

DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA Y EMBRIOLOGÍA HUMANA



UCA

Universidad
de Cádiz

TESIS DOCTORAL

**TRANSPOSICIÓN ILEAL PREDUODENAL (PDIT) EN RATA WISTAR.
IMPLICACIONES FISIOPATOLÓGICAS EN EL METABOLISMO
HIDROCARBONADO EN UN MODELO DE ROEDOR NO DIABÉTICO**

FRANCISCO JAVIER CAMPOS MARTÍNEZ

CÁDIZ, ENERO 2022



D. Gonzalo Martín Pérez Arana y D. Alonso Camacho Ramírez, en calidad de co-directores de la tesis doctoral realizada por D. Francisco Javier Campos Martínez, titulada “TRANSPOSICIÓN ILEAL PREDUODENAL (PDIT) EN RATA WISTAR. IMPLICACIONES FISIOPATOLÓGICAS EN EL METABOLISMO HIDROCARBONADO EN UN MODELO DE ROEDOR NO DIABÉTICO”.

DECLARAN EXPRESAMENTE:

Que los resultados contenidos en dicha tesis doctoral se adecuan en su totalidad a los trabajos de investigación realizados durante el periodo de investigación y desarrollo de la misma, así mismo recogidos en el proyecto de tesis doctoral presentado previamente. Que dichos resultados cumplen los requisitos de objetividad, originalidad, validez y relevancia solicitados para su presentación y defensa como Tesis Doctoral, y que el Doctorando ha cumplido todos los requerimientos formativos durante el desarrollo de la tesis doctoral.

Para que conste a los efectos oportunos lo firmamos en Cádiz, a 11 de enero de 2022.

Fdo.: Gonzalo Martín Pérez Arana

Fdo.: Alonso Camacho Ramírez

A mi hija María
En memoria de mi abuelo Dámaso

AGRADECIMIENTOS

Mi más sincero agradecimiento a mis dos directores de tesis por la oportunidad de este privilegio. Al doctor Gonzalo Pérez Arana, por la dedicación, el trabajo incansable y la orientación y apoyo constantes para ir cumpliendo objetivos hasta la finalización de este trabajo. Y al doctor Alonso Camacho Ramírez, mi maestro y amigo, por la plena confianza depositada en mí desde el principio y su impulso permanente en la consecución de esta meta. Sin olvidar, como director en la sombra, al doctor Arturo Prada Oliveira, por su ánimo e insistencia para que no dejara de escribir esta tesis.

Quisiera mostrar mi gratitud a dos personas imprescindibles en la culminación de este trabajo. Al doctor Joshua Falckenheiner Soria, por su sincera amistad, inmensa ayuda y ejemplo continuo. Y al futuro doctor Jesús Salas Álvarez, mi compañero en este arduo camino, por la gran ayuda y apoyo prestados.

Agredecer la contribución de varias personas fundamentales en la elaboración de esta tesis. A José Bancalero De Los Reyes, por la importante aportación en la maquetación; a Juan Jesús Gallardo Pacheco, por las magníficas ilustraciones quirúrgicas realizadas; y a Paula Trillo Peña, por la inestimable y desinteresada colaboración investigadora. Sin olvidar a los estudiantes de primer curso de Medicina (promoción 2020-2026) adscritos al departamento de Anatomía por su participación en las determinaciones histológicas.

Y como no, gracias de forma particular a mi familia, pilar fundamental en mi vida a pesar de la distancia e indispensable para que este manuscrito viese la luz. A mi madre, María José, por la formación y educación proporcionada y la absoluta confianza en mí y en mis decisiones y elecciones. A mis hermanos, Antonio y Nicolás, por su apoyo incesante y sentir mis logros como propios. Y a mis abuelos, Dámaso y Amalia, por los valores cristianos inculcados que me han forjado como persona y acercado a Dios.

Por supuesto, mostrar mi agradecimiento y mención especial a mi esposa Carmen María, por estar siempre a mi lado. Por los innumerables esfuerzos realizados, tanto materiales como emocionales, la dedicación continua, la infinita paciencia y la perpetua comprensión. Un amor y apoyo incondicional sin el que esta tesis doctoral no hubiera sido posible. Y, finalmente, a mi hija María, por el tiempo prestado de forma inconsciente siempre con una eterna sonrisa.

A todos ellos, muchas gracias.

ÍNDICE

ÍNDICE

ACRÓNIMOS	19
JUSTIFICACIÓN	23
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN	27
1. ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DEL PÁNCREAS. EL METABOLISMO DE LOS HIDRATOS DE CARBONO	29
1.1. Embriología y Anatomía del Páncreas	29
1.1.1.Embriología.....	29
1.1.2.Anatomía.....	30
1.2. Páncreas Endocrino	32
1.2.1.Citoarquitectura del Islote de Langerhans.....	33
1.2.2.Poblaciones Celulares del Páncreas Endocrino.....	35
1.2.2.1. Células Beta.....	35
1.2.2.2. Células Alfa.....	35
1.2.2.3. Células Delta.....	35
1.2.2.4. Células Insulares Menores.....	36
a) Células PP.....	36
b) Células Épsilon.....	36
1.3. Síntesis, Secreción y Acción de la Insulina	36
1.3.1.Síntesis.....	36
1.3.2.Secreción.....	37
1.3.3.Acción.....	38
1.4. Regulación de la Glucemia	40
2. ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DEL TUBO DIGESTIVO. LAS HORMONAS GASTROINTESTINALES	42
2.1. Estómago	42
2.1.1.Embriología.....	42
2.1.2.Anatomía.....	42
2.1.3.Fisiología.....	45
2.1.3.1. Mucosa Gástrica.....	45
2.1.3.2. Péptidos Gástricos.....	46
a) Gastrina.....	46
b) Histamina.....	47

ÍNDICE

c) Somatostatina.....	47
d) Grelina.....	48
2.2. Intestino Delgado.....	51
2.2.1. Embriología.....	51
2.2.2. Anatomía.....	52
2.2.3. Fisiología.....	55
2.2.3.1. Función Digestiva y Absortiva.....	55
2.2.3.2. Función Endocrina. Células Enteroendocrinas.....	56
a) Células L: GLP-1 y PYY.....	56
b) Células K: GIP.....	60
c) Células I: CCK.....	62
3. OBESIDAD.....	64
3.1. Introducción.....	64
3.2. Epidemiología y Fisiopatología.....	65
3.3. Enfermedades Asociadas.....	69
3.3.1. Síndrome Metabólico (SM).....	69
3.3.1.1. Fisiopatología del SM.....	70
3.3.2. Diabetes Mellitus Tipo 2 (DMT2).....	72
3.3.2.1. Fisiopatología de la DMT2.....	73
4. CIRUGÍA BARIÁTRICA.....	78
4.1. Introducción.....	78
4.2. Técnicas de Cirugía Bariátrica.....	80
4.2.1. Técnicas Restrictivas.....	80
4.2.1.1. Banda Gástrica Ajustable Laparoscópica (BGAL).....	80
4.2.1.2. Sleeve Gástrico (SG) / Gastrectomía Vertical (GV).....	81
4.2.2. Técnicas Malabsortivas.....	83
4.2.2.1. Derivación BilioPancreática (DBP).....	83
4.2.2.2. Cruce Duodenal (CD).....	84
4.2.3. Técnicas Mixtas.....	85
4.2.3.1. Bypass Gástrico en Y de Roux (RYGB).....	85
4.2.3.2. MiniBypass Gástrico / Bypass Gástrico de Una Anastomosis (MBG/OAGB).....	87
5. CIRUGÍA BARIÁTRICA Y DIABETES MELLITUS TIPO 2. LA CIRUGÍA METABÓLICA.....	88
5.1. Introducción.....	88
5.2. Cirugía Metabólica Experimental.....	89
5.3. Mecanismos Fisiopatológicos de la Mejora de la DMT2 tras la CM. El Eje Metabólico Enteropancreático.....	92

ÍNDICE

5.3.1. Eje Enteroinsular.....	93
5.3.2. Hormonas Gastrointestinales.....	93
5.3.2.1. Teoría del Intestino Distal.....	95
5.3.2.2. Teoría del Intestino Proximal.....	96
5.3.3. Papel de la Microbiota Intestinal.....	99
5.3.3.1. Microbiota Intestinal y Ácidos Biliares.....	100
5.3.3.2. Microbiota Intestinal y Ácidos Grasos de Cadena Corta.....	102
CAPÍTULO 2. HIPÓTESIS.....	105
1. HIPÓTESIS CONCEPTUAL.....	107
2. HIPÓTESIS OPERATIVAS.....	107
CAPÍTULO 3. OBJETIVOS.....	109
1. OBJETIVO GENERAL.....	111
2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	111
CAPÍTULO 4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	113
1. ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.....	115
2. MATERIALES.....	116
2.1. Relación de Elementos Utilizados en las Cirugías.....	116
2.1.1. Tiempos Pre, Intra y Postquirúrgicos.....	116
2.2. Relación de Elementos Utilizados en las Pruebas Funcionales.....	116
2.2.1. Glucemia Basal.....	116
2.2.2. Test de Tolerancia Oral a la Glucosa (TTOG).....	117
2.3. Relación de Elementos Utilizados en el Estudio Hormonal Sérico.....	117
2.3.1. Determinación Hormonal (GLP-1, PYY y GIP) en Plasma Sanguíneo.....	117
2.4. Relación de Elementos Utilizados en el Estudio Histiofisiológico.....	118
2.4.1. Fijación de Tejidos.....	118
2.4.2. Estudio de los Cambios Histomorfológicos en el Intestino Delgado.....	118
2.4.3. Estudio de la Expresión de GLP-1 en el Intestino Delgado.....	119
2.4.4. Estudio de la Expresión de PYY en el Intestino Delgado.....	119
2.4.5. Estudio de la Expresión de GIP en el Intestino Delgado.....	121
3. MÉTODOS.....	121
3.1. Grupos Experimentales.....	121
3.2. Anestesia y Técnicas Quirúrgicas.....	122
3.2.1. Grupo Quirúrgico PDIT.....	123
3.2.2. Grupo Control Sham.....	129
3.3. Pruebas Funcionales.....	131
3.3.1. Incremento de Peso.....	131
3.3.2. Glucemia Basal.....	131

ÍNDICE

3.3.3. Test de Tolerancia Oral de Glucosa (TTOG)	132
3.4. Estudio Hormonal Plasmático (GLP-1, PYY y GIP)	132
3.5. Sacrificio y Preparación de las Muestras	132
3.6. Determinaciones Histológicas	133
3.6.1. Técnicas Histomorfométricas	133
3.6.1.1. Estudio de los Cambios Estructurales en la Arquitectura Intestinal	133
3.6.1.2. Examen y Análisis de las Muestras	134
3.6.2. Técnicas Inmunohistoquímicas	134
3.6.2.1. Estudio de la Expresión de GLP-1 en el Duodeno, Yeyuno e Íleon	134
3.6.2.2. Estudio de la Expresión de PYY en el Duodeno, Yeyuno e Íleon	135
3.6.2.3. Estudio de la Expresión de GIP en el Duodeno, Yeyuno e Íleon	135
3.6.2.4. Examen y Análisis de las Muestras	136
3.7. Estudio Estadístico	136
CAPÍTULO 5. RESULTADOS	137
1. EVOLUCIÓN DEL PESO TRAS LA CIRUGÍA	139
2. EVALUACIÓN DE LA HOMEOSTASIS DEL METABOLISMO GLUCÍDICO	140
2.1. Monitorización de las Glucemias Basales tras la Cirugía	140
2.2. Test de Tolerancia Oral a la Glucosa (TTOG)	140
3. MEDICIONES HORMONALES (GLP-1, PYY Y GIP) EN PLASMA SANGUÍNEO	142
4. ESTUDIO HISTOMORFOMÉTRICO DEL INTESTINO DELGADO	144
5. ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN TISULAR DE ENTEROHORMONAS EN EL INTESTINO DELGADO	146
6. DISTRIBUCIÓN TOPOGRÁFICA INTRAGRUPO DE LA EXPRESIÓN TISULAR DE ENTEROHORMONAS EN EL INTESTINO DELGADO	148
7. CUADROS RESUMEN	151
CAPÍTULO 6. DISCUSIÓN	153
1. SOBRE EL EFECTO DE LA CIRUGÍA PDIT EN EL PESO	155
2. SOBRE EL EFECTO DE LA CIRUGÍA PDIT EN EL METABOLISMO DE LA GLUCOSA	157
2.1. Sobre la Glucemia Basal	157
2.2. Sobre el Test de Tolerancia Oral a la Glucosa (TTOG)	158
3. SOBRE EL EFECTO DE LA CIRUGÍA PDIT EN LA HISTOMORFOMETRÍA DEL INTESTINO DELGADO	160
4. SOBRE EL EFECTO DE LA CIRUGÍA PDIT EN LOS NIVELES PLASMÁTICOS DE LAS DISTINTAS ENTEROHORMONAS Y SU EXPRESIÓN HISTOLÓGICA EN EL INTESTINO DELGADO	164
4.1. Sobre la Expresión Tisular de GLP-1 y sus Niveles Plasmáticos	164
4.2. Sobre la Expresión Tisular de PYY y sus Niveles Plasmáticos	171
4.3. Sobre la Expresión Tisular de GIP y sus Niveles Plasmáticos	174

ÍNDICE

CAPÍTULO 7. CONCLUSIONES	179
CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA	183
CAPÍTULO 9. ACTIVIDAD CIENTÍFICA	219
1. PUBLICACIONES DURANTE EL DESARROLLO DE LA LÍNEA DE INVESTIGACIÓN DE ESTA TESIS	221
1.1. A novel surgical technique focused on the study of the ileum: The preduodenal ileal transposition. Cirugía y Cirujanos	221
1.2. GLP-1 mediated improvement of the glucose tolerance in the T2DM GK rat model after massive jejunal resection. Annals of Anatomy	231

ACRÓNIMOS

ACRÓNIMOS

PDIT: Transposición Ileal Preduodenal
DMT2: Diabetes Mellitus Tipo 2
SM: Síndrome Metabólico
CB: Cirugía Bariátrica
CM: Cirugía Metabólica
GLP-1: Glucagon Like Peptide-1
PYY: Peptide Tyrosine-Tyrosine
GIP: Gastric Inhibitory Polypeptide
MI: Microbiota Intestinal
UEG: Unión Esofagogastrica
AMS: Arteria Mesentérica Superior
PP: Polipéptido Pancreático
Aa: Aminoácidos
GH: Hormona del Crecimiento
AG: Ácidos Grasos
AGL: Ácidos Grasos Libres
LPL: Lipoproteinlipasa
SNC: Sistema Nervioso Central
HCL: Ácido Clorhídrico
ELC: Células Similares a las Enterocromafines
CCK: Colecistoquinina
GLP-2: Glucagon Like Peptide-2
DDP4: Dipeptidil-peptidasa 4
POMC: Proopiomelanocortina
NPY: Neuropeptido Y
OMS: Organización Mundial de la Salud
IMC: Índice de Masa Corporal
CC: Circunferencia de Cintura
BHE: Barrera Hematoencefálica
TNF: Factor de Necrosis Tumoral
IL: Interleuquina
HTA: Hipertensión Arterial
RI: Resistencia a la Insulina
NO: Óxido Nítrico
BGAL: Banda Gástrica Ajustable
SG: Sleeve Gástrico
DBP: Derivación BilioPancreática
CD: Cruce Duodenal

ACRÓNIMOS

RYGB: Bypass Gástrico en Y de Roux

MGB/OAGB: Minibypass Gástrico / Bypass Gástrico de Una Anastomosis

GK: Goto Kakizaki

IT: Transposición Ileal

RI50: Resección 50% intestino medio

AB: Ácidos Biliares

SCFA: Ácidos Grasos de Cadena Corta

TTOG: Test de Tolerancia Oral a la Glucosa

TTIG: Test de Tolerancia Intraperitoneal de Glucosa

SOG: Sobrecarga Oral de Glucosa

PBS: Tampón Fosfato Salino

DAPI: 4'-6'Diamino-2-Fenil indol

STF: Suero de Ternera Fetal

S: Sham

EEM: Error Estándar de la Media

AUC: Área Bajo la Curva

STZ: Estreptozotocina

g: gramos

Kg: Kilogramos

mg: Miligramos

ml: Mililitros

dl: Decilitros

cm: Centímetro

cc: Centímetro Cúbico

mm²: Milímetro Cuadrado

mmol: Milimol

mmHg: Milímetros de Mercurio

µm: Micrómetro

mg/dl: Miligramo por Decilitro

PV: Peso/Volumen

VV: Volumen/Volumen

JUSTIFICACIÓN

La obesidad y la diabetes mellitus tipo 2 (DMT2), consideradas ambas como dos de los rasgos clínicos definitorios del síndrome metabólico (SM), constituyen dos trastornos crónicos concomitantes en un elevado porcentaje de pacientes. Ambas patologías presentan una prevalencia e incidencia en progresivo aumento, convirtiéndose en una epidemia mundial de salud pública.

La cirugía bariátrica (CB) ha demostrado su eficacia en el control de la obesidad y el SM, incluyendo la DMT2, en muchos casos con resultados superiores a los obtenidos con muchos de los tratamientos médicos. En esta capacidad resolutoria de los procedimientos bariátricos subyacen, no sólo la pérdida de peso generada, sino también los efectos metabólicos derivados de la modificación del tracto gastrointestinal asociada.

Los mecanismos fisiopatológicos responsables del efecto metabólico concomitante a estas cirugías gastrointestinales aún no están completamente definidos. No obstante, dichos mecanismos parecen englobarse dentro de un eje entero-pancreático.

Así pues, la manipulación quirúrgica del tracto gastrointestinal responsable de la alteración del eje entero-pancreático, y la consiguiente modificación de la secreción de determinadas hormonas gastrointestinales con efectos sobre el metabolismo hidrocarbonado son la base de algunas de las hipótesis mayormente aceptadas para explicar el fenómeno.

Dentro de estas destacan algunas como la “teoría del intestino proximal”, (Foregut Theory) que propone el efecto beneficioso de la exclusión del tránsito en el intestino delgado proximal del alimento, con un misterioso candidato mediador, aún por determinar y que vendría a actuar como anti-incretina. O la “teoría del intestino distal” (Hindgut Theory) que propone incrementos en la secreción de Glucagon Like Peptide-1 (GLP-1) en respuesta al tránsito prematuro del alimento a través del íleon. Sin olvidar aquellas que implican la actuación de la microbiota intestinal (MI) en la regulación de las hormonas gastrointestinales.

En este sentido casi todas estas teorías presentan serias lagunas, derivadas de la falta de conocimiento en profundidad de la expresión y de los procesos regulatorios que gobiernan la secreción de estas hormonas en el tracto digestivo. Hasta cierto punto una situación lógica, si tenemos en cuenta la dificultad del abordaje de estos temas en el propio tejido productor. Lo que ha llevado a la publicación de innumerables trabajos en los que se mide y determina de todas las formas posibles los niveles de estas hormonas

gastrointestinales a nivel periférico, en modelos animales y humanos. Pero a una escasa publicación referida a la expresión de estas en el tejido productor y a las consecuencias derivadas de su reordenamiento.

Esto nos lleva a un panorama en el que se construyen con frecuencia teorías que intentan explicar el fenómeno sin una base sólida apoyada en el conocimiento profundo de la regulación y los mecanismos de expresión de este grupo de hormonas.

En este trabajo intentamos ahondar en el estudio de la expresión y regulación de algunas de las hormonas gastrointestinales más importantes como GLP-1, Peptide Tyrosine-Tyrosine (PYY) y Gastric Inhibitory Polypeptide (GIP). No solo a nivel periférico, si no en el propio tejido productor, el tubo digestivo, utilizando un modelo animal sano como es la rata Wistar y una herramienta que nos permite reordenar los distintos segmentos del tubo digestivo para su estudio como es la Transposición Ileal Preduodenal (PDIT).

Teniendo en cuenta lo expuesto y la necesidad existente de profundizar en el conocimiento de la regulación de las hormonas gastrointestinales y de su papel en el fenómeno de resolución de la diabetes tras la realización de CB. Consideramos que este trabajo puede aportar valiosos conocimientos al respecto. Lo que justifica la realización del mismo en su totalidad.

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

Dentro del conjunto de órganos y tejidos implicados en la regulación del metabolismo de los hidratos de carbono nos encontramos con un número considerable de estos. Entre los más importantes y que atañen de una forma más directa al objeto de este estudio encontramos el páncreas, el estómago y el intestino delgado.

1. ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DEL PÁNCREAS. EL METABOLISMO DE LOS HIDRATOS DE CARBONO.

1.1. Embriología y Anatomía del Páncreas

1.1.1. Embriología

El páncreas es un órgano glandular con función endocrina y exocrina situado a nivel retroperitoneal. Su desarrollo embriológico deriva del intestino anterior a partir de dos esbozos separados, dorsal y ventral. Ambos esbozos se originan de las yemas de revestimiento endodérmico del duodeno entre la cuarta y quinta semana de desarrollo (1). Tras un proceso de rotación posterior del duodeno en sentido horario, los primordios entran en contacto y se fusionan hacia la octava semana de embriogénesis. El esbozo ventral forma el proceso uncinado y la parte inferior de la cabeza pancreática, mientras que el resto de la glándula deriva del esbozo dorsal (2) (Figura 1).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

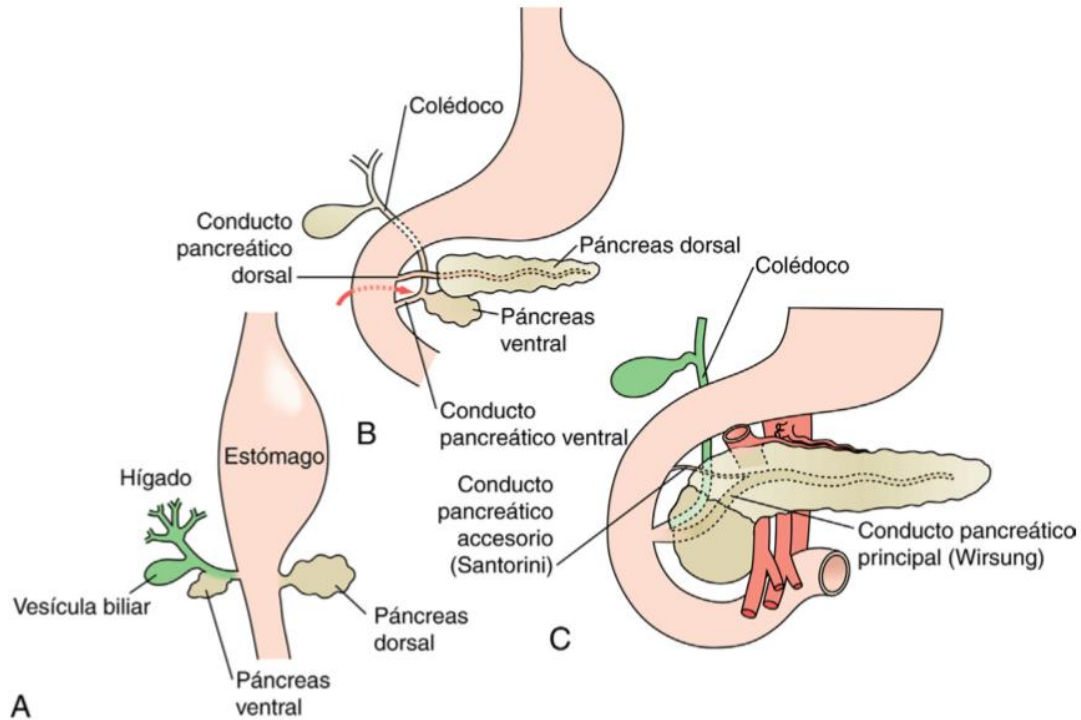


Figura 1. Desarrollo embriológico del páncreas (Dudeja V, Christein JD, Jensen EH et al. Páncreas Exocrino. In: Townsed CM et al, editor. Sabiston Tratado de Cirugía Fundamentos Biológicos de la Práctica Quirúrgica Moderna. 19th ed. Barcelona: Elsevier; 2018. p. 1520–2).

1.1.2. Anatomía

El páncreas se localiza en el cuadrante superior de la cavidad retroperitoneal, a nivel de la primera vértebra lumbar. En el humano, el páncreas presenta una forma aplanada y alargada en la que se diferencian 3 regiones anatómicas: cabeza, cuerpo y cola.

La cabeza del páncreas se posiciona unida a la segunda porción duodenal, en el marco o “C” duodenal, e inmediatamente anterior a la confluencia de las venas renales en la vena cava inferior. A este nivel, el conducto pancreático principal o de Wirsung, tras atravesar longitudinalmente toda la glándula, drena junto al colédoco en la llamada ampolla hepatopancreática de Vater. La zona de transición entre la cabeza y el cuerpo pancreático presenta una íntima relación con los vasos mesentéricos superiores y la vena porta. El cuerpo atraviesa la línea media en situación posterior al cuerpo gástrico. Y la cola se encuentra en contacto con el hilio esplénico (3) (Figura 2).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

El suministro arterial se efectúa por ramas secundarias del tronco celíaco y de la arteria mesentérica superior (AMS). En concreto, por las arterias pancreático-duodenales superior e inferior y sus ramas anteriores y posteriores que conforman el llamado “arco pancreático” y se dirigen a la cabeza pancreática. La irrigación del cuerpo y la cola procede de la arteria esplénica. El sistema venoso drena en el sistema portal a través de la vena mesentérica superior y la vena esplénica (4).

La inervación es fundamentalmente vegetativa. Las fibras simpáticas se originan de los nervios esplácnicos mayor y menor y conforman el plexo celiaco y pancreático. La inervación parasimpática se realiza por el tronco vagal, principalmente posterior (5).

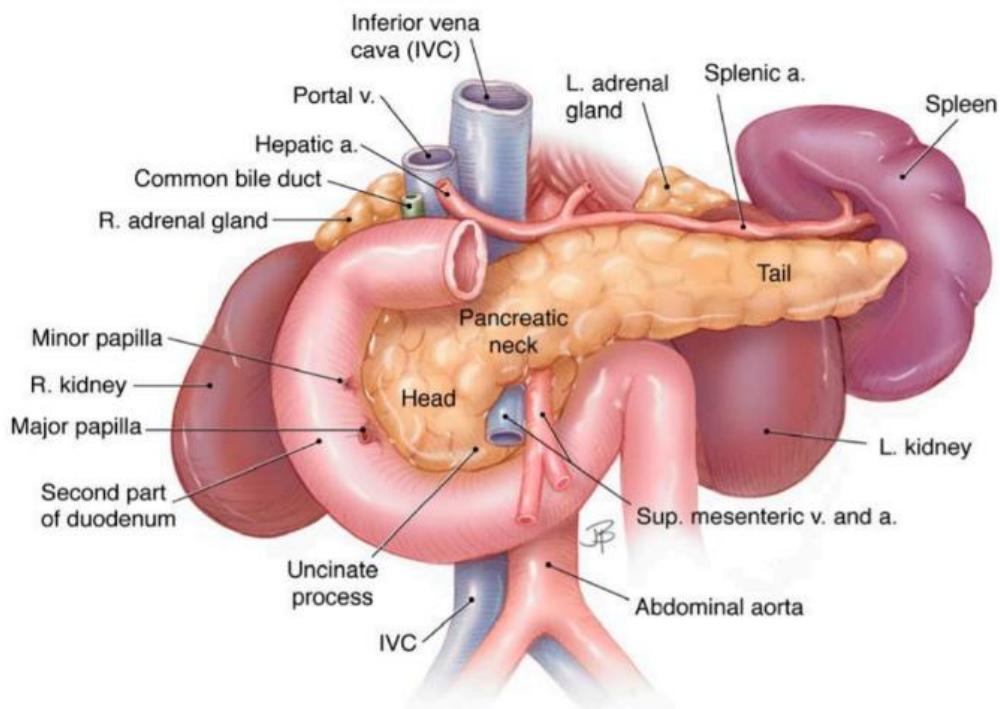


Figura 2. Principales relaciones anatómicas del páncreas con las estructuras adyacentes (Hruban RH, Pitman MB KD. Tumors of the Pancreas. In: AFIP Atlas of Tumor Pathology. 6th ed. Washington D.C.: American Registry of Pathology; 2007).

A diferencia del humano, el páncreas en el roedor presenta una morfología lobulada, aplanada y difusa. Se dispone dentro de una lámina de coalescencia del mesenterio del intestino proximal camuflado por abundante tejido adiposo. Y se extiende

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

horizontalmente desde el marco duodenal hasta el hilio esplénico ocupando la cara posterior gástrica (6). La diferenciación topográfica clásica está menos definida. Sin embargo, al ser lobulado, se subdivide en una porción proximal (lóbulo derecho o duodenal) y otra distal (lóbulo izquierdo o esplénico) al duodeno, homólogos de la cabeza y cola pancreáticas respectivamente; y el cuerpo pancreático o lóbulo gástrico (7,8). Respecto al sistema circulatorio humano, tanto la vascularización arterial como el drenaje venoso no presentan diferencias groseras, siendo ambas circulaciones muy similares (9).

1.2. Páncreas Endocrino

A nivel fisiológico, el páncreas es una glándula con función mixta (endocrina y exocrina) estructuralmente repartida en distintos tipos celulares bien diferenciados.

El componente exocrino se encarga de la síntesis de proenzimas inactivas y su secreción en la luz duodenal para su activación y la posterior digestión de alimentos. Está representado por los acinos y ductos pancreáticos, distribuidos en toda la extensión del órgano. Las células acinares constituyen hasta el 85% de la glándula, mientras que el sistema epitelial ductal aproximadamente el 4% del total.

El páncreas endocrino es responsable fundamentalmente del metabolismo hidrocarbonado, a través de la síntesis y secreción hormonal en los llamados islotes pancreáticos o de Langerhans. Están formados por cinco tipos celulares: beta (β), alfa (α), delta (δ), épsilon (ϵ) y polipéptido pancreático (PP) (10) (Figura 3).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

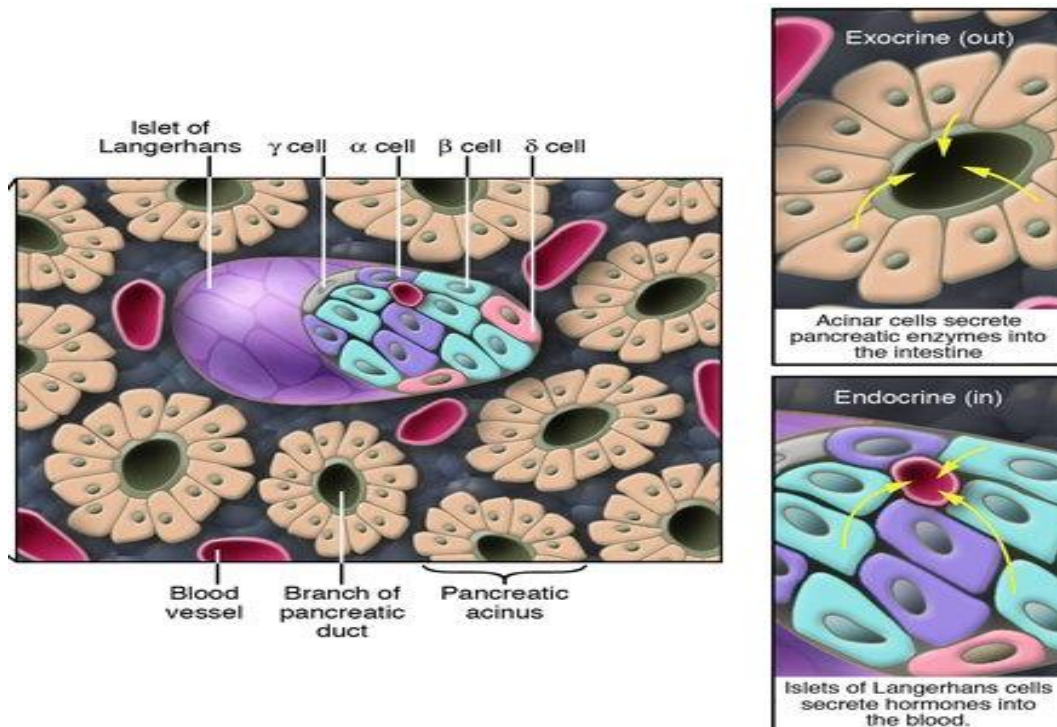


Figura 3. Componente exocrino y endocrino del páncreas (Trucco M. *Regeneration of the pancreatic β cell. J Clin Invest [Internet]. 2005 Jan 3;115(1):5–12. Disponible en: <http://www.jci.org/articles/view/23935>).*

1.2.1. Citoarquitectura del Islote de Langerhans

Los islotes de Langerhans son grupos celulares esféricos distribuidos entre el parénquima exocrino, los cuales constituyen el tejido endocrino del páncreas. Estos agregados multicelulares fueron descritos por primera vez en 1869 por Paul Langerhans. En el páncreas adulto existen entre 1 a 2 millones de islotes, que representan en torno al 1-2% del volumen pancreático total. Cada uno de los islotes está compuesto por entre 1000 a 3000 células y presenta un tamaño de 40 a 500 μm de diámetro (11,12). En el páncreas humano se distribuyen de forma homogénea en las tres porciones glandulares, mientras que en la rata son más abundantes en el lóbulo derecho (13).

En cada islote es posible identificar cinco grupos celulares con distintas características morfológicas y de tinción: beta (β), alfa (α), delta (δ), épsilon (ϵ) y células productoras del PP. La distribución de las distintas poblaciones celulares cambia en el humano respecto a la rata. En el humano estos se disponen de forma aleatoria y homogénea en

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

la estructura del islote. Mientras que en el roedor la células beta conforman el cuerpo central del islote y el resto se distribuyen en la periferia (14,15) (Figura 4).

Cada tipo celular es responsable de la liberación de una determinada hormona e interactúa de forma coordinada con el resto en el control del metabolismo hidrocarbonado. La organización de los islotes pancreáticos en torno a una densa red de capilares permite la secreción de las diferentes hormonas sintetizadas directamente al torrente circulatorio en función de los cambios en la concentración plasmática de glucosa. Además, el sentido de perfusión del islote desde las células beta hacia las células delta posibilita la señalización intercelular necesaria para la regulación paracrina. En este sentido, la importante inervación simpática y parasimpática de las células del islote también será determinante en la regulación hormonal endocrina (16,17).

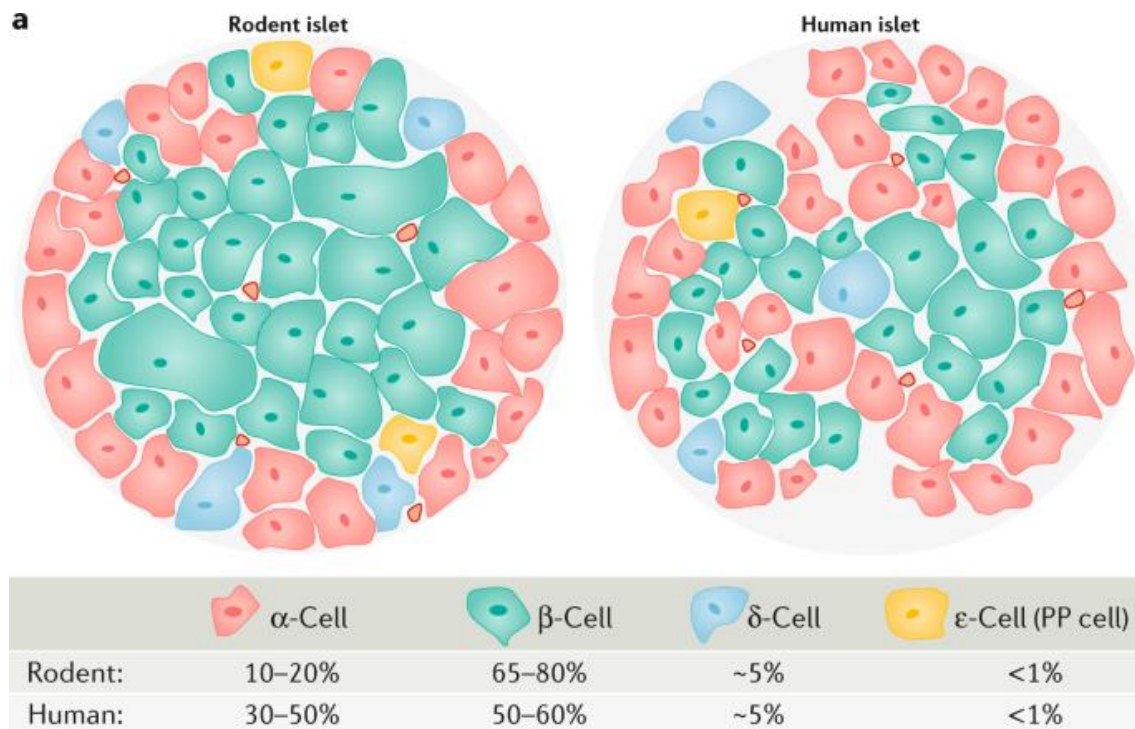


Figura 4. Citoarquitectura del islote de Langerhans. Distribución diferencial de los distintos tipos celulares en el humano y en la rata (Campbell JE, Newgard CB. Mechanisms controlling pancreatic islet cell function in insulin secretion. Nat Rev Mol Cell Biol [Internet]. 2021 Feb 4;22(2):142–58. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/s41580-020-00317-7>).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

1.2.2. Poblaciones Celulares del Páncreas Endocrino

1.2.2.1. Células Beta (β)

Su función primordial es la síntesis y secreción de insulina, la cual presenta un efecto hipoglucemiante al disminuir los niveles de glucosa en sangre. Representan la población celular más abundante del islote: aproximadamente el 60-75% del total de células insulares en el humano y hasta el 80% en la rata (18). Mientras que en el humano presentan una distribución homogénea, en el roedor se localizan en su porción central (19).

Las células beta interactúan de forma homotípica mediante “gap junctions”, lo que permite una respuesta sincronizada al estímulo glucémico plasmático. Este tipo de asociación directa se produce hasta en el 70% de los islotes pancreáticos de roedor, mientras que en el humano el contacto directo entre células beta tiene lugar en aproximadamente el 30% (12,20).

1.2.2.2. Células Alfa (α)

Presentan una distribución irregular y representan en torno al 40% de las células del islote en humanos. En el páncreas del roedor suponen el 15-20% del total celular y presentan una localización periférica. Tanto en islotes humanos como en roedores, más del 90% de las conexiones paracrina de las células alfa son heterotípicas, siendo la mayoría con células beta, principalmente en el páncreas humano (21,22).

Las células alfa secretan glucagón, hormona contrareguladora de la insulina en el mantenimiento homeostático de la glucosa. De esta forma, el glucagón aumenta la concentración de glucosa en sangre al estimular la glucogenólisis y la gluconeogénesis hepática. Además, en el tejido adiposo parece favorecer el catabolismo de grasa al promover la lipólisis de triglicéridos y la β -oxidación de ácidos grasos (23,24).

1.2.2.3. Células Delta (δ)

Tanto en humanos como en roedores se localizan en la periferia del islote, constituyendo entre el 5-10% de la población celular (25). Se encargan de la secreción de

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

somatostatina, la cual ejerce un control paracrino de tipo inhibitorio sobre la secreción de insulina y glucagón por parte de las células beta y alfa respectivamente. Aunque su efecto inhibitorio no solo se limita a nivel local, sino que también actúa a nivel gastrointestinal al suprimir la secreción y motilidad gástrica, y del SNC al inhibir la liberación de hormona del crecimiento (GH) (26).

1.2.2.4. Células Insulares Menores

- a) Células PP: se disponen en la periferia de los islotes y son más frecuentes en aquellos localizados en la porción duodenal, aunque no representan más del 1% de la población endocrina (27). Producen el polipéptido pancreático (PP), que actúa de manera paracrina al inhibir la secreción de enzimas pancreáticas exocrinas, así como sobre la motilidad gástrica y de la vesícula biliar (28).
- b) Células Épsilon (ϵ): presentan una localización periférica en el islote y se distribuyen de forma homogénea, pero en número muy reducido (1%). Son responsables exclusivamente de la secreción de grelina pancreática. Durante la etapa embrionaria constituyen una subpoblación prominente, existiendo una mayor densidad de células productoras de grelina a nivel pancreático que gástrico, invirtiéndose tras el nacimiento (29,30).

1.3. Síntesis, Secreción y Acción de la Insulina

1.3.1. Síntesis

La insulina es la principal hormona secretada por el páncreas endocrino, y su función más importante es la disminución de los niveles sanguíneos de glucosa. Fue aislada por Banting y Best por primera vez en 1922, convirtiéndose en la principal hormona involucrada en el control de la homeostasis glucídica. Es una hormona de naturaleza proteica y estructura globular sintetizada por las células beta de los islotes de Langerhans. Está formada por dos cadenas polipeptídicas: una cadena A de 21 aminoácidos (Aa) y una cadena B de 30 Aa, unidas entre sí por dos enlaces disulfuro. Su síntesis tiene lugar a partir de una molécula precursora llamada preproinsulina, que se desdobra proteolíticamente en el retículo endoplásmico para formar proinsulina. La proinsulina es transportada al aparato de Golgi donde se escinde por acción de

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

endopeptidasas PC1/3 y PC2 en péptido C residual e insulina madura, los cuáles son almacenados en gránulos secretores. Finalmente, tanto la insulina como el péptido C se secretan en cantidades equimolares directamente a sangre periférica mediante exocitosis (31–33).

1.3.2. Secreción

La secreción de insulina es directamente proporcional a la concentración de glucosa en sangre, siendo el incremento de la glucemia el principal factor en la regulación de su secreción (34). La glucosa extracelular penetra al citosol de la célula beta a través de transportadores específicos GLUT-2 predominantes en humanos y roedores (35), aunque los transportadores GLUT1 y GLUT3 pudieran ser transportadores de gran relevancia en humanos (36). Una vez en el interior celular, la glucoquinasa fosforila la glucosa y la convierte en glucosa-6-fosfato, que es metabolizada a piruvato mediante la glicólisis. El piruvato en la célula beta es mayoritariamente metabolizado por vía aeróbica, activando el ciclo de Krebs con el consiguiente incremento de NADH y FADH₂. Estos últimos permiten la síntesis de ATP al transferir electrones para la fosforilación oxidativa.

El incremento de la razón ATP/ADP inhibe los canales de potasio sensibles al ATP (K-ATP), con la consiguiente despolarización de la membrana plasmática. Esta despolarización de membrana activa canales de calcio dependientes de voltaje, permitiendo la entrada de calcio extracelular en la célula. El aumento del calcio citosólico es la señal que desencadena la secreción de insulina al medio extracelular mediada por exocitosis (37–39) (Figura 5).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

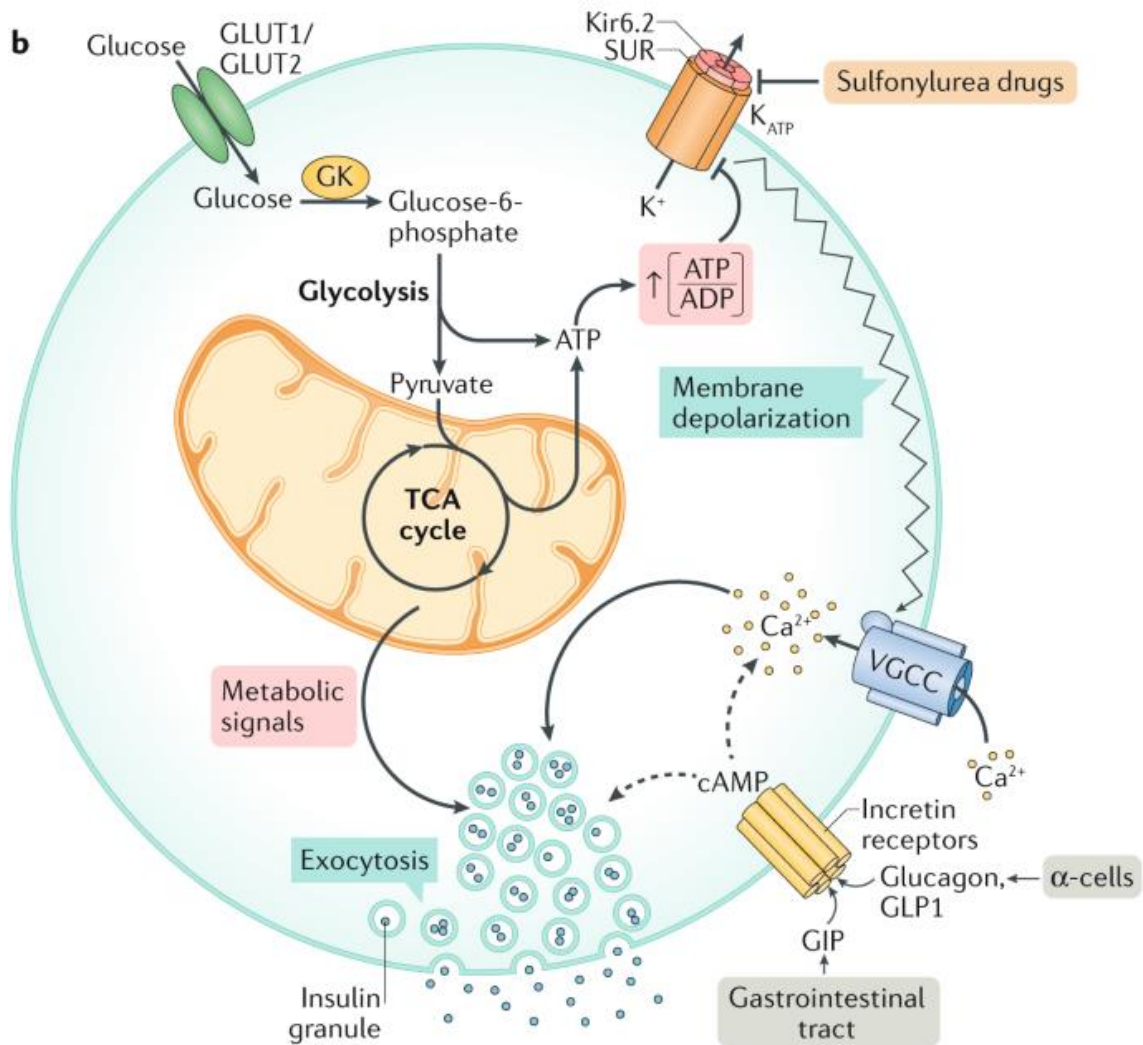


Figura 5. Secreción de insulina a nivel de la célula beta pancreática (Campbell JE, Newgard CB. Mechanisms controlling pancreatic islet cell function in insulin secretion. Nat Rev Mol Cell Biol [Internet]. 2021 Feb 4;22(2):142–58. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/s41580-020-00317-7>).

1.3.3. Acción

Los efectos principales de la insulina están mediados por la activación de su receptor de superficie celular IRS, que se expresa principalmente a nivel hepático, musculoesquelético y tejido graso. El IRS es un receptor tetramérico formado por dos subunidades alfa extracelulares (IRS1) y dos subunidades beta transmembrana unidas por puentes disulfuro (IRS2). La unión de la insulina a las subunidades alfa del receptor provoca la autofosforilación de las subunidades beta de éste, lo que determina una

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

actividad tirosin-quinasa que lleva a una fosforilación de los sustratos proteicos intracelulares del receptor (40). Entre los efectos de la activación del IRS destacan:

- Gluconeogénesis: por la cual la insulina promueve la síntesis de glucógeno muscular y hepático al inhibir la glucógeno fosforilasa y activar la glucógeno sintetasa.
- Glucólisis: la activación de la piruvato deshidrogenasa y fosfofructocinasa por la insulina permite la degradación de la glucosa y su utilización en células musculoesqueléticas y hepáticas.
- Captación de Glucosa en Tejidos Periféricos: la unión de insulina al receptor IRS1 estimula la traslocación de transportadores específicos GLUT4 desde los depósitos intracelulares a la membrana celular, lo que facilita la entrada de glucosa en las células musculares y adipocitos.
- Lipogénesis: el aumento de la concentración de ácidos grasos libres (AGL) por activación de la lipoprotein lipasa (LPL) aumenta su absorción en el tejido adiposo, con el posterior depósito de triglicéridos. Además, la insulina inhibe la lipasa responsable de la hidrólisis de triglicéridos.
- Proteogénesis: en el hepatocito y en la célula musculoesquelética, la insulina facilita la síntesis proteica, al aumentar la captación de aminoácidos y la traducción de ARN mensajero. Además, disminuye la proteólisis (10,16,41).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

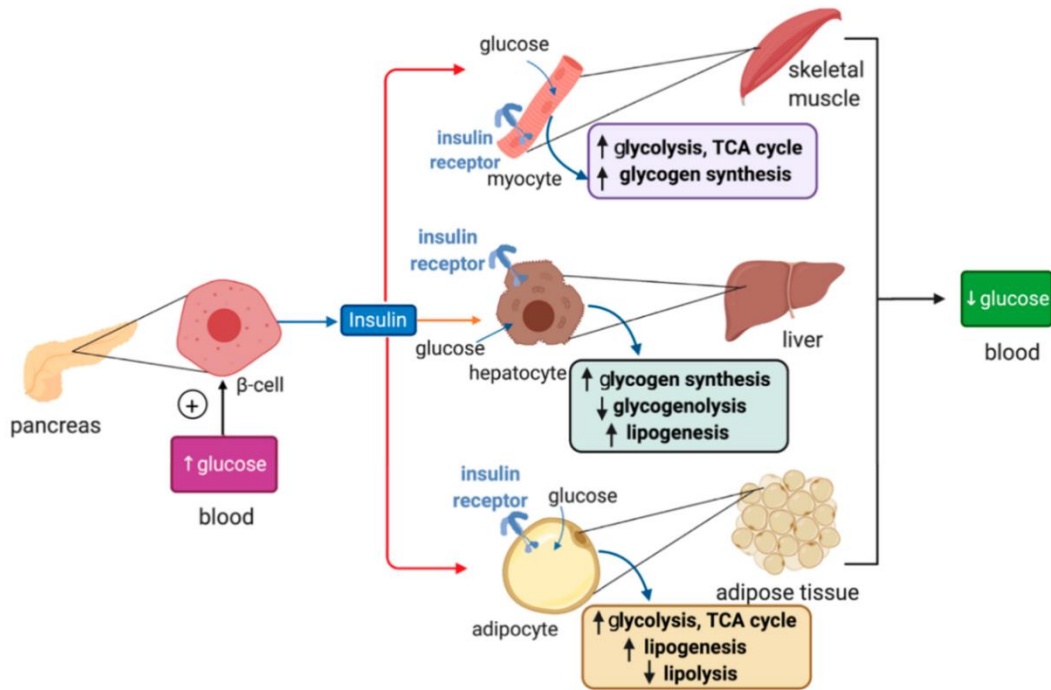


Figura 6. Regulación hormonal de la glucosa mediada por insulina (Fillebeen C, Lam NH, Chow S, Botta A, Sweeney G, Pantopoulos K. *Regulatory Connections between Iron and Glucose Metabolism. Int J Mol Sci [Internet]. 2020 Oct 21;21(20):7773. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/20/7773>*).

1.4. Regulación de la Glucemia

La regulación de la glucemia es un proceso regido por un estricto control, siendo el antagonismo insulina-glucagón el principal mecanismo regulador. La glucosa es, per se, el principal estímulo para la secreción de insulina.

Las concentraciones plasmáticas de glucosa normales oscilan entre los 80 mg/dl durante el ayuno y los 240 mg/dl aproximadamente en la primera hora postprandial. La insulina y el glucagón actúan como sistemas de retroalimentación esenciales para mantener la homeostasis de la glucosa. Cuando la glucemia aumenta, la concentración de insulina en sangre también aumenta, estimulando el almacenamiento de la glucosa intracelular con el consiguiente descenso de la glucemia hasta valores normales. En cambio, el descenso de los niveles de glucemia estimula la secreción de glucagón, que actúa de forma contraria y moviliza la glucosa desde los tejidos periféricos aumentando las concentraciones de glucosa en sangre hasta niveles fisiológicos (41,42) (Figura 7).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

El incremento de la secreción de insulina tras un estímulo de glucosa es inmediato, elevándose su concentración plasmática casi 10 veces a los 3-5 minutos. Mientras que la secreción de insulina se inactiva en torno a los 3-5 minutos del regreso de la glucemia a niveles normales (14,16,43).

En caso de hipoglucemia, tiene lugar una inhibición de la secreción de insulina de manera casi inmediata mediante la activación de receptores adrenérgicos α^2 , En estas situaciones, la adrenalina aumenta la glucemia plasmática por medio de un potente efecto glucogenolítico a nivel hepático.

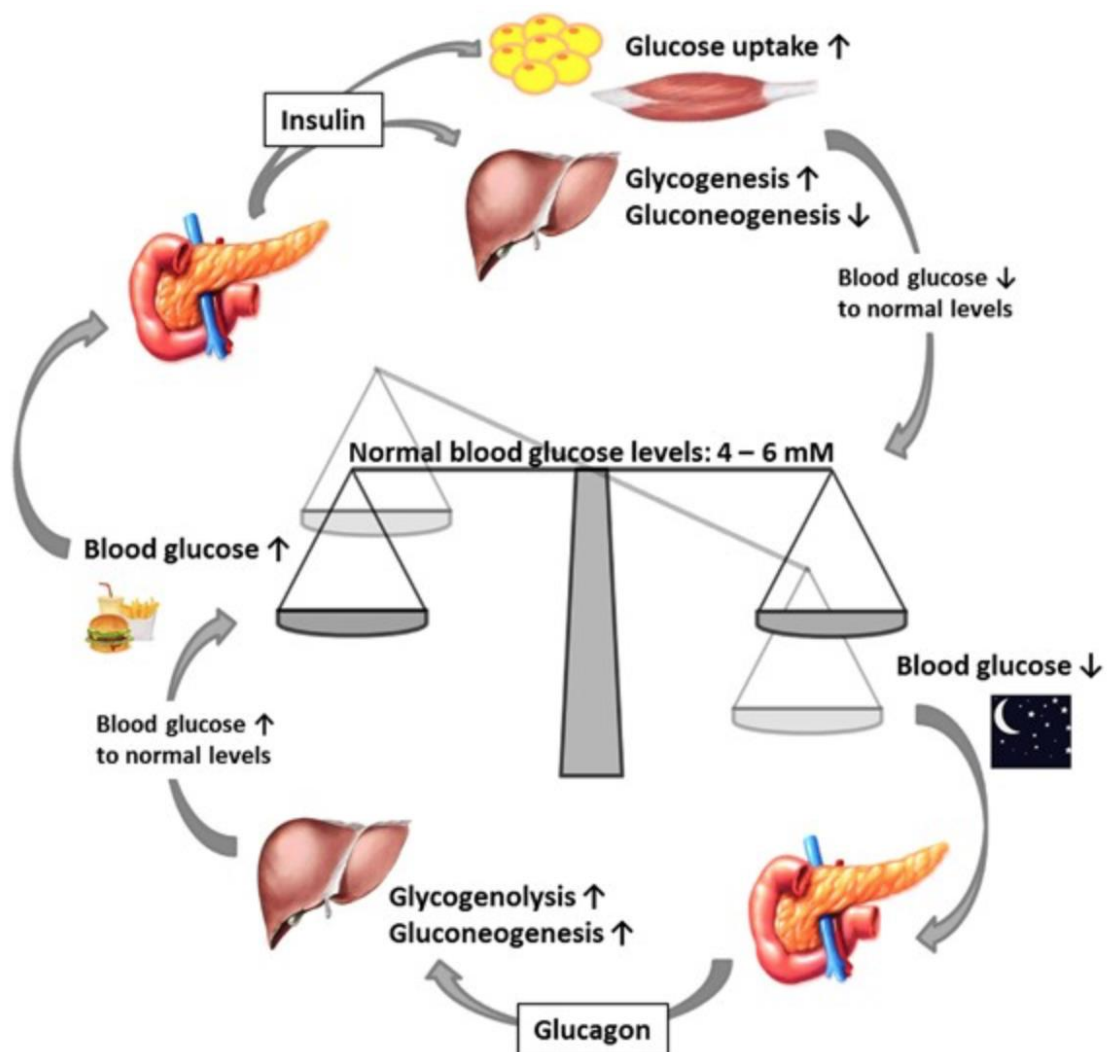


Figura 7. Mantenimiento de valores normales de glucemia mediada por el binomio insulina-glucagón (Röder P V, Wu B, Liu Y, Han W. Pancreatic regulation of glucose homeostasis. *Exp Mol Med* [Internet]. 2016 Mar 11;48(3):e219–e219. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/emm20166>).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

2. ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DEL TUBO DIGESTIVO. HORMONAS GASTROINTESTINALES.

Lo que denominamos comúnmente tubo digestivo está constituido por una serie de elementos anatómicos y funcionalmente diferenciados. En nuestro caso vamos a diferenciar estómago e intestino delgado.

2.1. Estómago

2.1.1. Embriología

El estómago es el órgano responsable de la digestión del bolo alimenticio para la posterior absorción de nutrientes a nivel intestinal. Es un órgano de origen endodérmico, cuya organogénesis se inicia a partir de un proceso de dilatación fusiforme del intestino anterior a partir de la cuarta semana de gestación (1). A la séptima semana, mediante una rotación longitudinal, se produce una dilatación caracterizada por una mayor elongación de la pared dorsal respecto a la pared ventral, de lo cual resulta una curvatura mayor convexa izquierda y una curvatura menor cóncava derecha. De esta forma, adquiere la morfología característica en fol de gaita (44).

2.1.2. Anatomía

El estómago constituye una víscera hueca dilatada del tubo digestivo situada entre el esófago y el duodeno. En el humano, presenta una localización intraperitoneal, siendo sus principales relaciones con el hígado, el bazo, el páncreas y el colon transverso. Está dividido en cinco regiones topográficas: cardias, fundus, cuerpo, antro y píloro. El cardias envuelve el orificio esofágico y constituye la unión esófago-gástrica (UEG). Mediante un plano horizontal a su través, el cardias delimita a nivel superior el fundus y a nivel inferior el cuerpo gástrico. El cuerpo abarca la mayor parte del estómago, con la curvatura menor a la derecha y la curvatura mayor a la izquierda. A continuación del cuerpo, se sitúa el antro, estrechándose progresivamente en el conducto pilórico hasta finalizar en el píloro. El píloro se comunica con el duodeno y constituye un verdadero esfínter mediante un engrosamiento de la musculatura circular (45).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

Respecto al humano, el estómago de la rata presenta varias diferencias anatómicas. En primer lugar, tiene una morfología semilunar con una orientación espacial más transversal. Asimismo, la UEG se caracteriza por ser más centralizada y horizontal, mientras que la entrada al duodeno es craneal (9). En segundo lugar, a diferencia del humano en el que todo el órgano es secretor, en la luz estomacal del roedor se objetivan dos regiones topográficas. Una primera porción no glandular izquierda (pars cardiaca, forestomach, saccus y cecus ventricularis) y una segunda porción glandular derecha (pars fúndica y pars pylorica). Ambas regiones están bien delimitadas por una membrana mucocutánea llamada cresta limitante. Constituye un repliegue glandular que impide el vómito al cerrar la entrada al esófago por contigüidad. Externamente, la región glandular del estómago presenta un aspecto más rojizo y de paredes más gruesas (46).

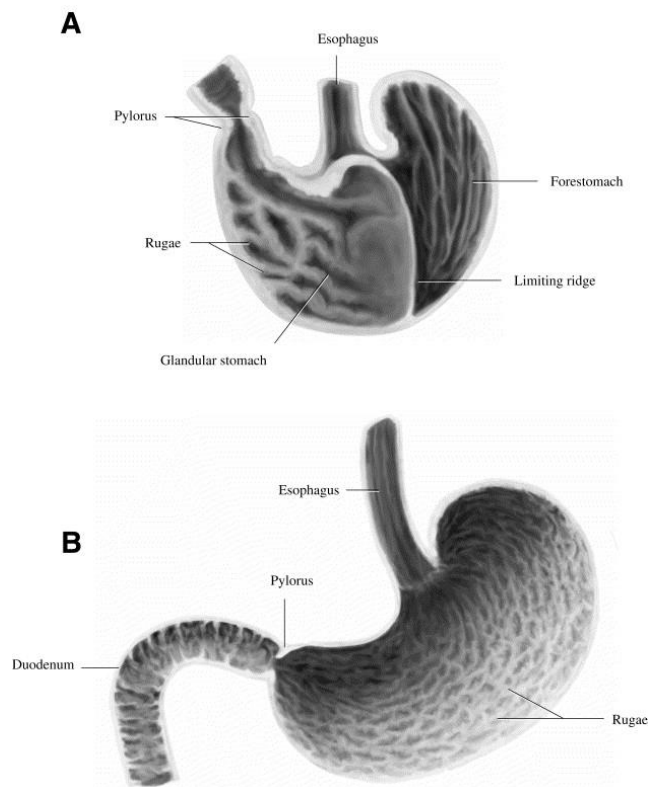


Figura 8. Comparativa anatómica y funcional a nivel interno entre el estómago del roedor (A) y del humano (B) (DeSesso J., Jacobson C. Anatomical and physiological parameters affecting gastrointestinal absorption in humans and rats. Food Chem Toxicol [Internet]. 2001 Mar;39(3):209–28. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0278691500001368>).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

El drenaje venoso gástrico es satélite del patrón arterial y corresponde al sistema portal (47).

La inervación es dependiente del sistema nervioso autónomo, simpático y parasimpático. La inervación simpática se efectúa desde el plexo celíaco, siendo reguladora de las funciones vasomotoras y sensitivas viscerales. El sistema parasimpático es primordial para la motilidad gástrica y la secreción ácida. Es dependiente de los troncos vagales anterior (izquierdo) y posterior (derecho), que ingresan al abdomen a través del hiato esofágico con localización pre y retro-esofágica respectivamente (48).

2.1.3. Fisiología

El estómago es responsable del procesamiento físico y químico del alimento hasta su completa degradación. El bolo alimenticio macerado procedente del esófago es mezclado y digerido parcialmente a través de las secreciones gástricas hasta su transformación en el quimo. El quimo es una mezcla líquida pulposa que posteriormente pasa al intestino para su completa digestión y la consiguiente absorción de nutrientes.

2.1.3.1. Mucosa Gástrica

La mucosa gástrica se caracteriza por la presencia de un epitelio cilíndrico simple, integrado por las llamadas células mucosas superficiales y dos tipos de glándulas gástricas diferenciadas.

Las células mucosecretoras revisten la totalidad de la superficie mucosa existente entre el tejido glandular. Son responsables de la producción de un moco denso, viscoso y alcalino que actúa a modo de escudo protector o barrera fisiológica contra la abrasión de los componentes más irritantes del quimo, y que contribuye a lubricar y facilitar el desplazamiento del bolo alimenticio (45).

En el epitelio glandular de la mucosa gástrica se distinguen dos tipos de glándulas principales: gástricas y pilóricas. Las glándulas gástricas (oxínticas), distribuidas a nivel de cuerpo y fundus, suponen el 80% del total y son las únicas responsables de la producción de ácido clorhídrico (HCl). Mientras que las pilóricas constituyen el 20% del

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

conjunto glandular y se localizan en el antro. De esta forma, los tipos de glándulas dividen funcionalmente la mucosa del estómago en una región secretora de ácido y otra no secretora (49).

Como se ha comentado previamente, a diferencia del humano, el estómago de la rata no es un órgano glandular en su totalidad. En los roedores existen dos porciones topográficas bien diferenciadas. De una parte, la región tipo no glandular caracterizada por un epitelio escamoso estratificado responsable de una digestión bacteriana del alimento. Y, de otra parte, la región glandular que posee un epitelio glandular secretor de los ácidos gástricos y proenzimas (50).

2.1.3.2. Péptidos Gástricos

Ambos tipos de glándulas gástricas están compuestas por células especializadas productoras de hormonas peptídicas gastrointestinales, tanto endocrinas como paracrinas, Fundamentales en el control endocrino de la regulación de la función gástrica.

a) Gastrina

La producción de gastrina tiene lugar a nivel de las células G presentes en las glándulas pilóricas del antro gástrico. Aunque también a nivel intestinal y pancreático.

La gastrina es un polipéptido sintetizado a partir de un precursor, llamado preprogastrina, como producto de un único gen en el cromosoma 17. Su síntesis está estimulada por ciertos tipos de proteínas y Aa en presencia de un pH básico (51). Al liberarse la gastrina, es transportada hacia las células parietales y células similares a las enterocromafines (ELC) uniéndose a receptores CCK2, lo que favorece la liberación directa de HCL e histamina respectivamente. Esto la convierte en el principal estimulador endocrino de la secreción ácida gástrica. Asimismo, el ácido luminal inhibe su liberación, existiendo así una relación recíproca inversa con la somatostatina.

Por otra parte, también se ha atribuido a la gastrina una función primordial en la fisiología de la mucosa gástrica, al favorecer la maduración, diferenciación y organización de las células parietales y las células ELC (52).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

b) Histamina

La histamina es secretada por las ELC en las glándulas gástricas. La histamina es sintetizada por la enzima histidina decarboxilasa y liberada por estímulo de la gastrina sobre receptores CCK2. Es la principal hormona paracrina responsable de estimular la producción de HCL a través de los receptores H2 de las células parietales. Por tanto, el ritmo de producción y secreción de HCL es directamente proporcional a la cantidad de histamina liberada (53).

c) Somatostatina

La síntesis de somatostatina tiene lugar a nivel de las células D situadas en la mucosa oxíntica. Las extensiones citoplasmáticas de las células D están en contacto directo con las células parietales y las células G. El principal estímulo para la liberación de esta hormona es la acidificación antral.

La somatostatina actúa principalmente suprimiendo la liberación de gastrina. Y, por consiguiente, la secreción ácida gástrica y la liberación de otras hormonas gastrointestinales como la histamina, mediante un mecanismo de "feed-back" negativo por el HCL y la gastrina. Aunque también puede provocar una inhibición directa sobre las células parietales (54,55). Además, parece ser que la somatostatina, al igual que la gastrina, suprime la liberación de grelina (56).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

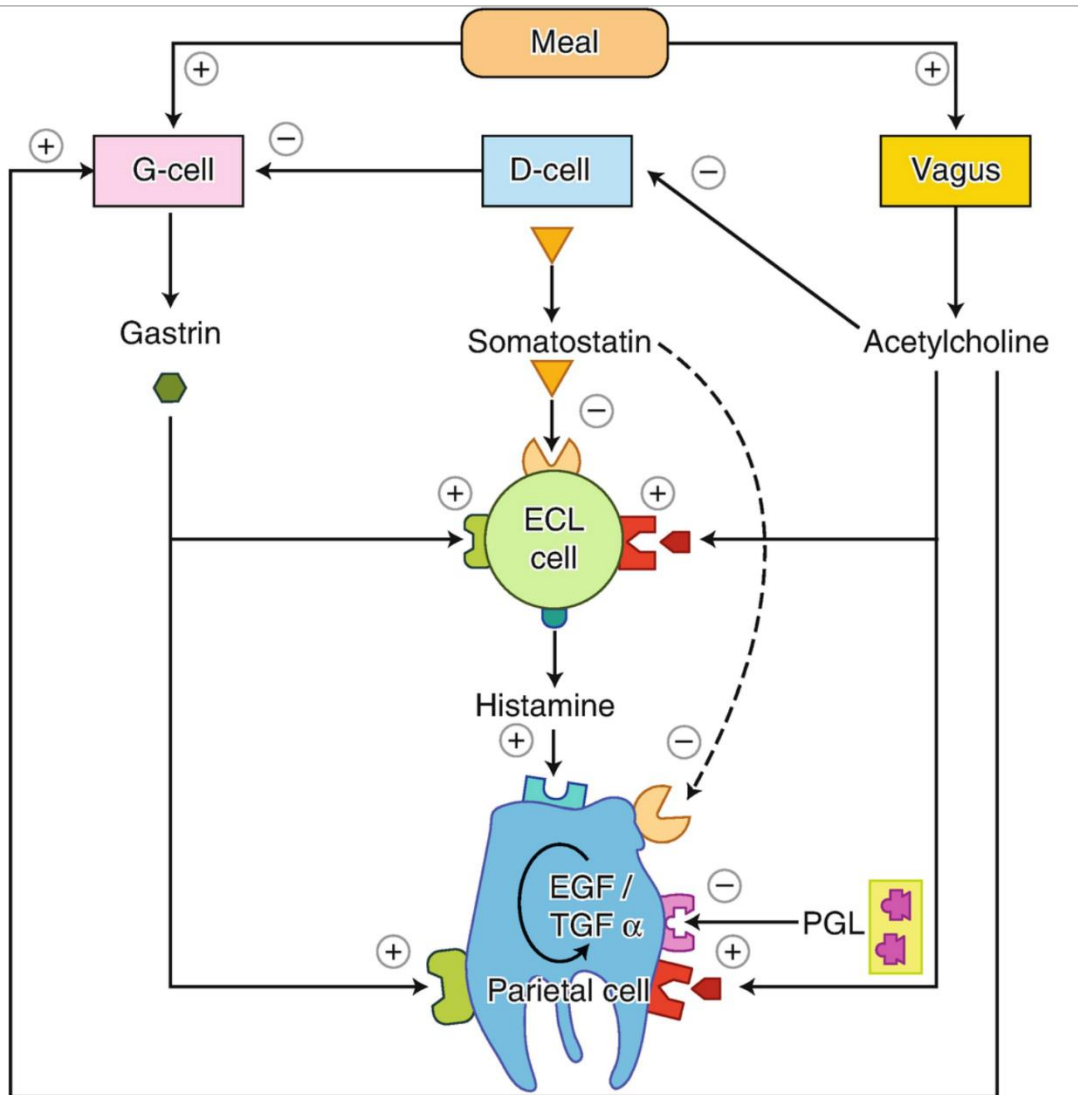


Figura 10. Relaciones hormonales entre los distintos péptidos gástricos implicados en la secreción de ácido gástrico (Landa ST, Dumon KR, Dempsey DT. *Anatomy and Physiology of the Stomach and Pylorus*. In: *The SAGES Manual of Foregut Surgery* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2019. p. 49–64. Disponible en: http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-96122-4_3).

d) Grelina

Fue aislada por primera vez en 1999 en el estómago del roedor como ligando endógeno del receptor de secretagogos de la GH. Es una hormona péptidica de 28 aminoácidos que a nivel plasmático se encuentra en un 90% en su forma desacilada (desacil-grelina), y en un 10% en su forma acilada (acil-grelina). Ambas isoformas son responsables de las diversas acciones endocrinas (57).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

La mayor parte de la grelina circulante es sintetizada principalmente por las células X/A de las glándulas oxínticas de la mucosa del fundus gástrico. Aunque también se sintetiza en ciertas regiones del SNC como el núcleo arcuato hipotalámico e hipófisis, y en tejidos periféricos como intestino delgado, páncreas, riñones, tiroides, hígado y pulmones. La secreción de grelina es pulsátil, de manera que sus niveles aumentan con el ayuno y durante la ingesta, y descienden de forma postprandial (58). Previa a su secreción, la molécula de grelina sufre una esterificación en el grupo hidroxilo en la posición 3 de la serina, al que se añade un ácido graso de cadena media de 8 carbonos (n-octanoico), que conforma la isoforma activa por acilación (acil-grelina). La presencia del grupo acil a nivel de SER3 es necesaria para activar al receptor de grelina (GHS-R), perteneciente a la familia de receptores acoplados a proteínas G y cuya isoforma GHS-R1a es la única que ha demostrado características funcionales en el humano. Por consiguiente, el proceso de acilación es indispensable para la mayoría de las funciones biológicas que presenta la grelina (59).

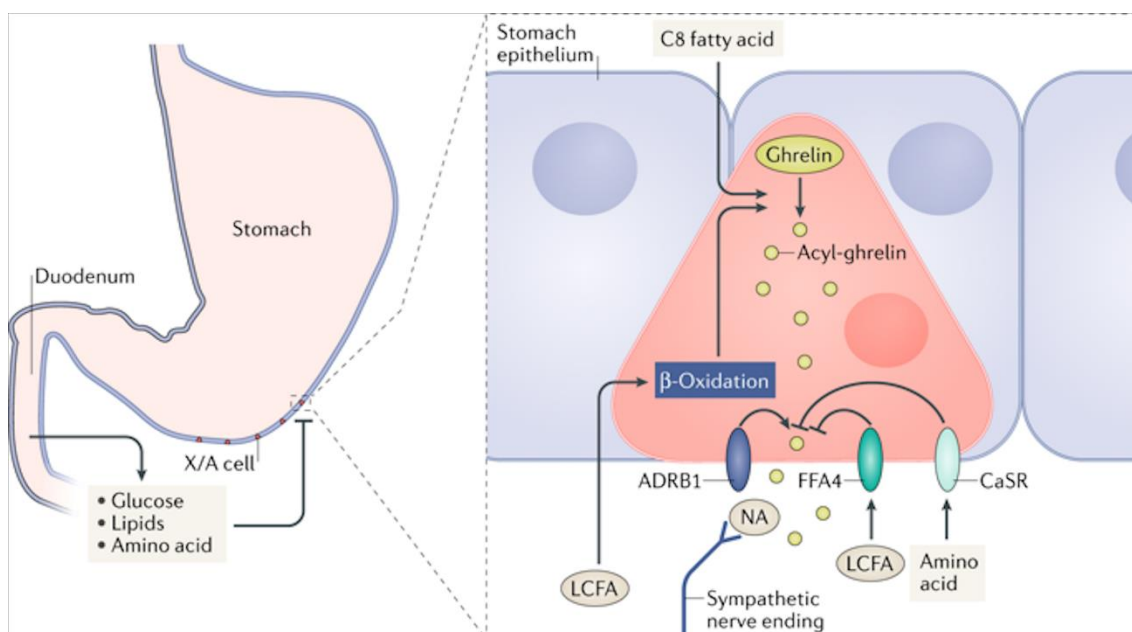


Figura 11. Secreción de grelina por la célula X/A (Gribble FM, Reimann F. Function and mechanisms of enteroendocrine cells and gut hormones in metabolism. Nat Rev Endocrinol [Internet]. 2019 Apr 13;15(4):226–37. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/s41574-019-0168-8>).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

La grelina es una hormona fundamental en la regulación del apetito y la ingesta de alimentos. El efecto orexígeno de esta hormona está mediado tanto a nivel periférico como central, y es independiente de su capacidad de estimular la secreción de GH. La grelina es la única hormona orexígena que actúa a nivel periférico. Se ha demostrado su efecto estimulador sobre la secreción ácida gástrica y la motilidad intestinal, al actuar de forma sinérgica con la gastrina y favorecer la liberación de histamina, y mediante estimulación del nervio vago. A nivel del SNC, aunque el hipotálamo es el centro principal mediador de la acción orexígena de la grelina al aumentar la expresión de neuropéptido Y en el núcleo arcuato y paraventricular, también interviene en la activación de neuronas del núcleo del tracto solitario y núcleo central de la amígdala (60). No obstante, la grelina también es importante en la regulación de la homeostasis energética y la regulación a largo plazo del peso corporal. Los valores plasmáticos de grelina son dependientes de los depósitos de energía y varían de forma compensadora en respuesta a las alteraciones en el peso corporal. De esta forma, los niveles de grelina se correlacionan inversamente con la adiposidad. Además, esta hormona reduce el gasto energético y el catabolismo de las grasas mientras aumenta el uso de los hidratos de carbono (59).

Por otra parte, además de su participación en la regulación del apetito y del peso corporal, la grelina interviene en el control de la homeostasis de la glucosa. La relación inversa entre los valores plasmáticos de grelina e insulina sugiere la existencia de una retroalimentación negativa entre ambas hormonas. En efecto, las concentraciones bajas de grelina inhiben la secreción de insulina, mientras que las concentraciones elevadas de esta hormona estimularían el efecto insulínico (61).

La acil-grelina disminuye la sensibilidad a la insulina en tejidos periféricos e inhibe la secreción de insulina a nivel pancreático, además de estimular la gluconeogénesis hepática y la glucogenólisis. Sin embargo, la grelina en su forma desacilada neutraliza los efectos de la acil-grelina al estimular la secreción de insulina en las células beta pancreáticas y potenciar la acción periférica de la insulina en tanto que disminuye la resistencia periférica a la misma y la producción hepática de glucosa. Además, se ha demostrado que la administración intravenosa de grelina en ratones estimula la síntesis y los niveles plasmáticos de GLP-1, otra incretina insulinogénica que estudiaremos más adelante (62).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

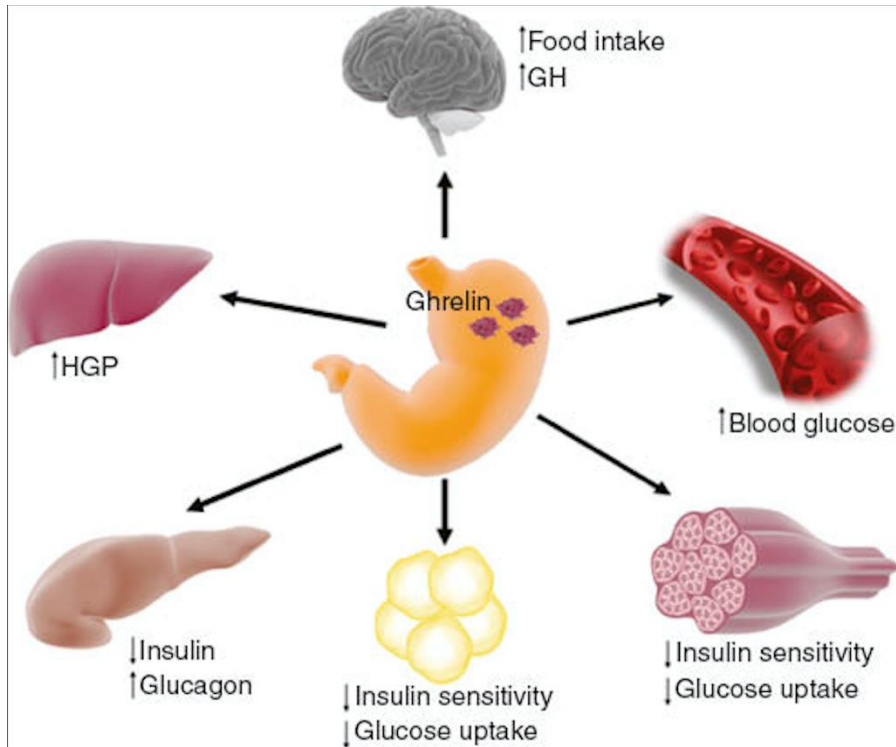


Figura 12. Papel de la grelina en la homeostasis de la glucosa (Alamri BN, Shin K, Chappe V, Anini Y. The role of ghrelin in the regulation of glucose homeostasis. *Horm Mol Biol Clin Investig* [Internet]. 2016 Apr 1;26(1):3–11. Disponible en: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/hmbci-2016-0018/html>).

2.2. Intestino Delgado

2.2.1. Embriología

Dentro del aparato digestivo, el intestino delgado se encarga de la digestión y absorción de los alimentos. La organogénesis de éste abarca desde la cuarta hasta la duodécima semana del desarrollo embrionario. Está dividido anatómica y funcionalmente en tres segmentos sucesivos (duodeno, yeyuno e íleon) derivados del intestino primitivo a partir de la hoja germinativa endodérmica. La parte terminal del intestino anterior y la parte craneal del intestino medio forman el duodeno. Mientras que yeyuno e íleon se originan en su totalidad del intestino medio (63).

Hacia la sexta semana de gestación tiene lugar la formación del asa intestinal primitiva. La rama cefálica de ésta se convierte en la porción distal del duodeno, el yeyuno y parte del íleon, y la rama caudal en el íleon terminal. El desarrollo del asa primitiva se

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

caracteriza por una rotación longitudinal en 270° en dirección antihoraria. Hacia la décima semana, el duodeno adopta la forma de un asa en “C” y queda en posición retroperitoneal, mientras que el yeyuno y el íleon forman asas enrolladas intraperitoneales (1).

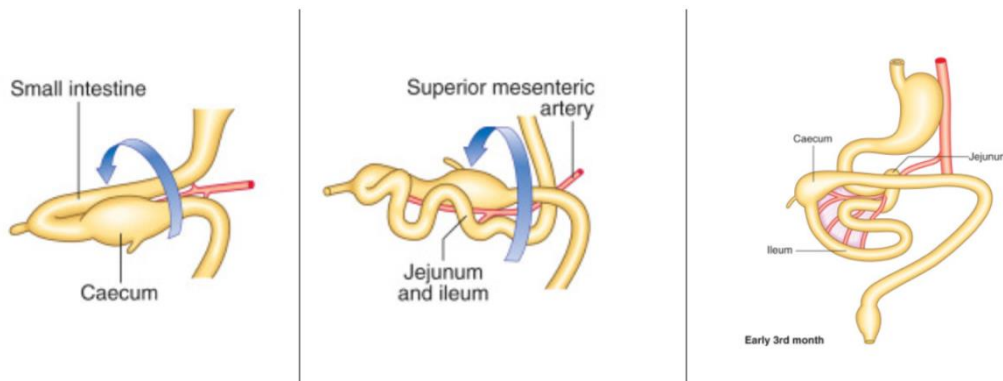


Figura 13. Desarrollo embriológico del intestino delgado. El intestino, tras una rotación de 90° alrededor del eje de la AMS sufre una nueva rotación de 180° con el consiguiente retorno de las asas intestinales a la cavidad abdominal y su disposición final (Campbell J, Berry J, Liang Y. *Anatomy and Physiology of the Small Intestine. In: Shackelford's Surgery of the Alimentary Tract, 2 Volume Set [Internet]. Elsevier; 2019. p. 817–41. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780323402323000716>).*

2.2.2. Anatomía

El intestino delgado se extiende desde el píloro hasta la válvula ileocecal, con una longitud de entre seis a ocho metros en humanos. Esto lo convierte en el componente más largo del tubo digestivo y contribuye a su capacidad de absorción de nutrientes (27). El duodeno se extiende desde el píloro gástrico hasta el ángulo duodenoyeyunal o Treitz, una reflexión del meso intestinal que retrae las asas al retroperitoneo. Consta de 4 porciones que suman una longitud aproximada de 25-30 cm, equivalente a unos doce dedos (por ello “duodeno”). La segunda porción presenta la ampolla de Vater, con la desembocadura conjunta del colédoco y el conducto pancreático principal. A nivel de la cara anterior de la tercera porción tiene lugar el cruce de los vasos mesentéricos. Los segmentos yeyunal e ileal abarcan desde el ángulo de Treitz hasta la válvula ileocecal.

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

Los 2/5 proximales corresponden al yeyuno (260 cm), mientras que el íleon representa los 3/5 distales (350-390 cm). El límite yeyunoíleon suele establecerse a nivel de la terminación de la AMS, observándose una disposición más vertical y un menor calibre de las asas intestinales (45,64).

En los roedores, el intestino delgado representa una longitud porcentual similar al humano, en torno al 80%. Además, los tres segmentos intestinales secuenciales son idénticos, salvo en el porcentaje de presentación de estos (Figura 14):

- El yeyuno es la porción principal y supone hasta el 90% del total. En el humano, no es el segmento predominante, y sólo supone el 38% del total.
- El íleon representa el 2%, alrededor de 3 cm, frente al 58% del humano, en el que constituye el segmento predominante.
- El duodeno comprende el 8% del total, mientras que en humanos sólo supone el 4%. La longitud del duodeno en la rata es superior a la representada por el íleon (9).

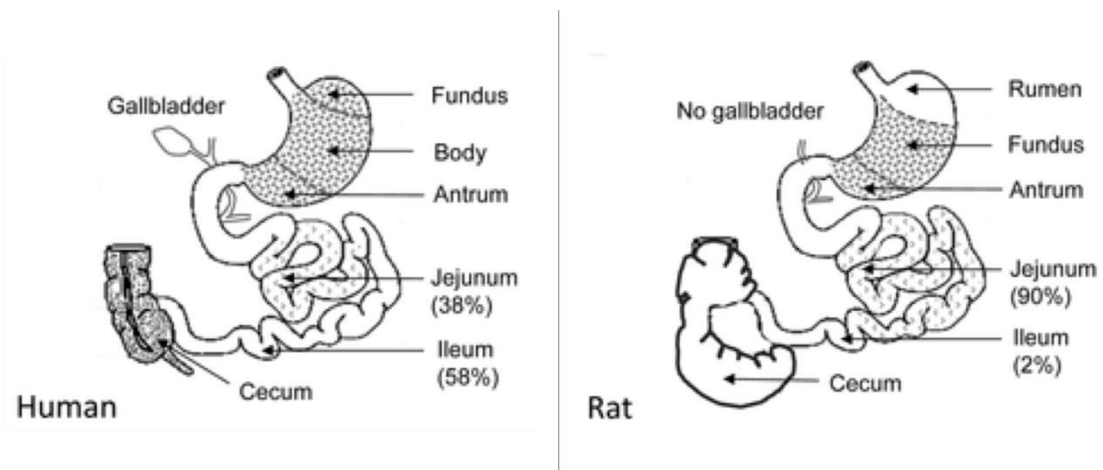


Figura 14. Comparación del porcentaje de presentación de los segmentos en el intestino delgado del humano y la rata (DeSesso J., Jacobson C. *Anatomical and physiological parameters affecting gastrointestinal absorption in humans and rats. Food Chem Toxicol [Internet]. 2001 Mar;39(3):209–28. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0278691500001368>).*

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

La irrigación del duodeno depende de las arterias pancreático-duodenales superior e inferior, ramas de la arteria gastroduodenal y AMS respectivamente. Ambas originan una rama anterior y posterior, estableciéndose un arco pancreático-duodenal. La vascularización de yeyuno e íleon depende exclusivamente de la AMS, mediante un número variable de 15 a 18 ramas anastomosadas entre sí. A nivel del íleon terminal, la irrigación depende del tronco ileocecoapendicular. La red venosa presenta la misma distribución que el sistema arterial antes descrito, con drenaje en el sistema portal principalmente (64,65).

La inervación del intestino delgado corresponde al sistema nervioso autónomo, representado por los sistema simpático y parasimpático, y el sistema nervioso o plexo entérico (SNE). La inervación simpática de los tres segmentos intestinales se efectúa a través del plexo mesentérico superior. El tronco vagal posterior inerva de forma parasimpática la totalidad del intestino delgado (66).

El SNE está constituido por el plexo submucoso o de Meissner, y el plexo mientérico o de Auerbach. Son dos plexos neurovegetativos intrínsecos e interconectados entre sí, situados entre las capas musculares longitudinal y circular. Interviene en funciones relacionadas con la inmunidad, la motilidad intestinal, la secreción hormonal y la absorción de nutrientes. Para ello contiene neuronas secretoras de polipéptidos con capacidad sináptica, endocrina y paracrina, entre los que destacan la acetilcolina, el GABA y la serotonina. Debido a la capacidad de actuación a través de microcircuitos con actuación independiente, se le considera el “segundo cerebro” o cerebro intestinal. Aunque ambos plexos están sujetos a las influencias tanto del sistema simpático como del parasimpático (67).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

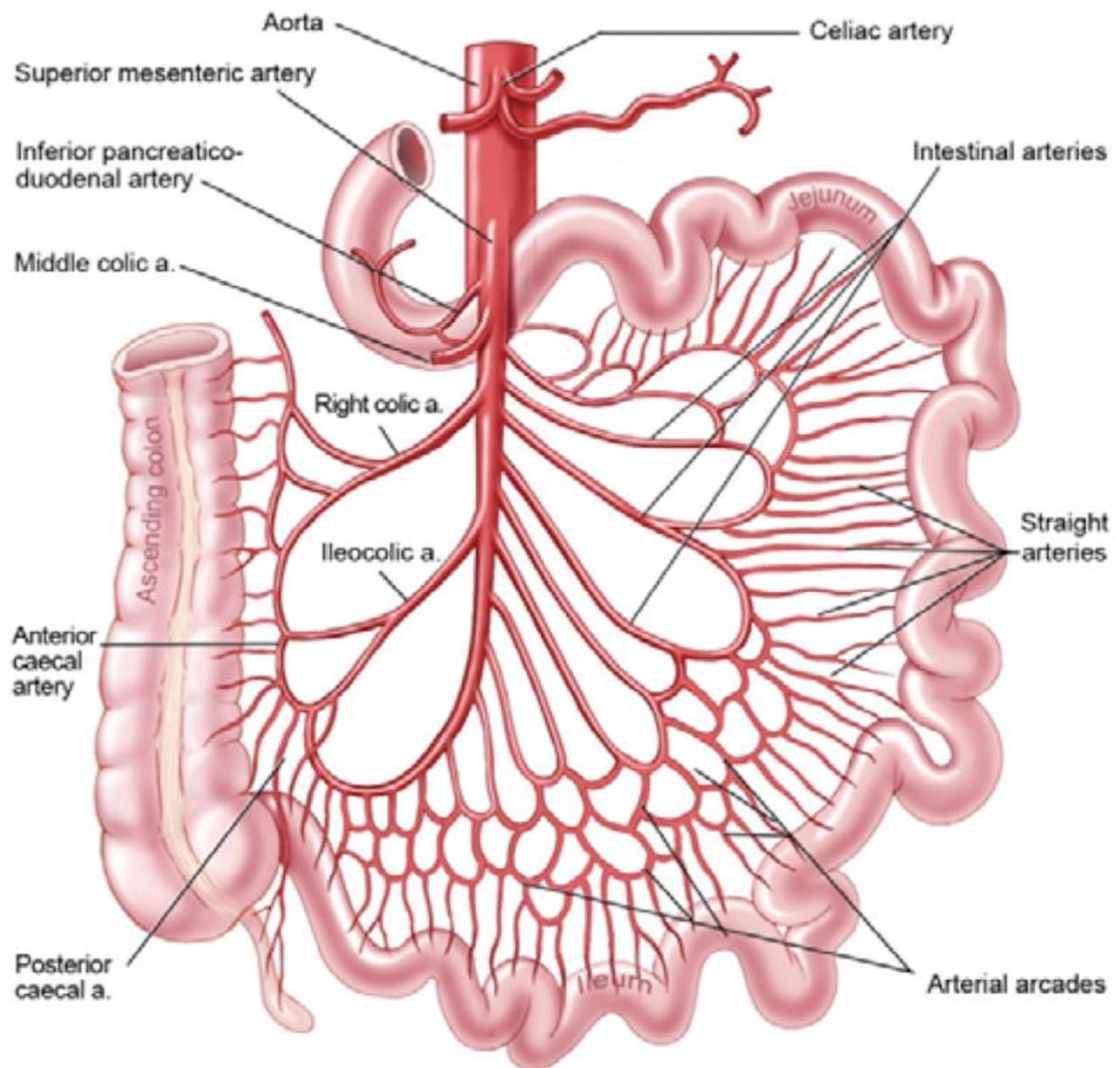


Figura 15. Vascularización arterial del intestino delgado en sus distintos segmentos (Weidong Zhang, Jiamin Liu, Jianhua Yao, Louie A, Nguyen TB, Wank S, et al. Mesenteric Vasculature-Guided Small Bowel Segmentation on 3-D CT. IEEE Trans Med Imaging [Internet]. 2013 Nov;32(11):2006–21. Disponible en: <http://ieeexplore.ieee.org/document/6547997/>).

2.2.3. Fisiología

2.2.3.1. Función Digestiva y Absortiva

En el intestino delgado tiene lugar la absorción de los nutrientes obtenidos de la digestión de los alimentos ingeridos en la dieta. El quimo ingresa en el duodeno junto con las secreciones biliopancreáticas para continuar el proceso de solubilización y degradación de los nutrientes específicos para su completa absorción.

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

El yeyuno es la porción intestinal con mayor capacidad absorbiva de nutrientes, principalmente carbohidratos y proteínas. Aunque también ciertas vitaminas y minerales, a excepción de las vitaminas liposolubles (A, D, E y K) que son absorbidas a nivel duodenal. La principal función absorbiva del íleon corresponde a sales biliares y vitamina B12.

Los enterocitos son las células fundamentales para la absorción de nutrientes. Presentan una función secretora de enzimas glucoproteicas necesarias para la degradación de macromoléculas y su posterior absorción. Estas enzimas son: peptidasas, que fraccionan las proteínas en Aa y oligopéptidos; disacaridasas (sacarasa, maltasa y lactasa), que hidrolizan los disacáridos en monosacáridos; y lipasa, que escinde los triglicéridos en glicerol y ácidos grasos (68,69).

2.2.3.2. Función Endocrina. Células Enteroendocrinas

Las células enteroendocrinas se distribuyen de forma dispersa entre los enterocitos. Mientras que las “células cerradas” se concentran en la porción basal de la glándula intestinal, las “células abiertas” se disponen en todos los niveles de la vellosidad. Son responsables de la secreción de hormonas con carácter endocrino, paracrino y neurocrino como la colecistoquinina (CCK), secretina, gastrina, motilina, Peptide Tyrosine-Tyrosine (PYY), Glucagon-Like Peptide-1 (GLP-1) y Gastric Inhibitory Peptide (GIP) entre otras. Estos péptidos gastrointestinales conforman un mecanismo regulador y de control del eje entero-pancreático (45,70). De manera más detallada podemos hablar de las siguientes células con carácter endocrino/paracrino a nivel del intestino delgado.

a) Células L: GLP-1 y PYY

Se encuentran principalmente en el íleon y el colon, aunque pueden encontrarse en cualquier región del intestino delgado. Las células L expresan el gen de proglucagón (Gcg) con ayuda del factor de transcripción TCF-4. El proglucagón obtenido es procesado diferencialmente en las células L por las enzimas proconvertasas (PC1 y PC3) para producir GLP-1, GLP-2, PYY y oxintomodulina (71).

El principal factor estimulante en la secreción por parte de las células L corresponde al contacto directo de los nutrientes con la membrana celular (72).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

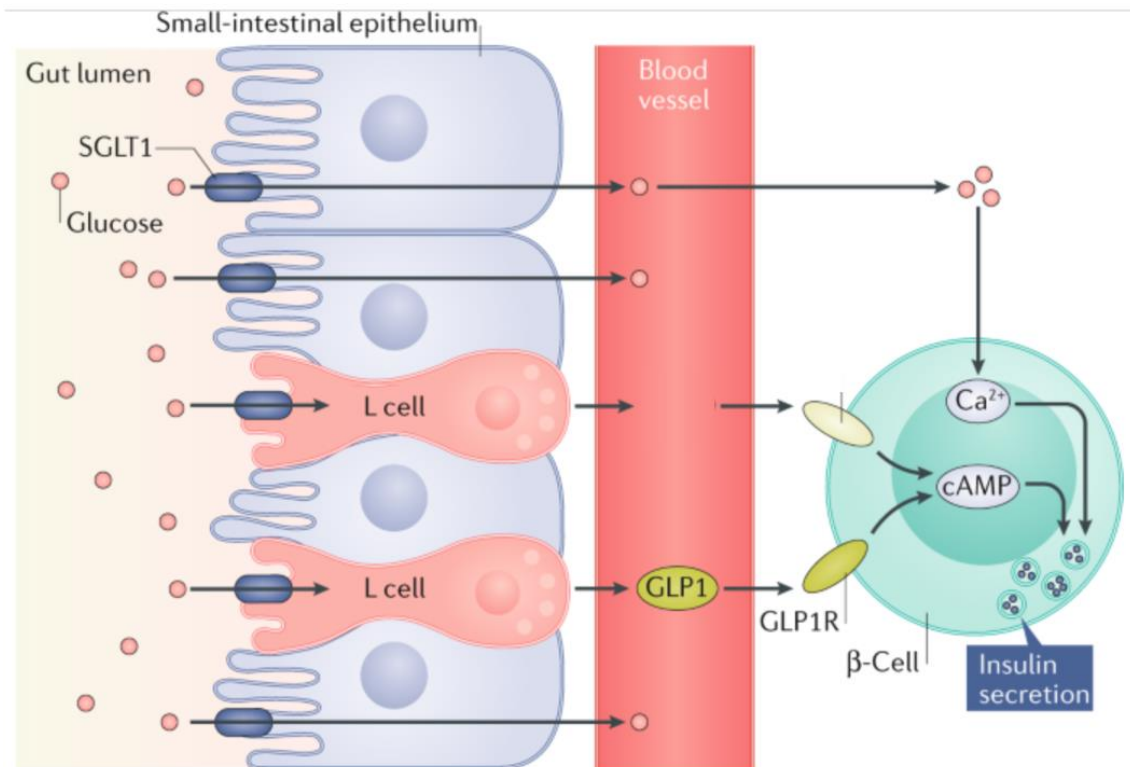


Figura 16. Secreción de GLP-1 por las células L y su efecto incretínico (Gribble FM, Reimann F. Function and mechanisms of enteroendocrine cells and gut hormones in metabolism. Nat Rev Endocrinol [Internet]. 2019 Apr 13;15(4):226–37. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/s41574-019-0168-8>).

- **GLP-1:** es un polipéptido de 30 Aa. El principal estímulo para la liberación de GLP-1 es la presencia de nutrientes en la luz intestinal, como hemos dicho, principalmente carbohidratos y lípidos. De forma directa por contacto con la superficie apical de las células, y de forma indirecta mediante señales neuroendocrinas provenientes del intestino proximal (73,74). Aunque es secretado rápidamente tras la ingesta alimentaria, entre 5 y 15 minutos, la mayor parte del GLP-1 activo plasmático es rápidamente degradado, entre 1 y 2 minutos, por la acción proteolítica de la enzima dipeptidil-peptidasa 4 (DPP4) (75).

La acción del GLP-1 está mediada por un único receptor (GLP-1R) con una alta especificidad, que se expresa en la membrana de las células alfa y beta de los islotes de Langerhans pancreáticos, así como en tejidos periféricos e hígado, incluyendo el estómago, el riñón, el corazón y el cerebro (76). El GLP-1R pertenece a la familia de

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

receptores de la secretina-glucagón, siendo un receptor acoplado a proteínas G con siete dominios transmembrana y formado por 463 Aa (77).

Esta enterohormona participa en el metabolismo hidrocarbonado a varios niveles.

A nivel pancreático, presenta un efecto insulinógeno dependiente de glucosa. El GLP-1 promueve la producción y secreción de insulina al incrementar su transcripción, a la vez que inhibe la secreción de glucagón. Pero, además, este efecto insulínico está determinado por el incremento de la masa celular beta al estimular la proliferación de las células beta, tanto por diferenciación como por neogénesis, así como por el efecto anti-apoptótico sobre las mismas (78–80) .

Por su efecto insulínico, el GLP-1 es capaz de aumentar la sensibilidad a la insulina en tejidos periféricos e hígado y limitar la glucemia independientemente de los niveles de insulina. El GLP-1, por lo tanto, disminuye la resistencia a la insulina al favorecer la captación y almacenamiento de glucosa en hígado, músculo esquelético y tejido adiposo (77,81–84). El mecanismo exacto es desconocido, pero es posible que la presencia de GLP-1 pueda activar receptores venosos portales que mediante vías neurales aumenten la captación de glucosa en tejidos periféricos (85).

Por otra parte, el GLP-1 posee un efecto anorexígeno a nivel central. Mediante interacción con fibras nerviosas vagales aferentes, parece enviar señales al núcleo del tracto solitario y activar neuronas del núcleo arcuato. Estas estimulan la liberación de proopiomelanocortina (POMC), con lo que se reduce el apetito y se promueve la saciedad (86).

Además, al estimular la síntesis de somatostatina actúa inhibiendo la motilidad y la secreción gastrointestinal y disminuye el vaciamiento gástrico. De esta forma, GLP-1 es considerado como uno de los componentes del llamado “freno ileal”. Un mecanismo de retroalimentación negativo que regula el tránsito gastrointestinal y permite un suministro gradual de nutrientes al intestino, lo que atenúa los niveles de glucosa en sangre postprandiales (74).

También se ha demostrado su participación en la regeneración intestinal, probablemente a través de la activación del gen del factor de crecimiento queratinocítico (Fgf7) (87).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

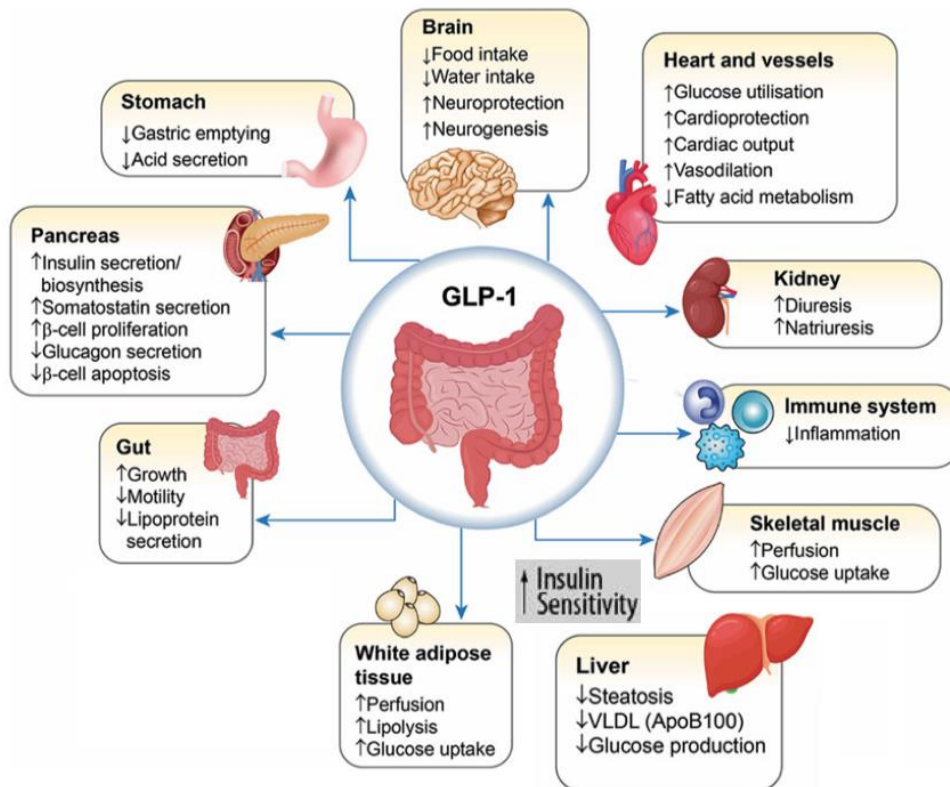


Figura 17. Principales acciones fisiológicas del GLP-1 (Kalra S, Das AK, Sahay RK, Baruah MP, Tiwaskar M, Das S, et al. Consensus Recommendations on GLP-1 RA Use in the Management of Type 2 Diabetes Mellitus: South Asian Task Force. Diabetes Ther [Internet]. 2019 Oct 29;10(5):1645–717. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s13300-019-0669-4>).

• **PYY:** pertenece a la familia de polipéptidos pancreáticos entre los que se incluyen el PP y el neuropéptido Y (NPY). Al igual que el GLP-1, esta hormona es sintetizada por las células L del íleon distal y el colon, siendo los principales estímulos para su secreción la presencia de proteínas y grasas a nivel intestinal y señales neurohormonales provenientes del intestino proximal (88,89). El PYY es una molécula de 36 Aa con un residuo de tirosina en cada uno de sus extremos, cuya forma activa PYY₃₋₃₆ se obtiene por la eliminación del extremo amino terminal por acción de la DPP4 (90). Esta isoforma es predominante en plasma y tiene una afinidad más específica por receptores Y2.

El PYY promueve la absorción de nutrientes al reducir el vaciamiento gástrico y la motilidad intestinal. Además, varios estudios han demostrado su efecto anorexígeno. La

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

reducción de la ingesta viene determinada por la inhibición de neuronas orexígenas productoras de NPY y la activación de neuronas anorexígenas productoras de POMC del núcleo arcuato hipotalámico (90,91). Los niveles plasmáticos de PYY están reducidos en sujetos obesos respecto a los sujetos sanos, lo que sugiere que su déficit o alteraciones en los receptores puedan contribuir a la patogenia de la obesidad (92,93).

Por otro lado, y de la misma forma que el GLP-1, el PYY presenta un efecto insulinoatrópico. Pues esta enterohormona estimula la liberación de insulina pancreática dependiente de glucosa a la vez que suprime la de glucagón. Luego, el PYY también se caracteriza por dicho efecto incretínico (94).

b) Células K: GIP

Pueden estar presentes en cualquier segmento intestinal, pero la mayoría se localizan en el duodeno y yeyuno proximal. Se encargan de la producción de GIP (87).

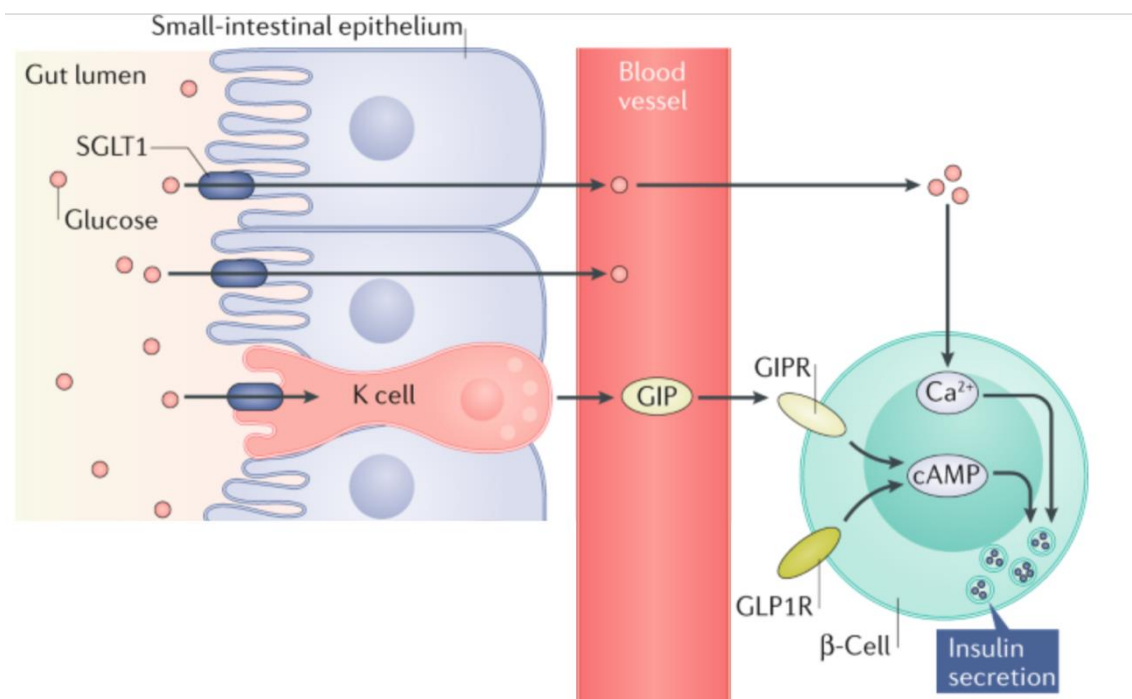


Figura 18. Secreción de GIP por las células K y su efecto incretínico (Gribble FM, Reimann F. Function and mechanisms of enteroendocrine cells and gut hormones in metabolism. Nat Rev Endocrinol [Internet]. 2019 Apr 13;15(4):226–37. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/s41574-019-0168-8>).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

- **GIP:** GIP es un polipéptido de 42 Aa descubierto por Brown et al. como Gastric Inhibitory Peptide debido a su capacidad para inhibir la secreción y motilidad gástrica. En condiciones fisiológicas, esta hormona es secretada por las células K presentes en su mayoría en duodeno y yeyuno proximal, aunque se localizan en cualquier segmento intestinal. La liberación del GIP se produce en respuesta a la ingesta de alimentos ricos en carbohidratos y lípidos fundamentalmente, siendo inactivado en plasma por la enzima DPP4. Ejerce sus efectos a través de un receptor acoplado a proteínas G de la subfamilia de la secretina-glucagón (GIP-R) (95,96).

Al igual que el GLP-1 y el PYY, GIP también presenta capacidad insulinógena al aumentar la secreción de insulina mediada por glucosa. A la vez que favorece la proliferación de las células beta pancreáticas e inhibe su apoptosis. Así mismo, se ha demostrado que favorece la secreción de glucagón desde las células alfa pancreáticas (97,98).

Por otra parte, a diferencia de otras hormonas intestinales (GLP-1 y PYY), GIP no retrasa el vaciamiento gástrico ni estimula la saciedad. No obstante, cumple un papel importante en el metabolismo lipídico, al estimular la síntesis de LPL en el tejido adiposo, enzima que inactiva la lipólisis inducida por el glucagón y potencia el efecto lipogénico de la insulina, favoreciendo la formación de ácidos grasos (AG) (99,100).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

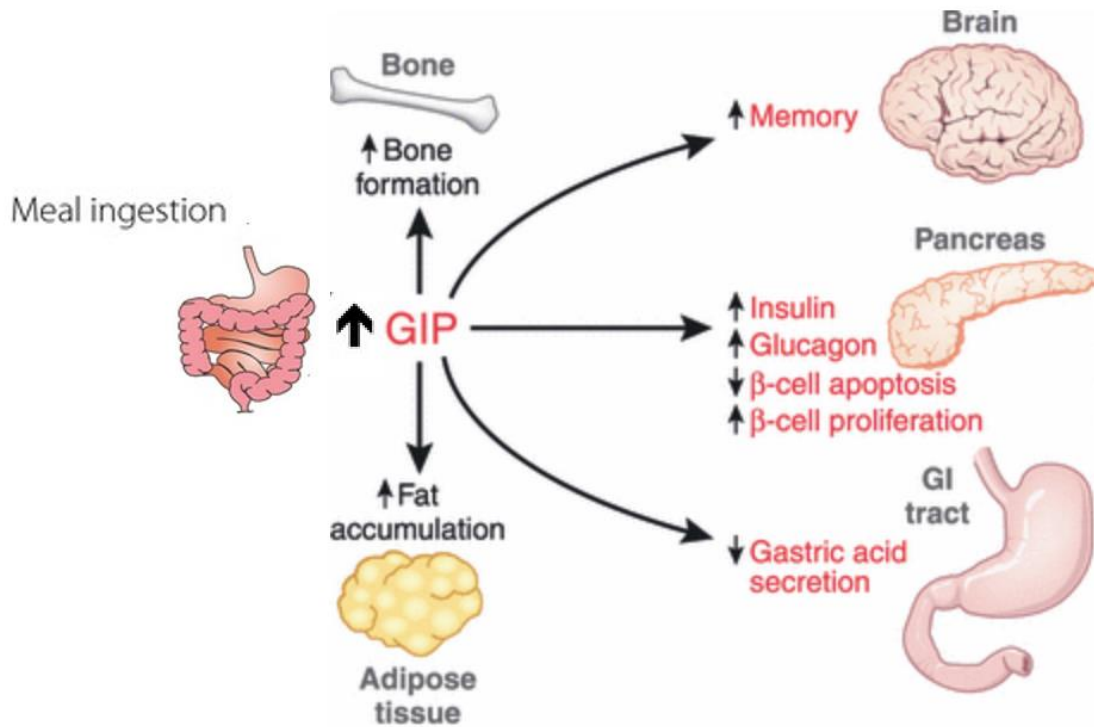


Figura 19. Principales efectos mediados por GIP a nivel periférico (Gupta A, Al-Aubaidy HA, Mohammed BI. *Glucose dependent insulinotropic polypeptide and dipeptidyl peptidase inhibitors: Their roles in management of type 2 diabetes mellitus. Diabetes Metab Syndr Clin Res Rev [Internet]. 2016 Apr;10(2):S170–5. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1871402116300091>).*

c) Células I: CCK

Se localizan en la mucosa duodenal y yeyunal, aunque también se sitúan en el colon. Son responsables de la síntesis y secreción de CCK (101).

- **CCK**: es una hormona peptídica gastrointestinal derivada de un precursor prepro-CCK cuya molécula biológicamente activa se encuentra en el extremo carboxilo. Existen varias formas moleculares, las cuáles difieren en el número de Aa. La actividad biológica recae fundamentalmente sobre las isoformas CCK-33 y CCK-8. Además de su producción en el tracto gastrointestinal, también se libera como neurotransmisor a nivel del SNC, primordialmente como CCK-8.

El estímulo principal para la liberación de CCK es la presencia de grasas y proteínas del quimo en el duodeno. Una vez liberada al torrente sanguíneo, sus múltiples efectos

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

biológicos están mediados por dos tipos de receptores: CCK-1 y CCK-2 (llamados CCK-A y CCK-B respectivamente). El primero de ellos se localiza principalmente en el tracto gastrointestinal, mientras que el subtipo B predomina en localizaciones centrales (88).

Entre sus acciones fisiológicas a nivel gastrointestinal destaca su participación en la regulación de las secreciones y la motilidad. La CCK estimula la secreción de enzimas pancreáticas, retrasa el vaciamiento gástrico y favorece la contracción de la vesícula biliar. Además, la CCK actúa como señal de saciedad a corto plazo, a través de fibras aferentes del nervio vago, y mediante la inhibición de la secreción de grelina (100).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

3. OBESIDAD

3.1. Introducción

La obesidad es una enfermedad crónica y multifactorial, resultado de la interacción entre el genotipo y el ambiente. Se caracteriza por un acúmulo excesivo o anormal de grasa en el tejido adiposo que supone un riesgo para la salud del individuo. Actualmente es reconocida como una epidemia global, y constituye uno de los principales problemas para la salud pública (102).

El parámetro más adecuado para definir la obesidad consiste en el porcentaje de grasa corporal. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), se considera obesidad un porcentaje graso superior al 25% y al 33% en hombres y en mujeres respectivamente. En la práctica clínica diaria y en estudios epidemiológicos, el método más estandarizado para valorar el porcentaje de grasa corporal es el índice de masa corporal (IMC). El IMC, llamado de Quetelet, consiste una prueba antropométrica que equivale al cociente entre el peso y el cuadrado de la altura en kg/m^2 . Para la población adulta, se considera sobrepeso un valor de IMC superior a $25 \text{ kg}/\text{m}^2$, mientras que un IMC superior a $30 \text{ kg}/\text{m}^2$ es indicativo de obesidad (103,104). No obstante, la relación entre el porcentaje de grasa corporal y el IMC es variable según el grupo étnico (105).

Según el valor de IMC, existen diversos grados de obesidad, relacionados de forma directamente proporcional al riesgo de comorbilidades. Sin embargo, aunque el IMC presenta una elevada correlación con el porcentaje de grasa corporal, no informa de la distribución de la grasa corporal ni diferencia entre masa grasa y masa magra (106). La distribución de la grasa corporal influye en la gravedad de la obesidad debido al riesgo asociado para el desarrollo de comorbilidades (107,108). Por tanto, debe asociarse otro parámetro antropométrico que matice la información aportada por el IMC, siendo el más empleado la circunferencia de la cintura (CC) (109).

El exceso de grasa a nivel central, con acúmulo a nivel intraabdominal y visceral, es un factor de riesgo cardiovascular y metabólico independiente (110–112). Un perímetro de cintura mayor de 102 cm en varones y de 88 cm en mujeres incrementa significativamente el riesgo de enfermedades cardiovasculares, DMT2 y SM (113).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

Tipo de Obesidad	IMC (kg/m ²)	Riesgo de Comorbilidad	
		IMC	CC
Bajo Peso	< 18,5	-	-
Normal	18,5-,24,9	Bajo	-
Sobrepeso	25-29,9	Aumentado	Alto
Obesidad Grado I	30-34,9	Alto	Muy Alto
Obesidad Grado II	35-39,9	Muy Alto	Muy Alto
Obesidad Mórbida	> 40	Extremadamente Alto	Extremadamente Alto

Tabla 1. Clasificación de la obesidad y riesgo de comorbilidad asociado al IMC y a la CC. Se establece un determinado riesgo relativo de enfermedad cuando el perímetro de la cintura es mayor de 102 y 88 cm en el varón y en la mujer respectivamente (Franch Nadal J. Obesidad intraabdominal y riesgo cardiometabólico. Atención Primaria [Internet]. 2008 Apr;40(4):199–204. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0212656708703159>).

3.2. Epidemiología y Fisiopatología

La prevalencia de la obesidad en el mundo se ha casi triplicado en los últimos 35 años. En la actualidad, según la OMS, más de 650 millones se pueden considerar obesos (114). Así, entre 1980 y 2013, la prevalencia de sobrepeso y obesidad aumentó un 27,5% en la población adulta.

En España, la prevalencia de obesidad se ha más que duplicado en los últimos 25 años. Actualmente, según el estudio ENPE de 2014-2015, el 39,3% de la población presenta sobrepeso y el 21,6% obesidad (115).

Cabe destacar la compleja relación entre el estatus socioeconómico y la obesidad. En países desarrollados, las comunidades con un menor nivel socioeconómico presentan

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

una mayor tasa de obesidad, mientras ocurre a la inversa en países en vías de desarrollo (116).

El desarrollo de la obesidad es consecuencia de una compleja interacción entre factores genéticos, ambientales y psicológicos que promueve un aumento del peso generalizado. El aumento progresivo de la prevalencia de la obesidad está relacionado principalmente con un incremento del sedentarismo y los malos hábitos alimenticios, principalmente el exceso de calorías en la dieta (123).

Por lo tanto, el acúmulo excesivo de grasa corporal que tiene lugar en la obesidad es resultado del desequilibrio entre el aporte y el gasto energético (117). El aporte de energía proviene de los llamados principios inmediatos: hidratos de carbono (HC), proteínas y grasas. El valor calórico total proporcionado deberá ser entre 30-35% para las grasas, entre el 50-60% para los HC y del 15% para las proteínas (118). Estos nutrientes pueden ser oxidados por distintas vías metabólicas para la obtención de energía o bien ser almacenados para su uso energético posterior. Cuando los HC y las grasas predominan en el régimen alimentario, el primer escalón en el suministro energético corresponde a los HC dado su metabolismo más rápido. Mientras que las grasas son almacenadas puesto que precisan de un mayor gasto metabólico (119).

El gasto energético total está determinado por el metabolismo basal, la termogénesis de los alimentos y el ejercicio físico. El gasto energético basal o en reposo representa el 60% del total y es poco modificable, al ser la cantidad de energía necesaria para el mantenimiento del metabolismo basal. El efecto termogénico del metabolismo de los nutrientes constituye el 10% del total. El gasto energético inducido por la actividad física, tanto voluntaria como involuntaria, supone entre el 15 y el 30%, aunque es la más variable según el individuo (120).

En relación al carácter hereditario de la obesidad, la dotación genética, esencialmente de carácter poligénico, se mantiene relativamente estable de forma generacional. Así que, aunque la predisposición genética juega un papel fundamental en el desarrollo de la obesidad, el incremento dramático de la prevalencia demuestra que los factores ambientales y el comportamiento humano suponen un contribuyente mayor a la pandemia que representa esta enfermedad. De entre ellos, la inactividad física y los malos hábitos alimenticios presentan una importancia decisiva (93,124). Ambos favorecidos por los llamados “ambientes obesogénicos”, caracterizados por una industria alimentaria con enorme disponibilidad de alimentos de alta densidad

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

energética, y un desarrollo tecnológico sociolaboral que limita la práctica de ejercicio físico (125).

La regulación del balance energético es dependiente del SNC por medio del eje cerebro-intestino-adipocito, cuyo regulador central es el hipotálamo. Los núcleos laterales hipotalámicos son responsables de la sensación de hambre, mientras que los núcleos ventromediales son los encargados del control de la saciedad. Ambos centros hipotalámicos controlan el equilibrio de la ingesta alimentaria mediante vías neurohormonales, eferentes y aferentes, de tipo orexígeno y anorexígeno (121,122).

A corto plazo, la sensación de hambre es consecuencia del descenso de los niveles circulantes de glucosa y ácidos grasos, asociado al aumento de los niveles de grelina y su potente efecto orexígeno. Mientras que el estímulo de la saciedad va a depender de distintas hormonas gastrointestinales, que a través de fibras vagales aferentes enviarán la información necesaria al núcleo del tracto solitario y a los receptores centrales hipotalámicos. Estas hormonas son principalmente CCK, GLP-1 y PYY (123,124).

La regulación de la ingesta a largo plazo depende principalmente del almacenamiento de grasa mediante señales periféricas y centrales. El principal estímulo periférico anorexígeno depende de la leptina, una adipoquina de 16 kDa codificada a partir del llamado gen Ob. Es secretada por adipocitos maduros, y sus niveles plasmáticos son proporcionales al volumen de ácidos grasos almacenados en los mismos. La leptina atraviesa la barrera hematoencefálica (BHE) y actúa a nivel del núcleo arqueado del hipotálamo tras la unión con su receptor (ObR). A este nivel, estimula la secreción de péptidos anorexígenos, como la POMC y la hormona liberadora de corticotropina (CRH), e inhibe la de NPY, que presenta una acción estimuladora del apetito (125,126). El receptor de leptina pertenece a la familia de receptores de citoquinas clase I, existiendo varias isoformas del mismo. La isoforma ObRb se expresa fundamentalmente a nivel hipotalámico como principal efector de las acciones de la leptina. Las isoformas ObRa y ObRc se localizan en los microvasos de la BHE permitiendo el transporte hormonal al SNC (127,128).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

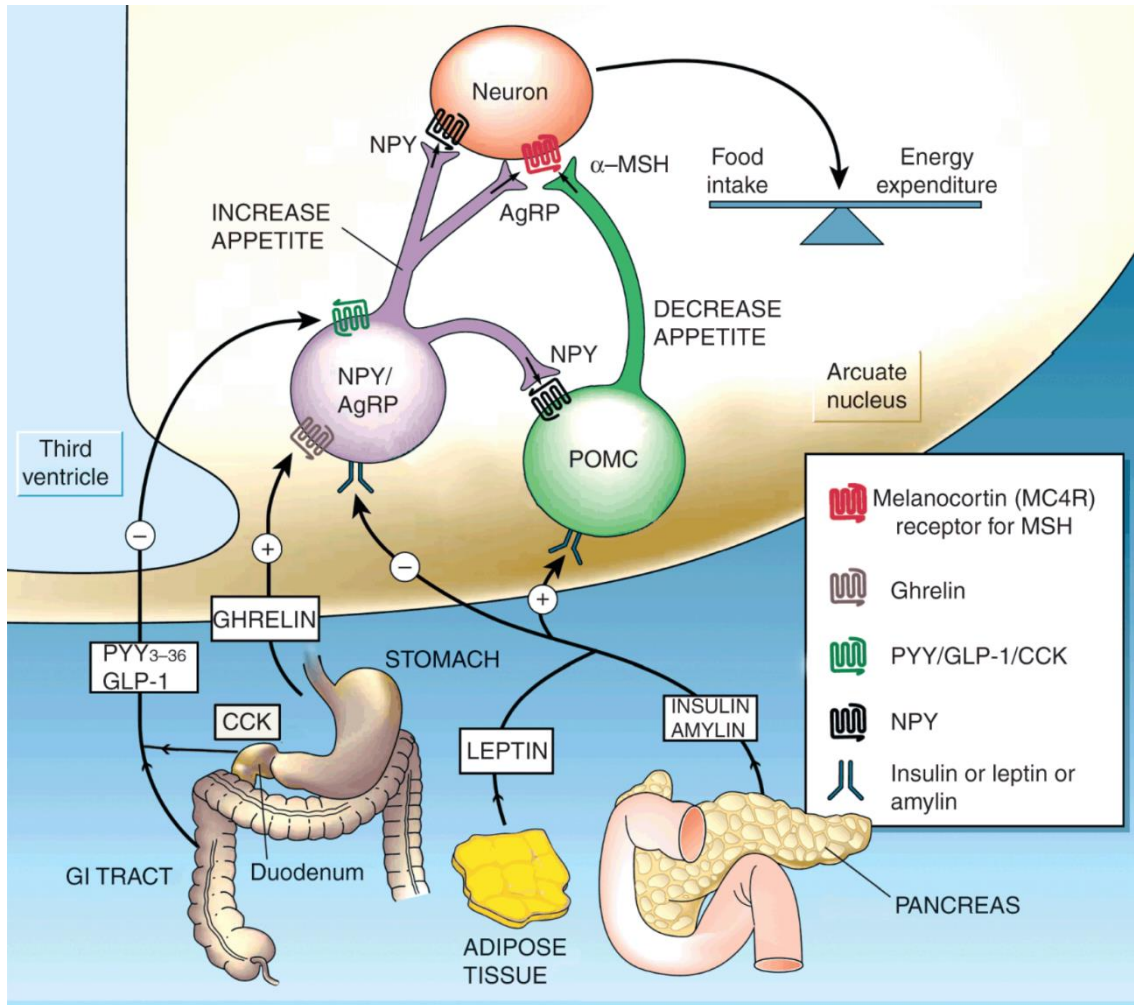


Figura 20. Control hipotalámico del balance energético a través del eje cerebro-intestino-adipocito (Wilkinson M, Imran SA. Neuroendocrine Regulation of Appetite and Body Weight. In: Clinical Neuroendocrinology: An Introduction [Internet]. Cambridge University Press; 2018. p. 53–74. Disponible en: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/9781108149938%23CN-bp-4/type/book_part).

Si nos adentramos en los mecanismos fisiopatológicos de la enfermedad podemos observar que en pacientes obesos los niveles circulantes de leptina están aumentados debido al aumento de la masa de tejido adiposo y a la resistencia a la acción de la leptina en el SNC. Esta resistencia a la leptina es secundaria a alteraciones en el transporte a través de la BHE y/o a disfunción de su receptor (129,130). La leptina parece contribuir al estado inflamatorio característico de la obesidad. Constituye una de las citoquinas del tejido adiposo con actividad proinflamatoria, ya que es capaz de estimular la producción de factor de necrosis tumoral α (TNF- α) e interleuquina 6 (IL-6) en los macrófagos (131).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

Además, también parece ser un factor proinflamatorio en adipocitos, al incrementar ambas citoquinas y disminuir la síntesis de interleuquina 10 (IL-10), una citoquina de tipo antiinflamatorio (132).

Esto nos lleva a dibujar un panorama en el que la obesidad se ve asociada a un cuadro hasta cierto punto inflamatorio. A la vez que nos da una explicación a cerca de ciertas patologías asociadas a la obesidad que constituyen sus principales comorbilidades.

3.3. Enfermedades Asociadas

La obesidad se asocia al riesgo de desarrollar diversas comorbilidades, tales como DMT2, hipertensión arterial (HTA), enfermedades cardiovasculares, dislipemia, trastornos respiratorios y musculoesqueléticos, así como ciertos tipos de cánceres (133). Tanto el desarrollo como la progresión de estas enfermedades depende directamente del grado y tiempo de evolución de la obesidad. Cuanto mayor es el grado y el tiempo establecido mayor es la tasa de morbimortalidad por estas patologías asociadas. No obstante, una pérdida de peso conlleva una mejora o desaparición de la mayoría de las enfermedades asociadas, con el consiguiente aumento de la esperanza de vida de los pacientes afectados (134). Entre las comorbilidades con mayor prevalencia para la obesidad destacamos el síndrome metabólico y la diabetes mellitus tipo 2.

3.3.1. Síndrome Metabólico (SM)

El SM, llamado síndrome X o de Reaven, consiste en un desorden metabólico caracterizado por un conjunto de trastornos físicos y bioquímicos, que incluyen la obesidad, la DMT2, la HTA y la dislipemia, asociados a un estado proinflamatorio y protrombótico crónico (135). La resistencia a la insulina (RI) se considera la base fisiopatológica subyacente del SM, mientras que el exceso de peso es el principal factor de riesgo para su desarrollo (136,137). En el estudio NHANES III, el SM estaba presente en el 60% de los pacientes con obesidad, en el 22% con sobrepeso y en el 5% con normopeso (138). En este sentido, la obesidad abdominal o central es por sí sola determinante en la aparición del SM y requisito indispensable para su diagnóstico, según los criterios de definición del SM establecidos por la International Diabetes Federation (IDF) (Tabla 2) (137).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

Obesidad Central: definida como un aumento de la CC específico para cada grupo étnico. En caucásicos se considera como tal:

- CC \geq 94 cm en hombres y CC \geq 80 cm en mujeres
- * Si el IMC $>$ 30 kg/m² puede asumirse la obesidad central sin medir la CC

Más de dos de los siguientes cuatro factores de riesgo:

- Nivel de triglicéridos \geq 150 mg/dl (1,7 mmol/l), o tratamiento específico
- Nivel de colesterol HDL $<$ 40 mg/dl (1,03 mmol/l) en hombres y $<$ 50 mg/dl (1,29 mmol/l) en mujeres, o tratamiento específico
- TA sistólica \geq 130 mmHg o TA diastólica \geq 85 mmHg, o tratamiento para la HTA previamente diagnosticada
- Glucosa plasmática en ayunas $>$ 100 mg/dl (5,6 mmol/l), o DM2 previamente diagnosticada

Tabla 2. Definición Mundial del SM según criterios de la IDF (Alberti KGMM, Zimmet P, Shaw J. Metabolic syndrome-a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. Diabet Med [Internet]. 2006 May;23(5):469–80. Disponible en <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1464-5491.2006.01858.x>).

3.3.1.1. Fisiopatología del SM

En la fisiopatología del síndrome metabólico subyace, como hemos mencionado, la síntesis y secreción por los distintos tipos celulares presentes en el tejido adiposo de péptidos bioactivos llamados adipoquinas, pertenecientes a la familia de las citoquinas. Con capacidad antiinflamatoria como la adiponectina, IL-10 y visfatina, y otras con

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

actividad proinflamatoria, vasoactiva y procoagulantes entre las que destacan TNF, IL-6, leptina o resistina (139).

En el paciente obeso, debido al balance energético positivo, el tejido adiposo presenta un aumento en el número (hiperplasia) y en el tamaño (hipertrofia) de los adipocitos (140). El mecanismo fisiológico de compensación inicial del exceso energético será la hiperplasia del tejido adiposo subcutáneo. Sin embargo, una vez sobrepasado el umbral de almacenamiento de éste, se va a producir un acúmulo de grasa a nivel visceral, que al presentar menor capacidad adipogénica responde al excedente energético con hipertrofia (141,142).

La disfunción del tejido adiposo por hipertrofia e hiperplasia provoca una oxidación de los AG almacenados en los adipocitos con un aumento considerable de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno como el ion superóxido y el óxido nítrico (NO) respectivamente, que desembocan en el denominado estrés de retículo celular. Este estrés celular determina un incremento en la secreción de adipoquinas proinflamatorias y descenso en los niveles de adipoquinas antiinflamatorias (143).

Además algunas adipoquinas proinflamatorias son quimiotácticas para monocitos y favorecen un mayor infiltrado de macrófagos y células endoteliales, con incremento de la fibrosis e inflamación (144). Por último, aquellos adipocitos localizados en zonas alejadas a los vasos sanguíneos sufren hipoperfusión, hipoxia y posterior necrosis, siendo eliminados por células fagocíticas que contribuyen a dicha inflamación (143). Esta situación en el tejido adiposo conlleva la instauración de un estado de inflamación crónica que sucede con mayor intensidad en la grasa visceral que en la subcutánea y, que junto con el incremento de ácidos grasos libres (AGL) circulantes y la lipotoxicidad derivada, serán responsables de la aparición de la RI (145,146).

La pérdida de peso, por contra, es capaz de reducir el estrés celular oxidativo en el contexto de este SM con el consiguiente descenso de la resistencia a la insulina. Todo ello debido al descenso de la lipotoxicidad por reversión de los mecanismos descritos (147).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

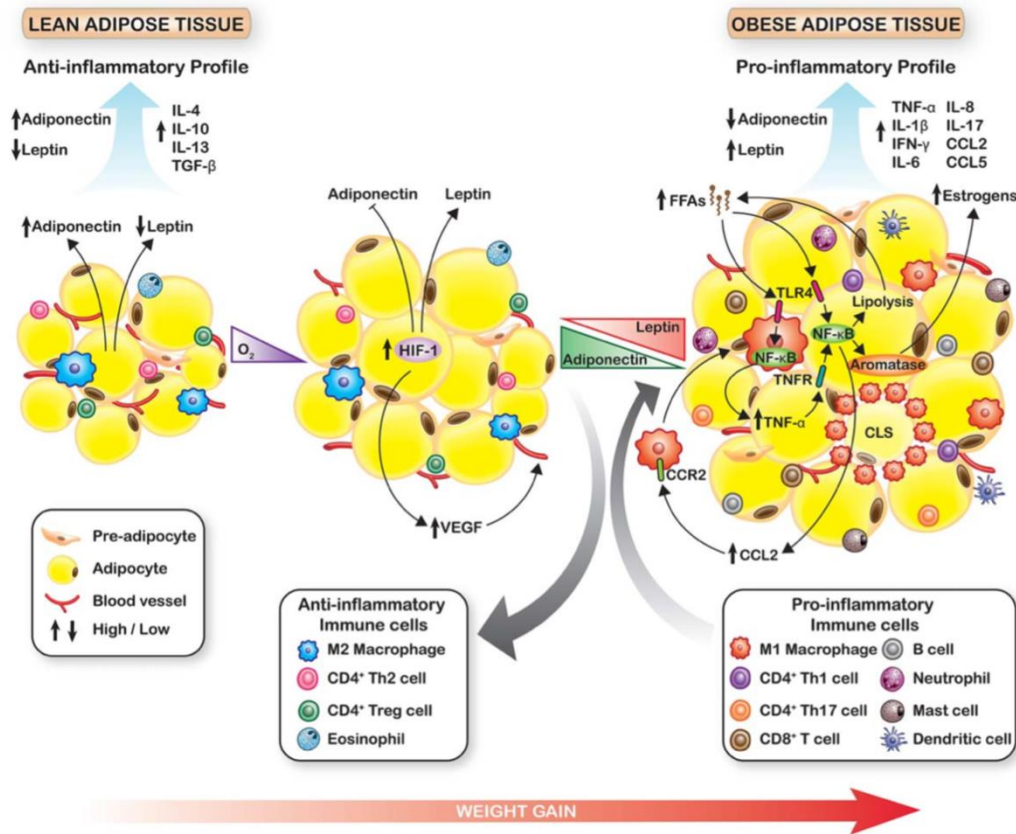


Figura 21. Status inflamatorio crónico subyacente en el SM durante la ganancia ponderal. Durante la expansión del tejido adiposo tiene lugar un estado de hipoxia celular que determina una mayor expresión de leptina en detrimento de adiponectina. Este disbalance, junto con la necrosis de adipocitos y el incremento de AGL, promueve la infiltración de células proinflamatorias responsables de un incremento de citoquinas inflamatorias favorecedoras de la lipólisis y liberación de AGL (Picon-Ruiz M, Morata-Tarifa C, Valle-Goffin JJ, Friedman ER, Slingerland JM. Obesity and adverse breast cancer risk and outcome: Mechanistic insights and strategies for intervention. CA Cancer J Clin [Internet]. 2017 Sep;67(5):378–97. Available from: <http://doi.wiley.com/10.3322/caac.21405>).

3.3.2. Diabetes Mellitus Tipo 2 (DMT2)

En un lugar destacado dentro de las comorbilidades de la obesidad podríamos definir la DMT2 como una afección clínica crónica caracterizada por una alteración del metabolismo de los hidratos de carbono, causante de un estado de hiperglucemia crónica asociada a disfunción de tejidos y órganos, con el consiguiente aumento de la

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

morbimortalidad (148). Según la American Diabetes Association (ADA), comprende un grupo de trastornos metabólicos caracterizados por la hiperglucemia secundaria, la falta de secreción de insulina y/o defecto de su acción en tejidos diana (149).

La DMT2 se asocia con una alta frecuencia a la obesidad, estando presente hasta en el 90% de los pacientes diabéticos (150). Es la conocida como diabetesidad, es decir, la conjunción de obesidad y DMT2 en un mismo paciente. En general, un IMC > 25 kg/m² es un factor que multiplica por 3 dicho riesgo, por 20 con un IMC > 30 kg/m² y por 40 con un IMC > 35 kg/m² (151,152).

En este sentido, aunque la DMT2 es más frecuente en adultos mayores, se evidencia cada vez más en niños y adultos jóvenes en relación con los niveles crecientes de obesidad infantil. Consecuencia de la falta de actividad física y el incremento de dietas poco saludables con alto contenido de carbohidratos (153–155).

3.3.2.1. Fisiopatología de la DMT2

En la etiopatogenia de la DMT2 encontramos varios órganos implicados. Son el páncreas, el hígado, el músculo esquelético y el tejido adiposo. Siendo varios los mecanismos principales que explican su desarrollo natural. Entre estos factores encontramos:

- **Resistencia a la Insulina (RI)**

Consiste en una disminución de la sensibilidad a la acción de la insulina en los diferentes tejidos periféricos. Principalmente el hígado, aunque también el músculo esquelético y el tejido adiposo (156). Para compensar el defecto en la acción de la insulina y disminuir la hiperglucemia, se produce un aumento de la secreción de insulina por parte de las células beta del páncreas. Sin embargo, la alta y progresiva demanda metabólica sobre las células beta, conduce a su disfunción y posterior fracaso. Las principales hipótesis que explican este fallo en la célula beta son: el agotamiento derivado de la hipersecreción de insulina; y factores externos responsables tanto de la propia RI como de la lesión celular, caso de la glucotoxicidad y la lipotoxicidad (157,158).

Además, la hiperinsulinemia establecida a consecuencia de la RI determina una secreción inadecuada y excesiva de glucagón por ausencia de freno postprandial. Esto

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

conlleva una producción excesiva de glucosa a nivel hepático por aumento de la gluconeogénesis (159).

- **Glucotoxicidad**

La hiperglucemia crónica tiene efectos deletéreos en la función de la célula beta pancreática, con alteración en la síntesis y secreción de insulina, y en la sensibilidad periférica a dicha hormona. Esto determina concentraciones plasmáticas de glucosa elevadas de manera mantenida, y no tolerables por la propia célula beta, que afectan negativamente a su supervivencia (160,161). Las principales causas que determinan el proceso de apoptosis y/o dediferenciación a otros linajes celulares de la población beta serán: la pérdida gradual de la expresión del gen de insulina y el estrés oxidativo crónico secundario a altas concentraciones de NO inducidas por citoquinas proinflamatorias como la interleuquina 1 (IL-1) (162). Alteraciones de la membrana mitocondrial inducidas por el NO a nivel del complejo multiproteico poro-PT, responsable de la permeabilidad iónica lo que lleva a la salida de factores apoptogénicos como el citocromo C y el factor inductor de apoptosis. Incremento en la acetilación de histonas por la Tricostatina A, un inhibidor de las histonas desacetilasas (HDAC) (163). Y por último, el estrés crónico del retículo endoplásmico con el consiguiente descenso en la traducción de la proinsulina y la degradación de ARN mensajero de insulina (164).

- **Lipotoxicidad**

Junto con la glucotoxicidad, es el principal contribuyente al desarrollo de la RI. Se caracteriza por un aumento de las concentraciones de AGL circulantes, derivados de la lipólisis de triglicéridos del tejido adiposo o de la hidrólisis de las lipoproteínas VLDL. El exceso de AGL en sangre promueve su captación y oxidación por parte de los tejidos periféricos sensibles a la insulina (165–167).

En el caso del músculo esquelético tiene lugar una reducción tanto de la captación de glucosa como de la síntesis de glucógeno. La menor sensibilidad a la glucosa se produce debido al incremento de las concentraciones de diacilglicerol (DAG), un éster de acil-CoA de cadena larga, que activa isoformas de la proteína quinasa C que lleva a una alteración en la fosforilación de IRS-1 con la consiguiente afectación del transporte

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

de glucosa mediado por GLUT-4. También se produce una caída en la tasa de glucogenosíntesis por una menor fosforilación del enzima glucógeno sintetasa (168).

A nivel hepático se produce un aumento de la producción de glucosa con una inhibición de la captación de glucosa extracelular por el hepatocito, y un incremento de la neoglucogénesis por activación de la acetil-CoA y su función estimulante de la enzima piruvato carboxilasa. Además, los altos niveles de AGL favorecen la producción de lipoproteínas VLDL (169,170).

En el páncreas, el exceso de AGL determina un acúmulo de metabolitos tóxicos en los islotes de las células beta con efectos deletéreos sobre la síntesis y secreción de insulina al estímulo de la glucosa (171,172).

- **Glucolipotoxicidad**

Ambos procesos, glucotoxicidad y lipotoxicidad, interactúan e intensifican los daños estructurales y funcionales sobre la célula beta y el resto de los órganos sensibles a la insulina. Es lo que se ha denominado glucolipotoxicidad, dada la interrelación entre los metabolismos de los hidratos de carbono y de los ácidos grasos (173). Las concentraciones elevadas tanto de glucosa como de AGL de forma conjunta provocan una disfunción en la respuesta adaptativa y en la capacidad detoxificadora de la célula beta, que determina su estrés y su camino hacia la apoptosis o hacia la dediferenciación. En estos estados de hiperglucemia, el exceso de AGL se metaboliza por proceso de esterificación con el consiguiente acúmulo de ésteres de acil-CoA de cadena larga en el citoplasma de la célula beta, principalmente DAG (174,175). Asimismo, las concentraciones intracelulares de malonil-CoA, precursor de la síntesis de AG, depende de los niveles intracelulares de glucosa. Y la enzima encargada de la síntesis de malonil-CoA o acetil-CoA carboxilasa es codificada por un gen regulado por la propia glucosa (176).

Esto parece indicar que, si bien la hiperlipemia es suficiente para causar la lipotoxicidad, se ve potenciada por el aumento progresivo de la glucemia. Impidiendo el estrés celular creciente desarrollar la respuesta adaptativa por parte de la población celular beta (177).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

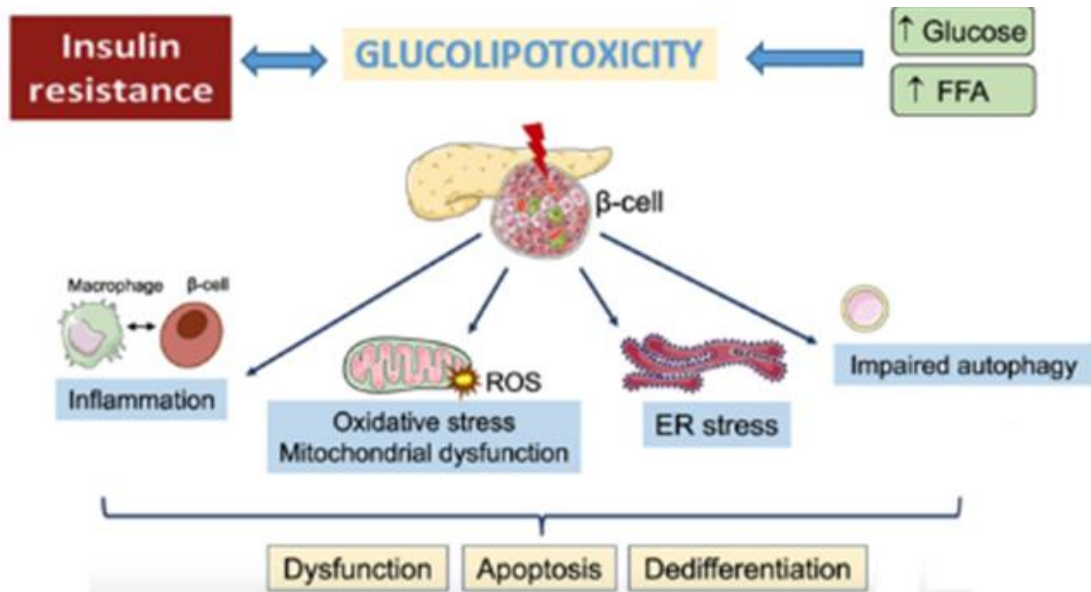


Figura 22. Mecanismos moleculares asociados a la glucolipototoxicidad en la célula beta pancreática. La hiperlipemia e hiperglucemia, en un estado de resistencia a la insulina, son responsables de un estado de estrés en la propia célula beta. Estos mecanismos de estrés, entre los que destacan la inflamación, la disfunción mitocondrial y el estrés oxidativo y del retículo endoplásmico, promueven la disfunción de la célula beta, incluso su apoptosis y dediferenciación celular (Modificada de Lytrivi M, Castell A-L, Poitout V, Cnop M. Recent Insights Into Mechanisms of β -Cell Lipo- and Glucolipototoxicity in Type 2 Diabetes. J Mol Biol [Internet]. 2020 Mar;432(5):1514–34. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022283619305716>).

- **Masa Celular Beta Remanente**

La masa de células beta pancreáticas es el resultado del balance entre múltiples mecanismos regulatorios. Entre ellos destacan la proliferación (replicación de células preexistentes en los islotes), la neogénesis (diferenciación a partir de células precursoras en los islotes) y la apoptosis (muerte celular programada). Estos mecanismos están implicados en el recambio fisiológico de los islotes pancreáticos para permitir la adaptación de la masa beta.

De esta forma, un factor importante en la patogénesis de la DMT2 es la reducción de la población beta pancreática por agotamiento. En pacientes obesos diabéticos, para compensar la RI y asegurar un correcto control glucémico, se produce un incremento

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

del volumen total de células beta a expensas de una mayor proliferación y neogénesis. Sin embargo, superada la capacidad de compensación, tiene lugar una disminución de la masa beta pancreática por aumento de la apoptosis y un menor grado de proliferación y/o neogénesis (178,179). En personas obesas la masa beta aumenta hasta un 50% respecto a no obesos. Y aquellos pacientes diabéticos presentan una disminución de la población celular del 60%, observándose un grado de apoptosis 10 veces mayor (180).

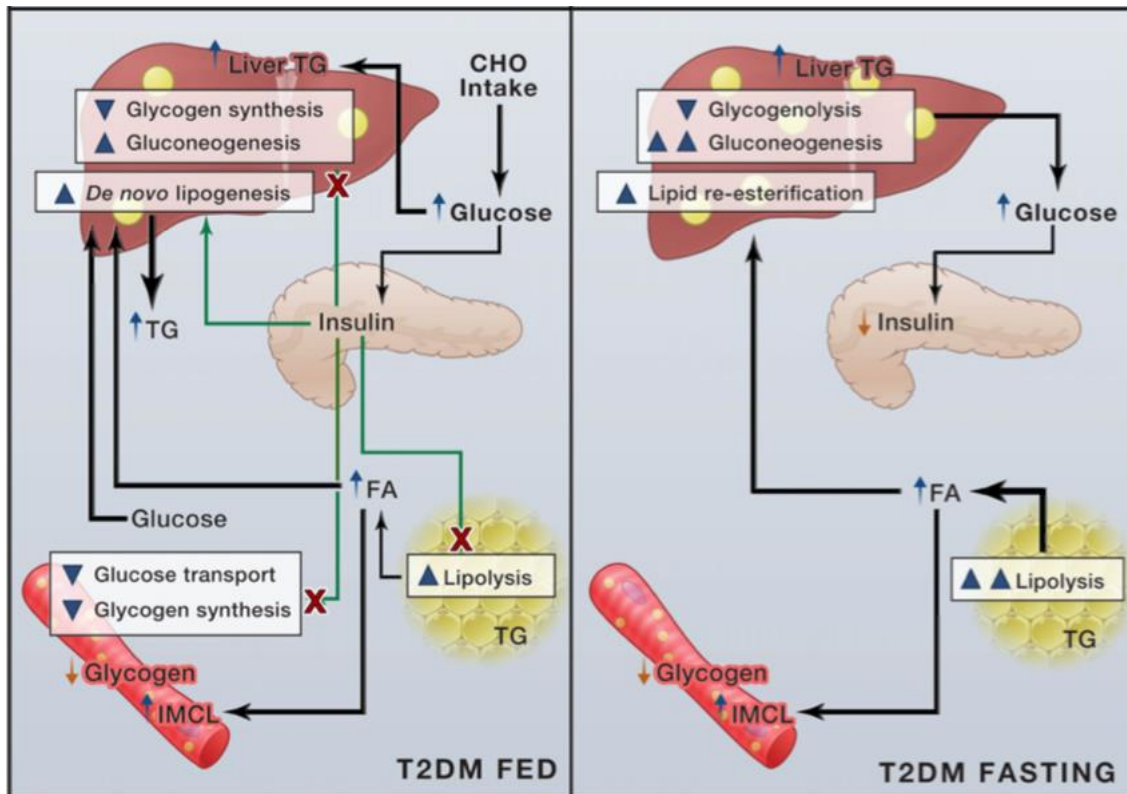


Figura 23. Fisiopatología de la DMT2. En la DMT2 la causa de hiperglucemia radica en una pérdida de sensibilidad o RI por parte de sus tejidos diana (hígado, músculo esquelético y grasa). En un principio, la persistencia de niveles elevados de glucosa en sangre deriva en un incremento en la secreción de insulina a fin de mantener la glucemia en un rango normal. Pero con el tiempo, la capacidad de producción compensatoria de las células beta es insuficiente para reducir el estado de hiperglucemia. Debido al mal funcionamiento progresivo de estas ante las altas demandas soportadas, con la pérdida de hasta el 60% de las mismas. Y la imposibilidad de la población celular restante para contrarrestar el déficit relativo de insulina (Samuel VT, Shulman GI. Mechanisms for Insulin Resistance: Common Threads and Missing Links. Cell [Internet]. 2012 Mar;148(5):852–71. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867412002176>).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

4. CIRUGÍA BARIÁTRICA

4.1. Introducción

La cirugía bariátrica (CB), derivada del griego “baros” (pesado) y el latín “iatrein” (tratamiento) (181), se ha consolidado como una alternativa válida y efectiva para el tratamiento de la obesidad y sus comorbilidades. El tratamiento quirúrgico de la obesidad, independientemente del tipo de procedimiento bariátrico, es la alternativa más efectiva y duradera en el tratamiento de la obesidad en comparación con la terapia convencional. La combinación de tratamiento dietético junto a modificaciones del estilo de vida, principalmente el ejercicio físico, puede conseguir pérdidas de sólo un 10% del peso corporal a medio plazo, pudiendo alcanzar el 15% con la ayuda de tratamiento farmacológico. Sin embargo, a largo plazo prácticamente la totalidad de los pacientes vuelven a recuperar el peso en un plazo inferior a 5 años (182–184).

Las indicaciones de CB actualmente están bien definidas, en base a los criterios tradicionales establecidos en 1991 en la primera reunión de consenso del National Institutes of Health (NIH) (185). Diversas asociaciones internacionales como la ASMBS (American Society for Metabolic & Bariatric Surgery), la IFSO (International Federation for the Surgery of Obesity and Metabolic Disorders) y la EASO (European Association for the Study of Obesity); y españolas como la SECO (Sociedad Española de Cirugía de la Obesidad) y la SEEDO (Sociedad Española de Obesidad), sugieren con alto nivel de evidencia la indicación quirúrgica en pacientes adultos con IMC mayor de 40 o con IMC mayor de 35 y la presencia de comorbilidades, tales como DMT2, HTA, SAOS e ICC, y siempre que cumplan unos criterios de selección establecidos (Tabla 3). En la actualidad, estas mismas asociaciones admiten que la CB puede estar indicada en pacientes con obesidad grado I (IMC 30 – 34,9 kg/m²) y DMT2 y/o SM que no alcanzan una adecuada y prolongada pérdida ponderal y no están correctamente controlados con cambios en el estilo de vida y con tratamiento médico dado el importante beneficio a corto y medio plazo de la CB (103,186–189).

En este mismo sentido, en el año 2015 se establecieron una serie de recomendaciones para el tratamiento de la DMT2 derivadas del “Second Diabetes Surgery Summit” (DSS-II). Este documento de consenso, definió que debe considerarse la indicación de cirugía metabólica (CM) para el tratamiento de la DMT2 en aquellos pacientes con un IMC entre

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

30 y 34,9 kg/m² que presentan un control glucémico inadecuado a pesar de un estilo de vida óptimo y terapia médica adecuada (190).

- Edad entre 18 y 60 años
- IMC \geq 40 kg/m² o \geq 35 kg/m² con comorbilidades mayores asociadas, susceptibles de mejorar tras pérdida ponderal
- Obesidad Mórbida establecida durante al menos 5 años
- Fracaso continuado a tratamientos conservadores de estilo de vida debidamente supervisados
- Ausencia de trastornos endocrinos que sean causa de obesidad
- Estabilidad psicológica
 - Ausencia de abuso de alcohol o drogas
 - Ausencia de alteraciones psiquiátricas mayores (esquizofrenia, psicosis), retraso mental, trastornos del comportamiento alimentario (bulimia nerviosa)
- Capacidad para comprender los mecanismos por los que se pierda peso con la cirugía y entender que no siempre se alcanzan buenos resultados
- Capacidad para comprender que el objetivo de la cirugía no es alcanzar el peso ideal
- Compromiso de adhesión a las normas de seguimiento tras la cirugía, con capacidad personal de llevarlas a cabo o apoyo social y familiar que contribuya a una adecuada adherencia
- Consentimiento informado después de haber recibido toda la información necesaria (oral y escrita)
- Evitar la gestación al menos durante el primer año posterior a la cirugía en el caso de mujeres en edad fértil

Tabla 3. Criterios de selección para CB (Lecube A, Monereo S, Rubio MÁ, Martínez-de-Icaya P, Martí A, Salvador J, et al. Prevención, diagnóstico y tratamiento de la obesidad. Posicionamiento de la Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad de 2016. Endocrinol Diabetes y Nutr [Internet]. 2017 Mar;64:15–22. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1575092216301097>).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

4.2. Técnicas de Cirugía Bariátrica

La CB se caracteriza por la utilización de múltiples técnicas quirúrgicas responsables de una alteración anatómica y fisiológica del tubo digestivo con la consiguiente modificación del eje enteroencefálico y del eje enteroinsular. Contribuyendo a la pérdida y mantenimiento del peso a través de los cambios en la regulación de la ingesta y la saciedad consecuencia de los cambios en el perfil neurohormonal (191).

Los diferentes procedimientos bariátricos se clasifican de acuerdo con su mecanismo de acción en técnicas restrictivas, malabsortivas y mixtas. Hasta hace un lustro, los procedimientos más frecuentemente realizados han sido las técnicas de tipo mixto, seguidas de las restrictivas y finalmente las malabsortivas; siendo el bypass gástrico en Y de Roux (RYGB) la técnica bariátrica más realizada, por delante del sleeve gástrico (SG). No obstante, en los últimos 10 años se ha producido un descenso en el número de intervenciones de RYGB. De forma que desde 2014 el SG se ha convertido en la técnica más realizada, dada su gran popularidad en ciertas regiones como Oriente Medio, América del Norte, Asia y Pacífico (192). De esta forma, actualmente y según datos del cuarto Registro Global de la IFSO de 2018, el SG representa el 46% de los procedimientos bariátricos, respecto al RYGB que supone el 38,2% del total. Además, se ha producido un aumento emergente del número de intervenciones de bypass gástrico de una anastomosis (OAGB/MGB), superando a la banda gástrica ajustable (BGAL) como técnica de elección (7,6 y 5% respectivamente) (193,194).

4.2.1. Técnicas Restrictivas

Este tipo de técnicas provocan una reducción de la ingesta alimentaria al disminuir el volumen gástrico total con la consiguiente sensación de plenitud y saciedad temprana. Las principales técnicas restrictivas son la BGAL y el SG.

4.2.1.1. Banda Gástrica Ajustable Laparoscópica (BGAL)

La BGAL se caracteriza por la colocación de una banda de silicona en la porción superior del estómago, justo por debajo de la UEG. De esta forma, se crea un reservorio gástrico de 15-20 ml. La banda está conectada a través de un tubo a un puerto subcutáneo, de

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

forma que la compresión gástrica proximal se puede modificar mediante la infusión de suero salino según la restricción que se quiera obtener.

Se considera la técnica de CB menos invasiva, más segura y completamente reversible. Aunque a corto plazo los resultados son buenos en cuanto a la pérdida ponderal, a largo plazo el porcentaje de pérdida de peso es inferior al 50% y las tasas de complicaciones y reintervención son elevadas. Los resultados metabólicos son inferiores respecto a otras técnicas con una escasa eficacia en la resolución de las comorbilidades (195,196).

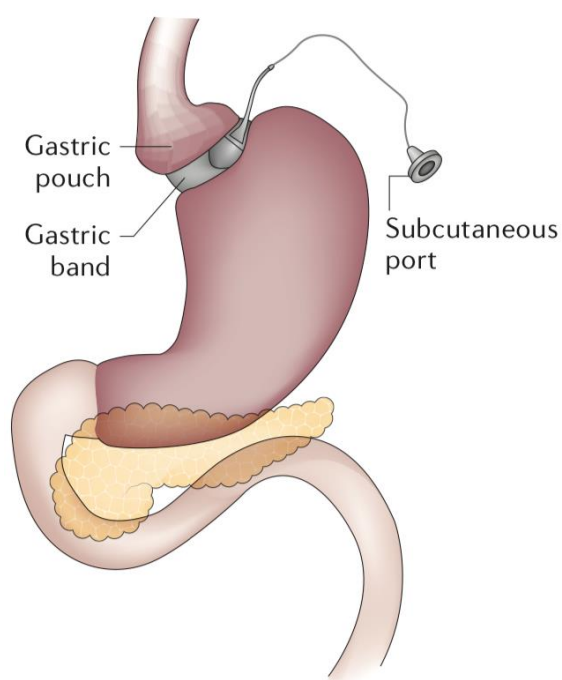


Figura 24. Banda gástrica ajustable laparoscópica (BGAL). Creación del reservorio gástrico mediante la colocación de una banda de silicona a nivel del cardias conectada a un dispositivo subcutáneo (Nguyen NT, Varela JE. *Bariatric surgery for obesity and metabolic disorders: state of the art. Nat Rev Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2017 Mar 30;14(3):160–9. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/nrgastro.2016.170>).

4.2.1.2. Sleeve Gástrico (SG) / Gastrectomía Vertical (GV)

Consiste en la resección de la curvatura mayor y el fundus gástrico (aproximadamente el 80% del estómago) dejando un remanente gástrico estrecho y tubular (60-100 ml) a

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

expensas de la curvatura menor. La disección a través de la curvatura mayor comienza a unos 5-6 cm del píloro y finaliza en el ángulo de Hiss, a 1-2 cm de distancia a la UEG.

Inicialmente, esta técnica fue propuesta como la primera parte (restrictiva) de la derivación biliopancreática con cruce duodenal, y posteriormente como procedimiento único. En concreto, se estableció como el primer tiempo quirúrgico de la diversión biliopancreática del cruce duodenal laparoscópico en pacientes superobesos (IMC > 60 kg/m²) con alto riesgo quirúrgico. Sin embargo, desde entonces se ha consolidado fundamentalmente como técnica bariátrica primaria, única, independiente y definitiva (197,198).

Actualmente, la menor complejidad técnica de esta técnica y los buenos resultados en pérdida de peso y control metabólico han convertido el SG en la primera opción quirúrgica a nivel mundial (194). De hecho, en España y según datos del registro nacional RICIBA de 2015 ha aumentado de un 0,8% a un 39,6% del total de procedimientos bariátricos (199).

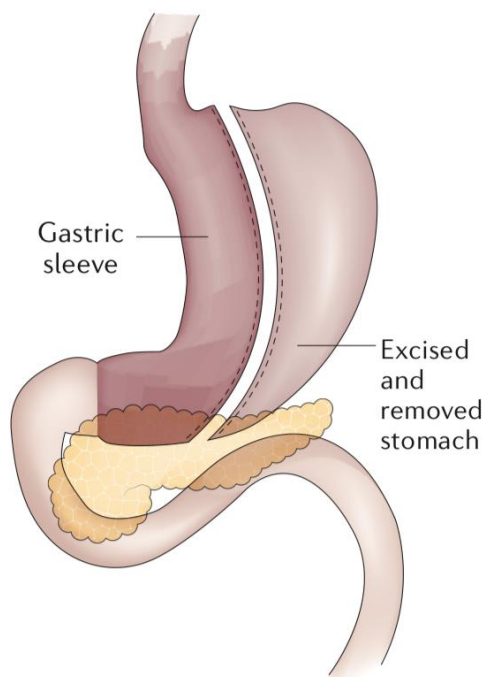


Figura 25. Gastrectomía Vertical (GV). Creación del tubular gástrico tras la resección de la curvatura mayor desde el ángulo de Hiss hasta el antro gástrico (Nguyen NT, Varela JE. *Bariatric surgery for obesity and metabolic disorders: state of the art. Nat Rev Gastroenterol Hepatol [Internet]. 2017 Mar 30;14(3):160–9. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/nrgastro.2016.170>*).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

4.2.2. Técnicas Malabsortivas

El efecto principal que se obtiene con estos procedimientos es la disminución de la absorción de nutrientes al provocar que el bolo alimenticio se entremezcle con las secreciones biliopancreáticas en un segmento corto de intestino delgado y de forma tardía. Se caracterizan por una importante malnutrición calórico-proteica. Entre ellas se incluyen la derivación biliopancreática (DBP) y el cruce duodenal (CD).

4.2.2.1. Derivación BilioPancreática (DBP)

Fue descrita por Scopinaro en 1979. Esta técnica incluye una gastrectomía parcial dejando un remanente gástrico de entre 200 a 500 ml y una sección duodenal a nivel postpilórico. La reconstrucción del tránsito se realiza mediante la anastomosis del reservorio gástrico al íleon (gastroileostomía) con un asa alimentaria en Y de Roux de 200 a 300 cm de longitud medida desde el ciego, cuyo pie de asa se sitúa 50 cm proximal a la válvula ileocecal, conformando un asa común de unos 50 cm de longitud.

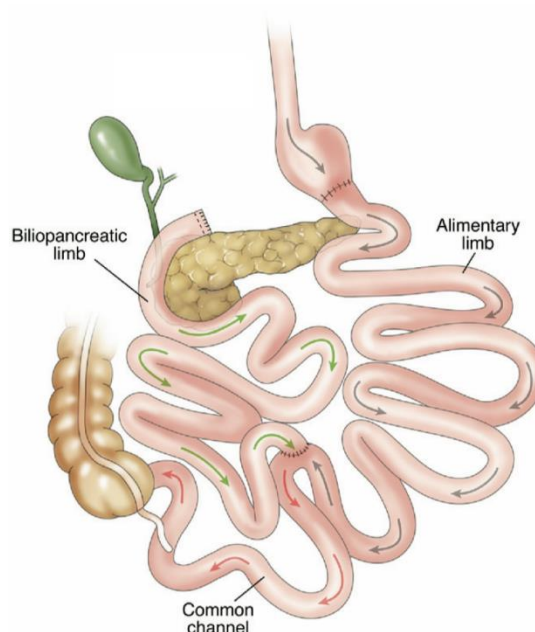


Figura 26. Derivación Biliopancreática de Scopinaro (DBP). Confección de una gastrectomía aproximada del 50-80% seguida de una gastroileostomía y un pie de asa a unos 200-300 cm de la misma y a unos 50 cm de la válvula de Bauhin. (Elder KA, Wolfe BM. *Bariatric Surgery: A Review of Procedures and Outcomes. Gastroenterology* [Internet]. 2007 May;132(6):2253–71. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016508507005835>).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

Existen múltiples variaciones técnicas de la DBP de Scopinaro, entre las que destacan la modificación de Larrad y de Resa.

- **Técnica de Larrad**

Se caracteriza por la confección de un reservorio gástrico más pequeño (gastrectomía subcardial) y una modificación de la reconstrucción intestinal, respetando la longitud del canal común a 50 cm de la válvula ileocecal. Se realiza una gastroyeyunostomía tras sección del yeyuno a 50 cm del ángulo de Treitz, por lo que el canal biliopancreático es más corto (50 cm) y el asa alimentaria más larga (>300 cm de intestino delgado) (200).

- **Técnica de Resa**

Esta técnica fue introducida en el año 2000, y aceptada en 2008 en el Congreso Mundial de Cirugía de la Obesidad como modificación de la DBP. Esta variante prescinde de la gastrectomía distal, con confección de un reservorio gástrico variable entre 100 a 300 cc y un asa común de 60 cm. El asa alimentaria presenta una longitud en torno a 200-300 cm según las características del paciente (201).

4.2.2.2. Cruce Duodenal (CD)

Es una variante de la DBP en la que la gastrectomía parcial es reemplazada por una gastrectomía vertical con preservación pilórica, y se aumenta la longitud del asa común. Como hemos dicho, se caracteriza por ser una gastrectomía con preservación pilórica y una derivación biliopancreática distal con bypass en Y de Roux duodeno-ileal, que consiste en un asa biliopancreática del 50% del intestino delgado, un asa digestiva del 40% y un asa común del restante 10% de la longitud intestinal. De esta forma, se establece un asa alimentaria de 200 a 250 cm y un asa común de 75 a 100 cm desde la válvula ileocecal, con un componente biliopancreático excluido de longitud suficiente para evitar la malnutrición proteica (195,202).

El SADI-S (Single-Anastomosis Duodeno-Ileal bypass with Sleeve Gastrectomy) es una variante técnica tipo CD caracterizada por una única anastomosis al prescindir del pie de asa. Tras la realización de una GV, se procede a la confección de una anastomosis

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

entre la primera porción duodenal y el íleon terminal a 250 cm de la válvula ileocecal. Así, el componente alimentario coincide en su totalidad con el canal común (203).

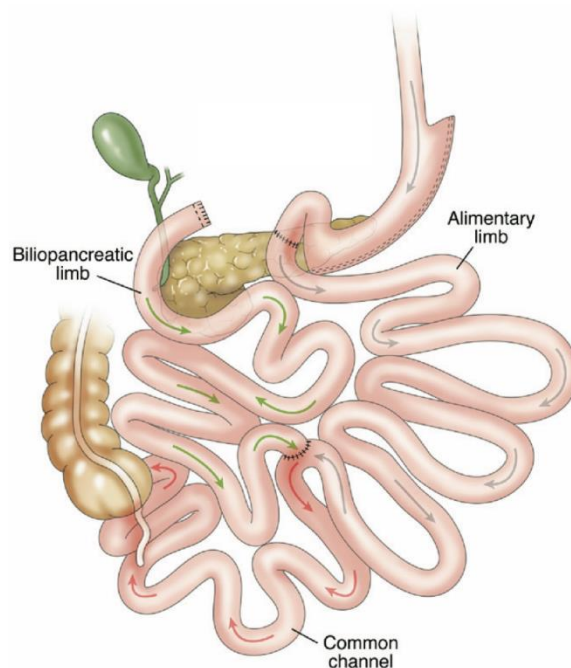


Figura 27. DBP con Cruce Duodenal. *Tras la realización de una manga gástrica con preservación pilórica, se confecciona una duodenoileostomía que determina un asa alimentaria más corta (200-250 cm) y un asa común más larga (75-100 cm) respecto a la DBP (Elder KA, Wolfe BM. *Bariatric Surgery: A Review of Procedures and Outcomes. Gastroenterology [Internet]. 2007 May;132(6):2253–71. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016508507005835>).**

4.2.3. Técnicas Mixtas

Son aquellas que combinan elementos restrictivos y malabsortivos mediante la interposición y movilización de asas intestinales. El principal representante de este tipo de técnicas es el RYGB.

4.2.3.1. Bypass Gástrico en Y de Roux (RYBG)

El RYGB ha sido, hasta hace pocos años, la técnica de CB más utilizada. Es la técnica que mejores resultados de pérdida de peso y control metabólico presenta a mediano y largo plazo, asociado a una baja morbilidad. Así, pese a ser el segundo

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

procedimiento bariátrico más prevalente tras el SG, es considerado el “gold standard” de la CB (195,204)

Este procedimiento fue descrito por Mason en 1967 y desde entonces se han introducido diversas y progresivas modificaciones en la técnica quirúrgica original. Actualmente, el RYGB se basa en la creación de un reservorio gástrico proximal de 15 a 30 ml a expensas de la curvatura menor y una reconstrucción del tránsito intestinal en Y de Roux, tras una división intestinal a 30-50 cm del ligamento de Treitz, mediante un asa alimentaria, un asa biliopancreática y un asa común de longitudes variables. En general no hay consenso respecto a la longitud ideal de las asas, aunque las medidas aconsejadas como más seguras y que aminoran el riesgo de carencia nutricional son un asa alimentaria de 75 a 150 cm y un asa biliopancreática de 60 a 100 cm, con una longitud variable del asa común según la medida de las anteriores (195,205) .

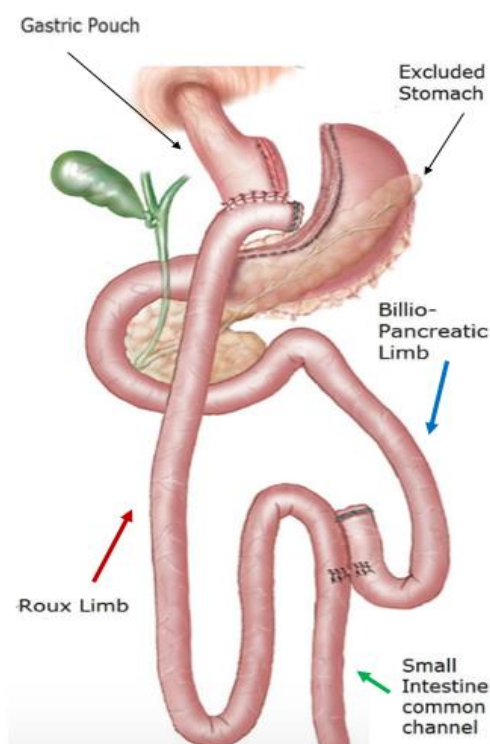


Figura 28. Bypass Gástrico en Y de Roux (RYGB). Confeccionado el remanente gástrico tras la exclusión, se identifican las asas intestinales que componen la Y de Roux: el asa alimentaria (flecha roja) tras la anastomosis gastroyeyunal; el asa biliopancreática (flecha azul); y el asa común tras la anastomosis yeyuno-yeyunal en pie de asa (Nuzzo A, Czernichow S, Hertig A, Ledoux S, Poghosyan T, Quilliot D, et al. Prevention and treatment of nutritional complications after bariatric surgery. Lancet Gastroenterol Hepatol [Internet]. 2021 Mar;6(3):238–51. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2468125320303319>).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

4.2.3.2. MiniBypass Gástrico / Bypass Gástrico Una Anastomosis (MGB/OAGB)

El MBG-BAGUA, denominado Mini Gastric Bypass-One Anastomosis Gastric Bypass (MGB-OAGB) en el mundo anglosajón, es una variante técnica descrita por Rutledge en 1997. Esta intervención consta de una gastrectomía vertical a expensas de la curvatura menor extendida 2-3 cm distal a la panta de ganso, seguida de una gastroyeyunostomía antecólica realizada a 150-250 cm distal al ligamento de Treitz.

Los resultados de pérdida de peso y control de las comorbilidades, especialmente la DMT2, son comparables a los del RYGB y el SG. Además, ha demostrado ser técnicamente sencillo, seguro y reversible (193). En base a ello, el número de intervenciones está aumentando de forma considerable, principalmente en Europa y Asia, convirtiéndose en la tercera técnica de CB más utilizada (194).

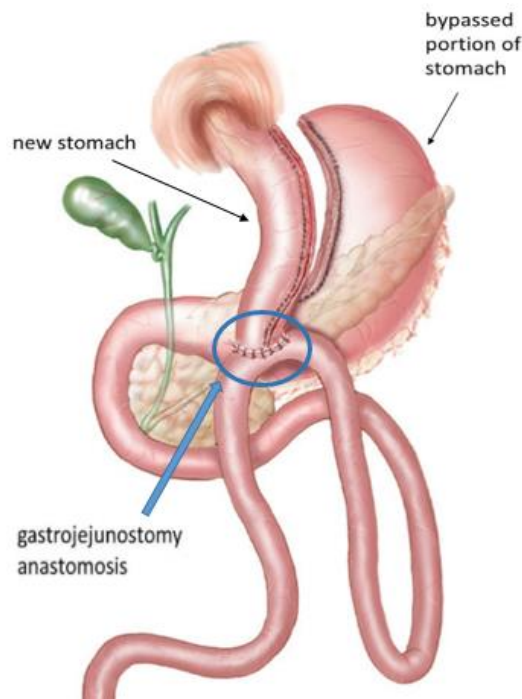


Figura 29. MiniBypass Gástrico / Bypass Gástrico de una anastomosis. Tras la confección del reservorio gástrico a expensas de la curvatura menor, se realiza una única anastomosis gastroyeyunal, entre 150-250 cm distal al ligamento de Treitz, que marca el inicio del asa alimentaria y el final del asa biliopancreática (Nuzzo A, Czernichow S, Hertig A, Ledoux S, Poghosyan T, Quilliot D, et al. Prevention and treatment of nutritional complications after bariatric surgery. Lancet Gastroenterol Hepatol [Internet]. 2021 Mar;6(3):238–51. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2468125320303319>).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

5. CIRUGÍA BARIÁTRICA Y DIABETES MELLITUS TIPO 2. LA CIRUGÍA METABÓLICA

5.1. Introducción

Los diferentes procedimientos de CB permiten, además de una pérdida ponderal significativa y mantenida en el tiempo, una mejoría e incluso resolución de las comorbilidades asociadas a la obesidad, fundamentalmente la DMT2. El efecto metabólico asociado a la CB ha permitido el desarrollo de la llamada CM, mediante la aplicación de distintas variaciones y modificaciones técnicas sobre procedimientos bariátricos (206)

Uno de los primeros estudios en relación con el efecto beneficioso de la CB/CM sobre la DMT2 fue publicado por Pories en 1995. En el estudio se evidenciaba una normalización de los niveles plasmáticos de glucosa en el 83% de los pacientes diabéticos sometidos a RYGB, antes que la pérdida ponderal fuese importante (207). Posteriormente, otros estudios han reafirmado los resultados obtenidos por Pories y las ventajas de la CB sobre el tratamiento no quirúrgico. En primer lugar, los meta-análisis de Buchwald et al. en 2004 y 2009 observaron una resolución de la DMT2 en más del 80% de los pacientes (208,209). En segundo lugar, en el estudio de Mingrone et al. en 2012 la mitad de los pacientes operados (RYGB y DBP) experimentaron la remisión de la DMT2 a los cinco años (210).

Sin embargo, los resultados a largo plazo están aún por determinar, pues la mayoría de estos estudios muestran resultados a corto y medio plazo. El grupo "Swedish Obese Subjects" (SOS) publicó uno de los trabajos más importantes sobre CB y su repercusión clínica a largo plazo. En el estudio de Sjöström et al, que compara dos grupos de pacientes obesos, la remisión de la DMT2 fue significativamente mayor en el grupo quirúrgico respecto al grupo control a los dos años (72,3% vs 16,4%), a los diez años (38,1% vs 5,3%) y a los 15 años de seguimiento (30,4% vs 6,5%) (211). Además, la CB también disminuye la incidencia de nuevos casos de DMT2 en comparación al tratamiento convencional en un 96%, 84% y 78% a los 2, 10 y 15 años de seguimiento respectivamente (212).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

Por otra parte, existe controversia respecto a cuál de las técnicas de CB produce mejores tasas de resolución de DMT2, principalmente entre el RYGB y la SG. En la actualidad, tanto el meta-análisis de Buchwald et al en 2004 como el de Panunzi et al en 2015, proponen como mejores resultados en el control de la homeostasis del metabolismo de la glucosa los observados en aquellos pacientes intervenidos con técnicas malabsortivas o mixtas respecto a los intervenidos con técnicas restrictivas (208,213). En algunas revisiones, el RYGB parece ser más eficaz en relación con la SG (204). Sin embargo, otros estudios no aprecian diferencias entre ambas técnicas bariátricas en relación con el porcentaje de mejoría o remisión de la DMT2 (214).

Estas mismas sociedades científicas elaboraron y aprobaron en el año 2013 un documento de consenso conjunto en base al posicionamiento de la ADA, estableciendo las principales indicaciones de la CM: pacientes con obesidad grado II y DMT2 de difícil control únicamente con terapia convencional; y pacientes con IMC entre 30-35 kg/m² y DMT2 que muestren un deterioro progresivo del control glucémico (HbA1c > 7,5%) a pesar del tratamiento convencional y/o coexistan comorbilidades mayores como HTA, o dislipemia no controladas adecuadamente (188).

5.2. Cirugía Metabólica Experimental

Las principales técnicas que se emplean en CM son modificaciones realizadas a partir de las técnicas utilizadas de CB. Sin embargo, se incluyen otras técnicas bariátricas/metabólicas con un carácter meramente experimental. La investigación clínica presenta importantes limitaciones bioéticas que son solventadas por los estudios experimentales en animales. Los principales animales de experimentación son los roedores (ratas y ratones), tanto sanos como obesos y/o diabéticos. Las ratas más utilizadas en las unidades de cirugía experimental son: Zucker Diabetic Fatty (ZDF), Goto-Kakizati (GK) y Wistar. Las dos primeras son modelos diabéticos no obesos, mientras que el tipo Wistar es un modelo sano normopeso. Por último, también se realizan estudios en cerdos con resultados efectivos (215)

La investigación animal no sólo posibilita la aplicación de estudios de funcionalidad, medición de diversas sustancias y análisis de tejidos. También permite precisar que intervención o combinación de técnicas quirúrgicas van a resultar más beneficiosas y su compatibilidad con estudios en humanos, así como la innovación en técnicas quirúrgicas no reproducibles en la práctica clínica habitual (216).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

Entre los tipos de CM experimental destacan distintas técnicas que afectan en mayor o menor grado a cada uno de los segmentos intestinales. Entre ellas destacan la resección intestinal del 50% (RI50) y la transposición ileal (IT) con o sin SG o RYGB asociada.

La RI50 es una técnica experimental de tipo malabsortivo realizada en modelos de roedor sano entre otros por este grupo. Consiste en una resección del 50% del intestino delgado con preservación del 25% distal al ángulo de Treitz y del 25% proximal a la válvula ileocecal (217). Por su parte, la TI es una técnica semiexperimental, caracterizada por la transposición de un segmento de íleon terminal a nivel del yeyuno proximal (218,219). Esta técnica puede estar asociada al SG (220), aunque también al RYGB (221). El único trabajo en humanos, en este último caso, son las series publicadas por De Paula en las que asocia la IT con el SG, que fueron iniciadas en 2010 en una muestra de 39 pacientes (222).



Figura 30. RI50. Resección del 50% del intestino delgado, excluyendo el duodeno, y preservando el 25% distal al ángulo de Treitz y el 25% proximal a la válvula ileocecal, con posterior anastomosis yeyuno-ileal (Prada-Oliveira JA, Camacho-Ramirez A, Salas-Alvarez J, Campos-Martinez FJ, Lechuga-Sancho AM, Almorza-Gomar D, et al. GLP-1 mediated improvement of the glucose tolerance in the T2DM GK rat model after massive jejunal resection. Ann Anat [Internet]. 2019 May;223:1–7. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30721719>).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

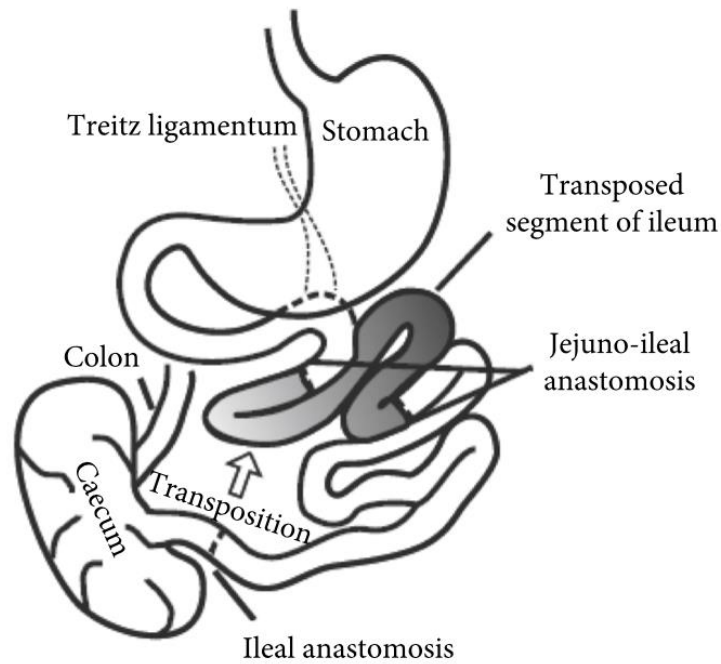


Figura 31. Transposición ileal (IT). Interposición de un segmento de íleon terminal a nivel de yeyuno proximal distal al ligamento de Treitz. Posteriormente, confección de una anastomosis yeyuno-ileal e ileo-ileal (Sawczyn T, Stygar D, Nabrdalik K, Kukla M, Masri O, Magrowski Ł, et al. Effect of Ileal Transposition (IT) on Angiotensin-Like Protein-8 (ANGPTL8) and Pentraxin (PTX3) Plasma Level in Sprague-Dawley Rats Fed High-Fat Diet (HFD). Malendowicz LK, editor. Int J Endocrinol [Internet]. 2021 May 5;2021:1–10. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/ije/2021/6699923/>).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

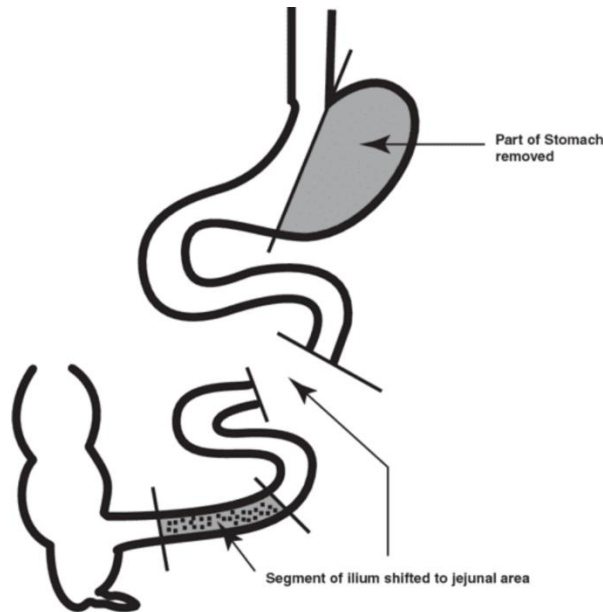


Figura 32. Transposición ileal (IT) asociada a gastrectomía vertical (GV). Tras la confección del tubular gástrico tiene lugar la interposición del segmento de íleon a nivel del yeyuno proximal (Kumar KVSH, Ugale S, Gupta N, Naik V, Kumar P, Bhaskar P, et al. Ileal Interposition with Sleeve Gastrectomy for Control of Type 2 Diabetes. *Diabetes Technol Ther [Internet]*. 2009 Dec;11(12):785–9. Disponible en: <http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/dia.2009.0070>).

5.3. Mecanismos Fisiopatológicos de la Mejora de la DMT2 tras la CM. El Eje Metabólico Enteropancreático.

Como ya hemos mencionado la resolución o mejora de la DMT2 tras el tratamiento quirúrgico sucede antes incluso de que la pérdida ponderal sea importante. Luego la pérdida de peso por se solo explica en parte el beneficio derivado de la CB sobre la homeostasis de la glucemia. Si bien los mecanismos fisiopatológicos responsables de la remisión precoz de la DMT2 tras CB no están del todo establecidos. En este sentido un paso importante fue determinar un marco en el que establecer las investigaciones y posteriores teorías. Este marco lo constituye el eje entero-insular.

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

5.3.1. Eje Enteroinsular

El eje entero-insular es un concepto que describe la interacción o conexión neuroendocrina entre el tubo digestivo y el páncreas por medio de determinadas hormonas gastrointestinales. Fue introducido por Unger y Eisentraut en 1969 en base a los estudios de McIntyre de 1965, en los que se comprobó que la administración enteral de glucosa era un estímulo más potente para la secreción de insulina en comparación con una dosis equivalente de glucosa parenteral. Esta diferencia en la respuesta secretora observada se llamó “efecto incretina”.

Tras estas observaciones, Creutzfeldt en 1985 definió los criterios para que estas hormonas puedan ser consideradas incretinas. En primer lugar, debe ser una hormona liberada por la llegada de nutrientes al intestino delgado. Y, en segundo lugar, estimular la secreción de insulina por el islote pancreático frente a la presencia de hiperglucemia. Los péptidos que inicialmente cumplían mejor estos requisitos fueron el GLP-1 y el GIP entre otras (223,224).

5.3.2. Hormonas Gastrointestinales

Los cambios en la secreción de dichas hormonas gastrointestinales derivados de las modificaciones anatómo-funcionales existentes en el tracto gastrointestinal, y las implicaciones metabólicas de estas hormonas en la homeostasis de la glucosa, suponen la base del reconocimiento del eje entero-insular en el éxito a corto y largo plazo del tratamiento quirúrgico en la resolución de la DMT2. Los pies de esta hipótesis radican en el mejor control glucémico y con mayor duración en el tiempo observado tras intervenciones malabsortivas o mixtas respecto a las técnicas restrictivas (183).

La relación entre los niveles plasmáticos de GLP-1 y la remisión de la DMT2 tras la CB/CM fue establecida pronto (225). Esta relación, ampliamente estudiada se fundamentaba en la elevación plasmática de esta hormona tras la cirugía en pacientes y modelos animales (226,227) y en los efectos de esta última sobre distintos elementos regulatorios del metabolismo hidrocarbonado. Entre ellos la producción de insulina por las células beta sobre la cual tiene una potente capacidad estimulante (78) o la sensibilidad del hígado y tejidos periféricos a la insulina (81). Esto se ha visto reforzado por estudios sobre miméticos como “exenatide” resistentes a la degradación por la DPP4 que presentan una vida media más larga o los inhibidores de DPP4 que prolongan la

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

vida media plasmática del GLP-1 endógeno al inactivar dicha enzima, destacando la “vildagliptina” y la “sitagliptina”. En ambos casos con utilidad terapéutica frente a la DMT2 actualmente (228). No obstante, el papel de GLP-1 en la resolución de la DMT2 tras la cirugía cuenta con detractores que aportan diversas pruebas. Quizás la más contundente sea el trabajo realizado por Mokadem et al. en 2013 donde ratones K.O. para GLP-1 y diabéticos resolvían la DMT2 tras ser sometidos a RYGB (229). Esto, por lo tanto, puede arrojar serias dudas sobre el papel real de GLP-1 en este fenómeno.

Al igual que el GLP-1, GIP es conocido por su actividad incretina al estimular la liberación de insulina pancreática en presencia de concentraciones elevadas de glucosa. También ejerce efectos anti-apoptóticos e induce el crecimiento y proliferación de las células beta pancreáticas (98). Sin embargo, los resultados del efecto de los procedimientos de CM sobre esta hormona son aún contradictorios. Actualmente, existen estudios en los que se ha descrito tanto un aumento como una disminución de los valores del GIP tras realización de RYGB, aunque en teoría la exclusión duodenal llevaría a un descenso de la secreción de esta hormona (230). Parece ser que el efecto insulínico del GIP en pacientes diabéticos es insuficiente para normalizar la hiperglucemia, debido a una reducción de la sensibilidad por una expresión deficiente del GIP-R en las células beta pese a valores de GIP elevados (231).

Recientemente una nueva incretina parece tomar protagonismo en los mecanismos homeostáticos del metabolismo hidrocarbonado. Esta es el PYY, que ha demostrado que es capaz de modular la secreción de insulina y también suprimir la de glucagón a nivel pancreático (232). Se ha observado que la secreción postprandial de PYY está disminuida en sujetos obesos o con antecedentes familiares de DMT2, y que esta alteración podría preceder a la RI (94,233). Además del aumento de los niveles postprandiales tras el SG o el RYGB, y la consiguiente mejora de la sensibilidad a la insulina (94,234,235). Además de este incremento en los niveles plasmáticos, el contenido de PYY en los islotes pancreáticos aumenta después de la cirugía de RYGB en modelos diabéticos (ratas GK). Este mayor incremento de PYY, tanto plasmático como pancreático, puede influir en la función de los islotes, y parece estar mediado por mecanismos relacionados con la MI (94).

Por otro lado, estudios recientes en ratas GK han evidenciado la capacidad del PYY para desencadenar la secreción de GLP-1 actuando como principal enterohormona reguladora de esta y otras hormonas situadas en otras regiones del tubo digestivo como GIP (235). En esta línea, el PYY parece tener un papel principal en la regulación de

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

otras hormonas gastrointestinales, pero no solo a nivel paracrino o endocrino, sino por medio de los denominados “neurópodos”. Estos consisten en unas prolongaciones de las células L que actúan como pseudoaxones permitiendo la liberación de gránulos de PYY en zonas alejadas del íleon como el yeyuno o el duodeno, que activan otras poblaciones celulares enteroendocrinas (236).

Por último y dentro de estas teorías que tratan de explicar los mecanismos subyacentes a la CB/CM juega un importante papel otra incretina: la grelina. En este caso, una enterohormona liberada principalmente en células especializadas similares a X / A del estómago adulto (237). La grelina posee efectos orexígenos y sobre la homeostasis glucídica, siendo un regulador descendente esencial de la liberación de insulina y la supervivencia de las células beta.

Los procedimientos bariátricos más comunes, SG y RYGB son capaces de afectarla. En particular la SG disminuye la grelina plasmática en ayunas y postprandial en comparación con la preoperatoria, porque la principal fuente de grelina en adultos son las células ubicadas en el fundus gástrico extraídas durante este procedimiento (238,239). Sin embargo, sorprendentemente, después de la técnica quirúrgica se ha informado que los niveles de grelina plasmática en ayunas aumentaron en pacientes humanos (240). Posiblemente por la expansión del remanente gástrico o bien como se ha publicado en modelos animales por expansión de la población celular épsilon residual del páncreas como respuesta compensatoria (241).

Independientemente del papel de unos u otras en la regulación del metabolismo hidrocarbonado, otra pregunta que subyace a todo esto es la referida al o los mecanismos que disparan estas variaciones en los niveles plasmáticos y paracrinos de estas incretinas. Variadas hipótesis también hay al respecto entre las que destacamos las hipótesis referentes al tránsito intestinal.

5.3.2.1. Teoría del Intestino Distal

La teoría del intestino distal (hindgut hypothesis) fue propuesta por Rubino et al (242). Esta hipótesis plantea que el rápido tránsito del contenido alimentario y la presencia temprana de este en el intestino delgado distal, secundario a ciertas técnicas quirúrgicas como el RYGB, determina una sobreestimulación de las células L enteroendocrinas con

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

un incremento en la liberación de diversas hormonas, principalmente GLP-1 y PYY (243–245).

El aumento de los niveles plasmáticos de estas enterohormonas estimularía la secreción de insulina y la sensibilidad a la misma en tejidos periféricos, así como una menor apoptosis de células beta pancreáticas (246).

Ensayos en ratas diabéticas no obesas sometidas a RYGB con la consiguiente exclusión duodenal derivada evidenciaba una mejora de la hiperglucemia. Sin embargo, resulta curioso que los roedores sometidos a gastroyeyunostomía con preservación duodenal no mostraban una mejora del área bajo la curva en los test de tolerancia a la glucosa (247). A esto se suma el controvertido papel de GLP-1 en este fenómeno tal y como demostró Mokadem et al (229).

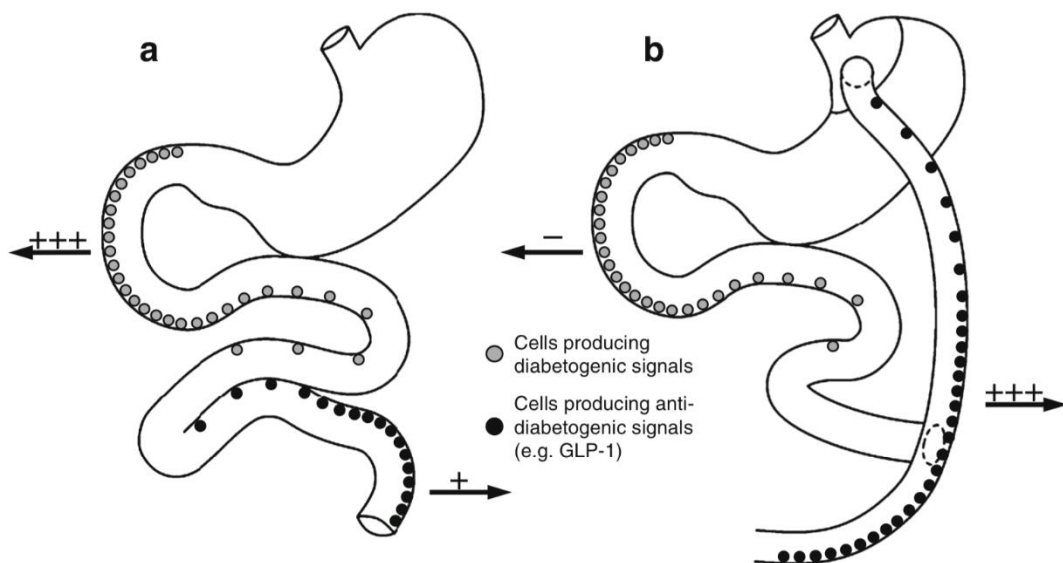


Figura 33. Mecanismos de acción relacionados con la mejora del metabolismo hidrocarbonado según la teoría del intestino distal tras cirugía bariátrica mixta tipo RYGB (B) respecto a la ausencia de cirugía bariátrica (A). Se observa un incremento de incretinas, tipo GLP-1, ante la rápida llegada del tránsito intestinal a segmentos distales. Así como el descenso de las llamadas “anti-incretinas” ante la exclusión de segmentos proximales (Knop FK. Resolution of type 2 diabetes following gastric bypass surgery: involvement of gut-derived glucagon and glucagonotropic signalling? Diabetologia [Internet]. 2009 Nov 1;52(11):2270–6. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00125-009-1511-8>).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

5.3.2.2. Teoría del Intestino Proximal

Esta hipótesis, también llamada “foregut hypothesis”, sugiere que la ausencia de tránsito del alimento a nivel de duodeno y yeyuno proximal derivada de la exclusión de dichos segmentos en procedimientos quirúrgicos tipo RYGB, provoca un descenso en la liberación de factores hormonales que promueven la RI y la DMT2 (247).

Rubino et al. también señalaron la existencia de un “efecto anti-incretina” mediado por péptidos con efecto antagónico y contrarregulador que impide la hipoglucemia generada por las incretinas. Si bien el equilibrio entre incretinas y anti-incretinas sería necesario para el mantenimiento de niveles de glucemia normales, una producción insuficiente de anti-incretinas puede no contrarrestar eficazmente el efecto incretínico, dando lugar a un estado de hiperinsulinemia, hipoglucemia y proliferación celular beta. Sin embargo, un cambio hacia el exceso del efecto anti-incretina podría provocar una secreción inadecuada de insulina y una resistencia a su acción periférica, y la consiguiente aparición de la DMT2 (248–250).

De esta forma, la exclusión del intestino proximal permitiría el descenso de anti-incretinas y su efecto diabetogénico. No obstante, la objeción a esta teoría viene dada por la imposibilidad de concretar cuál es dicho factor diabetogénico. Aunque un posible candidato mediador podría ser el GIP por la situación natural de la mayoría de las células K. No obstante, hasta el día de hoy esto no se ha podido demostrar (97,250,251).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

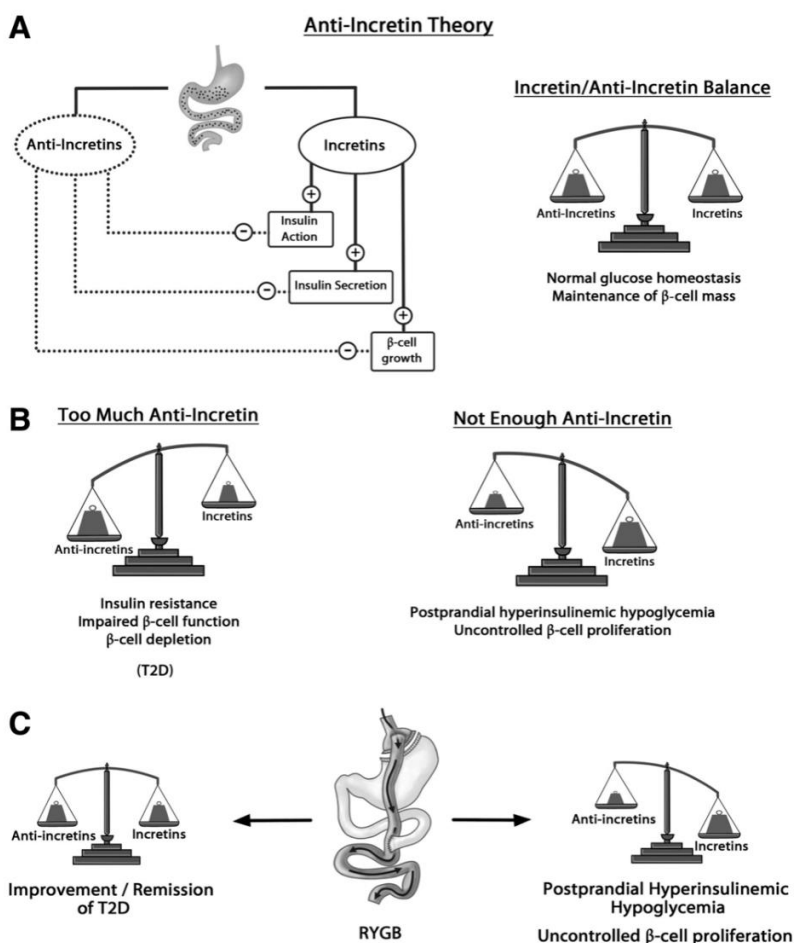


Figura 34. Hipótesis de las “anti-incretinas”. El tránsito de nutrientes a nivel del intestino proximal provoca, además de la secreción de hormonas con efecto incretínico, una respuesta anti-incretínica contrarreguladora para evitar una posible hipoglucemia. Un equilibrio entre las incretinas y anti-incretinas sería necesario para mantener la normoglucemia (A). Un cambio hacia el exceso del efecto anti-incretina desencadenaría DMT2 debido a la disminución de la secreción de insulina secundaria al fallo de la célula beta y a la RI en tejidos periféricos. Sin embargo, una producción insuficiente de anti-incretinas desembocaría en una inadecuada contrarregulación de la respuesta incretina y la consiguiente hiperinsulinemia, hipoglucemia proliferación celular beta pancreática (B). De esta forma, la teoría de las anti-incretinas es un posible modelo para explicar las alteraciones metabólicas del metabolismo hidrocarbonado características de la DMT2. De la misma forma que explicaría los efectos metabólicos secundarios al RYGB responsables de la mejora y/o resolución de la DMT2 (Rubino F, Amiel SA. Is the Gut the “Sweet Spot” for the Treatment of Diabetes? *Diabetes* [Internet]. 2014 Jul 1;63(7):2225–8. Disponible en: <http://diabetes.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/db14-0402>).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

Pero centrar los mecanismos responsables de la resolución de la diabetes tras la CB/CM tan solo en aquellos protagonizados por las hormonas gastrointestinales, sería una simplificación excesiva del problema, ya que también intervienen otros factores de los que ahora hablaremos relacionados con la microbiota intestinal.

5.3.3. Papel de la Microbiota Intestinal (MI)

En el intestino reside un ecosistema microbiano constituido por más de cien billones de células microbianas colonizadoras denominado MI. La mayoría de las bacterias son comensales y desempeñan importantes funciones simbióticas que incluyen la degradación de los polisacáridos no digeridos a ácidos grasos de cadena corta (SCFA) y la biotransformación de los ácidos biliares (AB). En el intestino del humano adulto y sano predominan seis filos bacterianos: Proteobacteria, Fusobacteria, Verrucomicrobia, Bacteroidetes, Actinobacteria y Firmicutes. Los géneros Firmicutes y Bacteroidetes juntos pueden constituir más del 90% de la microbiota total del adulto.

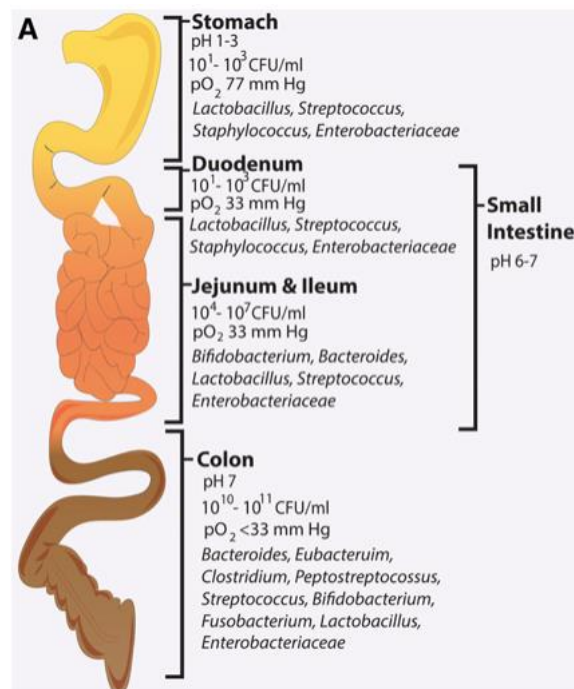


Figura 35. Distribución de las distintas especies bacterianas que componen la MI a lo largo del tracto gastrointestinal. La mayor densidad de especies se identifica a nivel del colon (Clarke G, Sandhu K V., Griffin BT, Dinan TG, Cryan JF, Hyland NP. Gut Reactions: Breaking Down Xenobiotic–Microbiome Interactions. France CP, editor. Pharmacol Rev [Internet]. 2019 Apr 19;71(2):198–224. Disponible en: <http://pharmrev.aspetjournals.org/lookup/doi/10.1124/pr.118.015768>).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

La modulación de la MI está probablemente asociada al desarrollo de enfermedades metabólicas como la obesidad y la DMT2 al influir en la actividad proinflamatoria, la RI y los cambios en distintas hormonas gastrointestinales por medio de mecanismos relacionados con el metabolismo de los AB y/o SCFA (252–254).

Por todo esto se ha señalado la importancia creciente de la modificación de la MI secundaria a los cambios anatomofuncionales inducidos por la CM como causa parcial en la mejora del metabolismo hidrocarbonado (255–257).

5.3.3.1. Microbiota Intestinal y Ácidos Biliares (AB)

A modo introductorio podemos decir que en condiciones fisiológicas, los AB primarios (ácido cólico (CA) y ácido quenodesoxicólico (CDCA)) son sintetizados en el hepatocito a partir de colesterol mediante la enzima 7α -hidroxilasa (CYP7A1). Una vez formados, la mayoría de los AB se conjugan inmediatamente con glicina o taurina mediante acción del enzima AB-CoA aminoácido N-aciltransferasa y son secretados a nivel duodenal. Más del 95% de las sales biliares son reabsorbidas por las células intestinales ileales y regresan a la circulación enterohepática vía portal. Sin embargo, aproximadamente el 5% de los AB escapan a la circulación enterohepática y sufren una biotransformación a AB secundarios en el colon por acción de la MI: el CA se convierte en ácido deoxicólico (DCA) y el CDCA en ácido litocólico (LCA), entre otros (258).

Los AB primarios, durante su circulación se unen y activan el receptor FXR presente en la membrana nuclear de células hepáticas y pancreáticas. Esta activación induce la síntesis y liberación del factor de crecimiento de fibroblastos 19 (FGF-19), que a través de su receptor (FGF-R) a nivel hepático, regula la biosíntesis de AB y el metabolismo de la glucosa. FGF-19 a su vez activa la glucogenosíntesis e inhibe la gluconeogénesis hepática con el consiguiente descenso de las concentraciones de glucosa en sangre. Además, la unión de los AB al FXR estimula la secreción de insulina por las células beta pancreáticas y mejora la sensibilidad a la insulina en otros tejidos periféricos (255).

Por otro lado, la activación del receptor TGR-5, fundamentalmente por ese 5% de AB secundarios, desempeña un papel importante en el metabolismo de los carbohidratos. A nivel pancreático y en tejidos periféricos, la unión de los AB a este receptor provoca los mismos efectos que la unión al receptor FXR. No obstante, TGR-5 también se expresa en la membrana de los macrófagos residentes en distintos tejidos que

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

presentan un marcado efecto antiinflamatorio dentro del contexto de la DMT2. Además, la activación de TGR-5 en las células L del íleon provoca un aumento de la secreción y concentraciones plasmáticas de GLP-1 y PYY (255,259–261). Todo ello constituye en resumen un complejo mecanismo de acción de estos AB.

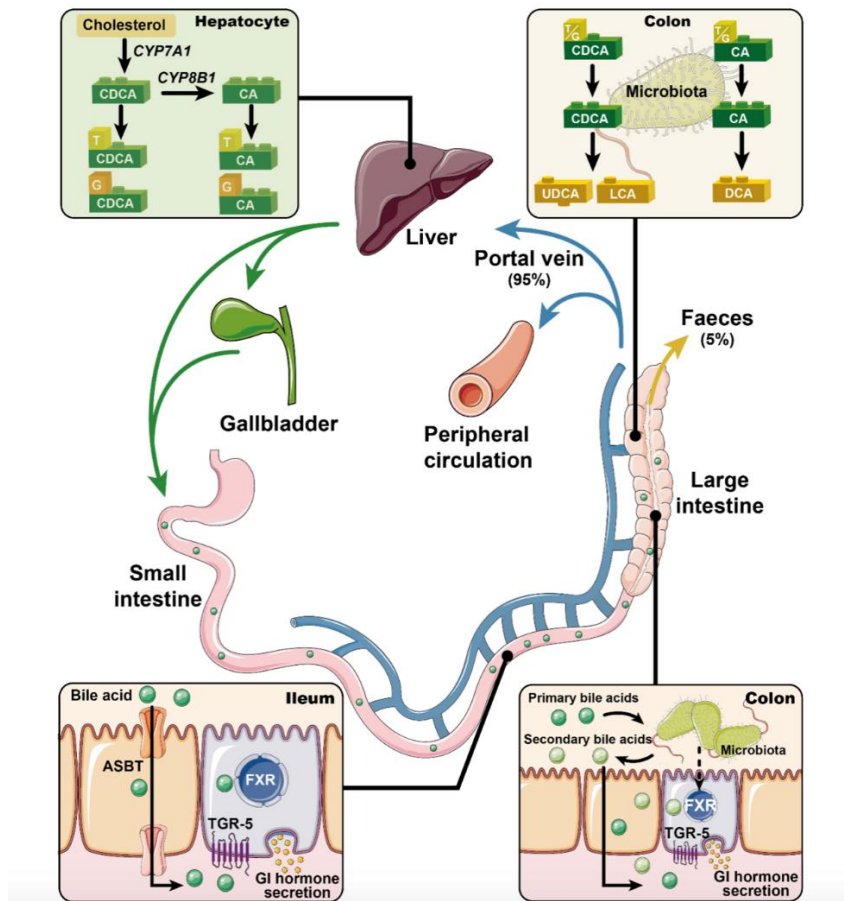


Figura 36. Biosíntesis de los AB, circulación enterohepática y regulación del metabolismo hidrocarbonado mediante la secreción de hormonas gastrointestinales a nivel de íleon. Los AB primarios, sintetizados en el hígado a partir de colesterol y conjugados con taurina o glicina, son secretados a nivel intestinal. La gran mayoría de los AB se reabsorben en el íleon y regresan al hígado vía portal, mientras que el resto son transformados por la microbiota intestinal en AB secundarios. Los AB favorecen la secreción de enterohormonas (GLP-1 y PYY) a nivel de íleon mediante la activación del receptor FXR y/o TGR5 (Xie C, Huang W, Young RL, Jones KL, Horowitz M, Rayner CK, et al. Role of Bile Acids in the Regulation of Food Intake, and Their Dysregulation in Metabolic Disease. *Nutrients* [Internet]. 2021 Mar 28;13(4):1104. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2072-6643/13/4/1104>).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

En este sentido, diversos estudios han objetivado un incremento de las concentraciones de AB totales tras distintos procedimientos de CM, tanto tras técnicas malabsortivas o mixtas que implican una exclusión del intestino proximal, como tras los procedimientos restrictivos, caracterizados por la ausencia de exclusión biliar. Sin embargo, el RYGB y las técnicas malabsortivas producen un mayor aumento de los niveles de AB circulantes y una mayor y más temprana disponibilidad de estos en el intestino distal y reabsorción en el íleon por alteración de la circulación enterohepática. Estos cambios en los niveles séricos de AB se correlacionan positivamente con una mayor liberación de FGF-19 por activación del receptor FXR, y de GLP-1 y PYY mediante la activación de TGR-5 a nivel de las células L ileales (255,262).

Asimismo, como se ha comentado, los AB y la MI presentan una interacción recíproca. La MI modifica tanto los niveles como la composición de los AB, los cuales a su vez presentan un efecto antimicrobiano que provoca cambios en la MI que pueden contribuir a una mayor liberación de GLP-1 y su menor degradación por acción de DPP4. En este sentido se ha podido observar que el tratamiento con “vildagliptina” en ratas diabéticas aumenta los niveles intestinales de Bacteroides y disminuye los de Firmicutes, lo que determina un incremento de los niveles de SCFA (263).

De esta forma, la mejora del control glucémico secundaria a la CM podría venir determinada al menos parcialmente por el mayor incremento de las concentraciones de AB circulantes asociados a las alteraciones en la MI y a las modificaciones consecuentes en la secreción y acción de distintas hormonas GI. Este fenómeno es mayor y más temprano tras técnicas malabsortivas o mixtas que tras técnicas restrictivas, lo que puede estar determinado por un papel más significativo de los AB y la microbiota intestinal en procedimientos que implican la exclusión proximal del intestino (255,262).

No obstante, esta flora microbiana no solo interactúa con los AB también con otros factores como los SCFA como veremos a continuación.

5.3.3.2. Microbiota Intestinal y Ácidos Grasos de Cadena Corta (SCFA)

Los SCFA son los productos principales de la fermentación microbiana de la fibra alimentaria por parte de la microbiota intestinal. Estos comprenden un subgrupo de AG constituidos por cadenas carbonadas de menos de seis átomos de carbono, siendo los

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

más abundantes el acetato, el propionato y el butirato (264). Los SCFA se unen a receptores acoplados a proteína G (GPCR), también llamados receptores de ácidos grasos libres (FFAR), los cuáles se expresan en células L del intestino distal y colon. Entre estos ligandos, destacan: GPR41 (FFAR3) expresado predominantemente en células L del intestino distal y activado principalmente por la unión de butirato y propionato; y GPR43 (FFAR2) en el caso de las células L del colon que se activa fundamentalmente por propionato y acetato (265–267)

La unión de los SCFA a sus receptores estimula la secreción de GLP-1 por las células L enteroendocrinas del íleon y el colon y, al parecer, la liberación de insulina por las células beta pancreáticas (268). Esto explicaría el incremento de los niveles de esta incretina tras la nutrición con fibra dietética suplementaria. En este sentido, la activación del receptor GRP41 y GRP43, también estimula la liberación de PPY (269). Por tanto, un mecanismo responsable de la liberación de enterohormonas en el íleon sería la activación de las células L a través de los SCFA mediada por diferentes dietas ricas en fibra y procedimientos de CM que modulan la composición de la microbiota intestinal. Siendo este un campo importante para su estudio, pero poco abordado hasta la actualidad (270,271).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

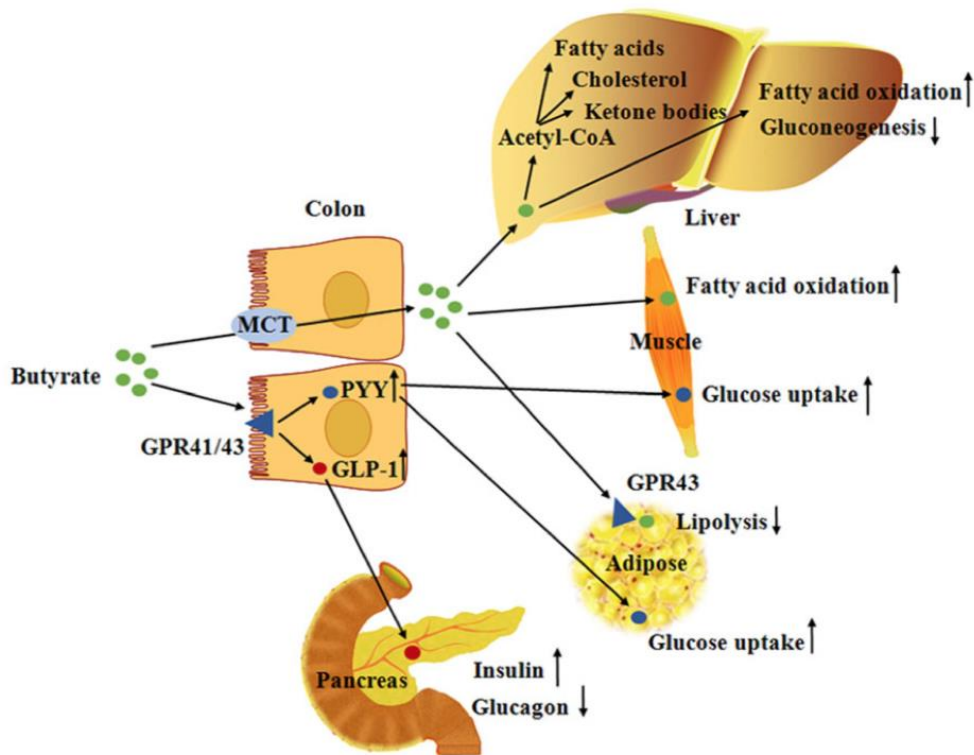


Figura 37. Efecto del butirato (SCFA) en el metabolismo glucolipídico al incrementar los niveles de GLP-1 y PYY mediante la activación de receptores específicos GPR41 y GPR43 en íleon y colon (Liu H, Wang J, He T, Becker S, Zhang G, Li D, et al. *Butyrate: A Double-Edged Sword for Health?* Adv Nutr [Internet]. 2018 Jan 1;9(1):21–9. Disponible en: <https://academic.oup.com/advances/article/9/1/21/4849000>).

Por todo lo descrito nos encontramos un complejo escenario a la hora de abordar los cambios fisiopatológicos que subyacen a la mejora de la DMT2 tras la CB/CM dentro del marco que constituye el eje entero-insular. Parece clara la intervención de las llamadas incretinas. No obstante, los mecanismos que desencadenan la modificación de la expresión y niveles de estas se nos antojan confusos todavía.

En esta línea y con este trabajo intentaremos arrojar luz sobre la importancia de los reordenamientos anatómicos derivados de la CB/CM en relación al tránsito intestinal y su influencia sobre los cambios en los patrones de expresión y secreción de algunas de esas incretinas. Utilizando como base un modelo de roedor sano como la rata Wistar, sometido a una cirugía metabólica experimental que comprende una transposición ileal preduodenal (PDIT).

CAPÍTULO 2. HIPÓTESIS DE **TRABAJO**

CAPÍTULO 2. HIPÓTESIS DE TRABAJO

1. HIPÓTESIS CONCEPTUAL

La acción mecánica del tránsito temprano del alimento por el segmento ileal transpuesto a nivel preduodenal derivada de nuestra técnica quirúrgica experimental (PDIT) en un modelo de roedor sano, como la rata Wistar, es capaz de modificar la secreción de enterohormonas asociadas a dicho segmento intestinal: Glucagon Like Peptide-1 (GLP-1) y Peptide Tyrosine-Tyrosine (PYY). Así como las interacciones de estas con otras incretinas, propias de otros segmentos del tubo digestivo tales como Gastric Inhibitory Polipeptide (GIP.)

2. HIPÓTESIS OPERATIVAS

- A.** En nuestro modelo PIDT la intensidad y patrón de secreción de enterohormonas ileales GLP-1 y PYY es inversamente proporcional al grado de digestión del alimento y al tiempo transcurrido desde su ingesta hasta la llegada al mismo.
- B.** Las variaciones en la secreción de las enterohormonas GLP-1 y/o PYY son capaces de afectar a la expresión y secreción de otras enterohormonas tales como GIP en el tubo digestivo de nuestro modelo.
- C.** Las modificaciones en la expresión y secreción de GLP-1 y/o PYY en nuestro modelo PDIT son capaces de influir directa o indirectamente en la homeostasis del metabolismo de los hidratos de carbono.

CAPÍTULO 3. OBJETIVOS

OBJETIVOS

1. OBJETIVO GENERAL

Estudiar los cambios fenotípicos, secretores e histológicos en los tejidos afectados por nuestro modelo quirúrgico de transposición ileal preduodenal (PDIT), así como la repercusión de estos en la regulación de otras enterohormonas, tales como GIP, dentro del marco del metabolismo hidrocarbonado en un modelo de roedor sano como la Rata Wistar.

2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- A.** Comprobar la adaptación fisiopatológica experimentada tras la cirugía cuantificando la ganancia ponderal y la glucemia basal, así como la capacidad de respuesta adaptativa en el metabolismo hidrocarbonado de los animales a estudio a través de la realización de pruebas funcionales tales como el Test de Tolerancia Oral a la Glucosa (TTOG).

- B.** Determinar los niveles plasmáticos y patrones de secreción de las enterohormonas GLP-1, PYY y GIP en los animales sometidos a PDIT y sus respectivos controles.

- C.** Establecer mediante técnicas inmunohistoquímicas la expresión tisular de GLP-1, PYY y GIP en duodeno, yeyuno e íleon en animales sometidos a PDIT y controles tras el sacrificio de los mismos.

- D.** Valorar la interrelación existente entre las distintas enterohormonas cuantificadas en las distintas zonas del intestino delgado y las posibles modificaciones en sus perfiles de secreción con los cambios fenotípicos observados y la influencia de estas incretinas estudiadas en la regulación enteroendocrina del metabolismo de los hidratos de carbono.

CAPÍTULO 4. MATERIAL Y **MÉTODOS**

CAPÍTULO 4. MATERIAL Y MÉTODOS

1. ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

El estudio fue llevado a cabo en ratas Wistar, machos sanos, que presentaban entre doce y catorce semanas de vida y un peso aproximado de 250-300 gramos (gr). Los animales fueron suministrados por la Universidad de Cádiz por medio del Servicio de Experimentación y Producción Animal (SEPA).

Cada procedimiento con animales se efectuó con la aprobación del Comité para el Uso Ético y el Cuidado de Animales de Experimentación de la Universidad de Cádiz. Dichos procedimientos se ejecutaron según lo dispuesto en la normativa legal vigente y, concretamente, al Real Decreto 1201/2005 de acuerdo a lo referente a la protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos.

La estabulación, procedimientos quirúrgicos, realización de protocolos y estudios de campo fueron llevados a cabo en el Animalario de la Universidad de Cádiz y en el Departamento de Anatomía y Embriología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Cádiz.

CAPÍTULO 4. MATERIAL Y MÉTODOS

2. MATERIALES

2.1. Relación de elementos utilizados en las cirugías

2.1.1. Tiempos Pre, Intra y Postquirúrgicos

Material	Marca Comercial	Descripción
Isoflorano	Forane® Abbot Park, Illinois, USA	Gas isoflorano solución 100 ml.
Sutura quirúrgica	Vicryl® - PDS II® Ethicon Johnson&Johnson Medical Devices Companies	Sutura multifilamento y monofilamento de diámetros diversos
Instrumental quirúrgico		Portas, pinzas, tijeras y mosquitos no fungibles.
Gasas quirúrgicas	Texpla® Textil Planas Oliveras S.A. Barcelona, España	Gasas estériles 7,5x7,5 cm.
Alcohol sanitario	Cinfa® Pamplona, España	Alcohol 98°C antiséptico solución cutánea 500 ml
Suero fisiológico	Braun® B. Braun Medical S.A. Barcelona, España.	Solución NaCl 0,9 % 10 ml disolvente uso parenteral.
Glucómetro	Glucocard G-Meter 1810®. Menarini diagnostics, Italy	Medidor glucemia plasmática mg/dl.
Báscula	Ohaus serie Pioneer®. Modelo PA 3102	Báscula de precisión.
Ibuprofeno	Dalsy® Mylan IRE Healthcare Limited, Dublín, Ireland	Analgésico antiinflamatorio suspensión oral 20 mg/ml.
Suplemento nutricional	Resource® Protein, Nestle Health Care Lausanne, Switzerland	Batido hiperproteico 200 ml.

2.2. Relación de elementos utilizados en las pruebas funcionales

2.2.1. Glucemia Basal

Material	Marca Comercial	Descripción
----------	-----------------	-------------

CAPÍTULO 4. MATERIAL Y MÉTODOS

Glucómetro	Glucocard G-Meter 1810® Menarini Diagnostics, Italy	Medidor glucemia plasmática mg/dl.
Lanceta	MenaLancet Pro 23G® Menarini Diagnostics, Italy.	Dispositivo de punción estéril.

2.2.2. TTOG

Material	Marca Comercial	Descripción
Glucosa monohidrato	Glucocemin® B. Braun Medical S.A. Barcelona, España.	Solución de D-glucosa 20% P/V (2 g/kg).
Glucómetro	Glucocard G-Meter 1810®. Menarini diagnostics, Italy	Medidor glucemia plasmática mg/dl.
Hoja bisturí	Braun® B. Braun Medical S.A. Barcelona, España.	Hoja metálica Nº 11.

2.3. Relación de elementos utilizados en el estudio hormonal sérico

2.3.1. Determinación hormonal (GLP-1, PYY y GIP) en plasma sanguíneo

Material	Marca Comercial	Descripción
Kit ELISA GLP-1 / GIP	ELISA®, Cloud-Clone-Corp, USA.	Técnica Enzyme-Linked Inmunosorbent asSay.
Kit ELISA PYY	ELISA®, ALPCO Diagnostics, Salem, NH.	Técnica Enzyme-Linked Inmunosorbent asSay.
Tubo EDTA	BD Vacutainer®. Becton Dikckinson&Company. Madrid, España	Tubo de plástico con Ácido Etilen Diamino Tetracético
Inhibidor DPP4	DDP4 inhibitor Abcam ab141724, Cambridge, CB4 OFL UK.	Inhibidor enzima dipeptidil peptidasa-4.
Hoja bisturí	Braun® B. Braun Medical S.A. Barcelona, España.	Hoja metálica Nº 11.

CAPÍTULO 4. MATERIAL Y MÉTODOS

2.4. Relación de elementos utilizados en el estudio histofisiológico

2.4.1. Fijación de Tejidos

Material	Marca Comercial	Descripción
Trinitrofenol	ReagentPlus [®] , Sigma-Aldrich Co, St Louis, MO, USA	Ácido pícrico.
Formalina	Histofix [®] , Panreac Química SLU, Barcelona, España.	Solución de formaldehído 3,7-4%.
Parafina	Histoplast [®] Sintético, Thermo Fisher Ltd, Loughborough, UK.	Parafina punto de fusión media.
Etanol gradado	ReagentPlus [®] Ethanol, Sigma-Aldrich Co, St Louis, MO, USA	Hidratación alcohólica decreciente (Xilol - 70°).
PBS	Tampón Fosfato Salino pH 7,2-7,4 1X.	Disolución de lavado.
Bomba Perfusión	Niki V4 [®] , Everest Tecnovet.	Perfusión continua durante sacrificio.
Heparina Bajo Peso Molecular (HBPM)	Clexane [®] 4000 UI, Sanofi-Aventis S.A, Barcelona, España.	Enoxaparina sódica solución inyectable

2.4.2. Estudio de los Cambios Histomorfométricos en el Intestino Delgado

Material	Marca Comercial	Descripción
Hematoxilina de Harris	Biopack [®] Biopack S.A. Buenos Aires 4562, Argentina.	Reactivo de tinción nuclear.
Eosina	Biopack [®] Biopack S.A. Buenos Aires 4562, Argentina.	Reactivo de tinción citoplasmática.
Entellan	Entellan [®] Merck-Milipore, KGaA, Darmstad, Germany.	Medio de montaje.

CAPÍTULO 4. MATERIAL Y MÉTODOS

2.4.3. Estudio de la Expresión de GLP-1 en el Intestino Delgado

Material	Marca Comercial	Descripción
Anticuerpo primario	1:200 rabbit Abcam ab22625, Cambridge, CB4 OFL UK.	Anticuerpo IgG policlonal anti-GLP-1 de conejo.
Anticuerpo secundario	1:200 Alexa 488 anti-rabbit Molecular Probes Eugene, OR, USA	Anticuerpo anti-IgG de conejo conjugado fluoróforo Alexa 488.
Tritón X-100	ReagentPlus®, Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA.	Surfactante polioxietilénico 0,01% P/V.
STF	ReagentPlus®, Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA.	Suero bovino fetal 5% V/V.
PBS	Tampón Fosfato Salino pH 7,2-7,4 1X.	Solución de cloruro sódico y fosfato sódico diluida en agua.
ReTriever	Tampón Citrato pH 5,6	Solución de ácido cítrico y citrato sódico diluida en agua.
DAPI	ReagentPlus®, Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA	4',6-diamidino-2-fenilindol.

2.4.4. Estudio de la Expresión de PYY en el Intestino Delgado

Material	Marca Comercial	Descripción
Anticuerpo primario	1:200 rabbit Abcam ab22663, Cambridge, CB4 OFL UK.	Anticuerpo IgG policlonal anti-PYY de conejo.
Anticuerpo secundario	1:200 Alexa 488 anti-rabbit Molecular Probes Eugene, OR, USA	Anticuerpo anti-IgG de conejo conjugado fluoróforo Alexa 488
Tritón X-100	ReagentPlus®, Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA.	Surfactante polioxietilénico 0,01% P/V.
STF	ReagentPlus®, Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA.	Suero bovino fetal 5% V/V.
PBS	Tampón Fosfato Salino pH 7,2-7,4 1X.	Solución de cloruro sódico y fosfato sódico diluida en agua.
ReTriever	Tampón Citrato pH 5,6	Solución de ácido cítrico y citrato sódico diluida en agua.
DAPI	ReagentPlus®, Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA	4',6-diamidino-2-fenilindol.

CAPÍTULO 4. MATERIAL Y MÉTODOS

2.4.5. Estudio de la Expresión de GIP en el Intestino Delgado

Material	Marca Comercial	Descripción
Anticuerpo primario	1:200 rabbit Abcam ab202792, Cambridge, CB4 OFL UK.	Anticuerpo IgG policlonal anti-GIP de conejo.
Anticuerpo secundario	1:200 Alexa 488 anti-rabbit Molecular Probes Eugene, OR, USA	Anticuerpo anti-IgG de conejo conjugado fluoróforo Alexa 488.
Tritón X-100	ReagentPlus®, Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA.	Surfactante polioxietilénico 0,01% P/V.
STF	ReagentPlus®, Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA.	Suero bovino fetal 5% V/V.
PBS	Tampón Fosfato Salino pH 7,2-7,4 1X.	Solución de cloruro sódico y fosfato sódico diluida en agua.
ReTriever	Tampón Citrato pH 5,6	Solución de ácido cítrico y citrato sódico diluida en agua.
DAPI	ReagentPlus®, Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA	4',6-diamidino-2-fenilindol.

CAPÍTULO 4. MATERIAL Y MÉTODOS

3. MÉTODOS

3.1. Grupos experimentales

Se conformaron dos grupos experimentales de ratas macho, para evitar así las variaciones cíclicas hormonales sobre el metabolismo glucídico. Un total de treinta (n=30) animales se dividieron en dos grupos de quince (n=15) ratas. La disposición de cada uno de los animales en uno u otro grupo se realizó al azar.

Los dos grupos establecidos fueron los siguientes:

- Grupo quirúrgico: cirugía de transposición ileal preduodenal (PDIT).
- Grupo control: cirugía Sham (S).

Durante todo el periodo pre, intra y postoperatorio del estudio, ambos grupos fueron sometidos a las mismas condiciones ambientales. Se estabularon acorde a su ritmo circadiano, condicionado por un ciclo de luz-oscuridad de 12 horas a una temperatura y humedad constantes en jaulas específicas con no más de tres ratas por jaula. Se redujeron los posibles focos de estrés externo, limitando la manipulación de los animales a la menor y estrictamente necesaria. Se proporcionó una dieta a base de pienso estándar y agua en un régimen preestablecido “ad libitum”. Así mismo, todos los animales sin excepción fueron sometidos a 12 horas de ayuno pre-quirúrgico de ingesta a sólidos.

El periodo post-operatorio se realizó en jaulas independientes para cada animal. Las primeras doce horas tras la cirugía se administró un preparado de ibuprofeno (Dalsy®) en 500 ml de agua. Pasado este tiempo, se proporcionó una dieta líquida hiperproteica (Resource® protein al 25%) que se mantuvo durante las primeras 48 horas post-operatorias, hasta progresar a una dieta estándar sólida.

Realizada la correspondiente intervención quirúrgica, el periodo de supervivencia de ambos grupos fue de ocho semanas, procediéndose al sacrificio de los animales para posterior estudio histopatológico.

CAPÍTULO 4. MATERIAL Y MÉTODOS

Durante el tiempo de supervivencia de los animales operados se llevaron a cabo distintas pruebas funcionales. Entre ellas, se procedió a test de tolerancia a la sobrecarga oral de glucosa (TTOG) así como estudio del incremento ponderal y la glucemia basal (Figura 38).

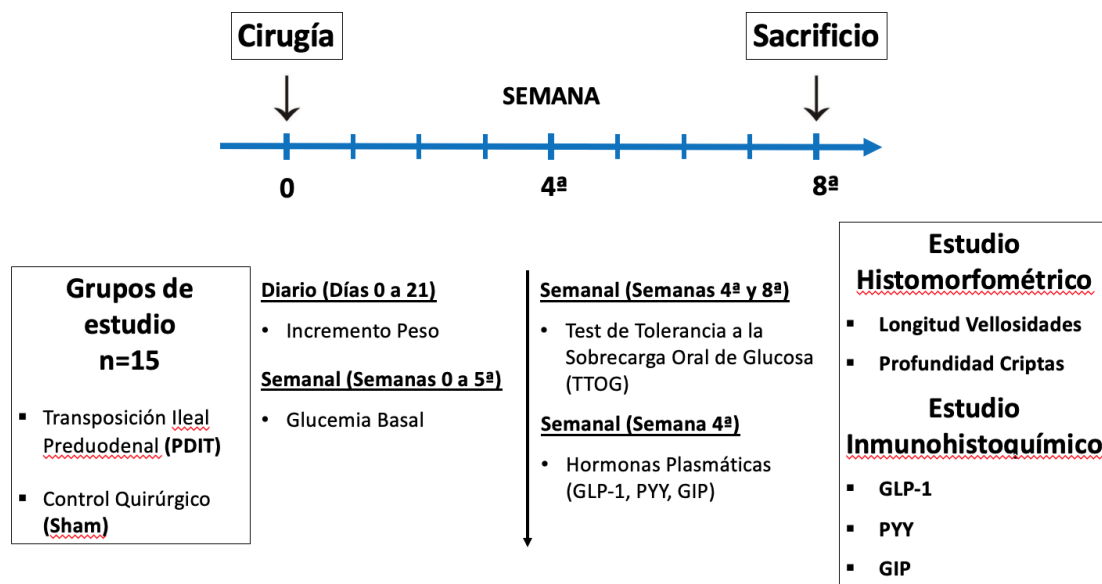


Figura 38. Representación esquemática de la secuencia temporal del modelo experimental. Sinopsis de los diferentes pasos que componen la línea de investigación: diseño de los grupos de estudio y tipos de cirugía experimental, desarrollo de las pruebas funcionales y configuración del estudio histológico del intestino delgado.

3.2. Anestesia y Técnicas Quirúrgicas

La intervención quirúrgica se llevó a cabo reproduciendo lo más fielmente posible las condiciones externas e internas habituales en la práctica quirúrgica, en una misma sala de quirófano y por el mismo personal quirúrgico, bajo óptimas condiciones de asepsia. Con el fin de evitar un posible estado hipotérmico durante la cirugía tras la apertura de la cavidad abdominal, se proporcionó una fuente de calor mediante manta térmica sobre la mesa de operaciones, bajo la rata posicionada en decúbito supino.

CAPÍTULO 4. MATERIAL Y MÉTODOS

Independientemente del grupo asignado a cada animal, el procedimiento quirúrgico se realizó tras anestesia con gas isoflurano. La inducción anestésica se efectuó bajo campana extractora mediante una gasa impregnada en isoflurano introducida junto con la rata en un recipiente herméticamente sellado. El mantenimiento anestésico se llevó a cabo administrando una ventilación continua de isoflurano mediante bomba conectada a una mascarilla que englobaba la boca y el hocico del roedor. El ritmo de ventilación estimado fue del 1 al 3%, en función del tiempo necesario para el proceder quirúrgico.

3.2.1. Grupo Quirúrgico PDIT

En este grupo, una vez realizada la anestesia, el animal se colocó en posición de decúbito supino y se aplicó sobre la piel, sin rasurar, una solución antiséptica de clorhexidina tópica y la colocación de un campo estéril. La técnica quirúrgica se llevó a cabo mediante una laparotomía bisubcostal de unos 4 cm (Figura 39A).

Una vez en cavidad abdominal, mediante pinzas atraumáticas se realizó la evisceración completa del intestino delgado y el colon. Seguidamente, y tras la liberación del omento menor, se liberó el estómago para una completa y mejor exposición técnica en el campo quirúrgico (Figura 39B). Mediante una cinta métrica estéril, se midieron los últimos diez centímetros (cm) del íleon terminal (Figura 40). Se procedió a la sección ileal mediante una enterotomía transversal total a un centímetro de la válvula ileocecal hasta completar los 10 cm, con preservación del suministro vascular correspondiente (Figura 41A y 42). A continuación, se llevó a cabo la unión entre el yeyuno y el íleon, configurándose una anastomosis yeyuno-ileal termino-terminal a un centímetro de la válvula ileocecal, utilizando una sutura con puntos simples con monofilamento reabsorbible 00000 (PDS II® 5/0) (Figura 41B). Seguidamente, se realizó una duodenotomía transversal completa a nivel postpilórico (Figura 42 y 43A). La duodenorrafia del muñón proximal se configuró mediante sutura continua con monofilamento reabsorbible 00000 (PDS II® 5/0) (Figura 43B).

El siguiente paso tras la anastomosis yeyuno-ileal, consistió en la interposición preduodenal del segmento de íleon terminal tras la unión del mismo a duodeno y estómago (Figura 44). El muñón distal del íleon se anastomosó con el muñón duodenal distal mediante una anastomosis ileo-duodenal antecólica termino-terminal con puntos entrecortados de la misma sutura (PDS II® 5/0) (Figura 45). El muñón ileal proximal se anastomosó, previa gastrotomía a nivel de la cara posterior de la curvatura mayor,

CAPÍTULO 4. MATERIAL Y MÉTODOS

mediante sutura continua con monofilamento reabsorbible 00000 (PDS II® 5/0), confeccionando una anastomosis gastro-ileal latero-lateral (Figura 46).

Para terminar el procedimiento una vez completada la reconstrucción gastrointestinal (Figura 47A), se llevó a cabo la reintroducción de la totalidad del paquete intestinal en la cavidad abdominal, junto con hidratación intraperitoneal y administración de suero fisiológico isotónico a 36 °C. El cierre de la pared abdominal se realizó mediante sutura continua multifilamento absorbible 000 (Vicryl® 3/0) en monobloque incluido el plano cutáneo (Figura 47B). Previo al cierre de la pared abdominal, se efectuó una infiltración anestésica de la misma mediante 5 centímetros cúbicos de mepivacaina al 2% diluida en suero isotónico.

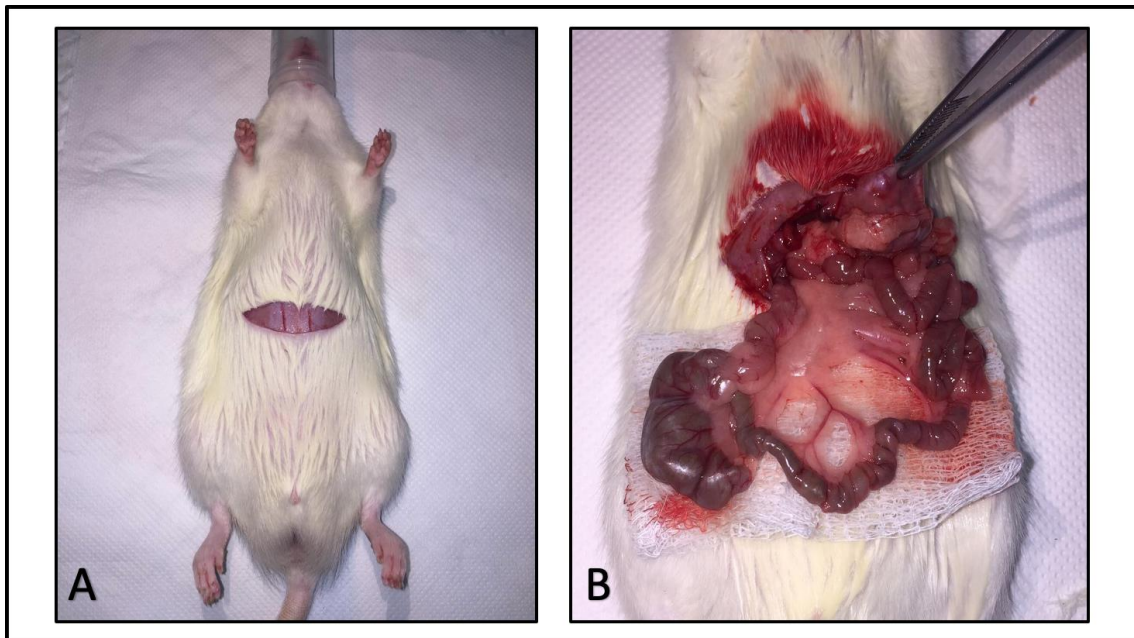


Figura 39. A.- Laparotomía bisubcostal de 4 centímetros. B.- Evisceración y exposición visceral tras apertura de la transcavidad de los epiplones.

CAPÍTULO 4. MATERIAL Y MÉTODOS



Figura 40. Identificación de los últimos diez centímetros del íleon terminal (Representación esquemática).

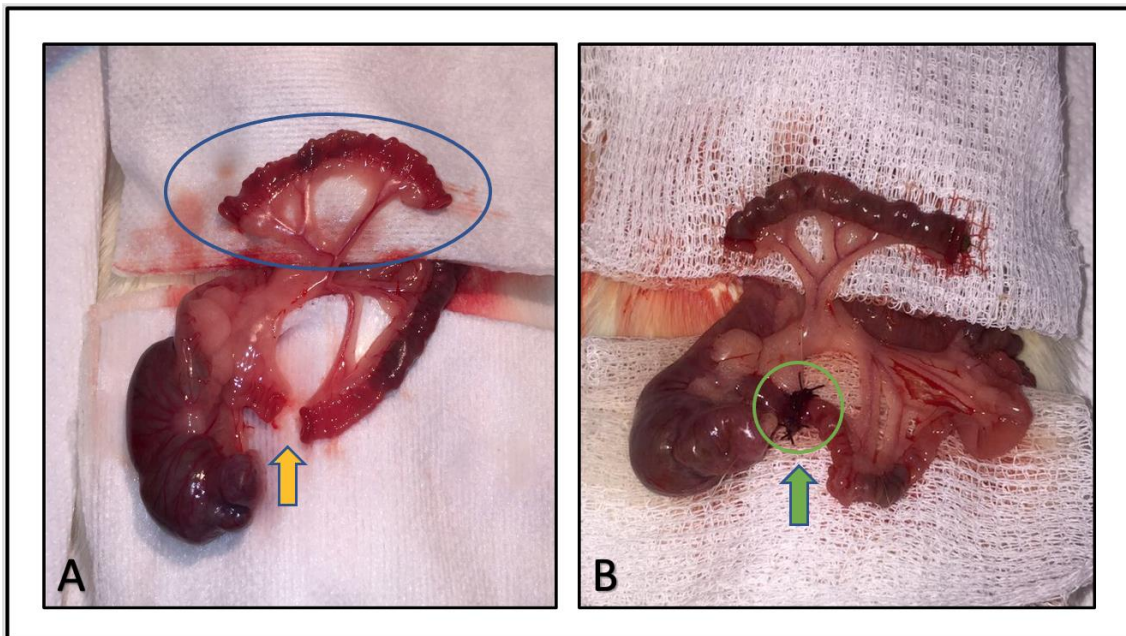


Figura 41. A.- Confección de segmento de íleon terminal con preservación vascular (círculo azul) mediante sección transversal ileal a un centímetro de la válvula ileocecal (flecha amarilla) previa enterotomía proximal a diez centímetros B.- Anastomosis yeyuno-ileal termino-terminal (flecha y círculo verde).

CAPÍTULO 4. MATERIAL Y MÉTODOS

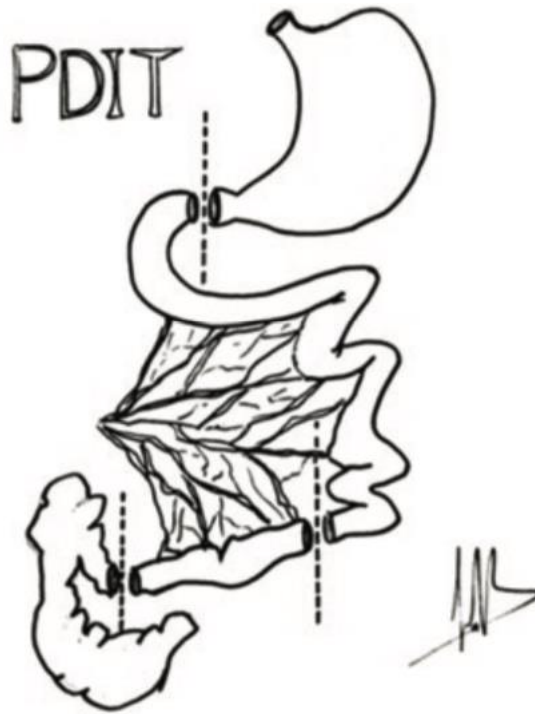


Figura 42. Resección del segmento ileal con preservación del último centímetro del íleon terminal adyacente a la válvula ileocecal. Sección transversal del duodeno a nivel postpilórico (Representación esquemática).

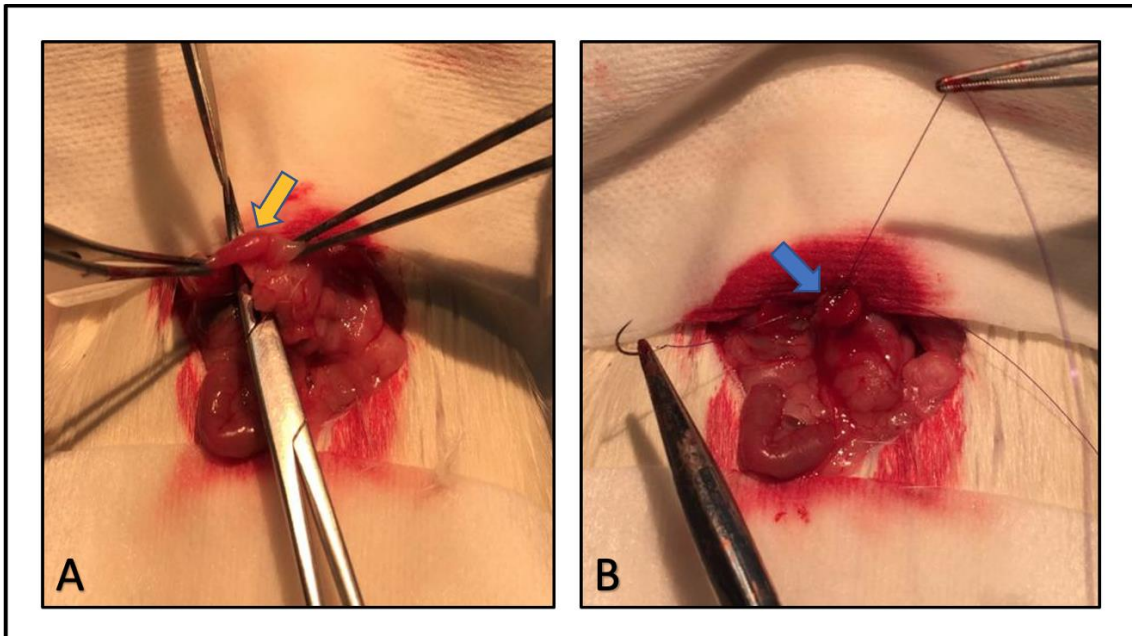


Figura 43. A.- Sección duodenal transversal total distal al píloro (flecha amarilla). B.- Cierre de muñón duodenal proximal (flecha azul).

CAPÍTULO 4. MATERIAL Y MÉTODOS

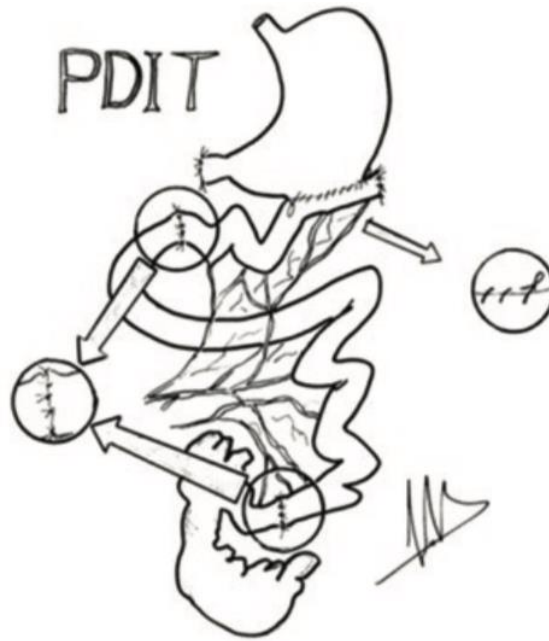


Figura 44. Transposición del segmento ileal a nivel preduodenal y restauración del tránsito gastrointestinal mediante confección de tres anastomosis: gastro-ileal, íleo-duodenal y yeyuno-ileal (Representación esquemática).

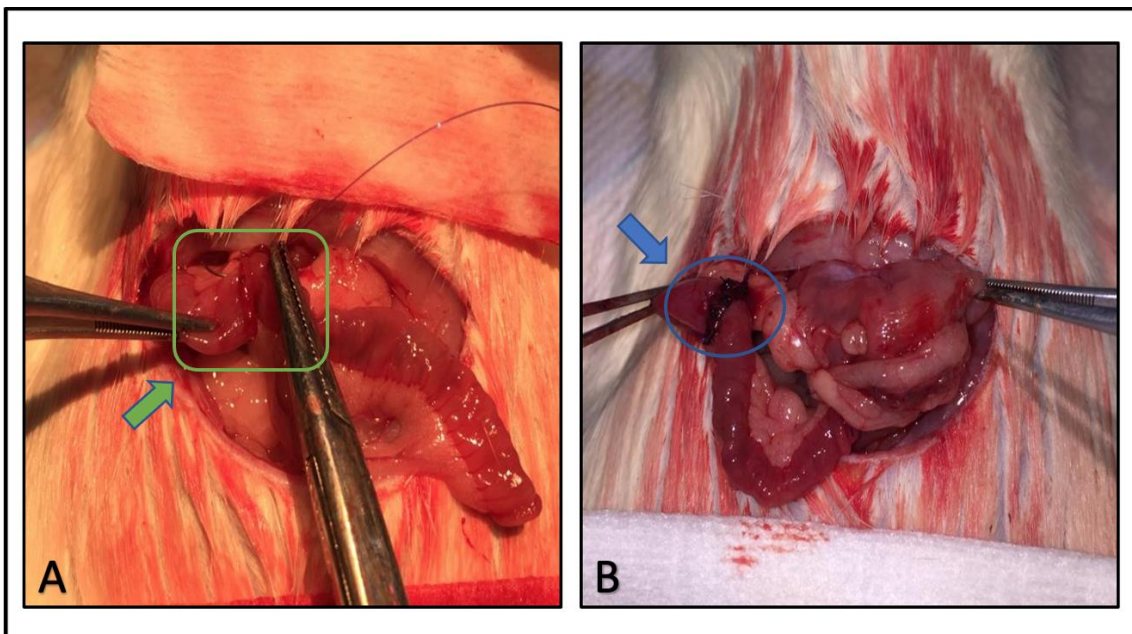


Figura 45. A.- Conformación de la anastomosis ileo-duodenal (flecha y cuadrado verde). B.- Resultado final de la anastomosis ileo-duodenal antecólica (flecha y círculo azul).

CAPÍTULO 4. MATERIAL Y MÉTODOS

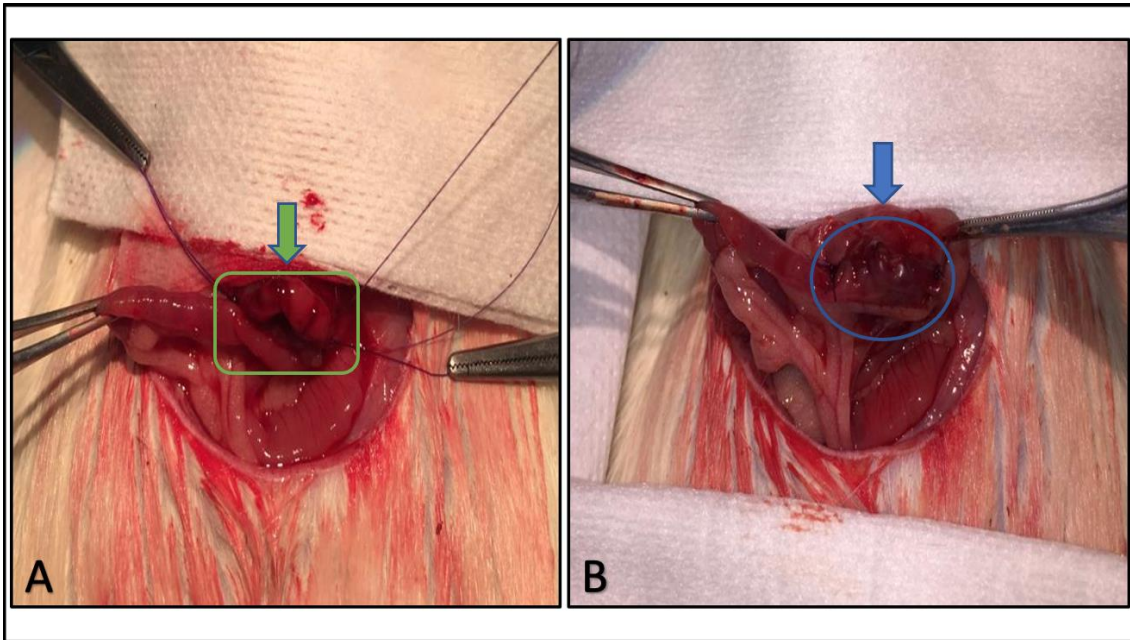


Figura 46. A.- Confección de la anastomosis gastro-ileal (flecha y rectángulo verde). B.- Resultado final de la anastomosis (flecha y círculo azul).

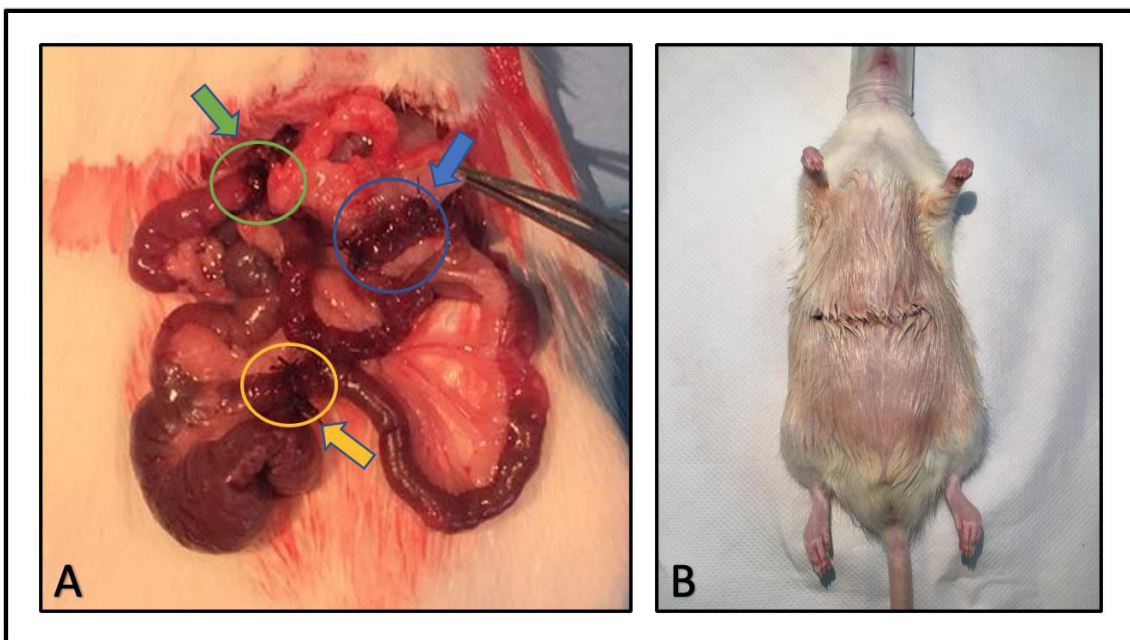


Figura 47. A.- Reconstrucción del tránsito gastrointestinal mediante confección de las distintas anastomosis: gastro-ileal (flecha y círculo azul); íleo-duodenal (flecha y círculo verde); y yeyuno-ileal (flecha y círculo amarillo). B.- Cierre de la pared abdominal previa hidratación intraperitoneal.

CAPÍTULO 4. MATERIAL Y MÉTODOS

3.2.2. Grupo Control

En este grupo se mantuvo la integridad del tracto gastrointestinal, reproduciendo únicamente el estrés quirúrgico sobre el tracto digestivo asociado al procedimiento en sí. Los pasos preoperatorios, incluida la técnica anestésica, fueron idénticos a los reproducidos en el grupo control quirúrgico (PDIT).

Tras la aplicación de clorhexidina tópica sobre la pared abdominal, se procedió a realizar una laparotomía media (2-3 cms) en tercio medio (Figura 48A), seguida de la evisceración de todas las asas intestinales para su completa exposición (Figura 48B). Tras este paso, y utilizando una cinta métrica, se midió en centímetros (cm) la distancia comprendida desde el ángulo de Treitz hasta la válvula ileocecal (Figura 49A). A continuación, se efectuó una enterotomía transversal completa del intestino delgado, a una distancia de 10 cm de la válvula ileo-cecal, sin resección intestinal asociada (Figura 49B). Posteriormente se procedió a efectuar una anastomosis termino-terminal del extremo proximal y distal de la enterotomía mediante sutura con puntos entrecortados de monofilamento absorbible 00000 (PDS II® 5/0) (Figura).

Por último y de forma idéntica al grupo quirúrgico, se reintrodujeron las asas intestinales en la cavidad abdominal y se administraron en dicha cavidad 10 cc de solución salina fisiológica a 36 °C. El cierre laparotómico, de igual forma al grupo anterior, fue con sutura continua multifilamento absorbible 000 (Vicryl® 3/0) en un único plano, incluida la piel, tras la infiltración anestésica.

CAPÍTULO 4. MATERIAL Y MÉTODOS

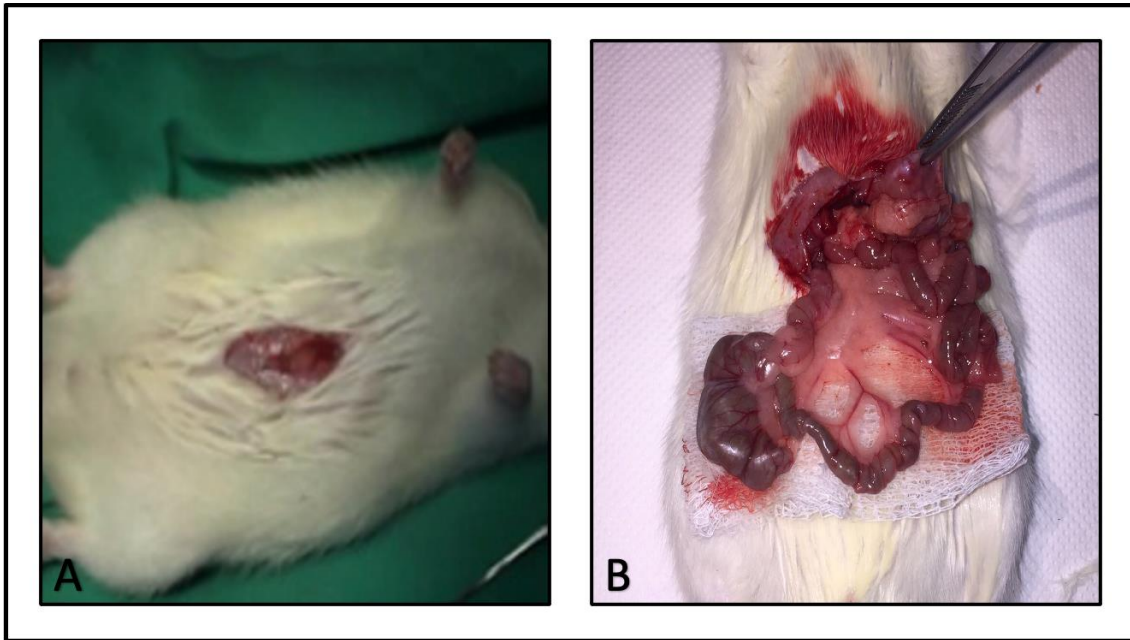


Figura 48. A.- Incisión abdominal en línea media (2-3 centímetros). B.- Evisceración de todo el paquete intestinal.

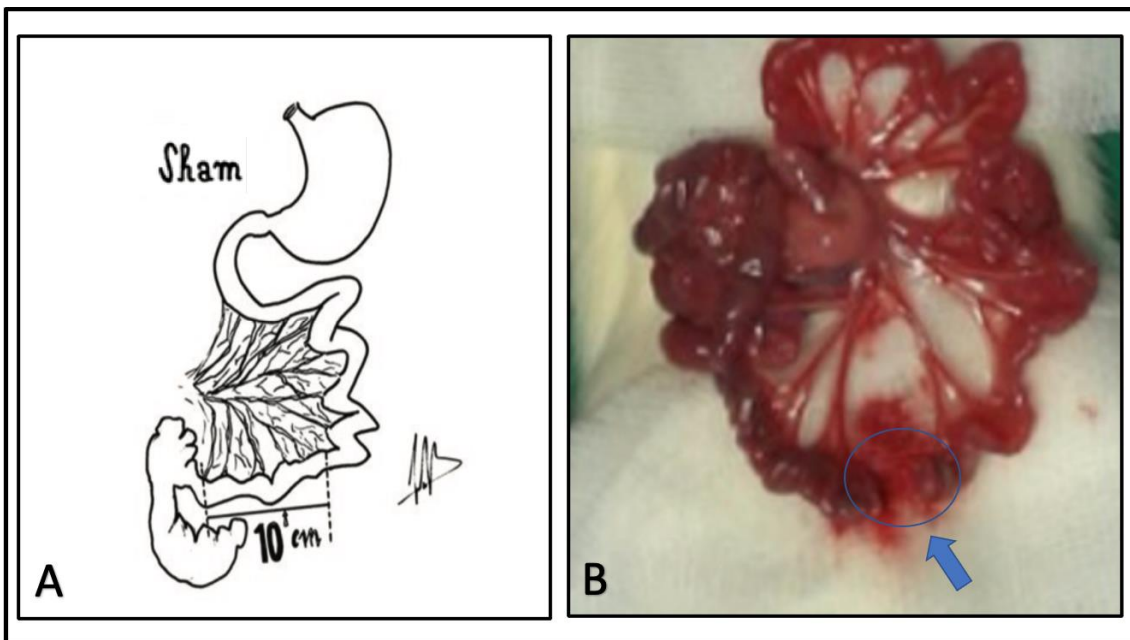


Figura 49. A.- Medición de los últimos 10 centímetros de íleon (representación esquemática). B.- Sección transversal intestinal completa (flecha y círculo azul).

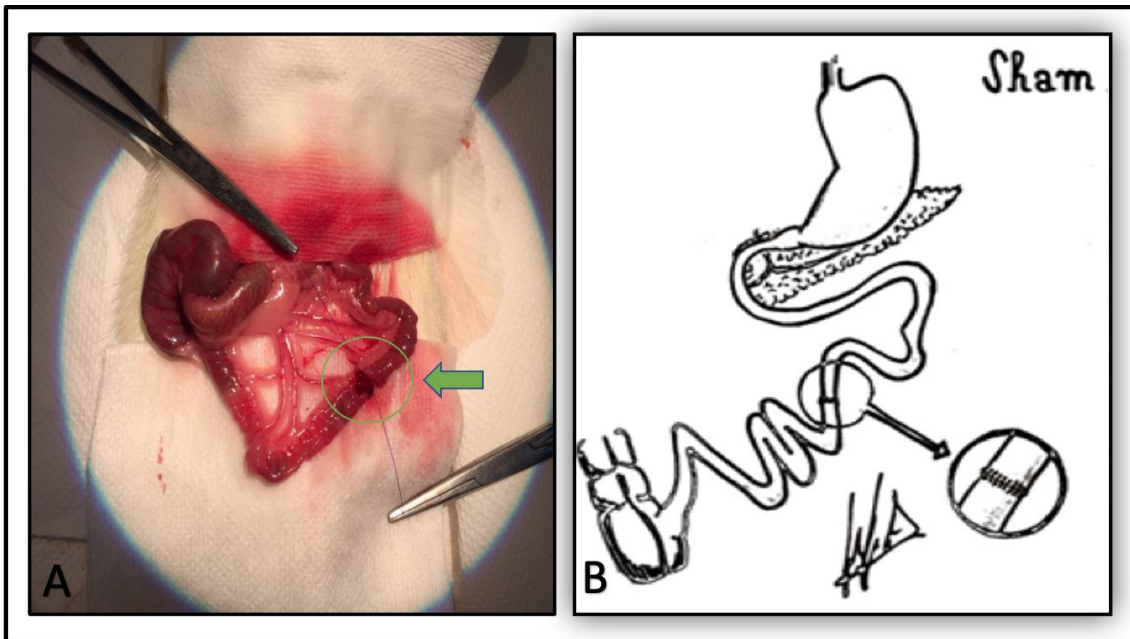


Figura 50. A.- Enterorrafia intestinal con puntos sueltos (flecha y círculo verde). B.- Resultado final de la anastomosis sin resección intestinal asociada (representación esquemática).

3.3. Pruebas Funcionales

3.3.1. Incremento de Peso

La tasa de ganancia ponderal fue diaria durante las tres primeras semanas tras la intervención quirúrgica. Para determinar el incremento ponderal se cuantificó el peso del animal mediante el empleo de una báscula y una jaula vacía. La cuantificación del peso se determinó una vez establecida la tara de la jaula previa a la pesada del animal. Este parámetro se midió en $g \pm$ Error Estándar de la Media (EEM).

3.3.2. Glucemia Basal

La medición de la glucemia basal se realizó de forma semanal hasta la quinta semana tras la cirugía. Las glucemias se midieron utilizando un glucómetro Glucocard G-meter 1810 (Menarini Diagnostics, Italia) y tiras reactivas calibradas específicas a partir de la sangre obtenida mediante punción en la cola con lanceta estéril. Los resultados se expresaron en $mg/dl \pm$ EEM.

CAPÍTULO 4. MATERIAL Y MÉTODOS

3.3.3. Test de Tolerancia Oral a la Glucosa (TTOG)

A la cuarta y a la octava semana de la intervención, ambos grupos de ratas fueron sometidos a un test de tolerancia a la sobrecarga oral a la glucosa (TTOG) después de un ayuno de 12 horas. Se administró, mediante una sonda orofaríngea de nelaton, una solución de glucosa monohidrato del 20% P/V (2 g/kg), con medición de la glucemia a los 0, 30, 60, 90 y 120 minutos mediante un glucómetro Glucocard (Menarini Diagnostics). Las muestras de sangre se obtuvieron mediante punción de la cola del animal con lanceta estéril. Los resultados de las curvas glucémicas se expresaron en mg/dl \pm EEM. Mientras que los resultados del Área Bajo la Curva (AUC) se calcularon por la regla de los trapecios expresándose como mg/dl. min⁻¹ \pm EEM.

3.4. Estudio Hormonal Plasmático (GLP-1, PYY y GIP)

Los niveles plasmáticos de las distintas enterohormonas se determinaron mediante técnica ELISA cuatro semanas después de la intervención quirúrgica. Las muestras sanguíneas obtenidas de la cola de cada uno de los animales se añadieron a los tubos EDTA, que incluían un inhibidor de la enzima dipeptidil peptidasa-4 (DPP4) a razón de 10 μ l/ml de sangre, a los 0 y a los 15 minutos de la TTOG. Y se centrifugaron en frío (4 °C) a 4000 rpm durante 15 minutos.

La cuantificación de GLP-1 y GIP se llevó a cabo mediante kit ELISA (Cloud-Clone-Corp, USA). La determinación de PYY se evaluó mediante kit ELISA (ALPCO, Diagnostics, Salem, NH).

3.5. Sacrificio y preparación de las muestras

El sacrificio de los animales de ambos grupos, control y quirúrgico, tuvo lugar a las ocho semanas de la intervención quirúrgica. De acuerdo con la normativa legal vigente (Real Decreto 1201/2005, sobre Protección de los Animales Utilizados para Experimentación y otros Fines Científicos), el primer paso consistió en la sedación controlada del animal previa al sacrificio.

Inmediatamente después, mediante laparotomía en cruz y toracotomía paraesternal bilateral para permitir una completa exposición cardiaca, se administraron 3 UI de

CAPÍTULO 4. MATERIAL Y MÉTODOS

heparina en el ventrículo izquierdo a fin de evitar la coagulación intravascular. También a través del ventrículo izquierdo, se introdujo un catéter de 14 French hasta alcanzar la aorta ascendente. Culminado este paso, a través de este catéter y mediante bomba de perfusión, se administraron 100 ml de PBS para eliminación de restos sanguíneos y, seguidamente, para poder fijar los tejidos a extraer, se perfundieron 200ml de solución de Bouin con un contenido del 75% de ácido pícrico al 1% V/V y al 37% P/V de paraformaldehído.

Tras la fijación descrita, se procedió a la extracción de los diferentes segmentos del tubo digestivo: duodeno, yeyuno e íleon. A continuación, se llevó a cabo la fijación de los tejidos. Este paso se realizó mediante inmersión en solución de Bouin a 4 °C durante 24 horas. Una vez completada la fijación de las muestras, se dispuso la deshidratación de las mismas en alcoholes de graduación creciente hasta alcohol absoluto y Xilol.

Finalmente, las muestras con los distintos tejidos fueron incluidas en bloques independientes de parafina a 57°C para su corte posterior mediante microtomo en secciones de 8-10 micras. Con el fin de evitar el sesgo del observador, los distintos bloques se clasificaron numéricamente sin conocimiento previo del grupo asignado.

3.6. Determinaciones histológicas

Completado el sacrificio de los animales de ambos grupos de estudio, los diferentes cortes de tejido procedentes de los tres segmentos de intestino delgado fueron utilizados para las oportunas determinaciones histopatológicas mediante estudio histomorfológico e inmunohistoquímico.

3.6.1. Técnicas histomorfométricas

3.6.1.1. Estudio de los cambios estructurales en la arquitectura intestinal

Los cortes de tejido, una vez desparafinados e hidratados en soluciones decrecientes de alcoholes, fueron teñidos por inmersión durante 30 segundos en una solución de hematoxilina de Harris (Biopack, Buenos Aires 4562, Argentina). Posteriormente, las muestras se fijaron mediante inmersión en agua con bicarbonato cálcico a saturación y

CAPÍTULO 4. MATERIAL Y MÉTODOS

tras lavados con agua destilada, se realizó una nueva tinción con eosina (Biopack, Buenos Aires 4562, Argentina) también mediante inmersión durante 20 segundos. Finalmente, se procedió al lavado, deshidratado y montaje final de las muestras con medio de montaje Entellan (Merck-Milipore, KGaA, Darmstad, Germany).

Sobre las muestras así tratadas se valoró tanto la longitud de las vellosidades como la profundidad de las criptas en los distintos segmentos de intestino delgado a estudio.

3.6.1.2. Examen y análisis de las muestras

Los parámetros analizados en las muestras obtenidas se examinaron con ayuda del programa Cell-D® de tratamiento de imágenes asociado a un microscopio de fluorescencia equipado a una cámara digital Olympus DP71. Se analizaron 6 cuadrantes aleatorios en cada segmento de intestino delgado a estudio, expresándose los valores obtenidos en micras (μm).

3.6.2. Técnicas inmunohistoquímicas

Tras un proceso de desparafinado y rehidratación en alcoholes decrecientes desde Xilol hasta alcohol 70° y PBS durante 30 minutos, tuvo lugar una incubación con anticuerpos específicos que a continuación describimos para cada una de las enterohormonas objeto de estudio.

3.6.2.1. Estudio de la expresión de GLP-1 en el duodeno, yeyuno e íleon

Completada la hidratación de las muestras se procedió a desenmascarar los epítomos proteicos de los antígenos a 90°C en tampón citrato con pH 5,6 durante 15 minutos. Se permeabilizó la membrana celular utilizando tritón X-100 al 0,01% P/V durante 10 minutos a temperatura ambiente y se realizó un bloqueo antigénico con suero bovino fetal (STF) al 5% V/V también durante 10 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente se incubó la muestra con un anticuerpo monoclonal de conejo anti GLP-1 (Abcam, Cambridge, CB4 OFL UK) a una concentración 1/200 incubado durante un periodo de 24 horas a 4°C. Seguidamente, tras lavar las muestras, se procedió a revelarlas con un anticuerpo secundario anti IgG de conejo conjugado con fluoróforo

CAPÍTULO 4. MATERIAL Y MÉTODOS

Alexa 488 (Molecular Probes Eugene, OR, USA) incubando la muestra a una concentración 1/200 durante una hora a temperatura ambiente. Finalmente, los núcleos celulares fueron contrateñidos con 4'-6'-Diamino fenil indol- DAPI (Sigma-Aldrich St Louis, MO, USA) 1:1000 y montadas con medio de montaje DABCO para ayudar a preservar la fluorescencia.

3.6.2.2. Estudio de la expresión de PYY en el duodeno, yeyuno e íleon

En los cortes de intestino delgado obtenidos buscamos también la existencia de células con expresión positiva para la enterohormona PYY en cada uno de los grupos.

En este caso, partiendo de nuevo de muestras desparafinadas y rehidratadas según el procedimiento descrito, utilizamos un anticuerpo policlonal de conejo anti PYY (Abcam, Cambridge, CB4 OFL UK) a una concentración 1/200 incubado durante un periodo de 24 horas a 4°C. Utilizando nuevamente para el revelado un anticuerpo anti IgG de conejo conjugado con fluoróforo Alexa 488 (Molecular Probes Eugene, OR, USA), contratiñendo los nucleos celulares con DAPI (Sigma-Aldrich St Louis, MO, USA) y montando el conjunto con medio DABCO.

3.6.2.3. Estudio de la expresión de GIP en el duodeno, yeyuno e íleon

Del mismo modo que en el caso de GLP-1 y PYY, se analizó la existencia y abundancia en su caso, de células con marcaje positivas para GIP en los tres segmentos intestinales objeto de estudio en cada uno de los grupos. Los pasos fueron idénticos hasta la incubación con los anticuerpos primarios. En cuyo caso se utilizó un anticuerpo policlonal de conejo anti GIP (Abcam, Cambridge, CB4 OFL UK) a una concentración 1/200 incubándolo durante 24 horas a 4°C. El procedimiento de revelado se llevó a cabo utilizando anticuerpos anti IgG de conejo conjugados con el fluoróforo Alexa 488® (Molecular Probes Eugene, OR, USA). Finalmente, como contrateñición los núcleos celulares fueron teñidos de nuevo con DAPI (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) y las muestras en los portaobjetos montadas con medio de montaje DABCO.

CAPÍTULO 4. MATERIAL Y MÉTODOS

3.6.2.4. Examen y análisis de las muestras

Los distintos parámetros examinados tras el procesamiento de las muestras se analizaron con un microscopio óptico (Olympus DP71) asociado al software para tratamiento de imágenes Cell-D®. Valorándose 6 cuadrantes al azar en cada sección correspondiente a cada tramo intestinal estudiado. Los resultados obtenidos se expresaron como número de células GLP-1, PYY o GIP positivas por área de superficie de intestino medida en mm².

3.7. Estudio estadístico

Dentro de este estudio experimental aleatorio con grupos control (Sham) y problema (PDIT), las variables numéricas obtenidas tras las mediciones de los distintos parámetros a analizar se expresaron como valores medios \pm EEM. Previo al estudio de las diferencias entre ambos grupos se analizó la distribución de las variables mediante el test Kolmogorov-Smirnoff. Posteriormente se aplicó el test para muestras no paramétricas U-Mann-Wittney, considerándose diferencias estadísticamente significativas aquellas con $p \leq 0,05$ (*) o $p \leq 0,01$ (**).

CAPÍTULO 5. RESULTADOS

CAPÍTULO 5. RESULTADOS

1. EVOLUCIÓN DEL PESO TRAS LA CIRUGÍA

Como podemos observar en la figura 51, durante los veintiún días posteriores a la realización de las intervenciones quirúrgicas se monitorizaron los incrementos de peso en los dos grupos de animales Sham y PDIT al objeto de determinar el efecto de la transposición ileal sobre la ganancia de peso de los animales. Si bien, en todo momento la línea indicativa de la ganancia media ponderal en el grupo PDTI (línea roja) se mantuvo en valores inferiores a los correspondientes al grupo Sham (línea azul), en ningún caso se determinaron diferencias estadísticamente significativas para $P < 0,05$.

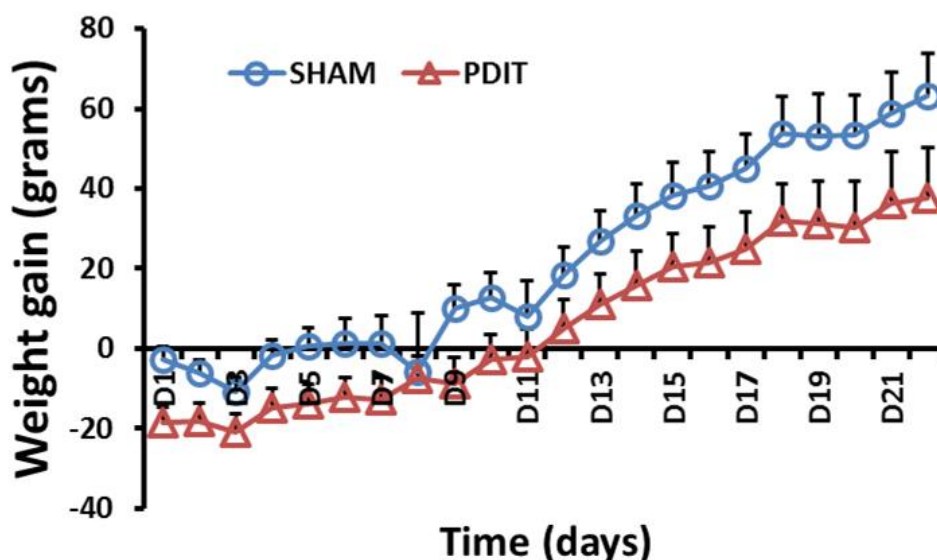


Figura 51. Ganancia ponderal en los grupos Sham y PDIT en los 21 días posteriores a las cirugías. En el eje Y se representa la ganancia ponderal en gramos. En el eje X el intervalo temporal correspondiente a 21 días tras las intervenciones. Línea azul representa valor medio \pm EEM del incremento ponderal en el grupo Sham. Línea roja representa valor medio \pm EEM del incremento ponderal en el grupo PDIT. La significación estadística se consideró para valores con diferencias para $P < 0,05$ (#).

CAPÍTULO 5. RESULTADOS

2. EVALUACIÓN DE LA HOMEOSTASIS DEL METABOLISMO GLUCÍDICO

2.1. Monitorización de las glucemias basales tras la cirugía

Los valores glucémicos basales se midieron semanalmente en ambos grupos de animales Sham y PDTI durante los 35 días posteriores a la cirugía, al objeto de determinar alguna posible incidencia importante de la transposición ileal en el metabolismo de los hidratos de carbono. Como la figura 52A muestra, en ningún caso se hallaron diferencias significativas entre los valores de glucemia obtenidos para cada grupo durante el tiempo a estudio.

2.2. Test de Tolerancia Oral a la Glucosa (TTOG)

A las cuatro y a las ocho semanas de la intervención quirúrgica todos los animales fueron sometidos a una prueba oral de tolerancia a la glucosa (TTOG) con el fin de analizar los efectos de la interposición ileal preduodenal en la tolerancia glucémica. Para ello se determinó la glucemia a los 0, 15, 30, 60 y 120 minutos, realizándose el análisis estadístico de los valores obtenidos mediante el AUC.

Las curvas obtenidas en la cuarta semana postoperatoria, y recogidas en la figura 52B, fueron comparables entre ambos grupos en los distintos tiempos de medición, salvo a los 120 minutos de la sobrecarga donde el grupo PDIT sí mostró una mejora significativa de la tolerancia glucémica. No obstante, como se puede apreciar en la figura 52C, el estudio estadístico del AUC de los TTOG no permitió objetivar diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos de animales PDIT y Sham. A las ocho semanas, no se encontraron diferencias significativas ni en las curvas glucémicas ni en el AUC como se refleja en las gráficas 52D y 52E respectivamente.

CAPÍTULO 5. RESULTADOS

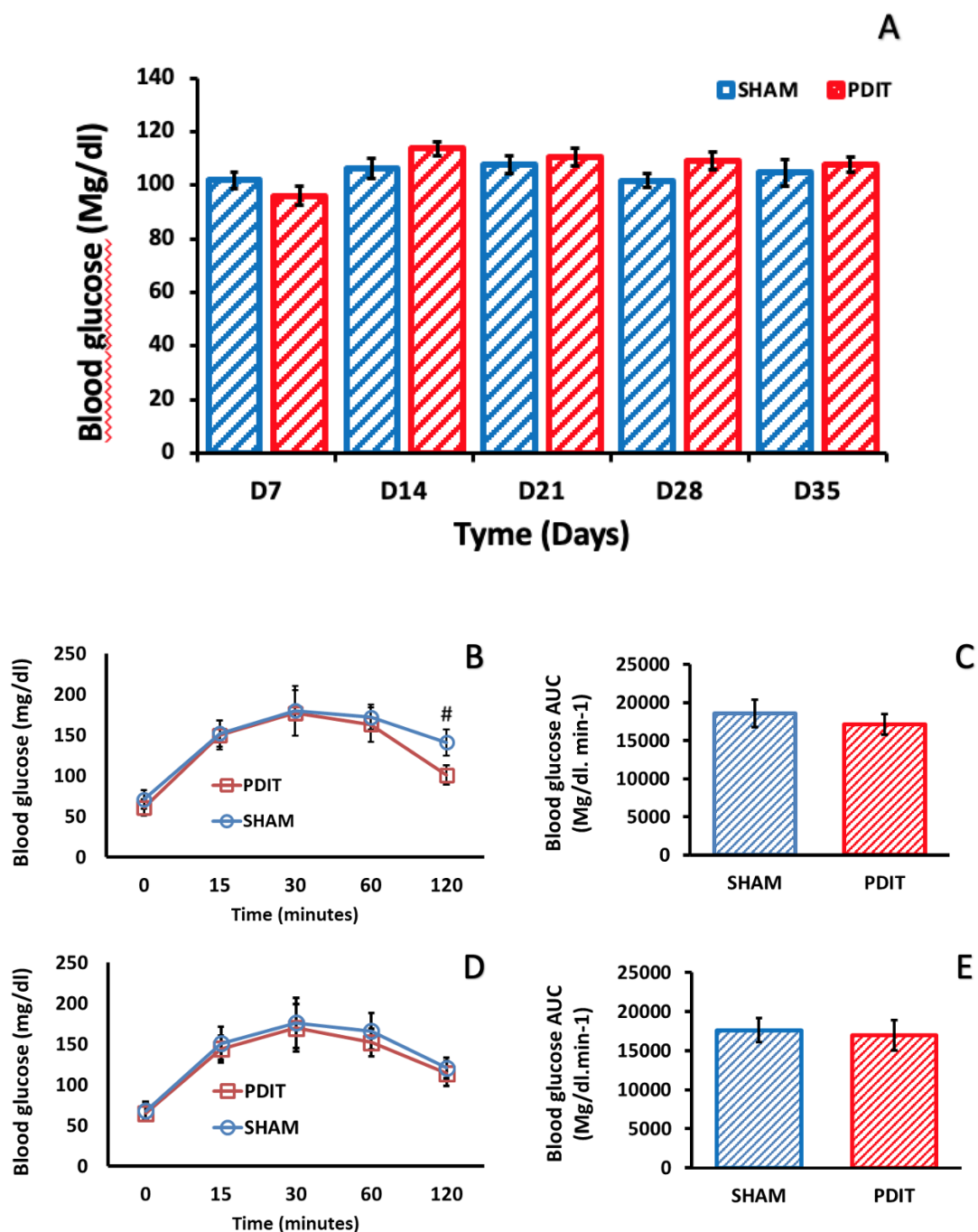


Figura 52. Evaluación de la homeostasis de la glucosa. Figura 52A Monitorización postquirúrgica de las glucemias basales. En la figura se representa en el eje Y los niveles basales de glucemia expresados en miligramos (mg) de glucosa por decilitros (dl) de plasma. En el eje X el intervalo de tiempo del estudio correspondiente a 35 días o 5 semanas. Los valores medios \pm EEM correspondientes al grupo control Sham se expresan en las barras ralladas azules mientras que los valores medios \pm EEM se expresan en barras ralladas rojas para el grupo PDIT. Se consideraron diferencias significativas aquellas con $P < 0,05$ (*)

CAPÍTULO 5. RESULTADOS

entre grupos. Figuras 52B y 52D Curvas de Tolerancia Oral a la Glucosa a las 4 y 8 semanas postoperatorias respectivamente. En el eje Y se muestran los valores plasmáticos de glucosa expresados como valor medio \pm EEM en mg/dl. Y en el eje X intervalo temporal en minutos (0, 15, 30, 60 y 120). Línea roja representa al grupo PDIT y Línea azul representa al grupo Sham. Se consideraron diferencias significativas aquellas con $P < 0,05$ (#). Figuras 52C y 52E Área Bajo la Curva (AUC) de TTOG a las 4 y 8 semanas postoperatorias respectivamente. En el eje Y se representa AUC de glucosa en sangre expresada como valor medio \pm EEM en mg/dl. min⁻¹. En el eje X los grupos a estudio: PDIT con barra rallada roja y Sham con barra rallada azul. Se consideraron diferencias significativas para un valor $P < 0,05$ ().*

3. MEDICIONES HORMONALES EN PLASMA SANGUÍNEO

Al objeto de determinar posibles variaciones en los niveles de plasmáticos de las principales enterohormonas secretadas por las porciones intestinales implicadas en el estudio se procedió a realizar un test de sobrecarga oral con una medición postprandial a tiempo 0 y 15 minutos tras la ingesta de los niveles plasmáticos de GIP, GLP-1 y PYY.

Como podemos observar en la figura 53A apareció una disminución significativa en el patrón de secreción de GIP 15 minutos tras la SOG en los animales sometidos a PDIT (línea roja) respecto a los animales Sham (línea azul) con $P < 0,05$ (#). Como muestra la figura 53B también aparecieron diferencias significativas con $P < 0,05$ (*) entre las AUC descritas por dicha secreción entre los animales PDIT (barra rallada roja) y Sham (barra rallada azul).

En el caso de GLP-1 nuevamente apareció un patrón de secreción postprandial modificado como se aprecia en la figura 53C. Al contrario que en el caso anterior, los niveles plasmáticos de GLP-1 en el grupo PDIT (línea roja) se presentaron significativamente elevados a tiempo 0 respecto al control (línea azul) con $p < 0,05$ (#) llevando a cabo un fuerte descenso a los quince minutos hasta equipararse a los niveles plasmáticos existentes en los animales Sham. Esta diferencia inicial pese a equipararse a los 15 minutos quedó reflejada en el AUC descrito por los dos grupos de animales como un valor significativamente mayor para los animales PDIT (barra rallada roja) con $P < 0,05$ (*) como se aprecia en la figura 53D.

CAPÍTULO 5. RESULTADOS

Finalmente se exploró el patrón de secreción de PYY en nuestros grupos experimentales. Como muestran las figuras 53E y 53F ninguna diferencia significativa pudo apreciarse en el patrón de secreción plasmática ni en las AUCs descritas por cada grupo.

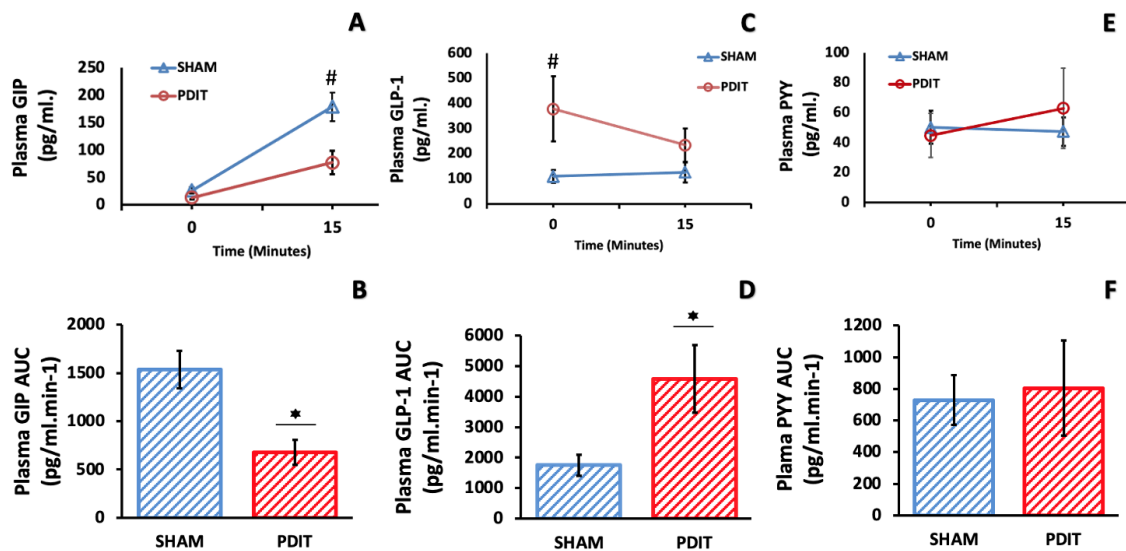


Figura 53. Mediciones hormonales. Figuras 53A, 53C y 53E Patrones de secreción postprandial de GIP, GLP-1 y PYY respectivamente. En eje Y se representa niveles plasmáticos de la hormona correspondiente expresados como valor medio \pm EEM en pg/ml. En el eje Y intervalo de tiempo en minutos con dos puntos de medición T=0 y T=15. Línea azul representa al grupo Sham y Línea roja representa al grupo PDIT. Se consideraron diferencias significativas aquellas con $P < 0,05$ (#). Figuras 53B, 53D y 53F representan áreas bajo la curva (AUC) correspondientes a cada patrón de secreción GIP, GLP-1 y PYY. En el eje Y se representa AUC de la hormona correspondiente expresada como valor medio \pm EEM en pg/ml. min-1. En el eje X los grupos a estudio: Sham con barra rallada azul y PDTI con barra rallada roja. Se consideraron diferencias significativas aquellas con $P < 0,05$ (*).

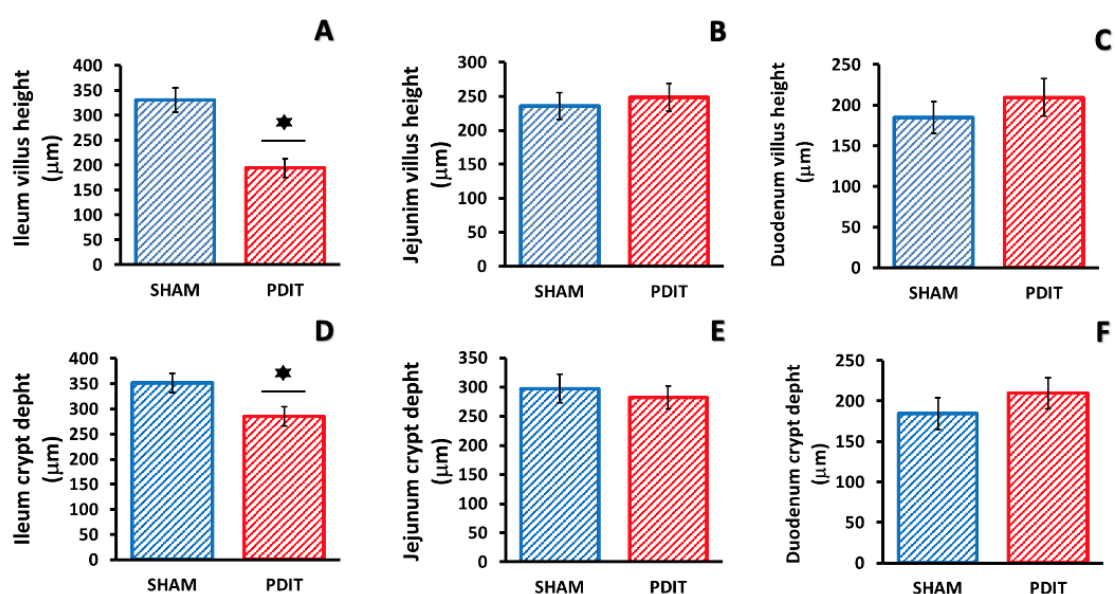
CAPÍTULO 5. RESULTADOS

4. ESTUDIO HISTOMORFOMÉTRICO DEL INTESTINO DELGADO

Tras las determinaciones anteriores, se procedió a analizar los cambios histomorfométricos en los distintos segmentos del intestino delgado, basándonos en la medición de dos parámetros indicativos de dichos cambios: la longitud de las vellosidades intestinales y la profundidad de las criptas.

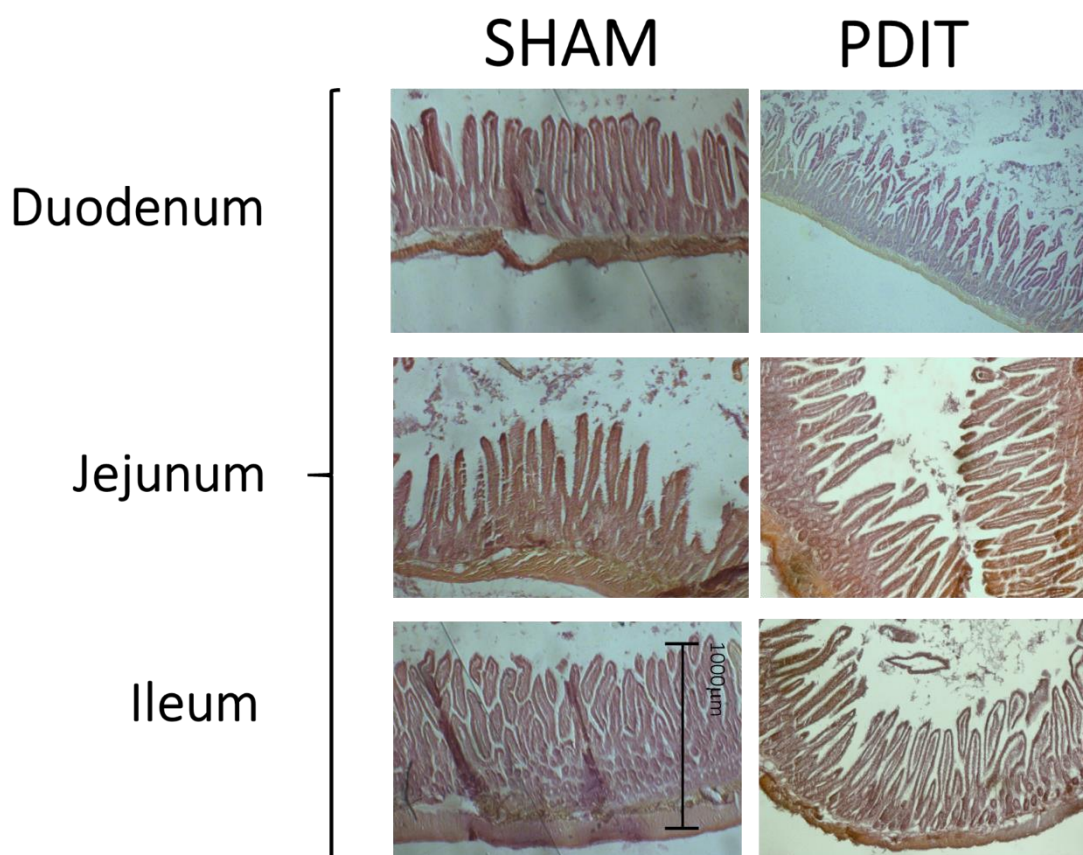
Como la figura 54A muestra, en el caso del segmento correspondiente al íleon transpuesto en los animales problema o grupo PDIT, representados por la barra rallada roja, se apreció una significativa disminución en la longitud de las vellosidades con $P < 0,05$ (*) respecto a aquellas de los animales del grupo control o Sham, representados por la barra rallada azul. En ningún otro segmento intestinal, yeyuno o duodeno, se apreció diferencia estadísticamente significativa entre las longitudes de las vellosidades de los animales problema y control como se aprecia en las figuras 54B y 54C.

El segundo parámetro analizado, la profundidad de las criptas, también arrojó diferencias significativas, $P < 0,05$ (*), entre el segmento correspondiente al íleon transpuesto del grupo PDIT, representado con barra rallada roja y el correspondiente del grupo Sham, representado con barra rallada azul, como muestra la figura 54D. Objetivándose una menor profundidad de estas estructuras en el segmento traspuesto.



CAPÍTULO 5. RESULTADOS

Figura 54. Parámetros histomorfométricos del intestino delgado. Figuras 54A, 54B y 54C Longitud de las vellosidades en íleon, yeyuno y duodeno respectivamente. En el eje Y se representa la longitud como valor medio \pm EEM expresado en micras (μm). En el eje X se representan los grupos a estudio (Sham) o control quirúrgico con barra azul rallada y (PDIT) o problema con barra rallada roja. Figuras 54D, 54E y 54F Profundidad de las criptas en íleon, yeyuno y duodeno respectivamente. En el eje Y se representa la longitud como valor medio \pm EEM expresado en micras (μm) En el eje X se representan los grupos a estudio (Sham) o control quirúrgico con barra azul rallada y (PDIT) o problema con barra rallada roja. Para ambos parámetros a estudio se consideraron diferencias significativas aquellas con $P < 0,05(*)$.



Panel fotográfico 1. Microfotografías de vellosidades y criptas en distintos segmentos del intestino delgado. Realizadas con objetivo (x20) sobre tinciones de Hematoxilina y Eosina.

CAPÍTULO 5. RESULTADOS

5. ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN TISULAR DE ENTEROHOMONAS

Un punto muy importante de este estudio fue el análisis de la expresión de las distintas enterohormonas estudiadas en los tres segmentos del intestino delgado. En concreto se testó la expresión de GIP, GLP-1 y PYY en duodeno yeyuno e íleon mediante técnicas inmunohistoquímicas. Los resultados obtenidos se muestran en la figura 55.

En el caso de la expresión de GIP la figura 55A muestra una importante disminución del número de células GIP+ en el segmento correspondiente al duodeno de los animales del grupo PDIT, representados con barra rallada roja, en comparación con los Sham o control, representados con barra rallada azul, $P < 0,05 (*)$. No obstante, esta situación no apareció en los dos segmentos restantes yeyuno e íleon como se representa en las figuras 55B y 55C.

El análisis de la expresión tisular de GLP-1 recogido en las figuras 55D y 55F nos mostró un incremento significativo del número de células GLP-1 positivas, $P < 0,05 (*)$ tanto en duodeno como en íleon de animales pertenecientes al grupo PDIT. Por el contrario, en los segmentos correspondientes a yeyuno no se apreciaron diferencias en la expresión de GLP-1 entre los grupos estudiados como se observa en la figura 55E.

La expresión tisular de PYY, al contrario que las anteriores no marcó diferencia alguna en ninguno de los segmentos intestinales analizados en los dos grupos de animales a estudio tal y como se recoge en las figuras 55G, 55H y 55I.

CAPÍTULO 5. RESULTADOS

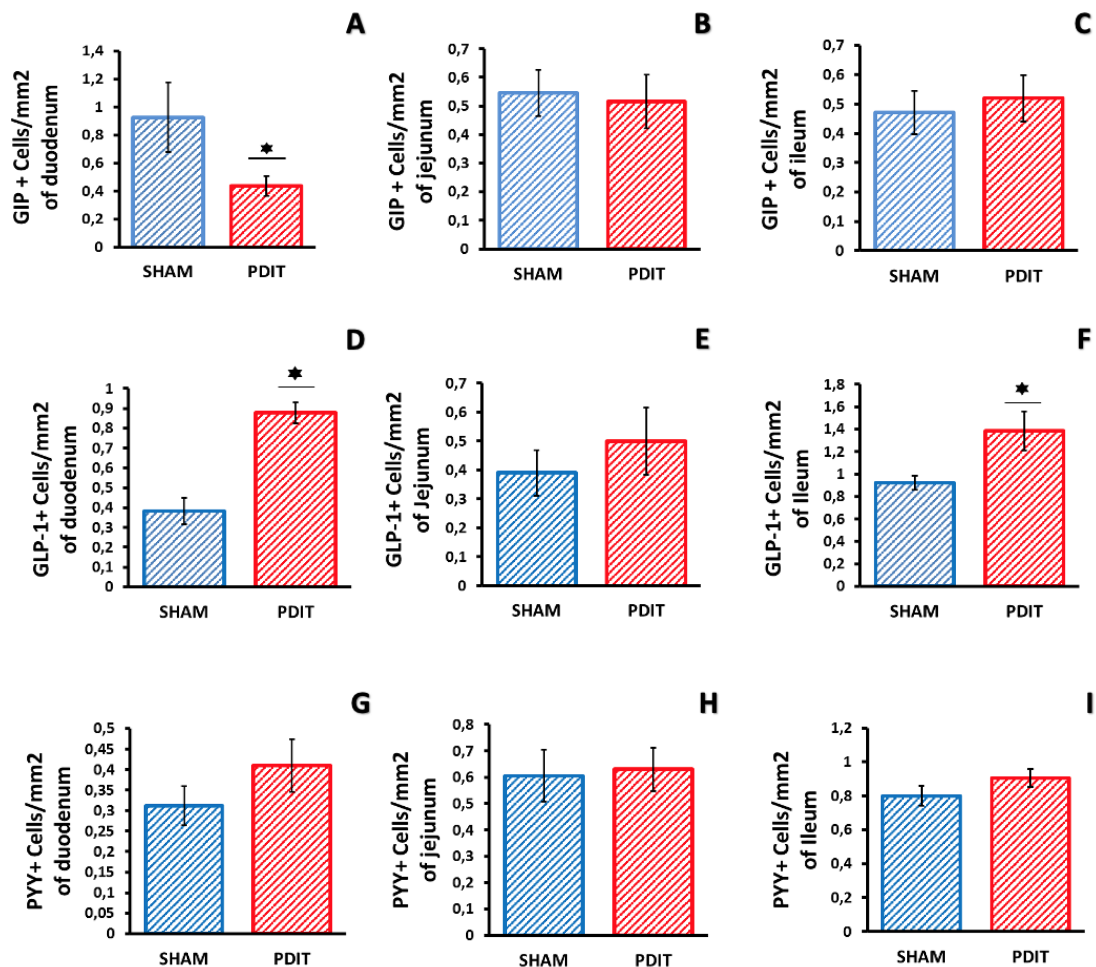
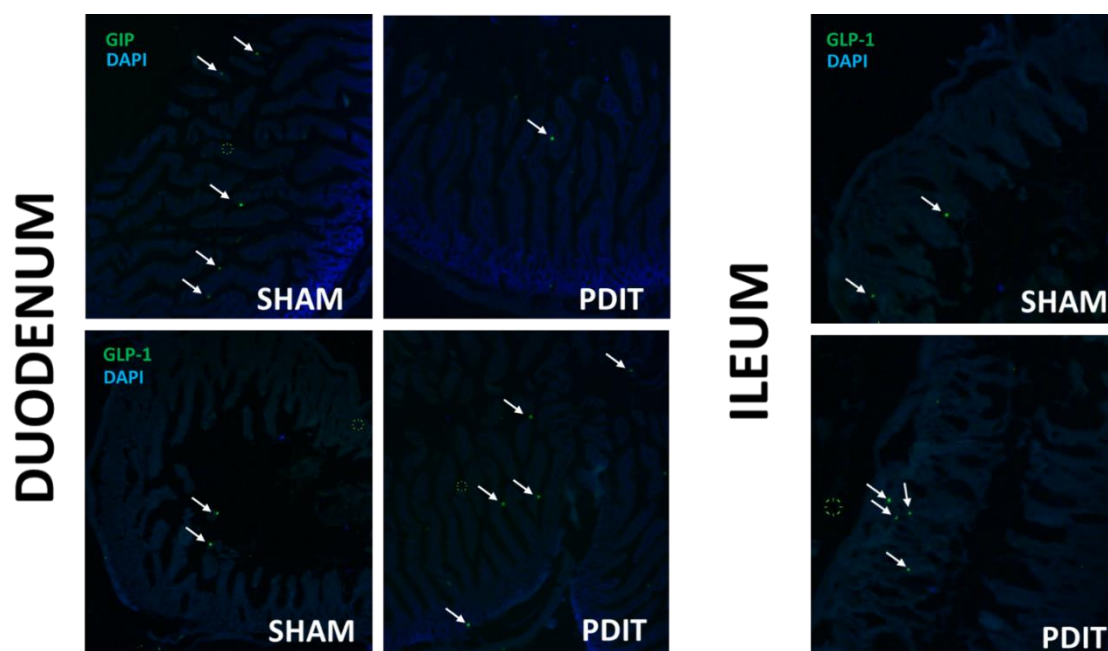


Figura 55. Expresión de enterohormonas en el intestino delgado. Figuras 55A, 55B y 55C indican la expresión de GIP en duodeno, yeyuno e íleon respectivamente como valor medio \pm EEM. En el eje Y se expresa el número de células GIP positivas/mm² de tejido en cada uno de los tres segmentos intestinales. En el eje X se expresan los grupos a estudio: Sham o control quirúrgico (barra rallada azul) y PDIT o problema (barra rallada roja). Figuras 54D, 54E y 54F indican la expresión de GLP-1 en duodeno, yeyuno e íleon respectivamente como valor medio \pm EEM. En el eje Y se expresa el número de células GLP-1 positivas/mm² de tejido en cada uno de los tres segmentos intestinales. En el eje X se expresan los grupos a estudio: Sham o control quirúrgico (barra rallada azul) y PDIT o problema (barra rallada roja). Figuras 54G, 54H y 54I indican la expresión de PYY en duodeno, yeyuno e íleon respectivamente como valor medio \pm EEM. En el eje Y se expresa el número de células PYY positivas/mm² de tejido en cada uno de los tres segmentos intestinales. En el eje X se expresan los grupos a estudio: Sham o control quirúrgico (barra rallada azul) y PDIT o problema (barra rallada roja). Para las tres hormonas a estudio se consideraron diferencias significativas aquellas con $P < 0,05$ (*).

CAPÍTULO 5. RESULTADOS



Panel fotográfico 2. Microfotografías de la expresión diferencial de GIP y GLP-1 en duodeno e íleon de animales control (Sham) y problema (PDIT). Realizadas con objetivo (x20) sobre tinciones inmunohistoquímicas con fluorescencia.

6. DISTRIBUCIÓN TOPOGRÁFICA INTRAGRUPO DE LA EXPRESIÓN TISULAR DE ENTEROHORMONAS EN INTESTINO DELGADO

Al objeto de hacer más intuitivos los resultados obtenidos relativos a la expresión de las enterohormonas GIP, GLP-1 y PYY procedimos a representar la expresión de cada una de ellas siguiendo una distribución cráneo-caudal acorde con los reordenamientos anatómicos sufridos en cada uno de los grupos estudiados.

Los datos correspondientes a GIP se recogen en la figura 56A en la que se aprecia una marcada expresión de células GIP positivas con $P < 0,05(\#)$ a nivel craneal que se corresponde con el segmento duodenal en los animales Sham o control, representados con la línea azul, respecto al segmento ileal dispuesto en la misma posición craneal en los animales del grupo PDIT representados con la línea roja. No se apreciaron diferencias entre grupos en localizaciones más caudales, ni siquiera en el segmento

CAPÍTULO 5. RESULTADOS

duodenal del grupo PDIT, existiendo una expresión similar en comparación al yeyuno del grupo Sham.

En el caso de GLP-1 en la figura 56B se aprecia un alto número de células GLP-1 positivas, a nivel craneal con $P < 0,01$ (##), representados con línea roja, coincidiendo con el segmento ileal traspuesto en los animales pertenecientes al grupo PDIT. Situación que no aparece en los animales Sham, con línea azul, en los que dicha región coincide con el segmento duodenal.

En el grupo PDIT el número de células GLP-1 positivas desciende progresivamente en dirección caudal hasta ser mínimas en el segmento yeyunal. Por el contrario, en el grupo Sham a nivel caudal y coincidiendo con el segmento ileal aparece un repunte significativo de células GLP-1 positivas, $P < 0,05$ (#), respecto a las existentes en la zona en los animales del grupo PDIT.

Por último, la figura 56C nos muestra la distribución espacial de la expresión de PYY. Como en el caso anterior aparece un alto número de células PYY positivas en la región más craneal del tubo en los animales del grupo PDIT con $P < 0,01$ (##) coincidiendo con el segmento ileal traspuesto. Esta alta expresión de PYY disminuye hacia la región media del tubo en el grupo PDIT donde coincide con el segmento duodenal para volver a incrementarse hacia la región caudal coincidiendo esta vez con el segmento yeyunal.

En el caso de los controles se aprecia un incremento de la expresión de PYY lineal en dirección cráneo-caudal coincidiendo su pico máximo con la región caudal del intestino delgado donde se ubica el íleon. Siempre marcando en los segmentos más distales diferencias significativas con $P < 0,05$ (#) respecto a los valores de expresión de PYY obtenidos para los animales del grupo PDIT.

CAPÍTULO 5. RESULTADOS

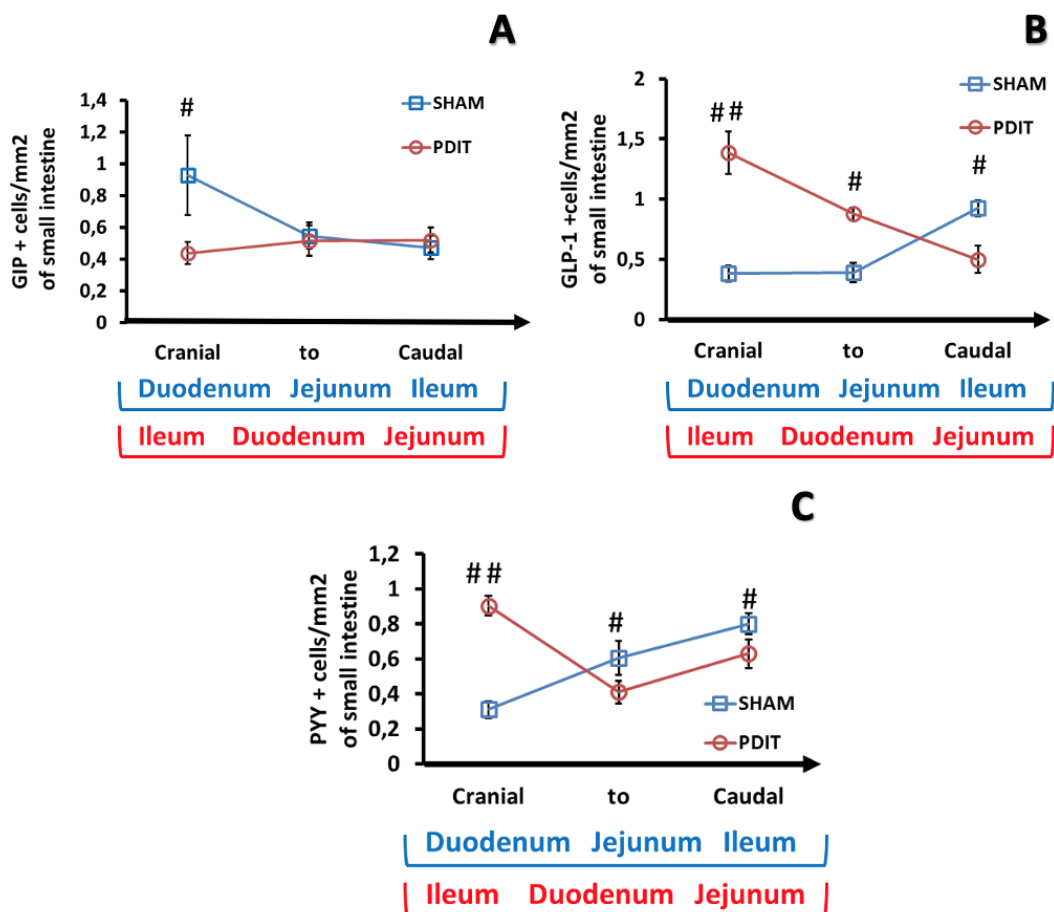


Figura 56. Representación topográfica de la expresión tisular de GIP, GLP-1 y PYY.
Figura 56A: Expresión topográfica de GIP como valor medio \pm EEM. En el eje Y se representa el número de células GIP+/mm² de intestino delgado. En el eje X se representan el intestino delgado en su longitud total, así como la ubicación de los distintos segmentos intestinales en color azul para el grupo control o Sham y rojo para el grupo PDIT. **Figura 56B:** Expresión topográfica de GLP-1 como valor medio \pm EEM. En el eje Y se representa el número de células GLP-1+/mm² de intestino delgado. En el eje X se representan el intestino delgado en su longitud total, así como la ubicación de los distintos segmentos intestinales en color azul para el grupo control o Sham y rojo para el grupo PDIT. **Figura 56C:** Expresión topográfica de PYY como valor medio \pm EEM. En el eje Y se representa el número de células PYY+/mm² de intestino delgado. En el eje X se representan el intestino delgado en su longitud total, así como la ubicación de los distintos segmentos intestinales en color azul para el grupo control o Sham y rojo para el grupo PDIT. En todos los casos se tomaron como diferencias significativas aquellas con $P < 0,05$ (#) o $P < 0,01$ (##).

CAPÍTULO 5. RESULTADOS

7. CUADROS RESUMEN (CR)

Leyenda y nomenclatura:

<ul style="list-style-type: none"> • Significancia P<0,05: # • Significancia P<0,01: ## 	<p>↑ Aumento de la expresión.</p> <p>↓ Disminución de la expresión.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • PDIT: Transposición Ileoal Preduodenal • SHAM: Control quirúrgico • ID: Intestino Delgado
---	---	---

Grupo Quirúrgico	Enterohormona					
	Tiempo Medición SOG (min)					
	GLP-1		PYY		GIP	
	0	15	0	15	0	15
PDIT	↑ #	=	=	=	=	↓ #
SHAM	=	=	=	=	=	=

CR 1. Tabla resumen de los niveles plasmáticos de enterohormonas.

VELLOSIDADES	Segmento Intestinal		
Grupo Quirúrgico	Duodeno	Yeyuno	Íleon
PDIT	=	=	↓ #
SHAM	=	=	=

CR 2. Tabla resumen de la altura de las vellosidades del ID.

CAPÍTULO 5. RESULTADOS

CRIPTAS	Segmento Intestinal		
Grupo Quirúrgico	Duodeno	Yeyuno	Íleon
PDIT	=	=	↓ #
SHAM	=	=	=

CR 3. Tabla resumen de la profundidad de las criptas del ID.

<u>GLP-1</u>	Segmento Intestinal		
Grupo Quirúrgico	Duodeno	Yeyuno	Íleon
PDIT	↑ #	=	↑ #
SHAM	=	=	=

CR 4. Tabla resumen de la expresión tisular de GLP-1.

<u>PYY</u>	Segmento Intestinal		
Grupo Quirúrgico	Duodeno	Yeyuno	Íleon
PDIT	=	=	=
SHAM	=	=	=

CR 5. Tabla resumen de la expresión tisular de PYY.

<u>GIP</u>	Segmento Intestinal		
Grupo Quirúrgico	Duodeno	Yeyuno	Íleon
PDIT	↓ #	=	=
SHAM	=	=	=

CR 6. Tabla resumen de la expresión tisular de GIP.

CAPÍTULO 6. DISCUSIÓN

CAPÍTULO 6. DISCUSIÓN

La cirugía bariátrica/metabólica se ha convertido actualmente en una potente herramienta terapéutica para el control de la DMT2. En ciertos casos incluso más eficiente que el tratamiento farmacológico tradicional de esta enfermedad. No obstante, la mayoría de los mecanismos fisiopatológicos que subyacen a esta capacidad terapéutica permanecen aún bajo un halo de incertidumbre o los resultados de su estudio arrojan conclusiones muchas veces contradictorias. Entre ellos, destacan los relacionados con la expresión de las distintas enterohormonas implicadas en mayor o menor medida en la regulación del metabolismo hidrocarbonado tras los reordenamientos anatómicos propios de estas cirugías

En este sentido consideramos la cirugía metabólica experimental, caso de la PDIT en nuestro modelo, no solo como una potente herramienta a la hora de estudiar y determinar cambios en la expresión y secreción de estas enterohormonas con relación a los reordenamientos anatómicos secundarios a esta. Si no también a la hora de dilucidar el papel de estas en el desarrollo normal de los mecanismos fisiológicos regulatorios de esta parte del metabolismo. Facilitando así su explicación y arrojando luz sobre este tema tan controvertido.

Dada la complejidad del tema y su densidad hemos decidido ordenar la presente discusión en varios apartados, cada uno de los cuales referido a uno o varios parámetros estudiados en esta tesis.

1. SOBRE EL EFECTO DE LA CIRUGÍA PDIT EN EL PESO

Si bien nuestra primera intención en este estudio se dirige hacia la evaluación de la variación de factores metabólicos tras la PDIT en nuestro modelo, no debemos olvidar el componente bariátrico y por lo tanto la pérdida de peso tras esta cirugía. Esto es así dado los posibles efectos indirectos de esta sobre el metabolismo hidrocarbonado. Como podría ser una disminución de la resistencia a la insulina.

En particular en nuestro estudio, tanto en el grupo PDTI como en el grupo Sham, la técnica quirúrgica realizada provoca una pérdida ponderal en el postoperatorio inmediato seguida de una ganancia de peso progresiva y mantenida durante el seguimiento. Esta ganancia ponderal, no arrojó diferencias significativas entre ambos grupos a lo largo de los 21 días de seguimiento en el estudio como podemos observar

CAPÍTULO 6. DISCUSIÓN

en la figura 51 del apartado de resultados. Estos resultados son comparables a los descritos en varios trabajos durante un seguimiento similar o superior en el tiempo en modelos de roedor independientemente de su condición de obesidad y diabetes (272–278). Siempre y a diferencia de nuestro modelo, tras una transposición del segmento ileal a nivel distal al ligamento de Treitz, es decir, post-duodenal (218).

No obstante, también en varios estudios se ha observado una pérdida de peso significativa a largo plazo tras un seguimiento entre 6 y 8 semanas en animales Goto-Kakizaki (GK), diabéticos no obesos (220,279). Así mismo, Grueneberger et al. mostró una reducción significativa de peso en los animales sometidos a cirugía de transposición ileal (IT) respecto al control quirúrgico durante un periodo de 3 semanas (280). Esta pérdida se desencadenaría por la estimulación del segmento de íleon transpuesto debido a la llegada temprana de nutrientes al mismo, ya que no existe un componente restrictivo y/o malabsortivo asociado. Esta sobreestimulación acentuaría un mayor efecto del llamado “freno ileal” por la activación de mecanismos neurales y endocrinos. Con un incremento de la termogénesis inducida por la dieta y el gasto energético relacionado con la digestión, procesamiento y almacenamiento de los nutrientes (281,282). A lo que parecen contribuir de manera determinante las alteraciones morfológicas del segmento de íleon interpuesto. Caracterizados por una “yeyunización” del íleon transpuesto (218,280). Y que discutiremos más adelante.

Como podemos observar no hay una opinión unánime en la literatura al respecto del efecto sobre el peso de esta cirugía en modelos de roedor. No obstante esta disparidad de resultados podría deberse a las diversas cepas de roedor utilizadas y las diferentes dietas administradas durante el desarrollo de las experiencias, ya que en muchos casos se utilizaron ratas Sprague-Dawley (283) o Lewis (280,281), a las cuáles se les proporcionó una dieta rica en grasas o proteínas, con un seguimiento más prolongado.

Independientemente de las anteriores divergencias, la pérdida de peso inicial, evidenciada en ambos grupos, parece responder al efecto anorexígeno inicial transitorio y posteriormente compensado del estrés generado por el propio acto quirúrgico (244).

CAPÍTULO 6. DISCUSIÓN

2. SOBRE EL EFECTO DE LA CIRUGÍA PDIT EN EL METABOLISMO DE LA GLUCOSA

Dentro de los parámetros funcionales de obligado estudio en este trabajo, encontramos aquellos referidos a los niveles de glucosa en sangre tanto a nivel basal como tras un suministro exógeno de glucosa en los animales sometidos a cirugía PDIT.

2.1. Sobre la Glucemia Basal

En el caso de las glucemias basales no aparecen diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (Figura 52A). Estos resultados coinciden con los obtenidos al respecto en diversos estudios que valoran este parámetro en modelos sanos (272,273). Caso contrario de lo que ocurre en modelos patológicos, tanto en animales diabéticos (220,276,279,284,285) como obesos (278,286), donde la cirugía de transposición ileal provoca una disminución significativa de los niveles basales de glucemia plasmática.

Los resultados obtenidos en nuestro trabajo son esperables al tratarse de ratas Wistar sanas sometidas a este tipo de procedimiento quirúrgico. Aunque la cirugía de transposición ileal provoca un cambio conformacional del tracto gastrointestinal, la integridad de los mecanismos responsables de la regulación del metabolismo glucídico permanece, manteniéndose la homeostasis del sistema y los niveles plasmáticos de glucosa. Repetimos, algo esperado.

En algunos estudios en modelos con alteraciones del metabolismo hidrocarbonado, a consecuencia de la DM2 y/o de la obesidad, la interposición del segmento ileal a nivel proximal es responsable de la mejora glucídica incluso a nivel basal. A pesar de no existir un componente malabsortivo y/o restrictivo y mantenerse la integridad de los distintos segmentos intestinales, la alteración anatomofuncional secundaria a la transposición ileal condiciona una serie de cambios metabólicos consecuencia de modificaciones a nivel histológico, tanto a nivel de la histoarquitectura intestinal como de la expresión de determinadas incretinas. En este sentido, Sun et al. (287,288) demostraron en un modelo diabético ratas GK a lo largo de 4 semanas, una mejora estadística de la glucemia basal respecto a los controles Sham.

CAPÍTULO 6. DISCUSIÓN

A pesar de esto, en nuestro caso, los valores de los datos basales tienen un relativo valor en tanto en cuanto el objeto de este estudio no es llegar a la remisión de la diabetes en nuestro modelo sino el estudio de la mecánica fisiológica que gobierna estos fenómenos.

2.2. Sobre el Test de Tolerancia Oral a la Glucosa (TTOG)

De forma adicional, en nuestro estudio, tras la cirugía también realizamos dos test de tolerancia a la sobrecarga oral a la glucosa (TTOG) a las 4 y 8 semanas de supervivencia de los animales (Figuras 52B/C y 52D/E respectivamente). De manera similar a lo ocurrido con la glucemia basal, no aparecieron diferencias significativas en los patrones descritos por ambos grupos con la salvedad del punto de medición correspondiente a los 120 minutos en el test realizado a las 4 semanas de seguimiento, en el cual aparecieron diferencias significativas para $P < 0,05$ (Figura 52B). Dicha diferencia estadística, dado su carácter aislado, pudiese obedecer a un artefacto en la medición. No obstante, pudiera estar en relación con el efecto propio de la cirugía, dada la leve mejora de la homeostasis glucémica observada en el grupo PIDT en las distintas mediciones de la prueba. En cualquier caso, insuficientes para marcar diferencias significativas en las Áreas Bajo la Curva (AUCs) descritas en ambas pruebas entre los dos grupos como podemos observar en las figuras 52C y 52E al primer y segundo mes respectivamente.

En la misma línea que nuestra experiencia, el estudio de Jung Oh et al. no mostró diferencias significativas en los niveles plasmáticos de glucosa ni en el AUC tras la SOG realizada a las 4 semanas postoperatorias también en roedores sanos (ratas Sprague-Dawley) (273). Tampoco en ratas Long-Evans, no diabéticas ni obesas, se evidenciaron diferencias significativas en las curvas glucémicas durante la prueba de tolerancia a la glucosa oral a las 3 semanas de seguimiento (289).

En un primer momento tanto nuestros resultados como los descritos en otros trabajos en modelos no patológicos podrían llevarnos a pensar en la inocuidad de este procedimiento en relación a los niveles de glucemia tanto basales como postprandiales. Sin embargo, varios estudios realizados en modelos sanos sí han puesto de manifiesto una mejora de la tolerancia a la glucosa tras la cirugía de IT. Si bien, si atendemos a los resultados de Strader et al. en 2009 en ratas Long-Evans tras 12 semanas de seguimiento, veremos mejoras en las glucemias postprandiales a los 45 y 60 minutos

CAPÍTULO 6. DISCUSIÓN

con diferencias en sus AUCs respecto al grupo control quirúrgico (274). También el grupo de Mencarelli et al. en ratas Wistar objetivó modificaciones significativas de la tolerancia glucémica. Pero en este caso, las diferencias significativas entre grupos se observaron al inicio del test (15 y 30 minutos) y durante un seguimiento más prolongado (7 meses), y tras la administración de AB, en concreto CDCA, durante una semana previa a la SOG (272).

En este sentido, podríamos mencionar también trabajos de algunos investigadores como Ramzay et al. y Nausheen et al. llevados a cabo en ratas Sprague-Dawley. Los cuáles obtuvieron una mejora de la tolerancia a la glucosa en todos los tiempos de la SOG en el grupo de animales sometidos a transposición ileal. El primero objetivó dicha mejora glucémica a las 4 semanas de seguimiento postoperatorio e independientemente de la longitud del segmento ileal traspuesto (283). Mientras en el segundo dicha mejora se observó tras el TTOG realizado a las 8 semanas de la transposición de un segmento ileal con una longitud de 20 cms (290). No obstante, en ambos grupos de trabajo, dichos resultados no son comparables ya que se obtuvieron mediante una prueba de tolerancia intraperitoneal, perdiéndose así el posible efecto incretina en relación a la cirugía.

Si bien los resultados obtenidos en modelos sanos ponen de manifiesto la importancia del intestino distal en la homeostasis de la glucosa. Este papel del íleon derivado de la IT queda claramente reflejado en especies animales patológicas. Así, la cirugía de transposición ileal ha demostrado una mejora sustancial de la tolerancia glucídica en modelos diabéticos, tanto obesos como no obesos.

Varios estudios elaborados con ratas GK (genéticamente predispuestas a la DMT2) muestran un aumento significativo del AUC del TTOG del grupo IT respecto al grupo control quirúrgico realizado a las 4 semanas de la intervención quirúrgica (219,288,291). En este tipo de animales, Chen et al. en 2016 observaron dicha mejora en la tolerancia glucídica del AUC incluso a las 2 semanas del postoperatorio (276). Esto nos lleva a concluir la existencia de mecanismos derivados del reordenamiento anatómico tras esta cirugía que se hacen patentes en el caso de modelos diabéticos que tienden a normalizar la glucemia de los animales de experimentación.

En cuanto a la relación con la obesidad, en nuestro caso, la cepa de ratas Wistar utilizada no presenta esta condición metabólica patológica y como hemos dicho no podemos concluir ninguna modificación en los patrones glucémicos tras la PDIT. Sin embargo, y atendiendo a la literatura, parece existir una estrecha relación entre

CAPÍTULO 6. DISCUSIÓN

obesidad y la mejora de los parámetros glucémicos tras la transposición en modelos diabéticos de roedor como demostraron Culnan et al. en ratas obesas diabéticas Zucker en la tercera y quinta semana postoperatoria (292); y Cummings et al. en ratas de la misma naturaleza UCD-T2DM (University of California, Davis-T2DM) a la cuarta y decimosexta semanas de la intervención (282) y Es así que el tejido graso parece jugar un papel relevante en los cambios fisiopatológicos tras la IT que llevan a la mejoría de los parámetros glucémicos en los animales tratados.

Por ello, y aunque en nuestra experiencia no se observan diferencias significativas entre grupos, sí parece existir cierta tendencia en la mejora del metabolismo glucémico tras la SOG en favor de la cirugía de PDIT. Derivada presumiblemente de la acción combinada de agentes propios del tubo digestivo como veremos más adelante. En apoyo de lo dicho parece tomar relevancia el papel del propio segmento ileal transpuesto. Y podría ser fundamental la gestión que dicho íleon determina de los ácidos biliares dentro de estos mecanismos (272,291). Por ello a continuación nos centraremos en el estudio de los cambios acontecidos en el intestino delgado, pero no solo a nivel del íleon sino también del duodeno y del yeyuno comenzando por aquellos que afectan a sus características histológicas.

3. SOBRE EL EFECTO DE LA CIRUGÍA PDIT EN LA HISTOMORFOMETRÍA DEL INTESTINO DELGADO

Para empezar en este apartado, recordemos que la extensión de la superficie de absorción del intestino delgado está amplificada por una serie de especializaciones celulares de la capa mucosa y submucosa. Entre estas especializaciones destacan las llamadas criptas de Lieberkuhn, y las vellosidades y microvellosidades intestinales. El yeyuno es la porción intestinal con mayor absorción de nutrientes, principalmente carbohidratos y proteínas, por lo que este segmento se caracteriza por la presencia de vellosidades largas y gran densidad de microvellosidades en los enterocitos. Por su parte, la principal función absorptiva del íleon es la responsable de la incorporación de sales biliares y vitamina B12, por lo que las vellosidades a este nivel son más cortas (45,293).

El intestino delgado presenta un alto grado de adaptación tisular frente a los cambios anatomofuncionales secundarios a la CB/M. En este sentido, la cirugía de transposición

CAPÍTULO 6. DISCUSIÓN

ileal es responsable de una serie de modificaciones en la superficie de absorción con alteraciones tanto en los enterocitos como en las llamadas especializaciones absortivas intestinales. Estas alteraciones histomorfométricas locales en el intestino secundarias a la transposición ileal serán responsables de la denominada “enteroplasticidad” que afecta tanto a nivel microestructural como de expresión de determinados factores en la superficie absortiva (294,295).

En nuestro estudio, durante el análisis comparativo de los cambios histomorfométricos en los distintos segmentos del intestino delgado, como se puede observar en la figura 4 del apartado de resultados, se observaron diferencias estadísticamente significativas en el grupo quirúrgico respecto al grupo control únicamente en el segmento de íleon traspuesto. En el primer parámetro histológico analizado, la longitud de las vellosidades intestinales. Así, se apreció una menor longitud de estas estructuras en el íleon interpuesto a nivel preduodenal en comparación a la cirugía de control (Figura 54A). Respecto a la segunda variable estudiada, la profundidad de las criptas, se observó una disminución significativa en la profundidad de las mismas en el íleon traspuesto de los animales del grupo PDIT (Figura 54D). En los otros segmentos intestinales examinados (duodeno y yeyuno), no se encontraron diferencias significativas entre grupos en ninguno de los dos parámetros representativos objeto de estudio. Como se refleja en las figuras 54B y 54C para las vellosidades yeyunales y duodenales respectivamente, y en relación con las criptas de Lieberkuhn en yeyuno y duodeno representadas en las figuras 54E y 54F.

Estos resultados pueden parecer, al menos parcialmente, contrapuestos con los descritos mayoritariamente en la literatura, que propone modificaciones en la estructura histológica del segmento interpuesto con un incremento en el número y longitud de las vellosidades intestinales y en esos mismos modelos animales diabéticos y obesos, una disminución de la profundidad de las glándulas o criptas intestinales (275,296,297). Lo que supone que el área de absorción del segmento de íleon sea mayor, y comparable a la de un segmento yeyunal cualquiera en condiciones fisiológicas (283,296).

Para explicar esto podemos decir que, la mayoría de las técnicas experimentales de transposición ileal se caracterizan por una transposición a nivel yeyunal distal al ligamento de Treitz, y, por consiguiente, a la desembocadura del flujo biliopancreático. Por lo que a este nivel se produce una alcalinización del pH para neutralizar la acidez proveniente del estómago. De esta forma, como queda recogido en la literatura, el grupo sometido a transposición ileal respecto al grupo control Sham, presenta una serie de

CAPÍTULO 6. DISCUSIÓN

cambios morfológicos caracterizados por una “yeyunización” del íleon traspuesto (218,298). Una disposición diferente por tanto a la propuesta en este trabajo y consecuentemente con efectos distintos a nivel histológico. En nuestro estudio, la interposición ileal es preduodenal. Esta disposición anatómica determina dos importantes consecuencias a nivel funcional.

La primera, que el segmento de íleon traspuesto recibe directamente el quimo ácido gástrico. Por lo que la mucosa ileal va a sufrir una abrasión condicionada por la ausencia de glándulas de Brunner. Estas glándulas, localizadas en su gran mayoría en la submucosa del duodeno y productoras de cimógeno y mucina, son responsables de una secreción muy alcalina (pH 8,1-9,3) (45). Debido a la práctica ausencia de estas glándulas a nivel ileal, no va a existir la barrera protectora necesaria para neutralizar el quimo ácido proveniente del estómago dada la nueva disposición gastrointestinal. En segundo lugar, el íleon interpuesto no se encuentra en contacto con el yeyuno sino con el duodeno y el estómago. Por lo que los resultados histomorfométricos de nuestro modelo, en contraposición con los cambios histológicos recogidos en los diversos artículos comentados, no reflejan la llamada “yeyunización” del segmento ileal. Más bien, va a tener lugar una “duodenización” de dicho segmento condicionada por la enteroplasticidad intestinal comentada.

En este sentido, la localización a nivel preduodenal provoca que el íleon distal traspuesto se adapte a las nuevas condiciones ambientales con disminución de su capacidad de ampliación absortiva al mostrar unas vellosidades más cortas y unas criptas menos profundas, semejantes a las dispuestas en el duodeno. En los otros segmentos, como hemos dicho, no se observaron modificaciones histomorfométricas. En el caso del duodeno, seguramente por recibir igualmente un contenido intestinal ácido no compensado por el segmento ileal y, además, por no verse afectado el flujo biliar al estar conservada la ampolla de Vater. En el caso del yeyuno, por mantener su localización y disposición habitual sin resección o exclusión en toda su longitud.

CAPÍTULO 6. DISCUSIÓN

DUODENIZACIÓN SEGMENTO ÍLEAL TRANSPUESTO

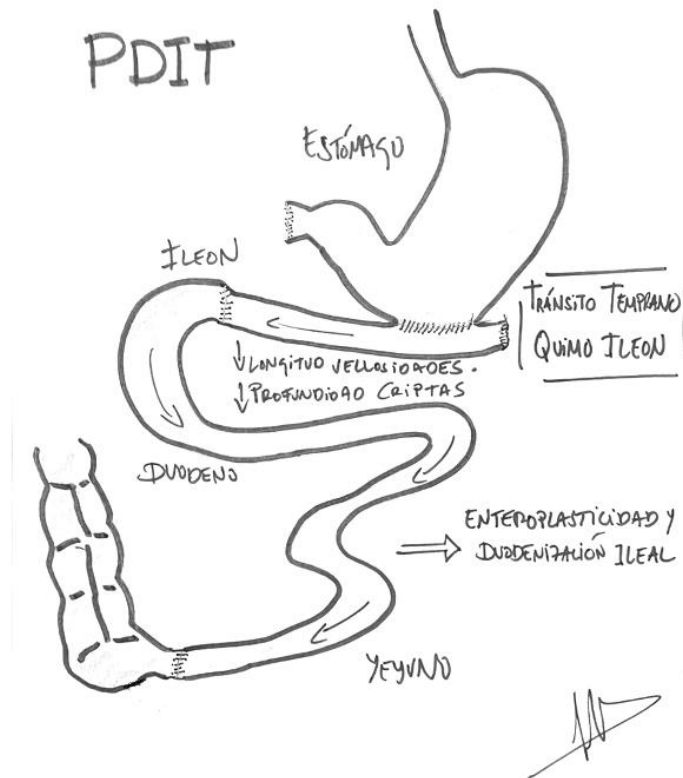


Figura 57. Duodenización del segmento de íleon transpuesto tras la realización de la cirugía PDIT secundaria a la enteroplasticidad intestinal.

Resumiendo, en nuestra experiencia, la interposición ileal a nivel preduodenal no va a provocar fenómenos hiperplásicos o hipertróficos de adaptabilidad a nivel de las criptas y vellosidades intestinales del íleon interpuesto. Si no todo lo contrario, al existir un decrecimiento de la longitud y profundidad de las vellosidades y criptas intestinales respectivamente. Esto no descarta la posibilidad de una eventual modificación de la población de células de linaje enteroendocrino en los distintos segmentos a estudio. En este sentido, la adaptación morfológica intestinal puede ser independiente de adaptación celular, pero puede existir una influencia recíproca por factores aún no descritos.

A continuación, y una vez analizados los resultados histomorfométricos, pasaremos al estudio de las distintas poblaciones de linaje enteroendocrino susceptibles de verse afectadas por estos reordenamientos anatómicos postquirúrgicos.

CAPÍTULO 6. DISCUSIÓN

4. SOBRE EL EFECTO DE LA CIRUGÍA PDIT EN LOS NIVELES PLASMÁTICOS DE LAS DISTINTAS ENTEROHORMONAS Y SU EXPRESIÓN HISTOLÓGICA EN EL INTESTINO DELGADO

La mayoría de los estudios existentes en la bibliografía referentes al efecto metabólico de la cirugía de IT sobre los cambios derivados en las diferentes hormonas intestinales se caracterizan por una determinación de sus concentraciones plasmáticas. Siendo escasos los trabajos que de forma directa realicen un análisis de la correspondiente expresión enterohormonal en los tejidos afectados, y ninguno que de manera exhaustiva analice la variación de la secreción hormonal en otros segmentos intestinales distintos a su lugar de síntesis. Limitándose el estudio histológico de los péptidos involucrados al segmento de íleon traspuesto.

En el presente estudio, con el objeto de esclarecer y profundizar en la posible utilidad de esta cirugía para el estudio de los mecanismos responsables de la mejora del metabolismo hidrocarbonado, se ha realizado un análisis tanto de los niveles de expresión tisular como de los niveles plasmáticos de las distintas enterohormonas involucradas en el eje entero-pancreático. A fin de determinar la correlación existente entre los niveles plasmáticos de dichas hormonas y la expresión de estas en los propios segmentos afectados del tubo digestivo.

Para un análisis más exhaustivo y esclarecedor de los datos recogidos entre ambos grupos experimentales se ha optado por un estudio intergrupo relativo a la expresión histológica de las diferentes enterohormonas en los tres segmentos intestinales. Así como un estudio intragrupo sobre dicha expresión hormonal según distribución topográfica en los distintos tramos intestinales examinados en nuestro trabajo.

4.1. Sobre la Expresión Tisular de GLP-1 y sus Niveles Plasmáticos

Al observar los datos obtenidos para el patrón de secreción postprandial de GLP-1 tras sobrecarga oral y el análisis comparativo de las correspondientes Áreas Bajo la Curva (AUC) entre los grupos quirúrgicos, estos muestran un incremento significativo de los niveles plasmáticos de GLP-1 en el grupo PDIT respecto al grupo Sham (Figura 53D). Este aumento se produce exclusivamente al inicio de la prueba (minuto 0),

CAPÍTULO 6. DISCUSIÓN

observándose un descenso progresivo hasta el siguiente tiempo de medición (minuto 15); punto en el cuál la secreción de GLP-1 en plasma es similar a la del grupo control (Figura 53C).

Estos resultados obtenidos en nuestro trabajo experimental están respaldados por la mayoría de los estudios recogidos en la bibliografía al respecto (218). Trabajos previos en modelos de roedor sano han evidenciado mayores niveles plasmáticos de GLP-1 tras la cirugía de IT. En el trabajo de Jung Oh et al., al igual que en nuestra experiencia, se objetivó un aumento precoz (4 semanas) de esta enterohormona en sangre durante la sobrecarga oral realizada en ratas Sprague-Dawley (SD) (273). En esta misma línea, otros trabajos muestran mayores concentraciones de GLP-1 en plasma durante seguimientos más prolongados. Como reflejan los resultados obtenidos por Strader et al. en ratas Long-Evans a las 12 semanas de la intervención (274) o Mencarelli et al, que observó una elevación significativa de la secreción plasmática de GLP-1 a las veintiocho semanas después de la cirugía en ratas Wistar (272).

También en modelos patológicos, independientemente del linaje del roedor y del periodo de seguimiento, se ha observado un aumento significativo de GLP-1 secundario a la transposición ileal. Varios estudios en animales diabéticos genéticamente predispuestos y no obesos (ratas GK) han puesto de manifiesto estos resultados tanto de forma temprana, cuatro semanas posteriores a la cirugía (288), como tras un periodo postoperatorio más prolongado de ocho (220) e incluso de hasta veinticuatro semanas (219). También en modelos diabéticos inducidos mediante STZ se ha objetivado una mayor concentración plasmática de GLP-1 de manera precoz, 4 semanas tras la cirugía IT. Este es el caso de ratas Lewis, en las que la cirugía de IT provoca un aumento significativo de la secreción de GLP-1 dependiente de la glucosa respecto a la ausencia de dicho estímulo, sin existir diferencias significativas respecto a los controles tras la determinación basal (285). También en otras cepas de ratas tratadas con STZ se han obtenido dichos resultados, caso de ratas Long-Evans (299) y Wistar. En este último tipo de animales, el incremento significativo de esta hormona se mantiene en el tiempo siendo incluso mayor a las 12 semanas postoperatorias (291), de forma similar a los resultados obtenidos en ratas GK. En las cuáles los mayores niveles de GLP-1 en sangre observados de forma precoz tras sobrecarga oral persisten de forma significativa durante el seguimiento hasta las 24 semanas del mismo (284).

Si añadimos un elemento a la complejidad de este mecanismo caso de la obesidad, podremos ver qué en ratas obesas y diabéticas, caso de los trabajos de Cummings et

CAPÍTULO 6. DISCUSIÓN

al. con ratas UCD-T2DM demostraron de forma significativa una elevación de GLP-1 en plasma a las cuatro semanas (300). Y sostenida hasta las 16 semanas del seguimiento, incluso con un mayor grado de significación respecto a las cuatro semanas (282). Por último, en ratas Zucker se han evidenciado también mayores niveles de GLP-1 en sangre a las 7 semanas tras la IT después de la SOG (292).

Respecto a los escasos estudios realizados en humanos tras esta cirugía, destacan las investigaciones llevadas a cabo por De Paula et al. en pacientes con DM2 y obesidad, en los cuáles la transposición ileal en yeyuno proximal determinaron un incremento del GLP-1 plasmático (301,302).

Por otra parte, y con el objetivo de establecer una posible relación directa entre la elevación de los niveles plasmáticos de GLP1 tras IT y las variaciones en la expresión tisular en el intestino de esta enterohormona, llevamos a cabo una evaluación inmunohistoquímica de los niveles de expresión en los segmentos intestinales analizados.

En nuestro estudio mostramos un incremento significativo en la expresión tisular de GLP-1 en el grupo quirúrgico (PDIT) tanto en duodeno como en íleon, como se observa en las gráficas 55D y 55F respectivamente del apartado de resultados. Por el contrario, en la gráfica 55E, estas diferencias significativas respecto al grupo control Sham no se observaron en el segmento correspondiente a yeyuno.

Estas observaciones en nuestro modelo concuerdan con los resultados obtenidos en los pocos estudios existentes en la bibliografía que analizan la expresión histológica de esta hormona en el segmento ileal traspuesto. Y que, además, muestran mayores niveles plasmáticos de GLP-1. Así pues, análisis inmunohistoquímicos realizados en ratas con obesidad y DM2 tipo Long-Evans, 6 semanas tras la realización de IT, mostraron una mayor densidad de células GLP-1 positivas en el segmento de íleon traspuesto respecto al íleon nativo o prequirúrgico (296). Fenómeno también observado en ratas sanas Sprague-Dawley con una mayor cuantificación de células positivas a GLP-1 en el íleon interpuesto respecto a los controles a las 4 semanas del postoperatorio (283).

Además, el trabajo de Nausheen et al., también realizado en ratas Sprague-Dawley, no diabéticas, muestra de manera significativa tanto niveles elevados de GLP-1 en plasma como una mayor presencia de células GLP-1 positivas en el segmento ileal interpuesto.

CAPÍTULO 6. DISCUSIÓN

Estos datos son refrendados por diferentes estudios de nuestro grupo de investigación llevados a cabo en modelos sanos (ratas Wistar) y diabéticos (ratas GK). Los cuales han demostrado una mejora de la expresión de GLP-1 tanto tras realización de RYGB (235,303) como secundaria a una resección yeyunal masiva (RI50) (303,304). Ambos tipos de técnicas se caracterizan por la entrega de nutrientes no absorbidos en el intestino distal, de forma similar a nuestra cirugía PDIT.

En el caso de la expresión inmunorreactiva observada en nuestro modelo a nivel de duodeno, no existen datos relativos en este segmento intestinal tras cirugía de trasposición ileal. Aunque sí algunos estudios que prueban la existencia de células L a nivel duodenal tras la realización de otras técnicas de CB. En concreto, en un modelo sano, ratas Wistar, se ha observado un incremento significativo en el número de células con “marcaje” GLP-1 positivo en el tramo duodenal tanto en animales sometidos a RYGB , como en aquellos tras resección del 50% del tubo (RI50) (303). Pero también en un modelo diabético, ratas GK, tiene lugar un incremento de la expresión de GLP-1 en el duodeno tras la realización de RYGB (235).

En el caso del yeyuno, tampoco existe ningún estudio que analice la expresión de GLP-1 en dicho segmento tras IT. Únicamente existen datos sobre la expresión de esta hormona a nivel yeyunal tras la realización de RYBG. En el mencionado trabajo de Moreno et al. en ratas Wistar se ha evidenciado una mayor presencia de células GLP-1 positivas en el tramo yeyunal. Lo que podría ser consecuencia de la exclusión duodenal existente en este tipo de técnica (303). De la misma forma, Camacho-Ramirez et al. también pone de manifiesto una mayor expresión de GLP-1 en el tramo yeyunal tras la cirugía de bypass gástrico (235).

Bajo otro prisma de visión, el análisis comparativo intragrupo, según la disposición espacial de los diferentes segmentos intestinales, reafirma la mayor expresión de GLP-1 en íleon derivada de la IT preduodenal. Así como la localización de la síntesis de esta enterohormona en el intestino distal. Como hemos presentado en el apartado de resultados (Figura 56B), el número de células GLP-1 positivas en el grupo PDIT aparece significativamente elevado en los segmentos ileal y duodenal con relación a la escasa densidad celular existente en duodeno y yeyuno del grupo Sham, respectivamente. Mientras el descenso progresivo en la expresión de esta hormona se hace patente a nivel caudal, con una ausencia de expresión en el tramo de yeyuno de nuestro modelo quirúrgico. Que coincide con la mayor expresión de GLP-1 a nivel del intestino distal

CAPÍTULO 6. DISCUSIÓN

(íleon) en el grupo Sham, y que determina una elevación significativa de dicha enterohormona respecto al grupo PDIT.

Por tanto, al cotejar el número de células GLP-1 positivas atendiendo al respectivo ordenamiento intestinal entre grupos, se deduce una mayor secreción hormonal de GLP-1 derivada de la transposición ileal. No sólo a nivel del segmento interpuesto, sino también en el duodeno adyacente y dispuesto distalmente al mismo. Unido al hecho de que, en ausencia de alteración del tránsito intestinal, la mayor síntesis y secreción de GLP-1 tiene lugar en el íleon terminal.

En base a los resultados inmunohistoquímicos y plasmáticos obtenidos, y de acuerdo con la literatura al respecto, el aumento en la síntesis y secreción de GLP-1 estaría relacionado con la llegada precoz de los nutrientes al íleon traspuesto promulgado por la teoría del intestino distal.

Como hemos comentado, el incremento de las concentraciones de GLP-1 en plasma en respuesta al test de SOG tras la cirugía de IT está ampliamente documentado en la literatura. Aunque la elevación de estos niveles no se ha evidenciado inmediatamente (tiempo base) tras la sobrecarga sino a partir de los 15 minutos de la medición. De forma contraria a los resultados obtenidos en nuestro trabajo, caracterizados por un descenso de los niveles plasmáticos en este tiempo de medición después de una elevación inicial tras la prueba. Este hecho podría estar en relación con el patrón de secreción del propio GLP-1, caracterizado por una primera fase o temprana de corta duración (5-15 minutos) y una segunda fase o tardía más prolongada en el tiempo (30-60 minutos). De esta forma, las modificaciones en las concentraciones de GLP-1 en plasma después de la interposición de un segmento de íleon terminal a nivel de yeyuno proximal probablemente estén relacionados con la segunda fase de la secreción oral estimulada por la glucosa (219).

Nuestro protocolo quirúrgico de PDIT se caracteriza por una transposición ileal a nivel preduodenal, o proximal al tramo yeyunal. Esto determina que los nutrientes alcanzan el intestino distal previamente a cualquier tipo de contacto con la mucosa duodenal y/o yeyunal y, por consiguiente, sin procesamiento alguno por los tramos intestinales proximales. De esta forma, en nuestro modelo el aumento en la producción de GLP-1 sería secundario al estímulo mecánico propiciado por el paso acelerado de los nutrientes al íleon, y además estaría asociado a la primera fase de la secreción hormonal de dicha enterohormona. E incluso dicha fase temprana del patrón de secreción debe ser aún

CAPÍTULO 6. DISCUSIÓN

más precoz en nuestro modelo, dado que el íleon interpuesto proximal al duodeno es el primer segmento intestinal que recibe directamente el bolo alimenticio no procesado procedente del estómago.

De esta forma, la mayor inmunorreactividad observada para GLP-1 a nivel ileal y duodenal sería responsable del incremento objetivado en las concentraciones de esta incretina en plasma. Si bien la consabida teoría de “Hindgut” explicaría la mayor expresión tisular de esta enterohormona en el íleon traspuesto, también podría explicar, o al menos en parte, el incremento de dicha expresión histológica en duodeno.

Por otro lado, la cirugía de PDIT no lleva asociada una exclusión del intestino proximal. Luego dicha exclusión como factor desencadenante no sería responsable de la mayor expresión de GLP-1 en el duodeno propuesta por la teoría del intestino proximal o Foregut. Sin embargo, en relación con los datos relativos de GIP observados y que comentaremos posteriormente, también pudiera ser que la mayor presencia de células L en el duodeno se debiera a una adaptación de las células K tras el estímulo mecánico a nivel del íleon traspuesto. Las cuáles podrían adquirir características de las células L del segmento ileal interpuesto. Es decir, un tipo celular fenotípico de la nueva morfología intestinal derivado del reordenamiento de la cirugía PDIT mediante un mecanismo de trans-diferenciación, ya observado en otras células de linaje endocrino (305). Y que pondría de manifiesto los cambios histológicos adaptativos (enteroplasticidad) secundarios a la transposición ileal en relación con la síntesis de GLP-1.

CAPÍTULO 6. DISCUSIÓN

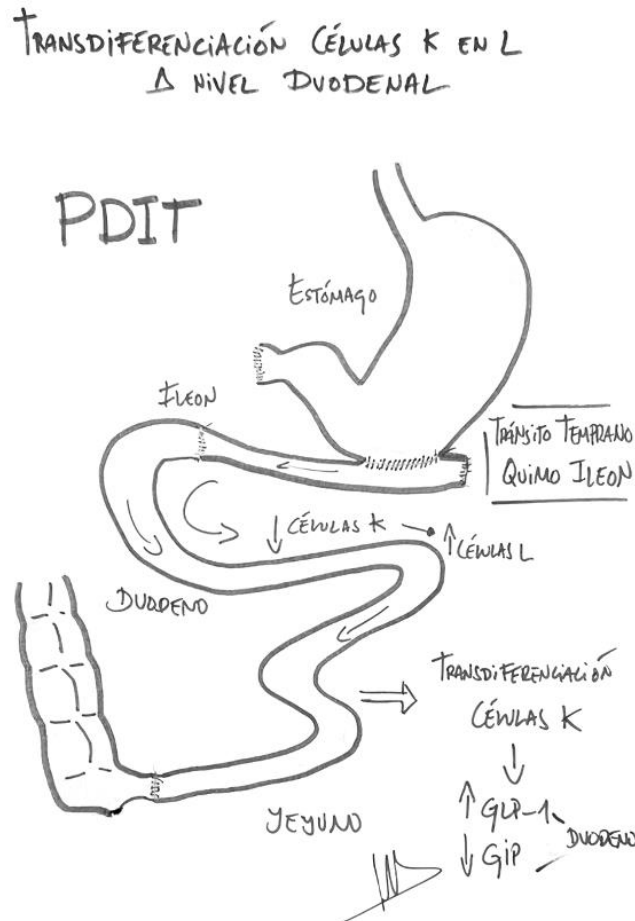


Figura 58. Posible mecanismo de transdiferenciación de células K duodenales a células L tras la realización de la cirugía PDIT consecuencia de la adaptación enteroplástica ante la rápida llegada del quimo al íleon traspuesto.

De manera adicional, el mayor nivel plasmático y expresión tisular de GLP-1 observada en nuestro modelo PDIT, también podría responder a posibles cambios en los niveles plasmáticos de los ácidos biliares (AB). Esto, aunque mencionado en diferentes estudios tras cirugía de IT con independencia del modelo ya sea sano o patológico y de la variabilidad de especies no parece ser factible. Ya que la disposición del íleon a nivel preduodenal no ocasiona una alteración de la circulación enterohepática. Sin que exista, a diferencia de la interposición ileal postduodenal, una captación prematura de sales biliares en el segmento de íleon traspuesto. Y el consiguiente aumento de las concentraciones de AB en plasma y el descenso a nivel intestinal y hepático (272,274,282,296,300). No obstante, a nuestro juicio, la influencia de las sales biliares en el eje enteropancreático requiere un estudio aparte y más exhaustivo.

CAPÍTULO 6. DISCUSIÓN

4.2. Sobre la Expresión Tisular de PYY y sus Niveles Plasmáticos

En relación al análisis de los datos obtenidos respecto a las concentraciones de PYY en sangre resulta llamativa la ausencia de diferencias significativas entre los grupos quirúrgicos, como se refleja en las figuras 53E y 53F del apartado de resultados. Se pueden observar niveles similares entre grupos al inicio de la SOG, con una elevación progresiva de los niveles de PYY en el grupo PDIT durante el segundo punto de medición de la prueba. Pero esta tendencia no es suficiente para mostrar diferencias estadísticas ni en las curvas plasmáticas (Figura 53E) ni en el área bajo la curva (Figura 53F).

Los resultados obtenidos en nuestro modelo de PDIT no son contrastables a los escasos trabajos publicados. Los cuáles muestran un incremento de los niveles plasmáticos posprandiales de esta enterohormona tras cirugía de transposición ileal, tanto en modelos sanos como diabéticos (218).

En condiciones similares a nuestra experiencia, se ha objetivado un aumento significativo de las concentraciones plasmáticas de PYY a las cuatro (273) y a las doce semanas (274) de la cirugía de IT en ratas Sprague-Dawley y Long-Evans respectivamente. En ambos trabajos, este incremento de PYY respecto al grupo control observado durante la SOG muestra diferencias significativas desde los 15 a los 60 minutos de la prueba.

Sin embargo, y pese a producirse también un incremento de los niveles de PYY en plasma a las 4 y 12 semanas de la IT, en animales con DM2 inducida mediante STZ (ratas Wistar) las diferencias estadísticas se observaron en todos los puntos de tiempo evaluados tras el estímulo de glucosa oral (291). También en modelos patológicos destacan los trabajos de Cummings et al. realizados en ratas UCD-T2DM. Este grupo de trabajo muestra mayores niveles séricos de PYY a las 8 y 14 semanas de la cirugía de transposición ileal. Pero en este caso, el incremento tiene lugar tras una sobrecarga oral de lípidos, sin observar diferencias significativas al inicio del test (282,300).

También en animales sanos destacan los resultados hormonales postprandiales obtenidos por varios grupos en ratas Sprague-Dawley. Se han observado niveles elevados de PYY en plasma a los 60 minutos de la ingesta de una dieta líquida mixta sin que existan diferencias basales. A las 4 semanas de la transposición de un segmento de íleon con una longitud mínima de 10 cms (283). Y a las 8 semanas tras cirugía de IT,

CAPÍTULO 6. DISCUSIÓN

con un nivel máximo alcanzado a los 30 minutos y con concentraciones plasmáticas superiores, aunque no significativas, a las observadas en animales sometidos a una combinación de IT+SG (283). También el grupo de Chelikani encontró mayores niveles de PYY 60 minutos después de la administración de la dieta tras la IT, con niveles comparables a los obtenidos tras el RYGB a las 2, 4 y 8 semanas (306). Por último, en ratas Lewis, el estudio de Somogyi et al. ha demostrado una elevación posprandial de PYY tras la administración de diversas dietas: hiperproteica, hipergrasa e hipercarbohidratada. Tampoco en estas condiciones el aumento del PYY se produce inmediatamente tras la dieta suministrada (minuto 0) aunque si se mantiene hasta una hora después. E incluso en la determinación llevada a cabo a las 17 horas de la ingesta se evidencian diferencias significativas en todos los tipos de dieta. Sin embargo, no se objetivan dichas diferencias a nivel basal en el grupo que recibe una dieta hiperproteica (307).

En nuestro caso, los datos obtenidos en nuestro modelo referentes a los perfiles plasmáticos de PYY son consistentes con el análisis inmunohistoquímico de expresión de esta enterohormona en el intestino delgado. Como hemos presentado en el apartado de resultados, no existe un aumento de la inmunorreactividad de PYY secundaria a PDIT en ningún tramo intestinal respecto al grupo Sham (Gráficas 55G, 55H y 55I).

Nuevamente nuestros resultados difieren de los escasos resultados recogidos en la literatura referentes a la IT. El estudio de Ramzy et al. en ratas sanas Sprague-Dawley demostró un aumento significativo de células PYY inmunopositivas en el segmento de íleon traspuesto, aunque dependiente de la longitud ileal. También se ha observado una mayor expresión tisular tanto de ARNm de PYY en ratas sanas (283) y patológicas (300), como del gen del PYY en ratas Long-Evans, con o sin diabetes inducida por STZ (299).

Sin embargo, al analizar la expresión tisular de PYY según el orden anatómico craneocaudal, si vamos a observar diferencias entre los grupos quirúrgicos atendiendo a la localización del íleon, como tejido secretor fundamental de esta hormona. En este sentido, como refleja la figura 56C, apareció un aumento significativo de células positivas para PYY en el íleon traspuesto de ratas PDIT en comparación con el segmento duodenal de ratas Sham. Pero este incremento sufre un importante descenso en el segmento duodenal para posteriormente aumentar nuevamente en el tramo más caudal correspondiente al yeyuno. Existiendo diferencias estadísticas favorables al grupo control en estos segmentos al existir una mayor expresión inmunohistoquímica lineal en el yeyuno y fundamentalmente en el íleon de estos últimos animales.

CAPÍTULO 6. DISCUSIÓN

Estos resultados ponen de manifiesto que la cirugía de PDIT no parece afectar a la localización intestinal de síntesis y secreción de PYY, ni tampoco a su perfil plasmático. Sin embargo, en base a los resultados previos ya comentados de nuestro grupo de investigación (303) después de cirugías que conllevan la presencia temprana de productos no digeridos en el intestino distal, la mayor expresión de GLP-1 en el intestino proximal evidenciada en estos estudios podría explicarse por la presencia de una hormona intermediaria. Cabe la posibilidad de la existencia de algún tipo de mediador hormonal desconocido cuya secreción fuera estimulada por esa presencia temprana del quimo en el segmento de íleon traspuesto. Este mediador podría ser el PYY, y una posibilidad es que el papel regulador de éste responda a la presencia de neurópodos (235).

De esta forma, y puesto que en nuestra experiencia si se evidencia un incremento progresivo de PYY en plasma con tendencia a la significación, pudiera ser que si sea el PYY el posible mediador responsable. Pero que la inmediata y drástica secreción de GLP-1 secundaria a la cirugía de PDIT determine una menor producción de PYY inicial compensatoria para evitar posibles estados de descompensación enterohormonal. Que además está apoyada en los resultados inmunohistoquímicos observados: un incremento de la expresión tisular de GLP-1 en íleon y duodeno sin evidenciar un incremento o descenso inmunorreactivo de PYY en ningún segmento. Todo ello secundario de forma directa a la inmediata presencia del quimo no procesado en el intestino delgado distal.

Esta integración de la información obtenida de ambos péptidos (GLP-1 y PYY) en nuestro modelo nos plantea una hipótesis plausible de las conexiones existentes entre ambas hormonas responsable de un sistema de contrarregulación enterohormonal. Podríamos afirmar entonces la posibilidad de un mecanismo de retroalimentación negativa del GLP-1 sobre el PYY tanto a nivel de la expresión inmunohistoquímica como plasmática. Y, además, que dicho mecanismo podría explicarse no sólo a nivel paracrino o endocrino, sino a través de los llamados neurópodos de las células L. Los cuáles responden de forma similar a un axón permitiendo la liberación de vesículas secretoras de péptidos en zonas distantes del íleon activando y desactivando otras poblaciones celulares enteroendocrinas (236).

CAPÍTULO 6. DISCUSIÓN

CONTRARREGULACIÓN GLP-1 SOBRE PYY

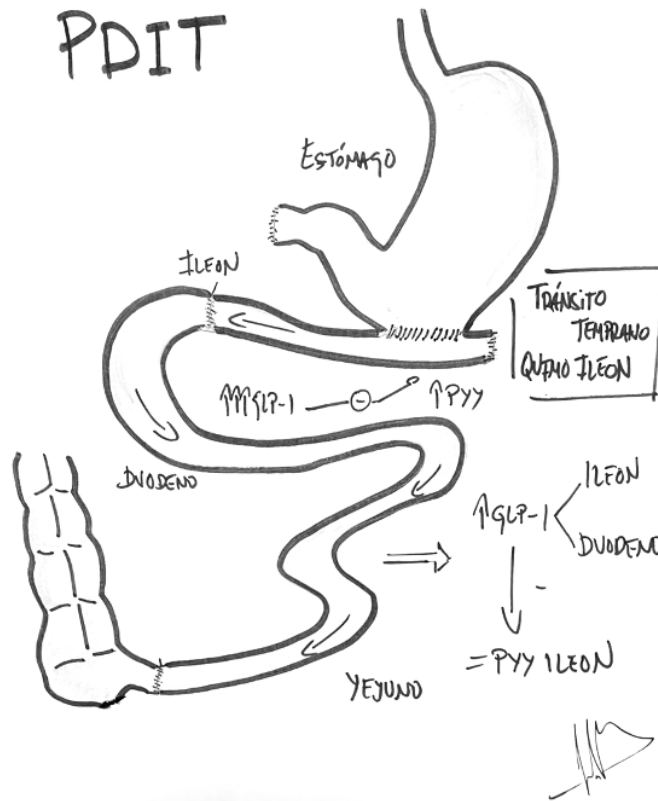


Figura 59. Posible función contrarreguladora del GLP-1 sobre el PYY tras la realización de la cirugía PDIT derivada de la llegada temprana del quimo al segmento ileal transpuesto.

4.3. Sobre la Expresión Tisular de GIP y sus Niveles Plasmáticos

Como podemos observar en las gráficas 53A y 53B recogidas en el apartado de resultados, en nuestro estudio mostramos un descenso significativo de los niveles de GIP en plasma en el grupo sometido a cirugía de PDIT. Tanto en el área bajo la curva (AUC) (Figura 53B) como en el patrón de secreción de esta incretina (Figura 53A). En concreto, tras la SOG, inicialmente, las concentraciones de GIP son comparables entre grupos, pero tiene lugar un incremento en el grupo Sham respecto al PDIT en el segundo tiempo de medición alcanzando diferencias estadísticas en este punto.

CAPÍTULO 6. DISCUSIÓN

Dentro de la escasa bibliografía al respecto tras cirugía de IT, algunos estudios no han mostrado variaciones en los niveles plasmáticos de GIP, ni en modelos animales sanos (274) ni patológicos (291). No obstante, como veremos a continuación, varios autores si han evidenciado un descenso de las concentraciones sanguíneas de esta enterohormona.

En modelos sanos, destaca el trabajo en ratas Sprague-Dawley llevado a cabo por Nausheen et al. a las ocho semanas de la cirugía. Este grupo muestra un descenso posprandial a los 15 minutos y mantenido hasta una hora después de la ingesta (308). En este mismo tipo de ratas, Jung et al. encontraron una disminución significativa de GIP a los 30 minutos tras la SOG, pero sin significación en el AUC. Aunque en este último grupo las mediciones se realizaron a las 4 semanas postoperatorias (273). También se ha observado niveles de GIP disminuidos simplemente tras la administración de una dieta hipergrasa o hiperproteica respecto a los controles (307).

En el caso de modelos patológicos, Gao et al. muestran un descenso basal del GIP plasmático en ratas GK tras IT. Sólo patente a las 16 semanas de seguimiento, y sin un descenso de los niveles en sangre en combinación con la cirugía de RYGB (221). También en ratas Zucker se han observado a las 7 semanas menores niveles plasmáticos a partir del minuto 30 de la sobrecarga oral de glucosa pero también sin diferencias en el área bajo la curva (292). Por el contrario los trabajos de Cummings en ratas UCD-T2DM no encontraron diferencias estadísticas ni a las cuatro (300) ni a las ocho semanas en los niveles plasmáticos postprandiales de GIP tras IT (282).

En relación con el estudio inmunohistoquímico de la expresión de GIP tras la realización de IT, éste es aún campo prácticamente inexplorado. De los escasos artículos al respecto, en ninguno de ellos se han evidenciado cambios en la expresión tisular de esta incretina en ningún segmento del intestino delgado. El trabajo de Jung Oh en roedores no encontró variaciones en el número de células K positivas en el grupo sometido a IT (273). Ni tampoco el grupo de Zhao ha mostrado diferencias estadísticamente significativas en el gen responsable de la expresión de GIP en ratas Long-Evans sanas o bien con diabetes inducida (299).

Todo esto en contraposición con los obtenidos en nuestro modelo, en los que encontramos un descenso significativo de la expresión de GIP en el duodeno de los animales intervenidos de PDIT (Figura 55A). Sin que existan diferencias en el resto de los segmentos intestinales de estos roedores (figuras 54B y 54C). En este sentido, en

CAPÍTULO 6. DISCUSIÓN

el análisis intragrupo, únicamente se observan diferencias estadísticamente en el segmento duodenal en favor de los animales control respecto al íleon traspuesto de los animales sometidos a PDIT. Con resultados comparables entre yeyuno-duodeno e íleon-yeyuno de grupos control y quirúrgico respectivamente (Figura 56A).

La disminución estadísticamente significativa de GIP en el duodeno de los animales sometidos a transposición ileal es un dato de especial relevancia. En consonancia con los menores niveles de esta enterohormona encontrados en plasma. La condición de ser una técnica quirúrgica sin exclusión duodenal asociada y con ausencia de la disrupción anatómica duodeno-yeyunal existente en la transposición ileal postduodenal. Podría darnos una explicación a ello.

En primer lugar, la técnica de PDIT provoca una localización más distal del duodeno y yeyuno proximal derivada del íleon traspuesto. De esta forma, el estímulo mecánico de las células K se retrasaría, y con ello la síntesis y secreción de GIP. A diferencia de la disminución de los niveles séricos de GIP tras realización de RYGB por la consiguiente exclusión duodenal. Pero en nuestra experiencia, no se produce tal exclusión, ni siquiera una interrupción del intestino proximal. Sino simplemente la nueva localización anatómica postileal. Además, el tramo duodenal en nuestro modelo sí recibe tal estímulo mecánico de los nutrientes. Diferido por la interposición ileal, pero sin interrupción del tránsito intestinal. A esto se sumaría, dada la disposición proximal del íleon respecto al duodeno, la comentada posible adaptación enteroplástica duodenal. En concreto, las células K, debido a ese retraso de su estimulación, podrían adquirir un nuevo orden fenotípico por un proceso de trans-diferenciación, dando lugar a células comparables a las células L ileales. Por lo que existiría una menor síntesis de GIP derivada de la menor celularidad responsable de su producción.

En segundo lugar, y dados los resultados obtenidos para las otras dos hormonas estudiadas, podríamos pensar nuevamente en un mecanismo de contrarregulación enterohormonal. En esta línea, dados los escasos resultados contrastables en la literatura y puesto que el GIP puede inducir la secreción de GLP-1 (309), el porqué de la menor expresión plasmática y tisular de GIP pudiera responder a una retroalimentación negativa entre ambas incretinas, capaz de contrarrestar el importante aumento de GLP-1. Incluso y puesto que PYY pudiera ser un mediador de ambas hormonas, GLP-1 y GIP, según datos de nuestro grupo (235). Podría caber la posibilidad que fuera el propio PYY el responsable de dicho descenso de GIP en su papel de contrarregulador del GLP-1.

CAPÍTULO 6. DISCUSIÓN

Podríamos afirmar entonces la posibilidad de un sistema de regulación-contrarregulación endocrino entre las diferentes hormonas del intestino delgado.

De forma resumida, en el caso de la PDIT, a pesar de no ejercer esta un efecto remarcable sobre los valores glucídicos inmediatos, estamos ante una potente herramienta para el estudio de las hormonas del intestino delgado relacionadas con el metabolismo glucídico.

En este sentido nos permite discriminar distintos mecanismos de activación en la expresión y secreción de GLP-1 y PYY por las células "L" bien mediados por un efecto mecánico, bien por variaciones químicas en las sustancias a las que son expuestas. Sin descartar posibles mecanismos contraregulatorios también implicados. Así mismo, nos lleva a plantearnos la posibilidad de trans-diferenciación de unos tipos de células enteroendocrinos en otros, caso de las células "K" y células "L". Por ello consideramos esta técnica quirúrgica de gran valor a nivel experimental y reivindicamos la importancia de su uso en la investigación en este campo.

CAPÍTULO 7. CONCLUSIONES

CAPÍTULO 7. CONCLUSIONES

1. El modelo quirúrgico experimental de transposición ileal preduodenal es un procedimiento de cirugía metabólica novedoso, viable y válido como demuestran la ausencia de diferencias tanto a nivel de ganancia ponderal como del estado glucémico.
2. Este modelo conlleva una adaptación del metabolismo hidrocarbonado capaz de soportar situaciones de estrés fisiopatológico.
3. El equilibrio homeostático alcanzado y secundario a la transposición ileal preduodenal se establece por una serie de mecanismos robustos a nivel del eje enterohormonal.
4. Nuestro modelo experimental provoca un aumento de los niveles plasmáticos de GLP-1 así como una disminución de las concentraciones séricas de GIP sin que existan diferencias en los niveles de PYY en plasma.
5. En estos cambios plasmáticos subyacen las siguientes modificaciones histológicas: un incremento de la expresión de células productoras de GLP-1 en duodeno e íleon, y un descenso de la expresión tisular de GIP a nivel duodenal.
6. La inadecuación fisiológica del íleon se traduce en una adaptación estructural caracterizada por una pérdida de la altura de las vellosidades y de la profundidad de las criptas intestinales.
7. El estímulo mecánico derivado del vaciamiento gástrico sobre las células L ileales es selectivo para la expresión y secreción de GLP-1, pero no así para el PYY.
8. La distinta respuesta de las células L del íleon traspuesto parece ser secundaria a un mecanismo de retroalimentación negativa del GLP-1 sobre el PYY.

CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA

CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA

1. Sadler TW. Aparato Digestivo. In: Langman Embriología Médica con Orientación Clínica. 10th ed. Buenos Aires: Médica Paramericana; 2009. p. 212–35.
2. Dudeja V, Christein JD, Jensen EH et al. Páncreas Exocrino. In: Townsed CM et al, editor. Sabiston Tratado de Cirugía Fundamentos Biológicos de la Práctica Quirúrgica Moderna. 19th ed. Barcelona: Elsevier; 2018. p. 1520–2.
3. Hruban RH, Pitman MB KD. Tumors of the Pancreas. In: AFIP Atlas of Tumor Pathology. 6th ed. Washington D.C.: American Registry of Pathology; 2007.
4. Yuan Q, Pan A, Fu Y, Dai Y. Anatomy and physiology of the pancreas. In: Integrative Pancreatic Intervention Therapy [Internet]. Elsevier; 2021. p. 3–21. Disponible en:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128194027000012>
5. Chandra R, Liddle RA. Neural and hormonal regulation of pancreatic secretion. *Curr Opin Gastroenterol* [Internet]. 2009 Sep;25(5):441–6. Disponible en:
<http://journals.lww.com/00001574-200909000-00009>
6. De Sharp P VJ. Important biological features. In: The Laboratory Rat. 2nd ed. Boca Raton FL: Taylor&FrancisGroup; 2013. p. 9–19.
7. Tsuchitani M, Sato J, Kokoshima H. A comparison of the anatomical structure of the pancreas in experimental animals. *J Toxicol Pathol* [Internet]. 2016;29(3):147–54. Disponible en:
https://www.jstage.jst.go.jp/article/tox/29/3/29_2016-0016/_article
8. Dolenšek J, Rupnik MS, Stožer A. Structural similarities and differences between the human and the mouse pancreas. *Islets* [Internet]. 2015 Jan 2;7(1):e1024405. Disponible en:
<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/19382014.2015.1024405>
9. DeSesso J., Jacobson C. Anatomical and physiological parameters affecting gastrointestinal absorption in humans and rats. *Food Chem Toxicol* [Internet]. 2001 Mar;39(3):209–28. Disponible en:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0278691500001368>
10. Ross M PW. Sistema Digestivo III: Hígado, Vesícula Biliar y Páncreas. In: Histología Texto y Atlas Correlación con biología molecular y celular. 7th ed. Barcelona: Wolters Kluwer; 2015. p. 696–700.
11. White R RT. Páncreas Endocrino. In: Townsed CM et al, editor. Sabiston Tratado de Cirugía Fundamentos Biológicos de la Práctica Quirúrgica Moderna. 19th ed. Barcelona: Elsevier; 2018. p. 941–62.
12. Cabrera O, Berman DM, Kenyon NS, Ricordi C, Berggren P-O, Caicedo A. The unique cytoarchitecture of human pancreatic islets has implications for islet cell function. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2006 Feb 14;103(7):2334–9. Disponible

CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA

- en: <http://www.pnas.org/lookup/doi/10.1073/pnas.0510790103>
13. Hughes SJ, McShane P, Contractor HH, Gray DWR, Clark A, Johnson PRV. Comparison of the Collagen VI Content Within the Islet-Exocrine Interface of the Head, Body, and Tail Regions of the Human Pancreas. *Transplant Proc* [Internet]. 2005 Oct;37(8):3444–5. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0041134505009528>
 14. Suckale J. Pancreas islets in metabolic signaling - focus on the beta-cell. *Front Biosci* [Internet]. 2008;Volume(13):7156. Disponible en: <http://www.bioscience.org/2008/v13/af/3218/list.htm>
 15. Da Silva Xavier G. The Cells of the Islets of Langerhans. *J Clin Med* [Internet]. 2018 Mar 12;7(3):54. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2077-0383/7/3/54>
 16. Guyton AC HJ. Insulina, Glucagón y Diabetes Mellitus. In: Guyton AC et al, editor. *Guyton y Hall Tratado de Fisiología Médica*. 12th ed. Barcelona: Elsevier; 2011. p. 939–54.
 17. Ahrén B. Autonomic regulation of islet hormone secretion - Implications for health and disease. *Diabetologia* [Internet]. 2000 Apr 13;43(4):393–410. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s001250051322>
 18. Noguchi GM, Huisin MO. Integrating the inputs that shape pancreatic islet hormone release. *Nat Metab* [Internet]. 2019 Dec 13;1(12):1189–201. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/s42255-019-0148-2>
 19. Brissova M, Fowler MJ, Nicholson WE, Chu A, Hirshberg B, Harlan DM, et al. Assessment of Human Pancreatic Islet Architecture and Composition by Laser Scanning Confocal Microscopy. *J Histochem Cytochem* [Internet]. 2005 Sep 27;53(9):1087–97. Disponible en: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1369/jhc.5C6684.2005>
 20. Unger RH, Orci L. Paracrinology of islets and the paracrinopathy of diabetes. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2010 Sep 14;107(37):16009–12. Disponible en: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1006639107>
 21. Moede T, Leibiger IB, Berggren P-O. Alpha cell regulation of beta cell function. *Diabetologia* [Internet]. 2020 Oct 7;63(10):2064–75. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00125-020-05196-3>
 22. Quesada I, Tudurí E, Ripoll C, Nadal Á. Physiology of the pancreatic α -cell and glucagon secretion: role in glucose homeostasis and diabetes. *J Endocrinol* [Internet]. 2008 Oct;199(1):5–19. Disponible en: <https://joe.bioscientifica.com/view/journals/joe/199/1/5.xml>
 23. Longuet C, Sinclair EM, Maida A, Baggio LL, Maziarz M, Charron MJ, et al. The Glucagon Receptor Is Required for the Adaptive Metabolic Response to Fasting.

CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA

- Cell Metab [Internet]. 2008 Nov;8(5):359–71. Disponible en:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1550413108002921>
24. Arafat AM, Kaczmarek P, Skrzypski M, Pruszyńska-Oszmialek E, Kołodziejcki P, Szczepankiewicz D, et al. Glucagon increases circulating fibroblast growth factor 21 independently of endogenous insulin levels: a novel mechanism of glucagon-stimulated lipolysis? *Diabetologia* [Internet]. 2013 Mar 22;56(3):588–97. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00125-012-2803-y>
 25. Steiner DJ, Kim A, Miller K, Hara M. Pancreatic islet plasticity: Interspecies comparison of islet architecture and composition. *Islets* [Internet]. 2010 May 27;2(3):135–45. Disponible en:
<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.4161/isl.2.3.11815>
 26. Kumar U, Singh S. Role of Somatostatin in the Regulation of Central and Peripheral Factors of Satiety and Obesity. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2020 Apr 7;21(7):2568. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/7/2568>
 27. Tiscornia OM, Negri GA, Otero G, López Mingorance FN, Waisman H, Tiscornia-Wasserman PG. Pancreatic polypeptide: a review of its involvement in neuro-endocrine reflexes, islet-acinar interactions and ethanol-evoked physiopatologic pancreatic gland changes. *Acta Gastroenterol Latinoam* [Internet]. 2015 Jun;45(2):155–64. Disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26353468>
 28. Śliwińska-Mossoń M, Marek G, Milnerowicz H. The role of pancreatic polypeptide in pancreatic diseases. *Adv Clin Exp Med* [Internet]. 2017 Dec 29;26(9):1447–56. Disponible en:
<http://www.advances.umed.wroc.pl/en/article/2017/26/9/1447/>
 29. HASSELBY JP, MAROUN LL, FEDERSPIEL BH, VAINER B. Ghrelin in the fetal pancreas - a digital quantitation study. *APMIS* [Internet]. 2012 Feb;120(2):157–66. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1600-0463.2011.02831.x>
 30. Sakata N, Yoshimatsu G, Kodama S. Development and Characteristics of Pancreatic Epsilon Cells. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2019 Apr 16;20(8):1867. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1422-0067/20/8/1867>
 31. Uchizono Y, Alarcón C, Wicksteed BL, Marsh BJ, Rhodes CJ. The balance between proinsulin biosynthesis and insulin secretion: where can imbalance lead? *Diabetes, Obes Metab* [Internet]. 2007 Nov;9(s2):56–66. Disponible en:
<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1463-1326.2007.00774.x>
 32. Fu Z, Gilbert ER, Liu D. Regulation of insulin synthesis and secretion and pancreatic Beta-cell dysfunction in diabetes. *Curr Diabetes Rev* [Internet]. 2013 Jan 1;9(1):25–53. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22974359>

CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA

33. Kawasaki E. ZnT8 and type 1 diabetes [Review]. *Endocr J* [Internet]. 2012;59(7):531–7. Disponible en:
<http://japanlinkcenter.org/JST.JSTAGE/endocrj/EJ12-0069?lang=en&from=CrossRef&type=abstract>
34. Henquin JC. Triggering and amplifying pathways of regulation of insulin secretion by glucose. *Diabetes* [Internet]. 2000 Nov 1;49(11):1751–60. Disponible en:
<http://diabetes.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/diabetes.49.11.1751>
35. Thorens B. GLUT2, glucose sensing and glucose homeostasis. *Diabetologia* [Internet]. 2015 Feb 25;58(2):221–32. Disponible en:
<http://link.springer.com/10.1007/s00125-014-3451-1>
36. Berger C, Zdzienko D. Glucose transporters in pancreatic islets. *Pflügers Arch - Eur J Physiol* [Internet]. 2020 Sep 12;472(9):1249–72. Disponible en:
<http://link.springer.com/10.1007/s00424-020-02383-4>
37. Ohtsubo K, Takamatsu S, Minowa MT, Yoshida A, Takeuchi M, Marth JD. Dietary and Genetic Control of Glucose Transporter 2 Glycosylation Promotes Insulin Secretion in Suppressing Diabetes. *Cell* [Internet]. 2005 Dec;123(7):1307–21. Disponible en:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867405011712>
38. Matschinsky FM, Wilson DF. The Central Role of Glucokinase in Glucose Homeostasis: A Perspective 50 Years After Demonstrating the Presence of the Enzyme in Islets of Langerhans. *Front Physiol* [Internet]. 2019 Mar 6;10:148. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphys.2019.00148/full>
39. Fajans SS, Bell GI, Polonsky KS. Molecular Mechanisms and Clinical Pathophysiology of Maturity-Onset Diabetes of the Young. *N Engl J Med* [Internet]. 2001 Sep 27;345(13):971–80. Disponible en:
<http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMra002168>
40. Brady MJ. IRS2 takes center stage in the development of type 2 diabetes. *J Clin Invest* [Internet]. 2004 Oct 1;114(7):886–8. Disponible en:
<http://www.jci.org/articles/view/23108>
41. Röder P V, Wu B, Liu Y, Han W. Pancreatic regulation of glucose homeostasis. *Exp Mol Med* [Internet]. 2016 Mar 11;48(3):e219–e219. Disponible en:
<http://www.nature.com/articles/emm20166>
42. Gaisano HY, MacDonald PE, Vranic M. Glucagon secretion and signaling in the development of diabetes. *Front Physiol* [Internet]. 2012;3. Disponible en:
<http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fphys.2012.00349/abstract>

CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA

43. Rorsman P, Renström E. Insulin granule dynamics in pancreatic beta cells. *Diabetologia* [Internet]. 2003 Aug 1;46(8):1029–45. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00125-003-1153-1>
44. Teitelbaum EN, Hungness ES MD. Estómago. In: Townsend CM et al, editor. *Sabiston Tratado de Cirugía Fundamentos Biológicos de la Práctica Quirúrgica Moderna*. 19th ed. Barcelona: Elsevier; 2018. p. 1188–97.
45. Ross M PW. Sistema Digestivo II: Esófago y Tubo Digestivo. In: *Histología Texto y Atlas Correlación con biología molecular y celular*. 7th ed. Barcelona: Wolters Kluwer; 2015. p. 616–50.
46. Vdoviaková K, Petrovová E, Maloveská M, Krešáková L, Teleky J, Elias MZJ, et al. Surgical Anatomy of the Gastrointestinal Tract and Its Vasculature in the Laboratory Rat. *Gastroenterol Res Pract* [Internet]. 2016;2016:1–11. Disponible en: <http://www.hindawi.com/journals/grp/2016/2632368/>
47. Daniels IR, Allum WH. The Anatomy and Physiology of the Stomach. In: *Upper Gastrointestinal Surgery* [Internet]. London: Springer-Verlag; 2005. p. 17–37. Disponible en: http://link.springer.com/10.1007/1-84628-066-4_2
48. Browning KN, Travagli RA. Central Nervous System Control of Gastrointestinal Motility and Secretion and Modulation of Gastrointestinal Functions. In: *Comprehensive Physiology* [Internet]. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc.; 2014. p. 1339–68. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1002/cphy.c130055>
49. Guyton AC HJ. Funciones Secretoras del Tubo Digestivo. In: Guyton AC et al, editor. *Guyton y Hall Tratado de Fisiología Médica*. 12th ed. Barcelona: Elsevier; 2011. p. 777–80.
50. Komárek V, Gembardt C, Krinke A, Mahrous TA, Schaetti P. Synopsis of the Organ Anatomy. In: *The Laboratory Rat* [Internet]. Elsevier; 2000. p. 283–319. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780124264007500546>
51. Schubert ML, Rehfeld JF. Gastric Peptides—Gastrin and Somatostatin. In: *Comprehensive Physiology* [Internet]. Wiley; 2019. p. 197–228. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cphy.c180035>
52. Jain RN, Samuelson LC. Differentiation of the Gastric Mucosa II. Role of gastrin in gastric epithelial cell proliferation and maturation. *Am J Physiol Liver Physiol* [Internet]. 2006 Nov;291(5):G762–5. Disponible en: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpgi.00172.2006>
53. Chen D, Aihara T, Zhao C-M, Håkanson R, Okabe S. Differentiation of the Gastric Mucosa I. Role of histamine in control of function and integrity of oxyntic

CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA

- mucosa: understanding gastric physiology through disruption of targeted genes. *Am J Physiol Liver Physiol* [Internet]. 2006 Oct;291(4):G539–44. Disponible en: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpgi.00178.2006>
54. Fakhry J, Stebbing MJ, Hunne B, Bayguinov Y, Ward SM, Sasse KC, et al. Relationships of endocrine cells to each other and to other cell types in the human gastric fundus and corpus. *Cell Tissue Res* [Internet]. 2019 Apr 22;376(1):37–49. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00441-018-2957-0>
55. Hunne B, Stebbing MJ, McQuade RM, Furness JB. Distributions and relationships of chemically defined enteroendocrine cells in the rat gastric mucosa. *Cell Tissue Res* [Internet]. 2019 Oct 2;378(1):33–48. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00441-019-03029-3>
56. Lipl F, Kircher F, Erdmann J, Allescher H-D, Schusdziarra V. Effect of GIP, GLP-1, insulin and gastrin on ghrelin release in the isolated rat stomach. *Regul Pept* [Internet]. 2004 Jun;119(1–2):93–8. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167011504000308>
57. Patterson M, Murphy KG, le Roux CW, Ghatei MA, Bloom SR. Characterization of Ghrelin-Like Immunoreactivity in Human Plasma. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2005 Apr;90(4):2205–11. Disponible en: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2004-1641>
58. Seoane LM, Al-Massadi O, Caminos JE, Tovar SA, Dieguez C, Casanueva FF. Sensory Stimuli Directly Acting at the Central Nervous System Regulate Gastric Ghrelin Secretion. An ex Vivo Organ Culture Study. *Endocrinology* [Internet]. 2007 Aug 1;148(8):3998–4006. Disponible en: <https://academic.oup.com/endo/article/148/8/3998/2502434>
59. Müller TD, Nogueiras R, Andermann ML, Andrews ZB, Anker SD, Argente J, et al. Ghrelin. *Mol Metab* [Internet]. 2015 Jun;4(6):437–60. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2212877815000605>
60. van der Lely AJ, Tschöp M, Heiman ML, Ghigo E. Biological, Physiological, Pathophysiological, and Pharmacological Aspects of Ghrelin. *Endocr Rev* [Internet]. 2004 Jun 1;25(3):426–57. Disponible en: <https://academic.oup.com/edrv/article/25/3/426/2355241>
61. Saad MF, Bernaba B, Hwu C-M, Jinagouda S, Fahmi S, Kogosov E, et al. Insulin Regulates Plasma Ghrelin Concentration. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2002 Aug;87(8):3997–4000. Disponible en: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jcem.87.8.8879>

CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA

62. Alamri BN, Shin K, Chappe V, Anini Y. The role of ghrelin in the regulation of glucose homeostasis. *Horm Mol Biol Clin Investig* [Internet]. 2016 Apr 1;26(1):3–11. Disponible en: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/hmbci-2016-0018/html>
63. Harris JW EB. Intestino Delgado. In: Townsed CM et al, editor. *Sabiston Tratado de Cirugía Fundamentos Biológicos de la Práctica Quirúrgica Moderna*. 19th ed. Barcelona: Elsevier; 2018. p. 1237–47.
64. Gourevitch D. The Anatomy and Physiology of the Small Bowel. In: *Upper Gastrointestinal Surgery* [Internet]. London: Springer-Verlag; 2005. p. 39–44. Disponible en: http://link.springer.com/10.1007/1-84628-066-4_3
65. Weidong Zhang, Jiamin Liu, Jianhua Yao, Louie A, Nguyen TB, Wank S, et al. Mesenteric Vasculature-Guided Small Bowel Segmentation on 3-D CT. *IEEE Trans Med Imaging* [Internet]. 2013 Nov;32(11):2006–21. Disponible en: <http://ieeexplore.ieee.org/document/6547997/>
66. Nezami BG, Srinivasan S. Enteric Nervous System in the Small Intestine: Pathophysiology and Clinical Implications. *Curr Gastroenterol Rep* [Internet]. 2010 Oct 20;12(5):358–65. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s11894-010-0129-9>
67. Furness JB. The enteric nervous system and neurogastroenterology. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2012 May 6;9(5):286–94. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/nrgastro.2012.32>
68. Kiela PR, Ghishan FK. Physiology of Intestinal Absorption and Secretion. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* [Internet]. 2016 Apr;30(2):145–59. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1521691816000111>
69. Papadia C, Sabatino A Di, Corazza GR, Forbes A. Diagnosing small bowel malabsorption: a review. *Intern Emerg Med* [Internet]. 2014 Feb 21;9(1):3–8. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s11739-012-0877-7>
70. Thomson AB, Keelan M, Thiesen A, Clandinin MT, Ropeleski M, Wild GE. Small bowel review: normal physiology part 1. *Dig Dis Sci* [Internet]. 2001 Dec;46(12):2567–87. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11768247>
71. Holst JJ. The Physiology of Glucagon-like Peptide 1. *Physiol Rev* [Internet]. 2007 Oct;87(4):1409–39. Disponible en: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/physrev.00034.2006>
72. Deacon CF, Ahrén B. Physiology of Incretins in Health and Disease. *Rev Diabet Stud* [Internet]. 2011;8(3):293–306. Disponible en: <http://www.soc-bdr.org/content/e4/e887/volRdsVolumes10058/issRdsIssues10091/chpRdsChap>

CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA

- ters10092/strRdsArticles10888/index_en.html?preview=preview
73. Donnelly D. The structure and function of the glucagon-like peptide-1 receptor and its ligands. *Br J Pharmacol* [Internet]. 2012 May;166(1):27–41. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1476-5381.2011.01687.x>
 74. Latorre R, Sternini C, De Giorgio R, Greenwood-Van Meerveld B. Enteroendocrine cells: a review of their role in brain-gut communication. *Neurogastroenterol Motil* [Internet]. 2016 May;28(5):620–30. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/nmo.12754>
 75. Xie C, Jones KL, Rayner CK, Wu T. Enteroendocrine Hormone Secretion and Metabolic Control: Importance of the Region of the Gut Stimulation. *Pharmaceutics* [Internet]. 2020 Aug 21;12(9):790. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1999-4923/12/9/790>
 76. Rowlands J, Heng J, Newsholme P, Carlessi R. Pleiotropic Effects of GLP-1 and Analogs on Cell Signaling, Metabolism, and Function. *Front Endocrinol (Lausanne)* [Internet]. 2018 Nov 23;9:672. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fendo.2018.00672/full>
 77. Müller TD, Finan B, Bloom SR, D'Alessio D, Drucker DJ, Flatt PR, et al. Glucagon-like peptide 1 (GLP-1). *Mol Metab* [Internet]. 2019 Dec;30:72–130. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2212877819309135>
 78. Nauck MA, Meier JJ. Glucagon-like peptide 1 and its derivatives in the treatment of diabetes. *Regul Pept* [Internet]. 2005 Jun;128(2):135–48. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167011504002472>
 79. Drucker DJ. Enhancing Incretin Action for the Treatment of Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* [Internet]. 2003 Oct 1;26(10):2929–40. Disponible en: <http://care.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/diacare.26.10.2929>
 80. Burcelin R, Cani PD, Knauf C. Glucagon-Like Peptide-1 and Energy Homeostasis. *J Nutr* [Internet]. 2007 Nov 1;137(11):2534S–2538S. Disponible en: <https://academic.oup.com/jn/article/137/11/2534S/4664501>
 81. Aiysha Thompson K. Type 2 Diabetes Mellitus and Glucagon Like Peptide-1 Receptor Signalling. *Clin Exp Pharmacol* [Internet]. 2013;03(04). Disponible en: <https://www.omicsonline.org/type-diabetes-mellitus-and-glucagon-like-peptide-receptor-signalling-2161-1459-3-138.php?aid=19978>
 82. Saraiva FK, Sposito AC. Cardiovascular effects of Glucagon-like peptide 1 (GLP-1) receptor agonists. *Cardiovasc Diabetol* [Internet]. 2014 Dec 22;13(1):142. Disponible en: <http://cardiab.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12933-014-0142-7>

CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA

83. Nauck MA, Meier JJ. Incretin hormones: Their role in health and disease. *Diabetes Obes Metab* [Internet]. 2018;20 Suppl 1:5–21. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29364588>
84. Nauck M. Incretin therapies: highlighting common features and differences in the modes of action of glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors. *Diabetes, Obes Metab* [Internet]. 2016 Mar 5;18(3):203–16. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/dom.12591>
85. Ionut V, Huckling K, Liberty IF, Bergman RN. Synergistic effect of portal glucose and glucagon-like peptide-1 to lower systemic glucose and stimulate counter-regulatory hormones. *Diabetologia* [Internet]. 2005 May 14;48(5):967–75. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00125-005-1709-3>
86. Baggio LL, Huang Q, Brown TJ, Drucker DJ. Oxyntomodulin and glucagon-like peptide-1 differentially regulate murine food intake and energy expenditure. *Gastroenterology* [Internet]. 2004 Aug;127(2):546–58. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016508504007735>
87. Baggio LL, Drucker DJ. Biology of incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology* [Internet]. 2007 May;132(6):2131–57. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17498508>
88. Strader AD, Woods SC. Gastrointestinal hormones and food intake. *Gastroenterology* [Internet]. 2005 Jan;128(1):175–91. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016508504019936>
89. Rose AJ. Role of Peptide Hormones in the Adaptation to Altered Dietary Protein Intake. *Nutrients* [Internet]. 2019 Aug 23;11(9):1990. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2072-6643/11/9/1990>
90. Persaud SJ, Bewick GA. Peptide YY: more than just an appetite regulator. *Diabetologia* [Internet]. 2014 Sep 11;57(9):1762–9. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00125-014-3292-y>
91. Holzer P, Reichmann F, Farzi A. Neuropeptide Y, peptide YY and pancreatic polypeptide in the gut–brain axis. *Neuropeptides* [Internet]. 2012 Dec;46(6):261–74. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0143417912000790>
92. Meek CL, Lewis HB, Reimann F, Gribble FM, Park AJ. The effect of bariatric surgery on gastrointestinal and pancreatic peptide hormones. *Peptides* [Internet]. 2016 Mar;77:28–37. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26344355>
93. Valderas JP, Irribarra V, Boza C, de la Cruz R, Liberona Y, Acosta AM, et al. Medical and Surgical Treatments for Obesity Have Opposite Effects on Peptide

CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA

- YY and Appetite: A Prospective Study Controlled for Weight Loss. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2010 Mar 1;95(3):1069–75. Disponible en: <https://academic.oup.com/jcem/article/95/3/1069/2596680>
94. Guida C, Stephen SD, Watson M, Dempster N, Larraufie P, Marjot T, et al. PYY plays a key role in the resolution of diabetes following bariatric surgery in humans. *EBioMedicine* [Internet]. 2019 Feb;40:67–76. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2352396418306170>
95. Kim W, Egan JM. The Role of Incretins in Glucose Homeostasis and Diabetes Treatment. *Pharmacol Rev* [Internet]. 2008 Dec;60(4):470–512. Disponible en: <http://pharmrev.aspetjournals.org/lookup/doi/10.1124/pr.108.000604>
96. Ugleholdt R. Glucose-dependent Insulinotropic Polypeptide (GIP): From prohormone to actions in endocrine pancreas and adipose tissue. *Dan Med Bull* [Internet]. 2011 Dec;58(12):B4368. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22142579>
97. Rao RS, Kini S. GIP and bariatric surgery. *Obes Surg* [Internet]. 2011 Feb;21(2):244–52. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21082290>
98. Christensen MB. Glucose-dependent insulinotropic polypeptide: effects on insulin and glucagon secretion in humans. *Dan Med J* [Internet]. 2016 Apr;63(4). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27034187>
99. Ionut V, Burch M, Youdim A, Bergman RN. Gastrointestinal hormones and bariatric surgery-induced weight loss. *Obesity* [Internet]. 2013 Jun;21(6):1093–103. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1002/oby.20364>
100. Dimitriadis GK, Randeve MS, Miras AD. Potential Hormone Mechanisms of Bariatric Surgery. *Curr Obes Rep* [Internet]. 2017 Sep;6(3):253–65. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28780756>
101. Côté CD, Zadeh-Tahmasebi M, Rasmussen BA, Duca FA, Lam TKT. Hormonal Signaling in the Gut. *J Biol Chem* [Internet]. 2014 Apr;289(17):11642–9. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002192582041484X>
102. Salas-Salvadó J, Rubio MA, Barbany M, Moreno B. Consenso SEEDO 2007 para la evaluación del sobrepeso y la obesidad y el establecimiento de criterios de intervención terapéutica. *Med Clin (Barc)* [Internet]. 2007 Feb;128(5):184–96. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0025775307725319>
103. Lecube A, Monereo S, Rubio MÁ, Martínez-de-Icaya P, Martí A, Salvador J, et al. Prevención, diagnóstico y tratamiento de la obesidad. Posicionamiento de la Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad de 2016. *Endocrinol Diabetes y Nutr* [Internet]. 2017 Mar;64:15–22. Disponible en:

CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA

- <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1575092216301097>
104. Deurenberg P, Yap M. The assessment of obesity: methods for measuring body fat and global prevalence of obesity. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 1999 Apr;13(1):1–11. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1521690X99900039>
 105. Romero-Corral A, Somers VK, Sierra-Johnson J, Thomas RJ, Collazo-Clavell ML, Korinek J, et al. Accuracy of body mass index in diagnosing obesity in the adult general population. *Int J Obes* [Internet]. 2008 Jun 19;32(6):959–66. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/ijo200811>
 106. Wells JC. Commentary: The paradox of body mass index in obesity assessment: not a good index of adiposity, but not a bad index of cardio-metabolic risk. *Int J Epidemiol* [Internet]. 2014 Jun 1;43(3):672–4. Disponible en: <https://academic.oup.com/ije/article-lookup/doi/10.1093/ije/dyu060>
 107. Fox CS, Massaro JM, Hoffmann U, Pou KM, Maurovich-Horvat P, Liu C-Y, et al. Abdominal Visceral and Subcutaneous Adipose Tissue Compartments. *Circulation* [Internet]. 2007 Jul 3;116(1):39–48. Disponible en: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.675355>
 108. Porter SA, Massaro JM, Hoffmann U, Vasani RS, O'Donnell CJ, Fox CS. Abdominal Subcutaneous Adipose Tissue: A Protective Fat Depot? *Diabetes Care* [Internet]. 2009 Jun 1;32(6):1068–75. Disponible en: <http://care.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/dc08-2280>
 109. Ashwell M, Gunn P, Gibson S. Waist-to-height ratio is a better screening tool than waist circumference and BMI for adult cardiometabolic risk factors: systematic review and meta-analysis. *Obes Rev* [Internet]. 2012 Mar;13(3):275–86. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1467-789X.2011.00952.x>
 110. Després J-P, Lemieux I, Bergeron J, Pibarot P, Mathieu P, Larose E, et al. Abdominal Obesity and the Metabolic Syndrome: Contribution to Global Cardiometabolic Risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* [Internet]. 2008 Jun;28(6):1039–49. Disponible en: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/ATVBAHA.107.159228>
 111. Carmienke S, Freitag MH, Pischon T, Schlattmann P, Fankhaenel T, Goebel H, et al. General and abdominal obesity parameters and their combination in relation to mortality: a systematic review and meta-regression analysis. *Eur J Clin Nutr* [Internet]. 2013 Jun 20;67(6):573–85. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/ejcn201361>
 112. Huxley R, Mendis S, Zheleznyakov E, Reddy S, Chan J. Body mass index, waist circumference and waist:hip ratio as predictors of cardiovascular risk—a review

CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA

- of the literature. *Eur J Clin Nutr* [Internet]. 2010 Jan 5;64(1):16–22. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/ejcn200968>
113. Alberti KGMM, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, et al. Harmonizing the Metabolic Syndrome. *Circulation* [Internet]. 2009 Oct 20;120(16):1640–5. Disponible en: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192644>
114. WHO. Obesity and Overweight [Internet]. Disponible en: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
115. Aranceta-Bartrina J, Pérez-Rodrigo C, Alberdi-Aresti G, Ramos-Carrera N, Lázaro-Masedo S. Prevalence of General Obesity and Abdominal Obesity in the Spanish Adult Population (Aged 25–64 Years) 2014–2015: The ENPE Study. *Rev Española Cardiol (English Ed)* [Internet]. 2016 Jun;69(6):579–87. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1885585716001225>
116. Wang Y, Lim H. The global childhood obesity epidemic and the association between socio-economic status and childhood obesity. *Int Rev Psychiatry* [Internet]. 2012 Jun 24;24(3):176–88. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/09540261.2012.688195>
117. Spiegelman BM, Flier JS. Obesity and the Regulation of Energy Balance. *Cell* [Internet]. 2001 Feb;104(4):531–43. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867401002409>
118. Hall KD, Heymsfield SB, Kemnitz JW, Klein S, Schoeller DA, Speakman JR. Energy balance and its components: implications for body weight regulation. *Am J Clin Nutr* [Internet]. 2012 Apr 1;95(4):989–94. Disponible en: <https://academic.oup.com/ajcn/article/95/4/989/4576902>
119. Henry C. Basal metabolic rate studies in humans: measurement and development of new equations. *Public Health Nutr* [Internet]. 2005 Oct 2;8(7a):1133–52. Disponible en: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S1368980005001394/type/journal_article
120. Moehlecke M, Canani LH, Silva LOJ e, Trindade MRM, Friedman R, Leitão CB. Determinants of body weight regulation in humans. *Arch Endocrinol Metab* [Internet]. 2016 Apr;60(2):152–62. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2359-39972016000200152&lng=en&tlng=en
121. Wilding JPH. Pathophysiology and aetiology of obesity. *Medicine (Baltimore)* [Internet]. 2011 Jan;39(1):6–10. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1357303910002537>

CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA

122. Schneeberger M, Gomis R, Claret M. Hypothalamic and brainstem neuronal circuits controlling homeostatic energy balance. *J Endocrinol* [Internet]. 2014 Feb;220(2):T25–46. Disponible en: <https://joe.bioscientifica.com/view/journals/joe/220/2/T25.xml>
123. Boguszewski CL, Paz-Filho G, Velloso LA. Neuroendocrine body weight regulation: Integration between fat tissue, gastrointestinal tract, and the brain. *Endokrynol Pol* [Internet]. 2010;61(2):194–206. Disponible en: <https://www.semanticscholar.org/paper/Neuroendocrine-body-weight-regulation%3A-integration-Boguszewski-Paz-Filho/cf70dae72af492172313f4a5ea35c9b0752510af>
124. Neary MT, Batterham RL. Gut hormones: Implications for the treatment of obesity. *Pharmacol Ther* [Internet]. 2009 Oct;124(1):44–56. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0163725809001338>
125. Apovian CM, Aronne LJ, Bessesen DH, McDonnell ME, Murad MH, Pagotto U, et al. Pharmacological Management of Obesity: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2015 Feb;100(2):342–62. Disponible en: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2014-3415>
126. Webber J. Energy balance in obesity. *Proc Nutr Soc* [Internet]. 2003 May 8;62(2):539–43. Disponible en: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0029665103000703/type/journal_article
127. Fei H, Okano HJ, Li C, Lee G-H, Zhao C, Darnell R, et al. Anatomic localization of alternatively spliced leptin receptors (Ob-R) in mouse brain and other tissues. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 1997 Jun 24;94(13):7001–5. Disponible en: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.94.13.7001>
128. Hileman SM, Pierroz DD, Masuzaki H, Bjørnbæk C, El-Haschimi K, Banks WA, et al. Characterization of Short Isoforms of the Leptin Receptor in Rat Cerebral Microvessels and of Brain Uptake of Leptin in Mouse Models of Obesity. *Endocrinology* [Internet]. 2002 Mar 1;143(3):775–83. Disponible en: <https://academic.oup.com/endo/article/143/3/775/2989031>
129. DePaoli AM. 20 YEARS OF LEPTIN: Leptin in common obesity and associated disorders of metabolism. *J Endocrinol* [Internet]. 2014 Oct;223(1):T71–81. Disponible en: <https://joe.bioscientifica.com/view/journals/joe/223/1/T71.xml>
130. Oswal A, Yeo G. Leptin and the Control of Body Weight: A Review of Its Diverse Central Targets, Signaling Mechanisms, and Role in the Pathogenesis of Obesity. *Obesity* [Internet]. 2010 Feb;18(2):221–9. Disponible en:

CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA

- <http://doi.wiley.com/10.1038/oby.2009.228>
131. Monteiro L, Pereira JA da S, Palhinha L, Moraes-Vieira PMM. Leptin in the regulation of the immunometabolism of adipose tissue-macrophages. *J Leukoc Biol* [Internet]. 2019 Sep 14;106(3):703–16. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/JLB.MR1218-478R>
 132. Palhinha L, Liechocki S, Hottz ED, Pereira JA da S, de Almeida CJ, Moraes-Vieira PMM, et al. Leptin Induces Proadipogenic and Proinflammatory Signaling in Adipocytes. *Front Endocrinol (Lausanne)* [Internet]. 2019 Dec 13;10:841. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fendo.2019.00841/full>
 133. Guh DP, Zhang W, Bansback N, Amarsi Z, Birmingham CL, Anis AH. The incidence of co-morbidities related to obesity and overweight: A systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health* [Internet]. 2009 Dec 25;9(1):88. Disponible en: <http://bmcpublikealth.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2458-9-88>
 134. Arrizabalaga JJ, Vidal J, Masmiquel L, Monereo S, Moreira J, Moreno B, et al. Guía de práctica clínica para el manejo del sobrepeso y la obesidad en personas adultas. *Endocrinol y Nutr* [Internet]. 2003;50(4):1–38. Disponible en: https://www.seedo.es/images/site/documentacionConsenso/Guia_obesidad_SE EN_Endocrinologia_2003.pdf
 135. Mendrick DL, Diehl AM, Topor LS, Dietert RR, Will Y, La Merrill MA, et al. Metabolic Syndrome and Associated Diseases: From the Bench to the Clinic. *Toxicol Sci* [Internet]. 2018 Mar 1;162(1):36–42. Disponible en: <https://academic.oup.com/toxsci/article/162/1/36/4585010>
 136. Laclaustra Gimeno M, Bergua Martínez C, Pascual Calleja I, Casasnovas Lenguas JA. Síndrome metabólico. Concepto y fisiopatología. *Rev Española Cardiol Supl* [Internet]. 2005 Jan;5(4):3D-10D. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1131358705741145>
 137. Alberti KGMM, Zimmet P, Shaw J. Metabolic syndrome—a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med* [Internet]. 2006 May;23(5):469–80. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1464-5491.2006.01858.x>
 138. Park Y-W, Zhu S, Palaniappan L, Heshka S, Carnethon MR, Heymsfield SB. The metabolic syndrome: prevalence and associated risk factor findings in the US population from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Arch Intern Med* [Internet]. 2003 Feb 24;163(4):427–36. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12588201>

CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA

139. Illán-Gómez F, González-Ortega M, Orea-Soler I, Alcaraz-Tafalla MS, Aragón-Alonso A, Pascual-Díaz M, et al. Obesity and Inflammation: Change in Adiponectin, C-Reactive Protein, Tumour Necrosis Factor-Alpha and Interleukin-6 After Bariatric Surgery. *Obes Surg* [Internet]. 2012 Jun 13;22(6):950–5. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s11695-012-0643-y>
140. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* [Internet]. 2003 Dec 15;112(12):1796–808. Disponible en: <http://www.jci.org/articles/view/19246>
141. Izaola O, de Luis D, Sajoux I, Domingo JC, Vidal M. [Inflammation and obesity (lipoinflammation)]. *Nutr Hosp* [Internet]. 2015 Jun 1;31(6):2352–8. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26040339>
142. Lionetti L, Mollica MP, Lombardi A, Cavaliere G, Gifuni G, Barletta A. From chronic overnutrition to insulin resistance: the role of fat-storing capacity and inflammation. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* [Internet]. 2009 Feb;19(2):146–52. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19171470>
143. León-Pedroza JI, González-Tapia LA, del Olmo-Gil E, Castellanos-Rodríguez D, Escobedo G, González-Chávez A. Inflamación sistémica de grado bajo y su relación con el desarrollo de enfermedades metabólicas: de la evidencia molecular a la aplicación clínica. *Cir Cir* [Internet]. 2015 Nov;83(6):543–51. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009741115001188>
144. Maury E, Brichard SM. Adipokine dysregulation, adipose tissue inflammation and metabolic syndrome. *Mol Cell Endocrinol* [Internet]. 2010 Jan 15;314(1):1–16. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0303720709003992>
145. de Luca C, Olefsky JM. Inflammation and insulin resistance. *FEBS Lett* [Internet]. 2008 Jan 9;582(1):97–105. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1016/j.febslet.2007.11.057>
146. Olefsky JM, Glass CK. Macrophages, Inflammation, and Insulin Resistance. *Annu Rev Physiol* [Internet]. 2010 Mar 17;72(1):219–46. Disponible en: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-physiol-021909-135846>
147. Rao SR. Inflammatory markers and bariatric surgery: a meta-analysis. *Inflamm Res* [Internet]. 2012 Aug 16;61(8):789–807. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00011-012-0473-3>
148. Williams S, Colagiuri S, Almutairi R et al. What is Diabetes? In: *IDF Diabetes Atlas* [Internet]. 9th ed. Brussels: International Diabetes Federation; 2019. p. 10–20. Disponible en: <https://www.diabetesatlas.org/en/>

CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA

149. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2019. *Diabetes Care* [Internet]. 2019 Jan 17;42(Supplement 1):S13–28. Disponible en: <http://care.diabetesjournals.org/lookup/doi/10.2337/dc19-S002>
150. Hossain P, Kavar B, El Nahas M. Obesity and Diabetes in the Developing World — A Growing Challenge. *N Engl J Med* [Internet]. 2007 Jan 18;356(3):213–5. Disponible en: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMp068177>
151. Colagiuri S. Diabetes: therapeutic options. *Diabetes, Obes Metab* [Internet]. 2010 Jun;12(6):463–73. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1463-1326.2009.01182.x>
152. Field AE, Coakley EH, Must A, Spadano JL, Laird N, Dietz WH, et al. Impact of Overweight on the Risk of Developing Common Chronic Diseases During a 10-Year Period. *Arch Intern Med* [Internet]. 2001 Jul 9;161(13):1581. Disponible en: <http://archinte.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/archinte.161.13.1581>
153. Bhupathiraju SN, Hu FB. Epidemiology of Obesity and Diabetes and Their Cardiovascular Complications. *Circ Res* [Internet]. 2016 May 27;118(11):1723–35. Disponible en: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIRCRESAHA.115.306825>
154. García-Hermoso A, Ramírez-Campillo R, Izquierdo M. Is Muscular Fitness Associated with Future Health Benefits in Children and Adolescents? A Systematic Review and Meta-Analysis of Longitudinal Studies. *Sport Med* [Internet]. 2019 Jul 5;49(7):1079–94. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s40279-019-01098-6>
155. Arenaza L, Medrano M, Amasene M, Rodríguez-Vigil B, Díez I, Graña M, et al. Prevention of diabetes in overweight/obese children through a family based intervention program including supervised exercise (PREDIKID project): study protocol for a randomized controlled trial. *Trials* [Internet]. 2017 Dec 10;18(1):372. Disponible en: <http://trialsjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13063-017-2117-y>
156. DeFronzo RA. From the Triumvirate to the Ominous Octet: A New Paradigm for the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. *Diabetes* [Internet]. 2009 Apr 1;58(4):773–95. Disponible en: <http://diabetes.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/db09-9028>
157. Weir GC, Bonner-Weir S. Five Stages of Evolving Beta-Cell Dysfunction During Progression to Diabetes. *Diabetes* [Internet]. 2004 Dec 1;53(Supplement 3):S16–21. Disponible en: http://diabetes.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/diabetes.53.suppl_3.S16

CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA

158. Samuel VT, Shulman GI. Mechanisms for Insulin Resistance: Common Threads and Missing Links. *Cell* [Internet]. 2012 Mar;148(5):852–71. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867412002176>
159. Henkel E, Menschikowski M, Koehler C, Leonhardt W, Hanefeld M. Impact of glucagon response on postprandial hyperglycemia in men with impaired glucose tolerance and type 2 diabetes mellitus. *Metabolism* [Internet]. 2005 Sep;54(9):1168–73. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0026049505001472>
160. Robertson RP, Harmon J, Tran PO, Tanaka Y, Takahashi H. Glucose Toxicity in β -Cells: Type 2 Diabetes, Good Radicals Gone Bad, and the Glutathione Connection. *Diabetes* [Internet]. 2003 Mar 1;52(3):581–7. Disponible en: <http://diabetes.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/diabetes.52.3.581>
161. Bensellam M, Laybutt DR, Jonas J-C. The molecular mechanisms of pancreatic β -cell glucotoxicity: Recent findings and future research directions. *Mol Cell Endocrinol* [Internet]. 2012 Nov;364(1–2):1–27. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030372071200384X>
162. Cernea S, Dobreanu M. Diabetes and beta cell function: from mechanisms to evaluation and clinical implications. *Biochem medica* [Internet]. 2013;23(3):266–80. Disponible en: <http://www.biochemia-medica.com/en/journal/23/3/10.11613/BM.2013.033>
163. Bedoya F, Tejado J CG. Lesión y Supervivencia de las Células Beta Pancreáticas. In: *El Islote Pancreático en el Desarrollo y Tratamiento de la Diabetes* [Internet]. Madrid: Sociedad Española de Diabetes (SED); 2007. p. 67–77. Disponible en: <https://www.sediabetes.org/>
164. Marchetti P, Bugliani M, Lupi R, Marselli L, Masini M, Boggi U, et al. The endoplasmic reticulum in pancreatic beta cells of type 2 diabetes patients. *Diabetologia* [Internet]. 2007 Nov 5;50(12):2486–94. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00125-007-0816-8>
165. DeFronzo RA. Dysfunctional fat cells, lipotoxicity and type 2 diabetes. *Int J Clin Pract Suppl* [Internet]. 2004 Oct 27;58(143):9–21. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1368-504X.2004.00389.x>
166. Bloomgarden ZT. Dyslipidemia and the Metabolic Syndrome. *Diabetes Care* [Internet]. 2004 Dec 1;27(12):3009–16. Disponible en: <http://care.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/diacare.27.12.3009>
167. Yaney GC, Corkey BE. Fatty acid metabolism and insulin secretion in pancreatic beta cells. *Diabetologia* [Internet]. 2003 Oct 1;46(10):1297–312. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00125-003-1207-4>

CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA

168. Helgason A, Pálsson S, Thorleifsson G, Grant SFA, Emilsson V, Gunnarsdottir S, et al. Refining the impact of TCF7L2 gene variants on type 2 diabetes and adaptive evolution. *Nat Genet* [Internet]. 2007 Feb 7;39(2):218–25. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/ng1960>
169. Perry RJ, Samuel VT, Petersen KF, Shulman GI. The role of hepatic lipids in hepatic insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature* [Internet]. 2014 Jun 4;510(7503):84–91. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/nature13478>
170. Jornayvaz FR, Birkenfeld AL, Jurczak MJ, Kanda S, Guigni BA, Jiang DC, et al. Hepatic insulin resistance in mice with hepatic overexpression of diacylglycerol acyltransferase 2. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2011 Apr 5;108(14):5748–52. Disponible en: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1103451108>
171. Sharma RB, Alonso LC. Lipotoxicity in the Pancreatic Beta Cell: Not Just Survival and Function, but Proliferation as Well? *Curr Diab Rep* [Internet]. 2014 Jun 17;14(6):492. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s11892-014-0492-2>
172. Oh YS, Bae GD, Baek DJ, Park E-Y, Jun H-S. Fatty Acid-Induced Lipotoxicity in Pancreatic Beta-Cells During Development of Type 2 Diabetes. *Front Endocrinol (Lausanne)* [Internet]. 2018 Jul 16;9:384. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fendo.2018.00384/full>
173. E. R. Glucolipototoxicidad en la Célula Beta y su relación con la Diabetes Tipo 2. In: *El Islote Pancreático en el Desarrollo y Tratamiento de la Diabetes* [Internet]. Madrid: Sociedad Española de Diabetes (SED); 2007. p. 51–64. Disponible en: <https://www.sediabetes.org/>
174. Kim J-W, Yoon K-H. Glucolipototoxicity in Pancreatic β -Cells. *Diabetes Metab J* [Internet]. 2011;35(5):444. Disponible en: <http://e-dmj.org/journal/view.php?doi=10.4093/dmj.2011.35.5.444>
175. Weir GC. Glucolipototoxicity, β -Cells, and Diabetes: The Emperor Has No Clothes. *Diabetes* [Internet]. 2020 Mar;69(3):273–8. Disponible en: <http://diabetes.diabetesjournals.org/lookup/doi/10.2337/db19-0138>
176. Prentki M, Joly E, El-Assaad W, Roduit R. Malonyl-CoA Signaling, Lipid Partitioning, and Glucolipototoxicity: Role in β -Cell Adaptation and Failure in the Etiology of Diabetes. *Diabetes* [Internet]. 2002 Dec 1;51(Supplement 3):S405–13. Disponible en: <http://diabetes.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/diabetes.51.2007.S405>
177. Poitout V, Amyot J, Semache M, Zarrouki B, Hagman D, Fontés G. Glucolipototoxicity of the pancreatic beta cell. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Biol Lipids* [Internet]. 2010 Mar;1801(3):289–98. Disponible en:

CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA

- <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1388198109001929>
178. Chen C, Cohrs CM, Stertmann J, Bozsak R, Speier S. Human beta cell mass and function in diabetes: Recent advances in knowledge and technologies to understand disease pathogenesis. *Mol Metab* [Internet]. 2017 Sep;6(9):943–57. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2212877817302259>
 179. Movassat J, Calderari S, Fernández E, Martín MA, Escrivá F, Plachot C, et al. Type 2 diabetes ? a matter of failing ?-cell neogenesis? Clues from the GK rat model. *Diabetes, Obes Metab* [Internet]. 2007 Nov;9(s2):187–95. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1463-1326.2007.00786.x>
 180. Butler AE, Janson J, Bonner-Weir S, Ritzel R, Rizza RA, Butler PC. -Cell Deficit and Increased -Cell Apoptosis in Humans With Type 2 Diabetes. *Diabetes* [Internet]. 2003 Jan 1;52(1):102–10. Disponible en: <http://diabetes.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/diabetes.52.1.102>
 181. Deitel M, Melissas J. The Origin of the Word “Bari.” *Obes Surg* [Internet]. 2005 Aug 1;15(7):1005–8. Disponible en: <https://link.springer.com/10.1381/0960892054621189>
 182. Neovius M, Narbro K, Keating C, Peltonen M, Sjöholm K, Ågren G, et al. Health Care Use During 20 Years Following Bariatric Surgery. *JAMA* [Internet]. 2012 Sep 19;308(11):1132. Disponible en: <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/2012.jama.11792>
 183. Ribaric G, Buchwald JN, McGlennon TW. Diabetes and weight in comparative studies of bariatric surgery vs conventional medical therapy: a systematic review and meta-analysis. *Obes Surg* [Internet]. 2014 Mar;24(3):437–55. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24374842>
 184. Maciejewski ML, Arterburn DE, Van Scoyoc L, Smith VA, Yancy WS, Weidenbacher HJ, et al. Bariatric Surgery and Long-term Durability of Weight Loss. *JAMA Surg* [Internet]. 2016 Nov 1;151(11):1046. Disponible en: <http://archsurg.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jamasurg.2016.2317>
 185. NIH conference. Gastrointestinal surgery for severe obesity. Consensus Development Conference Panel. *Ann Intern Med* [Internet]. 1991 Dec 15;115(12):956–61. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1952493>
 186. Fried M, Yumuk V, Oppert J-M, Scopinaro N, Torres AJ, Weiner R, et al. Interdisciplinary European Guidelines on Metabolic and Bariatric Surgery. *Obes Facts* [Internet]. 2013;6(5):449–68. Disponible en: <https://www.karger.com/Article/FullText/355480>
 187. De Luca M, Angrisani L, Himpens J, Busetto L, Scopinaro N, Weiner R, et al.

CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA

- Indications for Surgery for Obesity and Weight-Related Diseases: Position Statements from the International Federation for the Surgery of Obesity and Metabolic Disorders (IFSO). *Obes Surg* [Internet]. 2016 Aug 13;26(8):1659–96. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s11695-016-2271-4>
188. Rubio MA, Monereo S, Lecube A, Resa J, Masdevall C, de la Cruz Vigo F, et al. Posicionamiento de las sociedades SEEN-SECO-SEEDO-SED sobre la cirugía metabólica en la diabetes mellitus tipo-2. *Endocrinol y Nutr* [Internet]. 2013 Dec;60(10):547–8. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1575092213002763>
189. Mechanick JI, Apovian C, Brethauer S, Garvey WT, Joffe AM, Kim J, et al. Clinical practice guidelines for the perioperative nutrition, metabolic, and nonsurgical support of patients undergoing bariatric procedures – 2019 update: cosponsored by American Association of Clinical Endocrinologists/American College of Endocrinology,. *Surg Obes Relat Dis* [Internet]. 2020 Feb;16(2):175–247. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1550728919310792>
190. Rubino F, Nathan DM, Eckel RH, Schauer PR, Alberti KGMM, Zimmet PZ, et al. Metabolic Surgery in the Treatment Algorithm for Type 2 Diabetes: A Joint Statement by International Diabetes Organizations. *Diabetes Care* [Internet]. 2016 Jun 24;39(6):861–77. Disponible en: <http://care.diabetesjournals.org/lookup/doi/10.2337/dc16-0236>
191. Park CW, Torquati A. Physiology of Weight Loss Surgery. *Surg Clin North Am* [Internet]. 2011 Dec;91(6):1149–61. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039610911001034>
192. Angrisani L, Santonicola A, Iovino P, Formisano G, Buchwald H, Scopinaro N. Bariatric Surgery Worldwide 2013. *Obes Surg* [Internet]. 2015 Oct 4;25(10):1822–32. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s11695-015-1657-z>
193. De Luca M, Tie T, Ooi G, Higa K, Himpens J, Carbajo M-A, et al. Mini Gastric Bypass-One Anastomosis Gastric Bypass (MGB-OAGB)-IFSO Position Statement. *Obes Surg* [Internet]. 2018 May 29;28(5):1188–206. Disponible en <http://link.springer.com/10.1007/s11695-018-3182-3>
194. Welbourn R, Hollyman M, Kinsman R, Dixon J, Liem R, Ottosson J, et al. Bariatric Surgery Worldwide: Baseline Demographic Description and One-Year Outcomes from the Fourth IFSO Global Registry Report 2018. *Obes Surg* [Internet]. 2019 Mar 12;29(3):782–95. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s11695-018-3593-1>

CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA

195. Nguyen NT, Varela JE. Bariatric surgery for obesity and metabolic disorders: state of the art. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2017 Mar 30;14(3):160–9. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/nrgastro.2016.170>
196. Dilektasli E, Demir B. Definitions and current indications for obesity and metabolic surgery. *Ann Laparosc Endosc Surg* [Internet]. 2021 Jan;6:8–8. Disponible en: <https://ales.amegroups.com/article/view/6202/html>
197. Rosenthal RJ. International Sleeve Gastrectomy Expert Panel Consensus Statement: best practice guidelines based on experience of >12,000 cases. *Surg Obes Relat Dis* [Internet]. 2012 Jan;8(1):8–19. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1550728911007647>
198. Benaiges D. Laparoscopic sleeve gastrectomy: More than a restrictive bariatric surgery procedure? *World J Gastroenterol* [Internet]. 2015;21(41):11804. Disponible en: <http://www.wjgnet.com/1007-9327/full/v21/i41/11804.htm>
199. Lecube A, de Hollanda A, Calañas A, Vilarrasa N, Rubio MA, Breton I, et al. Trends in Bariatric Surgery in Spain in the Twenty-First Century: Baseline Results and 1-Month Follow Up of the RICIBA, a National Registry. *Obes Surg* [Internet]. 2016 Aug 12;26(8):1836–42. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s11695-015-2001-3>
200. Rubio MA, Martínez C, Vidal O, Larrad Á, Salas-salvadó J, Pujol J. Documento de consenso sobre cirugía bariátrica. *Rev Española Obes*. 2004;4:223–49.
201. Resa JJ, Solano J, Fatás JA, Blas JL, Monzón A, García A, et al. Laparoscopic Biliopancreatic Diversion: Technical Aspects and Results of our Protocol. *Obes Surg* [Internet]. 2004 Mar 1;14(3):329–33. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1381/096089204322917837>
202. Marceau P, Biron S, Hould F-S, Lebel S, Marceau S, Lescelleur O, et al. Duodenal Switch: Long-Term Results. *Obes Surg* [Internet]. 2007 Nov 12;17(11):1421–30. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s11695-008-9435-9>
203. Sánchez-Pernaute A, Rubio Herrera MA, Pérez-Aguirre E, García Pérez JC, Cabrerizo L, Díez Valladares L, et al. Proximal Duodenal–Ileal End-to-Side Bypass with Sleeve Gastrectomy: Proposed Technique. *Obes Surg* [Internet]. 2007 Dec 27;17(12):1614–8. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s11695-007-9287-8>
204. Hayoz C, Hermann T, Raptis DA, Brönnimann A, Peterli R, Zuber M. Comparison of metabolic outcomes in patients undergoing laparoscopic roux-en-Y gastric bypass versus sleeve gastrectomy - a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Swiss Med Wkly* [Internet].

CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA

- 2018;148:w14633. Disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30035801>
205. RAMOS AC, SILVA ACS, RAMOS MG, CANSECO EGC, GALVÃO-NETO M dos P, MENEZES M de A, et al. Simplified gastric bypass: 13 years of experience and 12,000 patients operated. *ABCD Arq Bras Cir Dig (São Paulo)* [Internet]. 2014;27(suppl 1):2–8. Disponible en:
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-67202014000600002&lng=en&tlng=en
206. Cummings DE, Rubino F. Metabolic surgery for the treatment of type 2 diabetes in obese individuals. *Diabetologia* [Internet]. 2018 Feb 9;61(2):257–64. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00125-017-4513-y>
207. Pories WJ, Swanson MS, MacDonald KG, Long SB, Morris PG, Brown BM, et al. Who would have thought it? An operation proves to be the most effective therapy for adult-onset diabetes mellitus. *Ann Surg* [Internet]. 1995 Sep;222(3):339–50; discussion 350-2. Disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7677463>
208. Buchwald H, Avidor Y, Braunwald E, Jensen MD, Pories W, Fahrbach K, et al. Bariatric Surgery: A systematic review and meta-analysis. *JAMA* [Internet]. 2004 Oct 13;292(14):1724. Disponible en:
<http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jama.292.14.1724>
209. Buchwald H, Estok R, Fahrbach K, Banel D, Jensen MD, Pories WJ, et al. Weight and type 2 diabetes after bariatric surgery: systematic review and meta-analysis. *Am J Med* [Internet]. 2009 Mar;122(3):248-256.e5. Disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19272486>
210. Mingrone G, Panunzi S, De Gaetano A, Guidone C, Iaiconelli A, Leccesi L, et al. Bariatric surgery versus conventional medical therapy for type 2 diabetes. *N Engl J Med* [Internet]. 2012 Apr 26;366(17):1577–85. Disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22449317>
211. Sjöström L, Peltonen M, Jacobson P, Ahlin S, Andersson-Assarsson J, Anveden Å, et al. Association of Bariatric Surgery With Long-term Remission of Type 2 Diabetes and With Microvascular and Macrovascular Complications. *JAMA* [Internet]. 2014 Jun 11;311(22):2297. Disponible en:
<http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jama.2014.5988>
212. Sjöström L. Review of the key results from the Swedish Obese Subjects (SOS) trial - a prospective controlled intervention study of bariatric surgery. *J Intern Med* [Internet]. 2013 Mar;273(3):219–34. Disponible en:
<http://doi.wiley.com/10.1111/joim.12012>

CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA

213. Panunzi S, De Gaetano A, Carnicelli A, Mingrone G. Predictors of Remission of Diabetes Mellitus in Severely Obese Individuals Undergoing Bariatric Surgery. *Ann Surg* [Internet]. 2015 Mar;261(3):459–67. Disponible en: <https://journals.lww.com/00000658-201503000-00009>
214. Osland E, Yunus RM, Khan S, Memon B, Memon MA. Diabetes improvement and resolution following laparoscopic vertical sleeve gastrectomy (LVSG) versus laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass (LRYGB) procedures: a systematic review of randomized controlled trials. *Surg Endosc* [Internet]. 2017 Apr 13;31(4):1952–63. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00464-016-5202-5>
215. Rao RS, Rao V, Kini S. Animal Models in Bariatric Surgery—A Review of the Surgical Techniques and Postsurgical Physiology. *Obes Surg* [Internet]. 2010 Sep 10;20(9):1293–305. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s11695-010-0135-x>
216. Sabench Pereferrer F, Hernández González M, Del Castillo Déjardin D. Experimental Metabolic Surgery: Justification and Technical Aspects. *Obes Surg* [Internet]. 2011 Oct 26;21(10):1617–28. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s11695-011-0367-4>
217. Camacho-Ramírez A, Blandino-Rosano M, Segundo-Iglesias MC, Lechuga-Sancho AM, Aguilar-Diosdado M, Pérez-Arana GM, et al. Bariatric surgery influences β -cell turnover in non obese rats. *Histol Histopathol* [Internet]. 2017 Dec;32(12):1341–50. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28567716>
218. Oh TJ, Ahn CH, Cho YM. Contribution of the distal small intestine to metabolic improvement after bariatric/metabolic surgery: Lessons from ileal transposition surgery. *J Diabetes Investig* [Internet]. 2016 Apr;7 Suppl 1:94–101. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/jdi.12444>
219. Zhu H, Wang H, Zheng Z, Ye B, Ruan X, Zheng X, et al. Ileal transposition rapidly improves glucose tolerance and gradually improves insulin resistance in non-obese type 2 diabetic rats. *Gastroenterol Rep* [Internet]. 2018 Nov;6(4):291–7. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30430018>
220. Wang H, Fa X, Qu W, Fu J, Fan K, Liu J, et al. Therapeutic Effects of Sleeve Gastrectomy and Ileal Transposition on Type 2 Diabetes in a Non-Obese Rat Model by Regulating Blood Glucose and Reducing Ghrelin Levels. *Med Sci Monit* [Internet]. 2019 May 9;25:3417–24. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31068569>

CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA

221. Gao Z, Wang B, Gong X, Yao C, Ren D, Shao L, et al. Effect of gastric bypass combined with ileal transportation on type 2 diabetes mellitus. *Exp Ther Med* [Internet]. 2018 May;15(5):4571–7. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29725390>
222. DePaula AL, Macedo AL V., Rassi N, Machado CA, Schraibman V, Silva LQ, et al. Laparoscopic treatment of type 2 diabetes mellitus for patients with a body mass index less than 35. *Surg Endosc* [Internet]. 2008 Mar 18;22(3):706–16. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s00464-007-9472-9>
223. Rehfeld JF. The Origin and Understanding of the Incretin Concept. *Front Endocrinol (Lausanne)* [Internet]. 2018 Jul 16;9:387. Disponible en <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fendo.2018.00387/full>
224. Kamvissi V, Salerno A, Bornstein SR, Mingrone G, Rubino F. Incretins or anti-incretins? A new model for the “entero-pancreatic axis”. *Horm Metab Res* [Internet]. 2015 Jan;47(1):84–7. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25388925>
225. Holst JJ, Madsbad S. Mechanisms of surgical control of type 2 diabetes: GLP-1 is key factor. *Surg Obes Relat Dis* [Internet]. 2016 Jul;12(6):1236–42. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27313194>
226. Batterham RL, Cummings DE. Mechanisms of Diabetes Improvement Following Bariatric/Metabolic Surgery. *Diabetes Care* [Internet]. 2016 Jun;39(6):893–901. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27222547>
227. Hutch CR, Sandoval D. The Role of GLP-1 in the Metabolic Success of Bariatric Surgery. *Endocrinology* [Internet]. 2017;158(12):4139–51. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29040429>
228. Gilbert MP, Pratley RE. GLP-1 Analogs and DPP-4 Inhibitors in Type 2 Diabetes Therapy: Review of Head-to-Head Clinical Trials. *Front Endocrinol (Lausanne)* [Internet]. 2020 Apr 3;11:178. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fendo.2020.00178/full>
229. Mokadem M, Zechner JF, Margolskee RF, Drucker DJ, Aguirre V. Effects of Roux-en-Y gastric bypass on energy and glucose homeostasis are preserved in two mouse models of functional glucagon-like peptide-1 deficiency. *Mol Metab* [Internet]. 2014 Apr;3(2):191–201. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24634822>
230. Laferrère B, Teixeira J, McGinty J, Tran H, Egger JR, Colarusso A, et al. Effect of weight loss by gastric bypass surgery versus hypocaloric diet on glucose and incretin levels in patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2008 Jul;93(7):2479–85. Disponible en:

CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA

- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18430778>
231. Piteau S, Olver A, Kim S-J, Winter K, Pospisilik JA, Lynn F, et al. Reversal of islet GIP receptor down-regulation and resistance to GIP by reducing hyperglycemia in the Zucker rat. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 2007 Nov;362(4):1007–12. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006291X07018220>
 232. Guida C, McCulloch LJ, Godazgar M, Stephen SD, Baker C, Basco D, et al. Sitagliptin and Roux-en-Y gastric bypass modulate insulin secretion via regulation of intra-islet PYY. *Diabetes Obes Metab* [Internet]. 2018;20(3):571–81. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28892258>
 233. Viardot A, Heilbronn LK, Herzog H, Gregersen S, Campbell L V. Abnormal postprandial PYY response in insulin sensitive nondiabetic subjects with a strong family history of type 2 diabetes. *Int J Obes* [Internet]. 2008 Jun 4;32(6):943–8. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/ijo200824>
 234. Ramracheya RD, McCulloch LJ, Clark A, Wiggins D, Johannessen H, Olsen MK, et al. PYY-Dependent Restoration of Impaired Insulin and Glucagon Secretion in Type 2 Diabetes following Roux-En-Y Gastric Bypass Surgery. *Cell Rep* [Internet]. 2016;15(5):944–50. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27117413>
 235. Camacho-Ramírez A, Prada-Oliveira JA, Ribelles-García A, Almorza-Gomar D, Pérez-Arana GM. The Leading Role of Peptide Tyrosine Tyrosine in Glycemic Control After Roux-en-Y Gastric Bypass in Rats. *Obes Surg* [Internet]. 2020 Nov 8;30(2):697–706. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s11695-019-04239-y>
 236. Bohórquez D V, Samsa LA, Roholt A, Medicetty S, Chandra R, Liddle RA. An enteroendocrine cell-enteric glia connection revealed by 3D electron microscopy. *PLoS One* [Internet]. 2014;9(2):e89881. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24587096>
 237. Stengel A, Taché Y. Ghrelin - a pleiotropic hormone secreted from endocrine x/a-like cells of the stomach. *Front Neurosci* [Internet]. 2012;6:24. Disponible en: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fnins.2012.00024/abstract>
 238. Yousseif A, Emmanuel J, Karra E, Millet Q, Elkalaawy M, Jenkinson AD, et al. Differential effects of laparoscopic sleeve gastrectomy and laparoscopic gastric bypass on appetite, circulating acyl-ghrelin, peptide YY3-36 and active GLP-1 levels in non-diabetic humans. *Obes Surg* [Internet]. 2014 Feb;24(2):241–52. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23996294>

CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA

239. Sista F, Abruzzese V, Clementi M, Carandina S, Amicucci G. Effect of Resected Gastric Volume on Ghrelin and GLP-1 Plasma Levels: a Prospective Study. *J Gastrointest Surg* [Internet]. 2016 Dec 13;20(12):1931–41. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s11605-016-3292-y>
240. Dogan U, Ellidag HY, Aslaner A, Cakir T, Oruc MT, Koc U, et al. The impact of laparoscopic sleeve gastrectomy on plasma obestatin and ghrelin levels. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* [Internet]. 2016;20(10):2113–22. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27249612>
241. Camacho-Ramírez A, Mayo-Ossorio MÁ, Pacheco-García JM, Almorza-Gomar D, Ribelles-García A, Belmonte-Núñez A, et al. Pancreas is a preeminent source of ghrelin after sleeve gastrectomy in Wistar rats. *Histol Histopathol* [Internet]. 2020 Aug;35(8):801–9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31951010>
242. Rubino F. Is Type 2 Diabetes an Operable Intestinal Disease?: A provocative yet reasonable hypothesis. *Diabetes Care* [Internet]. 2008 Feb 1;31(Supplement 2):S290–6. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18227499>
243. Thaler JP, Cummings DE. Hormonal and Metabolic Mechanisms of Diabetes Remission after Gastrointestinal Surgery. *Endocrinology* [Internet]. 2009 Jun 1;150(6):2518–25. Disponible en: <https://academic.oup.com/endo/article/150/6/2518/2456034>
244. Duan J, Zhou J, Ren F, Tan C, Wang S, Yuan L. Mid to distal small bowel resection with the preservation of the terminal ileum improves glucose homeostasis in diabetic rats by activating the hindgut-dependent mechanism. *J Gastrointest Surg* [Internet]. 2014 Jun;18(6):1186–93. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24687254>
245. Buchwald H, Dorman RB, Rasmus NF, Michalek VN, Landvik NM, Ikramuddin S. Effects on GLP-1, PYY, and leptin by direct stimulation of terminal ileum and cecum in humans: implications for ileal transposition. *Surg Obes Relat Dis* [Internet]. 2014;10(5):780–6. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24837556>
246. Mason EE. The mechanisms of surgical treatment of type 2 diabetes. *Obes Surg* [Internet]. 2005 Apr;15(4):459–61. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15946422>
247. Rubino F, Forgione A, Cummings DE, Vix M, Gnuli D, Mingrone G, et al. The mechanism of diabetes control after gastrointestinal bypass surgery reveals a role of the proximal small intestine in the pathophysiology of type 2 diabetes. *Ann Surg* [Internet]. 2006 Nov;244(5):741–9. Disponible en:

CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA

- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17060767>
248. Rubino F, Marescaux J. Effect of duodenal-jejunal exclusion in a non-obese animal model of type 2 diabetes: a new perspective for an old disease. *Ann Surg* [Internet]. 2004 Jan;239(1):1–11. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14685093>
249. Speck M, Cho YM, Asadi A, Rubino F, Kieffer TJ. Duodenal-jejunal bypass protects GK rats from β -cell loss and aggravation of hyperglycemia and increases enteroendocrine cells coexpressing GIP and GLP-1. *Am J Physiol Endocrinol Metab* [Internet]. 2011 May;300(5):E923-32. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21304061>
250. Rubino F, R'bib SL, del Genio F, Mazumdar M, McGraw TE. Metabolic surgery: the role of the gastrointestinal tract in diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol* [Internet]. 2010 Feb;6(2):102–9. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/nrendo.2009.268>
251. Salinari S, le Roux CW, Bertuzzi A, Rubino F, Mingrone G. Duodenal-jejunal bypass and jejunectomy improve insulin sensitivity in Goto-Kakizaki diabetic rats without changes in incretins or insulin secretion. *Diabetes* [Internet]. 2014 Mar;63(3):1069–78. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24241532>
252. Moreno-Indias I, Cardona F, Tinahones FJ, Queipo-Ortuño MI. Impact of the gut microbiota on the development of obesity and type 2 diabetes mellitus. *Front Microbiol* [Internet]. 2014 Apr 29;5:190. Disponible en: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2014.00190/abstract>
253. Woting A, Blaut M. The Intestinal Microbiota in Metabolic Disease. *Nutrients* [Internet]. 2016 Apr 6;8(4):202. Disponible en: <http://www.mdpi.com/2072-6643/8/4/202>
254. Gurung M, Li Z, You H, Rodrigues R, Jump DB, Morgun A, et al. Role of gut microbiota in type 2 diabetes pathophysiology. *EBioMedicine* [Internet]. 2020 Jan;51:102590. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S235239641930800X>
255. Kaska L, Sledzinski T, Chomiczewska A, Dettlaff-Pokora A, Swierczynski J. Improved glucose metabolism following bariatric surgery is associated with increased circulating bile acid concentrations and remodeling of the gut microbiome. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2016 Oct 21;22(39):8698–719. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27818587>
256. Liu H, Hu C, Zhang X, Jia W. Role of gut microbiota, bile acids and their cross-talk in the effects of bariatric surgery on obesity and type 2 diabetes. *J Diabetes*

CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA

- Investig [Internet]. 2018 Jan;9(1):13–20. Disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28434196>
257. Guo Y, Huang Z-P, Liu C-Q, Qi L, Sheng Y, Zou D-J. Modulation of the gut microbiome: a systematic review of the effect of bariatric surgery. *Eur J Endocrinol* [Internet]. 2018 Jan;178(1):43–56. Disponible en:
<https://eje.bioscientifica.com/view/journals/eje/178/1/EJE-17-0403.xml>
258. Stofan M, Guo GL. Bile Acids and FXR: Novel Targets for Liver Diseases. *Front Med* [Internet]. 2020 Sep 11;7:544. Disponible en:
<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmed.2020.00544/full>
259. Trabelsi M-S, Lestavel S, Staels B, Collet X. Intestinal bile acid receptors are key regulators of glucose homeostasis. *Proc Nutr Soc* [Internet]. 2017 Aug 16;76(3):192–202. Disponible en:
https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0029665116002834/type/journal_article
260. Kim H, Fang S. Crosstalk between FXR and TGR5 controls glucagon-like peptide 1 secretion to maintain glycemic homeostasis. *Lab Anim Res* [Internet]. 2018;34(4):140. Disponible en:
<https://synapse.koreamed.org/DOIx.php?id=10.5625/lar.2018.34.4.140>
261. Xie C, Huang W, Young RL, Jones KL, Horowitz M, Rayner CK, et al. Role of Bile Acids in the Regulation of Food Intake, and Their Dysregulation in Metabolic Disease. *Nutrients* [Internet]. 2021 Mar 28;13(4):1104. Disponible en:
<https://www.mdpi.com/2072-6643/13/4/1104>
262. Wang W, Cheng Z, Wang Y, Dai Y, Zhang X, Hu S. Role of Bile Acids in Bariatric Surgery. *Front Physiol* [Internet]. 2019 Apr 2;10:374. Disponible en:
<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphys.2019.00374/full>
263. Zhang Q, Xiao X, Li M, Yu M, Ping F, Zheng J, et al. Vildagliptin increases butyrate-producing bacteria in the gut of diabetic rats. *PLoS One* [Internet]. 2017;12(10):e0184735. Disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29036231>
264. Sun M, Wu W, Liu Z, Cong Y. Microbiota metabolite short chain fatty acids, GPCR, and inflammatory bowel diseases. *J Gastroenterol* [Internet]. 2017 Jan;52(1):1–8. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27448578>
265. Kaji I, Karaki S, Kuwahara A. Short-Chain Fatty Acid Receptor and Its Contribution to Glucagon-Like Peptide-1 Release. *Digestion* [Internet]. 2014;89(1):31–6. Disponible en: <https://www.karger.com/Article/FullText/356211>
266. Kasubuchi M, Hasegawa S, Hiramatsu T, Ichimura A, Kimura I. Dietary Gut Microbial Metabolites, Short-chain Fatty Acids, and Host Metabolic Regulation.

CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA

- Nutrients [Internet]. 2015 Apr 14;7(4):2839–49. Disponible en:
<http://www.mdpi.com/2072-6643/7/4/2839>
267. Shimada R, Yoshimura M, Murakami K, Ebihara K. Plasma Concentrations of GLP-1 and PYY in Rats Fed Dietary Fiber Depend on the Fermentability of Dietary Fiber and Respond to an Altered Diet. *Int J Clin Nutr Diet* [Internet]. 2015 Dec 3;1(1). Disponible en:
<https://www.graphyonline.com/archives/IJCND/2015/IJCND-103/>
268. Puddu A, Sanguineti R, Montecucco F, Viviani GL. Evidence for the Gut Microbiota Short-Chain Fatty Acids as Key Pathophysiological Molecules Improving Diabetes. *Mediators Inflamm* [Internet]. 2014;2014:1–9. Disponible en:
<http://www.hindawi.com/journals/mi/2014/162021/>
269. Larraufie P, Martin-Gallausiaux C, Lapaque N, Dore J, Gribble FM, Reimann F, et al. SCFAs strongly stimulate PYY production in human enteroendocrine cells. *Sci Rep* [Internet]. 2018 Dec 8;8(1):74. Disponible en:
<http://www.nature.com/articles/s41598-017-18259-0>
270. Covasa M, Stephens RW, Todorean R, Cobuz C. Intestinal Sensing by Gut Microbiota: Targeting Gut Peptides. *Front Endocrinol (Lausanne)* [Internet]. 2019 Feb 19;10:82. Disponible en:
<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fendo.2019.00082/full>
271. Liu H, Wang J, He T, Becker S, Zhang G, Li D, et al. Butyrate: A Double-Edged Sword for Health? *Adv Nutr* [Internet]. 2018 Jan 1;9(1):21–9. Disponible en:
<https://academic.oup.com/advances/article/9/1/21/4849000>
272. Mencarelli A, Renga B, D'Amore C, Santorelli C, Graziosi L, Bruno A, et al. Dissociation of Intestinal and Hepatic Activities of FXR and LXR α Supports Metabolic Effects of Terminal Ileum Interposition in Rodents. *Diabetes* [Internet]. 2013 Oct;62(10):3384–93. Disponible en:
<http://diabetes.diabetesjournals.org/lookup/doi/10.2337/db13-0299>
273. Oh TJ, Lee H-J, Cho YM. Ileal Transposition Decreases Plasma Lipopolysaccharide Levels in Association with Increased L Cell Secretion in Non-obese Non-diabetic Rats. *Obes Surg* [Internet]. 2016;26(6):1287–95. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26334758>
274. Strader AD, Clausen TR, Goodin SZ, Wendt D. Ileal Interposition Improves Glucose Tolerance in Low Dose Streptozotocin-treated Diabetic and Euglycemic Rats. *Obes Surg* [Internet]. 2009 Jan 7;19(1):96–104. Disponible en:
<http://link.springer.com/10.1007/s11695-008-9754-x>
275. Hansen CF, Vassiliadis E, Vrang N, Sangild PT, Cummings BP, Havel P, et al. The effect of ileal interposition surgery on enteroendocrine cell numbers in the

CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA

- UC Davis type 2 diabetes mellitus rat. *Regul Pept* [Internet]. 2014 Feb;189:31–9. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167011514000159>
276. Chen W, Xu Q, Xiao Y, Zhou J, Zhang W, Lin G, et al. Blockade of Central GLP-1 Receptors Deteriorates the Improvement of Diabetes after Ileal Transposition. *Int J Med Sci* [Internet]. 2016;13(12):955–62. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27994501>
277. Ikezawa F, Shibata C, Kikuchi D, Imoto H, Miura K, Naitoh T, et al. Effects of ileal interposition on glucose metabolism in obese rats with diabetes. *Surgery* [Internet]. 2012 Jun;151(6):822–30. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039606011007379>
278. Hung C, Napoli E, Ross-Inta C, Graham J, Flores-Torres AL, Stanhope KL, et al. Ileal interposition surgery targets the hepatic TGF- β pathway, influencing gluconeogenesis and mitochondrial bioenergetics in the UCD-T2DM rat model of diabetes. *FASEB J* [Internet]. 2019 Oct 15;33(10):11270–83. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1096/fj.201802714R>
279. Yan K, Chen W, Zhu H, Lin G, Sun W, Liu X, et al. The Changes of Serum Metabolites in Diabetic GK Rats after Ileal Transposition Surgery. *Obes Surg* [Internet]. 2019 Mar 6;29(3):882–90. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s11695-018-3582-4>
280. Grueneberger JM, Fritz T, Zhou C, Meyer S, Karcz-Socha I, Sawczyn T, et al. Long segment ileal transposition leads to early amelioration of glucose control in the diabetic obese Zucker rat. *Videosurgery Other Miniinvasive Tech* [Internet]. 2013;2:130–8. Disponible en: <http://www.termedia.pl/doi/10.5114/wiitm.2011.32925>
281. Somogyi E, Hoornenborg CW, Bruggink JE, Nyakas C, van Beek AP, van Dijk G. Ileal transposition: A non-restrictive bariatric surgical procedure that reduces body fat and increases ingestion-related energy expenditure. *Physiol Behav* [Internet]. 2020 May;219:112844. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S003193842030161X>
282. Cummings BP, Bettaieb A, Graham JL, Kim J, Ma F, Shibata N, et al. Bile-acid-mediated decrease in endoplasmic reticulum stress: a potential contributor to the metabolic benefits of ileal interposition surgery in UCD-T2DM rats. *Dis Model Mech* [Internet]. 2013 Mar;6(2):443–56. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23264565>
283. Ramzy AR, Nausheen S, Chelikani PK. Ileal transposition surgery produces ileal length-dependent changes in food intake, body weight, gut hormones and glucose metabolism in rats. *Int J Obes* [Internet]. 2014 Mar 29;38(3):379–87.

CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA

- Disponibile en: <http://www.nature.com/articles/ijo2013201>
284. Zhang GY, Wang TT, Cheng ZQ, Feng JB, Hu SY. Resolution of diabetes mellitus by ileal transposition compared with biliopancreatic diversion in a nonobese animal model of type 2 diabetes. *Can J Surg* [Internet]. 2011 Aug;54(4):243–51. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21651839>
285. Jurowich CF, Otto C, Rikkala PR, Wagner N, Vrhovac I, Sabolić I, et al. Ileal Interposition in Rats with Experimental Type 2 Like Diabetes Improves Glycemic Control Independently of Glucose Absorption. *J Diabetes Res* [Internet]. 2015;2015:1–14. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26185767>
286. Hung C, Bronec C, Napoli E, Graham J, Stanhope KL, Marsilio I, et al. Adipose depot-specific effects of ileal interposition surgery in UCD-T2D rats: unexpected implications for obesity and diabetes. *Biochem J* [Internet]. 2018;475(3):649–62. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29321243>
287. Sun X, Song M, Bai R, Cheng S, Xing Y, Yuan H, et al. Ileal interposition surgery-induced improvement of hyperglycemia and insulin resistance in Goto-Kakizaki rats by upregulation of TCF7L2 expression. *Exp Ther Med* [Internet]. 2013 May;5(5):1511–5. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23737909>
288. Sun X, Zheng M, Song M, Bai R, Cheng S, Xing Y, et al. Ileal interposition reduces blood glucose levels and decreases insulin resistance in a type 2 diabetes mellitus animal model by up-regulating glucagon-like peptide-1 and its receptor. *Int J Clin Exp Pathol* [Internet]. 2014;7(7):4136–42. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25120793>
289. Strader AD, Vahl TP, Jandacek RJ, Woods SC, D'Alessio DA, Seeley RJ. Weight loss through ileal transposition is accompanied by increased ileal hormone secretion and synthesis in rats. *Am J Physiol Metab* [Internet]. 2005 Feb;288(2):E447–53. Disponible en: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpendo.00153.2004>
290. Nausheen S, Shah IH, Pezeshki A, Sigalet DL, Chelikani PK. Effects of sleeve gastrectomy and ileal transposition, alone and in combination, on food intake, body weight, gut hormones, and glucose metabolism in rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* [Internet]. 2013 Aug 15;305(4):E507-18. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23800881>
291. Wang Y, Zhang X, Liu T, Zhong M, Wan H, Liu S, et al. Jejunum-ileum circuit procedure improves glucose metabolism in diabetic rats independent of weight loss. *Obesity* [Internet]. 2016 Feb;24(2):342–51. Disponible en:

CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA

- <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/oby.21339>
292. Culnan DM, Albaugh V, Sun M, Lynch CJ, Lang CH, Cooney RN. Ileal interposition improves glucose tolerance and insulin sensitivity in the obese Zucker rat. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* [Internet]. 2010 Sep;299(3):G751-60. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20634437>
293. Collins JT, Nguyen A, Badireddy M. Anatomy, Abdomen and Pelvis, Small Intestine [Internet]. *StatPearls*. 2021. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29083773>
294. Drozdowski LA, Clandinin MT, Thomson AB. Morphological, kinetic, membrane biochemical and genetic aspects of intestinal enteroplasticity. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2009;15(7):774. Disponible en: <http://www.wjgnet.com/1007-9327/full/v15/i7/774.htm>
295. Seeley RJ, Chambers AP, Sandoval DA. The Role of Gut Adaptation in the Potent Effects of Multiple Bariatric Surgeries on Obesity and Diabetes. *Cell Metab* [Internet]. 2015 Mar;21(3):369–78. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1550413115000029>
296. Kohli R, Kirby M, Setchell KDR, Jha P, Klustaitis K, Woollett LA, et al. Intestinal adaptation after ileal interposition surgery increases bile acid recycling and protects against obesity-related comorbidities. *Am J Physiol Liver Physiol* [Internet]. 2010 Sep;299(3):G652–60. Disponible en: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpgi.00221.2010>
297. Sawczyn T, Zimmermann J, Stygar D, Kukla M, Nabrdalik K, Matysiak N, et al. Ileal Transposition (IT) Surgery Changing the Ultrastructure of the Transposed Segment as well as Jejunum. *Histomorphometric and Electron Microscopy Analysis. Obes Surg* [Internet]. 2018 May 3;28(5):1232–9. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s11695-017-2992-z>
298. Grueneberger JM, Karcz-Socha I, Sawczyn T, Kosmowski J, Stygar D, Goos M, et al. Systematic ileal transposition in Zucker rats shows advantage for long segment distal transposition. *Surgery* [Internet]. 2014 Jan;155(1):165–72. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S003960601300278X>
299. Zhao P, Wendt D, Goodin SZ, Ravichandran S, Chouinard TE, Strader AD. Adaptation of Intestinal and Bile Acid Physiology Accompany the Metabolic Benefits Following Ileal Interposition in the Rat. *Obes Surg* [Internet]. 2018;28(3):725–34. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28861731>

CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA

300. Cummings BP, Strader AD, Stanhope KL, Graham JL, Lee J, Raybould HE, et al. Ileal interposition surgery improves glucose and lipid metabolism and delays diabetes onset in the UCD-T2DM rat. *Gastroenterology* [Internet]. 2010 Jun;138(7):2437–46, 2446.e1. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20226188>
301. De Paula AL, Stival AR, Macedo A, Ribamar J, Mancini M, Halpern A, et al. Prospective randomized controlled trial comparing 2 versions of laparoscopic ileal interposition associated with sleeve gastrectomy for patients with type 2 diabetes with BMI 21–34 kg/m². *Surg Obes Relat Dis* [Internet]. 2010 May;6(3):296–304. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S155072890900728X>
302. de Paula AL, Macedo ALV, Prudente AS, Queiroz L, Schraibman V, Pinus J. Laparoscopic sleeve gastrectomy with ileal interposition (“neuroendocrine brake”)—pilot study of a new operation. *Surg Obes Relat Dis* [Internet]. 2006 Jul;2(4):464–7. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1550728906002450>
303. Moreno-Arciniegas A, Falckenheiner-Soria J, Bancalero-De Los Reyes J, Camacho-Ramírez A, de Los Angeles Mayo-Ossorio M, Pacheco-García JM, et al. The main participation of the enterohormone GLP-1 after bariatric surgery. *Minerva Chir* [Internet]. 2019 Feb;74(1):7–13. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29963790>
304. Prada-Oliveira JA, Camacho-Ramirez A, Salas-Alvarez J, Campos-Martinez FJ, Lechuga-Sancho AM, Almorza-Gomar D, et al. GLP-1 mediated improvement of the glucose tolerance in the T2DM GK rat model after massive jejunal resection. *Ann Anat* [Internet]. 2019 May;223:1–7. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30721719>
305. Swisa A, Glaser B, Dor Y. Metabolic Stress and Compromised Identity of Pancreatic Beta Cells. *Front Genet* [Internet]. 2017 Feb 21;08. Disponible en: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fgene.2017.00021/full>
306. Chelikani PK, Shah IH, Taqi E, Sigalet DL, Koopmans HH. Comparison of the Effects of Roux-en-Y Gastric Bypass and Ileal Transposition Surgeries on Food Intake, Body Weight, and Circulating Peptide YY Concentrations in Rats. *Obes Surg* [Internet]. 2010 Sep 13;20(9):1281–8. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s11695-010-0139-6>
307. Somogyi E, Sigalet D, Adrian TE, Nyakas C, Hoornenborg CW, van Beek AP, et al. Ileal Transposition in Rats Reduces Energy Intake, Body Weight, and Body Fat Most Efficaciously When Ingesting a High-Protein Diet. *Obes Surg* [Internet].

CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA

- 2020 Jul 27;30(7):2729–42. Disponible en:
<https://link.springer.com/10.1007/s11695-020-04565-6>
308. Nausheen S, Shah IH, Pezeshki A, Sigalet DL, Chelikani PK. Effects of sleeve gastrectomy and ileal transposition, alone and in combination, on food intake, body weight, gut hormones, and glucose metabolism in rats. *Am J Physiol Metab* [Internet]. 2013 Aug 15;305(4):E507–18. Disponible en:
<https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpendo.00130.2013>
309. Vilsbøll T. On the role of the incretin hormones GIP and GLP-1 in the pathogenesis of Type 2 diabetes mellitus. *Dan Med Bull* [Internet]. 2004 Nov;51(4):364–70. Disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16009062>

CAPÍTULO 9. ACTIVIDAD **CIENTÍFICA**

CAPÍTULO 9. ACTIVIDAD CIENTÍFICA

1. PUBLICACIONES DURANTE EL DESARROLLO DE LA LÍNEA DE INVESTIGACIÓN DE ESTA TESIS

- 1.1. A novel surgical technique focused on the study of the ileum: The preduodenal ileal transposition. Cirugía y Cirujanos 2020 Mar 28. DOI: 10.24875/CIRU.20001272.**

A novel surgical technique focused on the study of the ileum: The preduodenal ileal transposition

Una nueva técnica quirúrgica focalizada en el estudio del íleon: la transposición preduodenal del íleon

Jesús M. Salas-Álvarez¹, Francisco J. Campos-Martínez¹, Alejandra Moreno-Arciniegas²,
David Almorza-Gomar^{4,5}, Gonzalo M. Pérez-Arana⁵, J. Arturo Prada-Oliveira^{3,5}, and
Alonso Camacho-Ramírez^{1,5,6*}

¹Surgery Unit, Puerto Real University Hospital, Universidad de Cádiz; ²Surgery Unit, Ceuta Hospital, Insalud; ³Department of Human Anatomy and Embryology, Faculty of Medicine, Universidad de Cádiz; ⁴Department of Operative Statistics Universidad de Cádiz; ⁵Instituto de Investigación e innovación biomédica de Cádiz (INIBICA); ⁶Surgery Unit, Puerta del Mar University Hospital of Cádiz. Cadiz, Spain

Abstract

Aims: Our main goal is to study the effects on the carbohydrate metabolism. Thus, we designed various experimental surgical models on healthy non-obese Wistar rats to reproduce several conditions. In this sense, we report a new experimental model. It is well known that bariatric surgery has important effects on the control of Type 2 Diabetes Mellitus. The underlying reasons are yet unknown, although the different theories focused in the release of different hormones after the pass of the nutrients through the tract. These released hormones have opposite effects that come together in a balanced glycemic metabolism. **Materials and methods:** After bariatric surgical techniques, the modified anatomy resulted in an imbalance of the secreted hormones. Wistar rats were randomized in two groups Sham and surgical group. Our model consisted on the transposition of the terminal ileum right after the pylorus. Weight gain, food intake, and basal glycemia were measured weekly. **Results:** We did not obtain significant differences between both groups for these functional variables. **Conclusions:** This technique involved an early pass of the bolus through the ileum. The change on the luminal pH, along with the lack of enzymes to absorb the content, or the changes in the release of several hormones must be variables to the study. The mortality rate was assumable considering it was an experimental model on animals.

Key words: Diabetes. Malabsorption syndromes. Metabolic surgery. Incretines. Pancreas.

Resumen

Objetivo: Crear un nuevo modelo quirúrgico experimental en ratas Wistar sanas no obesas para estudiar los efectos del metabolismo glucídico. Es bien sabido que las técnicas de cirugía bariátrica tienen un efecto importante sobre la resolución de la diabetes mellitus tipo 2. Se han invocado diferentes hipótesis, algunas centradas en el papel que tienen distintas hormonas secretadas por el propio tubo digestivo tras el paso de los nutrientes a su través, pero las razones últimas subyacentes permanecen desconocidas. El efecto contrapuesto de dichas hormonas consigue un efecto de control glucémico. El desequilibrio hormonal tras las alteraciones anatómicas de las cirugías bariátricas podría estar en la base de dicha mejora del me-

Correspondence:

*Alonso Camacho-Ramírez
University of Cádiz
Plaza Fragela, s/n
C.P. 11003, Cádiz, Spain
E-mail: acronil@yahoo.es

Date of reception: 02-05-2019
Date of acceptance: 28-03-2020
DOI: 10.24875/CIRU.20001272

Cir Cir. 2020;88(4):402-409
Contents available at PubMed
www.cirurgiaycirujanos.com

0009-7411/© 2020 Academia Mexicana de Cirugía. Published by Permanyer. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

CAPÍTULO 9. ACTIVIDAD CIENTÍFICA

J.M. Salas-Álvarez, et al.: **The preduodenal ileal transposition**

tabolismo glucídico final. Material y métodos: Las ratas fueron operadas en dos grupos (control quirúrgico y experimental) y se procedió a disponerles el íleon anastomosado al antro pilórico, previo al esfínter pilórico. Medimos distintos parámetros funcionales (ganancia de peso, ingesta y glucemias semanales). **Resultados:** No obtuvimos diferencias significativas en la evolución de estos parámetros. **Conclusiones:** Este modelo será útil para nuestro propósito de estudiar el íleon, en su componente secretor de enterohormonas, cuando el paso de los nutrientes se produzca tempranamente. La mortalidad fue asumible, dada la innovación técnica realizada.

Palabras clave: Diabetes. Síndromes malabsortivos. Cirugía metabólica. Incretinas. Páncreas.

Introduction

The different pathophysiological mechanisms that describe the behavior of metabolic surgery are not well-defined yet, but they are continuously being documented. There are two basic pillars that explain the functioning of this kind of surgery. First of all, the weight loss would reduce the insulin resistance of the peripheral tissue. Secondly, the gastrointestinal endocrine disruption, with hormones being synthesized in the digestive tract causing important changes of the behavior of glands – such as pancreas – and peripheral tissue¹⁻³.

This second reason, at the same time, is based in two principal theories, the Foregut and the Hindgut theory. Both theories take into consideration the pass of the alimentary bolus through different sections of the digestive tube, which activates hormonal routes with favorable and unfavorable effects for the glyce-mic homeostasis⁴. The main hormones involved are called incretines, a numerous group that includes glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP), glucagon-like peptide (GLP)-1, and ghrelin among other substances^{5,6}.

The Hindgut theory is also known as the incretinic theory. It suggests that the early pass of the alimentary bolus as a result of a surgical procedure could explain the control of type 2 Diabetes Mellitus (T2DM). This early pass through the distal small bowel would stimulate the release of hormones such as GLP-1 or peptide tyrosine tyrosine^{7,8}. That way, it would boost the insulin discharge, increasing its sensibility, and decreasing the beta cells apoptosis⁹.

In contrast, the anti-incretin effect is the cornerstone of the Foregut Theory. This opposite theory was based on the pass of nutrients through the proximal small bowel. The result is the release of different hormones. The anti-incretinic response buffers the previously cited incretinic effect. It produces a decrease in the discharge of insulin, decrease in the proliferation

of beta cells and inhibition of the action of insulin, to prevent hypoglycemia¹⁰⁻¹².

While a balanced and coordinated production of incretin and anti-incretin hormones is necessary to keep normal levels of glucose, a poor anti-incretin production may not compensate the effect of the incretins, resulting in hyperinsulinemia, hypoglycemia, and beta cells proliferation¹³.

On the other hand, a change toward the excessive production of the anti-incretin hormones would cause an insulin resistance, decrease in the insulin secretion and the beta cell depletion; all of them features of the T2DM¹⁰.

The purpose of this report is the study of the specific role of the ileum. We designed a new experimental surgical model. The use of non-obese healthy Wistar rats was pursued to avoid other pathological or functional circumstances, such as obesity or diabetes. The model is not replicable in humans as a bariatric technique. This experimental model consists of a pre-duodenal ileal transposition (PDIT). The main goal is to place the ileal portion right after the pylorus. It is then anastomosed to the first portion of the duodenum, this way, the pyloric sphincter keeps its original anatomical disposition even though it is not functional anymore. Our goal is to determine the role of the terminal ileum, when located in an anomalous situation. The change of the anatomical configuration of the digestive tube has been investigated before by different investigation groups but our study provides a new technique, never published before, which brings the transposed ileum as proximal as possible in the digestive tube, right after the stomach to eliminate the foregut bias.

Hence, this way we open up a whole new range of possibilities to study related to the role held by the different portions of the digestive tract such as the terminal ileum, in the improvement of the glyce-mic metabolism. In this paper, we report a new and feasible model which will lead to new pathways in the specific study of the ileal tract.

No part of this publication may be reproduced or photocopying without the prior written permission of the publisher. © Permanyer 2020

CAPÍTULO 9. ACTIVIDAD CIENTÍFICA

Cirugía y Cirujanos. 2020;88(4)

Materials and methods

Animals

Every procedure on animals was performed with the approval of the University of Cadiz Committee for the Ethical Use and Care of Experimental Animals. The rats were supplied from the University of Cadiz Animal Production Service, which included the specific laboratories to undergo surgeries. The 30 male Wistar rats were stabled in randomized groups with 15 rats each one of them – an experimental and a surgical control (Sham) group. The specimens were under constant temperature and humidity conditions in a 12-h light/dark cycle, with *ad libitum* access to normal chow and water. We did not use female rats to avoid the cyclic variations of gonadotropin hormonal effect on the glycemic metabolism. The rats were 12-14 weeks old and weighted around 300-350 g when surgery was undergoing. The survival period was 4 weeks after surgery.

Weight gain and food intake basal glycemia

To evaluate the effect of the surgery in our model, we controlled the weight increase of the animals, as well as the grams of food the animals consumed. The chow intake and the weight increase were quantified every 5 days after surgery for the whole survival period.

Once a week, the basal glycaemia was measured with a glucometer (Glucocard G-Meter 1810, Menarini Diagnostics, Italy) and expressed as mg of glucose/deciliter of blood.

Surgical techniques

The rats were randomly assigned to the experimental group – the PDIT – or to the control group (Sham). Both techniques were performed once the rats were anesthetized with gas (isoflurane). The anesthetic induction was achieved by impregnating a gauze with the same anesthetic after introducing the animal in a close container under an extractor hood to avoid the inhalation of gas by the surgeons. The anesthetic maintenance was obtained by the use of a continuous ventilation pump of isoflurane (between 1 and 3%, depending on the time needed for the procedure, and avoiding cardiorespiratory arrest). It was provided through a mask that included the rat's mouth and snout, and connected to the pump. A heat source underneath the animal was used in longer procedures



Figure 1. Firstly, ileum was identified and transected at 10 cm of ileum-cecal valve.

to avoid hypothermia due to the abdominal cavity exposure. In the end, we tried to reproduce the external conditions similar to the ones in regular surgery and thus, reduce the mortality rate and biases that could interfere in the normal interpretation of the data.

In the PDIT group, the surgical procedure was as followed. The incision made was bisubcostal after cleansing the abdominal wall with chlorhexidine. Then, the whole small bowel was exposed as well as the cecum. Afterward, the stomach was mobilized for a better exposure after liberating the lesser omentum. We measured the past 10 cm of the terminal ileum and divided it (Fig. 1), preserving the vascular supply and the distal edge 1 cm away from the ileocecal valve (Fig. 2). To reduce the mortality in the early samples, the method was modified to reduce the aggression on the ileal vessels. Then, a transverse pyloric division was made, closing the duodenal stump with a running suture with polydioxanone (PDS) 5/0. The distal duodenal stump was anastomosed to the distal edge of the transposed ileum with interrupted stitches of PDS 5/0 while the proximal edge of the ileum was anastomosed to the posterior gastric face with continuous suturing with PDS 5/0 after opening the greater omentum (Fig. 3).

Finally, the last anastomosis made was between the jejunum and terminal ileum, made with interrupted sutures of PDS 5/0. Before closing the abdominal wall, an anesthetic infiltration was performed with 2% mepivacaine diluted in physiological saline solution (1:10). Before closing the abdominal wall with a running suture with Vicryl 2/0, the whole intestinal mass was introduced inside the cavity with warm physiological

CAPÍTULO 9. ACTIVIDAD CIENTÍFICA

J.M. Salas-Álvarez, et al.: **The preduodenal ileal transposition**

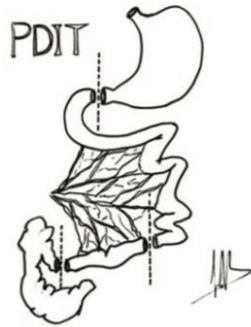


Figure 2. This section of ileum and the vessels were located proximally. Duodenum was cutted after pylorum.

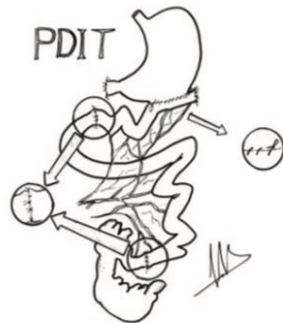


Figure 3. Finally, termino-terminal or termino-lateral sutures were made to stablish the new nutritional flow.

saline solution (36°C). This surgical technique was always performed by the same main surgeon.

The control group technique (Sham) reproduced the surgical aggression over the digestive tract and the stress of the animal, before and after the surgical procedure but maintained the anatomical disposition of the digestive tube. It was performed by a bisubcostal incision after cleansing the abdominal wall with chlorhexidine allowing the exposure of the small bowel loops. Then, we measured the distance from the angle of Treitz to the ileocecal valve. A transversal enterotomy section was performed at 10 cm of the Treitz angle, without intestinal resection. Then, we made an end-to-end anastomosis with interrupted sutures of PDS 5/0.

The rats from both surgical groups were closely monitored for 2 h after the surgical procedure was

completed. Post-operative analgesia was performed by the use of a mixture of 13 ml of ibuprofen (Dalsy) in 500 ml of water. A hyperproteic liquid diet was included 12 h after the surgeries. The diet based on Resource® Protein diluted in water (1:4) was used for 48 h before the introduction of solid standard chow (250g).

Statistical analysis

The measured data were expressed as mean \pm standard error of the mean (SEM). Comparisons between both groups were performed using the ANOVA test. Once the non-parametric samples character was established, these data were analyzed with a Mann-Whitney U-test and $p < 0.05$ was considered statistically significant. All statistical analyses were performed using SPSS statistical software, version 24.0.

Results

In this section, the described results report the functional variables measured during the survival period. During this stage, these parameters showed us the adaptive processes to keep a balanced homeostatic glycaemia. Thus, the results of the variables detailed some indirect measurable aspect of the nutrient absorption and posterior pancreatic processing.

Weight gain and chow intake, basal glycemia

The weight evolution, food intake, and basal glycaemia were monitored from post-operative day 1 until the sacrifice, 1 a week. The mean weight per week for each group was expressed in grams. The body weight decreased after procedures in both groups. However, there were no significant differences between any of them at any point (Fig. 4). In both groups, the body weight decreased within the 1st week after surgery and then recovered. In the Sham group, body weight increased slowly and progressively until the end of the study, while the PDIT group presented a weight loss at the 4th week, without recovering the initial weight.

Similarly, the food intake did not show any difference between both groups. The food consumption was reduced in all the employed animals in this study compared to the normal intake measured in the animal laboratory (Science Education Partnership Award).

CAPÍTULO 9. ACTIVIDAD CIENTÍFICA

Cirugía y Cirujanos. 2020;88(4)

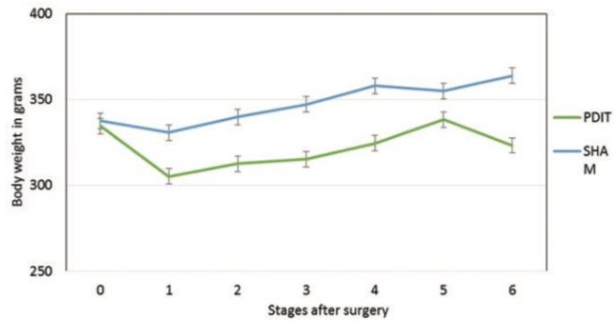


Figure 4. Weight gaining (grams) represented on the Y-axis the experimental (pre-duodenal ileal transposition [PDIT]) and control (SHAM) groups. Time was represented in the X-axis in 5-days periods. No significant differences were found between PDIT and SHAM group during this period. The surgical PDIT group showed a slight weight loss due to the surgical aggression, but the differences were not significant.

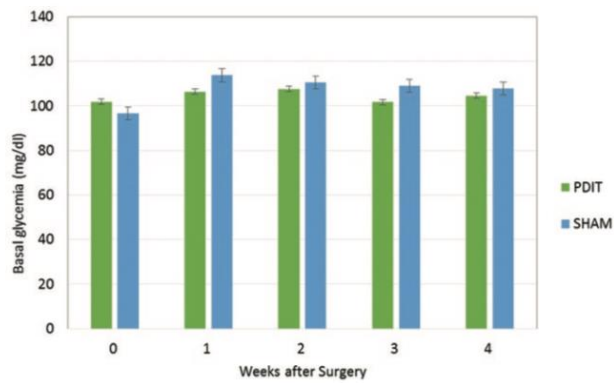


Figure 5. Basal Glycemia after the fasting period was represented in the Y-axis as glucose mg/dl (mean \pm standard error of the mean) in both experimental (pre-duodenal ileal transposition) and SHAM groups along time, represented in weeks in the X-axis. Blood glucose levels did not show significant difference between both groups.

As well as the average basal glycemia per week, which was expressed in mg/dl, and showed no significant changes were observed in the basal glycemia during the period of the study (Fig. 5). We analyzed the summative interpretation of glycemic – area under the curve – and again, no differences were found.

Surgical procedures

Throughout the observation period, six rats out of the 30 rats that we had in the beginning of the study died,

which made a 20% of the total mortality rate. In the surgical group, four out of the 15 rats died, which constituted a death rate of 26.6%, while in the Sham group, the mortality rate was the 13% (two out of the 15 rats).

None of the deaths happened, while the surgical procedure was taking place. All deaths occurred after post-operative day 1. All deceased rats died between 24 and 96 h after the surgical intervention. After this, animals were sacrificed after 4 weeks after surgeries. Although the expected weight gain for malnutrition, we did not find any other valuable data.

CAPÍTULO 9. ACTIVIDAD CIENTÍFICA

J.M. Salas-Álvarez, et al.: **The preduodenal ileal transposition**

Discussion

Each day increases the knowledge of bariatric metabolic surgery. This is supported by the daily outbreak of new hypotheses. However, the results of scientific investigations are not conclusive on the mechanism of action of metabolic surgery. In this sense, the ileum is a part of the intestine yet to be studied. Its contributions are very important, but there are many questions to clarify. The previous studies carried out to date are based on an ileal location at the post-duodenal and pre-jejunal level¹⁵⁻¹⁶. In addition, generally such ileal interposition was usually associated with another bariatric surgery technique. This article discusses the viability of the transposition of the ileum in a place not described yet (a pre-duodenal localization), without an associated bariatric component. The aim of the study was to know the viability of the model. For this reason, we worked with healthy non-obese rats unlike most of the bibliographic references that are based on studies with diabetic and/or obese animals. Our interest is related to the specific implications of ileum in the resolution of T2DM. Thus, once the model could be well-established, we can follow the cellular participation of ileum at the hormonal level.

The number of complications and mortality was reasonable, although higher than the average mortality obtained in similar previous studies. The overall mortality rate of our study was the 20%, with a mortality lower than the 26% in the surgical group. In addition, none of the deaths occurred during the surgical intervention, always occurred between the first 24 and 96 h postoperatively. Anastomotic leaks and subsequent intraperitoneal infection could be probably the main causes of this mortality rate due to the reintroduction of solid diet and the non-use of antibiotic prophylaxis. Meanwhile, no unusual findings were found during the sacrifice phase. Apart the common peritoneal adhesions, no bowel dilatations or obstruction were observed.

We cannot ignore the possibility of severe metabolic failure due to intense hyperglycemia in the animals, but ketoacidotic symptoms were not observed. Thrombotic or vascular complications, due to the traction over the ileal vessels, might not be excluded. Although we did changes on the initial surgical procedures about the route of ileal vessels. This technical modifications would have helped minimize the mentioned problems. The techniques performed so far in the metabolic surgery field were developed from the bariatric

surgery, so weight loss was unavoidable. In our case, we did not find a significant weight loss after the surgery. This supported the results of the previous studies. New studies in a model of diabetic non-obese rats could be done to corroborate these results. The glycemic measurements showed no differences compared to the control group. However, we expected these differences; the rats of the PDIT group could stand a slight lower glycemia, due to a possible improvement in glucose tolerance at the expense of an increase in insulin sensitivity^{15,16}. On the other hand, posterior studies could determine changes in pancreas cellularity that could explain glycemic behavior. This is one of our next analysis of the extracted pancreas.

Regarding the hormonal effect, the Hindgut Theory as well as the Foregut Theory has in common the importance of the role of the digestive tract. Therefore, they are not mutually exclusive. The interposition of the ileum in a post-gastric and pre-duodenal location determined an alteration of the intestinal flow. This conditioned a modification of the incretines and anti-incretines signals. In this respect, it would be interesting to investigate the modifications in the enterohormonal levels (e.g., GLP-1, GIP, PYY, as well as the specific receptors) after this surgical model^{16,17}. The different portions of small bowel will be analyzed to determine the changes in releasing cellularity. Mainly, the GLP-1 releasing L-cells located in the ileum, which has been located in extended location after RYGB¹⁸.

Bariatric surgeries, depending on the kind of procedure, had an effect on the concentration of the circulating biliary salts. The terminal ileum, when it was located in an anomalous situation, could determine a change on the circulating levels of the biliary salts. In the ileal lumen, gastric content will be secreted without bile salts and pancreatic enzymes. In addition, the pH will be very acid, straight from the stomach, not buffered yet. This was contributed by a different duodenal situation, distal to the ileum. The lack of enzymes stopped the content and micronutrients from being absorbed. This change could improve the glycemic homeostasis in the diabetic patient^{19,20}.

The modification of the anatomy changed the quality and quantity of absorbed nutrients. The changes must induce in the composition, characteristics, and activity of the intestinal microbiota, which could explain the partial improvement of hydrocarbon metabolism after bariatric surgery. The relationship

CAPÍTULO 9. ACTIVIDAD CIENTÍFICA

Cirugía y Cirujanos. 2020;88(4)

between the different incretins and the changes in the concentrations of the circulating biliary salts might be important and should be the subject of future studies. Moreover, the nervous system is a whole field to explore, since we preserved the vascularization and the enteric nerves. Therefore, the potential alterations that this technique produced in the normal development of nutrition and metabolism must be considered.

We can conclude that the reported technique is both, new and reasonable, with a relatively assumable mortality rate in an experimental model. More studies are needed in this direction, which could value different animal models and objectivize the real hormonal changes. Our study could open a new range of possibilities in the field of the metabolic surgery, since the improvement of the carbohydrate metabolism in patients after this kind of procedures is still conundrum. The histological analyses are currently being developed. Several studies are in progress: focusing the histology of the pancreas, considering the changes in cellularity of β -cell mass, and the expansions in releasing cellularity of the different portions of intestine. Both kind of studies have been developed in other previous papers^{6,9,18}.

The objective was to obtain an experimental model. The extrapolation of the obtained results to humans is possible. We defend the rational use of this animal model. In this methodological sense, a higher statistical power could have provided stronger and more significant results. Although the objective of the study was well defined, the validity of the surgical model will be better through another series of functional and histological determinations.

Acknowledgements

The authors desire to thank the technical assistance and figures drawing of Mr. Juan Jesus Gallardo Pacheco.

Conflicts of interest

The authors declare no conflicts of interest. All the authors declare to know and to sign the disclosure and conflict statement. We did not receive payment or services from a third party (government, commercial, private foundation, etc.) for any aspect of the submitted work. We have not financial relationships with entities which could be related to the aim of the study. We have no any patents or manuscript, pending or issued,

broadly relevant to this work. There are no other relationships or activities that readers could perceive to have influenced, or that give the appearance of, or potentially influencing, what we have written in the submitted work.

Funding

This work was partially supported for the Asociación Gaditana de Apoyo al Investigador (AGAI).

Ethical disclosures

Protection of human and animal subjects. The authors declare that the procedures followed were in accordance with the regulations of the relevant clinical research ethics committee and with those of the Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki).

Confidentiality of data. The authors declare that no patient data appear in this article.

Right to privacy and informed consent. The authors declare that no patient data appear in this article.

References

1. Näslund E, Kral JG. Impact of gastric bypass surgery on gut hormones and glucose homeostasis in Type 2 diabetes. *Diabetes*. 2006;55: S92-7.
2. Rubino F, Panagiotopoulos S. Surgery: metabolic surgery: the cutting edge of diabetes care. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017;14: 389-90.
3. Rubino F, Gagner M, Gentileschi P, Kini S, Fukuyama S, Feng J, et al. The early effect of the roux-en-y gastric bypass on hormones involved in body weight regulation and glucose metabolism. *Ann Surg*. 2004;240:236-42.
4. Buchwald H, Estok R, Fahrbach K, Banel D, Jensen MD, Pories WJ, et al. Weight and Type 2 diabetes after bariatric surgery: systematic review and meta-analysis. *Am J Med*. 2009;122:248-56.
5. Dimitriadis G, Manpal S, Randeve A, Miras D. Potential hormone mechanisms of bariatric surgery. *Curr Obes Rep*. 2017;6:253-65.
6. Meek CL, Lewis HB, Reimann F, Gribble FM, Park AJ. The effect of bariatric surgery on gastrointestinal and pancreatic peptide hormones. *Peptides*. 2016;77:28-37.
7. Cummings DE, Overduin J, Foster-Schubert KE. Gastric bypass for obesity: mechanisms of weight loss and diabetes resolution. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:2608-15.
8. Mason EE. The mechanisms of surgical treatment of Type 2 diabetes. *Obes Surg*. 2005;15:459-61.
9. Camacho A. Modelos de Cirugía Bariátrica en Rata Wistar Normopesa y no Diabética, Cambios Histológicos a Nivel Pancreático y en la Homeostasis de la Glucosa. Thesis. Spain: University of Cadiz; 2015.
10. Rubino F, Marescaux J. Effect of duodenal-jejunal exclusion in a non-obese animal model of Type 2 diabetes: a new perspective for an old disease. *Ann Surg*. 2004;239:1-11.
11. Rubino F, Forgione A, Cummings DE, Vix M, Gnani D, Mingrone G, et al. The mechanism of diabetes control after gastrointestinal bypass surgery reveals a role of the proximal small intestine in the pathophysiology of Type 2 diabetes. *Ann Surg*. 2006;244:741-9.
12. Salinari S, Le Roux CW, Bertuzzi A, Rubino F, Mingrone G. Duodenal-jejunal bypass and jejunectomy improve insulin sensitivity in goto-kakizaki diabetic rats without changes in incretins or insulin secretion. *Diabetes*. 2014;63:1069-78.
13. Culinan DM, Albaugh V, Sun M, Lynch CJ, Lang CH, Cooney RN. Ileal interposition improves glucose tolerance and insulin sensitivity in the obese Zucker rat. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2010; 299:G751-60.

CAPÍTULO 9. ACTIVIDAD CIENTÍFICA

J.M. Salas-Álvarez, et al.: **The preduodenal ileal transposition**

14. Cummings BP, Strader AD, Stanhope KL, Graham JL, Lee J, Raybould HE, et al. Ileal interposition surgery improves glucose and lipid metabolism and delays diabetes onset in the UCD-T2DM rat. *Gastroenterology*. 2010;138:2437-46.
15. Duan J, Zhou J, Ren F, Tan C, Wang S, Yuan L. Mid to distal small bowel resection with the preservation of the terminal ileum improves glucose homeostasis in diabetic rats by activating the hindgut-dependent mechanism. *J Gastrointest Surg*. 2014;18:1186-93.
16. Sun X, Zheng M, Song M, Bai R, Cheng S, Xing Y, et al. Ileal interposition reduces blood glucose levels and decreases insulin resistance in a Type 2 diabetes mellitus animal model by up-regulating glucagon-like peptide-1 and its receptor. *Int J Clin Exp Pathol*. 2014;7:4136-42.
17. Buchwald H, Dorman RB, Rasmus NF, Michalek VN, Landvik NM, Ikramuddin S. Effects on GLP-1, PYY, and leptin by direct stimulation of terminal ileum and cecum in humans: implications for ileal transposition. *Surg Obes Relat Dis*. 2014;7:4136-42.
18. Moreno A, Falckenheiner J, Bancalero J, Camacho A, Prada JA, Pérez G. The main participation of the enterohormone GLP-1 after bariatric surgery. *Minerva Chir*. 2018;74:7-13.
19. Fiorucci S, Distrutti E. Bile acid-activated receptors, intestinal microbiota, and the treatment of metabolic disorders. *Trends Mol Med*. 2015;21:702-14.
20. Kaska L, Sledzinski T, Chomiczewska A, Dettlaff-Pokora A, Swierczynski J. Improved glucose metabolism following bariatric surgery is associated with increased circulating bile acid concentrations and remodeling of the gut microbiome. *World J Gastroenterol*. 2016;22:8698-719.

No part of this publication may be reproduced or photocopying without the prior written permission of the publisher. © Permanyer 2020

CAPÍTULO 9. ACTIVIDAD CIENTÍFICA

1.2. GLP-1 mediated improvement of the glucose tolerance in the T2DM GK rat model after massive jejunal resection. Annals of Anatomy 2019 Jan 23. DOI: 10.1016/j.aanat.2019.01.007



Contents lists available at ScienceDirect

Annals of Anatomy

journal homepage: www.elsevier.com/locate/aanat



RESEARCH ARTICLE

GLP-1 mediated improvement of the glucose tolerance in the T2DM GK rat model after massive jejunal resection

J. Arturo Prada-Oliveira^{d,*}, Alonso Camacho-Ramirez^a, Jesús Salas-Alvarez^a, Francisco Javier Campos-Martinez^a, Alfonso M. Lechuga-Sancho^b, David Almorza-Gomar^e, Manuel Blandino-Rosano^c, Gonzalo M. Perez-Arana^{d,*}

^a Surgery Unit, Puerto Real Hospital, University of Cádiz, Spain

^b Department of Pediatric and Maternal Health and Radiology, Pediatric Endocrinology, Puerta del Mar Hospital, University of Cádiz, Spain

^c Department of Endocrinology, Diabetes and Metabolism Division, Miller School of Medicine, University of Miami, United States

^d Department of Human Anatomy and Embryology, Faculty of Medicine, University of Cádiz

^e Department of Operative Statistic and Research, University of Cádiz, Spain



ARTICLE INFO

Article history:

Received 6 July 2018

Received in revised form 4 January 2019

Accepted 23 January 2019

Keywords:

GLP-1

Enterohormones

type 2 Diabetes mellitus

Malabsorption Syndromes

Insulin-Secreting Cells

ABSTRACT

Objective: The aim of this study was to clarify the role of the middle gut in the entero-pancreatic axis modification that leads to glucose improvement in the Goto-Kakizaki (GK) rat as a non-obese T2DM model.

Background: Bariatric surgery is considered an assured solution for type 2 Diabetes (T2DM). Enterohormones such as ghrelin, gastric inhibitory polypeptide and mainly glucagon-like peptide-1 (GLP-1) were recognized as key players in the physiopathological mechanisms associated with entero-pancreatic axis regulation and glucose tolerance improvement. However, the influence of anatomical arrangements post-bariatric surgery on this axis is still debatable.

Method: To this purpose, 50% of small intestine resections were performed on GK rats (n=6), preserving the proximal half of the jejunum and the ileum (IR50). Phenotypic and functional changes, such as performance in oral glucose tolerance tests, ileal release of GLP-1, beta-cell sensitivity to GLP-1, beta-cell mass, and turnover were characterized in IR50 and the surgical control group (Sham).

Results: The glucose tolerance was improved and ileal release of GLP-1 was enhanced four weeks after IR50 versus the control group rats. Beta-cell mass, beta-cell proliferation, and beta-cell sensitivity to GLP-1 were also increased in the pancreas of IR50 versus the control group rats.

Conclusion: the jejunal exclusion increases beta-cell-mass and improves glucose tolerance by increasing in GLP-1 expression and number of receptors via the entero-pancreatic axis.

© 2019 Elsevier GmbH. All rights reserved.

1. Introduction

Obesity is a major public health problem in Western societies due to treatment costs, long-term effects on health, and high prevalence. An important obesity-associated pathology is Type 2 Diabetes (T2DM), characterized by a beta-cell failure along with peripheral and hepatic insulin resistance. The prevalence of T2DM has been estimated to affect 5–10% of the population, although trending upwards globally, especially in young people (Wild et al. 2004).

Since the 1990s many authors have reported the effects of bariatric surgery on glucose control in T2DM subjects, with 70 to 90% of patients remaining euglycemic without pharmacological treatment for several years after the procedure (Pories et al., 1995; Smith et al. 1996). Many authors have suggested a relationship between digestive tract modification and glucose homeostasis as one of the main mechanisms implied in this euglycemic status (Alejandro et al. 2015). Many hypotheses were presented to explain these effects.

Some hypotheses focused on the gastrointestinal (GI) hormone suggesting that the functions of one or more GI hormones (e.g. GLP-1, GIP, PYY, Ghrelin, etc.) could be fundamental factors. Surgical techniques have altered the normal disposition of the intestinal tube. As a result of these surgeries, the normal flow and absorption of nutrients were altered in the different portion of intestine (Baggio & Drucker, 2007; Cummings and Shannon 2003). These

* Corresponding authors at: Department of Human Anatomy and Embryology, Faculty of Medicine, Plaza Fragela s/n, University of Cádiz, Cádiz, 11003, Spain.
E-mail address: arturo.prada@uca.es (J.A. Prada-Oliveira).

¹ Both authors are equally co-responsible of the corresponding authority.

CAPÍTULO 9. ACTIVIDAD CIENTÍFICA

2

J.A. Prada-Oliveira, A. Camacho-Ramirez, J. Salas-Alvarez, et al. / *Annals of Anatomy* 223 (2019) 1–7

changes in the intestinal mucosae would change the secretion pattern of the hormones (Batterham, 2016; Rubino 2008; Youssef et al. 2014).

Other hypotheses focused on the potential role of biliary acids (BA) in regulating hepatic glucose (Penney et al. 2015), or on the existence of a control for a brain-gut-nervous system axis. In this axis, some gut-derived enterohormones could act as regulators of the central nervous system through a feedback mechanism of hepatic glucose production (Wang et al. 2008; Breen et al. 2012).

Nevertheless, the secretion of GI hormones, such as GIP, Ghrelin, or GLP-1, seems to be involved directly or indirectly in the anti-diabetic effects of bariatric surgery. Focusing on GLP-1, it is known that this hormone has the capacity to induce β -cell proliferation in rodents (Drucker, 2003) and improves hepatic insulin sensitivity in mice after bariatric/metabolic surgery (Garibay et al. 2016). Although, these results have not always been reproduced employing Roux-en-Y Gastric Bypass (RYGB) or Sleeve gastrectomy (SG) techniques (Mokadem et al. 2013; Chambers et al. 2014). It is therefore difficult to discern which part of glucose tolerance improvement is due to enhanced GLP-1 secretion and which one is not, especially because these surgeries affect different anatomical elements.

In the present study we used a surgical experimental technique on a non-obese diabetic animal model as the Goto-Kakizaki rat (GK), which exclusively affects the gut but not the stomach. We conducted a resection of 50% of the small intestine with the aim to determine the role of GLP-1 in improving glucose tolerance. We then analyzed the effect of such resection on GLP-1 secretion in ileum, GLP-1 pancreatic β -cell sensitivity, and β -cell population turnover. Thus, our purpose was to confirm the relationship between the changes in the intestinal GLP-1 release and pancreatic sensitivity, as a possible consequence of the entero-pancreatic axis.

2. Material and methods

2.1. Animals

All animal procedures were performed with the approval of the University of Cadiz Committee for the Ethical Use and Care of Experimental Animals. This Committee controlled the procedures were performed in accordance with international relevant guidelines and regulations for animal welfare. The animals proceeded by the Animal Service and Production Unit (SEPA, at the University of Cádiz). The twelve male Goto-Kakizaki (GK) rats were randomly distributed to sham and IR50 surgical groups ($n = 6$). Animals were kept under constant temperature and humidity conditions in a 12-hour light/dark cycle, with ad libitum access to regular chow and water. GK rats weighed 220 g to 250 g when the surgical protocol was performed. Female rats were not used to avoid the cyclic variations of gonadotropins and its effect on the glycaemic metabolism.

2.2. Weight Gain and Food Intake - Basal Glycaemia

To evaluate the effect of the surgery on animals, we monitored several variables. The weight gain and food ingested were quantified daily after surgery and every 48 h from the second week until sacrifice. Once a day, after surgery until sacrifice, basal glycaemia was measured with a glucometer (Glucocard G-Meter 1810, Menarini diagnostics, Italy) and expressed in milligrams of glucose/deciliter of blood.

2.3. Oral Glucose Tolerance Test (OGTT)

A blood sample of 0.5 ml was collected from the tail vein of each animal after an overnight 12 hour fast to obtain basal glycaemia. Through an orogastric tube, a 40% glucose solution (2 gr/Kg body

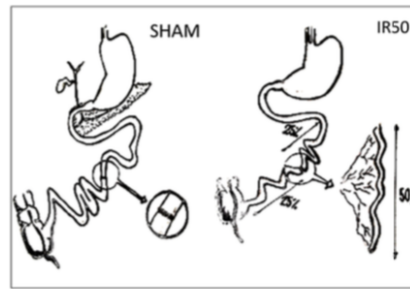


Image 1. XXX.

weight) was administered. The glycaemia was monitored by blood sampling from the tail vein at 15, 30, 60 and 120 minutes after glucose administration. We realized the OGTT four weeks after the surgical procedure.

2.4. Surgical Interventions and Fasting Periods

Both experimental groups underwent identical preoperative and postoperative conditions, with a 12 h fast pre and post-surgical procedure. All surgical procedures were performed under anesthesia by continuous infusion of Isoflurane 3% V/V (Isoflo, Abbott 571329.8). Finally, they went through a re-adaptation period after surgery to normalize fasting.

The surgical IR50 group ($n = 6$) was performed in the following steps. Firstly, a 3 cm laparotomy was performed in the midline of the abdomen, and through the incision we identified Treitz's angle and the ileocecal valve as anatomical references. The bowel between these points was exposed and measured. We made a resection of the central 50%, followed by an end-to-end anastomosis with 4-0 monoplane suture (polypropylene, Ethicon Prolene), leaving the proximal half of the jejunum and most of the ileum (Image 1). Finally, the abdominal wall was closed in one layer. The control group ($n = 6$) followed the sham procedure. After measuring the gut, a transversal enterotomy section followed by an end-to-end anastomosis without intestinal resection was done.

2.5. Tissue Preparation

Five weeks after the surgical intervention, animals were sacrificed by an Isoflurane inhalation overdose. Pancreas and gut portions were perfused with Bouin's solution. After this, the pancreas and ileum were resected, weighed (precision scale Ohaus Pioneer Mod PA 3102), and post-fixed in Bouin's solution for 24 h at 4 °C. The fixed pieces were dehydrated, paraffin embedded, and 10 μ m microtome sections were obtained.

2.6. Beta-cell Mass Quantification

To calculate β -cell mass, insulin producing cells were stained using a monoclonal mouse anti-insulin antibody (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) and a secondary peroxidase conjugated goat anti-mouse IgG antibody (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), and then revealed with solution of 0.3 mg/ml of 3,3'-Diaminobenzidine.

The insulin-positive areas were measured by using Image J image analysis software. Those who performed the measurements in all immunohistochemical techniques were not aware of which experimental group the samples belonged to. Beta-cell mass was measured Insulin + area/total pancreatic area ratio by the total pan-

CAPÍTULO 9. ACTIVIDAD CIENTÍFICA

J.A. Prada-Oliveira, A. Camacho-Ramirez, J. Salas-Alvarez, et al. / *Annals of Anatomy* 223 (2019) 1–7

3

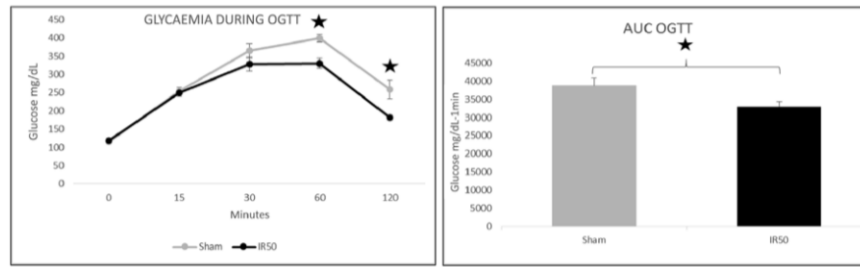


Fig. 1. A. Oral glucose tolerance test (OGTT). Glycaemia was represented in the Y-axis as glucose mg/dl (mean±SEM) in both experimental groups along time, represented in minutes in the X-axis. * $P \leq 0.05$. B. The area under curve (AUC) of the graph showed statistical differences in glucose tolerance between groups. Blood glucose levels showed significant differences between Sham and IR50 at minute 60 and 120 of the OGTT.

creas weight, expressed in mg. Islet and insulin positive areas were quantified at 20 islets/per sample in two sample/per pancreas separated for 100 μ m.

2.7. Apoptosis Assays

To determine β -cell apoptosis, 10 μ m tissue sections from each pancreas were mounted on microscope slides and rehydrated with graded ethanol to PBS. The Dead End Fluorometric Terminal Deoxynucleotidyl-Transferase-mediated 2'-deoxyuridine 5'-Triphosphate nick end Labelling (TUNEL) system (Promega, Madison, WI, USA) was used to identify apoptotic cells, and the procedure was performed following the manufacturer's instructions. Insulin was simultaneously counterstained using polyclonal mouse anti-insulin antibody (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO USA) incubated overnight at 4 °C, and then stained with a secondary anti-mouse IgG conjugated antibody (Alexa 546) (Molecular Probes Inc. Eugene, USA). To determine the apoptotic fraction, TUNEL+/Insulin+ cells and islet areas were quantified in 20 islets/per sample, in two samples/per pancreas (TUNEL+/insulin+ cells/mm² of islet). We used the image analysis Cell D software (Olympus, Hamburg, Germany). Negative samples were carried out as controls to ensure the immunohistochemical techniques. Positive controls were carried out in neural tissue samples of hypoxic rat.

2.8. Proliferation Assays

Proliferation was assessed by double immunostaining, using polyclonal rabbit anti-Ki67 (Abcam, Cambridge, CB4 OFL UK) and monoclonal mouse anti-insulin (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO USA) antibodies. Sections were stained using anti-rabbit IgG Alexa 488 and anti-mouse IgG Alexa 546 conjugated antibodies (Molecular Probes Inc Eugene, USA). The proliferation ratio was quantified in 40 islets/per animal. Results were expressed as the number of Ki67+/Insulin+ cells/mm² per area of pancreatic islets, using Cell D for image analysis.

2.9. Neogenesis Study

PDX-1 expression was used as a neogenesis marker. We retrieved sections heated in citrate buffer pH 6.7 solution for 10 minutes. Samples were stained with monoclonal rabbit anti-PDX-1 antibody (Abcam, Cambridge, CB4 OFL UK). The we used a secondary biotin conjugated anti-rabbit IgG antibody (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO USA), and finally revealed with a solution of 0.3 mg/ml of 3,3'-Diaminobenzine. Results were observed qualita-

tively in 12 pancreatic areas/per animal group as number of PDX-1 positive cells/mm² of pancreas area.

2.10. Ileal GLP-1 Release

GLP-1 production in ileum was analyzed by immunostaining using rabbit anti GLP-1 (Abcam, Cambridge, CB4 OFL UK) antibodies. To determine GLP-1 positive cell fraction, the number of GLP-1 positive cells and ileum total areas were quantified in 10 fields per animal. Results were noted by a single investigator and expressed as the number of GLP-1 positive cells/mm² of ileum.

2.11. GLP-1 Receptor beta-cell Sensitivity

Beta-cell sensitivity to GLP-1 in pancreas was assessed by double immunostaining, using polyclonal rabbit anti-GLP-1 receptor (Abcam, Cambridge, CB4 OFL UK) and monoclonal mouse anti-insulin (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) antibodies. Sections were stained using anti-rabbit IgG Alexa 488 and anti-mouse IgG Alexa 546 conjugated antibodies (Molecular Probes Inc Eugene, USA). The proliferation ratio was quantified in 40 islets/per animal. The results were expressed as the ratio of GLP-1 r+/Insulin+ cells/mm² of islet area between both groups. We used the image analysis Cell D software (Olympus, Hamburg, Germany).

2.12. Statistical Analysis

Data were expressed as mean ±SEM. Mann Whitney-U test was used to analyze differences between groups, and $p \leq 0.05$ was considered statistically significant. All statistical analyses were performed using SPSS statistical software.

3. RESULTS

3.1. Weight gaining, chow intake and basal glycaemia

Both groups of animal did not appear significant differences in these phenotypic parameters. Weight gain showed a decreased pattern from the first to the seventh day. It was probably due to surgical stress in both groups. After surgery until sacrifice, the difference of measured weight between both groups was fewer than 5%. About food intake, no significant differences were observed between Sham and IR50 groups along the study. Even both groups displayed a trend to increase slowly the volume of intake with a similar pattern. Both groups reached a usual daily intake at the end of the study.

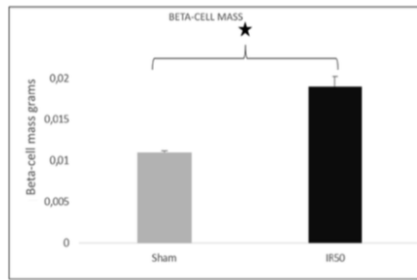


Fig. 2. β -cell mass was represented in the Y-axis in grams for both experimental groups as means values \pm SEM expressed in grams. * $P < 0.05$. Enhanced β -cell mass appeared in IR50 group (0.019 \pm 0.0001 vs. 0.011 \pm 0.0012 grams in Sham).

The basal glycaemia test, measured weekly along the survey period, represented no significant differences between Sham and IR50 groups along the study. Meanwhile, the diabetic status of GK rats was slightly reduced in the Sham group. The animals in Sham group showed a medium 7–10% lower glycaemia, with a high SEM.

3.2. IR50's effect on body weight and glucose homeostasis

To further characterize glucose homeostasis, we performed an OGTT during the last week before sacrifice. Statistical differences were shown in the final studied points of the OGTT. There were differences in glucose levels at 60 and 120 minutes time-points (Fig. 1A). The area under curve (AUC) for glucose showed significant differences in glucose tolerance between both groups (Fig. 1B).

3.3. Changes on β -cell population

B-cell mass was evaluated four weeks after the surgery in paraffin embedded pancreatic tissue sections using a mouse anti-insulin antibody. This study reported an increase in β -cell mass in the IR50 group compared with Sham group (Fig. 2).

3.4. Effect of IR50 on β -cell turnover

Apoptosis contribution to β -cell mass modification was analyzed. TUNEL and insulin simultaneous staining was used to evaluate the β -cell apoptosis ratio. No significant differences were found between both groups after the surgery.

To evaluate the role of cell proliferation and turnover in the observed β -cell mass increment after the surgery, we quantified the percentage of proliferating insulin positive cells in both groups. Proliferative β -cells were identified as double positive anti-insulin/Ki67 staining (Image 2). A significant increase in Ki67+/insulin+ cell number was found in GK rats with intestinal resection in relation to sham animals (Fig. 3).

Study of PDX-1, as a neogenesis marker, showed no different expression pattern between GK rats with intestinal resection and Sham groups. No increased expression of PDX-1 positive cells was observed in IR50 group in relation to controls.

3.5. IR50 impact on L cells population

L cell population was measured in ileum sections from Sham and IR50 groups after the fourth week after surgery (Fig. 4). L cells were identified by staining with anti-GLP-1 antibody. GLP-1 positive cells were more than double in the IR50 group in relation to the Sham group.

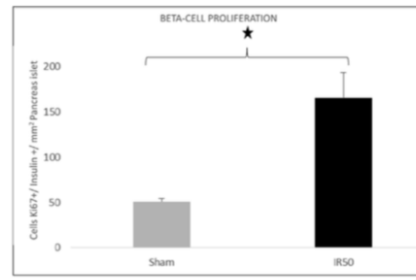


Fig. 3. Proliferating β -cells four weeks after surgery. B-cell proliferation rate was shown as means \pm SEM where the Y-axis represents the number of Ki67+/insulin+ cells per islet area expressed in mm². * $P < 0.05$. Data showed a significant enhancement proliferation ratio in IR50 group compared to surgical controls (50.97 \pm 3.26 vs 165.60 \pm 28.07 Ki67+/insulin+ cells/mm² of islet).

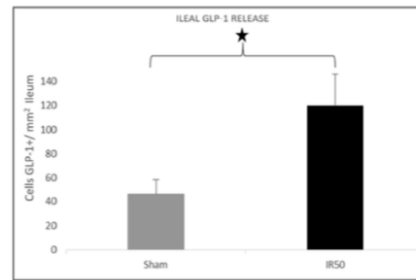


Fig. 4. Number of ileal GLP-1 positive cells is presented as means \pm SEM where the Y-axis represents the number of GLP-1 positive cells per ileum area, expressed in mm². * $P < 0.05$. Ileum from the Sham group presented significantly lower number of GLP-1 positive cells than IR50's (46.33 \pm 11.67 vs. 119.66 \pm 26.60 GLP-1+ cells/mm² of ileum, respectively).

3.6. B-cell sensitivity to GLP-1: expression of membrane receptor

The GLP-1 receptor expressed in β -cells was quantified in the pancreas sections from Sham and IR50 groups four weeks after surgery (Fig. 5). We identified a significant increased a β -cell area which co-labelled with GLP-1 r in the malabsorptive versus Sham group.

4. DISCUSSION

The effect of bariatric surgery on glucose homeostasis improvement is well known. Several hypotheses have been proposed to explain this fact, but the real underlying mechanisms to this improvement remain elusive. Moreover, T2DM remission could have various mechanisms implied. In order to gain insight in these mechanisms, our work used a pathogenic animal model as Goto-Kakizaki rat, which underwent resection of approximately 50% of the total length of the intestine (Collantes-Pérez et al., 2004).

Many authors have focused the explanation to this improvement of T2DM on the participation of different gastrointestinal profile. In this sense, our work might provoke a severe change in the pattern of these hormones related to the massive jejunal portion affected in the surgery. Two main hypotheses focused on diverse interpretations of the portions of the tube that are responsible for functional changes. The Foregut hypothesis, which suggested that

CAPÍTULO 9. ACTIVIDAD CIENTÍFICA

J.A. Prada-Oliveira, A. Camacho-Ramirez, J. Salas-Alvarez, et al. / *Annals of Anatomy* 223 (2019) 1–7

5

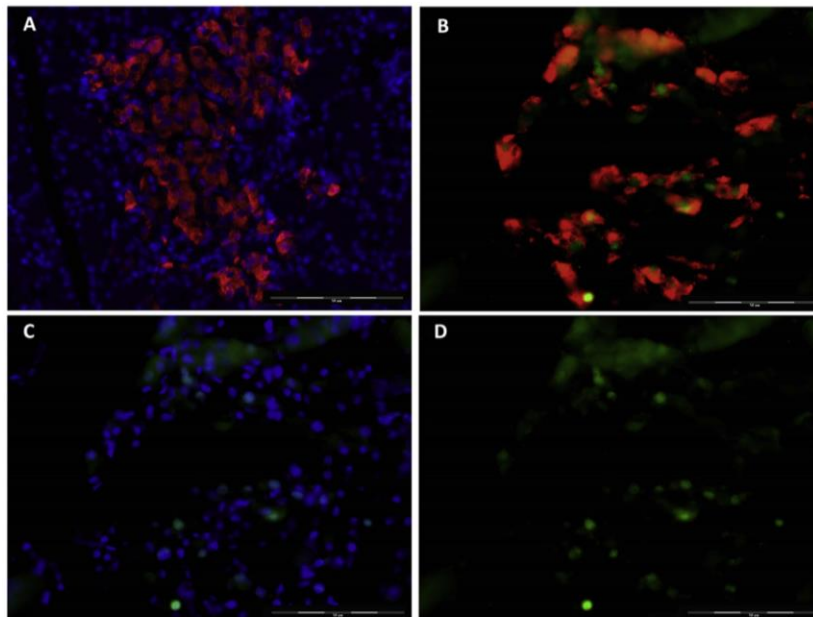


Image 2. A. Control Sham pancreas. The image showed a pancreatic islet, stained the cell nucleus in blue (4'-6-Diamino fenil indol –DAPI-) and colored in red the insulin reserves in β -cells. **B. IR50 surgical pancreas.** An islet showed an irregular aspect and shape; these unusual and non-ovoid aspect is the regular aspect that is used to present the islets pancreas of GK specimens. The image showed Ki67+ (in green) expressed in some insulin+ cells (red). **C. The image B islet.** The image showed Ki67+ (in green) expressed in some cells (nucleus in blue). **D. The image B islet** stained Ki67+ cells (in green) expressed in some cells (nucleus in blue).

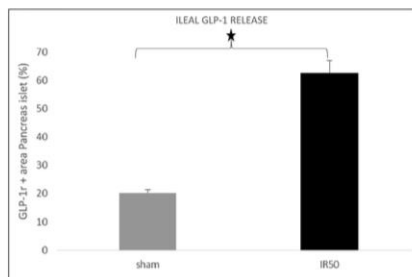


Fig. 5. GLP-1 receptor expression in β -cells was quantified in the pancreas sections from Sham and IR50 groups four weeks after surgery. GLP-1 receptor expression in β -cells was shown in bar graphs as means \pm SEM where the Y-axis represents the GLP-1 r+/insulin+ islet area expressed in percentage. * $P \leq 0.05$. We found a significant increased islet area β -cells co-labelled with GLP-1r- in the IR50 group compared to Sham controls (61.33 \pm 19.16 vs 20.33 \pm 5.23% GLP-1 r+/insulin+ area of islet).

preventing contact of nutrients with the segment of the proximal small intestine, exerts direct antidiabetic effects by an unidentified mechanism (Rubino 2008). On the other hand, the Hindgut hypothesis, which proposed an accentuated GLP-1 release due to delivery of unabsorbed nutrients in the distal gut as antidiabetic stimulus (Youssef et al. 2014). None of these hypotheses comprise our technique, which is related to the middle portion of small bowel.

This malabsorptive surgical technique is not used in humans as a bariatric surgery. There are other variations related to the human clinic (e.g. Scopinaro) which are purely malabsorptive. However, we focused on the participation of jejunum to elucidate the precise role of this portion in the pathophysiological mechanisms of T2DM improvement.

The phenotypic parameters after surgery (basal glycaemia, weight gaining and chow intake) showed that jejunal massive resection was tolerate for animal. These parameters did not express significant differences between both groups. Although the IR50 group showed a regular decrease in the animal weight, due to a maintained malnutrition after surgery. About basal glycaemia, both surgeries can not correct the initial condition of these diabetic animals. Thus, basal glycaemia showed a diabetic status in GK rats. Basal glycaemia were slightly reduced in Sham group, probably due to statistic reasons. The mechanical aggression and malabsorptive consequences in both surgeries did not support other explanations.

We were interested in the consequences on ileum cellularity. Many authors have focused on the enterohormones, which could be related to the physiological consequences of bariatric surgery. There are many involved hormones, but we analyzed according to the cellular secretions throughout many published reports. Some non-named anti-incretin factors secreted in duodenum and jejunum were described in foregut exclusion theory (Rubino 2008; Rao and Kini 2011). These hormones were responsible for the loss of insulin production. The resection of 50% of intestine that we performed did not affect the food transit through the duodenum or proximal jejunum. So, these factors might not be implied in our experience.

CAPÍTULO 9. ACTIVIDAD CIENTÍFICA

6

J.A. Prada-Oliveira, A. Camacho-Ramirez, J. Salas-Alvarez, et al. / *Annals of Anatomy* 223 (2019) 1–7

Secondly, GLP-1, an enterohormone secreted by L cells in ileum, capable of increasing insulin production and β -cell mass as proposed by Hindgut Hypothesis (Rubino and Gagner 2002). The IR50 caused an early traffic of nutrients into distal jejunum and ileum (Tian and Jin 2016). For this reason, we analyzed the GLP-1 expression in ileal samples from IR50 and Sham groups (Fig. 4) and we found an increased number of GLP-1-positive L cells in the ileum of the IR50 group. We believe that an enhanced expression of GLP-1 could be involved in the pathophysiological changes in glucose tolerance observed in our model, according to GLP-1's effects on insulin secretion (Patrick et al. 2002). However, this does not rule out that other agents may also be involved, as the Peptide YY secreted in the ileum too (Khan et al. 2016). Other route can be that GLP-1 is not direct responsible, but only an intermediary in a Neural-Gut-Brain axis (Scarlett and Schwartz 2015).

Then we examined the effect on β -cell population as one of the key elements around the possible pathophysiological changes generated by the surgery. We analyzed β -cell mass in Sham and IR50 groups. The β -cell mass appeared to increase in the IR50 group in relation to the Sham group (Fig. 2). Two possible explanations can be proposed to this phenomenon: an increase on β -cell proliferation in pancreas (Stewart et al. 2015); or the presence of neogenesis in the pancreas that leads to an expansion of β -cell population through differentiation of pancreatic stem cells (Sasaki et al., 2015). This second possibility has been proposed in response to stressful situations of β -cell population (Wu et al., 2013). Our data supports the former and finds no arguments for the latter, since we found an increased β -cell proliferation rate in the IR50 group (Fig. 3), but no significant differences in PDX-1 expression.

Previous studies report an enhanced expression of PDX-1 in pancreas from GK after a RYGB (Li et al. 2015). But, the resection of 50% of the small intestine we performed is a different surgical technique, with different anatomical and physiological implications. Our surgical model had previously been tested in normoglycemic non-obese rats. With similar results we could not find differences in PDX-1 expression either (Camacho-Ramírez et al., 2017).

Besides the finding of an increased cellular synthesis of GLP-1 in the ileum, we investigated a possible difference in β -cells' GLP-1 sensitivity. The GLP-1 contributes to the β -cell population expansion. To this end, we examined the number of β -cells showing GLP-1 receptors in both groups. We found an increased in the GLP-1 r in the islets of IR50 group compared to Sham per islet area (Fig. 5). This result was congruent with previous reports in hyperglycemic rats. The diabetic status reduced the GLP-1 receptors in β -cells; and successively the glycemic correction increased these receptors in response to GLP-1 serum increase (Xu et al. 2007).

All these findings in our model suggest a complex scenario. The resection of 50% of the small intestine was related to a significant β -cell expansion, an increased expression of GLP-1 in ileum and increased levels of β -cells with GLP-1 receptors (which could be a sign of increased GLP-1 sensitivity). Nevertheless many studies support a GLP-1-independent improvement of glycaemia in mice with GLP-1 functional deletion (Rubino 2008) or GLP-1 receptor-null mice (Chambers et al. 2014) after bariatric surgeries as the SG or RYGB. However, these two techniques affect the stomach but do not exclude the jejunum. This difference suggested a physiopathological mechanism mediated by factors located at the jejunum in our model. Moreover, a recent study with Duodenal-jejunal bypass also found an improvement in diabetes control and increased L-cell expression in ileum of rats through increasing serum bile acids (Kashihara et al., 2015).

Regarding a possible mechanism to induce an increase of GLP-1 sensitivity in β -cell population, peptide YY (PYY) -also secreted by L cells of ileum-, could be related. PYY has been recently reported as a regulatory peptide of metabolism from isolate mouse islets. This hormone was able to control islet adaptations to insulin

deficiency/resistance through membrane receptor modifications among other mechanisms (Khan et al. 2016). A rise of PYY plasma concentrations after RYGB was documented in patients (Chronaou et al. 2012). These facts lead us to think about PYY as the possible element to induce GLP-1 receptor overexpression in β -cell population after the massive resection of 50% of the small intestine. Even though, a direct effect of GLP-1 on the β -cells can not be discarded, as other authors reported in isolated treated islet (Xu et al. 2007).

Step by step, the physiopathological mechanisms and the controversial role of GLP-1 on diabetes improvement after bariatric surgery are being elucidated. In this way, the present study notes the important role of ileal GLP-1 production on the increased pancreatic β -cell mass -due to proliferation processes-, after resection of 50% of the small intestine. In addition, our data supports the importance of jejunum exclusion in the improvement of type 2 diabetes after bariatric surgery.

Grant support

This work was partially supported by the Research Vicerrectorado of the University of Cádiz. Ref. 20INPR0484.

Disclosure

The authors declare no conflict of interest. All the authors declare to know and to sign the disclosure and conflict statement. We did not receive payment or services from a third party (government, commercial, private foundation, etc.) for any aspect of the submitted work (limited to grant). We have no financial relationships (regardless of amount of compensation) with entities, which could be related to the aim of the study. We have no patents or manuscript, pending or issued, broadly relevant to this work. There are no other relationships or activities that readers could perceive to have influenced, or that give the appearance of, or potentially influencing, what we have written in the submitted work.

Authors' contribution statement

authors 1 and 7 designed the project and realized the histological techniques; authors 2, 3 and 4, underwent surgical techniques and followed the animal survival period; authors 1, 5 and 7 participated in manuscript elaboration; author 6 analyzed the statistical procedures.

Acknowledgements

The authors desire to thank the laboratory technical assistance of Mrs. Adelia Gramontell Lorenzo and Mrs. Cristina Martín Ateca in the histological processes of the samples. We thank Mr. Jonathan Stuart Arthur-Jimenez for critical discussions on the manuscript and for help in corrections in the text.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary material related to this article can be found, in the online version, at doi:<https://doi.org/10.1016/j.aanat.2019.01.007>.

References

- Alejandro, E.U., Gregg, B., Blandino-Rosano, M., Cras-Méneur, C., Bernal-Mizrachiet, E., 2015. Natural history of β -cell adaptation and failure in type 2 diabetes. *Mol. Aspects. Med.* 42, 19–41.
- Baggio, L.L., Drucker, D.J., 2007. Biology of incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology* 132, 2131–2157.

CAPÍTULO 9. ACTIVIDAD CIENTÍFICA

J.A. Prada-Oliveira, A. Camacho-Ramirez, J. Salas-Alvarez, et al. / *Annals of Anatomy* 223 (2019) 1–7

7

- Batterham, R.L., 2016. Cummings DE. Mechanisms of diabetes improvement following bariatric/metabolic surgery. *Diabetes Care* 39, 893–901, <http://dx.doi.org/10.2337/dc16-0145>.
- Breen, D.M., Rasmussen, B.A., Kokorovic, A., Wang, R., Cheung, G.W., Lam, T.K., 2012. Jejunal nutrient sensing is required for duodenal-jejunal bypass surgery to rapidly lower glucose concentrations in uncontrolled diabetes. *Nat. Med.* 18, 950–955.
- Camacho-Ramírez, A., Blandino-Rosano, M., Segundo-Iglesias, M.C., Lechuga-Sancho, A.M., Aguilar-Diosdado, M., Pérez-Arana, G.M., Prada-Oliveira, J.A., 2017. Bariatric surgery influences β -cell turnover in non-obese rats. *Histol. Histopathol.* 32, 1341–1350, <http://dx.doi.org/10.14670/HH-11-909>.
- Chambers, A.P., Smith, E.P., Begg, D.P., Grayson, B.E., Sisley, S., Greer, T., 2014. Regulation of gastric emptying rate and its role in nutrient-induced GLP-1 secretion in rats after vertical sleeve gastrectomy. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 306, 424–432.
- Chronaiou, A., Tsoi, M., Kehagias, I., Leotsinidis, M., Kalfarentzos, F., Alexandrides, T.K., 2012. Lower ghrelin levels and exaggerated postprandial peptide-YY, glucagon-like peptide-1, and insulin responses, after gastric fundus resection, in patients undergoing Roux-en-Y gastric bypass: a randomized clinical trial. *Obes Surg.* 11, 1761–1770.
- Collantes-Pérez, J., Prada-Oliveira, J.A., Gomez, C., Vallo, J.J., Verastegui, C., 2004. A useful experimental model of short bowel syndrome. *J. Invest. Surg.* 17, 1–6.
- Cummings, D.E., Shannon, M.H., 2003. Ghrelin and gastric bypass: is there a hormonal contribution to surgical weight loss? *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 88, 2999–3002.
- Drucker, D.J., 2003. Glucagon-like peptide 1 and the islet. β -cell: augmentation of cell proliferation and inhibition of apoptosis. *Endocrinology* 144, 5145–5148.
- Ganibay, D., McGavigan, A.K., Lee, S.A., Ficorilli, J.V., Cox, A.L., Michael, M.D., 2016. β -Cell glucagon-like peptide-1 receptor contributes to improved glucose tolerance after vertical sleeve gastrectomy. *Endocrinology* 157, 3405–3408.
- Kashihara, H., Shimada, M., Kurita, N., Sato, H., Yoshikawa, K., Higashijima, J., Chikakiyo, M., Nishi, M., Takasu, C., 2015. Duodenal-jejunal bypass improves diabetes and liver steatosis via enhanced glucagon-like peptide-1 elicited by bile acids. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 30, 308–315.
- Khan, D., Vasu, S., Moffett, R.C., Irwin, N., Flatt, P.R., 2016. Islet distribution of Peptide YY and its regulatory role in primary mouse islets and immortalized rodent and human β -cell function and survival. *Mol. Cell Endocrinol.* 436, 102–113.
- Li, Z., Zhang, H.Y., Lu, L.X., Li, D.F., Dai, J.X., Sha, O., Li, W.Q., Bai, Y., Yuan, L., 2015. Roux-en-Y gastric bypass promotes expression of PDX-1 and regeneration of β -cells in Goto-Kakizaki rats. *World J. Gastroenterol.* 16, 2244–2251.
- Mokadem, M., Zechner, J.F., Margolskee, R.F., Drucker, D.J., Aguirre, V., 2013. Effects of Roux-en-Y gastric bypass on energy and glucose homeostasis are preserved in two mouse models of functional glucagon-like peptide-1 deficiency. *Mol. Metab.* 3, 191–201.
- Penney, N.C., Kinross, J., Newton, R.C., Purkayastha, S., 2015. The role of bile acids in reducing the metabolic complications of obesity after bariatric surgery: a systematic review. *Int. J. Obes.* 39, 1565–1574.
- Pories, W.J., Swanson, M., McDonald, K.G., 1995. Who would have thought it? An operation proves to be the most effective therapy for adult onset diabetes mellitus. *Ann. Surg.* 222, 339–350.
- Rao, R.S., Kini, S., 2011. GIP and bariatric surgery. *Obes. Surg.* 21, 244–252.
- Rubino, F., Gagner, M., 2002. Potential of surgery for curing type 2 diabetes mellitus. *Ann. Surg.* 236, 554–559.
- Rubino, F., 2008. Is type 2 diabetes an operable intestinal disease? A provocative yet reasonable hypothesis. *Diabetes Care* 31, 290–296.
- Sasaki, S., Miyatsuka, T., Matsuoka, T.A., Takahara, M., Yamamoto, Y., Yasuda, T., Kaneto, H., Fujitani, Y., German, M.S., Akiyama, H., Watada, H., Shimomura, I., 2015. Activation of GLP-1 and gastrin signalling induces in vivo reprogramming of pancreatic exocrine cells into β -cells in mice. *Diabetologia* 58, 2582–2591.
- Scarlett, J.M., Schwartz, M.W., 2015. Gut-brain mechanisms controlling glucose homeostasis. *Fl000 Prime Rep.* 7, 12.
- Smith, S.C., Edwards, C.B., Goodman, G.N., 1996. Changes in diabetic management after Roux-en-Y gastric bypass. *Obes. Surg.* 6, 345–348, <http://dx.doi.org/10.1381/096089296765556674>.
- Stewart, A.F., Hussain, M.A., García-Ocaña, A., Vasavada, R.C., Bhushan, A., Bernal-Mizrachi, E., Kulkarni, R.N., 2015. Human β -cell proliferation and intracellular signaling: part 3. *Diabetes* (64), 1872–1885.
- Tian, L., Jin, T., 2016. The incretin hormone GLP-1 and mechanisms underlying its secretion. *J. Diabetes* (8), 753–765, <http://dx.doi.org/10.1111/1753-0407.12439>.
- Wang, P.Y., Caspi, L., Lam, C.K., Chari, M., Li, X., Light, P.E., 2008. Upper intestinal lipids trigger a gut-brain-liver axis to regulate glucose production. *Nature* 452, 1012–1016.
- Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R., King, H., 2004. Global prevalence of diabetes estimated for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 27, 1047–1053.
- Wu, F., Guo, L., Jakubowski, A., Su, L., Li, W.C., Bonner-Weir, S., Burkly, L.C., 2013. TNF-like weak inducer of apoptosis (TWEAK) promotes β -cell neogenesis from pancreatic ductal epithelium in adult mice. *PLoSOne* 8, e72132.
- Xu, G., Kaneto, H., Ross-Laybutt, D., Duvivier-Kali, V.F., Trivedi, N., Suzuma, K., King, G.L., Weir, G.C., Bonner-Weir, S., 2007. Downregulation of GLP-1 and GIP receptor expression by hyperglycemia. Possible contribution to impaired incretin effects in diabetes. *Diabetes* (56), 1551–1558.
- Yousseif, A., Emmanuel, J., Karra, E., Millet, Q., Elkalaawy, M., Jenkinson, A.D., 2014. Differential effects of laparoscopic sleeve gastrectomy and laparoscopic gastric bypass on appetite, circulating acyl-ghrelin, peptide YY3-36 and active GLP-1 levels in non-diabetic humans. *Obes. Surg.* 24, 241–252.