarrillos. En cuanto a otros hábitos, estilo de vida o consumo de otros alimentos, no se observó ninguna otra diferencia en función de los niveles séricos de VEGFb en el estudio di@bet.es.

3.1. Relación entre VEGFb y ejercicio físico:

Se sabe que una vida sedentaria, la edad y la obesidad alteran la respuesta vasodilatadora de la insulina en la microvasculatura muscular y reduce la densidad vascular en este tejido, contribuyendo al desarrollo de insulinoresistencia y enfermedades metabólicas asociadas (Karacca, 2014). Se ha descrito que la actividad física es capaz de aumentar la expresión de VEGFb en músculo esquelético en modelos animales y humanos (Bostrom, 2012; Kivela, 2008), lo que podría favorecer la activación de la ruta VEGFa/VEGFR-2, aumentando la densidad vascular en estos tejidos (Robciuc, 2016). El ejercicio sería capaz de mantener esta respuesta vasodilatadora mediante un mecanismo dependiente de la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS), al aumentar la ruta PI3K/PKD1/AKT/eNOS. La eNOS favorece la producción de óxido nítrico (NO), un potente vasodilatador que mejora el flujo de sangre capilar al incrementar la superficie endotelial, el transporte de glucosa, de ácidos grasos y la presencia de insulina circulante para alcanzar tejidos diana, así como la contracción muscular (Powers, 2004). Además, una actividad física prolongada favorece la β oxidación al activar PGC1a, proteína reguladora que contribuye a la génesis mitocondrial, reforzando la maquinaria oxidativa (Handschin, 2006). Estos procesos podrían estar relacionados con el aumento de VEGFb, que unido a su función en el transporte de ácidos grasos a través de

endotelio enlaza ambos mecanismos favorecidos por el ejercicio, previniendo potencialmente una acumulación lipotóxica (Wagenmakers, 2016).

Los resultados de este trabajo de tesis han mostrado no sólo mayores niveles séricos de VEGFb en sujetos más activos físicamente, sino que, respecto a los sujetos sedentarios, aquellas personas con una mayor actividad física presentaban una menor tasa de incidencia de síndrome metabólico diagnosticado según los criterios de la ATP III o IDF, en línea con el conocimiento previo (Myers, 2019), y un menor porcentaje de estos sujetos incrementaron el perímetro abdominal y el FLI. Además, encontramos interacciones entre los niveles de VEGFb y la práctica de ejercicio físico en la explicación de las asociaciones halladas entre los niveles séricos de la proteína VEGFb y la incidencia de obesidad, síndrome metabólico e incrementos del perímetro abdominal y del FLI. En este sentido, la práctica activa de ejercicio físico se relacionó con un menor riesgo de desarrollar estas alteraciones metabólicas cuando esas personas presentaban niveles de VEGFb elevados. Nuestros resultados podrían estar relacionados con las observaciones de diferentes autores sobre la relación entre la práctica de actividad física y los niveles y funciones de VEGFb. Así, además del aumento en los niveles de expresión de VEGFb observados en músculo esquelético de animales y humanos con la actividad física (Bostrom, 2012; Kivela, 2008), se ha propuesto que este aumento de VEGFb en miotubos mediado por el ejercicio podría desempeñar un papel positivo en la inhibición de la apoptosis de células músculo esqueléticas (Guo L, 2022; Li L, 2022). Otros estudios en animales han mostrado también cómo el ejercicio físico incrementa el estado oxidativo y la expresión de genes angiogénicos, entre ellos VEGFb (Ardakanizade, 2018). Entre los mecanismos por los que el ejercicio prolongado podría aumentar los niveles de VEGFb se ha propuesto un mecanismo indirecto mediado por el estado de hipoxia, producido a consecuencia del ejercicio prolongado; esta hipoxia aumentaría los niveles del factor inducible por hipoxia HIF-1, el cual se ha relacionado con el aumento en la expresión de VEGFb (Rey, 2010; Keramidas, 2016). Otro posible mecanismo que explique la relación de VEGFb con el ejercicio estaría basado en el aumento en la producción de ROS durante el ejercicio que se ha descrito que puede estimular la

expresión de VEGFb (Ushio-Fukai, 2006). En base a nuestros resultados y los estudios previos sería razonable suponer que los efectos metabólicos positivos de VEGFb relacionados tanto con favorecer el riego sanguíneo muscular, posibilitando que llegue el suficiente oxígeno a este tejido e insulina, como con la estimulación de la β oxidación de ácidos grasos en los músculos bajo trabajo físico, o la reducción de la inflamación y la apoptosis de las células musculares, pudieran estar ligados a su aumento derivado del ejercicio físico.

3.2. Relación entre VEGFb y el consumo de alcohol y tabaco:

La asociación entre los altos niveles de VEGFb y el consumo de alcohol en nuestro trabajo podría estar influenciada por el tipo de alcohol consumido principalmente en población española; el vino tinto. Pues se ha descrito que un componente presente en esta bebida; el resveratrol, es capaz de aumentar la expresión de VEGFb y proteger del riesgo cardiovascular a través de la activación de la vía de señalización AMPK/eNOS/NO mediada por VEGFb en miocardio de ratas (Feng, 2019), así como de inhibir la polarización a M1 de macrófagos en modelos animales con disfunción cardíaca inducida a través de la vía de señalización AMPK/NF-kB mediada también por VEGFb (Li Y, 2020).

Por su parte, la relación entre niveles séricos elevados de VEGFb y un mayor consumo de cigarrillos podría explicarse con relación a la hipoxia. El consumo de tabaco aumenta la hipoxia crónica sistémica (Fricker, 2018) y esta favorece la expresión de VEGFb, como se ha descrito en el apartado anterior. De este modo, se impulsa la angiogénesis activada por VEGFa, la cual también aumenta con la hipoxia (Ramakrishnan, 2014), para expandir el entramado de capilares y mejorar la oxigenación de los tejidos. Además, la exposición crónica al humo del tabaco conduce a la inducción de vías antioxidantes y de desintoxicación, tanto en humanos como en modelos animales (Kelsen, 2008; Stevenson, 2007), apoyando la teoría de que VEGFb se encuentra elevado para mantener un estado metabólico adecuado ante condiciones adversas como es el consumo de tabaco.

En nuestro estudio longitudinal no observamos interacciones entre los niveles séricos de VEGFb y el consumo de alcohol o tabaco sobre el riesgo de desarrollar diferentes alteraciones metabólicas prevalentes, no existiendo otros trabajos previos que hayan estudiado previamente estas interacciones.

3.3. Relación entre VEGFb y componentes de la dieta

El consumo de ciertos alimentos también se asoció con los niveles de VEGFb en nuestro trabajo. En particular, un consumo preferente de aceite de oliva, un alto consumo de frutas y un bajo consumo de lácteos se asociaron con la presencia de unos niveles séricos más elevados de VEGFb.

3.3.1. Consumo de aceite de oliva:

El aceite de oliva se ha utilizado tradicionalmente como principal grasa culinaria y para aderezos en un patrón de Dieta Mediterránea, siendo uno de sus componentes clave y se sabe que es beneficioso para la salud, principalmente por su alto contenido en ácidos grasos monoinsaturados y compuestos bioactivos como polifenoles, derivados lipídicos y vitamina E (Gaforio, 2019). La evidencia de estudios epidemiológicos y ensayos clínicos respalda que el consumo de aceite de oliva se asocia con un menor riesgo de diabetes tipo 2, enfermedades cardiovasculares y mortalidad (Martínez-González, 2022; Schwingshackl, 2017; Guasch-Ferré, 2021) y ha demostrado efectos protectores sobre el metabolismo de los lípidos y la inflamación, función endotelial y estrés oxidativo (Markellos, 2022; Schwingshackl, 2019; Yubero-Serrano, 2019). Un metaanálisis incluyendo más de 30 estudios en humanos ha demostrado que el consumo de aceite de oliva mejora el estado oxidativo y la inflamación, siendo los efectos beneficiosos más pronunciados en sujetos con síndrome metabólico establecido u otras enfermedades crónicas (Tsartsou, 2019). En nuestra cohorte se ha descrito previamente el efecto beneficioso del consumo preferente de aceite de oliva sobre la presencia tanto de alteraciones cardiometabólicas asociadas con la adiposidad

(Gutiérrez-Repiso, 2013), como de diferentes factores de riesgo cardiovascular como la obesidad, la tolerancia alterada a la glucosa o el estilo de vida sedentario (Soriguer, 2013), en línea con la literatura. En nuestro estudio, los niveles más elevados de VEGFb observados en personas que consumen preferentemente aceite de oliva se podrían explicar atendiendo al artículo de Monastero y colaboradores (Monastero, 2017). Si bien en el estudio in vivo realizado por estos autores con ratas alimentadas con dieta enriquecida con aceites de coco, oliva o girasol, los niveles de expresión de VEGFb en tejido adiposo visceral y subcutáneo no difirieron entre los animales alimentados con las dietas de oliva y girasol, sí presentaron mayores niveles séricos de proteína las ratas alimentadas con dieta de oliva que la de girasol. Además, en el estudio in vitro publicado en ese mismo trabajo con la línea adipocitaria 3T3-L1 tratada con los ácidos grasos palmítico, oleico y linoleico, encontraron un descenso significativo en los niveles de expresión y liberación al medio de VEGFb respecto a la situación control sin ácidos grasos en el medio únicamente en las células tratadas con ácido linoleico, lo que puede sugerir un efecto inhibitor de la producción de VEGFb de este ácido graso (Monastero, 2017), efecto que podría estar relacionado con nuestros resultados sobre los menores niveles de VEGFb observados en los sujetos que presentaban también en su dieta la ingesta de otros aceites vegetales como el de girasol, rico en ácido linoleico.

En nuestro estudio de seguimiento no se detectaron interacciones entre los niveles séricos de VEGFb y el consumo preferente de aceite sobre el riesgo de desarrollar las diferentes alteraciones metabólicas prevalentes estudiadas, no existiendo investigaciones previas que hayan evaluado dichas interacciones.

3.3.2. Consumo de fruta:

El alto consumo de fruta es otro de los hábitos saludables incluidos en un patrón de dieta mediterránea. Investigaciones recientes realizadas sobre esta cohorte, en vías de publicación, sugieren que el consumo de fruta diaria sería un factor protector independiente ante el riesgo de desarrollar diabetes tipo 2 a los 7.5 años

en comparación con un consumo ocasional, en línea con la literatura y defiende la relevancia de la ingesta de fruta y su papel terapéutico en la prevención del desarrollo de diabetes y complicaciones asociadas (Hedge, 2013; Muraki, 2013; Cooper, 2015). Estudios preclínicos y clínicos han demostrado efectos beneficiosos de terapias dietéticas antiinflamatorias usando fitocomponentes presentes en la fruta para el tratamiento de la hiperglucemia, disfunción de la célula beta e insulinoresistencia en diabetes (Jin Y, 2023; Zin, 2022; Metibemu, 2022); además, algunos flavonoides como la antocianina presentes de muchas frutas, se han estudiado como elementos importantes en la prevención de las enfermedades cardiovasculares por su acción fortalecedora de los vasos sanguíneos, que mejora la circulación, previniendo el daño de la pared vascular y la inflamación (Mozos, 2021). En nuestro trabajo hemos encontrado que aquellos sujetos con una ingesta elevada de fruta presentan mayores niveles de VEGFb que aquellos que la consumen de manera ocasional, sin observar interacciones entre ambas variables en la explicación del riesgo de desarrollo de enfermedades metabólicas prevalentes. Hasta nuestro conocimiento, no existen estudios publicados que hayan evaluado la relación entre el consumo de fruta, general o aisladamente, y los niveles de VEGFb; pero quizás los mayores niveles de VEGFb asociados en nuestra cohorte a sujetos con una mayor ingesta de fruta podrían estar relacionados con el efecto modulador de los flavonoides sobre el sistema vascular (Mozos, 2021), de manera que el incremento en VEGFb podría contribuir a los procesos de vascularización por su acción sobre la ruta angiogénica VEGFa/VEGFR2.

3.3.3. Consumo de lácteos:

El consumo de lácteos también se contempla dentro del patrón de dieta mediterránea, donde consumirlos a diario, especialmente yogurt y queso, aportan proteínas de alto valor biológico, minerales y vitaminas.

Un trabajo previo sobre esta cohorte transversal concluía que el consumo de tres o más productos lácteos al día (leche, queso o yogur) se asocia inversamente con la

presencia de hipertensión y obesidad, aunque no con la presencia de diabetes (Lago-Sampedro, 2019). Estos resultados estaban en línea con la mayoría de la evidencia científica que apoya los beneficios del consumo de lácteos que informan de la relación inversa entre la ingesta de leche y productos lácteos y la presencia de la mayoría de las enfermedades metabólicas prevalentes (Thorning, 2017; Dehghan, 2018) y cardiometabólicas (Agrawal, 2015), así como obesidad (Astrup, 2014), síndrome metabólico y sus componentes (Lee M, 2018), mortalidad y eventos cardiovasculares mayores (Dehghan, 2018). Pues se ha descrito que los productos lácteos presentan un papel importante favoreciendo la oxidación de las grasas (González, 2012), reduciendo la lipogénesis e incrementando la lipólisis en tejido adiposo (Abedini, 2015; Dugan, 2014), pudiendo influir directamente sobre la masa grasa y el control del peso. Ya que el alto contenido en calcio procedente de la ingesta de lácteos puede facilitar la excreción de grasas fecales (Christensen, 2009) al inhibir su absorción mediante la unión de los ácidos grasos saturados de los lácteos a los ácidos biliares. No obstante, los resultados del efecto de los lácteos sobre los lípidos plasmáticos no son tan consistentes. Es bien sabido que los productos lácteos son una fuente importante de grasas saturadas en la dieta, habiéndose descrito que la alta ingesta de algunos tipos de grasas saturadas se asocia a un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular (De Souza, 2015). La mayoría de los estudios prospectivos muestran que reemplazar las grasas saturadas lácteas con grasas insaturadas o granos enteros baja el colesterol (Guo J, 2017), mientras que la mayoría de los ensayos clínicos no encuentran efectos en el perfil lipídico tras el consumo de productos lácteos bajos en grasa (Crichton, 2012; Rideout, 2013). Por otra parte, otros estudios clínicos han sugerido un efecto beneficioso del consumo de lácteos en los niveles de lípidos plasmáticos, especialmente con productos fermentados como quesos o yogures enteros (Huth, 2012). Del mismo modo, tampoco existe un consenso sobre el papel de algunos componentes de la leche en el contexto de la modulación de la angiogénesis (Martínez-Poveda, 2019) apareciendo tanto como elementos inhibidores de los procesos angiogénicos (Hernández-Ledesma, 2017; Medina, 2014); como factores proangiogénicos (Strydom, 1997; Silvestre, 2005).

Aunque no encontramos estudios previos publicados en los que se estudien los efectos del consumo de lácteos sobre los niveles circulantes de VEGFb, según nuestra investigación, a nivel transversal, los sujetos que toman menos lácteos presentan mayores niveles de VEGFb que los que presentan una mayor ingesta de lácteos, aunque no podemos explicar esta relación directa; pero observamos que existe una interacción significativa entre los niveles de VEGFb y el consumo de lácteos en la explicación del riesgo de incrementar el perímetro abdominal o el índice de esteatosis FLI, que indicaba que, entre los sujetos con menor consumo de lácteos, el riesgo de incrementar estos indicadores de empeoramiento metabólico se veía reducido en presencia de altos niveles de VEGFb frente a los sujetos con bajos niveles de VEGFb. Considerando nuestros resultados y los estudios previos que señalan una relación inversa entre el consumo de lácteos y el riesgo de enfermedades metabólicas prevalentes, podríamos hipotetizar que la mayor predisposición teórica por un menor consumo de lácteos ante la aparición de estas alteraciones metabólicas se podría ver atenuada por el efecto protector de altos niveles de VEGFb.

4. Fortalezas y limitaciones

La principal fortaleza de este estudio es que los datos se obtuvieron de una amplia cohorte nacional, con una duración considerable para el seguimiento y con un sustancial número de eventos. La mayoría de los participantes realizaron una SOG tanto en basal como en el seguimiento, y se les midió la HbA1c en el seguimiento. Este estudio se diseñó para tomar los parámetros necesarios para garantizar la captura de la mayoría de las personas con enfermedades metabólicas prevalentes e incidentes.

La actividad física de los participantes se evaluó empleando un cuestionario estandarizado (IPAQ), además de los datos de consumo dietético y estilo de vida detallados.

Nuestro trabajo también presenta algunas limitaciones. Aunque la participación en el seguimiento se redujo respecto al estudio basal, los posibles sesgos en la participación fueron mínimos (Rojo-Martínez, 2020).

En nuestros análisis de incidencia, el tamaño muestral se ve reducido cuando la población es agrupada de acuerdo con ausencia de cada alteración metabólica estudiada, pudiendo llegar a ser limitado, por ejemplo, al estudiar los componentes del síndrome metabólico individualmente; esto podría causar falta de asociaciones significativas entre categorías VEGFb y el riesgo de desarrollar estas alteraciones metabólicas aisladamente. Más investigaciones con tamaños muestrales mayores serían el prerrequisito para confirmar las asociaciones de los niveles de VEGFb con estas enfermedades metabólicas prevalentes encontradas en nuestro trabajo, y poder generalizar un valor de referencia, o un umbral para el pronóstico de la aparición de las mismas. Pero también para reevaluar aquellas relaciones que pueden haber quedado ocultas por falta de tamaño muestral.

Diferencias debidas a las intervenciones llevadas a cabo en cada área de origen de los participantes no han sido específicamente evaluadas, sin embargo, todos los procedimientos se llevaron a cabo, tanto en basal como en seguimiento, por

enfermeras entrenadas para tal fin, así los datos y muestras recolectadas se espera que presenten la mínima variabilidad.

La mayoría de los participantes en la cohorte eran caucásicos; por lo que hay que tener precaución para generalizar nuestros resultados a otras poblaciones.

La estimación de la condición de esteatosis hepática se ha hecho en base al estimador FLI en lugar de por métodos directos como la biopsia hepática o el ultrasonido. El estudio de esta cohorte se inició en 2008 y no estaba previsto en su diseño original la medición directa de grasa hepática, sin embargo, el índice FLI está descrito como un método bien establecido para el diagnóstico del hígado graso (Yang BL, 2015; Koehler, 2013; Kahl, 2014), que, además, ha sido validado recientemente como marcador de MAFLD (Han, 2022), y que por los valores de sensibilidad y especificidad que presenta ante estas alteraciones puede ser considerado lo suficientemente bueno como para utilizarlo en estudios epidemiológicos como este; no obstante, los posibles errores en la clasificación de los sujetos debidos al uso de este marcador, serían aleatorios y su influencia en la estimación de los efectos sería despreciable.

Respecto al consumo de alimentos y específicamente el de lácteos y fruta que se han relacionado con los niveles y efectos de VEGFb, el diseño de nuestro estudio no nos permite conocer la cantidad total consumida puesto que la información se recogió con un cuestionario de frecuencia de consumo. La falta de datos nutricionales cuantitativos es una importante limitación que debería ser solventada en futuras investigaciones con la realización de encuestas nutricionales cuantitativas o semicuantitativas. No obstante, en cuanto al consumo de fruta, las evidencias sugieren que existe una relación no lineal entre el consumo de fruta y el riesgo de enfermedades metabólicas como la diabetes tipo 2 donde a partir de una cantidad concreta, no habría un beneficio en el riesgo de diabetes asociado al incremento en la cantidad de fruta consumida (Niu, 2023). También podemos considerar una importante limitación de este trabajo la falta de información sobre el tipo específico de lácteos (entero o desnatado) o tipo de fruta consumida. Las grasas saturadas, de las que los productos lácteos son una fuente

importante, se han asociado a un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular (De Souza, 2015); sin embargo, la mayoría de ensayos clínicos no observan efectos sobre el perfil lipídico tras el consumo de productos lácteos bajos en grasa (Crichton, 2012; Rideout, 2013), con trabajos que incluso han sugerido un efecto beneficioso del consumo de lácteos, sobre todo los fermentados, en los niveles de lípidos plasmáticos (Huth, 2012). Por su parte, el contenido en azúcar de las distintas frutas difiere entre ellas; sin embargo, a pesar del potencial efecto dañino del azúcar de la fruta, la mayoría de la evidencia actual, clínica y preclínica, coincide en el efecto protector metabólico de otros elementos naturales de la fruta tales como fibra, antioxidantes, vitaminas, minerales y numerosos componentes fitoquímicos (Timm, 2023; Jin Y, 2023; Metibemu, 2022; Zin, 2022), que están presentes en todas las frutas de consumo habitual independientemente del tipo de fruta.

Finalmente y como se ha dicho a lo largo de esta discusión, el origen o destino del VEGFb sérico medido en este trabajo es desconocido, por lo que su acción y mecanismos subyacentes a los efectos observados y en relación a las hipótesis y teorías sugeridas por otros autores no puede ser confirmada; sin embargo, las diferencias halladas en sus niveles asociados a diversas alteraciones metabólicas son suficientes para proponerlo como un biomarcador para el riesgo de desarrollar enfermedades como síndrome metabólico, obesidad o esteatosis hepática.

CONCLUSIONES





UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

- Los niveles circulantes de VEGFb en nuestra cohorte de estudio aumentaron con la edad, varían en función del sexo y parecen estar modulados por factores ambientales como la dieta, especialmente el consumo de aceite de oliva, frutas y lácteos, así como, por la actividad física y otros hábitos de vida como el consumo de alcohol y tabaco.
- Los valores de referencia de VEGFb sérico en población aparentemente sana son inferiores a los de la población general en esta cohorte di@bet.es, sugiriendo que unos valores elevados de VEGFb circulantes indicarían presencia de alteraciones metabólicas.
- Los niveles elevados de VEGFb sérico se asociaron a una mayor prevalencia de enfermedades metabólicas en esta cohorte. En particular, se asociaron a mayor presencia de síndrome metabólico, obesidad abdominal, hipertensión, dislipemia y esteatosis hepática. Sin embargo, se asociaron a menor presencia de hiperglucemia y diabetes mellitus tipo 2.
- Aunque los niveles de VEGFb se asociaron al aumento del riesgo de la incidencia de obesidad general, también se asociaron con la disminución del riesgo de desarrollar obesidad abdominal, síndrome metabólico y esteatosis hepática, independientemente de otros factores de riesgo.
- El VEGFb sería un factor protector de patología metabólica al favorecer la acomodación del exceso de ingesta en tejido adiposo subcutáneo, evitando acumulación de grasa abdominal, favoreciendo la oxidación de lípidos y, con ello, la disminución del riesgo de patologías metabólicas asociadas al exceso de ingesta.
- Finalmente, nuestro trabajo refuerza la idea de que la práctica de actividad física puede ser empleada como terapia preventiva para el desarrollo de patologías metabólicas, gracias a su posible acción sobre el sistema VEGFb.



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

BIBLIOGRAFÍA





UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

A

Abedini, M., Falahi, E., & Roosta, S. (2015). Dairy product consumption and the metabolic syndrome. *Diabetes & Metabolic Syndrome*, 9(1), 34–37.

Abou Ziki, M. D., & Mani, A. (2016). Metabolic syndrome: Genetic insights into disease pathogenesis. *Current Opinion in Lipidology*, 27(2), 162–171.

Adair, T. H., & Montani, J. P. (2010). *Angiogenesis*. (Chapter 1, Overview of Angiogenesis). Morgan & Claypool Life Sciences.

Agrawal, S. (2015). Frequency of food consumption and self-reported diabetes among adult men and women in India: A large scale nationally representative cross-sectional study. *Journal of Diabetes & Metabolism*, 6(1), 474.

Agus, A., Clément, K., & Sokol, H. (2021). Gut microbiota-derived metabolites as central regulators in metabolic disorders. *Gut*, 70(6), 1174–1182.

Alberti, K. G., & Zimmet, P. Z. (1998). Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabetic Medicine*, 15(7), 539–553.

Alberti, K. G., Zimmet, P., & Shaw, J. (2005). The metabolic syndrome—a new worldwide definition. *The Lancet*, 366(9491), 1059–1062.

Alberti, K. G., Zimmet, P., & Shaw, J. (2006). Metabolic syndrome—a new worldwide definition. A consensus statement from the International Diabetes Federation. *Diabetic Medicine*, 23, 469–480.

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, International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention, National Heart, Lung, and Blood Institute, American Heart Association, World Heart Federation, International Atherosclerosis Society, & International Association for the Study of Obesity (2009). Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*, 120(16), 1640–1645.

AlEsa, H. B., Bhupathiraju, S. N., Malik, V. S., Wedick, N. M., Campos, H., Rosner, B., Willett, W. C., & Hu, F. B. (2015). Carbohydrate quality and quantity and risk of type 2 diabetes in US women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 102(6), 1543–1553.

Allen, R. G., & Tresini, M. (2000). Oxidative stress and gene regulation. *Free Radical Biology and Medicine*, 28(3), 463–499.

Alonso, S. P., Valdés, S., Maldonado-Araque, C., Lago, A., Ocon, P., Calle, A., Castaño, L., Delgado, E., Menéndez, E., Franch-Nadal, J., Gaztambide, S., Gírbés, J., Chaves, F., Garcia-Serrano, S., Garcia-Escobar, E., Fernandez-García, J. C., Olveira, G., Colomo, N., & Rojo-Martínez, G. (2021). Thyroid hormone resistance index and mortality in euthyroid subjects: Di@bet.es study. *European journal of endocrinology*, 186(1), 95–103.

American Diabetes Association. (2010). Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 33(1), 62–69.

American Diabetes Association. (2018). 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2018. *Diabetes Care*, 41(1), 13–27.

American Diabetes Association. (2019). 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2019. *Diabetes Care*, 42(1), 13–28.

Amor, A. J., Masana, L., Soriguer, F., Goday, A., Calle-Pascual, A., Gaztambide, S., Rojo-Martínez, G., Valdés, S., Gomis, R., Ortega, E., & Di@bet.es study group (2015). Estimating Cardiovascular Risk in Spain by the European Guidelines on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice. *Revista española de cardiología (English ed.)*, 68(5), 417–425.

Anisimov, A., Leppänen, V. M., Tvorogov, D., Zarkada, G., Jeltsch, M., Holopainen, T., Kaijalainen, S., & Alitalo, K. (2013). The basis for the distinct biological activities of vascular endothelial growth factor receptor-1 ligands. *Science Signaling*, 6(282), ra52.

Anstee, Q. M., Targher, G., & Day, C. P. (2013). Progression of MAFLD to diabetes mellitus, cardiovascular disease or cirrhosis. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 10, 330–344.

Aranceta-Bartrina, L., Serra-Majem, L., Foz-Sala, M., Moreno-Esteban, B., & Grupo Colaborativo SEEDO. (2005). Prevalencia de obesidad en España. *Medicina Clínica*, 125(12), 460–466.

Arany, Z., Foo, S. Y., Ma, Y., Ruas, J. L., Bommi-Reddy, A., Girnun, G., Cooper, M., Laznik, D., Chinsomboon, J., Rangwala, S. M., Baek, K. H., Rosenzweig, A., & Spiegelman, B. M. (2008). HIF-independent regulation of VEGF and angiogenesis by the transcriptional coactivator PGC-1 α . *Nature*, 451(7181), 1008–1012.

Ardakanizade, M. (2018). The effects of mid- and long-term endurance exercise on heart angiogenesis and oxidative stress. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 21(8), 800–805.

Arjunan, P., Lin, X., Tang, Z., Du, Y., Kumar, A., Liu, L., Yin, X., Huang, L., Chen, W., Chen, Q., Ye, Z., Wang, S., Kuang, H., Zhou, L., Xu, K., Chen, X., Zeng, H., Lu, W., Cao, Y., Liu, Y., ... Li, X. (2018). VEGF-B is a potent antioxidant. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(41), 10351–10356.

Armandi, A., & Bugianesi, E. (2024). Dietary and pharmacological treatment in patients with metabolic-dysfunction associated steatotic liver disease. *European Journal of Internal Medicine*, 122, 20–27.

Aronson, J. K., & Ferner, R. E. (2017). Biomarkers—A general review. *Current Protocols in Pharmacology*, 76(1), 9.23.1–9.23.17.

Asano, S. (1999). Cold-induced mRNA expression of angiogenic factors in rat brown adipose tissue. *Journal of Veterinary Medical Science*, 61, 403–409.

Aschner, P., Karuranga, S., James, S., Simmons, D., Basit, A., Shaw, J. E., Wild, S. H., Ogurtsova, K., & Saeedi, P. (2021). The International Diabetes Federation's guide for diabetes epidemiological studies. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 172, 108630.

Ashwell, M., Gunn, P., & Gibson, S. (2012). Waist-to-height ratio is a better screening tool than waist circumference and BMI for adult cardiometabolic risk factors: Systematic review and meta-analysis. *Obesity Reviews: An Official Journal of the International Association for the Study of Obesity*, 13(3), 275–286.

Assmann, G., Guerra, R., Fox, G., Cullen, P., Schulte, H., Willett, D., & Grundy, S. M. (2007). Harmonizing the definition of the metabolic syndrome: Comparison of the criteria of the Adult Treatment Panel III and the International Diabetes Federation in United States American and European populations. *American Journal of Cardiology*, 99(4), 541–548.

Astrup, A. (2014). Yogurt and dairy product consumption to prevent cardiometabolic diseases: Epidemiologic and experimental studies. *American Journal of Clinical Nutrition*, 99(5), 1235–1242.

Ataey, A., Mansourian, M., Hosseini, S. M., & Ahmadi, A. (2020). The relationship between obesity, overweight, and the Human Development Index in World Health Organization Eastern Mediterranean Region countries. *Journal of Preventive Medicine and Public Health*, 53(2), 98–105.

Ataie-Ashtiani, S., & Forbes, B. (2023). A review of the biosynthesis and structural implications of insulin gene mutations linked to human disease. *Cells*, 12, 1008.

Avgerinos, K. I., Spyrou, N., Mantzoros, C. S., & Dalamaga, M. (2019). Obesity and cancer risk: Emerging biological mechanisms and perspectives. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 92, 121–135.

Avogaro, P., Crepaldi, G., Enzi, G., & Tiengo, A. (1967). Association of hyperlipemia, diabetes mellitus and mild obesity. *Acta Diabetologica Latina*, 4, 572–590.

B

Balhara, Y. P. (2012). Tobacco and metabolic syndrome. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 16(1), 81–87.

Balkau, B., & Charles, M. A. (1999). Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Diabetic Medicine*, 16(5), 442–443.

Balkau, B., Lange, C., Vol, S., Fumeron, F., Bonnet, F., & Eschwege, E. (2010). Nine-year incident diabetes is predicted by fatty liver indices: The French D.E.S.I.R. study. *BMC Gastroenterology*, 10, 56.

Ballestri, S., Nascimbeni, F., Romagnoli, D., Baldelli, E., Targher, G., & Lonardo, A. (2016). Nonalcoholic fatty liver disease is associated with an almost twofold increased risk of incident type 2 diabetes and metabolic syndrome: Evidence from a systematic review and meta-analysis. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 31, 936–944.

Banach, M., Lewek, J., Surma, S., Penson, P. E., Sahebkar, A., Martin, S. S., Bajraktari, G., Henein, M. Y., Reiner, Ž., Bielecka-Dąbrowa, A., & Bytyçi, I. (2023). The association between daily step count and all-cause and cardiovascular mortality: A meta-analysis. *European Journal of Preventive Cardiology*, *30*(18), 1975–1985.

Baršić, N., Lerotić, I., Smirčić-Duvnjak, L., Tomašić, V., & Duvnjak, M. (2012). Overview and developments in noninvasive diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease. *World Journal of Gastroenterology*, *18*, 3945–3954.

Bartolomé, A. (2012). Papel del TSC2/mTORC1 en proliferación, autofagia y estrés de RE en célula beta pancreática (tesis doctoral). Universidad Autónoma de Madrid.

Bazshahi, E., Sheikhhossein, F., Amini, M. R., & Shab-Bidar, S. (2021). The association of dietary energy density and the risk of obesity, type 2 diabetes and metabolic syndrome: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *International Journal of Clinical Practice*, *75*(10), e14291.

Bedogni, G., Bellentani, S., Miglioli, L., Masutti, F., Passalacqua, M., Castiglione, A., & Tiribelli, C. (2006). The fatty liver index: A simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population. *BMC Gastroenterology*, *6*, 33.

Bellou, V., Belbasis, L., Tzoulaki, I., & Evangelou, E. (2018). Risk factors for type 2 diabetes mellitus: An exposure-wide umbrella review of meta-analyses. *PLoS ONE*, *13*(3), e0194127.

Bensellam, M., Laybutt, D. R., & Jonas, J. C. (2012). The molecular mechanisms of pancreatic β -cell glucotoxicity: Recent findings and future research directions. *Molecular and Cellular Endocrinology*, *364*(1–2), 1–27.

Berk, P. D., Zhou, S. L., Kiang, J. F., Stump, D., Fanelli, B. J., & Fogerty, F. J. (1997). Uptake of long chain free fatty acids is selectively up-regulated in adipocytes of Zucker rats with genetic obesity and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *The Journal of Biological Chemistry*, *272*, 8830–8835.

Berrington de González, A., Hartge, P., Cerhan, J. R., Flint, A. J., Hannan, L. M., MacInnis, R. J., Moore, S. C., Tobias, G. S., Anton-Culver, H., Freeman, L. B., Beeson, W. L., Clipp, S. L., English, D. R., Folsom, A. R., Freedman, D. M., Giles, G., Hakansson, N., Henderson, K. D., Hoffman-Bolton, J., ... Thun, M. J. (2010). Body-mass index and mortality among 1.46 million white adults. *The New England Journal of Medicine*, *363*(23), 2211–2219.

Bes-Rastrollo, M., Sanchez-Villegas, A., De la Fuente, C., De Irala, J., Martinez, J. A., & Martinez-Gonzalez, M. A. (2006). Olive oil consumption and weight change: The SUN prospective cohort study. *Lipids*, *41*(3), 249–256.

Bhargava, P., & Lee, C. H. (2012). Role and function of macrophages in the metabolic syndrome. *Biochemical Journal*, *442*(2), 253–262.

Bhupathiraju, S. N., Tobias, D. K., Malik, V. S., Pan, A., Hruby, A., Manson, J. E., Willett, W. C., & Hu, F. B. (2014). Glycemic index, glycemic load, and risk of type 2 diabetes: Results from 3 large US cohorts and an updated meta-analysis. *American Journal of Clinical Nutrition*, *100*(1), 218–232.

Bilotta, F. L., Arcidiacono, B., Messineo, S., Greco, M., Chiefari, E., & Foti, D. (2018). Insulin and osteocalcin: Further evidence for a mutual cross-talk. *Endocrine*, *59*, 622–632.

Björntorp, P. (1996). Neuroendocrine perturbations as a cause of insulin resistance. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, *12*(5), 355–365.

Björntorp, P. (1997). Stress and cardiovascular disease. *Acta Physiologica Scandinavica Supplementum*, *640*, 144–148.

Bloch-Damti, A., & Bashan, N. (2005). Proposed mechanisms for the induction of insulin resistance by oxidative stress. *Antioxidants & Redox Signaling*, *7*(11–12), 1553–1567.

Blouin, C. M., Prado, C., Takane, K. K., Lasnier, F., Garcia-Ocana, A., Ferré, P., Dugail, I., & Hajduch, E. (2010). Plasma membrane subdomain compartmentalization contributes to distinct mechanisms of ceramide action on insulin signaling. *Diabetes*, *59*(3), 600–610.

Boege, H. L., Bhatti, M. Z., & St-Onge, M. P. (2021). Circadian rhythms and meal timing: Impact on energy balance and body weight. *Current Opinion in Biotechnology*, *70*, 1–6.

Boström, P., Wu, J., Jedrychowski, M. P., Korde, A., Ye, L., Lo, J. C., Rasbach, K. A., Boström, E. A., Choi, J. H., Long, J. Z., Kajimura, S., Zingaretti, M. C., Vind, B. F., Tu, H., Cinti, S., Højlund, K., Gygi, S. P., & Spiegelman, B. M. (2012). A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature*, *481*(7382), 463–468.

Boucher, J., Kleinridders, A., & Kahn, C. R. (2014). Insulin receptor signaling in normal and insulin-resistant states. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, *6*, a009191.

Boucher, J. L. (2017). Mediterranean eating pattern. *Diabetes Spectrum: A Publication of the American Diabetes Association*, *30*(2), 72–76.

Bravo, V. (2020). Factores socioeconómicos relacionados con el riesgo de diabetes tipo 2. Tesis doctoral. Universidad de Málaga.

Bray, G. A., Kim, K. K., & Wilding, J. P. H. (2017). Obesity: A chronic relapsing progressive disease process. A position statement of the World Obesity Federation. *Obesity Reviews*, *18*(7), 715–723.

Bril, F., & Cusi, K. (2017). Management of nonalcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes: A call to action. *Diabetes Care*, *40*, 419–430.

Browning, L. M., Hsieh, S. D., & Ashwell, M. (2010). A systematic review of waist-to-height ratio as a screening tool for the prediction of cardiovascular disease and diabetes: 0.5 could be a suitable global boundary value. *Nutrition Research Reviews*, *23*(2), 247–269.

Brugnara, L., Murillo, S., Novials, A., Rojo-Martínez, G., Soriguer, F., Goday, A., Calle-Pascual, A., Castaño, L., Gaztambide, S., Valdés, S., Franch, J., Castell, C., Vendrell, J., Casamitjana, R., Bosch-Comas, A., Bordiú, E., Carmena, R., Catalá, M., Delgado, E., Gírbés, J., ... Ortega, E. (2016). Low physical activity and its association with diabetes and other cardiovascular risk factors: A nationwide, population-based study. *PloS one*, *11*(8), e0160959.

Bry, M., Kivelä, R., Leppänen, V. M., & Alitalo, K. (2014). Vascular endothelial growth factor-B in physiology and disease. *Physiological reviews*, 94(3), 779–794.

Buckland, G., Mayén, A. L., Agudo, A., Travier, N., Navarro, C., Huerta, J. M., Chirlaque, M. D., Barricarte, A., Ardanaz, E., Moreno-Iribas, C., Marin, P., Quirós, J. R., Redondo, M. L., Amiano, P., Dorronsoro, M., Arriola, L., Molina, E., Sanchez, M. J., & Gonzalez, C. A. (2012). Olive oil intake and mortality within the Spanish population (EPIC-Spain). *The American journal of clinical nutrition*, 96(1), 142–149.

Byrne, C. D., & Targher, G. (2015). NAFLD: A multisystem disease. *Journal of Hepatology*, 62(1 Suppl), S47–S64.

C

Caballería, L., Pera, G., Auladell, M. A., Torán, P., Muñoz, L., Miranda, D., Alumà, A., Morillas, R. M., Serra-Burriel, M., & Plans, P. (2010). Prevalence and factors associated with the presence of nonalcoholic fatty liver disease in an adult population in Spain. *European Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 22, 24–32.

Cai, H., & Harrison, D. G. (2000). Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: The role of oxidant stress. *Circulation Research*, 87(10), 840–844.

Calle, E. E., Rodriguez, C., Walker-Thurmond, K., & Thun, M. J. (2003). Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *The New England Journal of Medicine*, 348(17), 1625–1638.

Cameron, A. J., Shaw, J. E., & Zimmet, P. Z. (2004). The metabolic syndrome: Prevalence in worldwide populations. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 33, 351–375.

Canoy, D., Wareham, N., Luben, R., Welch, A., Bingham, S., Day, N., & Khaw, K. T. (2005). Cigarette smoking and fat distribution in 21,828 British men and women: A population-based study. *Obesity Research*, 13(8), 1466–1475.

Cao, Y. (2013). Angiogenesis and vascular functions in modulation of obesity, adipose metabolism, and insulin sensitivity. *Cell Metabolism*, 18(4), 478–489.

Cao, L., An, Y., Liu, H., Jiang, J., Liu, W., Zhou, Y., Shi, M., Dai, W., Lv, Y., Zhao, Y., et al. (2024). Global epidemiology of type 2 diabetes in patients with NAFLD or MAFLD: A systematic review and meta-analysis. *BMC Medicine*, 22.

Carmeliet, P., Ferreira, V., Breier, G., Pollefeyt, S., Kieckens, L., Gertsenstein, M., Fahrig, M., Vandenhoek, A., Harpal, K., Eberhardt, C., Declercq, C., Pawling, J., Moons, L., Collen, D., Risau, W., & Nagy, A. (1996). Abnormal blood vessel development and lethality in embryos lacking a single VEGF allele. *Nature*, 380(6573), 435–439.

Carmienke, S., Freitag, M. H., Pischon, T., Schlattmann, P., Fankhaenel, T., Goebel, H., & Gensichen, J. (2013). General and abdominal obesity parameters and their combination in relation to mortality: a systematic review and meta-regression analysis. *European journal of clinical nutrition*, 67(6), 573–585.

Carobbio, S., Guénantin, A. C., Samuelson, I., Bahri, M., & Vidal-Puig, A. (2019). Brown and beige fat: From molecules to physiology and pathophysiology. *Biochimica et Biophysica Acta Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1864(1), 37–50.

Carvajal Carvajal, C. (2015). Tejido adiposo, obesidad e insulino resistencia. *Medicina Legal de Costa Rica*, 32(2), 138–144.

Chatterjee, K., Gupta, T., Goyal, A., Kolte, D., Khera, S., Shanbhag, A., Patel, K., Villablanca, P., Agarwal, N., Aronow, W. S., Menegus, M. A., Fonarow, G. C., Bhatt, D. L., Garcia, M. J., & Meena, N. K. (2017). Association of obesity with in-hospital mortality of cardiogenic shock complicating acute myocardial infarction. *American Journal of Cardiology*, 119(10), 1548–1554.

Chatterjee, S., Davies, M. J., Heller, S., Speight, J., Snoek, F. J., & Khunti, K. (2018). Diabetes structured self-management education programmes: A narrative review and current innovations. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 6(2), 130–142.

Chen, C., Zhang, Y., Fan, Y., Ying, Z., Su, Q., Li, X., & Qin, L. (2023). The change of non-alcoholic fatty liver disease is associated with risk of incident diabetes. *Frontiers in endocrinology*, 14, 1108442.

Chen, R., Lee, C., Lin, X., Zhao, C., & Li, X. (2019). Novel function of VEGF-B as an antioxidant and therapeutic implications. *Pharmacological research*, 143, 33–39.

Chen, Y., Zhao, M., Wang, C., Wen, H., Zhang, Y., Lu, M., Adlat, S., Zheng, T., Zhang, M., Li, D., Lu, X., Guo, M., Chen, H., Zhang, L., Feng, X., & Zheng, Y. (2020). Adipose vascular endothelial growth factor B is a major regulator of energy metabolism. *Journal of Endocrinology*, 244(3), 511–521.

Chen, Y., Li, X., Zhang, J., Zhang, M., Adlat, S., Lu, X., Li, D., Jin, H., Wang, C., Mar Oo, Z., Hayel, F., Chen, Q., Han, X., Chen, R., Feng, X., Zhang, L., & Zheng, Y. (2023). Regulation of adipose tissue development and energy metabolism by VEGFB isoforms. *The Journal of endocrinology*, 258(1), e220329.

Cheng, F., Zhao, L., Wu, Y., Huang, T., Yang, G., Zhang, Z., Wu, Y., Jia, F., Wu, J., Chen, C., & Liu, D. (2016). Serum vascular endothelial growth factor B is elevated in women with polycystic ovary syndrome and can be decreased with metformin treatment. *Clinical endocrinology*, 84(3), 386–393.

Chiolero, A., Faeh, D., Paccaud, F., & Cornuz, J. (2008). Consequences of smoking for body weight, body fat distribution, and insulin resistance. *American Journal of Clinical Nutrition*, 87(4), 801–809.

Christensen, R., Lorenzen, J. K., Svith, C. R., Bartels, E. M., Melanson, E. L., Saris, W. H., Tremblay, A., & Astrup, A. (2009). Effect of calcium from dairy and dietary supplements on faecal fat excretion: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity*, 10(4), 475–486.

Chrysant, S. G. (2017). New onset diabetes mellitus induced by statins: Current evidence. *Postgraduate Medicine*, 129(4), 430–435.

Chung, A. S., & Ferrara, N. (2011). Developmental and pathological angiogenesis. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 27, 563–584.

Ciardullo, S., Sala, I., & Perseghin, G. (2020). Screening strategies for nonalcoholic fatty liver disease in type 2 diabetes: Insights from NHANES 2005–2016. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 167, 108358.

Coelho, M., Oliveira, T., & Fernandes, R. (2013). Biochemistry of adipose tissue: An endocrine organ. *Archives of Medical Science (AMS)*, 9(2), 191–200.

Cole, T. J., Bellizzi, M. C., Flegal, K. M., & Dietz, W. H. (2000). Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: International survey. *BMJ*, 320(7244), 1240–1243.

Colomo, N., Linares, F., Rubio-Martín, E., Moreno, M. J., de Mora, M., García, A. M., González, A. M., Rojo-Martínez, G., Valdés, S., Ruiz de Adana, M. S., Olveira, G., & Soriguer, F. (2013). Stress hyperglycemia in hospitalized patients with coronary artery disease and type 2 diabetes risk. *European Journal of Clinical Investigation*, 43(10), 1060–1068.

Cooper, A. J., Sharp, S. J., Luben, R. N., Khaw, K. T., Wareham, N. J., & Forouhi, N. G. (2015). The association between a biomarker score for fruit and vegetable intake and incident type 2 diabetes: The EPIC-Norfolk study. *European Journal of Clinical Nutrition*, 69(4), 449–454.

Cornier, M. A., Dabelea, D., Hernandez, T. L., Lindstrom, R. C., Steig, A. J., Stob, N. R., Van Pelt, R. E., Wang, H., & Eckel, R. H. (2008). The metabolic syndrome. *Endocrine Reviews*, 29(7), 777–822.

Craig, C. L., Marshall, A. L., Sjöström, M., Bauman, A. E., Booth, M. L., Ainsworth, B. E., Pratt, M., Ekelund, U., Yngve, A., Sallis, J. F., & Oja, P. (2003). International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 35(8), 1381–1395.

Crichton, G. E., Howe, P. R., Buckley, J. D., Coates, A. M., & Murphy, K. J. (2012). Dairy consumption and cardiometabolic health: Outcomes of a 12-month crossover trial. *Nutrition & Metabolism (London)*, 9, 19.

Cuesta, M., Fuentes, M., Rubio, M., Bordiu, E., Barabash, A., Garcia de la Torre, N., Rojo-Martínez, G., Valdes, S., Soriguer, F., Vendrell, J. J., Urrutia, I. M., Ortega, E., Montanya, E., Menendez, E., Lago-Sampedro, A., Gomis, R., Goday, A., Castell, C., Badia-Guillen, R., Gírbés, J., ... Calle-Pascual, A. L. (2020). Incidence and regression of metabolic syndrome in a representative sample of the Spanish population: results of the cohort di@bet.es study. *BMJ open diabetes research & care*, 8(1), e001715.

D

Dallinga-Thie, G. M., Franssen, R., Mooij, H. L., Visser, M. E., Hassing, H. C., Peelman, F., Kastelein, J. J., Péterfy, M., & Nieuwdorp, M. (2010). The metabolism of triglyceride-rich lipoproteins revisited: new players, new insight. *Atherosclerosis*, 211(1), 1–8.

Day, C. P., & James, O. F. (1998). Steatohepatitis: A tale of two "hits"? *Gastroenterology*, 114(4), 842–845.

de Alwis, N. M. W., Anstee, Q. M., & Day, C. P. (2016). How to diagnose nonalcoholic fatty liver disease. *Digestive Diseases*, 34(Suppl 1), 19–26.

de Souza, R. J., Mente, A., Maroleanu, A., Cozma, A. I., Ha, V., Kishibe, T., Uleryk, E., Budylowski, P., Schünemann, H., Beyene, J., & Anand, S. S. (2015). Intake of saturated and trans unsaturated fatty acids and risk of all-cause mortality, cardiovascular disease, and type 2 diabetes: Systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMJ*, 351, h3978.

DeForest, N., & Majithia, A. R. (2022). Genetics of type 2 diabetes: Implications from large-scale studies. *Current Diabetes Reports*, 22(5), 227–235.

DeFronzo, R. A. (2009). From the Triumvirate to the Ominous Octet: A new paradigm for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes*, 58(4), 773–795.

DeFronzo, R. A. (2010). Insulin resistance, lipotoxicity, type 2 diabetes, and atherosclerosis: The missing links. *Diabetologia*, 53(7), 1270–1287.

Dehghan, M., Mente, A., Rangarajan, S., Sheridan, P., Mohan, V., Iqbal, R., Gupta, R., Lear, S., Wentzel-Viljoen, E., Avezum, A., Lopez-Jaramillo, P., Mony, P., Varma, R. P., Kumar, R., Chifamba, J., Alhabib, K. F., Mohammadifard, N., Oguz, A., Lanas, F., Rozanska, D., ... Prospective Urban Rural Epidemiology (PURE) study investigators (2018). Association of dairy intake with cardiovascular disease and mortality in 21 countries from five continents (PURE): a prospective cohort study. *The Lancet*, 392(10161), 2288–2297.

Després, J. P., & Lemieux, I. (2006). Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature*, 444(7121), 881–887.

Desroches, S., & Lamarche, B. (2007). The evolving definitions and increasing prevalence of the metabolic syndrome. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 32(1), 23–32.

Deutsch, M. E. (2003). Obesity and cancer. *The New England Journal of Medicine*, 349(5), 502–504.

Dewerchin, M., & Carmeliet, P. (2014). Placental growth factor in cancer. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 18(11), 1339–1354.

Dhalla, N. S., Temsah, R. M., & Netticadan, T. (2000). Role of oxidative stress in cardiovascular diseases. *Journal of Hypertension*, 18(6), 655–673.

Di Angelantonio, E., Bhupathiraju, S.hN., Wormser, D., Gao, P., Kaptoge, S., Berrington de Gonzalez, A., Cairns, B. J., Huxley, R., Jackson, C.hL., Joshy, G., Lewington, S., Manson, J. E., Murphy, N., Patel, A. V., Samet, J. M., Woodward, M., Zheng, W., Zhou, M., Bansal, N., ... Hu, F. B. (2016). Body-mass index and all-cause mortality: individual-participant-data meta-analysis of 239 prospective studies in four continents. *The Lancet*, 388(10046), 776–786.

Di Cesare, M., Bentham, J., Stevens, G. A., Zhou, B., Danaei, G., Lu, Y., Bixby, H., Cowan, M. J., Hajifathalian, K., Fortunato, L., ... Ezzati, M. (2016). Trends in adult body-mass index in 200 countries from 1975 to 2014: A pooled analysis of 1698 population-based measurement studies with 19.2 million participants. *The Lancet*, *387*(10026), 1377–1396.

Dijkstra, M. H., Pirinen, E., Huusko, J., Kivelä, R., Schenkwein, D., Alitalo, K., & Ylä-Herttuala, S. (2014). Lack of cardiac and high-fat diet-induced metabolic phenotypes in two independent strains of Vegf-b knockout mice. *Scientific Reports*, *4*, 6238.

Dorcely, B., Katz, K., Jagannathan, R., Chiang, S. S., Oluwadare, B., Goldberg, I. J., & Bergman, M. (2017). Novel biomarkers for prediabetes, diabetes, and associated complications. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity : targets and therapy*, *10*, 345–361.

Doulatram-Gamgaram, V., Valdés, S., Maldonado-Araque, C., Lago-Sampedro, A., Badía-Guillén, R., García-Escobar, E., García-Serrano, S., García-Vivanco, M., Garrido, J. L., Theobald, M. R., Gil, V., Martín-Llorente, F., Calle-Pascual, A., Bordiu, E., Castaño, L., Delgado, E., Franch-Nadal, J., Chaves, F. J., Montanya, E., Galán-García, J. L., ... Rojo-Martínez, G. (2021). Association between long term exposure to particulate matter and incident hypertension in Spain. *Scientific reports*, *11*(1), 19702.

Dugan, C. E., & Fernandez, M. L. (2014). Effects of dairy on metabolic syndrome parameters: A review. *Yale Journal of Biology and Medicine*, *87*(2), 135–147.

E

Eckel, R. H., Grundy, S. M., & Zimmet, P. Z. (2005). The metabolic syndrome. *The Lancet*, *365*(9468), 1415–1428.

Einhorn, D., Reaven, G. M., Cobin, R. H., Ford, E., Ganda, O. P., Handelsman, Y., Hellman, R., Jellinger, P. S., Kendall, D., Krauss, R. M., Neufeld, N. D., Purnell, J. Q., & Smith, D. A. (2003). American College of Endocrinology position statement on the insulin resistance syndrome. *Endocrine Practice*, *9*(3), 237–252.

Eknoyan, G. (2008). Adolphe Quetelet (1796–1874)—The average man and indices of obesity. *Nephrology Dialysis Transplantation*, *23*(1), 47–51.

Encuesta Nacional de Salud de España (2017). Ministerio de Sanidad - Portal Estadístico del SNS. <https://www.sanidad.gob.es/estadEstudios/estadisticas/encuestaNacional/encuesta2017.htm>

Engin, A. (2017). The definition and prevalence of obesity and metabolic syndrome. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, *960*, 1–17.

Enholm, B., Paavonen, K., Ristimäki, A., Kumar, V., Gunji, Y., Klefstrom, J., Kivinen, L., Laiho, M., Olofsson, B., Joukov, V., Eriksson, U., & Alitalo, K. (1997). Comparison of VEGF, VEGF-B, VEGF-C and Ang-1 mRNA regulation by serum, growth factors, oncoproteins and hypoxia. *Oncogene*, *14*(20), 2475–2483.

Erdmann, J., Lippl, F., Wagenpfeil, S., Tschöp, M., & Schusdziarra, V. (2012). Disturbances of basal and postprandial insulin secretion and clearance in obese patients with type 2 diabetes mellitus. *Hormone and Metabolic Research*, *44*, 60–69.

Ervin, R. B. (2009). Prevalence of metabolic syndrome among adults 20 years of age and over, by sex, age, race and ethnicity, and body mass index: United States, 2003–2006. *National Health Statistics Reports*, (13), 1–7.

ESCAV. (2022). Estrategia de Salud Cardiovascular SNS. Retrieved from https://www.sanidad.gob.es/areas/calidadAsistencial/estrategias/saludCardiovascular/docs/Estrategia_de_salud_cardiovascular_SNS.pdf

Eslam, M., Newsome, P. N., Sarin, S. K., Anstee, Q. M., Targher, G., Romero-Gomez, M., Zelber-Sagi, S., Wai-Sun Wong, V., Dufour, J. F., Schattenberg, J. M., Kawaguchi, T., Arrese, M., Valenti, L., Shiha, G., Tiribelli, C., Yki-Järvinen, H., Fan, J. G., Grønbaek, H., Yilmaz, Y., Cortez-Pinto, H., ... George, J. (2020). A new definition for metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: An international expert consensus statement. *Journal of hepatology*, *73*(1), 202–209.

Eslami, O., Khorramrouz, F., Sohoul, M., Bagheri, N., Shidfar, F., & Fernandez, M. L. (2022). Effect of nuts on components of metabolic syndrome in healthy adults with overweight/obesity: A systematic review and meta-analysis. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases: NMCD*, *32*(11), 2459–2469.

Esposito, K., Maiorino, M. I., Ciotola, M., Di Palo, C., Scognamiglio, P., Gicchino, M., Petrizzo, M., Saccomanno, F., Beneduce, F., Ceriello, A., & Giugliano, D. (2009). Effects of a Mediterranean-style diet on the need for antihyperglycemic drug therapy in patients with newly diagnosed type 2 diabetes: a randomized trial. *Annals of internal medicine*, *151*(5), 306–314.

Esposito, K., Maiorino, M. I., Bellastella, G., Chiodini, P., Panagiotakos, D., & Giugliano, D. (2015). A journey into a Mediterranean diet and type 2 diabetes: a systematic review with meta-analyses. *BMJ open*, *5*(8), e008222.

Estruch, R., Ros, E., Salas-Salvadó, J., Covas, M. I., Corella, D., Arós, F., Gómez-Gracia, E., Ruiz-Gutiérrez, V., Fiol, M., Lapetra, J., Lamuela-Raventos, R. M., Serra-Majem, L., Pintó, X., Basora, J., Muñoz, M. A., Sorlí, J. V., Martínez, J. A., Fitó, M., Gea, A., Hernán, M. A., ... PREDIMED Study Investigators (2018). Primary Prevention of Cardiovascular Disease with a Mediterranean Diet Supplemented with Extra-Virgin Olive Oil or Nuts. *The New England journal of medicine*, *378*(25), e34.

Estruch, R., & Ros, E. (2020). The role of the Mediterranean diet on weight loss and obesity-related diseases. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, *21*, 315–327.

European Association for the Study of the Liver (EASL), European Association for the Study of Diabetes (EASD), & European Association for the Study of Obesity (EASO). (2024). EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines on the management of metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease (MASLD). *Journal of Hepatology*, *81*(3), 492–542.

F

Falkevall, A., Mehlem, A., Palombo, I., Heller Sahlgren, B., Ebarasi, L., He, L., Ytterberg, A. J., Olauson, H., Axelsson, J., Sundelin, B., Patrakka, J., Scotney, P., Nash, A., & Eriksson, U. (2017). Reducing VEGF-B Signaling Ameliorates Renal Lipotoxicity and Protects against Diabetic Kidney Disease. *Cell metabolism*, 25(3), 713–726.

Feingold, K. R., Anawalt, B., Boyce, A., Chrousos, G., Dungan, K., Grossman, A., Hershman, J. M., Kaltsas, G., Koch, C., Kopp, P., Korbonits, M., McLachlan, R., New, M., Purnell, J., Rebar, R., Singer, F., Trencle, D. L., Vinik, A., & Wilson, D. P. (Eds.). (2000). *Endotext*. MDText.com, Inc. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK305900/>

Feng, L., Ren, J., Li, Y., Meng, X., Zhang, Y., Zhang, L., & Liu, R. (2019). Resveratrol protects against isoproterenol-induced myocardial infarction in rats through VEGF-B/AMPK/eNOS/NO signaling pathway. *Free Radical Research*, 53(1), 82–93.

Fernández, M. (1996). Biología molecular de la diabetes mellitus. *Revista Endocrinología y Nutrición*, 4(3).

Fernández-Bergés, D., Cabrera de León, A., Sanz, H., Elosua, R., Guembe, M. J., Alzamora, M., Vega-Alonso, T., Félix-Redondo, F. J., Ortiz-Marrón, H., Rigo, F., Lama, C., Gavrila, D., Segura-Fragoso, A., Lozano, L., & Marrugat, J. (2012). Metabolic syndrome in Spain: prevalence and coronary risk associated with harmonized definition and WHO proposal. DARIOS study. *Revista española de cardiología (English ed.)*, 65(3), 241–248.

Ferrannini, E., Haffner, S. M., Mitchell, B. D., & Stern, M. P. (1991). Hyperinsulinemia: The key feature of a cardiovascular and metabolic syndrome. *Diabetologia*, 34(6), 416–422.

Ferrara, N. (2000). Vascular endothelial growth factor and the regulation of angiogenesis. *Recent Progress in Hormone Research*, 55, 15–35.

Finkelstein, E. A., Ruhm, C. J., & Kosa, K. M. (2004). Economic causes and consequences of obesity. *Annual Review of Public Health*, 26, 239–257.

Flamment, M., Hajdich, E., Ferre, P., & Foufelle, F. (2012). New insights into ER stress-induced insulin resistance. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 23, 381–390.

Flegal, K. M., Kit, B. K., Orpana, H., & Graubard, B. I. (2013). Association of all-cause mortality with overweight and obesity using standard body mass index categories: A systematic review and meta-analysis. *JAMA*, 309(1), 71–82.

Ford, E. S., Giles, W. H., & Dietz, W. H. (2002). Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: Findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA*, 287, 356–359.

Ford, E. S., Giles, W. H., & Mokdad, A. H. (2004). Increasing prevalence of the metabolic syndrome among US adults. *Diabetes Care*, 27, 2444–2449.

Ford, E. S. (2005). Prevalence of the metabolic syndrome defined by the International Diabetes Federation among adults in the U.S. *Diabetes Care*, 28, 2745.

Ford, E. S., Li, C., & Sattar, N. (2008). Metabolic syndrome and incident diabetes: Current state of the evidence. *Diabetes Care*, 31(9), 1898–1904.

Ford, E. S., Li, C., & Zhao, G. (2010). Prevalence and correlates of metabolic syndrome based on a harmonious definition among adults in the US. *Journal of Diabetes*, 2, 180–193.

Forouzanfar, M. H., Afshin, A., Alexander, L. T., Anderson, H. R., Bhutta, Z. A., Biryukov, S., Brauer, M., Burnett, R., Cercy, K., Charlson, F. J., ... Murray, C. J. L. (2016). Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990–2015: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *The Lancet*, 388(10053), 1659–1724.

Fragozo-Ramos, M. C. (2022). Síndrome metabólico: Revisión de la literatura. *Medicina y Laboratorio*, 26(1), 47–62.

Franch-Nadal, J., Caballeria, L., Mata-Cases, M., Mauricio, D., Giraldez-García, C., Mancera, J., Goday, A., Mundet-Tudurí, X., Regidor, E., & PREDAPS Study Group (2018). Fatty liver index is a predictor of incident diabetes in patients with prediabetes: The PREDAPS study. *PloS one*, 13(6), e0198327.

Franco, O. H., Massaro, J. M., Civil, J., Cobain, M. R., O'Malley, B., & D'Agostino, R. B., Sr. (2009). Trajectories of entering the metabolic syndrome: The Framingham Heart Study. *Circulation*, 120(20), 1943–1950.

Franz, M. J., Boucher, J. L., Rutten-Ramos, S., & VanWormer, J. J. (2015). Lifestyle weight-loss intervention outcomes in overweight and obese adults with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 115(9), 1447–1463.

Frayn, K. N. (2013). Chapter 11: Energy balance and body weight regulation. In *Metabolic Regulation: A Human Perspective (3rd ed., pp. 329–349)*. John Wiley & Sons.

Fricker, M., Goggins, B. J., Mateer, S., Jones, B., Kim, R. Y., Gellatly, S. L., Jarnicki, A. G., Powell, N., Oliver, B. G., Radford-Smith, G., Talley, N. J., Walker, M. M., Keely, S., & Hansbro, P. M. (2018). Chronic cigarette smoke exposure induces systemic hypoxia that drives intestinal dysfunction. *JCI insight*, 3(3), e94040.

Friedewald, W. T., Levy, R. I., & Fredrickson, D. S. (1972). Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical Chemistry*, 18(6), 499–502.

Furukawa, S., Fujita, T., Shimabukuro, M., Iwaki, M., Yamada, Y., Nakajima, Y., Nakayama, O., Makishima, M., Matsuda, M., & Shimomura, I. (2004). Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *The Journal of clinical investigation*, 114(12), 1752–1761.

G

Gaforio, J. J., Visioli, F., Alarcón-de-la-Lastra, C., Castañer, O., Delgado-Rodríguez, M., Fitó, M., Hernández, A. F., Huertas, J. R., Martínez-González, M. A., Menendez, J. A.,

Osada, J., Papadaki, A., Parrón, T., Pereira, J. E., Rosillo, M. A., Sánchez-Quesada, C., Schwingshackl, L., Toledo, E., & Tsatsakis, A. M. (2019). Virgin Olive Oil and Health: Summary of the III International Conference on Virgin Olive Oil and Health Consensus Report, JAEN (Spain) 2018. *Nutrients*, 11(9), 2039.

Galán, I., Fontán, J., Ortiz, C., López-Cuadrado, T., Téllez-Plaza, M., & García-Esquinas, E. (2024). Volume of alcohol intake, heavy episodic drinking, and all-cause mortality in Spain: A longitudinal population-based study. *Addictive Behaviors*, 158, 108108.

Gallagher, E. J., Leroith, D., & Karnieli, E. (2011). The metabolic syndrome: From insulin resistance to obesity and diabetes. *Medical Clinics of North America*, 95(5), 855–873.

Garay-Sevilla, M. E., Malacara, J. M., González-Contreras, E., Wróbel-Zasada, K., Wróbel-Kaczmarczyk, K., & Gutiérrez-Roa, A. (2000). Perceived psychological stress in diabetes mellitus type 2. *Revista de investigación clínica; órgano del Hospital de Enfermedades de la Nutrición*, 52(3), 241–245.

García-Escobar, E., Valdés, S., Soriguer, F., Vendrell, J., Urrutia-Etxebarria, I.M., Maldonado-Araque, C., Ortega, E., Ocón, P., Montanya, E., Menéndez, E., Lago-Sampedro, A., González-Frutos, T., Gomis, R., Goday, A., García-Serrano, S., Galán-García, J.L., Castell, C., ... Rojo-Martínez, G. & Franch-Nadal, J. (2021). Fatty liver index as a predictor for type 2 diabetes in subjects with normoglycemia in a nationwide cohort study. *Scientific Reports*, 11(1), 16453.

Gaulton, K. J. (2017). Mechanisms of type 2 diabetes risk loci. *Current Diabetes Reports*, 17(9), 72.

Goday, A. (2002). Epidemiología de la diabetes y sus complicaciones no coronarias. *Revista Española de Cardiología*, 55(6), 657–670.

Gómez, G., & Stanford, F. C. (2018). US health policy and prescription drug coverage of FDA-approved medications for the treatment of obesity. *International Journal of Obesity*, 42(3), 495.

Gómez-Ambrosi, J., Catalán, V., Diez-Caballero, A., Martínez-Cruz, L. A., Gil, M. J., García-Foncillas, J., Cienfuegos, J. A., Salvador, J., Mato, J. M., & Frühbeck, G. (2004). Gene expression profile of omental adipose tissue in human obesity. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 18(1), 215–217.

Gómez-Ambrosi, J., Catalán, V., Rodríguez, A., Ramírez, B., Silva, C., Gil, M. J., Salvador, J., & Frühbeck, G. (2010). Involvement of serum vascular endothelial growth factor family members in the development of obesity in mice and humans. *The Journal of nutritional biochemistry*, 21(8), 774–780.

Gonzalez, J. T., Rumbold, P. L., & Stevenson, E. J. (2012). Effect of calcium intake on fat oxidation in adults: A meta-analysis of randomized, controlled trials. *Obesity Reviews*, 13(10), 848–857.

Goodarzi, M. O. (2018). Genetics of obesity: What genetic association studies have taught us about the biology of obesity and its complications. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 6(3), 223–236.

Goossens, G. H. (2008). The role of adipose tissue dysfunction in the pathogenesis of obesity-related insulin resistance. *Physiology & Behavior*, 94(2), 206–218.

Greenwood, D. C., Threapleton, D. E., Evans, C. E., Cleghorn, C. L., Nykjaer, C., Woodhead, C., & Burley, V. J. (2013). Glycemic index, glycemic load, carbohydrates, and type 2 diabetes: Systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. *Diabetes Care*, 36(12), 4166–4171.

Grundey, S. M. (2004). Obesity, metabolic syndrome, and cardiovascular disease. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 89(6), 2595–2600.

Grundey, S. M., Cleeman, J. I., Daniels, S. R., Donato, K. A., Eckel, R. H., Franklin, B. A., Gordon, D. J., Krauss, R. M., Savage, P. J., Smith, S. C., Jr, Spertus, J. A., Costa, F., American Heart Association, & National Heart, Lung, and Blood Institute (2005). Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation*, 112(17), 2735–2752.

Grundey, S. M. (2011). *Atlas of Atherosclerosis and Metabolic Syndrome (9th ed.)*. Springer.

Guasch-Ferré, M., Hu, F. B., Martínez-González, M. A., Fitó, M., Bulló, M., Estruch, R., Ros, E., Corella, D., Recondo, J., Gómez-Gracia, E., Fiol, M., Lapetra, J., Serra-Majem, L., Muñoz, M. A., Pintó, X., Lamuela-Raventós, R. M., Basora, J., Buil-Cosiales, P., Sorlí, J. V., Ruiz-Gutiérrez, V., ... Salas-Salvadó, J. (2014). Olive oil intake and risk of cardiovascular disease and mortality in the PREDIMED Study. *BMC medicine*, 12, 78.

Guasch-Ferré, M., & Willett, W. C. (2021). The Mediterranean diet and health: A comprehensive overview. *Journal of Internal Medicine*, 290(3), 549–566.

Guglielmi, V., & Sbraccia, P. (2018). Obesity phenotypes: Depot-differences in adipose tissue and their clinical implications. *Eating and Weight Disorders*, 23(1), 3–14.

Guía GIRO (SEEDO). (2024). *Guía GIRO, 2ª edición*. https://seedo.es/images/site/giro/GUIA-GIRO-2a-edicin_26NOV2024.pdf

Guo, J., Astrup, A., Lovegrove, J. A., Gijssbers, L., Givens, D. I., & Soedamah-Muthu, S. S. (2017). Milk and dairy consumption and risk of cardiovascular diseases and all-cause mortality: Dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *European Journal of Epidemiology*, 32(4), 269–287.

Guo, L., Li, Y., Xing, Z., Zhang, J., & Zhang, J. (2022). Role of VEGFB in electrical pulse stimulation inhibits apoptosis in C2C12 myotubes. *Peptides*, 154, 170823.

Guo, X., Yin, X., Liu, Z., & Wang, J. (2022). Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) pathogenesis and natural products for prevention and treatment. *International Journal of Molecular Sciences*, 23, 15489.

Gutiérrez-Fisac, J. L., Guallar-Castillón, P., León-Muñoz, L. M., Graciani, A., Banegas, J. R., & Rodríguez-Artalejo, F. (2012). Prevalence of general and abdominal obesity in the adult population of Spain, 2008–2010: The ENRICA study. *Obesity Reviews*, 13, 388–392.

Gutiérrez-Repiso, C., Soriguer, F., Rojo-Martínez, G., García-Fuentes, E., Valdés, S., Goday, A., Calle-Pascual, A., López-Alba, A., Castell, C., Menéndez, E., Bordiú, E.,

Delgado, E., Ortega, E., Pascual-Manich, G., Urrutia, I., Mora-Peces, I., Vendrell, J., Vázquez, J. A., Franch, J., Girbés, J., ... Gaztambide, S. (2014). Variable patterns of obesity and cardiometabolic phenotypes and their association with lifestyle factors in the Di@bet.es study. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases : NMCD*, 24(9), 947–955.

H

Haberzettl, P., O'Toole, T. E., Bhatnagar, A., & Conklin, D. J. (2016). Exposure to fine particulate air pollution causes vascular insulin resistance by inducing pulmonary oxidative stress. *Environmental Health Perspectives*, 124(12), 1830–1839.

Hagberg, C. E., Falkevall, A., Wang, X., Larsson, E., Huusko, J., Nilsson, I., van Meeteren, L.A., Samén, E., Lu, L., Vanwildemeersch, M., Klar, J., Genove, G., Pietras, K., Stone-Elander, S., Claesson-Welsh, L., Ylä-Herttua, S., Lindahl, P., & Eriksson, U. (2010). Vascular endothelial growth factor B controls endothelial fatty acid uptake. *Nature*, 464, 917–921.

Hagberg, C. E., Mehlem, A., Falkevall, A., Muhl, L., Fam, B. C., Ortsäter, H., Scotney, P., Nyqvist, D., Samén, E., Lu, L., Stone-Elander, S., Proietto, J., Andrikopoulos, S., Sjöholm, A., Nash, A., & Eriksson, U. (2012). Targeting VEGF-B as a novel treatment for insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*, 490(7420), 426–430.

Haiko, P., Makinen, T., Keskitalo, S., Taipale, J., Karkkainen, M. J., Baldwin, M. E., Stacker, S. A., Achen, M. G., & Alitalo, K. (2008). Deletion of vascular endothelial growth factor C (VEGF-C) and VEGF-D is not equivalent to VEGF receptor 3 deletion in mouse embryos. *Molecular and cellular biology*, 28(15), 4843–4850.

Hall, J. E., do Carmo, J. M., da Silva, A. A., Wang, Z., & Hall, M. E. (2015). Obesity-induced hypertension: interaction of neurohumoral and renal mechanisms. *Circulation research*, 116(6), 991–1006.

Hallberg, S. J., McKenzie, A. L., Williams, P. T., Bhanpuri, N. H., Peters, A. L., Campbell, W. W., Hazbun, T. L., Volk, B. M., McCarter, J. P., Phinney, S. D., & Volek, J. S. (2018). Effectiveness and safety of a novel care model for the management of type 2 diabetes at 1 year: An open-label, non-randomized, controlled study. *Diabetes therapy: research, treatment and education of diabetes and related disorders*, 9(2), 583–612.

Haller, H. (1977). Epidemiology and associated risk factors of hyperlipoproteinemia. *Zeitschrift für Gesamte Innere Medizin und Ihre Grenzgebiete*, 32(8), 124–128.

Han A. L. (2022). Validation of fatty liver index as a marker for metabolic dysfunction-associated fatty liver disease. *Diabetology & metabolic syndrome*, 14(1), 44.

Handschin, C., & Spiegelman, B. M. (2006). Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1 coactivators, energy homeostasis, and metabolism. *Endocrine Reviews*, 27(7), 728–735.

Hayashi, T., Boyko, E. J., Leonetti, D. L., McNeely, M. J., Newell-Morris, L., Kahn, S. E., & Fujimoto, W. Y. (2004). Visceral adiposity is an independent predictor of incident hypertension in Japanese Americans. *Annals of Internal Medicine*, *140*(12), 992–1000.

Hazlehurst, J. M., Woods, C., Marjot, T., Cobbold, J. F., & Tomlinson, J. W. (2016). Non-alcoholic fatty liver disease and diabetes. *Metabolism*, *65*, 1096–1108.

Hegde, S. V., Adhikari, P., M. N., & D'Souza, V. (2013). Effect of daily supplementation of fruits on oxidative stress indices and glycaemic status in type 2 diabetes mellitus. *Complementary Therapies in Clinical Practice*, *19*(2), 97–100.

Heni, M. (2024). The insulin-resistant brain: Impact on whole-body metabolism and body fat distribution. *Diabetologia*, *67*, 1181–1191.

Hernández-Ledesma, B., & Hsieh, C. C. (2017). Chemopreventive role of food-derived proteins and peptides: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *57*, 2358–2376.

Heymsfield, S. B., & Cefalu, W. T. (2013). Does body mass index adequately convey a patient's mortality risk? *JAMA*, *309*(1), 87–88.

Hildrum, B., Mykletun, A., Hole, T., Midthjell, K., & Dahl, A. A. (2007). Age-specific prevalence of the metabolic syndrome defined by the International Diabetes Federation and the National Cholesterol Education Program: The Norwegian HUNT 2 study. *BMC Public Health*, *7*, 220.

Hinney, A., Vogel, C. I. G., & Hebebrand, J. (2010). From monogenic to polygenic obesity: Recent advances. *European Child and Adolescent Psychiatry*, *19*, 297–310.

Hirata, A., Sugiyama, D., Kuwabara, K., Hirata, T., Tsutatani, H., Funamoto, M., Watanabe, K., Miyamatsu, N., & Okamura, T. (2018). Fatty liver index predicts incident diabetes in a Japanese general population with and without impaired fasting glucose. *Hepatology research : the official journal of the Japan Society of Hepatology*, *48*(9), 708–716.

Holman, R. R., Paul, S. K., Bethel, M. A., Matthews, D. R., & Neil, H. A. (2008). 10-year follow-up of intensive glucose control in type 2 diabetes. *The New England Journal of Medicine*, *359*(15), 1577–1589.

Holst, J. J., & Gromada, J. (2004). Role of incretin hormones in the regulation of insulin secretion in diabetic and nondiabetic humans. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, *287*(2), E199–E206

Hosooka, T., Nomura, K., & Ogawa, W. (2013). Vascular endothelial growth factor-B as a therapeutic target to prevent ectopic fat deposition. *Journal of Diabetes Investigation*, *4*(6), 525–527.

Hotamisligil, G. S. (2008). Inflammation and endoplasmic reticulum stress in obesity and diabetes. *International Journal of Obesity (London)*, *32*(Suppl 7), S52–S54.

Howick, J., Glasziou, P., & Aronson, J. K. (2009). The evolution of evidence hierarchies: What can Bradford Hill's "guidelines for causation" contribute? *Journal of the Royal Society of Medicine*, 102(5), 186–194.

Hruby, A., & Hu, F. B. (2015). The epidemiology of obesity: A big picture. *Pharmacoeconomics*, 33(7), 673–689.

Hu, L., Shan, Z., Wang, F., Gao, X., & Tong, Y. (2021). Vascular endothelial growth factor B exerts lipid-lowering effect by activating AMPK via VEGFR1. *Life Sciences*, 276, 119401.

Hu, S., Chen, L., Zeng, T., Wang, W., Yan, Y., Qiu, K., Xie, Y., & Liao, Y. (2023). DNA methylation profiling reveals novel pathway implicated in cardiovascular diseases of diabetes. *Frontiers in endocrinology*, 14, 1108126.

Huang, X. J., Yin, M., Zhou, B. Q., Tan, X. Y., Xia, Y. Q., & Qin, C. X. (2023). Impact renaming non-alcoholic fatty liver disease to metabolic associated fatty liver disease in prevalence, characteristics, and risk factors. *World Journal of Hepatology*, 15, 985–1000.

Huffman, K. M., Hawk, V. H., Henes, S. T., Ocampo, C. I., Orenduff, M. C., Slentz, C. A., Johnson, J. L., Houmard, J. A., Samsa, G. P., Kraus, W. E., & Bales, C. W. (2012). Exercise effects on lipids in persons with varying dietary patterns-does diet matter if they exercise? Responses in Studies of a Targeted Risk Reduction Intervention through Defined Exercise I. *American heart journal*, 164(1), 117–124.

Huth, P. J., & Park, K. M. (2012). Influence of dairy product and milk fat consumption on cardiovascular disease risk: A review of the evidence. *Advances in Nutrition*, 3(3), 266–285.

I

IDF Diabetes Atlas Group. (2015). Update of mortality attributable to diabetes for the IDF Diabetes Atlas: Estimates for the year 2013. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 109(3), 461–465.

J

Jäger, S., Jacobs, S., Kröger, J., Stefan, N., Fritsche, A., Weikert, C., Boeing, H., & Schulze, M. B. (2015). Association between the fatty liver index and risk of type 2 diabetes in the EPIC-Potsdam study. *PloS one*, 10(4), e0124749.

Janes, P. W., Parslow, A. C., Cao, D., Rigopoulos, A., Lee, F. T., Gong, S. J., Cartwright, G. A., Burvenich, I. J. G., Eriksson, U., Johns, T. G., Scott, F. E., & Scott, A. M. (2024). An anti-VEGF-B antibody reduces abnormal tumor vasculature and enhances the effects of chemotherapy. *Cancers*, 16(10), 1902.

Jeeyavudeen, M. S., Khan, S. K. A., Fouda, S., & Pappachan, J. M. (2023). Management of metabolic-associated fatty liver disease: The diabetology perspective. *World Journal of Gastroenterology*, 29, 126–143.

Jia, J. D., Jiang, W. G., Luo, X., Li, R. R., Zhao, Y. C., Tian, G., & Li, Y. N. (2021). Vascular endothelial growth factor B inhibits insulin secretion in MIN6 cells and reduces Ca²⁺ and cyclic adenosine monophosphate levels through the PI3K/AKT pathway. *World Journal of Diabetes, 12*(4), 480–498.

Jin, H., Li, D., Wang, X., Jia, J., Chen, Y., Yao, Y., Zhao, C., Lu, X., Zhang, S., Togo, J., Ji, Y., Zhang, L., Feng, X., & Zheng, Y. (2018). VEGF and VEGFB play balancing roles in adipose differentiation, gene expression, and function. *Endocrinology, 159*(5), 2036–2049.

Jin, S., & Je, Y. (2021). Dairy consumption and risk of metabolic syndrome: Results from Korean population and meta-analysis. *Nutrients, 13*(5), 1574.

Jin, Y., & Arroo, R. (2023). The protective effects of flavonoids and carotenoids against diabetic complications—A review of in vivo evidence. *Frontiers in Nutrition, 10*, 1020950.

Jung, C. H., Lee, W. J., Hwang, J. Y., Yu, J. H., Shin, M. S., Lee, M. J., Jang, J. E., Leem, J., Park, J. Y., & Kim, H. K. (2013). Assessment of the fatty liver index as an indicator of hepatic steatosis for predicting incident diabetes independently of insulin resistance in a Korean population. *Diabetic medicine: a journal of the British Diabetic Association, 30*(4), 428–435.

Jung, S. M., Sanchez-Gurmaches, J., & Guertin, D. A. (2019). Brown adipose tissue development and metabolism. *Handbook of Experimental Pharmacology, 251*, 3–36.

K

Kahl, S., Straßburger, K., Nowotny, B., Livingstone, R., Klüppelholz, B., Keßel, K., Hwang, J. H., Giani, G., Hoffmann, B., Pacini, G., Gastaldelli, A., & Roden, M. (2014). Comparison of liver fat indices for the diagnosis of hepatic steatosis and insulin resistance. *PLoS one, 9*(4), e94059.

Kakoti, B. B., Alom, S., Deka, K., & Halder, R. K. (2024). AMPK pathway: An emerging target to control diabetes mellitus and its related complications. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders, 23*(1), 441–459.

Kappeler, L. (2022). Role of adipose tissue microRNAs in the onset of metabolic diseases and implications in the context of the DOHaD. *Cells, 11*(23), 3711.

Karaca, Ü., Schram, M. T., Houben, A. J., Muris, D. M., & Stehouwer, C. D. (2014). Microvascular dysfunction as a link between obesity, insulin resistance and hypertension. *Diabetes Research and Clinical Practice, 103*(3), 382–387.

Karpanen, T., Bry, M., Ollila, H. M., Seppänen-Laakso, T., Liimatta, E., Leskinen, H., Kivelä, R., Helkamaa, T., Merentie, M., Jeltsch, M., Paavonen, K., Andersson, L. C., Mervaala, E., Hassinen, I. E., Ylä-Herttuala, S., Oresic, M., & Alitalo, K. (2008). Overexpression of vascular endothelial growth factor-B in mouse heart alters cardiac lipid metabolism and induces myocardial hypertrophy. *Circulation research, 103*(9), 1018–1026.

Karpe, F., Dickmann, J. R., & Frayn, K. N. (2011). Fatty acids, obesity, and insulin resistance: Time for a reevaluation. *Diabetes, 60*(10), 2441–2449.

Kastorini, C. M., Milionis, H. J., Esposito, K., Giugliano, D., Goudevenos, J. A., & Panagiotakos, D. B. (2011). The effect of Mediterranean diet on metabolic syndrome and its components: a meta-analysis of 50 studies and 534,906 individuals. *Journal of the American College of Cardiology*, *57*(11), 1299–1313.

Kawakami, M., Murase, T., Ogawa, H., Ishibashi, S., Mori, N., Takaku, F., & Shibata, S. (1987). Human recombinant TNF suppresses lipoprotein lipase activity and stimulates lipolysis in 3T3-L1 cells. *Journal of Biochemistry*, *101*(2), 331–338.

Keating, S. E., Chawla, Y., De, A., & George, E. S. (2024). Lifestyle intervention for metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: a 24-h integrated behavior perspective. *Hepatology international*, *18*(Suppl 2), 959–976.

Kelsen, S. G., Duan, X., Ji, R., Perez, O., Liu, C., & Merali, S. (2008). Cigarette smoke induces an unfolded protein response in the human lung: A proteomic approach. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, *38*(5), 541–550.

Keni, R., Sekhar, A., Gourishetti, K., Nayak, P. G., Kinra, M., Kumar, N., Shenoy, R. R., Kishore, A., & Nandakumar, K. (2021). Role of statins in new-onset diabetes mellitus: the underlying cause, mechanisms involved, and strategies to combat. *Current drug targets*, *22*(10), 1121–1128.

Keramidas, M. E., Stavrou, N. A., Kounalakis, S. N., Eiken, O., & Mekjavic, I. B. (2016). Severe hypoxia during incremental exercise to exhaustion provokes negative post-exercise affects. *Physiology & Behavior*, *156*, 171–176.

Keys, A., Menotti, A., Karvonen, M. J., Aravanis, C., Blackburn, H., Buzina, R., Djordjevic, B. S., Dontas, A. S., Fidanza, F., & Keys, M. H. (1986). The diet and 15-year death rate in the seven countries study. *American journal of epidemiology*, *124*(6), 903–915.

Kim, A. H., Seo, I. H., Lee, H. S., & Lee, Y. J. (2022). Long-term adverse effects of cigarette smoking on the incidence risk of metabolic syndrome with a dose-response relationship: Longitudinal findings of the Korean genome and epidemiology study over 12 years. *Endocrine Practice*, *28*(6), 603–609.

Kim, D., Konyn, P., Sandhu, K. K., Dennis, B. B., Cheung, A. C., & Ahmed, A. (2021). Metabolic dysfunction-associated fatty liver disease is associated with increased all-cause mortality in the United States. *Journal of Hepatology*, *75*, 1284–1291.

Kivelä, R., Silvennoinen, M., Lehti, M., Jalava, S., Vihko, V., & Kainulainen, H. (2008). Exercise-induced expression of angiogenic growth factors in skeletal muscle and in capillaries of healthy and diabetic mice. *Cardiovascular Diabetology*, *7*, 13.

Kivelä, R., Bry, M., Robciuc, M. R., Räsänen, M., Taavitsainen, M., Silvola, J. M., Saraste, A., Hulmi, J. J., Anisimov, A., Mäyränpää, M. I., Lindeman, J. H., Eklund, L., Hellberg, S., Hlushchuk, R., Zhuang, Z. W., Simons, M., Djonov, V., Knuuti, J., Mervaala, E., & Alitalo, K. (2014). VEGF-B-induced vascular growth leads to metabolic reprogramming and ischemia resistance in the heart. *EMBO molecular medicine*, *6*(3), 307–321.

Koch, S., Tugues, S., Li, X., Gualandi, L., & Claesson-Welsh, L. (2011). Signal transduction by vascular endothelial growth factor receptors. *Biochemical Journal*, 437(2), 169–183.

Koehler, E. M., Schouten, J. N., Hansen, B. E., Hofman, A., Stricker, B. H., & Janssen, H. L. (2013). External validation of the fatty liver index for identifying nonalcoholic fatty liver disease in a population-based study. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*, 11(9), 1201–1204.

Koves, T. R., Ussher, J. R., Noland, R. C., Slentz, D., Mosedale, M., Ilkayeva, O., Bain, J., Stevens, R., Dyck, J. R., Newgard, C. B., Lopaschuk, G. D., & Muoio, D. M. (2008). Mitochondrial overload and incomplete fatty acid oxidation contribute to skeletal muscle insulin resistance. *Cell metabolism*, 7(1), 45–56.

Kusuhara, S., Fukushima, Y., Ogura, S., Inoue, N., & Uemura, A. (2018). Pathophysiology of diabetic retinopathy: The old and the new. *Diabetes & Metabolism Journal*, 42(5), 364–376.

L

Laakso, M. (2019). Biomarkers for type 2 diabetes. *Molecular Metabolism*, 27, S139–S146.

LaBrecque, D. R., Abbas, Z., Anania, F., Ferenci, P., Khan, A. G., Goh, K. L., Hamid, S. S., Isakov, V., Lizarzabal, M., Peñaranda, M. M., Ramos, J. F., Sarin, S., Stimac, D., Thomson, A. B., Umar, M., Krabshuis, J., LeMair, A., & World Gastroenterology Organisation (2014). World Gastroenterology Organisation global guidelines: Nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis. *Journal of clinical gastroenterology*, 48(6), 467–473.

Lago-Sampedro, A., Oualla-Bachiri, W., García-Serrano, S., Maldonado-Araque, C., Valdés, S., Doulatram-Gamgaram, V., Oliveira, G., Delgado, E., Chaves, F. J., Castaño, L., Calle-Pascual, A., Franch-Nadal, J., Rojo-Martínez, G., & García-Escobar, E. (2024). Protective Effect of High Adherence to Mediterranean Diet on the Risk of Incident Type-2 Diabetes in Subjects with MAFLD: The Di@bet.es Study. *Nutrients*, 16(21), 3788.

Lago-Sampedro, A., García-Escobar, E., Rubio-Martín, E., Pascual-Aguirre, N., Valdés, S., Soriguer, F., Goday, A., Calle-Pascual, A., Castell, C., Menéndez, E., Delgado, E., Bordiú, E., Castaño, L., Franch-Nadal, J., Gírbés, J., Chaves, F. J., Gaztambide, S., Rojo-Martínez, G., & Oliveira, G. (2019). Dairy product consumption and metabolic diseases in the di@bet.es study. *Nutrients*, 11(2), 262.

Lago-Sampedro, A., Lhamyani, S., Valdés, S., Colomo, N., Maldonado-Araque, C., González-Molero, I., Doulatram-Gamgaram, V., Delgado, E., Chaves, F. J., Castaño, L., Calle-Pascual, A., Franch-Nadal, J., Rojo-Martínez, G., García-Serrano, S., & García-Escobar, E. (2022). Serum vascular endothelial growth factor b and metabolic syndrome incidence in the population based cohort Di@bet.es study. *International journal of obesity (2005)*, 46(11), 2013–2020.

Lal, N., Chiu, A. P., Wang, F., Zhang, D., Jia, J., Wan, A., Vlodaysky, I., Hussein, B., & Rodrigues, B. (2017). Loss of VEGFB and its signaling in the diabetic heart is associated with increased cell death signaling. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, 312(6), H1163–H1175.

Lal, N., Puri, K., & Rodrigues, B. (2018). Vascular endothelial growth factor B and its signaling. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 5, 39.

Lam, B. C., Koh, G. C., Chen, C., Wong, M. T., & Fallows, S. J. (2015). Comparison of Body Mass Index (BMI), Body Adiposity Index (BAI), Waist Circumference (WC), Waist-To-Hip Ratio (WHR) and Waist-To-Height Ratio (WHtR) as predictors of cardiovascular disease risk factors in an adult population in Singapore. *PLoS one*, 10(4), e0122985.

Lam, D. W., & LeRoith, D. (2019). *Metabolic syndrome*. In Feingold, K. R., et al. (Eds.), Endotext. South Dartmouth, MA: MDTText.com, Inc.

Lampenius, I., Harjutsalo, V., Parente, E. B., Groop, P. H., & FinnDiane Study Group (2023). Associations between alcohol consumption and body fat distribution in type 1 diabetes. *Diabetes research and clinical practice*, 204, 110891.

Langenberg, C., Sharp, S. J., Schulze, M. B., Rolandsson, O., Overvad, K., Forouhi, N. G., Spranger, J., Drogan, D., Huerta, J. M., Arriola, L., de Lauzon-Guillan, B., Tormo, M. J., Ardanaz, E., Balkau, B., Beulens, J. W., Boeing, H., Bueno-de-Mesquita, H. B., Clavel-Chapelon, F., Crowe, F. L., ... Wareham, N. J. InterAct Consortium. (2012). Long-term risk of incident type 2 diabetes and measures of overall and regional obesity: the EPIC-InterAct case-cohort study. *PLoS medicine*, 9(6), e1001230.

Lanthier, N., Molendi-Coste, O., Horsmans, Y., van Rooijen, N., Cani, P. D., & Leclercq, I. A. (2010). Kupffer cell activation is a causal factor for hepatic insulin resistance. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 298(1), G107–G116.

Lauby-Secretan, B., Scoccianti, C., Loomis, D., Grosse, Y., Bianchini, F., Straif, K., & International Agency for Research on Cancer Handbook Working Group (2016). Body Fatness and Cancer--Viewpoint of the IARC Working Group. *The New England journal of medicine*, 375(8), 794–798.

Lear, S. A., Humphries, K. H., Kohli, S., & Birmingham, C. L. (2007). El uso del IMC y la circunferencia de la cintura como sustitutos de la grasa corporal difiere según el origen étnico. *Obesity (Silver Spring)*, 15(11), 2817–2824.

Lee, C. M., Huxley, R. R., Wildman, R. P., & Woodward, M. (2008). Indices of abdominal obesity are better discriminators of cardiovascular risk factors than BMI: a meta-analysis. *Journal of clinical epidemiology*, 61(7), 646–653.

Lee, M. J., Wu, Y., & Fried, S. K. (2013). Adipose tissue heterogeneity: Implication of depot differences in adipose tissue for obesity complications. *Molecular Aspects of Medicine*, 34(1), 1–11.

Lee, M., Lee, H., & Kim, J. (2018). Dairy food consumption is associated with a lower risk of the metabolic syndrome and its components: A systematic review and meta-analysis. *British Journal of Nutrition*, 120(4), 373–384.

Ley, S. H., Hamdy, O., Mohan, V., & Hu, F. B. (2014). Prevention and management of type 2 diabetes: Dietary components and nutritional strategies. *The Lancet*, 383(9933), 1999–2007.

Li, D., Yang, Y., Li, Y., Zhu, X & Li, Z. (2021). Epigenetic regulation of gene expression in response to environmental exposures: From bench to model. *Science of the Total Environment*, 776, 145998.

Li, M., Chi, X., Wang, Y., Setrerrahmane, S., Xie, W., & Xu, H. (2022). Trends in insulin resistance: Insights into mechanisms and therapeutic strategy. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7(1), 216.

Li, X., Aase, K., Li, H., von Euler, G., & Eriksson, U. (2001). Isoform-specific expression of VEGF-B in normal tissues and tumors. *Growth Factors*, 19, 49–59.

Li, X., Tjwa, M., Van Hove, I., Enholm, B., Neven, E., Paavonen, K., Jeltsch, M., Juan, T. D., Sievers, R. E., Chorianopoulos, E., Wada, H., Vanwildemeersch, M., Noel, A., Foidart, J. M., Springer, M. L., von Degenfeld, G., Dewerchin, M., Blau, H. M., Alitalo, K., Eriksson, U., ... Moons, L. (2008). Reevaluation of the role of VEGF-B suggests a restricted role in the revascularization of the ischemic myocardium. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 28(9), 1614–1620.

Li, Y., Feng, L., Li, G., An, J., Zhang, S., Li, J., Liu, J., Ren, J., Yang, L., & Qi, Z. (2020). Resveratrol prevents ISO-induced myocardial remodeling associated with regulating polarization of macrophages through VEGF-B/AMPK/NF-κB pathway. *International immunopharmacology*, 84, 106508.

Li, Y. Q., Xin, L., Zhao, Y. C., Li, S. Q., & Li, Y. N. (2023). Role of vascular endothelial growth factor B in nonalcoholic fatty liver disease and its potential value. *World Journal of Hepatology*, 15(6), 786–796.

Li, Y. Q., Zhang, L. Y., Zhao, Y. C., Xu, F., Hu, Z. Y., Wu, Q. H., Li, W. H., & Li, Y. N. (2023). Vascular endothelial growth factor B improves impaired glucose tolerance through insulin-mediated inhibition of glucagon secretion. *World journal of diabetes*, 14(11), 1643–1658.

Liang, Y., Chen, H., Liu, Y., Hou, X., Wei, L., Bao, Y., Yang, C., Zong, G., Wu, J., & Jia, W. (2022). Association of MAFLD With Diabetes, Chronic Kidney Disease, and Cardiovascular Disease: A 4.6-Year Cohort Study in China. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 107(1), 88–97.

Lieb, W., Safa, R., Benjamin, E. J., Xanthakis, V., Yin, X., Sullivan, L. M., Larson, M. G., Smith, H. M., Vita, J. A., Mitchell, G. F., Sawyer, D. B., & Vasan, R. S. (2009). Vascular endothelial growth factor, its soluble receptor, and hepatocyte growth factor: clinical and genetic correlates and association with vascular function. *European heart journal*, 30(9), 1121–1127.

Lillioja, S., Mott, D. M., Howard, B. V., Bennett, P. H., Yki-Järvinen, H., Freymond, D., Nyomba, B. L., Zurlo, F., Swinburn, B., & Bogardus, C. (1988). Impaired glucose tolerance as a disorder of insulin action. Longitudinal and cross-sectional studies in Pima Indians. *The New England journal of medicine*, 318(19), 1217–1225.

Lin, X., & Li, H. (2021). Obesity: Epidemiology, pathophysiology, and therapeutics. *Frontiers in Endocrinology*, 12, 1070.

Ling, M., Quan, L., Lai, X., Lang, L., Li, F., Yang, X., Fu, Y., Feng, S., Yi, X., Zhu, C., Gao, P., Zhu, X., Wang, L., Shu, G., Jiang, Q., & Wang, S. (2021). VEGFB promotes myoblasts proliferation and differentiation through VEGFR1-PI3K/Akt signaling pathway. *International journal of molecular sciences*, 22(24), 13352.

Liu, J., Yi, P., & Liu, F. (2023). The effect of early time-restricted eating vs later time-restricted eating on weight loss and metabolic health. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 108(7), 1824–1834.

Liu, X., & Cui, H. (2021). The palliative effects of folic acid on retinal microvessels in diabetic retinopathy via regulating the metabolism of DNA methylation and hydroxymethylation. *Bioengineered*, 12(2), 10766–10774.

Livesey, G., Taylor, R., Livesey, H. F., et al. (2019). Dietary glycemic index and load and the risk of type 2 diabetes: A systematic review and updated meta-analyses of prospective cohort studies. *Nutrients*, 11(6), 1280.

Livesey, G., Taylor, R., Livesey, H. F., Buyken, A. E., Jenkins, D. J. A., Augustin, L. S. A., Sievenpiper, J. L., Barclay, A. W., Liu, S., Wolever, T. M. S., Willett, W. C., Brighenti, F., Salas-Salvadó, J., Björck, I., Rizkalla, S. W., Riccardi, G., Vecchia, C. L., Ceriello, A., Trichopoulou, A., Poli, A., ... Brand-Miller, J. C. (2019). Dietary glycemic index and load and the risk of type 2 diabetes: A systematic review and updated meta-analyses of prospective cohort studies. *Nutrients*, 11(6), 1280.

Lobstein, T., Jackson-Leach, R., Powis, J., Brinsden, H., & Gray, M. (2023). *World Obesity Atlas 2023*. www.johnclarksondesign.co.uk

Lohela, M., Bry, M., Tammela, T., & Alitalo, K. (2009). VEGFs and receptors involved in angiogenesis versus lymphangiogenesis. *Current Opinion in Cell Biology*, 21, 154–165.

Lopez Gelston, C. A., Balasubramanian, D., Abouelkheir, G. R., Lopez, A. H., Hudson, K. R., Johnson, E. R., Muthuchamy, M., Mitchell, B. M., & Rutkowski, J. M. (2018). Enhancing renal lymphatic expansion prevents hypertension in mice. *Circulation research*, 122(8), 1094–1101.

Lorenzo, C., Serrano-Ríos, M., Martínez-Larrad, M. T., González-Sánchez, J. L., Seclén, S., Villena, A., Gonzalez-Villalpando, C., Williams, K., & Haffner, S. M. (2006). Geographic variations of the International Diabetes Federation and the National Cholesterol Education Program-Adult Treatment Panel III definitions of the metabolic syndrome in nondiabetic subjects. *Diabetes care*, 29(3), 685–691.

Lumeng, C. N., Bodzin, J. L., & Saltiel, A. R. (2007). Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *Journal of Clinical Investigation*, 117(1), 175–184.

Luo, X., Li, R. R., Li, Y. Q., Yu, H. P., Yu, H. N., Jiang, W. G., & Li, Y. N. (2022). Reducing VEGFB expression regulates the balance of glucose and lipid metabolism in mice via VEGFR1. *Molecular medicine reports*, 26(3), 285.

M

Machnik, A., Neuhofer, W., Jantsch, J., Dahlmann, A., Tammela, T., Machura, K., Park, J. K., Beck, F. X., Müller, D. N., Derer, W., Goss, J., Ziomber, A., Dietsch, P., Wagner, H., van Rooijen, N., Kurtz, A., Hilgers, K. F., Alitalo, K., Eckardt, K. U., Luft, F. C., ... Titze, J. (2009). Macrophages regulate salt-dependent volume and blood pressure by a vascular endothelial growth factor-C-dependent buffering mechanism. *Nature medicine*, *15*(5), 545–552.

Maldonado-Araque, C., Valdés, S., Lago-Sampedro, A., Lillo-Muñoz, J. A., Garcia-Fuentes, E., Perez-Valero, V., Gutierrez-Repiso, C., Goday, A., Urrutia, I., Peláez, L., Calle-Pascual, A., Castaño, L., Castell, C., Delgado, E., Menendez, E., Franch-Nadal, J., Gaztambide, S., Gírbés, J., Ortega, E., Vendrell, J., ... Rojo-Martínez, G. (2018). Iron deficiency is associated with Hypothyroxinemia and Hypotriiodothyroninemia in the Spanish general adult population: Di@bet.es study. *Scientific reports*, *8*(1), 6571.

Maldonado-Araque, C., Valdés, S., Badía-Guillén, R., Lago-Sampedro, A., Colomo, N., Garcia-Fuentes, E., Gutierrez-Repiso, C., Goday, A., Calle-Pascual, A., Castaño, L., Castell, C., Delgado, E., Menendez, E., Franch-Nadal, J., Gaztambide, S., Gírbés, J., Chaves, F. J., Soriguer, F., & Rojo-Martínez, G. (2021). Iodine deficiency and mortality in spanish adults: di@bet.es study. *Thyroid: official journal of the American Thyroid Association*, *31*(1), 106–114.

Mallick, R., & Ylä-Herttuala, S. (2022). Therapeutic potential of VEGF-B in coronary heart disease and heart failure: Dream or vision? *Cells*, *11*(24), 4134.

Mantovani, A., Petracca, G., Beatrice, G., Tilg, H., Byrne, C. D., & Targher, G. (2021). Non-alcoholic fatty liver disease and risk of incident diabetes mellitus: an updated meta-analysis of 501 022 adult individuals. *Gut*, *70*(5), 962–969.

Marcuello, C., Calle-Pascual, A. L., Fuentes, M., Runkle, I., Soriguer, F., Goday, A., Bosch-Comas, A., Bordiú, E., Carmena, R., Casamitjana, R., Castaño, L., Castell, C., Catalá, M., Delgado, E., Franch, J., Gaztambide, S., Gírbés, J., Gomis, R., Gutiérrez, G., López-Alba, A., ... Vendrell, J. (2012). Evaluation of Health-Related Quality of Life according to Carbohydrate Metabolism Status: A Spanish Population-Based Study (Di@bet.es Study). *International journal of endocrinology*, *2012*, 872305.

Marcuello, C., Calle-Pascual, A. L., Fuentes, M., Runkle, I., Rubio, M. A., Montañez, C., Rojo-Martínez, G., Soriguer, F., Bordiú, E., Goday, A., Bosch-Comas, A., Carmena, R., Casamitjana, R., Castaño, L., Castell, C., Catalá, M., Delgado, E., Franch, J., Gaztambide, S., Gírbés, J., ... Vendrell, J. (2013). Prevalence of the metabolic syndrome in Spain using regional cutoff points for waist circumference: the di@bet.es study. *Acta diabetologica*, *50*(4), 615–623.

Markellos, C., Ourailidou, M. E., Gavriatopoulou, M., Halvatsiotis, P., Sergentanis, T. N., & Psaltopoulou, T. (2022). Olive oil intake and cancer risk: A systematic review and meta-analysis. *PLoS one*, *17*(1), e0261649.

Martin, I., Kaiser, M. M. M., Wiria, A. E., Hamid, F., Djuardi, Y., Sartono, E., Rosa, B. A., Mitreva, M., Supali, T., Houwing-Duistermaat, J. J., Yazdanbakhsh, M., & Wammes, L. J. (2019). The Effect of Gut Microbiome Composition on Human Immune Responses: An Exploration of Interference by Helminth Infections. *Frontiers in genetics*, *10*, 1028.

Martinez Calatrava, M. J., Martínez Larrad, T., & Serrano Ríos, M. (2003). Síndrome de resistencia insulínica y SM: Similitudes y diferencias. *Cardiovascular RBK Factores*, 12, 89–95.

Martínez-González, M. A., Sayón-Orea, C., Bullón-Vela, V., Bes-Rastrollo, M., Rodríguez-Artalejo, F., Yusta-Boyo, M. J., & García-Solano, M. (2022). Effect of olive oil consumption on cardiovascular disease, cancer, type 2 diabetes, and all-cause mortality: A systematic review and meta-analysis. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)*, 41(12), 2659–2682.

Martinez-Hervas, S., Carmena, R., Ascaso, J. F., Real, J. T., Masana, L., Catalá, M., Vendrell, J., Vázquez, J. A., Valdés, S., Urrutia, I., Soriguer, F., Serrano-Rios, M., Rojo-Martínez, G., Pascual-Manich, G., Ortega, E., Mora-Peces, I., Menéndez, E., Martínez-Larrad, M. T., López-Alba, A., Gomis, R., ... Bordiú, E. (2014). Prevalence of plasma lipid abnormalities and its association with glucose metabolism in Spain: the di@bet.es study. *Clinica e investigacion en arteriosclerosis: publicacion oficial de la Sociedad Española de Arteriosclerosis*, 26(3), 107–114.

Martínez-Poveda, B., Torres-Vargas, J. A., Ocaña, M. D. C., García-Caballero, M., Medina, M. Á., & Quesada, A. R. (2019). The Mediterranean diet, a rich source of angiopreventive compounds in cancer. *Nutrients*, 11(9), 2036.

Martins, A. R., Nachbar, R. T., Gorjao, R., Vinolo, M. A., Festuccia, W. T., Lambertucci, R. H., Cury-Boaventura, M. F., Silveira, L. R., Curi, R., & Hirabara, S. M. (2012). Mechanisms underlying skeletal muscle insulin resistance induced by fatty acids: importance of the mitochondrial function. *Lipids in health and disease*, 11, 30.

Mastowska, K., Halik, P. K., Tymecka, D., Misicka, A., & Gniazdowska, E. (2021). The role of VEGF receptors as molecular target in nuclear medicine for cancer diagnosis and combination therapy. *Cancers*, 13(5), 1072.

Masmiquel, L., Leiter, L. A., Vidal, J., Bain, S., Petrie, J., Franek, E., Raz, I., Comlekci, A., Jacob, S., van Gaal, L., Baeres, F. M., Marso, S. P., Eriksson, M., & LEADER investigators (2016). LEADER 5: prevalence and cardiometabolic impact of obesity in cardiovascular high-risk patients with type 2 diabetes mellitus: baseline global data from the LEADER trial. *Cardiovascular diabetology*, 15, 29.

Matthaei, S., Stumvoll, M., Kellerer, M., & Häring, H. U. (2000). Pathophysiology and pharmacological treatment of insulin resistance. *Endocrine Reviews*, 21(6), 585–618.

Matthews, D. R., Hosker, J. P., Rudenski, A. S., Naylor, B. A., Treacher, D. F., & Turner, R. C. (1985). Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*, 28(7), 412–419.

Mazidi, M., Rezaie, P., Kengne, A. P., Stathopoulou, M. G., Azimi-Nezhad, M., & Siest, S. (2017). VEGF, the underlying factor for metabolic syndrome; fact or fiction?. *Diabetes & metabolic syndrome*, 11 Suppl 1, S61–S64.

Medina, M. A., & Quesada, A. R. (2014). Dietary proteins and angiogenesis. *Nutrients*, 6, 371–381.

Meeks, K. A., Freitas-Da-Silva, D., Adeyemo, A., Beune, E. J., Modesti, P. A., Stronks, K., Zafarmand, M. H., & Agyemang, C. (2016). Disparities in type 2 diabetes prevalence among ethnic minority groups resident in Europe: a systematic review and meta-analysis. *Internal and emergency medicine*, 11(3), 327–340.

Mehlem, A., Palombo, I., Wang, X., Hagberg, C. E., Eriksson, U., & Falkevall, A. (2016). PGC-1 α Coordinates Mitochondrial Respiratory Capacity and Muscular Fatty Acid Uptake via Regulation of VEGF-B. *Diabetes*, 65(4), 861–873.

Mehrotra, D., Wu, J., Papangelis, I., & Chun, H. J. (2014). Endothelium as a gatekeeper of fatty acid transport. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 25(2), 99–106.

Méndez-Sánchez, N., Bugianesi, E., Gish, R. G., Lammert, F., Tilg, H., Nguyen, M. H., Sarin, S. K., Fabrellas, N., Zelber-Sagi, S., Fan, J. G., Shiha, G., Targher, G., Zheng, M. H., Chan, W. K., Vinker, S., Kawaguchi, T., Castera, L., Yilmaz, Y., Korenjak, M., Spearman, C. W., ... Global multi-stakeholder consensus on the redefinition of fatty liver disease (2022). Global multi-stakeholder endorsement of the MAFLD definition. *The lancet. Gastroenterology & hepatology*, 7(5), 388–390.

Menéndez, E., Delgado, E., Fernández-Vega, F., Prieto, M. A., Bordiú, E., Calle, A., Carmena, R., Castaño, L., Catalá, M., Franch, J., Gaztambide, S., Girbés, J., Goday, A., Gomis, R., López-Alba, A., Martínez-Larrad, M. T., Mora-Peces, I., Ortega, E., Rojo-Martínez, G., Serrano-Ríos, M., Urrutia, I., Valdés, S., Vázquez, J. A., Vendrell, J., & Soriguer, F. (2016). Prevalence, diagnosis, treatment, and control of hypertension in Spain. Results of the Di@bet.es study. *Revista Española de Cardiología (English Edition)*, 69(6), 572–578.

Meng, Y., Bai, H., Wang, S., Li, Z., Wang, Q., & Chen, L. (2017). Efficacy of low carbohydrate diet for type 2 diabetes mellitus management: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Diabetes research and clinical practice*, 131, 124–131.

Merlotti, C., Morabito, A., & Pontiroli, A. E. (2014). Prevention of type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis of different intervention strategies. *Diabetes, Obesity & Metabolism*, 16(8), 719–727.

Metibemu, D. S., & Ogungbe, I. V. (2022). Carotenoids in drug discovery and medicine: Pathways and molecular targets implicated in human diseases. *Molecules*, 27, 6005.

Millaruelo, J. (2016). Manejo de la hiperglucemia inducida por fármacos. <https://instituciones.std.cu/pdvedado/files/2016/06/Manejo-de-la-hiperglucemia-inducida-por-f%C3%9Frmacos.pdf>

Moessinger, C., Nilsson, I., Muhl, L., Zeitelhofer, M., Heller Sahlgren, B., Skogsberg, J., & Eriksson, U. (2020). VEGF-B signaling impairs endothelial glucose transcytosis by decreasing membrane cholesterol content. *EMBO reports*, 21(7), e49343.

Monastero, R., García-Serrano, S., Lago-Sampedro, A., Rodríguez-Pacheco, F., Colomo, N., Morcillo, S., Martín-Nuñez, G. M., Gomez-Zumaquero, J. M., García-Fuentes, E., Soriguer, F., Rojo-Martínez, G., & García-Escobar, E. (2017). Methylation patterns of Vegfb promoter are associated with gene and protein expression levels: the effects of dietary fatty acids. *European journal of nutrition*, 56(2), 715–726.

Mozos, I., Flangea, C., Vlad, D. C., Gug, C., Mozos, C., Stoian, D., Luca, C. T., Horbańczuk, J. O., Horbańczuk, O. K., & Atanasov, A. G. (2021). Effects of Anthocyanins on Vascular Health. *Biomolecules*, 11(6), 811.

Muhl, L., Moessinger, C., Adzemovic, M. Z., Dijkstra, M. H., Nilsson, I., Zeitelhofer, M., Hagberg, C. E., Huusko, J., Falkevall, A., Ylä-Herttuala, S., & Eriksson, U. (2016). Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF)-B and its receptor (VEGFR1) in murine heart, lung and kidney. *Cell and tissue research*, 365(1), 51–63.

Muniyappa, R., Lee, S., Chen, H., & Quon, M. J. (2008). Current approaches for assessing insulin sensitivity and resistance in vivo: Advantages, limitations, and appropriate usage. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 294(1), E15–E26.

Münzel, T., Sørensen, M., Gori, T., Schmidt, F. P., Rao, X., Brook, J., Chen, L. C., Brook, R. D., & Rajagopalan, S. (2017). Environmental stressors and cardio-metabolic disease: part I-epidemiologic evidence supporting a role for noise and air pollution and effects of mitigation strategies. *European heart journal*, 38(8), 550–556.

Muoio, D. M., & Koves, T. R. (2007). Lipid-induced metabolic dysfunction in skeletal muscle. *Novartis Foundation Symposium*, 286, 24–38.

Muraki, I., Imamura, F., Manson, J. E., Hu, F. B., Willett, W. C., van Dam, R. M., & Sun, Q. (2013). Fruit consumption and risk of type 2 diabetes: results from three prospective longitudinal cohort studies. *BMJ (Clinical research ed.)*, 347, f5001.

Murphy, R., Ellard, S., & Hattersley, A. T. (2008). Clinical implications of a molecular genetic classification of monogenic beta-cell diabetes. *Nature Clinical Practice Endocrinology & Metabolism*, 4(4), 200–213.

Myers, J., Kokkinos, P., & Nyelin, E. (2019). Physical Activity, Cardiorespiratory Fitness, and the Metabolic Syndrome. *Nutrients*, 11(7), 1652.

N

NCEP-ATP III. (2001). Executive summary of the third report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*, 285(19), 2486–2497.

Neuhauser, H. K. (2005). The metabolic syndrome. *The Lancet*, 366, 1922–1924.

Neuschwander-Tetri, B. A. (2017). Non-alcoholic fatty liver disease. *BMC Medicine*, 15, 45.

Ning, F. C., Jensen, N., Mi, J., Lindström, W., Balan, M., Muhl, L., Eriksson, U., Nilsson, I., & Nyqvist, D. (2020). VEGF-B ablation in pancreatic β -cells upregulates insulin expression without affecting glucose homeostasis or islet lipid uptake. *Scientific reports*, 10(1), 923.

Ning, J., Zhang, Y., Hu, H., Hu, W., Li, L., Pang, Y., Ma, S., Niu, Y., & Zhang, R. (2021). Association between ambient particulate matter exposure and metabolic syndrome risk: A systematic review and meta-analysis. *The Science of the total environment*, 782, 146855.

Nishi, S. K., Vigiliouk, E., Blanco Mejia, S., Kendall, C. W. C., Bazinet, R. P., Hanley, A. J., Comelli, E. M., Salas Salvadó, J., Jenkins, D. J. A., & Sievenpiper, J. L. (2021). Are fatty nuts a weighty concern? A systematic review and meta-analysis and dose-response meta-regression of prospective cohorts and randomized controlled trials. *Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity*, 22(11), e13330.

Nishi, T., Babazono, A., Maeda, T., Imatoh, T., & Une, H. (2015). Evaluation of the fatty liver index as a predictor for the development of diabetes among insurance beneficiaries with prediabetes. *Journal of diabetes investigation*, 6(3), 309–316.

Niu, K., Lyu, Q., Zhang, S., Wang, C., Mao, Z., Cui, S., Gu, R., & Li, L. (2023). The dose-response relationship of fruit and vegetable intake and risk of type 2 diabetes among rural China: The Henan Rural Cohort study. *Primary care diabetes*, 17(2), 161–167.

Nordmann, A. J., Suter-Zimmermann, K., Bucher, H. C., Shai, I., Tuttle, K. R., Estruch, R., & Briel, M. (2011). Meta-analysis comparing Mediterranean to low-fat diets for modification of cardiovascular risk factors. *The American journal of medicine*, 124(9), 841–51.e2.

O

Olofsson, B., Pajusola, K., von Euler, G., Chilov, D., Alitalo, K., & Eriksson, U. (1996). Genomic organization of the mouse and human genes for vascular endothelial growth factor B (VEGF-B) and characterization of a second splice isoform. *The Journal of biological chemistry*, 271(32), 19310–19317.

Olsson, A. (2006). VEGF receptor signalling in control of vascular function. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 7, 359–371.

Oluwamodupe, C., & Babalola, O. O. (2024). Ion channels and regulation of insulin secretion in beta-cells. *Current Molecular Biology Reports*, 10, 65–77.

Ortega, E., Franch, J., Castell, C., Goday, A., Ribas-Barba, L., Soriguer, F., Vendrell, J., Casamitjana, R., Bosch-Comas, A., Bordiú, E., Calle-Pascual, A., Carmena, R., Castaño, L., Catalá, M., Delgado, E., Gaztambide, S., Gírbés, J., López-Alba, A., Martínez-Larrad, M. T., Menéndez, E., ... Gomis, R. (2013). Mediterranean diet adherence in individuals with prediabetes and unknown diabetes: the Di@bet.es Study. *Annals of nutrition & metabolism*, 62(4), 339–346.

Osahon, I. S. (2017). Review: Biomarkers and role in the prediction and detection of type 2 diabetes and its complications. *Biomarkers Journal*, 3(11).

Osorio-Conles, Ó., Vega-Beyhart, A., Ibarzabal, A., Balibrea, J. M., Graupera, I., Rimola, J., Vidal, J., & de Hollanda, A. (2021). A Distinctive NAFLD Signature in Adipose Tissue from Women with Severe Obesity. *International journal of molecular sciences*, 22(19), 10541.

Otani, H. (2011). Oxidative stress as pathogenesis of cardiovascular risk associated with metabolic syndrome. *Antioxidants & Redox Signaling*, 15(7), 1911–1926.

Ozes, O. N., Akca, H., Mayo, L. D., Gustin, J. A., Maehama, T., Dixon, J. E., & Donner, D. B. (2001). A phosphatidylinositol 3-kinase/Akt/mTOR pathway mediates and PTEN antagonizes tumor necrosis factor inhibition of insulin signaling through insulin receptor substrate-1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(8), 4640–4645.

P

Park, H., Yoon, E. L., Ito, T., Jo, A. J., Kim, M., Lee, J., Kim, H. L., Arai, T., Atsukawa, M., Kawanaka, M., Toyoda, H., Ishigami, M., Yu, M. L., Jun, D. W., & Nguyen, M. H. (2023). Diagnostic Performance of the Fibrosis-4 Index and Nonalcoholic Fatty Liver Disease Fibrosis Score in Lean Adults With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *JAMA network open*, 6(8), e2329568.

Patted, P. G., Masareddy, R. S., Patil, A. S., Kanabargi, R.R., & Bhat, C.T. (2024). Omega-3 fatty acids: A comprehensive scientific review of their sources, functions, and health benefits. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 10, 94.

Patterson, R., McNamara, E., Tainio, M., de Sá, T. H., Smith, A. D., Sharp, S. J., Edwards, P., Woodcock, J., Brage, S., & Wijndaele, K. (2018). Sedentary behaviour and risk of all-cause, cardiovascular and cancer mortality, and incident type 2 diabetes: a systematic review and dose response meta-analysis. *European journal of epidemiology*, 33(9), 811–829.

Phillips, G. B. (1978). Sex hormones, risk factors, and cardiovascular disease. *The American Journal of Medicine*, 65, 7–11.

Piepoli, M. F., Hoes, A. W., Agewall, S., Albus, C., Brotons, C., Catapano, A. L., Cooney, M. T., Corrà, U., Cosyns, B., Deaton, C., Graham, I., Hall, M. S., Hobbs, F. D. R., Løchen, M. L., Löllgen, H., Marques-Vidal, P., Perk, J., Prescott, E., Redon, J., Richter, D. J., ... ESC Scientific Document Group (2016). 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: The Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of 10 societies and by invited experts) Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *European heart journal*, 37(29), 2315–2381.

Plourde, B., Sarrazin, J. F., Nault, I., & Poirier, P. (2014). Sudden cardiac death and obesity. *Expert review of cardiovascular therapy*, 12(9), 1099–1110.

Plummer, M. P., Finnis, M. E., Phillips, L. K., Kar, P., Bihari, S., Biradar, V., Moodie, S., Horowitz, M., Shaw, J. E., & Deane, A. M. (2016). Stress Induced Hyperglycemia and the Subsequent Risk of Type 2 Diabetes in Survivors of Critical Illness. *PLoS one*, 11(11), e0165923.

Powell, K., Wilcox, J., Clonan, A., Bissell, P., Preston, L., Peacock, M., & Holdsworth, M. (2015). The role of social networks in the development of overweight and obesity among adults: a scoping review. *BMC public health*, 15, 996.

Powers, S. K., DeRuisseau, K. C., Quindry, J., & Hamilton, K. L. (2004). Dietary antioxidants and exercise. *Journal of Sports Sciences*, 22(1), 81–94.

Prado, C. M., Siervo, M., Mire, E., Heymsfield, S. B., Stephan, B. C., Broyles, S., Smith, S. R., Wells, J. C., & Katzmarzyk, P. T. (2014). A population-based approach to define body-composition phenotypes. *The American journal of clinical nutrition*, 99(6), 1369–1377.

Premkumar, M., & Anand, A. C. (2021). Tobacco, cigarettes, and the liver: The smoking gun. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*, 11(6), 700–712.

Q

Qi, Q., Meigs, J. B., Rexrode, K. M., Hu, F. B., & Qi, L. (2013). Diabetes genetic predisposition score and cardiovascular complications among patients with type 2 diabetes. *Diabetes care*, 36(3), 737–739.

R

Rabe, K., Lehrke, M., Parhofer, K. G., & Broedl, U. C. (2008). Adipokines and insulin resistance. *Molecular Medicine*, 14(11–12), 741–751.

Rafii, S., & Carmeliet, P. (2016). VEGF-B improves metabolic health through vascular pruning of fat. *Cell Metabolism*, 23(4), 571–573.

Raimann, T. (2011). Obesidad y sus complicaciones. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 22(1), 20–26.

Ramakrishnan, S., Anand, V., & Roy, S. (2014). Vascular endothelial growth factor signaling in hypoxia and inflammation. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, 9(2), 142–160.

Randle, P. J., Garland, P. B., Hales, C. N., & Newsholme, E. A. (1963). The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *The Lancet*, 1(7285), 785–789.

Ranjit, S., Boutet, E., Gandhi, P., Prot, M., Tamori, Y., Chawla, A., Greenberg, A. S., Puri, V., & Czech, M. P. (2011). Regulation of fat-specific protein 27 by isoproterenol and TNF- α to control lipolysis in murine adipocytes. *Journal of Lipid Research*, 52(2), 221–236.

Reaven, G. M. (1988). Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*, 37(12), 1595–1607.

Rebello, C. J., & Greenway, F. L. (2019). Obesity medications in development. *International Journal of Obesity Research*, 29(1), 63–71.

Rehman, K., & Akash, M. S. (2016). Mechanisms of inflammatory responses and development of insulin resistance: how are they interlinked?. *Journal of biomedical science*, 23(1), 87.

Reihill, J. A., Ewart, M. A., & Salt, I. P. (2011). The role of AMP-activated protein kinase in the functional effects of vascular endothelial growth factor-A and -B in human aortic endothelial cells. *Vascular Cell*, 3, 9.

Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. (1997). *Diabetes Care*, 20(7), 1183–1197.

Reungjui, S., Pratipanawatr, T., Johnson, R. J., & Nakagawa, T. (2008). Do thiazides worsen metabolic syndrome and renal disease? The pivotal roles for hyperuricemia and hypokalemia. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, 17(5), 470–476.

Rey, S., & Semenza, G. L. (2010). Hypoxia-inducible factor-1-dependent mechanisms of vascularization and vascular remodeling. *Cardiovascular Research*, 86(2), 236–242.

Reynolds, A., Mann, J., Cummings, J., Winter, N., Mete, E., & Te Morenga, L. (2019). Carbohydrate quality and human health: A series of systematic reviews and meta-analyses. *The Lancet*, 393(10170), 434–445.

Rideout, T. C., Marinangeli, C. P., Martin, H., Browne, R. W., & Rempel, C. B. (2013). Consumption of low-fat dairy foods for 6 months improves insulin resistance without adversely affecting lipids or bodyweight in healthy adults: A randomized free-living cross-over study. *Nutrition Journal*, 12, 56.

Robciuc, M. R., Kivelä, R., Williams, I. M., de Boer, J. F., van Dijk, T. H., Elamaa, H., Tigistu-Sahle, F., Molotkov, D., Leppänen, V. M., Käkelä, R., Eklund, L., Wasserman, D. H., Groen, A. K., & Alitalo, K. (2016). VEGFB/VEGFR1-Induced Expansion of Adipose Vasculature Counteracts Obesity and Related Metabolic Complications. *Cell metabolism*, 23(4), 712–724.

Roden, M., Price, T. B., Perseghin, G., Petersen, K. F., Rothman, D. L., Cline, G. W., & Shulman, G. I. (1996). Mechanism of free fatty acid-induced insulin resistance in humans. *The Journal of Clinical Investigation*, 97(12), 2859–2865.

Rodríguez-Martín, A., Novalbos Ruiz, J. P., Martínez Nieto, J. M., & Escobar Jiménez, L. (2009). Life-style factors associated with overweight and obesity among Spanish adults. *Nutricion hospitalaria*, 24(2), 144–151.

Rojo-Martínez, G., Soriguer, F., Colomo, N., Calle, A., Goday, A., Bordiú, E., Delgado, E., Menéndez, E., Ortega, E., Urrutia, I., Girbés, J., Castaño, L., Catalá, M., Gaztambide, S., Valdés, S., & di@bet.es study group (2013) A. Factors determining high-sensitivity C-reactive protein values in the Spanish population. Di@bet.es study. *European journal of clinical investigation*, 43(1), 1–10.

Rojo-Martínez, G., Valdés, S., Colomo, N., Lucena, M. I., Gaztambide, S., Gomis, R., Casamitjana, R., Carmena, R., Catalá, M., Martínez-Larrad, M. T., Serrano-Ríos, M.,

Castaño, L., Vendrell, J., Gírbés, J., Franch, J., Vázquez, J. A., Mora-Peces, I., Urrutia, I., Pascual-Manich, G., Ortega, E., ... Soriguer, F. (2013) B. Use of drugs related to the treatment of diabetes mellitus and other cardiovascular risk factors in the Spanish population. The Di@bet.es study. *Revista española de cardiología (English ed.)*, 66(11), 854–863.

Rojo-Martínez, G., Maymó-Masip, E., Rodríguez, M. M., Solano, E., Goday, A., Soriguer, F., Valdés, S., Chaves, F. J., Delgado, E., Colomo, N., Hernández, P., Vendrell, J., & Chacón, M. R. (2014). Serum sCD163 levels are associated with type 2 diabetes mellitus and are influenced by coffee and wine consumption: results of the Di@bet.es study. *PLoS one*, 9(6), e101250.

Rojo-Martínez, G., Valdés, S., Soriguer, F., Vendrell, J., Urrutia, I., Pérez, V., Ortega, E., Ocón, P., Montanya, E., Menéndez, E., Lago-Sampedro, A., González-Frutos, T., Gomis, R., Goday, A., García-Serrano, S., García-Escobar, E., Galán-García, J. L., Castell, C., Badía-Guillén, R., Aguilera-Venegas, G., ... Calle-Pascual, A. (2020). Incidence of diabetes mellitus in Spain as results of the nation-wide cohort di@bet.es study. *Scientific reports*, 10(1), 2765.

Rouhani, M. H., Haghghatdoost, F., Surkan, P. J., & Azadbakht, L. (2016). Associations between dietary energy density and obesity: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *Nutrition*, 32(10), 1037–1047.

Russell, N. D., & Cooper, M. E. (2015). 50 years forward: Mechanisms of hyperglycemia-driven diabetic complications. *Diabetologia*, 58(8), 1708–1714.

S

Sabatini, P. V., Speckmann, T., & Lynn, F. C. (2019). Friend and foe: β -cell Ca^{2+} signaling and the development of diabetes. *Molecular Metabolism*, 21, 1–12.

Sacks, G., Swinburn, B., & Lawrence, M. (2009). Obesity Policy Action framework and analysis grids for a comprehensive policy approach to reducing obesity. *Obesity Reviews*, 10(1), 76–86.

Sainsbury, E., Kizirian, N. V., Partridge, S. R., Gill, T., Colagiuri, S., & Gibson, A. A. (2018). Effect of dietary carbohydrate restriction on glycemic control in adults with diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Diabetes research and clinical practice*, 139, 239–252.

Salas-Salvadó, J., Rubio, M. A., Barbany, M., Moreno, B., & Grupo Colaborativo de la SEEDO (2007). Consenso SEEDO 2007 para la evaluación del sobrepeso y la obesidad y el establecimiento de criterios de intervención terapéutica [SEEDO 2007 Consensus for the evaluation of overweight and obesity and the establishment of therapeutic intervention criteria]. *Medicina clínica*, 128(5), 184–200.

Salas-Salvadó, J., Bulló, M., Estruch, R., Ros, E., Covas, M. I., Ibarrola-Jurado, N., Corella, D., Arós, F., Gómez-Gracia, E., Ruiz-Gutiérrez, V., Romaguera, D., Lapetra, J., Lamuela-Raventós, R. M., Serra-Majem, L., Pintó, X., Basora, J., Muñoz, M. A., Sorlí, J.

V., & Martínez-González, M. A. (2014). Prevention of diabetes with Mediterranean diets: a subgroup analysis of a randomized trial. *Annals of internal medicine*, 160(1), 1–10.

Salas-Salvadó, J., Guasch-Ferré, M., Lee, C. H., Estruch, R., Clish, C. B., & Ros, E. (2016). Protective Effects of the Mediterranean Diet on Type 2 Diabetes and Metabolic Syndrome. *The Journal of nutrition*, 146(4), 920S–927S.

Sala-Vila, A., Estruch, R., & Ros, E. (2015). New insights into the role of nutrition in CVD prevention. *Current Cardiology Reports*, 17(5), 26.

Sala-Vila, A., Fleming, J., Kris-Etherton, P., & Ros, E. (2022). Impact of α -linolenic acid, the vegetable ω -3 fatty acid, on cardiovascular disease and cognition. *Advances in Nutrition*, 13(5), 1584–1602.

Salmon, A. B. (2016). Beyond diabetes: Does obesity-induced oxidative stress drive the aging process? *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 5(3), 24.

Saltiel, A. R., & Olefsky, J. M. (2017). Inflammatory mechanisms linking obesity and metabolic disease. *The Journal of Clinical Investigation*, 127(1), 1–4.

Saltiel, A. R. (2021). Insulin signaling in health and disease. *Journal of Clinical Investigation*, 131(1), e142241.

Samuel, V. T., Petersen, K. F., & Shulman, G. I. (2010). Lipid-induced insulin resistance: Unravelling the mechanism. *The Lancet*, 375(9733), 2267–2277.

Schrieks, I. C., Heil, A. L., Hendriks, H. F., Mukamal, K. J., & Beulens, J. W. (2015). The effect of alcohol consumption on insulin sensitivity and glycemic status: A systematic review and meta-analysis of intervention studies. *Diabetes Care*, 38(4), 723–732.

Schröder, H., Fitó, M., Estruch, R., Martínez-González, M. A., Corella, D., Salas-Salvadó, J., Lamuela-Raventós, R., Ros, E., Salaverría, I., Fiol, M., Lapetra, J., Vinyoles, E., Gómez-Gracia, E., Lahoz, C., Serra-Majem, L., Pintó, X., Ruiz-Gutierrez, V., & Covas, M. I. (2011). A short screener is valid for assessing Mediterranean diet adherence among older Spanish men and women. *The Journal of nutrition*, 141(6), 1140–1145.

Schulman, I. H., & Zhou, M. S. (2009). Vascular insulin resistance: A potential link between cardiovascular and metabolic diseases. *Current Science Inc*, 11, 48–55.

Schulz, H. (1994). Regulation of fatty acid oxidation in heart. *Journal of Nutrition*, 124(2), 165–171.

Schwingshackl, L., Lampousi, A. M., Portillo, M. P., Romaguera, D., Hoffmann, G., & Boeing, H. (2017). Olive oil in the prevention and management of type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis of cohort studies and intervention trials. *Nutrition & Diabetes*, 7(4), e262.

Schwingshackl, L., Bogensberger, B., Benčić, A., Knüppel, S., Boeing, H., & Hoffmann, G. (2018). Effects of oils and solid fats on blood lipids: a systematic review and network meta-analysis. *Journal of lipid research*, 59(9), 1771–1782.

Schwingshackl, L., Krause, M., Schmucker, C., Hoffmann, G., Rucker, G., & Meerpohl, J. J. (2019). Impact of different types of olive oil on cardiovascular risk factors: A systematic

review and network meta-analysis. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 29(10), 1030–1039.

SED. (2021). Monografía Diabetes y Genética.
<https://www.sediabetes.org/publicaciones/publicaciones-sed/monografia-diabetes-y-genetica/>

Serrano Ríos M. (2005). El síndrome metabólico: una versión moderna de la enfermedad ligada al estrés? [Metabolic syndrome: a modern variant of stress-related disease?]. *Revista española de cardiología*, 58(7), 768–771.

Shang, R., Lal, N., Lee, C. S., Zhai, Y., Puri, K., Seira, O., Boushel, R. C., Sultan, I., Räsänen, M., Alitalo, K., Hussein, B., & Rodrigues, B. (2021). Cardiac-specific VEGFB overexpression reduces lipoprotein lipase activity and improves insulin action in rat heart. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, 321(6), E753–E765.

Shibuya, M., & Claesson-Welsh, L. (2006). Signal transduction by VEGF receptors in regulation of angiogenesis and lymphangiogenesis. *Experimental Cell Research*, 312(5), 549–560.

Shungin, D., Winkler, T. W., Croteau-Chonka, D. C., Ferreira, T., Locke, A. E., Mägi, R., Strawbridge, R. J., Pers, T. H., Fischer, K., Justice, A. E., Workalemahu, T., Wu, J. M. W., Buchkovich, M. L., Heard-Costa, N. L., Roman, T. S., Drong, A. W., Song, C., Gustafsson, S., Day, F. R., Esko, T., ... Mohlke, K. L. (2015). New genetic loci link adipose and insulin biology to body fat distribution. *Nature*, 518(7538), 187–196.

Silvestre, J. S., Théry, C., Hamard, G., Boddart, J., Aguilar, B., Delcayre, A., Houbron, C., Tamarat, R., Blanc-Brude, O., Heeneman, S., Clergue, M., Duriez, M., Merval, R., Lévy, B., Tedgui, A., Amigorena, S., & Mallat, Z. (2005). Lactadherin promotes VEGF-dependent neovascularization. *Nature medicine*, 11(5), 499–506.

Singh, R. K., Kumar, P., & Mahalingam, K. (2017). Molecular genetics of human obesity: A comprehensive review. *Comptes Rendus Biologies*, 340(2), 87–108.

Smith, G. I., Shankaran, M., Yoshino, M., Schweitzer, G. G., Chondronikola, M., Beals, J. W., Okunade, A. L., Patterson, B. W., Nyangau, E., Field, T., Sirlin, C. B., Talukdar, S., Hellerstein, M. K., & Klein, S. (2020). Insulin resistance drives hepatic de novo lipogenesis in nonalcoholic fatty liver disease. *The Journal of clinical investigation*, 130(3), 1453–1460.

Snorgaard, O., Poulsen, G. M., Andersen, H. K., & Astrup, A. (2017). Systematic review and meta-analysis of dietary carbohydrate restriction in patients with type 2 diabetes. *BMJ open diabetes research & care*, 5(1), e000354.

Soares, A. F., Guichardant, M., Cozzone, D., Bernoud-Hubac, N., Bouzaidi-Tiali, N., Lagarde, M., & Geloën, A. (2005). Effects of oxidative stress on adiponectin secretion and lactate production in 3T3-L1 adipocytes. *Free Radical Biology and Medicine*, 38(7), 882–889.

Sogabe, M., Okahisa, T., Kurihara, T., Kagawa, M., Ueda, H., Kawaguchi, T., Fukuya, A., Kagemoto, K., Tanaka, H., Kida, Y., Tomonari, T., Taniguchi, T., Okamoto, K., Miyamoto, H., Sato, Y., Nakasono, M., & Takayama, T. (2022). Comparison of the role of alcohol consumption and qualitative abdominal fat on NAFLD and MAFLD in males and females. *Scientific reports*, 12(1), 16048.

Solis-Herrera, C., Triplitt, C., Reasner, C., DeFronzo, R. A., & Cersosimo, E. (2018). *Classification of Diabetes Mellitus*. In Feingold, K. R., Anawalt, B., Blackman, M. R., et al. (Eds.), *Endotext*. South Dartmouth, MA: MDText.com, Inc.

Sookoian, S., & Pirola, C. J. (2011). Metabolic syndrome: from the genetics to the pathophysiology. *Current hypertension reports*, 13(2), 149–157.

Soriguer, F., Esteva, I., Rojo-Martínez, G., Ruiz de Adana, M. S., Dobarganes, M. C., García-Almeida, J. M., Tinahones, F., Beltrán, M., González-Romero, S., Olveira, G., & Gómez-Zumaquero, J. M. (2004). Oleic acid from cooking oils is associated with lower insulin resistance in the general population (Pizarra study). *European journal of endocrinology*, 150(1), 33–39.

Soriguer, F., Rojo-Martínez, G., de Fonseca, F. R., García-Escobar, E., García Fuentes, E., & Olveira, G. (2007). Obesity and the metabolic syndrome in Mediterranean countries: A hypothesis related to olive oil. *Molecular Nutrition & Food Research*, 51(10), 1260–1267.

Soriguer, F., Almaraz, M. C., Ruiz-de-Adana, M. S., Esteva, I., Linares, F., García-Almeida, J. M., Morcillo, S., García-Escobar, E., Olveira-Fuster, G., & Rojo-Martínez, G. (2009). Incidence of obesity is lower in persons who consume olive oil. *European journal of clinical nutrition*, 63(11), 1371–1374.

Soriguer, F., Goday, A., Bosch-Comas, A., Bordiú, E., Calle-Pascual, A., Carmena, R., Casamitjana, R., Castaño, L., Castell, C., Catalá, M., Delgado, E., Franch, J., Gaztambide, S., Gírbés, J., Gomis, R., Gutiérrez, G., López-Alba, A., Martínez-Larrad, M. T., Menéndez, E., Mora-Peces, I., ... Vendrell, J. (2012) A. Prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose regulation in Spain: the Di@bet.es Study. *Diabetologia*, 55(1), 88–93.

Soriguer, F., García-Fuentes, E., Gutierrez-Repiso, C., Rojo-Martínez, G., Velasco, I., Goday, A., Bosch-Comas, A., Bordiú, E., Calle, A., Carmena, R., Casamitjana, R., Castaño, L., Castell, C., Catalá, M., Delgado, E., Franch, J., Gaztambide, S., Gírbés, J., Gomis, R., Gutiérrez, G., ... Vendrell, J. (2012) B. Iodine intake in the adult population. Di@bet.es study. *Clinical nutrition*, 31(6), 882–888.

Soriguer, F., Rubio-Martín, E., & Rojo-Martínez, G. (2012) C. Prevención de la diabetes mellitus tipo 2. *Medicina Clínica*, 139(14), 640–646.

Soriguer, F., Rojo-Martínez, G., Goday, A., Bosch-Comas, A., Bordiú, E., Caballero-Díaz, F., Calle-Pascual, A., Carmena, R., Casamitjana, R., Castaño, L., Castell, C., Catalá, M., Delgado, E., Franch, J., Gaztambide, S., Gírbés, J., Gomis, R., Gutiérrez, G., López-Alba, A., Teresa Martínez-Larrad, M., ... Vendrell, J. (2013). Olive oil has a beneficial effect on impaired glucose regulation and other cardiometabolic risk factors. Di@bet.es study. *European journal of clinical nutrition*, 67(9), 911–916.

Speliotes, E. K., Willer, C. J., Berndt, S. I., Monda, K. L., Thorleifsson, G., Jackson, A. U., Lango Allen, H., Lindgren, C. M., Luan, J., Mägi, R., Randall, J. C., Vedantam, S., Winkler, T. W., Qi, L., Workalemahu, T., Heid, I. M., Steinthorsdottir, V., Stringham, H. M., Weedon, M. N., Wheeler, E., ... Loos, R. J. (2010). Association analyses of 249,796 individuals reveal 18 new loci associated with body mass index. *Nature genetics*, 42(11), 937–948.

Stevenson, C. S., Docx, C., Webster, R., Battram, C., Hynx, D., Giddings, J., Cooper, P. R., Chakravarty, P., Rahman, I., Marwick, J. A., Kirkham, P. A., Charman, C., Richardson, D. L., Nirmala, N. R., Whittaker, P., & Butler, K. (2007). Comprehensive gene expression profiling of rat lung reveals distinct acute and chronic responses to cigarette smoke inhalation. *American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology*, 293(5), L1183–L1193.

Strydom, D. J., Bond, M. D., & Vallee, B. L. (1997). An angiogenic protein from bovine serum and milk: Purification and primary structure of angiogenin-2. *European Journal of Biochemistry*, 247, 535–544.

Summers, S. A. (2010). Sphingolipids and insulin resistance: The five Ws. *Current Opinion in Lipidology*, 21(2), 128–135.

Sun, C. Y., Lee, C. C., Hsieh, M. F., Chen, C. H., & Chou, K. M. (2014). Clinical association of circulating VEGF-B levels with hyperlipidemia and target organ damage in type 2 diabetic patients. *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*, 28(2), 225–236.

Sun, K., Ren, M., Liu, D., Wang, C., Yang, C., & Yan, L. (2014). Alcohol consumption and risk of metabolic syndrome: A meta-analysis of prospective studies. *Clinical Nutrition*, 33(4), 596–602.

Sung, H. K., Doh, K. O., Son, J. E., Park, J. G., Bae, Y., Choi, S., Nelson, S. M., Cowling, R., Nagy, K., Michael, I. P., Koh, G. Y., Adamson, S. L., Pawson, T., & Nagy, A. (2013). Adipose vascular endothelial growth factor regulates metabolic homeostasis through angiogenesis. *Cell metabolism*, 17(1), 61–72.

Swinburn, B. A., Sacks, G., Hall, K. D., McPherson, K., Finegood, D. T., Moodie, M. L., & Gortmaker, S. L. (2011). The global obesity pandemic: shaped by global drivers and local environments. *The Lancet*, 378(9793), 804–814.

T

Takahashi, H., & Shibuya, M. (2005). The vascular endothelial growth factor (VEGF)/VEGF receptor system and its role under physiological and pathological conditions. *Clinical Science*, 109(3), 227–241.

Tang, K., Rashid, R., Godley, J., & Ghali, W. (2016). Association between subjective social status and cardiovascular disease and cardiovascular risk factors: A systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*, 6(3), e010137.

Targher, G., Marchesini, G., & Byrne, C. D. (2016). Risk of type 2 diabetes in patients with non-alcoholic fatty liver disease: Causal association or epiphenomenon? *Diabetes & Metabolism*, 42, 142–156.

The Emerging Risk Factors Collaboration, Sarwar, N., Gao, P., Seshasai, S. R., Gobin, R., Kaptoge, S., Di Angelantonio, E., Ingelsson, E., Lawlor, D. A., Selvin, E., Stampfer, M., Stehouwer, C. D., Lewington, S., Pennells, L., Thompson, A., Sattar, N., White, I. R., Ray, K. K., & Danesh, J. (2010). Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration,

and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies. *Lancet (London, England)*, 375(9733), 2215–2222.

Thorning, T. K., Bertram, H. C., Bonjour, J. P., de Groot, L., Dupont, D., Feeney, E., Ipsen, R., Lecerf, J. M., Mackie, A., McKinley, M. C., Michalski, M. C., Rémond, D., Risérus, U., Soedamah-Muthu, S. S., Tholstrup, T., Weaver, C., Astrup, A., & Givens, I. (2017). Whole dairy matrix or single nutrients in assessment of health effects: current evidence and knowledge gaps. *The American journal of clinical nutrition*, 105(5), 1033–1045.

Thrasher, J. (2017). Pharmacologic management of type 2 diabetes mellitus: Available therapies. *American Journal of Medicine*, 130(6S), S4–S17.

Timm, M., Offringa, L. C., Van Klinken, B. J. W., & Slavin, J. (2023). Beyond insoluble dietary fiber: Bioactive compounds in plant foods. *Nutrients*, 15, 4138.

Tinahones, F. J., Coín-Aragüez, L., Mayas, M. D., Garcia-Fuentes, E., Hurtado-Del-Pozo, C., Vendrell, J., Cardona, F., Calvo, R. M., Obregon, M. J., & El Bekay, R. (2012). Obesity-associated insulin resistance is correlated to adipose tissue vascular endothelial growth factors and metalloproteinase levels. *BMC physiology*, 12(1), 4.

Tong, Y., Zhang, Y., Shan, Z., Xu, Y., Gao, X., & Yao, W. (2020). Improving high-fat diet-induced obesity and fatty liver by adipose tissue targeted delivery of vascular endothelial growth factor-B. *Life sciences*, 253, 117677.

Torres-Leal, F. L., Fonseca-Alaniz, M. H., Rogero, M. M., & Tirapegui, J. (2010). The role of inflamed adipose tissue in the insulin resistance. *Cell Biochemistry and Function*, 28(8), 623–631.

Tortosa, A., Bes-Rastrollo, M., Sanchez-Villegas, A., Basterra-Gortari, F. J., Nuñez-Cordoba, J. M., & Martinez-Gonzalez, M. A. (2007). Mediterranean diet inversely associated with the incidence of metabolic syndrome: the SUN prospective cohort. *Diabetes care*, 30(11), 2957–2959.

Trichopoulou, A., Costacou, T., Bamia, C., & Trichopoulos, D. (2003). Adherence to a Mediterranean diet and survival in a Greek population. *The New England journal of medicine*, 348(26), 2599–2608.

Tsartsou, E., Proutsos, N., Castanas, E., & Kampa, M. (2019). Network meta-analysis of metabolic effects of olive oil in humans shows the importance of olive oil consumption with moderate polyphenol levels as part of the Mediterranean diet. *Frontiers in Nutrition*, 6, 6.

Tsilas, C. S., de Souza, R. J., Mejia, S. B., Mirrahimi, A., Cozma, A. I., Jayalath, V. H., Ha, V., Tawfik, R., Di Buono, M., Jenkins, A. L., Leiter, L. A., Wolever, T. M. S., Beyene, J., Khan, T., Kendall, C. W. C., Jenkins, D. J. A., & Sievenpiper, J. L. (2017). Relation of total sugars, fructose and sucrose with incident type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *CMAJ: Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne*, 189(20), E711–E720.

Tsompanaki, E., Thanapirom, K., Papatheodoridi, M., Parikh, P., Chotai de Lima, Y., & Tsochatzis, E. A. (2023). Systematic Review and Meta-analysis: The Role of Diet in the Development of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clinical gastroenterology and*

hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association, 21(6), 1462–1474.e24.

U

Unger, R. H. (2002). Lipotoxic diseases. *Annual Review of Medicine*, 53, 319–336.

Ushio-Fukai, M. (2006). Redox signaling in angiogenesis: Role of NADPH oxidase. *Cardiovascular Research*, 71(2), 226–235.

Ussher, J. R., Koves, T. R., Cadete, V. J., Zhang, L., Jaswal, J. S., Swyrd, S. J., Lopaschuk, D. G., Proctor, S. D., Keung, W., Muoio, D. M., & Lopaschuk, G. D. (2010). Inhibition of de novo ceramide synthesis reverses diet-induced insulin resistance and enhances whole-body oxygen consumption. *Diabetes*, 59(10), 2453–2464.

V

Vague, J. (1947). La differentiation sexuelle, factor determinant des formes de l'obesity. *Presse Médicale*, 30, 339–340.

Vague, J., Vague, P., & Tramoni, M. (1980). Obesity and diabetes. *Acta Diabetologica Latina*, 17(2), 87–99.

Valdés, S., Rojo-Martínez, G., & Soriguer, F. (2007). Evolución de la prevalencia de la diabetes tipo 2 en población adulta española. *Medicina Clínica (Barcelona)*, 129(9), 352–355.

Valdés, S., Maldonado-Araque, C., García-Torres, F., Goday, A., Bosch-Comas, A., Bordiú, E., Calle-Pascual, A., Carmena, R., Casamitjana, R., Castaño, L., Castell, C., Catalá, M., Delgado, E., Franch, J., Gaztambide, S., Girbés, J., Gomis, R., Gutiérrez, G., López-Alba, A., Martínez-Larrad, M., ... Rojo-Martínez, G. (2014). Ambient temperature and prevalence of obesity in the Spanish population: The Di@bet.es study. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 22(11), 2328–2332.

Valdés, S., Maldonado-Araque, C., Lago-Sampedro, A., Lillo, J. A., Garcia-Fuentes, E., Perez-Valero, V., Gutierrez-Repiso, C., Ocon-Sanchez, P., Goday, A., Urrutia, I., Peláez, L., Calle-Pascual, A., Bordiú, E., Castaño, L., Castell, C., Delgado, E., Menendez, E., Franch, J., Gaztambide, S., Girbés, J., ... Rojo-Martínez, G. (2017). Population-Based National Prevalence of Thyroid Dysfunction in Spain and Associated Factors: Di@bet.es Study. *Thyroid : official journal of the American Thyroid Association*, 27(2), 156–166.

Valdés, S., Doulatram-Gamgaram, V., Lago, A., García Torres, F., Badía-Guillén, R., Oliveira, G., Goday, A., Calle-Pascual, A., Castaño, L., Castell, C., Delgado, E., Menendez, E., Franch-Nadal, J., Gaztambide, S., Girbés, J., Gomis, R., Ortega, E., Galán-García, J. L., Aguilera-Venegas, G., Soriguer, F., ... Rojo-Martínez, G. (2019). Ambient temperature and prevalence of diabetes and insulin resistance in the Spanish population: Di@bet.es study. *European journal of endocrinology*, 180(5), 273–280.

Vilar-Gomez, E., Martinez-Perez, Y., Calzadilla-Bertot, L., Torres-Gonzalez, A., Gra-Oramas, B., Gonzalez-Fabian, L., Friedman, S. L., Diago, M., & Romero-Gomez, M. (2015). Weight Loss Through Lifestyle Modification Significantly Reduces Features of Nonalcoholic Steatohepatitis. *Gastroenterology*, 149(2), 367–e15.

Virtue, S., & Vidal-Puig, A. (2010). Adipose tissue expandability, lipotoxicity and the metabolic syndrome--an allostatic perspective. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1801(3), 338–349.

W

Wagenmakers, A. J. M., Strauss, J. A., Shepherd, S. O., Keske, M. A., & Cocks, M. (2016). Increased muscle blood supply and transendothelial nutrient and insulin transport induced by food intake and exercise: Effect of obesity and ageing. *Journal of Physiology*, 594, 2207–2222.

Walker, R., Smalls, B., Campbell, J., Strom-Williams, J., & Egede, L. (2014). Impact of social determinants of health outcomes for type 2 diabetes: A systematic review. *Endocrine*, 47(1), 29–48.

Wargny, M., Smati, S., Pichelin, M., Bigot-Corbel, E., Authier, C., Dierry, V., Zair, Y., Jacquin, V., Hadjadj, S., Boursier, J., & Cariou, B. (2019). Fatty liver index is a strong predictor of changes in glycemic status in people with prediabetes: The IT-DIAB study. *PLoS one*, 14(8), e0221524.

Webb, M., Yeshua, H., Zelber-Sagi, S., Santo, E., Brazowski, E., Halpern, Z., & Oren, R. (2009). Diagnostic value of a computerized hepatorenal index for sonographic quantification of liver steatosis. *AJR. American journal of roentgenology*, 192(4), 909–914.

Wei, Y., Han, S., Zhou, R., Xu, P., Zhou, L., Zhu, Z., Kan, Y., Yang, X., Xiang, Y., Cao, Y., Jin, Y., Yan, J., Yu, X., Wang, X., & Shang, W. (2022). Increased Serum VEGF-B Level Is Associated With Renal Function Impairment in Patients With Type 2 Diabetes. *Frontiers in endocrinology*, 13, 862545.

Wierzbicki, A. S., & Reynolds, T. M. (2019). Genetic risk scores in lipid disorders. *Current Opinion in Cardiology*, 34(4), 406–412.

Wilson, P. W., D'Agostino, R. B., Parise, H., Sullivan, L., & Meigs, J. B. (2005). Metabolic syndrome as a precursor of cardiovascular disease and type 2 diabetes mellitus. *Circulation*, 112(20), 3066–3072.

Wolf, K., Popp, A., Schneider, A., Breitner, S., Hampel, R., Rathmann, W., Herder, C., Roden, M., Koenig, W., Meisinger, C., Peters, A., & KORA-Study Group (2016). Association Between Long-term Exposure to Air Pollution and Biomarkers Related to Insulin Resistance, Subclinical Inflammation, and Adipokines. *Diabetes*, 65(11), 3314–3326.

World Health Organization (WHO). (1999). Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: *Report of a WHO consultation. Geneva, Switzerland*. https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/66040/WHO_NCD_NCS_99.2.pdf?sequence=1&isAllowed=y (Accessed: March, 2023).

World Health Organization (WHO). (2006). Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycaemia: Report of a WHO/IDF consultation. Geneva, Switzerland. http://www.who.int/diabetes/publications/diagnosis_diabetes2006/en/ (Accessed: March, 2023).

World Health Organization (WHO). (2011). Use of glycated haemoglobin (HbA1c) in the diagnosis of diabetes mellitus. Geneva, Switzerland. https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/70523/WHO_NMH_CHP_CPM_11.1_eng.pdf (Accessed: March, 2023).

World Health Organization (WHO). (2018). Global Health Estimates 2016: Deaths by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000–2016. Geneva: Switzerland. <https://www.who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates> (Accessed: March, 2023).

World Health Organization (WHO). (2021). Obesity and overweight. Geneva, Switzerland. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight> (Accessed: March, 2023).

World Obesity Atlas. (2022). https://www.worldobesityday.org/assets/downloads/World_Obesity_Atlas_2022_WEB.pdf (Accessed: March, 2023).

Wu, H., & Ballantyne, C. M. (2020). Metabolic inflammation and insulin resistance in obesity. *Circulation Research*, 126(11), 1549–1564.

Wu, J., Wei, H., Qu, H., Feng, Z., Long, J., Ge, Q., & Deng, H. (2017). Plasma vascular endothelial growth factor B levels are increased in patients with newly diagnosed type 2 diabetes mellitus and associated with the first phase of glucose-stimulated insulin secretion function of β -cell. *Journal of endocrinological investigation*, 40(11), 1219–1226.

X

Xiao, X., Guo, P., Chen, Z., El-Gohary, Y., Wiersch, J., Gaffar, I., Prasad, K., Shiota, C., & Gittes, G. K. (2013). Hypoglycemia reduces vascular endothelial growth factor A production by pancreatic beta cells as a regulator of beta cell mass. *The Journal of biological chemistry*, 288(12), 8636–8646.

Xiao, Y., Zhang, X., Yi, D., Qiu, F., Wu, L., Tang, Y., & Wang, N. (2023). Mediterranean diet affects the metabolic outcome of metabolic dysfunction-associated fatty liver disease. *Frontiers in nutrition*, 10, 1225946.

Xie, B., Palmer, P. H., Pang, Z., Sun, P., Duan, H., & Johnson, C. A. (2010). Environmental tobacco use and indicators of metabolic syndrome in Chinese adults. *Nicotine & Tobacco Research*, 12(3), 198–206.

Y

Yadav, D., Choi, E., Ahn, S. V., Koh, S. B., Sung, K. C., Kim, J. Y., & Huh, J. H. (2016). Fatty liver index as a simple predictor of incident diabetes from the KoGES-ARIRANG study. *Medicine*, 95(31), e4447.

Yadav, D., et al. (2020). Metabolic syndrome criteria and its association with type 2 diabetes and cardiovascular diseases.

Yadav, D., Puranik, N., Sen, A., Mishra, M., Kwak, M., Jin, J.O. (2020). Metabolic syndrome criteria and its association with type 2 diabetes and cardiovascular diseases. *Progress in Nutrition*, 22(2), 361–369 [Internet]. Available from: <https://mattioli1885journals.com/index.php/progressinnutrition/article/view/8316>

Yang, B. L., Wu, W. C., Fang, K. C., Wang, Y. C., Huo, T. I., Huang, Y. H., Yang, H. I., Su, C. W., Lin, H. C., Lee, F. Y., Wu, J. C., & Lee, S. D. (2015). External validation of fatty liver index for identifying ultrasonographic fatty liver in a large-scale cross-sectional study in Taiwan. *PloS one*, 10(3), e0120443.

Yang, B. Y., Fan, S., Thiering, E., Seissler, J., Nowak, D., Dong, G. H., & Heinrich, J. (2020). Ambient air pollution and diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Environmental Research*, 180, 108817.

Yang, L., Zhang, Y., Zhu, M., Zhang, Q., Wang, X., Wang, Y., Zhang, J., Li, J., Yang, L., Liu, J., Liu, F., Yang, Y., Kang, L., Shen, Y., & Qi, Z. (2016). Resveratrol attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury through up-regulation of vascular endothelial growth factor B. *Free radical biology & medicine*, 101, 1–9.

Yang, N., He, L., Li, Y., Xu, L., Ping, F., Li, W., & Zhang, H. (2020). Reduced Insulin Resistance Partly Mediated the Association of High Dietary Magnesium Intake with Less Metabolic Syndrome in a Large Chinese Population. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity : targets and therapy*, 13, 2541–2550.

Ye, X., Kong, W., Zafar, M. I., Zeng, J., Yang, R., & Chen, L. L. (2020). Plasma vascular endothelial growth factor B is elevated in non-alcoholic fatty liver disease patients and associated with blood pressure and renal dysfunction. *EXCLI journal*, 19, 1186–1195.

Yki-Järvinen, H. (2002). Ectopic fat accumulation: An important cause of insulin resistance in humans. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 95 Suppl 42, 39–45.

Yki-Järvinen, H. (2014). Non-alcoholic fatty liver disease as a cause and a consequence of metabolic syndrome. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 2, 901–910.

Yoshitaka, S. (2021). Role of insulin resistance in MAFLD. *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 4156.

Younossi, Z. M., Golabi, P., de Avila, L., Paik, J. M., Srishord, M., Fukui, N., Qiu, Y., Burns, L., Afendy, A., & Nader, F. (2019). The global epidemiology of NAFLD and NASH in patients with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Journal of hepatology*, 71(4), 793–801.

Yubero-Serrano, E. M., Lopez-Moreno, J., Gomez-Delgado, F., & Lopez-Miranda, J. (2019). Extra virgin olive oil: More than a healthy fat. *European Journal of Clinical Nutrition*, *72*(Suppl 1), 8–17.

Yusuf, S., Hawken, S., Ounpuu, S., Bautista, L., Franzosi, M. G., Commerford, P., Lang, C. C., Rumboldt, Z., Onen, C. L., Lisheng, L., Tanomsup, S., Wangai, P., Jr, Razak, F., Sharma, A. M., Anand, S. S., & INTERHEART Study Investigators (2005). Obesity and the risk of myocardial infarction in 27,000 participants from 52 countries: a case-control study. *The Lancet*, *366*(9497), 1640–1649.

Yusuf, S., et al. (2020). Modifiable risk factors, cardiovascular disease, and mortality in 155,722 individuals from 21 high-income, middle-income, and low-income countries (PURE): A prospective cohort study. *The Lancet*, *395*, 795–808.

Yusuf, S., Joseph, P., Rangarajan, S., Islam, S., Mente, A., Hystad, P., Brauer, M., Kutty, V. R., Gupta, R., Wielgosz, A., AlHabib, K. F., Dans, A., Lopez-Jaramillo, P., Avezum, A., Lanus, F., Oguz, A., Kruger, I. M., Diaz, R., Yusuf, K., Mony, P., ... Dagenais, G. (2020). Modifiable risk factors, cardiovascular disease, and mortality in 155 722 individuals from 21 high-income, middle-income, and low-income countries (PURE): a prospective cohort study. *The Lancet*, *395*(10226), 795–808.

Z

Zafar, M. I., Zheng, J., Kong, W., Ye, X., Gou, L., Regmi, A., & Chen, L. L. (2017). The role of vascular endothelial growth factor-B in metabolic homeostasis: current evidence. *Bioscience reports*, *37*(4), BSR20171089.

Zafar, M. I., Mills, K., Ye, X., Blakely, B., Min, J., Kong, W., Zhang, N., Gou, L., Regmi, A., Hu, S. Q., Zheng, J., & Chen, L. L. (2018). Association between the expression of vascular endothelial growth factors and metabolic syndrome or its components: a systematic review and meta-analysis. *Diabetology & metabolic syndrome*, *10*, 62.

Zelber-Sagi, S., Lotan, R., Shibolet, O., Webb, M., Buch, A., Nitzan-Kaluski, D., Halpern, Z., Santo, E., & Oren, R. (2013). Non-alcoholic fatty liver disease independently predicts prediabetes during a 7-year prospective follow-up. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*, *33*(9), 1406–1412.

Zhao, J., Liu, L., Cao, Y. Y., Gao, X., Targher, G., Byrne, C. D., Sun, D. Q., & Zheng, M. H. (2024). MAFLD as part of systemic metabolic dysregulation. *Hepatology International*, *18*(Suppl 2), 834–847.

Zhao, X., An, X., Yang, C., Sun, W., Ji, H., & Lian, F. (2023). The crucial role and mechanism of insulin resistance in metabolic disease. *Frontiers in Endocrinology*, *14*, 1149239.

Zheng, C., & Liu, Z. (2015). Vascular function, insulin action, and exercise: An intricate interplay. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, *26*(6), 297–304.

Zheng, Y., Ley, S. H., & Hu, F. B. (2018). Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nature Reviews Endocrinology*, *14*(2), 88–98.

Zhou, L., Luo, Y., Wang, Y., Cheng, Y., Zhang, R., Zhang, S., Gong, S., Han, X., & Ji, L. (2023). The clinical implications of fasting serum insulin levels in patients with insulin-treated type 2 diabetes: a cross-sectional survey. *Frontiers in clinical diabetes and healthcare*, *4*, 1172208.

Zhou, R., Xue, Y., Zhu, Z., Xu, P., Shen, L., Wang, Z., Xiang, Y., Cao, Y., Yu, X., & Shang, W. (2024). VEGF-B is involved in diabetic peripheral neuropathy in patients with type 2 diabetes. *Growth factors*, *42*(3), 101–110.

Zhu, H., Gao, M., Gao, X., & Tong, Y. (2018). Vascular endothelial growth factor-B: Impact on physiology and pathology. *Cell Adhesion & Migration*, *12*, 215–227.

Zhu, X., Wang, Y., Zhu, L., Zhu, Y., Zhang, K., Wang, L., Bai, H., Yang, Q., Ben, J., Zhang, H., Li, X., Xu, Y., & Chen, Q. (2021). Class A1 scavenger receptor prevents obesity-associated blood pressure elevation through suppressing overproduction of vascular endothelial growth factor B in macrophages. *Cardiovascular research*, *117*(2), 547–560.

Zimmet, P., Alberti, K. G., & Shaw, J. (2001). Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature*, *414*, 782–787.

Zin, C. A. J. C. M., Mohamed, W. M. I. W., Khan, N. A. K., & Ishak, W. R. W. (2022). Effects of fruit and vegetable polyphenols on the glycemic control and metabolic parameters in type 2 diabetes mellitus: A review. *Preventive Nutrition and Food Science*, *27*, 257–264.


PUBLICACIÓN





UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

Serum vascular endothelial growth factor b and metabolic syndrome incidence in the population based cohort Di@bet.es study

Ana Lago-Sampedro^{1,2,3}, Said Lhamyani^{2,4}, Sergio Valdés^{1,2}, Natalia Colomo^{1,2}, Cristina Maldonado-Araque^{1,2}, Inmaculada González-Molero², Viyey Doulatram-Gamgaram^{1,2,3}, Elias Delgado^{5,6}, Felipe J. Chaves^{1,7}, Luis Castaño^{1,5,8}, Alfonso Calle-Pascual^{1,9}, Josep Franch-Nadal^{1,10}, Gemma Rojo-Martínez^{1,2,11}, Sara García-Serrano^{1,2,11} and Eva García-Escobar^{1,2,11} 

© The Author(s) 2022

BACKGROUND/OBJECTIVES: Although vascular endothelial growth factor b (VEGFb) might have an impact on the development of obesity, diabetes and related disorders, the possible relationship between VEGFb serum levels and the incidence of these metabolic complications in humans is still unknown. The aim of our study was to evaluate the association between VEGFb serum levels and the new-onset of metabolic syndrome (MS) and its components in the Spanish adult population after 7.5 years of follow-up.

SUBJECTS/METHODS: A total of 908 subjects from the Di@bet.es cohort study without MS at cross-sectional stage according to International Diabetes Federation (IDF) or Adult Treatment Panel III (ATP-III) criteria were included. Additionally, five sub-populations were grouped according to the absence of each MS component at baseline. Socio-demographic, anthropometric and clinical data were recorded. The Short Form of International Physical Activity Questionnaire (SF-IPAQ) was used to estimate physical activity. A fasting blood extraction and an oral glucose tolerance test were performed. Serum determinations of glucose, lipids, hsCRP and insulin were made. VEGFb levels were determined and categorized according to the 75th percentile of the variable. New cases of MS and its components were defined according to ATP-III and IDF criteria.

RESULTS: A total of 181 or 146 people developed MS defined by IDF or ATP-III criteria respectively. Serum triglyceride levels, hs-CRP and systolic blood pressure at the baseline study were significantly different according to the VEGFb categories. Adjusted logistic regression analysis showed that the likelihood of developing MS and abdominal obesity was statistically reduced in subjects included in the higher VEGFb category.

CONCLUSION: Low serum levels of VEGFb may be considered as early indicators of incident MS and abdominal obesity in the Spanish adult population free of MS, independently of other important predictor variables.

International Journal of Obesity (2022) 46:2013–2020; <https://doi.org/10.1038/s41366-022-01212-1>

INTRODUCTION

The metabolic syndrome (MS) can be defined as a cluster of metabolic dysfunctions which is characterized by the increase in abdominal obesity, insulin resistance, hypertension and hyperlipidemia coexisting in the same individual [1]. MS is the result of the interaction of genetic and environmental factors, where lifestyle plays an important role in its development. A healthy lifestyle based on adequate nutrition, regular physical activity and control of overweight and obesity are the general recommendations for the treatment and prevention of MS [2].

Among the different causes of MS, physical activity is a fundamental part of its understanding since a sedentary lifestyle has been associated with weight gain and an increase in visceral fat, favouring the appearance of other risk factors such as arterial hypertension, hyperglycemia and dyslipidemia [3]. A chronic, low magnitude inflammatory state has also been related in many studies to the presence of the components of metabolic syndrome, which can be explained in part by the alterations of the adipose tissue and that can be compensated with adequate physical activity [4, 5].

¹CIBERDEM, ISCIII, Madrid, Spain. ²UGC Endocrinología y Nutrición. Hospital Regional Universitario de Málaga. IBIMA Plataforma BIONAND, Málaga, Spain. ³Departamento de Medicina y Dermatología, Universidad de Málaga-UMA, Málaga, Spain. ⁴CIBEROBN, ISCIII, Madrid, Spain. ⁵CIBERER, ISCIII, Madrid, Spain. ⁶Department of Endocrinology and Nutrition, Central University Hospital of Asturias/University of Oviedo, Health Research Institute of the Principality of Asturias (ISPA), Oviedo, Spain. ⁷Genomic and Genetic Diagnosis Unit, Research Foundation of Valencia University Clinical Hospital-INCLIVA, Valencia, Spain. ⁸Cruces University Hospital, BioCruces Bizkaia, UPV/EHU, Endo-ERN, Barakaldo, Spain. ⁹Department of Endocrinology and Nutrition, San Carlos University Hospital of Madrid, Madrid, Spain. ¹⁰EAP Raval Sud, Catalan Institute of Health, GEDAPS Network, Primary Care, Research support unit (IDIAP—Jordi Gol Foundation), Barcelona, Spain. ¹¹These authors contributed equally: Sara García-Serrano, Eva García-Escobar. [✉]email: gemma.rojo.m@gmail.com; eyring@gmail.com

Received: 13 August 2021 Revised: 8 August 2022 Accepted: 9 August 2022

Published online: 20 August 2022

Lago-Sampedro, A., Lhamyani, S., Valdés, S. *et al.* Serum vascular endothelial growth factor b and metabolic syndrome incidence in the population based cohort Di@bet.es study. *Int J Obes* **46**, 2013–2020 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41366-022-01212-1>

PRODUCCIÓN CIENTÍFICA



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

Otras publicaciones, como primera autora, relacionados con esta tesis:

- **Lago-Sampedro, A.**, García-Escobar, E., Rubio-Martín, E., Pascual-Aguirre, N., Valdés, S., Soriguer, F., Goday, A., Calle-Pascual, A., Castell, C., Menéndez, E., Delgado, E., Bordiú, E., Castaño, L., Franch-Nadal, J., Girbés, J., Chaves, F. J., Gaztambide, S., Rojo-Martínez, G., & Oliveira, G. (2019). Dairy Product Consumption and Metabolic Diseases in the Di@bet.es Study. *Nutrients*, 11(2), 262.
- **Lago-Sampedro, A.**, Oualla-Bachiri, W., García-Serrano, S., Maldonado-Araque, C., Valdés, S., Doulatram-Gamgaram, V., Oliveira, G., Delgado, E., Chaves, F. J., Castaño, L., Calle-Pascual, A., Franch-Nadal, J., Rojo-Martínez, G., & García-Escobar, E. (2024). Protective Effect of High Adherence to Mediterranean Diet on the Risk of Incident Type-2 Diabetes in Subjects with MAFLD: The Di@bet.es Study. *Nutrients*, 16(21), 3788.
- **Lago-Sampedro, A.**, Oualla-Bachiri, W., Maldonado-Araque, C., Valdés, S., González-Molero, I., Doulatram-Gamgaram, V., Delgado, E., Chaves, F. J., Castaño, L., Calle-Pascual, A., Franch-Nadal, J., Rojo-Martínez, G., García-Serrano, S., & García-Escobar, E. (2025). The Interactive Effects of Fruit Intake Frequency and Serum miR-484 Levels as Biomarkers for Incident Type 2 Diabetes in a Prospective Cohort of the Spanish Adult Population: The Di@bet.es Study. *Biomedicines*, 13(1), 160.

Otras publicaciones, como colaboradora, relacionadas con esta tesis:

- Rojo-Martínez, G., Valdés, S., Soriguer, F., Vendrell, J., Urrutia, I., Pérez, V., Ortega, E., Ocón, P., Montanya, E., Menéndez, E., **Lago-Sampedro, A.**, González-Frutos, T., Gomis, R., Goday, A., García-Serrano, S., García-Escobar, E., Galán-García, J. L., Castell, C., Badía-Guillén, R., Aguilera-Venegas, G., ... Calle-Pascual, A. (2020). Incidence of diabetes mellitus in Spain as results of the nation-wide cohort di@bet.es study. *Scientific reports*, 10(1), 2765.

- Cuesta, M., Fuentes, M., Rubio, M., Bordiu, E., Barabash, A., Garcia de la Torre, N., Rojo-Martinez, G., Valdes, S., Soriguer, F., Vendrell, J. J., Urrutia, I. M., Ortega, E., Montanya, E., Menendez, E., **Lago-Sampedro, A.**, Gomis, R., Goday, A., Castell, C., Badia-Guillen, R., Girbés, J., ... Calle-Pascual, A. L. **(2020)**. Incidence and regression of metabolic syndrome in a representative sample of the Spanish population: results of the cohort di@bet.es study. *BMJ open diabetes research & care*, 8(1), e001715.
- García-Escobar, E., Valdés, S., Soriguer, F., Vendrell, J., Urrutia-Etxebarria, I. M., Maldonado-Araque, C., Ortega, E., Ocón, P., Montanya, E., Menéndez, E., **Lago-Sampedro, A.**, González-Frutos, T., Gomis, R., Goday, A., García-Serrano, S., Galán-García, J. L., Castell, C., Bordiú, E., Badía, R., Aguilera-Venegas, G., ... Franch-Nadal, J. **(2021)**. Fatty liver index as a predictor for type 2 diabetes in subjects with normoglycemia in a nationwide cohort study. *Scientific reports*, 11(1), 16453.

Presentaciones a Congresos:

- **NIVELES SÉRICOS DEL FACTOR DE CRECIMIENTO DEL ENDOTELIO VASCULAR B (VEGfb) Y EL SÍNDROME METABÓLICO (SM) Y SUS COMPONENTES EN EL ESTUDIO DI@BET.ES. RESULTADOS PRELIMINARES**
XXXI Congreso Nacional SED, 2020 (Virtual). Póster.
- **NIVELES SÉRICOS DE VEGFB Y RIESGO DE INCREMENTAR FLI (FATTY LIVER INDEX) EN EL ESTUDIO DI@BET.ES**
47 congreso SAEDYN, 2025 (Almería). Presentación oral.