

Monocito inflamatorio, inteligencia y riesgo de diabetes tipo 2

Mariano J. Taverna^{1a}, Marcela S. Pandolfo^{2a}, Bibiana Fabre^{2b}, Claudio D. Carbia^{2c}, Marta M. Lardo^{2d}, Diego González^{2e}, Fabio M. Lombardo^{1b}, Manuel L. Martí^{1c}, Félix M.

Puchulu^{1d}

¹División de Diabetología, Hospital de Clínicas “José de San Martín” (UBA)

^{1a}Médico de Planta de la Div. de Diabetología (tel.: 5950-8895). Investigador Adjunto del CONICET. Doctorado (Universidad Pierre et Marie Curie de Paris). Autor correspondiente

E-mail: taverna.mariano@gmail.com. Tel.: 1530069269

^{1b}Médico de Planta de la Div. de Diabetología (tel.: 5950-8895). Docente Adscripto de Medicina Interna. E-mail: fmlombardo@gmail.com. Tel.: 2066-2753

^{1c}Profesor Consultor de la Div. de Diabetología (tel.: 5950-8895). Profesor Emérito de Medicina Interna. Doctorado (UBA). E-mail: mmarti@roemmers.com.ar. Tel.: 1550086217

^{1d}Jefe de la Div. de Diabetología (tel.: 5950-8895). Profesor Adjunto Equiparado de Medicina Interna. E-mail: fpuchulu@gmail.com. Tel.: 1559241719

²Departamento de Bioquímica Clínica, Hospital de Clínicas “José de San Martín” (UBA)

^{2a}Jefa Asistencial del Laboratorio de Química Clínica (tel.: 5950-8648). Jefa de Trabajos Prácticos, Cátedra de Bioquímica Clínica. E-mail: marcelapandolfo@hotmail.com. Tel.:

1544096701

^{2b}Jefa Asistencial del Laboratorio de Endocrinología (tel.: 5950-8654). Jefa de Trabajos Prácticos. Cátedra de Bioquímica Clínica. Doctorada (UBA). E-mail:

brfabre2000@yahoo.com.ar. Tel.: 1559927258

^{2c}Bioquímico Asistencial del Laboratorio de Química Clínica (tel.: 5950-8648). Jefe de Trabajos Prácticos. Cátedra de Bioquímica Clínica. E-mail: claudiocarbia@gmail.com. Tel.: 1533628205

^{2d}Jefa Asistencial del Laboratorio de Hematología (tel.: 5950-8648). Jefa de Trabajos Prácticos, Cátedra de Bioquímica Clínica. Doctorada (UBA). E-mail: mabel_lardo@yahoo.com.ar. Tel.: 1559242662

^{2e}Bioquímico Asistencial del Laboratorio de Endocrinología (tel.: 5950-8654). Ayudante de Trabajos Prácticos, Cátedra de Bioquímica Clínica. E-mail: diegojgz@hotmail.com. Tel.: 1554713495

Lugar de Trabajo: División de Diabetología y Departamento de Bioquímica Clínica del Hospital de Clínicas “José de San Martín” de la Universidad de Buenos Aires

Tipo de Investigación: Clínica

Fecha de Presentación: 11 de Octubre de 2018

Autor correspondiente: Mariano J. Taverna, MD, PhD, División de Diabetología, Hospital de Clínicas “José de San Martín”, Universidad de Buenos Aires, Av. Córdoba 2351 6° piso, Ciudad Autónoma de Buenos Aires (1110), Argentina. Teléfono/fax: 011 5950-8894/95. Email: taverna.mariano@gmail.com

RESUMEN

Introducción: La vía inflamatoria JNK (*c-Jun N-terminal Kinase*) es clave en el desarrollo de la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) y en el daño cognitivo. La reducción en la habilidad cognitiva general podría incrementar el riesgo de DM2, de acuerdo a estudios preliminares.

Objetivos: Investigar interrelaciones entre la expresión monocitaria de JNK, la inteligencia fluida y el riesgo de DM2.

Metodología: 213 adultos no diabéticos, sin antecedentes patológicos previos, fueron incluidos en este estudio transversal. La expresión monocitaria de la forma activa (fosforilada) de JNK (p-JNK) fue cuantificada por ELISA intracelular. La inteligencia fluida fue evaluada por medio de la forma standard del test de Matrices Progresivas de Raven (TMPR). El riesgo de DM2 fue cuantificado con el cuestionario FINDRISC (*FINnish Diabetes Risk Score*), mientras que la insulinoresistencia fue medida con el método HOMA-IR (*Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance*). Análisis de mediación fueron efectuados con el test de Sobel.

Resultados: la elevación en la expresión monocitaria de p-JNK y la reducción en el score del TMPR fueron asociadas a múltiples factores de riesgo para DM2 (cuestionario FINDRISC ≥ 15 puntos, glucemia de ayuno ≥ 100 mg/dl, insulinoresistencia, obesidad general y obesidad central; $P < 0,05$). La reducción en la inteligencia fluida (score del TMPR) medió parcialmente (test de Sobel: $P < 0,05$) las asociaciones entre p-JNK y FINDRISC (efecto indirecto, EI: 29,7 %), y entre p-JNK y glucemia de ayuno (EI: 28,8 %), en análisis ajustados por múltiples variables. La reducción en el score del TMPR y el incremento en la expresión monocitaria de p-JNK fueron asociados con menor ingesta diaria de vegetales/frutas ($P < 0,05$), y con reducción en las horas de sueño ($P < 0,05$). La

elevación de p-JNK fue asociada con mayor prevalencia de sedentarismo ($P < 0,05$) y de tabaquismo activo ($P < 0,05$).

Conclusiones: la expresión monocitaria de p-JNK, vía fisiopatológica clave en el desarrollo de neuroinflamación y DM2, fue directamente asociada al riesgo de DM2, y esta asociación fue parcialmente mediada por una merma en la inteligencia fluida. Un score reducido del TMPR y un incremento en la expresión monocitaria de p-JNK fueron asociados a un estilo de vida no saludable.

Palabras clave: JNK, inteligencia, inflamación, monocito, diabetes mellitus tipo 2

Mensajes centrales

- JNK (c-Jun NH2-terminal Kinase) es una caracterizada vía inflamatoria que juega un rol central en el desarrollo de diabetes mellitus tipo 2 (DM2) y daño cognitivo
- Aunque la DM2 induce un daño cognitivo crónico, las relaciones entre DM2 y cognición son complejas, probablemente bidireccionales ,y aún no esclarecidas
- Evidencia preliminar proveniente de estudios prospectivos, de alta calidad, sugiere que una reducción temprana en la función cognitiva precede la DM2 y la obesidad
- Presentamos la primera evidencia científica, a partir de modelos bayesianos de mediación, que muestra que la inteligencia (fluida) reducida es mediadora de la asociación entre expresión monocitaria de la forma activa (fosforilada) de JNK (inflamación) y riesgo para DM2
- Dicha evidencia se explica porque el aumento en la forma activa de JNK y la merma en la inteligencia fueron asociados, en este estudio, a un estilo de vida no saludable

Introducción

JNK (c-Jun NH₂-terminal Kinase), miembro de la vía inflamatoria de la familia de las MAPKs (*Mitogen-Activated Protein Kinases*), la cual regula la respuesta de la inmunidad innata y la diferenciación y crecimiento celular, constituye una vía fisiopatológica central para el desarrollo tanto de obesidad y DM2 como de neuroinflamación y daño cognitivo [1]. La activación de JNK en neuronas hipotalámicas que expresan AgRP (*Agouti-Related Peptide*) induce resistencia a la leptina conduciendo a hiperfagia central, ganancia de peso corporal y adiposidad aumentada [2]. En línea, modelos animales murinos con invalidación de JNK están protegidos contra la obesidad [3].

JNK conduce a insulinoresistencia por fosforilación en residuos serina del IRS-1 (substrato del receptor de insulina 1). Diversos factores asociados a DM2, tales como la alimentación rica en grasa saturada, la hiperglucemia, el sedentarismo y los niveles elevados de TNF- α , pueden activar JNK en múltiples tejidos y células incluyendo monocitos, macrófagos, células beta, adipocitos, células endoteliales y células del sistema nervioso central como la microglia. [4]. La hiperactivación de JNK (elevación acentuada de la forma activa, fosforilada, de JNK) está implicada en la patogénesis de la declinación fisiológica de la cognición asociada al envejecimiento, de déficits cognitivos secundarios a neuroinflamación y de la enfermedad de Alzheimer [5], una enfermedad neurodegenerativa asociada a DM2. Aunque la DM2 conduce a un daño cognitivo acumulativo crónico [7], las interrelaciones son complejas, y aún no esclarecidas [6]. Evidencia preliminar a partir de estudios prospectivos, de alta calidad metodológica, sugiere que una merma en la función cognitiva precede a la obesidad y a la DM2 [6,8-10]. En línea, la enfermedad de Alzheimer ha sido asociada a un riesgo aumentado de DM2 [11], sugiriendo que el link entre esta enfermedad neurodegenerativa y la DM2 podría ser bidireccional. En línea, en el

Hisayama Study se observó alterada expresión de genes relacionados a DM2 y obesidad en cerebros de pacientes con enfermedad de Alzheimer, independientemente de anormalidades fisiopatológicas periféricas asociadas a DM2 [12]. Vale destacar que en modelos animales de obesidad, especialmente en ratones con obesidad inducida por dieta rica en grasa, el exceso de peso corporal produce la activación de monocitos periféricos seguido por su migración e infiltración en el sistema nervioso central, y la ulterior secreción de mediadores proinflamatorios causando enfermedad neurológica vía la activación de la microglia, equivalente celular del macrófago (célula derivada del monocito) en el SNC [13,14]. La inhibición de JNK reduce esta neurotoxicidad [15,16]. Por ello, la obesidad puede inducir neuroinflamación a través de vías fisiopatológicas que involucran la activación de JNK y, a su vez, JNK, actuando en el hipotálamo, puede inducir hiperfagia con obesidad. En concordancia ha sido reportado que la cirugía bariátrica, la cual se asocia a una mejora en la cognición [17], redujo la expresión de genes relacionados a la enfermedad de Alzheimer, incluido JNK1 (principal gen de la vía JNK), en células mononucleares de sangre periférica, al igual que disminuyó la expresión de marcadores inflamatorios periféricos [18].

Objetivos

El objetivo del presente estudio es analizar, por medio de modelos de mediación, interrelaciones entre la expresión monocitaria de la forma activa (fosforilada) de JNK (p-JNK), la inteligencia (fluida) evaluada con la forma standard del Test de Matrices Progresivas de Raven (TMPR), una medida standardizada de la habilidad cognitiva global no verbal [19], y el riesgo de DM2 usando el cuestionario FINDRISC (*FINnish Diabetes Risk Score*) [20].

Metodología

Participantes

213 adultos no diabéticos argentinos fueron seleccionados al azar en la División de Diabetología del Hospital de Clínicas “José de San Martín” de la Universidad de Buenos Aires. Los criterios de inclusión consistieron en: hombres (n = 85) y mujeres (no embarazadas, n = 128) adultos argentinos caucásicos, de 18 a 65 años de edad, sin antecedentes patológicos previos, con examen físico y hemograma normales, libres de toda medicación, sin enfermedades psicológicas, con residencia en el área metropolitana de Buenos Aires y con un nivel educativo medio (estudios secundarios completos). La depresión significativa fue excluida en todos los participantes con el Beck Depression Inventory (score < 10 puntos). Este estudio fue desarrollado de acuerdo a la Declaración de Helsinki, y fue aprobado por el Comité de Ética de nuestro hospital. Las características clínicas de la muestra se exhiben en la Tabla 1.

Mediciones clínicas y bioquímicas

Las mediciones antropométricas incluyeron el diámetro de la cintura (DC) y el índice de masa corporal (IMC). Las presiones arteriales sistólica (PAS) y diastólica (PAD) fueron evaluadas dos veces en la posición sentado luego de 10 minutos de reposo por medio de un esfigmomanómetro. Luego de un ayuno nocturno de 12 hs, 20 ml de sangre fueron obtenidos a partir de una vena del antebrazo. La glucemia plasmática de ayuno fue determinada con el método de la hexoquinasa. El hemograma fue medido con el contador hematológico Automated Haematology Analyser Sysmex NE-1000 (Sysmex Corporation, Kobe, Japan). La insulinemia plasmática de ayuno fue cuantificada por electroquimioluminiscencia con un kit comercial (ECLIA, Elecsys Insulin kit, Roche

Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) que exhibe un límite de detección de 0,20 $\mu\text{U/ml}$ (1,39 pmol/l) y coeficientes de variación (CVs) intra e interensayo de 0,7 y 2,6%, respectivamente. El TNF- α plasmático de ayuno fue cuantificado por quimioluminiscencia por medio de un kit comercial (IMMULITE 1000 TNF- α , Siemens Healthcare Diagnostics, Eschborn, Germany), el cual posee una sensibilidad de 1,7 pg/ml y CVs intra e interensayo de 2,6 y 40%, respectivamente. La insulinoresistencia fue estimada con el método HOMA-IR (*Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance*) [21]. El cuestionario FINDRISC (*FINnish Diabetes Risk Score*), el cual comprende 8 items incluyendo edad, IMC, DC, dieta, actividad física, historia de hiperglucemia, uso de medicación antihipertensiva, e historia familiar de diabetes, fue empleado para evaluar el riesgo de DM2 a 10 años. El score del FINDRISC tiene un rango de 0–26 puntos, y establece 5 categorías de riesgo: bajo (<7 puntos), levemente elevado (≥ 7 puntos), moderado (≥ 12 puntos), alto (≥ 15 puntos) y muy alto (≥ 20 puntos) [20]. La forma corta (versión 8) de IPAQ (*International Physical Activity Questionnaire*) was applied to estimated the prevalence of sedentary behaviour (<150 minutes/week of moderate-to-vigorous physical activity) [22]. Los participantes fueron interrogados sobre el número de horas diarias de sueño la semana previa al ingreso al estudio.

Inteligencia fluida

El test de Matrices Progresivas de Raven (TMPR) es un test standardizado no verbal, relativamente independiente de influencias culturales, diseñado para medir el razonamiento abstracto y la inteligencia general (inteligencia fluida) [19]. El TMPR está estrechamente correlacionado con el coeficiente intelectual (IQ). A diferencia de otros tests de inteligencia, el TMPR es independiente del lenguaje, y de habilidades como la escritura y la lectura.

TMPR es considerado el test más cercano al factor “g” de inteligencia, una noción usada para describir el componente común subyacente de diferentes habilidades intelectuales [23]. TMPR (forma standard) está compuesto de 5 sets de 12 matrices de figuras geométricas con una parte ausente (un total de 60 problemas multiple-choice), listados en orden de dificultad. Los participantes eligen el ítem, a partir de las opciones, que mejor coincide con la patente visual de la matriz. El número total de ítems, correctamente contestados, es usado como una estimación de la habilidad cognitiva global del participante (score del TMPR) [19]. El score mínimo es 0 y el máximo es 60. TMPR fue administrado a cada participante por el mismo investigador con el fin de investigador sesgo alguno.

Expresión monocitaria de JNK

PBMCs (*Peripheral Blood Mononuclear Cells*) fueron aisladas a partir de sangre entera fresca por medio de la técnica de centrifugación por gradiente de densidad con Ficoll/Hypaque 1.077 g/ml (Sigma Chemical Co, Munich, Germany). Las células purificadas PBMCs (1×10^6 /pocillo) fueron cultivadas en el medio RPMI 1640 en microplacas de 96 pocillos, y ulteriormente fueron seleccionados monocitos por adherencia plástica a 37°C [24]. La medición de la forma activa (fosforilada) de JNK (p-JNK) fue realizada por duplicado usando el kit comercial InCell-ELISA (FACE JNK kit, Active Motif, Carlsbad, CA), de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Los monocitos fueron incubados 12 hs, durante la noche, con un anticuerpo anti-p-JNK (Thr183/Tyr185). Luego, el nivel basal de p-JNK level fue medido a una longitud de onda de 450 nm, y con una longitud de onda de referencia de 655 nm con el lector de ELISA iMark Microplate Absorbance Reader (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA), y sus valores, expresados en

unidades de longitud de onda (OD), fueron ajustados por el número de células cuantificado por tinción con violeta de genciana.

Análisis estadísticos

El valor de cada variable continua es expresado en promedio \pm DS (desviación standard). Variables con distribución no gaussiana fueron transformadas por conversión logarítmica. Análisis de regresión, ajustados por numerosas variables, fueron realizados para explorar relaciones entre p-JNK, score del TMPR y variables dependientes, incluyendo el cuestionario FINDRISC y la glucemia plasmática de ayuno. Puesto que p-JNK puede afectar La función cognitiva [5], modelos de mediación fueron desarrollados, usando el test de Sobel [25], para detectar si una fracción de la influencia de la expresión monocitaria de p-JNK sobre el riesgo de DM2 es mediada por la inteligencia fluida (score del TMPR). La mediación hace referencia a las relaciones entre tres variables: la variable independiente (VI), la potencial variable mediadora (VM) y la variable dependiente (VD). La mediación ocurre cuando: a) la VI (expresión monocitaria de p-JNK) afecta significativamente la VM (score del TMPR), b) la VI afecta significativamente la VD (cuestionario FINDRISC y glucemia de ayuno) en ausencia de la VM, c) la VM tiene un efecto significativo sobre la VD, y d) el efecto de la VI sobre la VD se reduce con la inclusión de la VM al modelo [26]. Los análisis estadísticos fueron efectuados con el software SPSS 14.0 (SPSS Inc., Chicago, IL), con la excepción de los análisis de mediación que fueron realizados con el Computing Sobel Test of Mediation for Baron & Kenny Approach (Jason Beckstead, University of South Florida; personal.health.usf.edu/beckste/Sobel%20Test.xls) [26].

Resultados

213 adultos no diabéticos (128 mujeres y 85 hombres), con las siguientes características clínicas, fueron incluidos (Tabla 1): edad = $38,5 \pm DS 13,1$ años, RGR (recuento de glóbulos rojos) = $4,66 \pm 0,41 10^{12}/L$, RGB (recuento de glóbulos blancos) = $7,27 \pm 1,95 10^9/L$, monocitos = $0,58 \pm 0,16 10^9/L$, IMC (índice de masa corporal) = $29,07 \pm 6,85 \text{ kg/m}^2$, DC (diámetro de cintura) = $97,87 \pm 15,97$ cm, glucemia de ayuno = $98,13 \pm 11,44$ mg/dl, insulinemia de ayuno = $12,21 \pm 8,45 \mu\text{IU/ml}$, HOMA-IR = $1,60 \pm 1,06$, FINDRISC = $9,65 \pm 4,80$ puntos, FINDRISC ≥ 15 puntos = 15,49%, obesidad = 41,78%, glucemia de ayuno ≥ 100 mg/dl = 29,58%, historia familiar de diabetes = 48,36%, sedentarismo = 66,66%, consumo diario de vegetales/frutas = 60,56%, horas de sueño = $6,86 \pm 0,95$ hs/día, tabaquismo actual = 17,37%, CT (colesterol total) = $191,79 \pm 42,66$ mg/dl, LDL-C = $114,79 \pm 35,15$ mg/dl, TG (triglicéridos) = $116,50 \pm 59,30$ mg/dl, HDL-C = $54,61 \pm 15,74$ mg/dl, PAS = $125,3 \pm 16,4$ mmHg, PAD = $78,6 \pm 11,1$ mmHg, expresión monocitaria de p-JNK = $1,406 \pm 0,984$ od (unidades de densidad óptica, od), score del TMPR = $43,3 \pm 10,0$ puntos, tiempo de respuesta del TMPR = $44,2 \pm 17,8$ min, y TNF- α = $7,14 \pm 1,89$ pg/ml. Las variables con distribución no gaussiana (expresión monocitaria de p-JNK y tiempo de respuesta del TMPR) fueron transformadas por conversión logarítmica previo a análisis paramétricos.

p-JNK, TMPR y obesidad

Análisis de regresión ajustados por sexo y edad mostraron que log-p-JNK fue asociada positivamente con el IMC ($3,502 \pm ES$ (error standard) $0,557$, $P < 0,0001$) y con el DC ($7,072 \pm 1,283$, $P < 0,0001$). El score del TMPR fue inversamente asociado al IMC ($-0,147$

$\pm 0,052$, $P = 0,0056$) y al DC ($-0,341 \pm 0,118$, $P = 0,0044$). Log-tiempo de respuesta del TMPR fue positivamente asociado al IMC ($9,860 \pm 2,785$, $P = 0,0005$) y al DC ($20,512 \pm 6,303$, $P = 0,0013$).

Participantes con expresión monocitaria de p-JNK por encima de la mediana (1,132 od) exhibieron mayor prevalencia de obesidad ($\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$; 63,21 vs. 20,56%, $X^2 = 38,814$, OR [odds ratio] = 6,64 [IC (intervalo de confianza) 95% 3,45-12,88], $P < 0,0001$, Tabla 2) y obesidad central (DC >102 y >88 cm en hombres y mujeres, respectivamente; 80,19 vs. 43,93%, $X^2 = 29,713$, OR = 5,17 [IC 95% 2,69-10,00], $P < 0,0001$, Tabla 2). Hubo una tendencia significativa a través de tercillos de log-p-JNK para el IMC (tercilo inferior: $24,71 \pm 4,55$ vs. tercilo medio: $29,52 \pm 2,34$ vs. tercilo superior: $32,94 \pm 7,06 \text{ kg/m}^2$, $P < 0,0001$, Tabla 1) y para el DC (tercilo inferior: $87,65 \pm 12,66$ vs. tercilo medio: $100,25 \pm 13,92$ vs. tercilo superior: $105,63 \pm 15,61 \text{ kg/m}^2$, $P < 0,0001$, Tabla 1).

Participantes con score del TMPR por debajo de la mediana (44 puntos) exhibieron mayor prevalencia de obesidad (56,84 vs. 29,66%, $X^2 = 15,985$, OR = 3,12 [IC 95% 1,71-5,74], $P < 0,0001$, Tabla 2) y obesidad central (81,05 vs. 46,61%, $X^2 = 26,492$, OR = 4,90 [IC 95% 2,51-9,60], $P < 0,0001$, Tabla 2). Hubo una tendencia significativa a través de tercillos de score del TMPR para el IMC (tercilo inferior: $31,49 \pm 7,05$ vs. tercilo medio: $29,52 \pm 6,21$ vs. tercilo superior: $25,56 \pm 5,92 \text{ kg/m}^2$, $P < 0,0001$) y para el DC (tercilo inferior: $103,65 \pm 15,97$ vs. tercilo medio: $99,81 \pm 13,00$ vs. tercilo superior: $88,44 \pm 15,20$ cm, $P < 0,0001$). Asimismo, hubo una tendencia significativa a través de tercillos de log-tiempo de respuesta del TMPR para el IMC (tercilo inferior: $26,42 \pm 5,53$ vs. tercilo medio: $29,50 \pm 8,13$ vs. tercilo superior: $31,59 \pm 5,81 \text{ kg/m}^2$, $P < 0,0001$) y para el DC (tercilo inferior: $92,27 \pm 13,85$ vs. tercilo medio: $97,81 \pm 18,23$ vs. tercilo superior: $104,07 \pm 13,59$ cm, $P < 0,0001$).

p-JNK, TMPR e insulinoresistencia

Análisis de regresión ajustados por sexo y edad mostraron que log-p-JNK fue asociado positivamente con insulinemia de ayuno ($4,239 \pm 0,709$, $P < 0,0001$) y con el HOMA-IR ($0,549 \pm 0,088$, $P < 0,0001$).

El score del TMPR no fue asociado con la insulinemia ($-0,051 \pm 0,067$, $P = 0,45$) ni con el HOMA-IR ($-0,008 \pm 0,008$, $P = 0,46$), mientras que log-tiempo de respuesta del TMPR fue positivamente asociado con la insulinemia ($12,850 \pm 3,550$, $P = 0,0004$) y con el HOMA-IR ($1,697 \pm 0,443$, $P = 0,0002$).

Análisis de chi cuadrado mostraron que aquellos con expresión de p-JNK por encima de la mediana (1,132 od) tenían mayor prevalencia de insulinoresistencia (HOMA-IR >percentilo75: 1.92; 37,74 vs. 12,15%, $X^2 = 18,65$, OR = 4,38 [IC 95% 2,07-9,40], $P < 0,0001$, Tabla 2). Hubo una tendencia significativa a través de tercio de log-p-JNK para la insulinemia (tercio inferior: $7,78 \pm 4,24$ vs. tercio medio: $12,81 \pm 7,57$ vs. tercio superior: $16,00 \pm 10,25$ $\mu\text{IU/ml}$, $P < 0,0001$, Tabla 1) y para el HOMA-IR (tercio inferior: $1,01 \pm 0,53$ vs. tercio medio: $1,67 \pm 0,96$ vs. tercio superior: $2,11 \pm 1,26$, $P < 0,0001$, Tabla 1).

Aunque individuos con score del TMPR por debajo de la mediana (44 puntos) no exhibieron mayor prevalencia insulinoresistencia (29,47 vs. 21,19%, $X^2 = 1,93$, OR = 1,56 [IC 95% 0,80-3,04], $P = 0,16$, Tabla 2), aquellos con scores del TMPR dentro del tercio inferior (≤ 41 puntos) mostraron mayor prevalencia de insulinoresistencia (32,89 vs. 20,44%, $X^2 = 4,058$, OR = 1,91 [IC 95% 0,97-3,77], $P = 0,044$, Tabla 2). Hubo una tendencia significativa a través de tercios de score del TMPR para la insulinemia (tercio inferior: $14,47 \pm 10,38$ vs. tercio medio: $11,53 \pm 6,48$ vs. tercio superior: $10,26 \pm 5,81$ $\mu\text{IU/ml}$, $P = 0,0093$) y para el HOMA-IR (tercio inferior: $1,90 \pm 1,29$ vs. tercio medio:

1,52 ± 0,83 vs. tercio superior: 1,33 ± 0,92 cm, $P = 0,0050$). Asimismo, hubo una tendencia significativa a través de tercios de log-tiempo de respuesta del TMPR para la insulinemia (tercio inferior: 9,87 ± 6,07 vs. tercio medio: 12,11 ± 8,91 vs. tercio superior: 14,88 ± 9,51 $\mu\text{IU/ml}$, $P = 0,0014$) y para el HOMA-IR (tercio inferior: 1,28 ± 0,76 vs. tercio medio: 1,59 ± 1,08 vs. tercio superior: 1,96 ± 1,22, $P = 0,0004$).

p-JNK, TMPR y cuestionario FINDRISC

Análisis de regresión ajustados por sexo y edad mostraron que log-p-JNK ($2,093 \pm 0,355$, $P < 0,0001$) y que log-tiempo de respuesta del TMPR ($4,422 \pm 1,696$, $P < 0,0001$) fueron asociados positivamente al cuestionario FINDRISC, mientras que el score del TMPR fue inversamente asociado al FINDRISC ($-0,116 \pm 0,033$, $P = 0,0005$). Asimismo, análisis de regresión ajustados por sexo y edad mostraron que log-p-JNK ($5,190 \pm 0,885$, $P < 0,0001$) y log-tiempo de respuesta del TMPR ($16,430 \pm 4,296$, $P = 0,0002$) fueron positivamente asociados con la glucemia de ayuno, mientras que el score del TMPR fue inversamente asociado con la glucemia de ayuno ($-0,268 \pm 0,082$, $P = 0,0013$).

Las personas con niveles de expresión monocitaria de p-JNK por encima de la mediana (1,132 od) mostraron mayor prevalencia de FINDRISC ≥ 15 puntos (21,54 vs. 6,02%, $X^2 = 19,23$, OR = 7,32 [IC 95% 2,54-12,73], $P < 0,0001$, Tabla 2). Se observó una tendencia significativa a través de tercios de p-JNK para FINDRISC (tercio inferior: 6,25 ± 4,04 vs. tercio medio: 9,96 ± 4,18 vs. tercio superior: 12,82 ± 3,66 puntos, $P < 0,0001$, Tabla 1).

Las personas con score del TMPR por debajo de la mediana (44 puntos) mostraron mayor prevalencia de FINDRISC ≥ 15 puntos (25,26 vs. 7,63%, $X^2 = 12,50$, OR = 4,09 [IC 95% 1,69-10,14], $P = 0,0004$, Tabla 2). Se observó una tendencia significativa a través de tercios de score del TMPR para el FINDRISC (tercio inferior: 12,30 ± 3,84 vs. tercio

medio: $10,15 \pm 4,29$ vs. tercilo superior: $5,94 \pm 3,98$ puntos, $P < 0,0001$). Asimismo, se observó una tendencia significativa a través de tercillos de log-tiempo de respuesta del TMPR para el FINDRISC (tercilo inferior: $7,75 \pm 4,18$ vs. tercilo medio: $10,30 \pm 5,17$ vs. tercilo superior: $11,24 \pm 4,33$ puntos, $P < 0,0001$).

p-JNK, TMPR y glucemia de ayuno

Las personas con una expresión monocitaria de p-JNK por encima de la mediana (1,132 od) exhibieron mayor prevalencia de glucemias de ayuno ≥ 100 mg/dl (52,83 vs. 4,67%, $X^2 = 64,01$, OR = 24,65 [IC 95% 8,75-74,90], $P < 0,0001$, Tabla 2). Se observó una tendencia significativa a través de tercillos de log-p-JNK para la glucemia de ayuno (tercilo inferior: $91,47 \pm 6,81$ vs. tercilo medio: $96,50 \pm 10,30$ vs. tercilo superior: $106,29 \pm 11,28$ mg/dl, $P < 0,0001$, Tabla 1).

Las personas con score del TMPR por debajo de la mediana (44 puntos) exhibieron mayor prevalencia de glucemia de ayuno ≥ 100 mg/dl (46,32 vs. 16,10%, $X^2 = 23,07$, OR = 4,50 [IC 95% 2,28-8,94], $P < 0,0001$, Tabla 2). Se observó una tendencia significativa a través de tercillos de score del TMPR para la glucemia de ayuno (tercilo inferior: $102,01 \pm 12,76$ vs. tercilo medio: $99,33 \pm 10,93$ vs. tercilo superior: $91,92 \pm 7,07$ mg/dl, $P < 0,0001$).

Las personas con tiempo de respuesta del TMPR por encima de la mediana (43 min) tenían mayor prevalencia de glucemia de ayuno ≥ 100 mg/dl (47,57 vs. 12,72%, $X^2 = 31,008$, OR = 6,22 [IC 95% 3,00-13,06], $P < 0,0001$). Se observó una tendencia significativa a través de tercillos de log-tiempo de respuesta del TMPR para la glucemia de ayuno (tercilo inferior: $92,14 \pm 7,84$ vs. tercilo medio: $100,21 \pm 12,35$ vs. tercilo superior: $102,76 \pm 11,17$ mg/dl, $P < 0,0001$).

p-JNK, TNF- α y TMPR

Análisis de regresión ajustados por sexo y edad mostraron que log-p-JNK fue inversamente asociado al score del TMPR ($2,666 \pm 0,765$, $P = 0,0006$), y fue positivamente asociado a la concentración plasmática de TNF- α ($0,713 \pm 0,158$, $P < 0,0001$) y al log-tiempo de respuesta del TMPR ($0,057 \pm 0,014$, $P < 0,0001$).

Modelos de mediación para la asociación entre p-JNK y riesgo de diabetes tipo 2

El test de Sobel demostró que la asociación entre la expresión monocitaria de log-p-JNK y el riesgo de DM2, evaluado con el cuestionario FINDRISC, fue parcialmente mediada por el score del TMPR, en análisis de regresión ajustados por sexo, edad IMC, HOMA-IR, recuento de monocitos, log-tiempo de respuesta del TMPR, tabaquismo actual, sedentarismo, historia familiar de diabetes, presión arterial, triglicéridos y colesterol HDL ($Z = 2,711 \pm SE 0,093$, $P = 0,0007$, porción de mediación = 29,7%, Tabla 3, Figura 1).

El test de Sobel demostró que la asociación entre la expresión monocitaria de log-p-JNK y la glucemia de ayuno fue parcialmente mediada por el score del TMPR, en análisis de regresión ajustados por sexo, edad, IMC, insulinemia, recuento de monocitos, log-tiempo de respuesta del TMPR, tabaquismo actual, sedentarismo, historia familiar de diabetes, presión arterial, triglicéridos y colesterol HDL ($Z = 2,058 \pm SE 0,012$, $P = 0,040$, porción de mediación = 28,8%, Tabla 3, Figura 2).

p-JNK, TMPR y estilo de vida no saludable

Las personas con expresión monocitaria de p-JNK en el cuartilo superior ($\geq 2,065$ od) exhibieron mayor prevalencia de sedentarismo (78,8 vs. 63,4%, $X^2 = 4,276$, OR = 2,16 [IC 95% 0,98-4,84], $P = 0,039$). En personas con expresión de p-JNK por encima del percentilo

90 ($\geq 2,600$ od), la prevalencia de la ingesta diaria de vegetales/frutas, un componente del cuestionario FINDRISC, fue menor (40,9 vs. 62,8%, $X^2 = 3,968$, OR = 2,44 [IC 95% 0,92-6,58], $P = 0,046$). También, la ingesta diaria de vegetales/futas fue menor en individuos con score del TMPR por debajo de la mediana (44 puntos; 32,2 vs. 48,2%, $X^2 = 5,796$, OR = 2,44 [IC 95% 0,92-6,58], $P = 0,046$). La prevalencia de tabaquismo actual no fue diferente de acuerdo a diversos valores de corte para el score del TMPR ($P > 0,05$), pero fue mayor en aquéllos con elevada expresión monocitaria de p-JNK (tercilo inferior: 10,98% vs. tercilo medio: 9,52% vs. tercilo superior: 26,97%, $P = 0,0073$). El tiempo de sueño fue reducido en aquellas personas con valores elevados de p-JNK (tercilo inferior: $7,44 \pm 0,98$ vs. tercilo medio: $6,73 \pm 0,78$ vs. tercilo superior: $6,42 \pm 0,77$ horas, $P < 0,0001$) y en aquellas personas con reducido score del TMPR (tercilo inferior: $6,58 \pm 0,80$ vs. tercilo medio: $6,68 \pm 0,82$ vs. tercilo superior: $7,21 \pm 1,13$ horas, $P = 0,0004$). Se observó una tendencia significativa a través de tercillos de log-tiempo de respuesta del TMPR para las horas de sueño diario (tercilo inferior: $7,23 \pm 0,90$ vs. tercilo medio: $6,70 \pm 0,98$ vs. tercilo superior: $6,60 \pm 0,84$ horas, $P < 0,0001$). El log-tiempo de respuesta del TMPR no fue asociado a tabaquismo, sedentarismo ni a la ingesta de vegetales/frutas ($P < 0,05$).

Discusión

En el presente estudio observamos que la elevación en la expresión monocitaria de p-JNK y una reducida inteligencia fluida (score del TMPR) fueron asociados a múltiples factores de riesgo para DM2 (cuestionario FINDRISC, glucemia de ayuno, HOMA-IR, IMC y DC), en adultos no diabéticos (Tablas 1 a 3, y Fig. 1-2). Vale destacar que una merma en la inteligencia fluida (TMPR) medió las asociaciones de la expresión monocitaria de p-JNK con el cuestionario FINDRISC (porción de mediación: 29,7%) y con la glucemia de ayuno

(porción de mediación: 28,8%), en modelos de mediación ajustados por múltiples variables (Tabla 3, y Figuras 1-2).

Nuestros hallazgos están apoyados por múltiples estudios experimentales y observacionales. La invalidación de JNK, en macrófagos (derivado celular de los monocitos), protegió contra la insulinoresistencia inducida por dieta rica en grasa en ratones [27]. La neuroinflamación inducida por JNK indujo obesidad en modelos murinos [28]. La delección del principal gen de la vía de JNK (JNK1), a nivel cerebral, redujo la ingesta alimentaria, incrementó el gasto energético y aumento la actividad física en ratones [29]. Simar et al. observaron mayores niveles de p-JNK en monocitos humanos de personas obesas, en comparación con personas de peso normal, que fueron asociados con fosforilación serina en IRS-1 y reducción de los niveles de GLUT4 [30]. Leite et al. observaron que la obesidad central fue asociada con un perfil monocitario inflamatorio caracterizado por la expresión de CD16 [31], el cual ha sido correlacionado con la activación de JNK [32]. Subramanian et al. reportaron, en personas con obesidad e insulinoresistencia, mayor expresión monocitaria de TREM-1 (*triggering receptor expressed on myeloid cells-1*) [33], el cual es en parte inducido por JNK [34].

Estudios longitudinales han detectado que una merma en la inteligencia conduce a obesidad. La inteligencia de adolescentes suecos fue inversamente asociada a cambios en el IMC durante 22 años de seguimiento [8]. El National Child Development Study identificó que la inteligencia infantil predice, en la adultez, el IMC y la obesidad en UK [9]. El Dunedin Multidisciplinary Health and Development Study observó que coeficientes intelectuales reducidos, en niños pequeños de Nueva Zelanda, se asociaron al desarrollo ulterior de obesidad [10]. Fue sugerido que niños con elevada inteligencia poseen comportamientos alimenticios más saludables [35,36]. En línea, niños con padres con elevados coeficientes

intelectuales tiene perfiles de comportamiento alimentario más saludables [37]. En nuestro estudio, las personas con reducida inteligencia fluida (score del TMPR) mostraron privación en las horas de sueño y una menor ingesta (diaria) de vegetales/frutas. También hallamos que las personas con elevada expresión monocitaria de p-JNK, una vía clave en neuroinflamación [15,16], tenían una elevada prevalencia de estilo de vida no saludable (sedentarismo, tabaquismo actual, privación de sueño, y un consumo no diario de vegetales/frutas). Por ello, postulamos la hipótesis que la mediación de la (reducida) inteligencia fluida sobre el riesgo de DM2 fue debido a la asociación entre merma de la inteligencia fluida y estilo de vida no saludable, el cual es un factor de riesgo para obesidad y DM2. En línea, un score del TMPR reducido y una expresión monocitaria de p-JNK elevada fueron estrechamente asociados a obesidad general y central, en nuestro estudio.

Un estudio israelí identificó que una reducida función cognitiva durante la adolescencia tardía fue independientemente asociada a prediabetes y diabetes futura [38,39]. Asimismo, se observó una interacción entre pobre función cognitiva en la infancia y riesgo genético para DM2 en la adultez [6].

Vale subrayar que la inducción experimental de la enfermedad de Alzheimer puede conducir a diabetes [40]. Un modelo experimental de Alzheimer se asoció a empeoramiento de alteraciones metabólicas asociadas a DM2 como la esteatosis hepática [41]. En un modelo murino de obesidad, la expresión de Bace1 (*beta-site amyloid precursor protein (APP)-cleaving enzyme 1*), enzima que cataliza la producción de beta amiloide, indujo resistencia a la leptina, obesidad e insulinoresistencia [42]. La expresión de MAPKs, incluyendo JNK, en linfocitos de sangre periférica, fue positiva e inversamente asociada a la duración de la enfermedad de Alzheimer y a la habilidad cognitiva, respectivamente [43]. La activación cerebral de JNK, gatillada por la acumulación intracelular del beta amiloide,

conduce a apoptosis neuronal vía la respuesta inflamatoria microglial, tanto en modelos animales de Alzheimer como en pacientes [44,45]. El estrés psicológico, factor de riesgo para DM2, incrementó la migración de monocitos desde la sangre periférica hacia el cerebro, y elevó la producción de citoquinas inflamatorias secretadas por macrófagos y microglías del SNC [46]. Asimismo, el estrés psicológico agudo incrementó JNK en el hipocampo, y condujo a déficits en la memoria y el aprendizaje [47]. Verschoor et al. [48] reportaron que la expresión monocitaria elevada del marcador inflamatorio CX3CR1, un receptor del factor quimiotáctico fractalquina, estrechamente asociado con la activación y migración monocitaria en Alzheimer, e inducido por JNK [49], ha sido asociado con demencia en ancianos debilitados.

Conclusiones

En conclusión, en adultos no diabéticos, presentamos la primera evidencia científica, a partir de modelos bayesianos de mediación, que muestra que la inteligencia (fluida) reducida es mediadora (porcentaje de mediación: ~30%) de la asociación entre expresión monocitaria de la forma activa (fosforilada) de JNK (inflamación) y riesgo para DM2 evaluado por el cuestionario FINDRISC y la glucemia de ayuno. Dicha evidencia se explica porque el aumento en la expresión de la forma activa de JNK y la merma en la inteligencia fueron asociados, en el presente estudio, a un estilo de vida no saludable (reducción en las horas de sueño, tabaquismo, sedentarismo, menor ingesta diaria de vegetales/frutas). Adicionalmente, la elevación en la expresión monocitaria de p-JNK y una reducida inteligencia fluida fueron asociadas a numerosos factores de riesgo para DM2 como obesidad e insulinoresistencia. Asimismo, la expresión monocitaria de p-JNK, vía clave para el desarrollo de neuroinflamación y daño cognitivo, se asoció inversamente con la

inteligencia fluida. Estos hallazgos preliminares requieren confirmación en estudios prospectivos. Estrategias tempranas para mejorar la capacidad cognitiva y disminuir la inflamación podrían reducir sus consecuencias clínicas metabólicas.

Agradecimientos

Este estudio recibió un subsidio de la Fundación Cruz del Sur (Argentina), y otro subsidio de la Fundación Alberto J. Roemmers (Argentina).

Conflictos de interés

Ninguno.

Referencias

1. Bogoyevitch MA, Ngoei KR, Zhao TT, Yeap YY, Ng DC. c-Jun N-terminal kinase (JNK) signaling: recent advances and challenges. *Biochim Biophys Acta*. 2010;1804:463-475.
2. Tsaousidou E, Paeger L, Belgardt BF et al. Distinct roles for JNK and IKK activation in Agouti-Related Peptide neurons in the development of obesity and insulin resistance. *Cell Rep*. 2014;9:1495-1506.
3. Hirosumi J, Tuncman G, Chang L, et al. A central role for JNK in obesity and insulin resistance. *Nature*. 2002;420:333-336.
4. Hotamisligil GS. Role of endoplasmic reticulum stress and c-Jun NH2-terminal kinase pathways in inflammation and origin of obesity and diabetes. *Diabetes*. 2005;54(Suppl 2):S73-S78.
5. Scip A, Tozzi A, Abaza A, et al. c-Jun N-terminal kinase has a key role in Alzheimer disease synaptic dysfunction in vivo. *Cell Death Dis*. 2014;5:e1019.

6. Möttus R, Luciano M, Sarr JM, McCarthy MI, Deary IJ. Childhood cognitive ability moderates later-life manifestation of type 2 diabetes genetic risk. *Health Psychol.* 2015;34:915-919.
7. Cukierman-Yaffe T. Diabetes, dysglycemia and cognitive dysfunction. *Diabetes Metab Res Rev.* 2014;30:341-345.
8. Rosenblad A, Nilsson G, Leppert J. Intelligence level in late adolescence is inversely associated with BMI change during 22 years of follow-up: results from the WICTORY study. *Eur J Epidemiol.* 2012;27:647-655.
9. Belsky DW, Caspi A, Goldman-Mellor S, et al. Is obesity associated with a decline in intelligence quotient during the first half of the life course? *Am J Epidemiol.* 2013;178:1461-1468.
10. Kanazawa S. Intelligence and obesity: which way does the causal direction go? *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2014;21:339-344.
11. Janson J, Laedtke T, Parisi JE, O'Brien P, Petersen RC, Butler PC. Increased risk of type 2 diabetes in Alzheimer disease. *Diabetes.* 2004;53:474-481.
12. Hokama M, Oka S, Leon J, et al. Altered expression of diabetes-related genes in Alzheimer's disease brains: the Hisayama study. *Cereb Cortex.* 2014;24:2476-2488.
13. White KA, Hutton SR, Weimer JM, Sheridan PA. Diet-induced obesity prolongs neuroinflammation and recruits CCR2(+) monocytes to the brain following herpes simplex virus (HSV)-1 latency in mice. *Brain Behav Immun.* 2016;57:68-78.
14. Stranahan AM, Hao S, Dey A, Yu X, Baban B. Blood-brain barrier breakdown promotes macrophage infiltration and cognitive impairment in leptin receptor-deficient mice. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2016;36:2108-2121.

15. Little JP, Madeira JM, Klegeris A. The saturated fatty acid palmitate induces human monocytic cell toxicity toward neuronal cells: exploring a possible link between obesity-related metabolic impairments and neuroinflammation. *J Alzheimers Dis.* 2012;30(Suppl 2):S179-S183.
16. Currò M, Risitano R, Ferlazzo N, et al. Citrus bergamia juice extract attenuates β -amyloid-induced pro-inflammatory activation of THP-1 cells through MAPK and AP-1 pathways. *Sci Rep.* 2016;6:20809.
17. Ghanim H, Monte SV, Sia CL, et al. Reduction in inflammation and the expression of amyloid precursor protein and other proteins related to Alzheimer's disease following gastric bypass surgery. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97:E1197-E1201.
18. Alosco ML, Spitznagel MB, Strain G, et al. Improved memory function two years after bariatric surgery. *Obesity (Silver Spring).* 2014;22:32-38.
19. Raven JC, Court JH, Raven J. Raven manual: Section 3 The standard progressive matrices. Oxford: Oxford Psychologists Press; 1992.
20. Schwarz PE, Li J, Reimann M, et al. The Finnish Diabetes Risk Score is associated with insulin resistance and progression towards type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94:920-926.
21. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia.* 1985;28:412-419.
22. Lee PH, Macfarlane DJ, Lam TH, Stewart SM. Validity of the International Physical Activity Questionnaire Short Form (IPAQ-SF): a systematic review. *Int J Behav Nutr Phys Act.* 2011;8:115.

23. Gray JR, Thompson PM. Neurobiology of intelligence: science and ethics. *Nat Rev Neurosci*. 2004;5:471-482.
24. Johnson WD Jr, Mei B, Cohn Z. The separation, long-term cultivation, and maturation of the human monocyte. *J Exp Med*. 1977;146:1613–1626.
25. Sobel ME. Asymptotic confidence intervals for indirect effects in structural equations models. *Sociol Methodol*. 1982;13:290-312.
26. Baron RM, Kenny DA. The moderator-mediator variable distinction in social psychological research: conceptual, strategic, and statistical considerations. *J Pers Soc Psychol*. 1985;51:1173-1182.
27. Han MS, Jung DY, Morel C, et al. JNK expression by macrophages promotes obesity-induced insulin resistance and inflammation. *Science*. 2013;339:218-222.
28. Unger EK, Piper ML, Olofsson LE, Xu AW. Functional role of c-Jun-N-terminal kinase in feeding regulation. *Endocrinology*. 2010;151:671-682.
29. Belgardt BF, Mauer J, Wunderlich FT, et al. Hypothalamic and pituitary c-Jun N-terminal kinase 1 signaling coordinately regulates glucose metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107:6028–6033.
30. Simar D, Jacques A, Caillaud C. Heat shock proteins induction reduces stress kinases activation, potentially improving insulin signalling in monocytes from obese subjects. *Cell Stress Chaperones*. 2012;17:615–621.

31. Leite F, Leite Â, Santos A, et al. Predictors of subclinical inflammatory obesity: plasma levels of leptin, very low-density lipoprotein cholesterol and CD14 expression of CD16+ monocytes. *Obes Facts*. 2017;10:308-322.
32. Ruiz-Alcaraz AJ, Tapia-Abellán A, Fernández-Fernández MD, et al. A novel CD14(high) CD16(high) subset of peritoneal macrophages from cirrhotic patients is associated to an increased response to LPS. *Mol Immunol*. 2016;72:28-36.
33. Subramanian S, Pallati PK, Rai V, Sharma P, Agrawal DK, Nandipati KC. Increased expression of triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in the population with obesity and insulin resistance. *Obesity (Silver Spring)*. 2017;25:527-538.
34. Rao VH, Rai V, Stoupa S, Subramanian S, Agrawal DK. Tumor necrosis factor- α regulates triggering receptor expressed on myeloid cells-1-dependent matrix metalloproteinases in the carotid plaques of symptomatic patients with carotid stenosis. *Atherosclerosis*. 2016;248:160-169.
35. Corley J, Starr JM, McNeil G, Deary IJ. Do dietary patterns influence cognitive function in old age? *Int Psychogeriatr*. 2013;25:1393-1407.
36. Wyckoff EP, Evans BC, Manasse SM, Butryn ML, Forman EM. Executive functioning and dietary intake: Neurocognitive correlates of fruit, vegetable, and saturated fat intake in adults with obesity. *Appetite* 2017;111:79-85.
37. Whitley E, Gale CR, Deary IJ, Kivimaki M, Singh-Manoux A, Batty GD. Influence of maternal and paternal IQ on offspring health and health behaviours: evidence for some trans-generational associations using the 1958 British birth cohort study. *Eur Psychiatry*. 2013;28:219-224.

38. Cukierman-Yaffe T, Kasher-Meron M, Fruchter E, et al. Cognitive performance at late adolescence and the risk for impaired fasting glucose among young adults. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100:4409-4416.
39. Twig G, Gluzman I, Tirosh A, et al. Cognitive function and the risk for diabetes among young men. *Diabetes Care.* 2014;37:2982-2988.
40. Clarke JR, Lyra E Silva NM, et al. Alzheimer-associated A β oligomers impact in central nervous system to induce peripheral metabolic deregulation. *EMBO Mol Med.* 2015;7:190-210.
41. Shie FS, Shiao YJ, Yeh CW, et al. Obesity and hepatic steatosis are associated with elevated serum amyloid beta in metabolically stressed APP^{swe}/PS1^{dE9} mice. *PLoS One.* 2015;10:e0134531.
42. Meakin PJ, Jalicy SM, Montagut G, et al. Bace1-dependent amyloid processing regulates hypothalamic leptin sensitivity in obese mice. *Sci Rep.* 2018;8:55.
43. Wang S, Zhang C, Sheng X, Zhang X, Wang B, Zhang G. Peripheral expression of MAPK pathways in Alzheimer's and Parkinson's diseases. *J Clin Neurosci.* 2014;21:810-814.
44. Haeusgen W, Boehm R, Zhao Y, Herdegen T, Waetzig V. Specific activities of individual c-Jun N-terminal kinases in the brain. *Neuroscience.* 2009;161:951-959.
45. Shoji M, Iwakami N, Takeuchi S, et al. JNK activation is associated with intracellular β -amyloid accumulation. *Mol Brain Res.* 2000;85:221–233.
46. Wohleb ES, McKim DB, Shea DT, et al. Re-establishment of anxiety in stress-sensitized mice is caused by monocyte trafficking from the spleen to the brain. *Biol Psychiatry.* 2014;75:970-981.

47. Sherrin T, Blank T, Hippel C, Rayner M, Davis RJ, Todorovic C. Hippocampal c-Jun N-terminal Kinases serve as negative regulators of associative learning. *J Neurosci*. 2010; 30:13348-13361.
48. Verschoor CP, Johnstone J, Millar J, et al. Alterations to the frequency and function of peripheral blood monocytes and associations with chronic disease in the advanced-age, frail elderly. *PLoS One*. 2014;9:e104522.
49. Ruze A, Zhao Y, Li H, et al. Low shear stress upregulates the expression of fractalkine through the activation of mitogen-activated protein kinases in endothelial cells. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2018;29:361-368.

Tabla 1. Características clínicas de la muestra de acuerdo a terciles de p-JNK (promedio \pm DS)

	Muestra total	p-JNK Tercilo Inferior	p-JNK Tercilo Medio	p-JNK Tercilo Superior	P
N	213	71	70	72	-
¹ p-JNK (od)	1,406 \pm 0,984	0,463 \pm 0,199	1,185 \pm 0,280	2,550 \pm 0,714	<0,0001
Edad (años)	38,5 \pm 13,1	31,09 \pm 13,21	37,63 \pm 12,05	46,76 \pm 8,72	<0,0001
Hombres (n, %)	85 (39,91)	21 (29,58)	31 (44,29)	33 (47,14)	0,0004
RGR (10 ¹² /L)	4,66 \pm 0,41	4,63 \pm 0,42	4,66 \pm 0,42	4,70 \pm 0,40	0,68
RGB (10 ⁹ /L)	7,27 \pm 1,95	6,72 \pm 1,63	7,69 \pm 2,02	7,51 \pm 2,10	0,010
Neutrófilos (10 ⁹ /L)	4,12 \pm 1,52	3,86 \pm 1,34	4,35 \pm 1,58	4,20 \pm 1,64	0,18
Linfocitos (10 ⁹ /L)	2,22 \pm 0,66	2,11 \pm 0,64	2,34 \pm 0,63	2,24 \pm 0,71	0,21
Monocitos (10 ⁹ /L)	0,58 \pm 0,16	0,57 \pm 0,15	0,59 \pm 0,18	0,58 \pm 0,16	0,72
Plaquetas (10 ⁹ /L)	248,9 \pm	240,4 \pm	254,6 \pm	254,9 \pm	0,54

	74,4	64,2	96,3	61,5	
IMC (kg/m ²)	29,07 ± 6,85	24,71 ± 4,55	29,52 ± 2,34	32,94 ± 7,06	<0,0001
DC (cm)	97,87 ± 15,97	87,65 ± 12,66	100,25 ± 13,92	105,63 ± 15,61	<0,0001
Obesidad (n, %)	89 (41,78)	7 (9,86)	27 (38,57)	55 (76,39)	<0,0001
PAS (mm Hg)	125,33 ± 16,39	118,37 ± 13,53	128,03 ± 15,51	129,57 ± 17,73	<0,0001
PAD (mm Hg)	78,58 ± 11,08	73,34 ± 9,03	80,97 ± 10,22	81,47 ± 11,97	<0,0001
Tabaquismo actual (n, %)	37 (17,37)	9 (10,98)	4 (9,52)	24 (26,97)	0,0073
TG (mg/dl)	116,50 ± 59,30	90,53 ± 38,75	118,66 ± 64,93	139,65 ± 60,67	<0,0001
CT (mg/dl)	191,79 ± 42,66	172,36 ± 31,50	190,65 ± 38,72	216,39 ± 46,35	<0,0001
HDL-C (mg/dl)	54,61 ± 15,74	57,18 ± 12,82	54,20 ± 18,84	52,47 ± 14,87	0,20
LDL-C (mg/dl)	114,79 ± 35,15	98,07 ± 26,73	114,94 ± 29,54	134,76 ± 39,28	<0,0001
Glucemia de ayuno (mg/dl)	98,13 ± 11,44	91,47 ± 6,81	96,50 ± 10,30	106,29 ± 11,28	<0,0001

Insulinemia de ayuno (μ IU/ml)	12,21 \pm 8,45	7,78 \pm 4,24	12,81 \pm 7,57	16,00 \pm 10,25	<0,0001
HOMA-IR	1,60 \pm 1,06	1,01 \pm 0,53	1,67 \pm 0,96	2,11 \pm 1,26	<0,0001
FINDRISC (puntos)	9,65 \pm 4,80	6,25 \pm 4,04	9,96 \pm 4,18	12,82 \pm 3,66	<0,0001
FINDRISC \geq 15 puntos (n, %)	33 (15,49)	0 (0,00)	10 (14,29)	23 (31,94)	<0,0001
Glucemia de ayuno \geq 100 mg/dl (n, %)	63 (29,58)	3 (4,23)	14 (20,00)	46 (63,89)	<0,0001
Historia familiar de diabetes (n, %)	103 (48,36)	30 (42,25)	38 (54,29)	36 (50,00)	0,35
Sedentarismo (n, %)	142 (66,66)	45 (63,38)	46 (65,71)	51 (70,83)	0,63
Horas de sueño (horas/día)	6,86 \pm 0,95	7,44 \pm 0,98	6,73 \pm 0,78	6,42 \pm 0,77	<0,0001
Consumo diario de vegetales/frutas (n, %)	129 (60,56)	48 (67,61)	42 (60,00)	39 (54,17)	0,63
Score del TMPR (puntos)	43,34 \pm 9,97	48,32 \pm 9,58	44,94 \pm 6,33	38,88 \pm 9,81	<0,0001
¹ Tiempo de respuesta del TMPR (min)	44.16 \pm 17.80	36.08 \pm 15.99	42.61 \pm 14.26	53.67 \pm 18.35	<0.0001
TNF- α (pg/ml)	7,14 \pm	6,28 \pm	7,24 \pm	7,90 \pm	<0,0001

	1,89	1,52	2,7	1,71	
--	------	------	-----	------	--

CT: colesterol total; DC: diámetro de cintura; DS: desviación standard; FINDRISC: cuestionario *FINnish Diabetes Risk SCore*; HOMA-IR: *homeostasis model assessment for insulin resistance*; IMC: índice de masa corporal; HDL-C: colesterol HDL; LDL-C: colesterol LDL; PAD: presión arterial diastólica; PAS: presión arterial sistólica; OD: unidades de densidad óptica; p-JNK: forma fosforilada de *c-Jun N-terminal Kinase*; RGB: recuento de glóbulos blancos; RGR: recuento de glóbulos rojos; TG: triglicéridos; TMPR: Test de Matrices Progresivas de Raven (forma standard); TNF- α : factor de necrosis tumoral alfa

¹previo a análisis paramétricos, p-JNK y tiempo de respuesta del TMPR fueron transformados por conversión logarítmica. Para una visualización fácil, esta tabla muestra los valores originales de p-JNK y de tiempo de respuesta del TMPR

Tabla 2. Análisis de chi cuadrado para p-JNK, TMPR y variables dependientes

	FINDRISC ≥15(+)	FINDRISC ≥15 (-)	X ²	OR	IC 95%	P
N	33	180				
¹ p-JNK ≤ p50	5	78		1 (Ref.)		
¹ p-JNK >p50	28	102	19,23	7,32	2,54- 12,73	<0,0001
² Score del TMPR ≥ p50	9	109		1 (Ref.)		
² Score del TMPR < p50	24	71	12,50	4,09	1,69- 10,14	0,0004
	Glucemia ≥100 mg/dl (+)	Glucemia ≥100 mg/dl (-)	X ²	OR	IC 95%	P
N	63	150				
¹ p-JNK ≤ p50	5	102		1 (Ref.)		
¹ p-JNK >p50	58	48	64,01	24,65	8,75- 74,90	<0,0001
² Score del TMPR ≥ p50	19	99		1 (Ref.)		
² Score del TMPR < p50	44	51	23,07	4,50	2,28- 8,94	<0,0001
	³ HOMA-IR	³ HOMA-IR	X ²	OR	IC 95%	P

	>p75 (+)	>p75 (-)				
N	53	160				
¹ p-JNK ≤p50	13	94		1 (Ref.)		
¹ p-JNK >p50	40	66	18,65	4,38	2,07- 9,40	<0,0001
² Score del TMPR ≥ p50	25	93		1 (Ref.)		
² Score del TMPR < p50	28	67	1,93	1,56	0,80- 3,04	0,16
⁴ Score del TMPR ≥Tercilo Inferior	28	109		1 (Ref.)		
⁴ Score del TMPR <Tercilo Inferior	25	51	4,06	1,91	0,97- 3,77	0,044
	⁵ Obesidad (+)	⁵ Obesidad (-)	X ²	OR	IC 95%	P
N	89	124				
¹ p-JNK ≤p50	22	85		1 (Ref.)		
¹ p-JNK >p50	67	39	38,81	6,64	3,45- 12,88	<0,0001
² Score del TMPR ≥p50	35	83		1 (Ref.)		

² Score del TMPR <p50	54	41	15,99	3,12	1,71- 5,74	<0,0001
	⁶ Obesidad Central (+)	⁶ Obesidad Central (-)	X ²	OR	IC 95%	P
N	132	81				
¹ p-JNK ≤p50	47	60		1 (Ref.)		
¹ p-JNK >p50	85	21	29,71	5,17	2,69- 10,00	<0,0001
² Score del TMPR ≥p50	55	63		1 (Ref.)		
² Score del TMPR <p50	77	18	26,49	4,90	2,51- 9,66	<0,0001

¹Percentilo 50 para p-JNK = 1,132 od

²Percentilo 50 para score del TMPR = 44 puntos

³Percentilo 75 para HOMA-IR = 1,92

⁴Tercilo inferior para score del TMPR = 41 puntos

⁵Obesidad: índice de masa corporal ≥30 kg/m²

⁶Obesidad central: diámetro de cintura >102 (hombres) cm, y >88 (mujeres) cm

FINDRISC: cuestionario *FINnish Diabetes Risk SCore*; HOMA-IR: *homeostasis assessment for insulin resistance*; IC: intervalos de confianza; OR: *odds ratio*; p-JNK: forma fosforilada de *c-Jun N-terminal Kinase*; TMPR: Test (forma standard) de Matrices Progresivas de Raven

Tabla 3. Análisis de mediación de p-JNK (variable independiente), score del TMPR (variable mediadora) y variables dependientes (cuestionario FINDRISC y glucemia de ayuno) basados en análisis de regresión ajustados por múltiples variables

Modelo de mediación basado en análisis de regresión				
Variable	Vía C	Vía A	Vía B	Vía C'
Dependiente:	$\beta \pm ES$	$\beta \pm ES$	$\beta \pm ES$	$\beta \pm ES$
FINDRISC	P	P	P	P
Variable	1,134	-5,360	-0,047	0,797
Mediadora:	\pm	\pm	\pm	\pm
Score del	0,252	1,427	0,012	0,255
TMPR	<0,0001	0,0002	0,0002	0,0021
Test de Sobel	Z = 2,711	ES = 0,093	P = <0,0001	EI = 29,7%
Variable	Vía C	Vía A	Vía B	Vía C'
Dependiente:	$\beta \pm ES$	$\beta \pm ES$	$\beta \pm ES$	$\beta \pm ES$
Glucemia de ayuno	P	P	P	P
Variable	0,170	-5,100	-0,005	0,121
Mediadora:	\pm	\pm	\pm	\pm
Score del	0,051	1,406	0,002	0,053
TMPR	0,001	0,0004	0,045	0,024
Test de Sobel	Z = 2,058	ES = 0,012	P = 0,040	EI = 28,8%

*Análisis de regresión ajustados por sexo, edad, IMC, historia familiar de diabetes, sedentarismo, tabaquismo actual, recuento de monocitos, tiempo de respuesta del TMPR (log), HOMA-IR (reemplazado por insulinemia de ayuno en el modelo de mediación para la variable dependiente glucemia de ayuno), presión arterial sistólica y diastólica, triglicéridos, colesterol HDL.

¹Vía C: el efecto de la variable independiente sobre la variable dependiente (efecto total)

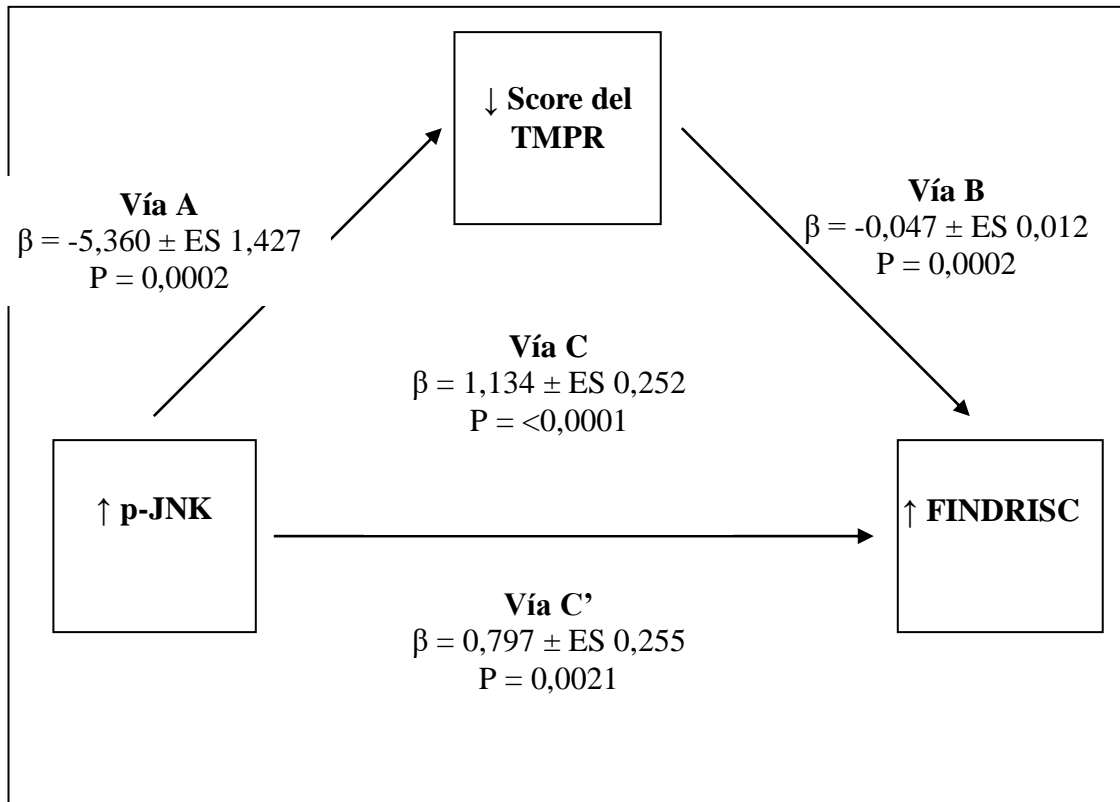
²Vía A: el efecto de la variable independiente sobre la variable mediadora

³Vía B: el efecto de la variable mediadora sobre la variable dependiente controlado por la variable independiente

⁴Vía C': el efecto de la variable independiente sobre la variable dependiente controlado por la variable mediadora (efecto directo)

β : coeficiente de regresión; EI: % del efecto indirecto; ES: error standard; FINDRISC: cuestionario *FINnish Diabetes Risk SCore*; HOMA-IR: *Homeostasis model assessment for insulin resistance*; IMC: índice de masa corporal; p-JNK: *c-Jun N-terminal Kinase* (forma fosforilada); TMPR: Test de Matrices Progresivas de Raven (forma standard)

Figura 1. Modelo de mediación entre p-JNK¹, score del TMPR y cuestionario FINDRISC basado en análisis regresión ajustados por múltiples variables²



¹p-JNK fue transformado por conversión logarítmica previo a análisis paramétricos

²Modelo de mediación ajustado por sexo, edad, IMC, HOMA-IR, recuento de monocitos, tiempo de respuesta de MPR, tabaquismo actual, sedentarismo, historia familiar de diabetes, presión arterial, triglicéridos y colesterol HDL

Test de Sobel: $Z = 2,711 \pm \text{ES } 0,093$, $P = 0,0007$, porción de mediación = 29,7%

Vía C: el efecto de la variable independiente sobre la variable dependiente (efecto total)

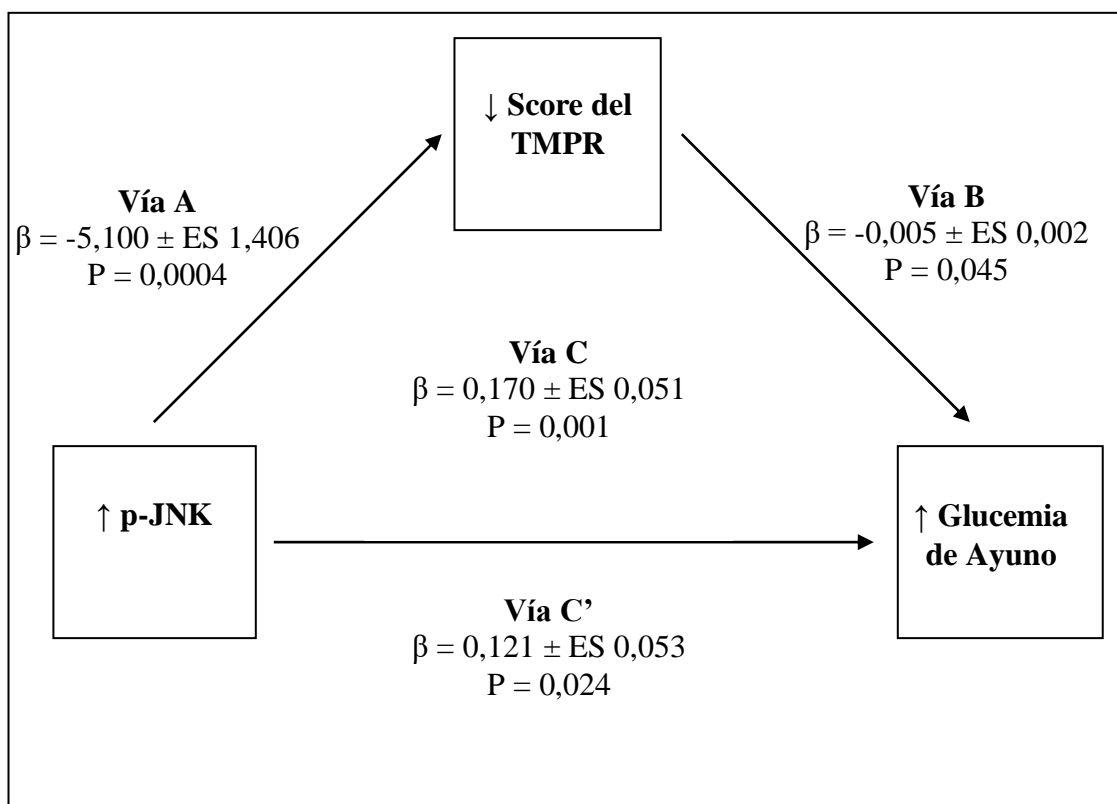
Vía A: el efecto de la variable independiente sobre la variable mediadora

Vía C': el efecto de la variable independiente sobre la variable dependiente controlado por la variable mediadora (efecto directo)

Vía B: el efecto de la variable mediadora sobre la variable dependiente controlado por la variable independiente

β : coeficiente de regresión; ES: error standard; FINDRISC: cuestionario *FINnish Diabetes Risk SCore*; p-JNK: *c-Jun N-terminal Kinase* (forma fosforilada); TMPR: Test de Matrices Progresivas de Raven (forma standard)

Figura 2. Modelo de mediación entre p-JNK¹, score del TMPR y glucemia de ayuno basado en análisis de regresión ajustados por múltiples variables²



¹p-JNK fue transformado por conversión logarítmica previo a análisis paramétricos

²Modelo de mediación ajustado por sexo, edad, IMC, insulinemia de ayuno, recuento de monocitos, tiempo de respuesta de MPR, tabaquismo actual, sedentarismo, historia familiar de diabetes, presión arterial, triglicéridos y colesterol HDL.

Test de Sobel: $Z = 2,058 \pm \text{ES } 0,012$, $P = 0,040$, porción de mediación = 28,8%

¹Vía C: el efecto de la variable independiente sobre la variable dependiente (efecto total)

²Vía A: el efecto de la variable independiente sobre la variable mediadora

³Vía B: el efecto de la variable mediadora sobre la variable dependiente controlado por la variable independiente

⁴Vía C': el efecto de la variable independiente sobre la variable dependiente controlado por la variable mediadora (efecto directo)

β : coeficiente de regresión; ES: error standard; p-JNK: *c-Jun N-terminal Kinase* (forma fosforilada); TMPR: Test de Matrices Progresivas de Raven (forma standard)