

**UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**DEPARTAMENTO DE HISTOLOGÍA Y ANATOMÍA**  
**DOCTORADO EN ANATOMÍA QUIRÚRGICA Y APLICATIVA**



**TESIS DOCTORAL**  
**CIRUGÍA EXPERIMENTAL DE LA DIABETES MELLITUS TIPO 2**  
**NO ASOCIADA A OBESIDAD.**  
**ESTUDIO DE UNA NUEVA TÉCNICA QUIRÚRGICA.**  
**REPERCUSIÓN EN EL METABOLISMO GLUCÍDICO EN UN MODELO ANIMAL.**

Memoria para optar al grado de doctor presentada por

**LOREA ZUBIAGA TORO**

Bajo la Tutela de los Directores:

*Prof. Francisco Sánchez del Campo*

*Dr. Pablo Enríquez Valens*

SAN JUAN DE ALICANTE

2015



## ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS .....	3
RESUMEN .....	7
LISTADO DE ABREVIATURAS .....	9
INTRODUCCIÓN .....	17
<b>MARCO TEÓRICO</b>	
<b>1. DIABETES MELLITUS .....</b>	<b>Concepto, definición y clasificación .....</b> 27
	<i>Diabetes mellitus tipo 2.....</i> 32
	<i>Epidemiología .....</i> 34
	<i>Criterios diagnósticos según la ADA .....</i> 35
	<i>Fisiopatología .....</i> 39
	<i>Introducción a la ingesta y metabolismo ....</i> 44
	<i>Tratamiento de la DM2 .....</i> 54
<b>2. DINÁMICA CELULAR DEL PÁNCREAS</b>	<i>El páncreas y sus células .....</i> 59
	<i>Desarrollo embrionario del páncreas .....</i> 61
	<i>Dinámica de las células beta .....</i> 66
	<i>Pérdida de la masa celular beta .....</i> 72
	<i>Mecanismos de disfunción celular beta .....</i> 77
	<i>La glucotoxicidad .....</i> 83
<b>3. TÉCNICAS EN CIRUGÍA BARIÁTRICA.</b>	<i>Generalidades .....</i> 87
	<i>Técnicas malabsortivas .....</i> 89
	<i>Técnicas restrictivas .....</i> 90
	<i>Técnicas de componente mixto .....</i> 94
	<i>Técnicas experimentales .....</i> 99
	<i>Técnicas endoscópicas .....</i> 104
<b>4. CIRUGÍA METABÓLICA .....</b>	<i>El síndrome metabólico .....</i> 111
	<i>De la cirugía bariátrica a la metabólica .....</i> 112
	<i>El vínculo Metabólico-quirúrgico .....</i> 119
	<i>Mecanismos de control glucémico .....</i> 122
	<i>Nuevas teorías .....</i> 129

<b>5. MODELO ANIMAL EXPERIMENTAL ...</b>	<i>Modelos Animales de investigación en diabetes.....</i>	141
	<i>Los roedores como modelo experimental ..</i>	144
	<i>Clasificación de los roedores .....</i>	146
	<i>Modelos inducidos versus espontáneos ....</i>	148
	<i>Investigar Cirugía Metabólica en ratas .....</i>	155
	<i>La Rata Goto Kakizaki .....</i>	156
<b>JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO .....</b>		166
<b>HIPÓTESIS .....</b>		189
<b>OBJETIVOS .....</b>		191
<b>MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>Diseño del estudio .....</b>	193
	<b>Intervención quirúrgica .....</b>	215
	<b>Variables a estudio .....</b>	219
	<b>Análisis estadístico .....</b>	245
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>FASE I .....</b>	247
	<b>FASE II .....</b>	
	<b>Variable antropométrica – Peso .....</b>	255
	<b>Variables bioquímicas – Glucemia .....</b>	259
	<b>- Hormonas .....</b>	271
	<b>- TNFa .....</b>	283
	<b>Cortes histológicos .....</b>	286
<b>DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....</b>		297
<b>CONCLUSIONES .....</b>		325
<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>		327
<b>ÍNDICE DE LÁMINAS .....</b>		353

## **AGRADECIMIENTOS**

*A Juan Carlos, mi compañero del camino... Contigo he podido lograr este trabajo, que sin duda es tuyo también. Gracias por haber sabido soportar las horas de insomnio, mis momentos de agobio y mis salidas fuera de lugar. Tu sabiduría y tu paciencia han sido claves en todo momento para poder culminar este trabajo, después de años persiguiendo la meta.*

*Al Dr. Rafael Abad Alonso, mi media naranja en esta tesis, y al que nunca podré agradecerle todo lo que ha hecho por mí. Gracias por tu ayuda, consejos y estímulo. Sin tu apoyo esta tesis no habría visto la luz. Trabajar a tu lado ha demostrado el significado de trabajo en equipo. Horas de sacrificio y paciencia han dado sus frutos. Gracias Rafita.*

*Al Dr. Pablo Enríquez Valens que me alentó para iniciar este proyecto de tesis y ha sido capaz de cerrar el círculo con éxito muchos años después. Tus palabras de aliento me acompañaron en todo momento y siguen estando ahí como un ejemplo de amistad.*

*Al Dr. Francisco Sánchez del Campo por la ayuda recibida en esta tesis y por permitirme llevar este y otros proyectos que hemos realizado en conjunto. Gracias por confiar en mí y por el tiempo y dedicación puestos en cada momento.*

*Al Dr. Manuel Romero Simó, por haberme dado la confianza para progresar en mi desarrollo profesional. Siempre serás mi tutor y espero siempre poder contar con tus oportunos consejos.*

*Al Dr. Jaime Ruiz Tovar por confiar en mí y apoyarme en todo momento en el inicio de una nueva etapa de mi vida profesional. Gracias también por tu inestimable colaboración en la realización del análisis estadístico, y en la interpretación de los resultados. Sin duda alguna tus consejos a la hora de escribir la tesis han sido oportunos y necesarios.*

*A todos los miembros del Servicio de Experimentación Animal de la Universidad Miguel Hernández. Esta tesis se ha llevado a cabo porque*

*hemos tenido un gran equipo apoyando el trabajo de laboratorio. En especial a José Antonio Pérez de Gracia y a Yolanda Miralles. Y por supuesto a Emilio, Paco, Yolanda y Darío. Gracias por abrirnos las puertas de vuestro mundo y por habernos dejado aprender de vosotros, trabajando codo con codo.*

*Al Servicio de Cirugía del Hospital General Universitario de Elche, al Dr. Calpena y a todos sus adjuntos y residentes que me acogieron con especial cariño cuando ingresé en el staff. Gracias por hacer que el venir a trabajar continúe siendo una ilusión y no una obligación. En especial gracias a Pilar, María y Carlos, vosotros habéis dado otro significado a la figura de compañero de trabajo.*

*A Encarnación Aguilar y a Rosa Trigueros una mención especial de agradecimiento. Vuestra profesionalidad y diligencia han hecho que el trabajo de recopilar información fuera más llevadero. Sois un tesoro dentro de las instalaciones de la red de servicios de bibliotecarios de la Consejería de Sanidad de la Generalitat Valenciana.*

*Al Dr. Eduardo Puelles y al Dr. Juan Antonio Vilchez por colaborar en esta investigación en nombre del Instituto de Neurociencias de Alicante y del Laboratorio de Análisis Clínico del Hospital Virgen de Arrixaca.*

*A mis hermanos Maite y Aitor, siempre cerca de mí para ayudarme en todo momento. Y a mis hermanos de la vida Patricia y William, desde la distancia me apoyan consecuentemente. Todos ellos mis paños de lágrimas y mis soles para comprobar que después de la lluvia sale el arco iris.*

*Y gracias de forma especial a mis padres, pilares fundamentales en toda mi educación, tanto académica, como personal. Gracias por haberme apoyado siempre, por vuestros consejos, vuestra paciencia y vuestro estímulo para ser un poco mejor cada día. Ejemplos de amor y de respeto. Este trabajo está dedicado a ti, aita, porque en este mundo me enseñaste a ser constante en el trabajo y a no desfallecer jamás y, desde el otro mundo, me guías y me proteges para que no pierda mi norte.*

## RESUMEN

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ  
PROGRAMA DE DOCTORADO  
ANATOMÍA QUIRÚRGICA Y APLICATIVA

**TÍTULO: CIRUGÍA DE LA DIABETES MELLITUS TIPO 2 NO ASOCIADA A OBESIDAD. ESTUDIO DE UNA NUEVA TÉCNICA QUIRÚRGICA. REPERCUSIÓN EN EL METABOLISMO GLUCÍDICO EN UN MODELO ANIMAL.**

**Antecedentes:** la Diabetes Mellitus Tipo 2 (DM2) representa el 90-95% de todos los casos de diabetes y es una epidemia creciente en el mundo occidental. Tanto su etiología como su fisiopatología son un enigma y ello hace que su tratamiento sea difícil. De hecho las modalidades terapéuticas convencionales sólo logran controlar los niveles glucémicos y ralentizar su progresión, pero la enfermedad sigue su curso con el daño a órganos diana debido a alteraciones en la micro y macrovasculatura. En la década de los noventa empiezan a destacar una serie de trabajos sobre cirugía bariátrica que informan de la mejoría y hasta de remisión de la DM2 en pacientes obesos sometidos a diferentes técnicas quirúrgicas. Hoy en día nadie discute las indicaciones de la cirugía en la DM2 en el paciente obeso. Sin embargo en los últimos años el punto de mira de los estudios se está ampliando a los pacientes no obesos que sufren de DM2. Y en este apartado es donde existe gran controversia y donde todavía hacen falta muchos trabajos de investigación, para establecer conclusiones.

**Objetivo:** evaluar el efecto Exclusión Duodenal sobre el metabolismo glucídico y la pérdida de peso en un modelo animal sin obesidad (rata Goto Kakizaki).

**Materiales y métodos:** se utilizó un modelo experimental animal roedor en dos fases: Fase I para validar técnicamente la cirugía de Exclusión

Duodenal. Esta fase se realizó en rata Wistar. Fase II para evaluar la efectividad de la cirugía en mejorar los parámetros glucídicos, se realizó la cirugía en la rata Goto Kakizaki. En esta última fase se valoraron los cambios en las diferentes variables serológicas implicadas en el metabolismo de la glucosa (Péptido C, insulina, glucagón, Glucemia, PYY, GLP-1 y GIP.) así como cambios a nivel histológico en el páncreas.

**Resultados:** disminución de los niveles de glucemia sin afectar la masa corporal. Regulación de los valores de insulina plasmáticos corrigiendo el estado de hiperinsulinismo característico de la DM2. El GLP-1 mostró aumento de sus concentraciones en las ratas operadas con exclusión duodenal. Histológicamente se evidenció un aumento en el número de islotes de Langerhans que al ser analizados con inmunohistoquímica objetivaron un aumento de células  $\beta$  productoras de insulina.

**Conclusión:** se han obtenido datos que apoyan la teoría de la Exclusión Duodenal como factor relevante para alterar señales en el sistema neuro-entero-insular, que suscitan cambios metabólicos en los sujetos diabéticos no obesos.

**Palabras clave:** *cirugía bariátrica, cirugía metabólica, cirugía de la diabetes.*

**Técnica Quirúrgica Experimental Desarrollada:**

***Exclusión Duodenal a través de bypass gastro-intestinal de una sola anastomosis en asa omega. Preservación de cámara gástrica y con variante de tubo reverso gástrico como elemento anti-reflujo biliar. (De ahora en adelante: Exclusión Duodenal)***



## LISTADO DE ABREVIATURAS

- › AA: Asa alimentaria.
- › AB: Asa biliopancreática (o aferente)
- › AC: Asa común (o eferente)
- › Ac: anticuerpo.
- › ADA: Asociación Americana de Diabetes.
- › ADN: Ácido desoxi-ribonucleico.
- › ADVANCE: Action in Diabetes and Vascular Disease Evaluation Trial.
- › Ag: antígeno.
- › AGL: ácidos grasos libres.
- › AMPc: Monofosfato de adenosina cíclico.
- › Apo A: Apolipoproteína A – cadena peptídica asociada al metabolismo graso.
- › ARN: Ácido ribonucleico.
- › ARNm: ARN mensajero.
- › ATP: Adenosin trifosfato
- › BAGUA: Bypass Gástrico de una sola anastomosis.
- › BG: Bypass gástrico.
- › Células  $\beta$ : células  $\beta$  pancreáticas productora de insulina.
- › CD: Cruce duodenal.
- › CEL: lipasa carboxilo-éster
- › DBP: Derivación biliopancreática.
- › DDCT: Diabetes Control and Complication Trial.
- › DJB: duodeno-yeyuno bypass +/- gastrectomía. Cirugía experimental de la DM2
- › DM: Diabetes mellitus. DM1 – tipo 1; DM2 – tipo 2.

- › DPPIV Inhibidor de la dipeptidil dipeptidasa IV.
- › E1: día embrionario 1. Cada número sucesivo indica el día de la embriogénesis.
- › EASD: *European Association for the Study of Diabetes*. Asociación Europea para el estudio de la diabetes.
- › EC: enterocromoafines.
- › ECV: Enfermedad Cardiovascular.
- › EF: Estreptavidina-Ficoeritrina.
- › EIA: Enzimoimmunoanálisis.
- › ELISA: *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*. Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas.
- › ERGE: enfermedad por reflujo gastroesofágico.
- › FPIA: Fluoroimmunoanálisis.
- › GAD: anticuerpos contra Glutámico Acético Decarboxilasa.
- › GBA: Glucosa Basal Ayunas.
- › GIP: Polipéptido Inhibidor Gástrico.
- › GJB: *Gastric-Yeyunal Bypass*. Bypass gastroyeyunal con intención de Exclusión Duodenal para tratamiento de la DM2.
- › GK: Goto Kakizaki, modelo de rata diabética tipo 2, no obesa.
- › GLUT: receptores transportadores de glucosa en las células. Los hay de diferentes tipos. Los más conocidos el Glut 2 en la célula  $\beta$  y el Glut 4 en el músculo.
- › GPL-1: Péptido similar al Glucagón.
- › GTP: Gastroplastia Tubular Plicada.
- › GV: Gastrectomía vertical.
- › GVL: Gastrectomía vertical laparoscópica.
- › g/dl: gramos/decilitro.

- › HbA1c: hemoglobina glucosilada.
- › HDL: lipoproteínas de alta densidad. Fracción del colesterol de efecto beneficioso.
- › HE: Hematoxilina-eosina.
- › HNF-1 $\alpha$ : factor de transcripción nuclear hepático 1 $\alpha$  o transcripción del hepatocito- 1 (TCF1).
- › HNF-4 $\alpha$ : factor de transcripción nuclear hepático 4 $\alpha$
- › HLA: *Human leukocyte antigen*. Antígenos leucocitarios humanos.
- › HOMA: *Homeostatic model assessment*. Modelo para calcular la reserva de células  $\beta$ , según índices de insulina funcionante.
- › IBSR: *International Bariatric Surgical Registry*. Registro Internacional de Cirugía Bariátrica.
- › IA2: Anticuerpo contra tirosina fosfatasa pancreática.
- › IAA: anticuerpos anti-insulina.
- › IAPP: precursor de amilina, proteína similar a la insulina.
- › IC: Intervalo de Confianza.
- › ICA: anticuerpos anti-células de los islotes pancreáticos.
- › IECA: Inhibidor de la Enzima Convertidora de Angiotensina.
- › IFD: *International Federation of Diabetes*. Federación Internacional de Diabetes.
- › IGF: Factor de crecimiento insulínico.
- › IL: Interleukina. Mediador inflamatorio. Dependiendo del número, se relaciona con un tejido diferente. Las más comunes: IL-1 y IL-6.
- › IMC: Índice de masa corporal.
- › RI: insulinoresistencia.
- › ITG: intolerancia a la Glucosa.

- › K+: Potasio.
- › Kcal: Kilocalorías.
- › KLF11: factor Kruppel-11 implicado en la activación del promotor de la insulina.
- › Kg: Kilogramo.
- › LADA: *Latent Autoimmune Diabetes in Adult*. Diabetes Autoinmune Latente del Adulto.
- › LDL: *Low density lipoprotein*. Lipoproteína de baja densidad. Fracción del colesterol de efecto altamente perjudicial. Importante factor de riesgo cardiovascular.
- › M: molar.
- › MAfa-MAfb: factores de transcripción en el desarrollo de células pancreáticas. Sus siglas vienen del concepto Musculoaponeurotic Fibrosarcoma oncogene family A o B.
- › mEq/l: miliequivalentes por litro
- › mg: miligramos.
- › MBG: minibypass Gástrico.
- › mg/cm<sup>2</sup>: miligramos por centímetro al cuadrado.
- › mg/dl: miligramos por decilitro.
- › min: minuto.
- › ml: mililitro.
- › mm: milímetro.
- › mmHg: milímetros de mercurio.
- › mmol: milimol.
- › MO: Microscopio Óptico.
- › mol: molar.

- › MODY: *Maturity Onset Diabetes of the Young*. Diabetes juvenil del adulto.
- › Na<sup>+</sup>: sodio.
- › NAFLD: *non-alcoholic fatty liver disease*. Enfermedad hepática grasa no asociado a alcohol.
- › NASH: *non-alcoholic steatohepatitis*. Esteatosis hepática no asociada a alcohol.
- › ng/ml: nanogramos por mililitro.
- › ng/dl: nanogramos por decilitro.
- › Ngn 3: neurogenina 3, factor de transcripción de las líneas celulares del páncreas.
- › Nkx6.1: homeodominio que dirige la diferenciación de las células pluripotenciales en las células  $\beta$ .
- › nmol/l: nanomoles por litro.
- › NO: óxido nítrico.
- › NOSO2: óxido nítrico sintetasa en isoforma 2. Enzima que interacciona con el radical libre del óxido nítrico.
- › NPY: neuropéptido Y.
- › Ob/ob: genotipo de ratón modificado genéticamente para desarrollar obesidad.
- › OM: Obesidad mórbida.
- › OMS: Organización Mundial de la Salud.
- › OXM: Oxintomodulina.
- › PAI-1: inhibidor del activador del plasminógeno-1. Favorecedor de la fibrinólisis.
- › PBS: tampón fosfato salino.

- › Pdx1: factor de transcripción para la formación de estructuras en el páncreas y duodeno.
- › PEPP: Porcentaje de Exceso de Peso Perdido.
- › Péptido C: proinsulina.
- › pg/dl: picogramos por decilitro.
- › pg/ml: picogramos por mililitro.
- › POSE - *Primary Obesity Surgery Endoluminal*. Cirugía Bariátrica endoluminal.
- › PP: polipéptido pancreático.
- › PTOG: prueba de tolerancia oral a la glucosa.
- › PYY: Péptido YY – Péptido Tirocin-Tirosina.
- › RE: Retículo Endoplasmático.
- › RI: Resistencia a la Insulina o Insulinorresistencia.
- › RIA: Radioinmunoensayo.
- › rpm: revoluciones por minuto.
- › SADI: *Single Anastomosis Duodeno-Ileal bypass*. Bypass duodeno-ileal de una sola anastomosis.
- › SEA: Servicio de Experimentación Animal de la Universidad Miguel Hernández.
- › SECO: Sociedad Española de Cirugía de la Obesidad.
- › SED: Sociedad Española de Diabetes.
- › SEEDO: Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad.
- › Sem: semana.
- › Sham: individuo con intervención simulada.
- › SM: Síndrome Metabólico.
- › SOG: Sobrecarga Oral de Glucosa.

- › TC: Tomografía computarizada.
- › Tg: triglicéridos.
- › TGR: Tubo gástrico reverso.
- › TI: Trasposición Ileal.
- › TNFa: Factor de necrosis tumoral  $\alpha$ .
- › TXNIP: tioredoxina de interacción. Factor de respuesta inflamatoria en las células  $\beta$  del páncreas.
- › UI: Unidades internacionales.
- › UKPDS: *United Kingdom Prospective Diabetes Study*. Estudio prospectivo sobre la diabetes del Reino Unido.
- › U/L: Unidades por litro.
- › VIP: polipéptido intestinal vasoactivo.
- › VSG: Velocidad de Sedimentación Globular.
- › X: número de lente de visión al microscopio óptico. En este trabajo los más usados fueron: 2X, 4X, 10X y 20X.
- › °C: grados centígrados.
- ›  $\mu$ L: microlitro.
- ›  $\mu$ m: micrómetro.
- › %: Porcentaje.

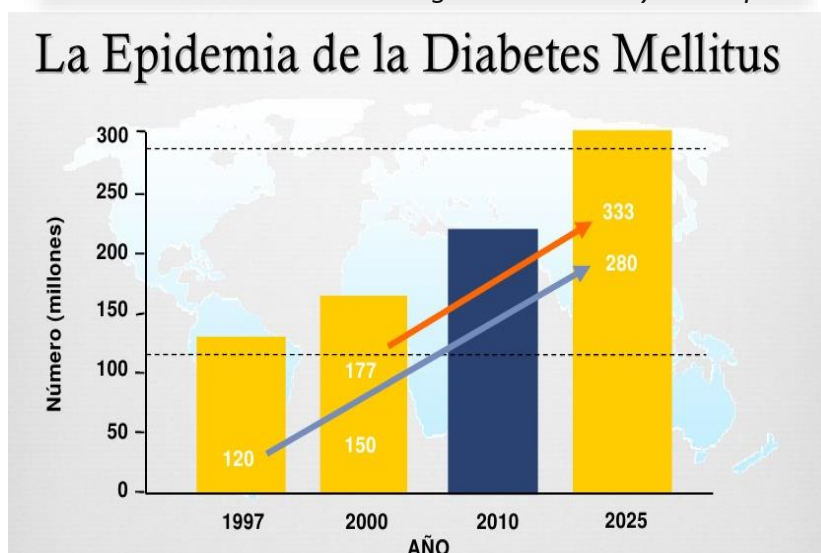




## INTRODUCCIÓN

La incidencia y prevalencia mundial de la Diabetes Mellitus (DM) está aumentando rápidamente y ello se produce en parte por los cambios asociados del estilo de vida en el mundo occidental. Estos cambios se producen probablemente debido a una vida más sedentaria y a una mayor ingesta de alimentos con alta carga energética, las cuales conducen a un estado de obesidad, y bien es conocida la relación entre obesidad y diabetes. (1) En el año 2014, la Federación Internacional de Diabetes (*International Federation of Diabetes –IDF-*) estimó que más de 382 millones de personas conviven con la diabetes en el mundo y que aproximadamente 4,9 millones de personas mueren a causa de la misma.(2) Además 1 de cada 2 personas no conoce que tiene diabetes. Estas estimaciones prevén que para el año 2035 el número de personas diabéticas se incremente a 439 millones, lo que representa el 7.7% de la población adulta del mundo. (Figuras 1 y 2)

Figura 1. Prevalencia Mundial de diabetes según la OMS. Proyección para el año 2025.



Gráfica cortesía de Organización Mundial de la Salud (OMS): Prevalence of diabetes. McCarty & Zimment. 1997. H King et al. 1998.

Específicamente, la Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) representa el 90-95% de todos los casos de diabetes y es una epidemia creciente que supone una grave carga sobre los sistemas sanitarios, especialmente en los países en vías de desarrollo. En 2014 el gasto en diabetes alcanzó los 612.000 millones de dólares, dado que 1 de cada 9 pacientes requiere importantes cuidados sanitarios derivados de esta entidad. El desconocimiento que se tiene aún de su fisiopatología y a la cronicidad de la entidad son elementos que se conjugan para definir a una enfermedad que ataca silenciosa, pero implacablemente a los afectados. Desafortunadamente, las modalidades terapéuticas convencionales solamente logran controlar la diabetes pero no curarla, así como tampoco evitar el daño progresivo en la micro y macrovasculatura, origen de las complicaciones subsiguientes. Así la DM2 constituye la principal causa de ceguera, neuropatía, amputaciones, insuficiencia renal y un factor de riesgo importante para enfermedades cardiovasculares. (2;3) Además, es conocido que si se suspende el tratamiento médico-farmacológico, invariablemente, aumenta la glucosa en plasma y la enfermedad progresa más rápidamente. Todo esto hace que sea prioritario encontrar nuevos enfoques para tratar de comprender esta enfermedad, de la que desconocemos muchos matices, y así poder llegar a combatirla eficazmente.

Aunque no todos los individuos obesos desarrollan DM2 y no todas las personas con DM2 son obesas, es evidente que el actual incremento de la incidencia y prevalencia de la obesidad como entidad patológica, asocia también un aumento en la incidencia de la DM2.(3-5) La resistencia a la insulina (RI) es el factor fundamental en la etiología de la DM2 asociada a la obesidad.

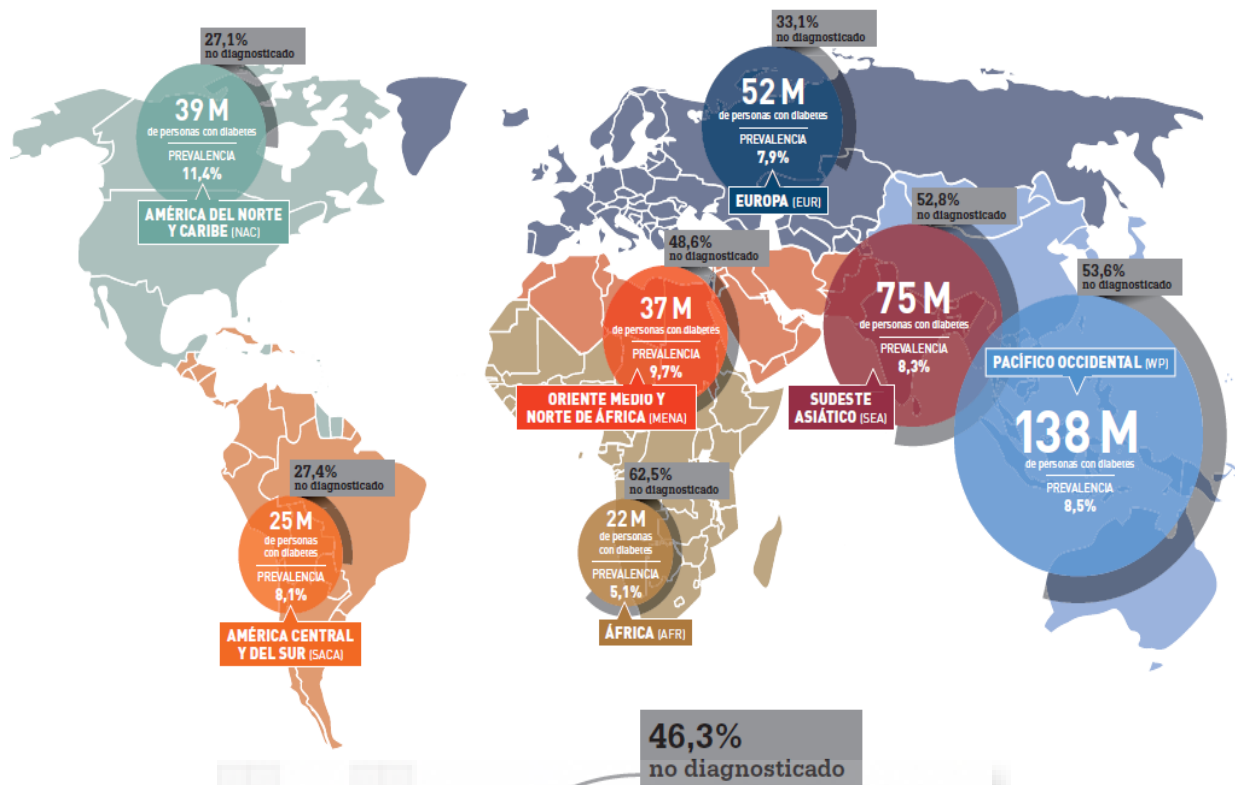


Figura 2. Distribución de la Incidencia y Prevalencia de la Diabetes a nivel Mundial en 2014, según últimas publicaciones de la International Diabetes Federation (IDF).

El tratamiento tradicional de los pacientes con obesidad se basa en un régimen alimentario que condicione una pérdida de peso, pues al reducir el volumen de grasa, se produce una mejora de la RI y por ende de la glucemia. (3;6) No obstante, la restricción calórica es a menudo ineficaz en la sostenibilidad de la pérdida de peso a largo plazo. Es entonces cuando la cirugía bariátrica toma protagonismo. (7)

A lo largo de las últimas décadas diferentes publicaciones (7-9) han demostrado que la cirugía bariátrica es la mejor opción para el tratamiento de la obesidad severa, acompañada de comorbilidades como la hipertensión, la DM2 o dislipidemias. Por tanto, más allá del mero hecho de un Índice de Masa Corporal (IMC) elevado surge el concepto de Síndrome Metabólico (SM.) El SM es una entidad clínica controvertida que se caracteriza por la presencia de RI e hiperinsulinismo compensador

asociados a trastornos del metabolismo hidrocarbonado, cifras elevadas de presión arterial, alteraciones lipídicas (hipertrigliceridemia, descenso del HDL, presencia de LDL tipo B, aumento de ácidos grasos libres y lipemia postprandial) y obesidad.(6) Todos estos factores determinan un incremento de la morbimortalidad de origen aterosclerótico y en resumen eleva el riesgo de ECV. (10) Dado que las "operaciones de la obesidad" se traducen en algo más que la pérdida de peso, es por lo que el concepto de cirugía bariátrica se amplía a cirugía metabólica.(11;12)

Sin embargo, aunque los beneficios de la cirugía metabólica ocurren a varios niveles en el paciente con obesidad mórbida, un fenómeno llamó la atención sobre el resto. Este fenómeno indicaba que la reducción de los niveles de glucemia ocurría a pocos días de la cirugía. Además esta disminución de la glucemia se confirmaba con un reajuste a la baja de las dosis de los medicamentos antidiabéticos en el postoperatorio. Esta situación no podía atribuirse a la pérdida de tejido graso, pues el paciente aún no había manifestado esta pérdida de peso alguna que justificara cambios metabólicos. (13;14) Por lo tanto, la pérdida de peso por sí sola, no podía explicar la mejoría de la diabetes y establecía que deben existir otros mecanismos que justificasen este hecho. Este hecho ha dado pie para plantear el concepto de "Cirugía para la Diabetes". (15)

Desde entonces, varios estudios experimentales (16-18) apuntan al reordenamiento intestinal como un mediador primario de la regularización de la diabetes posterior a cirugía bariátrica. El mecanismo que subyace a este cambio en el curso de la DM2, tras las diferentes opciones de cirugía de la obesidad, se está estudiando intensamente en la última década. De hecho, han aparecido en escena gran número de péptidos y hormonas que se modifican tras la cirugía, que pueden

justificar la mejoría de la diabetes en estos pacientes. No obstante, aún no es posible determinar un fenómeno en particular que pueda explicar esta mejoría.

En parte, la razón de esto radica en que el control de alteraciones del metabolismo de los alimentos sigue siendo un aspecto multifactorial. De ahí que intentar responsabilizar de los cambios a un sólo agente se hace difícil. No obstante, hay aspectos que están tomando cierta relevancia. Así pues, no son pocos los autores que afirman que la base de estos cambios se fundamenta en la exclusión del tránsito de alimentos por el duodeno.(19;20) Al parecer, los cambios que se generan en las secreciones gastrointestinal con la Exclusión Duodenal son los que mejores resultados están aportando (Teoría del “Foregut”.) (11;21) Mejores incluso que aquellos que plantean como fundamento un paso precoz de los alimentos al íleon distal (Teoría del “Hindgut”.) (16) También existen otras tendencias que señalan la influencia nerviosa mediada por el vago y por el eje central hipotálamo-hipofisario, como responsables del efecto hipoglucémico de la cirugía. (22) En tanto, otros estudios señalan otros protagonistas de estos cambios metabólicos, tales como: re-estructuración del eje entero-insular, la importancia del eje adipo-insular, el mecanismo dependiente del eje entero-portal, la alteración en la neoglucogénesis hepática, la microbiota intestinal, etc. Con tantos elementos en juego, es difícil de definir un único responsable.(23;24)

Por otro, lado la participación de las células  $\beta$  del páncreas en el origen, desarrollo y cronicidad de la DM2 es determinante en la génesis y evolución de la enfermedad. Este hecho se hace trascendental, cuando en los conceptos clásicos se establecía que la principal diferencia entre la

diabetes tipo 1 (DM1) y la DM2 era el daño a la célula  $\beta$  característico de la DM1. Sin embargo, con los resultados obtenidos en estudios(25-28) recientes se ha logrado establecer que la DM2 no es sólo un problema de RI o alteración de hormonas gastrointestinales, sino también un problema de la función de la célula  $\beta$ , donde probablemente un factor genético podría activarse impulsado por factores ambientales predominantes en la sociedad actual, como lo es la obesidad o la ingesta elevada de azúcares refinados. Es por ello que la cirugía de la obesidad está proporcionando algunas respuestas y nuevos interrogantes en el estudio de la fisiopatología de la DM2.

Estas nuevas hipótesis sobre la dinámica de las células  $\beta$  nacen de la observación de un fenómeno frecuente en los pacientes operados de cirugía de obesidad. Tras varias décadas de seguimiento, se evidenció que tras cirugía bariátrica muchos de los pacientes pasaban a ser normoglucémicos. No obstante, un grupo reducido de dichos pacientes tendían a la hipoglucemia con el paso de los años. En este grupo, es donde los investigadores están centrando su atención pues interpretan que se haya podido producir alguna regeneración celular y reactivación de la funcionalidad de las células  $\beta$  del páncreas. (29) Así pues el planteamiento actual expone que los niveles mantenidos de normoglucemia en el tiempo, generados tras la cirugía bariátrica, pueden conducir a la recuperación de las células  $\beta$  del páncreas. (29;30)

La mayoría de los trabajos de investigación en esta área suelen basarse en el estudio de la DM2 asociada a la obesidad (pacientes con un IMC mayor de 35 Kg/m<sup>2</sup>.) No obstante, no son pocos los pacientes diabéticos sin obesidad que empiezan a demandar soluciones efectivas más allá de los tratamientos farmacológicos convencionales. Y es que el avance

implacable de la DM2 hace que personas relativamente jóvenes sin sobrepeso se nieguen simplemente a “controlar” la hiperglucemia a sabiendas de que el daño vascular y de los nervios periféricos persiste pese a controles adecuados de la glucemia.(31) En estos pacientes el componente hereditario es mucho más acentuado que el estilo de vida, y en ellos se plantea una nueva batalla contra la DM2. Esta novedosa visión plantea que la reorganización de la anatomía intestinal puede recuperar los niveles de normoglucemia y por ende podrá mejorar la respuesta de las células  $\beta$ .(14)

Por consiguiente, no se puede ignorar la oportunidad que ofrece la cirugía en un momento donde una cura médica no está disponible aún, y la incidencia y prevalencia de la DM2 crecen. Es por ello que sigue siendo fundamental buscar nuevas líneas de investigación. Con la finalidad de dar una respuesta oportuna a estos planteamientos, en marzo de 2007 se organizó la Cumbre de Cirugía para la Diabetes, en Roma.(32) En esta cumbre participaron más de 50 expertos representando a más de 20 importantes sociedades científicas internacionales y ha sido la primera conferencia de consenso multidisciplinar en cirugía digestiva para tratar la DM2. De este evento surgió la declaración de consenso que fue publicada en 2009 y que en España hemos actualizado en un consenso nacional interdisciplinar en 2013. (33) En ambos consensos se dictan todas las directrices para la práctica clínica y para la investigación sobre posibles terapias para la DM2. Después de discutir los datos disponibles en el momento, los expertos en diabetes reconocieron que faltan aún estudios experimentales que avalen la programación de futuros ensayos clínicos.

Sin embargo, debido a que la cirugía es una modalidad terapéutica con potencial de morbi-mortalidad, la elección de una opción quirúrgica para

el tratamiento de la DM2 debe estar basada en una cuidadosa evaluación del riesgo-beneficio. De hecho, hay autores como Salinari, (20) que enfatizan que el objetivo de los estudios sobre una posible cirugía de la diabetes va más allá de establecer una técnica para “curar” la diabetes. Lo que en realidad se busca es obtener más datos acerca de la fisiopatología de la enfermedad. El campo quirúrgico está generando nuevas áreas de conocimiento, ya que con cada nueva técnica restrictiva o de reordenamiento intestinal, se favorecen las investigaciones en el área farmacéutica y de esta manera se abren nuevos caminos para desarrollar medicamentos antidiabéticos más eficaces.

Lo que es evidente es que si la cirugía para el tratamiento de la DM2 en individuos obesos es una indicación claramente establecida, para individuos diabéticos sin obesidad no hay recomendaciones dadas fuera de protocolos experimentales. De hecho, algunos médicos endocrinólogos se han mostrado claramente renuentes a sugerir cirugía en pacientes sin obesidad, al margen de su reserva pancreática o actividad de la insulina, ya que consideran que la cirugía puede resultar en una pérdida excesiva de masa corporal y consecuentes problemas derivados de la desnutrición o el déficit de nutrientes, vitaminas y minerales. Sin embargo, existe evidencia en estudios animales (18) y en algunas series clínicas que los procedimientos como el bypass gástrico no causa una pérdida significativa de masa corporal cuando se realiza en sujetos con IMC y masa corporal normal. No obstante, estas dudas razonables han puesto en marcha el desarrollo de técnicas quirúrgicas para la DM2 que no afecten la masa corporal. Para ello diferentes investigadores alrededor del mundo están tratando de ampliar los rangos de IMC, o tomar en cuenta otras características de los pacientes diabéticos a fin de que puedan incluirse un

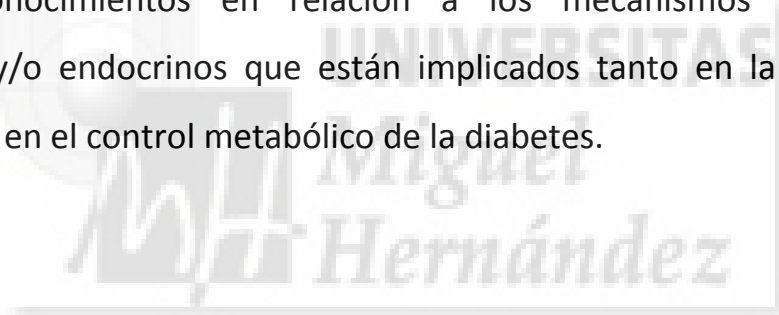


mayor número de candidatos para participar en futuros ensayos clínicos en relación a la cirugía de la diabetes.(34) De hecho, el IMC está dejando de ser un criterio “ideal” para evaluar con precisión el riesgo-beneficio quirúrgico en los pacientes diabéticos, puesto que cualquier punto de corte en el IMC no puede distinguir entre los pacientes a los que la cirugía puede resolver la DM2, de aquellos pacientes en los que la cirugía no sería eficaz para este propósito.(35)

Así mismo, las series clínicas más grandes muestran de forma consistente que los pocos pacientes cuya diabetes no se resuelve, tras cirugía bariátrica, son aquellos que típicamente han padecido la enfermedad durante mucho tiempo (por lo general de 8 a 10 años) y requieren mayor dosis de insulina para mantener el control de la glucemia.(36) Estos hallazgos sugieren que al final la hiperglucemia mantenida en el tiempo desencadena una insuficiencia de las células  $\beta$  del páncreas que es irreversible. En consecuencia, un tratamiento definitivo se debe ofrecer más bien de forma temprana durante el transcurso natural de la enfermedad, a fin de evitar un daño celular que pueda ser irreparable. Por lo tanto, la evaluación de la reserva pancreática de células  $\beta$  puede ser más apropiada que cualquier corte de IMC para predecir el control efectivo de la cirugía de la diabetes. (37)

Otro tema adicional que plantear, es el tópico de cuál sería la técnica más eficaz para el control metabólico. Y en este punto es probable que una futura cirugía de la diabetes herede la variabilidad de la cirugía bariátrica de la cual se deriva. Es evidente que existen una gran número de técnicas quirúrgicas para el tratamiento de la obesidad que giran alrededor de los tres grupos principales de efectos (restrictivas, malabsortivas y mixtas).(38) Al margen de la efectividad de cada técnica, esta diversidad

viene a demostrar que aún no se han podido aclarar los fundamentos fisiopatológicos de los cambios metabólicos que las variantes anatómicas suscitan. De ahí que sea especialmente complejo decidir cuál es la técnica “más adecuada”. Durante años, el “Gold” Estándar de la cirugía bariátrica fue el bypass gástrico.(13) Pero en la actualidad no es la cirugía más practicada en el mundo, ya que ha sido desbancada por la Gastrectomía Vertical. Sin embargo, los resultados metabólicos de una y otra son diferentes. (39) Escoger una u otra cirugía es una decisión que aún al día de hoy es cirujano-dependiente. Sin embargo, para la evolución de la ciencia la investigación en cirugía debe ir más allá de salvar las dificultades técnicas de un determinado proceso quirúrgico, también debe aportar nuevos conocimientos en relación a los mecanismos intestinales, nerviosos y/o endocrinos que están implicados tanto en la pérdida de peso como en el control metabólico de la diabetes.



## DIABETES MELLITUS

### **1. CONCEPTO, DEFINICIÓN Y CLASIFICACIÓN:**

La Diabetes Mellitus (DM) describe un desorden metabólico de etiología múltiple, caracterizado por hiperglucemia crónica con disturbios en el metabolismo de los carbohidratos, grasas y proteínas, que resulta de trastornos en la secreción y/o en la acción de la insulina. (40) Los nuevos criterios para su diagnóstico y clasificación fueron desarrollados casi simultáneamente por un comité de expertos de la Asociación Americana de Diabetes (ADA) y por un comité asesor de la Organización Mundial de la Salud (OMS).(1) Su clasificación se basa fundamentalmente en la etiología y características fisiopatológicas, pero adicionalmente describe la etapa de su historia natural en la que se encuentra el paciente diabético.

La DM puede clasificarse en tres categorías clínicas:

- DM tipo 1 (DM1): debida a la destrucción de la célula  $\beta$  que conlleva progresivamente al déficit absoluto de insulina.
- DM tipo 2 (DM2): debida a un déficit progresivo de secreción de insulina sobre la base de una resistencia periférica de los tejidos a la insulina presente.
- Diabetes gestacional (DG): DM diagnosticada durante el embarazo; no es una DM claramente manifiesta y no será desarrollada en nuestro estudio.

Algunos pacientes no pueden clasificarse claramente como DM1 o DM2 porque esta enfermedad exhibe un corolario de manifestaciones clínicas muy diversas, pero el diagnóstico se hace más claro con el paso del tiempo. De todas formas, desde finales de los años 90 se incluye en una clasificación, que en sí misma no supone hablar de nuevas entidades, sino

un riesgo aumentado para sufrir DM y desarrollar Enfermedades Cardiovasculares. (10) En este orden se incluyen aquellos individuos cuyos niveles de glucemia no cumplen criterios de DM, pero tampoco pueden ser considerados normales. Se trata de personas con glucemia basal alterada (GBA) o con intolerancia a la glucosa (ITG), y para ambos se usa el término prediabetes. Los individuos con GBA, ITG o HbA1C de 5,7 a 6,4% deben ser informados del riesgo de desarrollar DM y ECV.(24)

Además del concepto de prediabetes como condición y no enfermedad hay que hacer alusión a dos tipos de diabetes mellitus que tienen nombre propio, y que se caracterizan por presentar características de la DM1 y la DM2. Se las cataloga como diabetes de la “zona gris”. (24;41) Entre ellos están:

### 1.1 Diabetes tipo MODY

La diabetes tipo MODY (*Maturity Onset Diabetes of the Young* o Diabetes de comportamiento adulto en los jóvenes) se define como la diabetes de características de persona adulta pero que se desarrolla en jóvenes. Es un tipo de diabetes que en principio se parece más a la DM2, porque puede controlarse sin necesidad de insulina en los primeros años pero, a diferencia de la DM2, se presenta a una edad más temprana (por lo general por debajo de los 25 años.)(42) Otra característica de estos pacientes es que no suelen ser obesos y todos los casos hasta la fecha han demostrado una deficiencia en función de las células  $\beta$ . Desde el punto de vista estadístico, la diabetes tipo MODY es mucho menos frecuente que la DM2. De hecho, apenas el 2-5% de los casos de DM2 puede corresponder a una diabetes MODY sin detectar. (43) En inicio, la respuesta a los antidiabéticos orales es buena, pero no son pocos los pacientes que ante la progresión de la enfermedad requieren de insulinoterapia. Las

manifestaciones clínicas son variadas, ya que su base genética es heterogénea. Por ahora se han detectado mutaciones en 10 a 12 genes distintos han sido correlacionadas con el desarrollo de MODY, entre ellos las siguientes:

MODY1: el factor de transcripción identificado como el factor nuclear hepático- 4 $\alpha$  (HNF-4 $\alpha$ ).

MODY2: defecto de la glucokinasa pancreática.

MODY3: alteración en el factor de transcripción HNF-1 $\alpha$  o transcripción del hepatocito- 1 (TCF1).

MODY4: el factor promotor de la insulina-1 factor de transcripción del homeodominio (IPF-1). Este gen es más comúnmente conocido como PDX1 derivado del "homeobox-1" del páncreas y duodeno.

MODY5: mutación en el factor de transcripción HNF-1 $\beta$  o factor de transcripción del hepatocito-2 (TCF2).

MODY6: el factor de transcripción NeuroD1. Este factor fue inicialmente identificado como un gen inductor del desarrollo neural. No obstante, se ha esclarecido que el NeuroD1 promueve la transcripción del gen de la insulina, así como algunos genes implicados en la formación de las células  $\beta$  y partes del sistema nervioso.

MODY7: la alteración ocurre en el factor Kruppel-11 (KLF11) la proteína es un factor implicado en la activación del promotor de la insulina. KLF11 es un factor de transcripción de TGF- $\beta$ -inducible

MODY8: el gen de la lipasa carboxilo-éster (CEL) que participa en el metabolismo de los lípidos, es el elemento que se encuentra mutado.

## 1.2 Diabetes tipo LADA

La diabetes LADA es una forma de diabetes autoinmune que afecta a pacientes adultos (*LADA -Latent Autoimmune Diabetes in Adult* o Diabetes Autoinmune Latente del Adulto.) Se caracteriza por la presencia de autoanticuerpos positivos contra las células  $\beta$  del páncreas (anticuerpos contra glutámico-acético decarboxilasa [GAD] y anticuerpos anti-células de los islotes [ICA]), anticuerpos anti-insulina [IAA] y/o Anticuerpo contra tirosina fosfatasa pancreática [IA2]) con fallo prematuro de la célula  $\beta$ . (44) Por otro lado, aparece la variedad que presenta muchas similitudes con la DM1, pero de presentación en la edad adulta y que conforma un tipo de diabetes autoinmune reconocida y descrita en los últimos años y que representa alrededor del 10% de los casos de diabetes no insulino dependiente de reciente diagnóstico.

La diabetes LADA tiene un espectro genético que se asemeja a la DM1 pero metabólicamente es más parecida a la DM2. Se admite que la diabetes LADA es una enfermedad autoinmune con destrucción lenta y progresiva de las células  $\beta$ . Los factores que influyen en la génesis y desarrollo de esta variante de DM no están aún dilucidados. La hipótesis más aceptada explica que el lento inicio y progresión de la enfermedad en el LADA en comparación con la DM1 podría resultar de una combinación entre una menor susceptibilidad genética para diabetes autoinmune y un incremento en la protección conferida por los alelos del sistema HLA protectores junto a una menor influencia ambiental. (45)

Los criterios diagnósticos de LADA suponen: a) Diagnóstico en la edad adulta (más frecuente en mayores de 30 años.) b) Presencia de anticuerpos circulantes asociados a esta entidad. c) Tratamiento inicial sin

necesidad de insulina al menos durante los seis primeros meses después del diagnóstico. (44)

El tratamiento de la diabetes LADA responde no sólo a los cambios de estilo de vida (dieta y ejercicio) sino que por un período importante de tiempo tienen efectividad los hipoglucemiantes. De las opciones farmacológicas el grupo de las tiazolidinedionas podrían ser ventajosa debido a su acción insulino-sensibilizadora. Además hay evidencia de que mejoran la función secretora de la célula  $\beta$ , a través de su efecto antiinflamatorio y ello conlleva a ralentizar la destrucción autoinmune de la masa  $\beta$  pancreática.(46)

### 1.3 Diabetes Secundaria

Se considera diabetes secundaria, a toda aquella diabetes que se generan de una condición primaria, que desemboca en el mal funcionamiento del páncreas o una alteración en el metabolismo glucídico. Entre ellas están:

a.- Enfermedad pancreática: la pancreatomectomía es el ejemplo más claro de la diabetes secundaria. La fibrosis quística y la pancreatitis también pueden conllevar a la destrucción del páncreas.

b.- Enfermedad endócrina: algunas enfermedades endocrinas pueden producir hormonas contra-reguladoras que se oponen a la acción de la insulina o inhiben su secreción. Estas hormonas contra-reguladoras son el glucagón (glucagonoma), la adrenalina (feocromocitoma), la hormona del crecimiento (como en la acromegalia) y el cortisol (síndrome de Cushing).(47)

c.- la diabetes inducida por drogas; el tratamiento con glucocorticoides y diuréticos pueden interferir con el funcionamiento de la insulina

d.- La presencia de auto-anticuerpos contra los receptores anti-insulina (resistencia a la insulina Tipo B)

e.- Mutaciones en el gen del receptor de la insulina resultan en los síndromes indicados a continuación. Todos los síndromes a causa de las mutaciones en el gen del receptor de la insulina, comparten dos características clínicas: acantosis nigricans e hiperandrogenismo (el segundo se observa sólo en las mujeres). Algunos de estos cuadros son: el Síndrome de Donohue (también denominado Leprachaunismo), y el síndrome de Rabson-Mendenhall. (52)

f.- Síndromes genéticos que se acompañan de diabetes o intolerancia a la glucosa. Entre ellos: diabetes lipoatrófica, síndrome de Wolfram, síndrome de Down, síndrome de Klinefelter (hombres XXY), síndrome de Turner, distrofia miotónica, distrofia muscular, enfermedad de Huntington, ataxia de Friedrich (asociada a la deficiencia de la fosforilasa de nucleótidos de purina), síndrome de Prader-Willi, síndrome de Werner y el síndrome de Cockayne.(47;48)

## **2. DIABETES MELLITUS TIPO 2 – DEFINICIÓN**

El desarrollo de la Diabetes Mellitus Tipo 2 (DM2) es debido principalmente a dos mecanismos patogénicos: (a) un fallo progresivo de la función de las células  $\beta$  de los islotes pancreáticos que provoca una disminución en la producción de insulina y (b) una resistencia de los tejidos periféricos a la insulina. Esta interacción entre la secreción y resistencia a la insulina es fundamental para el mantenimiento de niveles normales de la glucosa que no generen las complicaciones en los órganos diana.(1;49)



De esta manera se puede definir la DM2 como un conjunto de alteraciones celulares y metabólicas que afectan y deterioran la homeostasis de la glucosa. Es una enfermedad progresiva dual, caracterizada en primer lugar por resistencia a la insulina, pero también por un fallo progresivo de la función de las células  $\beta$  de los islotes pancreáticos.

Por lo general, la DM2 se desarrolla lentamente con el tiempo. La gran mayoría de los individuos con esta enfermedad tienen sobrepeso u obesidad evidente, en el momento del diagnóstico. El aumento de la grasa altera las vías metabólicas que controlan la insulina. No obstante, esta enfermedad se vuelve prevalente con la edad, y empieza a ser común en personas mayores. Y una de la característica de esta DM2 tardía es que los pacientes son personas delgadas. Esto pone en evidencia que los antecedentes familiares y la herencia juegan un papel importante en la génesis de este síndrome. (2)

En cuanto a las manifestaciones clínicas de la DM2, generalmente los afectados no presentan síntoma alguno durante varios años. En esta etapa pueden incluso no verse alterados los índices de glucemia, sin embargo, el exceso de glucosa sigue su proceso deletéreo de forma indefectible.

Los síntomas iniciales de la diabetes pueden abarcar: desde la tríada habitualmente conocida de **Poliuria, Polidipsia e Hiperfagia** hasta síntomas tan inespecíficos como cansancio crónico, fatiga, visión borrosa, entumecimientos de las extremidades, disfunción eréctil, infecciones recurrentes (piel, vejiga) o lesiones dérmicas (tipo úlceras) que no cicatrizan.(50)

### **3. EPIDEMIOLOGÍA**

La incidencia y prevalencia mundial de la Diabetes Mellitus está aumentando rápidamente como resultado de los cambios asociados del estilo de vida en el mundo occidental, dirigidos a una vida más sedentaria y asociada estrechamente a la obesidad. Por tanto la diabetes es una causa importante de morbilidad y mortalidad prematura de forma global. Representa el 90-95% de todos los casos de diabetes y es una epidemia creciente que supone una grave carga sobre los sistemas sanitarios, especialmente en los países en vías de desarrollo. (1)

Todo esto es debido tanto a la magnitud del problema, como a la cronicidad de la entidad, que ataca silenciosa pero implacablemente a los afectados. Desafortunadamente, la etiología de esta condición es todavía un enigma y las modalidades terapéuticas convencionales solamente logran controlar la glucosa en sangre, pero no logran curarla, dado la heterogeneidad de las manifestaciones clínicas.

En el año 2014, la Federación Internacional de Diabetes (International Federation of Diabetes –IDF-) estimó que más de 382 millones de personas conviven con la diabetes en el mundo y que aproximadamente 4,9 millones de personas mueren a causa de la misma. Además 1 de cada 2 personas no conoce que tiene diabetes. Estas estimaciones prevén que para el año 2035 el número de personas diabéticas se incremente a 439 millones, lo que representa el 7.7% de la población adulta (de 20 a 79 años de edad) del mundo. (2)

La situación epidemiológica de la DM2 en España establece una prevalencia en torno al 6,5% en la población entre 30 y 65 años, si bien

puede variar entre el 6% y el 12% en función de los distintos estudios, poblaciones y métodos utilizados para el diagnóstico. (51)

La Encuesta Nacional de Salud muestra que entre 1993-2003 la prevalencia de diabetes mellitus a nivel nacional había subido del 4,1% al 5,9%, con una tasa de mortalidad que oscila entre 12,75 y 30,37 muertes por cien mil habitantes, según las distintas Comunidades Autónomas. (52)

El 75% de los pacientes con diabetes mueren por enfermedad cardiovascular y existe una prevalencia de insuficiencia renal por nefropatía que va del 4,8% al 8,4%. Hasta un 20% de los enfermos diagnosticados de DM2 presentan algún grado de retinopatía al momento del diagnóstico y al menos un 24,1% presenta neuropatía diabética. La forma más prevalente de la neuropatía se asocia con la vasculopatía periférica y se refleja en el aumento de la incidencia de complicaciones como el pie diabético que supone hasta un 1,4% de las amputaciones en nuestro país. (51-53)

#### **4. CRITERIOS DIAGNÓSTICOS SEGÚN RECOMENDACIONES DE LA AMERICAN DIABETES ASSOCIATION (ADA) PARA LA PRÁCTICA CLÍNICA EN EL MANEJO DE LA DIABETES. 2014\***

*\* Extracto de las Guías ADA para el diagnóstico, seguimiento y tratamiento de la DM2 2014.(1)*

Las últimas evidencias que han surgido en este campo son recogidas por un equipo especializado y multidisciplinar que todos los años en el mes de enero publican como un suplemento monográfico en la revista “*Diabetes Care*”. En ellas se incluyen las pautas del diagnóstico, seguimiento y

tratamiento de la diabetes mellitus. A continuación se expone un resumen en base a los datos fundamentales que se tratan en estas guías. (50)

#### **4.1. Criterios Diagnósticos de Diabetes.**

En el Cuadro 1 se resumen los criterios para el diagnóstico de diabetes.

- *La hemoglobina glucosilada (HbA1C)  $\geq 6,5\%$ . El análisis deberá realizarse en un laboratorio utilizando un método certificado por el Programa nacional de estandarización de la HbA1C de los Estados Unidos y estandarizado para el estudio sobre el control de la diabetes y sus complicaciones. (Diabetes Control and Complications Trial – DCCT)*
- *Glucemia en ayunas en plasma venoso  $> 126$  mg/dl (7,0 mmol/l). El ayuno se define como la ausencia de ingesta calórica durante al menos 8 h.*
- *Glucemia en plasma venoso a las 2 horas  $\geq 200$  mg/dl (11,1 mmol/l) durante la prueba de tolerancia oral a la glucosa (PTOG): la prueba deberá realizarse tal y como lo describe la OMS, es decir, con una carga de glucosa que contenga el equivalente a 75 g de glucosa anhidra disuelta en agua.*
- *Paciente con síntomas clásicos de hiperglucemia o de crisis hiperglucémica: glucemia al azar en plasma venoso  $\geq 200$  mg/dl (11.1 mmol/l).*

Cuadro 1. Criterios Diagnósticos de Diabetes.

#### **4.2. Pruebas para la detección de diabetes en pacientes asintomáticos.**

- Las pruebas en sujetos asintomáticos para la detección de la DM2 y la evaluación del riesgo de padecer diabetes en el futuro deberán considerarse en adultos de cualquier edad, con sobrepeso u obesidad (IMC menor de 25 Kg/m<sup>2</sup>) y al menos un factor de riesgo de diabetes adicional. Los sujetos que no presenten tales factores de riesgo se analizarán a partir de los 45 años.
- Si los resultados son normales, las pruebas deberán repetirse al menos cada 3 años.
- Las siguientes pruebas se consideran adecuadas para la detección de diabetes o la evaluación del riesgo de padecer diabetes en el futuro:

HbA1C, glucemia en ayunas en plasma venoso o Prueba de Tolerancia Oral a la Glucosa (PTOG) a las 2 horas con 75 g.

- En aquellos sujetos con un mayor riesgo de padecer diabetes en el futuro, se deben detectar y, si procede, tratar otros factores de riesgo de enfermedad cardiovascular.

### **4.3. Acerca de la Hemoglobina Glucosilada - HbA1C**

- Realizar el análisis de HbA1C al menos dos veces al año a los pacientes que cumplan con los objetivos terapéuticos y con control estable de la glucemia.
- Realizar el análisis de HbA1C trimestralmente a los pacientes que hayan cambiado de tratamiento o que no cumplan con los objetivos glucémicos.
- La realización del análisis de HbA1C en el lugar de asistencia permite tomar las decisiones oportunas acerca de los cambios de tratamiento cuando sea necesario.

### **4.4. Objetivos glucémicos en adultos**

- ▲ Se ha demostrado que la disminución del nivel de HbA1C por debajo o alrededor del 7% reduce las complicaciones microvasculares y neuropáticas de la DM1 y DM2. Por lo tanto, para prevenir la enfermedad microvascular, el nivel deseado de HbA1C en pacientes no embarazadas en general debe ser < 7%.
- ▲ En la DM1 y DM2, los estudios controlados aleatorizados sobre el

control intensivo frente al control estándar de la glucemia no han demostrado una reducción significativa de los resultados respecto a la enfermedad cardiovascular durante la fase aleatorizada de los mismos. El seguimiento a largo plazo de las cohortes del estudio americano DCCT y del Estudio prospectivo sobre la diabetes del Reino Unido (UKPDS) sugiere que el tratamiento para alcanzar el objetivo de una HbA1C por debajo o alrededor del 7% en los años siguientes al diagnóstico de la diabetes está relacionado con una reducción a largo plazo del riesgo de enfermedad macrovascular. El objetivo general de un valor  $< 7\%$  parece razonable para disminuir el riesgo de enfermedad macrovascular de muchos adultos, hasta que se encuentren disponibles más datos al respecto.

- ▲ Tanto los análisis de los subgrupos de los ensayos clínicos, tales como el estudio DCCT y el estudio UKPDS, como la reducción demostrada de la proteinuria en el ensayo ADVANCE, sugieren un beneficio discreto a la par que creciente respecto a la enfermedad microvascular, cuando el nivel de HbA1C se acerca al normal. Por lo tanto, en el caso de pacientes muy concretos, los profesionales pueden proponer, de forma razonable, niveles de HbA1C menores incluso que el nivel objetivo establecido  $< 7\%$ , en caso de que se pueda alcanzar sin que aparezca una hipoglucemia significativa u otros efectos adversos derivados del tratamiento. Entre estos pacientes pueden incluirse aquellos con diabetes de corta duración, una esperanza de vida prolongada, y sin enfermedad cardiovascular importante.

- ▲ Por el contrario, un nivel objetivo de HbA1C menos estricto que el establecido  $< 7\%$ , puede resultar apropiado para los pacientes con antecedentes de hipoglucemia severa, esperanza de vida limitada, complicaciones microvasculares o macrovasculares avanzadas, o comorbilidad generalizada; y para aquellos que padezcan diabetes de larga evolución con dificultad para alcanzar el objetivo establecido, a pesar de haberles formado en el autocontrol de la diabetes, controlado los niveles de glucosa de forma adecuada, y aplicado dosis efectivas de múltiples agentes hipoglucemiantes.

## **5. FISIOPATOLOGÍA DE LA DM2**

La DM2 es una enfermedad multifactorial, donde desgraciadamente en la actualidad existen muchos factores de su etiopatogenia que aún se escapan al conocimiento. Cada día se descubren nuevas vías que pueden asociarse a la génesis de la enfermedad, pero es poco probable que se pueda decir que la DM2 tenga un solo agente causal sobre el cual intervenir para prevenir su aparición. (54) Además los estudios epidemiológicos señalan que más allá de las variantes genóticas la variabilidad de factores asociados al ambiente, sugieren que la naturaleza heterogénea de la enfermedad. (Figura 1) Algunos de estos elementos o variables condicionantes se representan en la siguiente tabla (Cuadro 2).

### **5.1 FACTORES GENÉTICOS**

En la DM2 no existe un modelo genético simple (forma monogénica) que explique el patrón de herencia. La heredabilidad de la enfermedad bajo un modelo poligénico se basa en los siguientes caracteres (55):

- 1.- Tasa de concordancia entre gemelos: en estudios de gemelos ajustados

por edad se ha observado que el porcentaje de concordancia (o de que uno de los gemelos desarrolle diabetes cuando el otro la tiene) es del 70 al 80%, cuando son monocigóticos y de un 9% cuando no lo son.

*Cuadro 2. . Variables que justifican el origen multifactorial de la DM2.*

- \* Genotipo
- \* Modo de herencia
- \* Edad de inicio
- \* Distribución geográfica
- \* Factores socioambientales
- \* Factores culturales o higiénico-dietéticos
- \* Obesidad
- \* Comorbilidades
- \* Resistencia a la insulina
- \* Forma clínica
- \* Factores hormonales

2.- Baja penetrancia: cuando un individuo tiene el genotipo de la diabetes pero baja probabilidad de desarrollarla.

3.- Variación genética: son diferencias en los genes involucrados en la DM2, es decir, en algunos individuos los mismos genes, o los mismos alelos alterados en la enfermedad tienen efectos deletéreos y en otros individuos efecto protector.

4.- Heterogeneidad genética: más de un gen puede de manera independiente causar la DM2. Cuando existe una mutación con mayor efecto, las familias presentan un patrón de herencia específico. Así mismo, se presenta herencia materna cuando el gen para el ARN transcriptor de leucina, codificado en el ADN mitocondrial está mutado. En cambio, cuando la mutación tiene efecto leve, no se presenta el patrón de herencia simple sino que la DM2 viene a ser la acción combinada de varias mutaciones en un gen, o varios genes afectados.



5.- Impronta genómica: en ciertos genes los alelos pueden ser marcados de tal manera que se expresen o no dependiendo de si fue heredado del padre o de la madre. Esta modificación en la expresión del gen involucrado es temporal y se produce en períodos críticos del desarrollo embrionario.

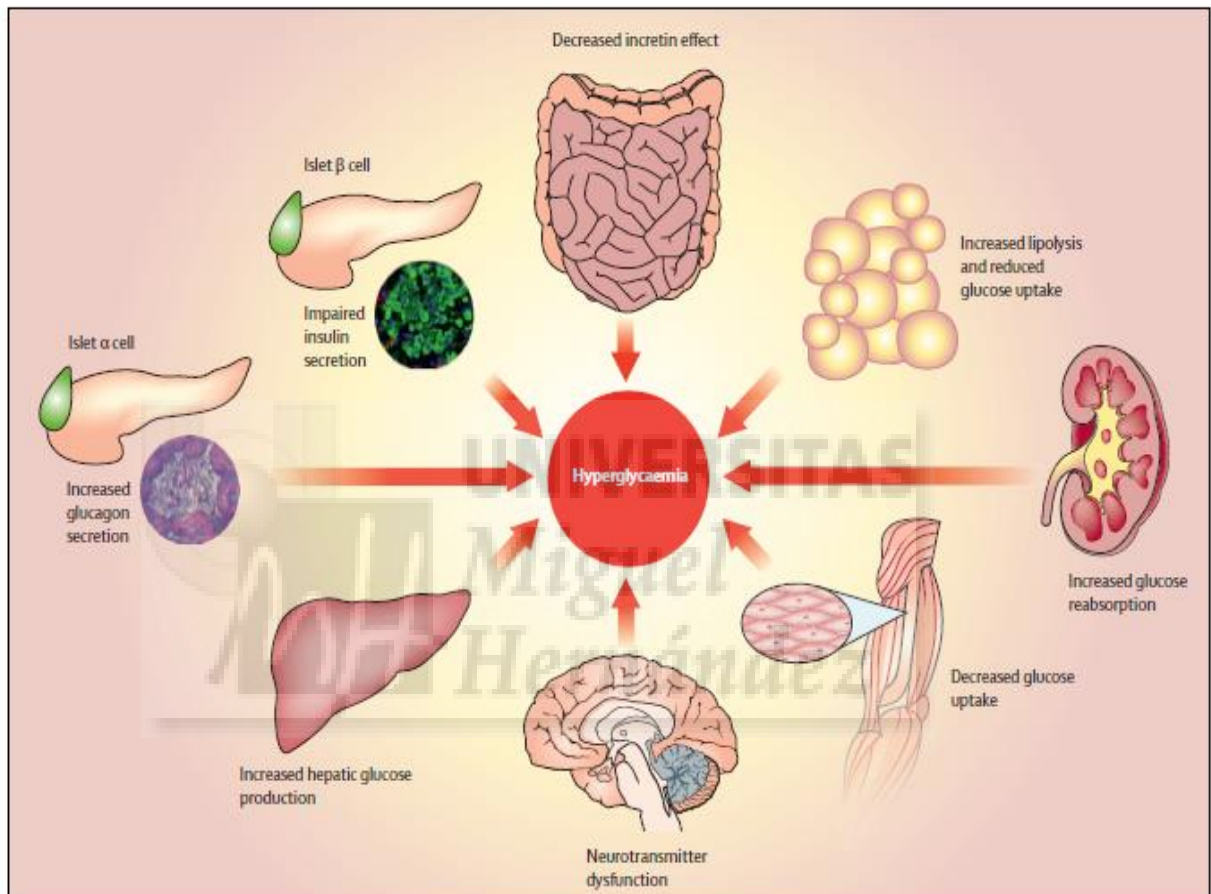


Figura. 1. Mecanismos intrínsecos que conducen al desarrollo de hiperglucemia como base de la DM2. Cortesía de Tahrani AA. Lancet 2011; 378: 18(55)

6.- Edad de inicio variable: no es un factor determinante pero si influyente. En algunos estudios se ha visto que si uno de los padres tiene historial de DM1 o tipo MODY y el otro padre o una rama ascendente en esa línea unifamiliar con DM2, la probabilidad de DM en el recién nacido es muy alta.

7.- En general, se requiere que exista secreción alterada de la insulina y resistencia a la insulina asociado o no a la disminución en la síntesis oxidativa de glucógeno para que se manifieste la DM2. Estos procesos pueden ser heredados. La resistencia a la insulina (RI) por sí misma (sin asociar factores ambientales) no suele causar la DM2, excepto cuando existen mutaciones en el receptor (evento muy poco frecuente.) Mientras las células  $\beta$  del páncreas puedan compensar el grado de RI, la tolerancia a la glucosa se mantiene normal y no se generan valores mantenidos de hiperglucemia. Con lo cual un cierto daño en las células  $\beta$ , que las haga incapaces de compensar dicha resistencia, siempre está relacionada con la génesis de la DM2

8.- Recientemente, múltiples estudios pangenómicos han identificado de forma unánime numerosos locus que confieren una predisposición alterada a la DM2; algunos de estos locus codifican los reguladores conocidos del crecimiento o la regeneración de las células  $\beta$ . Actualmente se reconoce que la disfunción de las células  $\beta$  pancreáticas es un acontecimiento precoz donde la deficiencia funcional relativa está presente mucho antes del diagnóstico de la DM2. Afortunadamente, los datos recientes indican que la masa de células  $\beta$  muestra plasticidad, lo que representa una esperanza de una posible interrupción de la progresión de la enfermedad.

## **5.2. FACTORES AMBIENTALES**

Si bien los factores genéticos pueden predisponer al desarrollo de la enfermedad, los factores ambientales actúan como desencadenantes de la catástrofe metabólica. Los factores ambientales corresponden a los

factores extrínsecos que pueden representar una causa para el desarrollo de la enfermedad.

Los hábitos alimentarios se estructuran a través del aprendizaje familiar y social, fuertemente influenciados por tradiciones, disponibilidad alimentaria, status social y simbolismos afectivos. En este contexto el alimento puede ser utilizado como mecanismo de defensa en contra de la angustia existencial o como recompensa familiar o social. (51)

Existen fuertes creencias por las que el ser humano estructura su conducta alimentaria sobre una base cognitiva, sin negar la existencia de una regulación endógena, la cual a nivel individual puede modular la expresión de los factores ambientales. De hecho, la existencia de una regulación endógena en el ser humano se manifiesta claramente en patologías del hipotálamo (tumoral, quirúrgica o traumática), en las cuales es posible observar severas alteraciones de la conducta alimentaria.(56)

Hay evidencias de la regulación cognitiva de la conducta alimentaria, por ejemplo:

- Alta prevalencia de obesidad en los países desarrollados, dado que el proceso de urbanización de los países desarrollados ha hecho que a nivel individual el consumo energético se haya reducido considerablemente.
- La actitud tradicional de comer a horas prefijadas y no inducida por la sensación de hambre.
- La incapacidad del ser humano para adaptarse a cambios de requerimientos energéticos, como sucede en la tercera edad, en la que se observa un incremento de peso, considerado por muchos como normal, pese a la reducción de las necesidades energéticas

condicionada por una masa grasa disminuida y por menor actividad física.

- El cambio de los hábitos alimentarios en la sociedad moderna, con un acceso fácil a los alimentos con alto contenido energético y poco volumen junto a las dietas inadecuadas ricas en azúcares refinados y carbohidratos de absorción rápida, aunado a la ingesta de grasas parcialmente hidrogenadas *-Trans-* (que suelen encontrarse en productos como la bollería industrial, la comida rápida, dulces, pastelitos, productos de confitería, precocinados, embutidos, bebidas azucaradas, etc.) hacen que se produzca una situación de hiperinsulinismo crónico. Además estos alimentos suelen ser deficientes en fibra, micronutrientes y antioxidantes. A todo ello se suma la disminución en la ingesta de fruta, verdura y legumbres. En resumen una bomba de tiempo en aquellas personas con predisposición genética a la DM2. (50;51)

## **6. INTRODUCCIÓN A LA FISIOLÓGÍA DE LA INGESTA Y EL METABLISMO**

La fisiología de la ingesta y el metabolismo de los alimentos es, hoy en día, un campo abierto al estudio y día a día salen a luz nuevos datos para poder identificar nuevas vías de regulación. Estas nuevas vías no sólo se encuentran en el sistema gastrointestinal sino también en el sistema endocrino, en el tejido adiposo, el hígado y el sistema nervioso central.(57)

Actualmente el estudio de los mecanismos que regulan la ingesta y el metabolismo energético se realiza a través de tres sistemas:

- El metabolismo de la Insulina/Leptina
- El sistema gastrointestinal
- El sistema nervioso central

### **6.1. METABOLISMO INSULINA – LEPTINA**

La obesidad está ligada no sólo a la resistencia a los efectos biológicos de la insulina, sino también a la leptina. Al parecer ambas hormonas se entrelazan en varias funciones del organismo asociadas a la ingesta (estimulando o no el apetito) y al metabolismo de los glúcidos y los lípidos.

**A. INSULINA:** (del latín ínsula) es una hormona polipeptídica formada por 51 aminoácidos, producida y segregada por las células  $\beta$  del páncreas. La insulina es una hormona "anabólica" por excelencia: permite disponer a las células del aporte necesario de glucosa para los procesos de síntesis con gasto de energía. Es decir, favorece la incorporación de glucosa de la sangre hacia las células. Además tiene otras funciones metabólicas tales como: estimula la lipogénesis, disminuye la lipólisis, e incrementa el transporte de aminoácidos a la célula. La insulina también modula la transcripción, alterando el contenido celular del ARNm. Así mismo, estimula el crecimiento, la síntesis de ADN, y la replicación celular, efectos que son comunes a los de los factores de crecimiento similares a la insulina (IGFa).  
(58)

En el cromosoma 11 se ha identificado el gen responsable de la síntesis de la insulina. El primer compuesto en la secuencia de su síntesis es la "pre-proinsulina." Esta preinsulina sufre una sulfo-oxidación en el retículo endoplásmico de la célula  $\beta$ , para formar la "proinsulina" que a nivel del aparato de Golgi se dispone en forma de gránulo. En el gránulo, bajo la acción de enzimas proteasas, se escinde la molécula de pro-insulina,

produciendo finalmente cantidades equimolares de insulina y Péptido C. El páncreas secreta cantidades equimolares de insulina y Péptido C y hasta un 10-15% de la insulina detectada por radioinmunoanálisis (RIA) en sangre corresponde a proinsulina. La concentración de insulina determinada por RIA en ayunas, es de 5 a 15 U/ml. En cambio el Péptido C tiene una concentración periférica 10 veces superior. El Péptido C tiene niveles en ayunas de 2 a 4 ng/ml y son una buena expresión de la síntesis y secreción de insulina. El tiempo de vida media de la insulina es de 4,8 minutos aproximadamente. (59)

La secreción de insulina está regulada por la interacción de sustratos, del sistema nervioso autónomo, de hormonas y de señales intercelulares (paracrinas). La glucosa, aminoácidos (arginina y leucina), y ácidos grasos constituyen estímulos primarios. Así mismo, el sistema nervioso autónomo es un importante modulador de la secreción insulínica. El parasimpático la estimula y el simpático la inhibe. (60)

La interregulación entre glucosa e insulina es capaz de mantener los niveles de glucemia en un estrecho margen fisiológico. La célula  $\beta$  tiene la sensibilidad de percibir pequeños cambios de la concentración de glucosa, respondiendo de inmediato con una secreción insulínica proporcional. En condiciones normales, si existe mayor demanda por una elevación mantenida de la glucosa, aumenta la sensibilidad a ella y luego es capaz de estimular la replicación de las células  $\beta$ . Estos efectos tienen una distinta secuencia temporal: en segundos responde a los cambios de la glucemia, en minutos aumenta la sensibilidad y en semanas se adapta incrementando la masa celular. Estos mecanismos garantizan un ajuste del sistema a diferentes cargas de glucosa y cualquier defecto resulta en un cambio de equilibrio y desorden metabólico. (61)

La inducción secretora de la insulina es bifásica e indispensable para obtener la homeostasis de la glucosa. Se describe una fase precoz y rápida de aproximadamente 10 minutos y otra más tardía y sostenida que dura horas. La primera presumiblemente se debe a secreción de gránulos preformados y la segunda, a la síntesis de nuevas moléculas.

**B. EL PÉPTIDO C:** también llamado Péptido conector, es una cadena de aminoácidos que conecta las cadenas A y B de la proinsulina y es metabólicamente inactivo. Durante la conversión de proinsulina a insulina, el Péptido C es liberado de las cadenas de la proinsulina. Es vertido a la circulación periférica, y al cuantificarlo arroja valores superiores a la insulina aunque se produzcan en concentraciones equimolares. El Péptido C es mayor que el nivel de insulina debido a que su vida media es más larga. Las determinaciones de Péptido C no miden insulina exógena, razón por la cual el Péptido C se mide para diferenciar la insulina producida por el cuerpo de la insulina exógena al organismo y no reacciona de manera cruzada con los anticuerpos anti-insulina.(59)

La indicación primaria para la determinación de los niveles de Péptido C es la evaluación de la hipoglucemia en ayunas, para determinar si el cuerpo del paciente está produciendo demasiada insulina. También se suele determinar los niveles de Péptido C en los pacientes con DM2 para comprobar si el páncreas aún genera insulina. Además, las concentraciones de Péptido C son un mejor indicador del funcionamiento de las células  $\beta$  que la concentración periférica de insulina. En general, los niveles de Péptido C se correlacionan muy bien con los niveles de insulina en sangre (valor adecuado  $>3,75$  ng/ml), excepto en los tumores de células del islote y en pacientes obesos.

**C. LA LEPTINA:** (del griego *leptos* = delgado), es una hormona producida en su mayoría por los adipocitos (células grasas) aunque también se expresa en el hipotálamo, el ovario y la placenta. Es una proteína de 167 aminoácidos que se expresan en numerosos tejidos del organismo, pero los efectos sobre el peso corporal dependen sobre todo de su expresión hipotalámica.(61)

Este péptido fue descubierto en el año 1994 en modelos animales roedores y luego se localizó en el cromosoma 7 del genoma humano. Se cree que la leptina actúa como un lipostato: cuando la cantidad de grasa almacenada en los adipocitos aumenta, se libera leptina al flujo sanguíneo que actúa en un sistema de retroalimentación negativa, que se ocupa de informar al hipotálamo los períodos en los que el cuerpo tiene bastante comida y por tanto se debe inhibir el apetito. Cuando aumenta la masa de tejido adiposo más allá del punto de equilibrio, aumenta la síntesis y secreción de leptina por lo que se estimulan varios efectos compensadores en el hipotálamo: la disminución del apetito por estimulación de péptidos y supresión de la producción de los péptidos orexigénicos. Por lo tanto se produce un aumento del gasto energético aumentando la tasa de metabolismo basal y la temperatura corporal además de la modificación del punto de equilibrio hormonal para reducir la lipogénesis y aumentar la lipólisis en el tejido adiposo. La regulación de la secreción de leptina es a largo plazo, principalmente por variación del nivel de masa corporal y efectos estimulantes de la insulina. (60)

## **6.2 SISTEMA GASTROINTESTINAL**

A lo largo del tubo digestivo se encuentra un sistema endocrino complejo que no está constituido por un órgano glandular uniforme, sino que está diseminado a lo largo del estómago, intestino delgado y colon y que puede



actuar de forma local o bien a distancia. Una vez llegan los alimentos al tubo digestivo, se dan señales al sistema nervioso central por vía vagal y mediante la liberación de sustancias peptídicas que la propia mucosa gastrointestinal segrega.

El estímulo principal de la liberación hormonal suele ser la presencia de alimento, pero puede estar regulado por estímulos nerviosos o por otros sistemas hormonales. Muchas de estas hormonas pueden tener efectos neuromoduladores y también paracrinos y es por ello que se las llama péptidos reguladores gastrointestinales. Los péptidos reguladores intestinales no sólo intervienen de forma activa en los procesos digestivos sino que regulan también a nivel central y periférico la ingesta de alimentos.(62)

Durante el proceso de digestión hay una respuesta peptídica por parte de las células gastrointestinales que interactúan con los propios nutrientes y que entran en la circulación sanguínea para efectuar una acción endocrina. De esta forma el sistema nervioso central está informado continuamente del estado metabólico. Así mismo, a través de estos péptidos se controla la sensación de apetito y saciedad. Por otro lado todas estas señales también interaccionan con otras señales provenientes del páncreas y/o del tejido adiposo que también informan al sistema nervioso central del estado nutricional.

Algunas de las señales principales que interactúan en el proceso de la digestión a nivel gastrointestinal están dirigidas por los siguientes mensajeros (57):

- *El Péptido similar al Glucagón (GLP-1)*: es un péptido regulador intestinal que se clasifica como neuropéptido para tener acciones a nivel cerebral

además de su acción endocrina clásica. El GLP-1 es un péptido de 30 aminoácidos que se secreta en las células L del epitelio intestinal. En el intestino delgado, el GLP-1 también es objeto de nuevas transformaciones gracias a rupturas enzimáticas que generan nuevos péptidos activos. (63) La liberación de GLP-1 tiene lugar por la llegada de nutrientes al intestino delgado mediado por el sistema colinérgico. A nivel plasmático es inhibido por la enzima dipeptidil-dipeptidasa IV (DPP-IV) que lo degrada a productos inactivos en pocos minutos. Estimula la secreción de insulina por parte de las células  $\beta$  del páncreas con una inhibición de la secreción de glucagón, disminuye la resistencia a la insulina y disminuye la motilidad intestinal. La GLP-1 estimula la secreción de insulina y ejerce efectos proliferativos y antiapoptóticos de las células  $\beta$  del páncreas. Basándose en estos conceptos es que la industria farmacéutica ha desarrollado el Exenatide, medicamento análogo del efecto GLP-1, de excelentes resultados siempre que exista reserva pancreática. (64)

En la regulación de la ingesta tiene un efecto inhibitor del apetito, ya que tiene receptores específicos a nivel hipotalámico que producen la sensación anorexígena. La administración a nivel periférico de GLP-1 también se ha visto que tiene efectos anorexígenos tanto en pacientes obesos como en pacientes afectados de DM2, produciendo una disminución de la velocidad del vaciado gástrico y ralentización del peristaltismo intestinal. Esto hace que el GLP-1 actúe tanto a nivel central como periférico y que sus acciones también estén mediatizadas por otras hormonas.

*- El Péptido Insulinotrópico Dependiente de la Glucosa (GIP):* es un péptido que se produce en la zona media del duodeno y en el yeyuno, en las células K de las vellosidades intestinales. Se libera en el intestino por

contacto con ácido, soluciones hipertónicas o grasa, y que actúa inhibiendo la secreción ácida y la motilidad gástrica. Ha sido tradicionalmente llamado péptido inhibidor gastrointestinal o péptido inhibidor gástrico y se creía que neutralizaba el ácido estomacal para proteger el intestino delgado del ácido, reducir la tasa a la cual los alimentos son transferidos a través del estómago, e inhibir la motilidad gastrointestinal y la secreción de ácido. Sin embargo, esto es incorrecto, se descubrió que estos efectos se logran sólo con niveles fisiológicos mayores de lo normal. Aunque conserva sus siglas iniciales este péptido tiene como funciones principales el estímulo de la secreción de insulina (similar función que la hormona GLP-1) a nivel del páncreas endocrino. Sobre el metabolismo, el GIP potencia la acción de la lipoprotein-lipasa y favorece el aclaramiento de quilomicrones y triglicéridos de la circulación, además de aumentar la síntesis de triglicéridos en el tejido adiposo.(65)

- *El Péptido YY (PYY):* es secretado postprandialmente por las células endocrinas intestinales de tipo L ubicadas en la mucosa del íleon distal y del colon, en proporción a las calorías ingeridas. También es conocido como el Péptido tirosina-tirosina: familia a la que también pertenece el polipéptido pancreático (PP) y en neuropéptido Y (NPY). Es sintetizado en las células L del íleon distal y el colon en respuesta a la ingesta de grasas e hidratos de carbono y de forma proporcional al contenido calórico de la materia. El efecto anorexígeno es potente y bien demostrado en respuesta a su administración endovenosa en animales de experimentación y humanos. En individuos obesos la respuesta está disminuida aunque consumen un gran número de calorías. La liberación inicial de PYY ocurre inmediatamente después de la ingesta, presumiblemente a través de mecanismos neuronales y antes de que los nutrientes ingeridos hayan

alcanzado el íleon; una segunda oleada del péptido se libera cuando los nutrientes alcanzan la porción distal del íleon. El PYY atenúa la ingesta mediante la inhibición de la motilidad intestinal, actuando como un freno ileal que causa sensación de saciedad y por medio de aferentes vagales.(57)

- *La Grelina*: hormona que actúa como reguladora del apetito y por tanto de la pérdida de peso. La grelina es la única hormona gastrointestinal con efecto orexígeno conocido y se encuentra en niveles bajos en personas obesas. La estructura está formada por 28 aminoácidos y es capaz de cruzar la barrera hematoencefálica y actúa en los receptores localizados a nivel del núcleo del hipotálamo. Su síntesis se produce principalmente en las células X/A de la mucosa del fundus y del cuerpo gástrico, pero también se ha demostrado su producción a nivel intestinal, testicular, hepático, placentario o hipofisiaria entre otros. Sus receptores se encuentran a nivel multiorgánico incluyendo hígado, gónadas, pulmón o miocardio. A la vez, la disminución de la grelina es diferente en respuesta al tipo de nutriente ingerido, siendo mayor la respuesta en el caso de los hidratos de carbono. Este efecto es independiente de su capacidad liberadora de GH (hormona de crecimiento) y se ha visto que la infusión endovenosa de grelina incrementa casi en un 30% la ingesta en individuos normales. También estimula la secreción de la hormona de crecimiento y en condiciones de nutrición deficiente o en la anorexia nerviosa está elevada. La falta de supresión de la grelina después de la ingesta podría tener un papel en el origen de la obesidad.(66)

- *La Colecistoquinina (CCK)*: secretada por las células enteroendocrinas de la mucosa duodenal y yeyunal. Estimula su liberación en respuesta a la ingesta de grasas y proteínas. Sus receptores se encuentran en las

terminaciones nerviosas vagales por las que envían la señal de saciedad en el núcleo del tracto solitario. Estas mismas terminaciones son sensibles a la distensión con el que existe una doble vía de información de saciedad. Retrasa el vaciado gástrico y después de una vagotomía sus efectos quedan disminuidos.

- *La Oxintomodulina (OXM)*: origen intestinal, interacciona con el receptor del GLP-1 (de efectos saciantes). Se ha demostrado un efecto inhibitor de la ingesta en respuesta a su administración endovenosa en humanos.

- *El GLP-2*: se secreta en el íleon distal. Implicado en el mantenimiento de la estructura y funcionalismo de la mucosa intestinal, también con efectos a nivel neuronal y óseo. Tiene un efecto anorexígeno en ratas después de su administración central, el cual se ve inhibido por antagonistas del receptor de GLP-1.

- *La Apolipoproteína (Apo) A-IV*: sintetizada por las células intestinales por la formación de los quilomicrones. Reduce el volumen de ingesta en ratas después de su administración y su respuesta podría estar relacionada a la ingesta de grasas.

- *La Enterostatina*: péptido derivado de la acción de la tripsina a nivel pancreático. Posible función en la regulación del metabolismo lipídico ya que administrado en ratas produce una disminución de la ingesta selectiva.(57)

### **6.3. REGULACIÓN CENTRAL**

La sensación de hambre y saciedad y su expresión en forma de ingesta viene dada por varias vías que interactúan entre ellas: las reservas de tejido adiposo, la estimulación o la inhibición vagal y las hormonas

gastrointestinales. A partir de aquí una modulación a nivel neuronal regula la ingesta en función de la sensación de hambre o saciedad. El hipotálamo forma parte principal de un sistema en el cual se integra la regulación de la composición corporal con la ingesta y el gasto de energía. Una serie de estímulos en diferentes sistemas relacionados con el estado metabólico son recibidos en el hipotálamo, los cuales modulan la liberación de ciertos péptidos que regulan la ingesta alimentaria y el eje hipotálamo-hipofisiario. (58)

## **7. TRATAMIENTO DE LA DM2**

El objetivo primordial a corto plazo del tratamiento de la DM2 es sin duda tratar de bajar los altos niveles de glucemia. Es conocido que los daños acarreados por esta enfermedad se derivan de los daños debidos a la glucotoxicidad. Posteriormente, se establecen objetivos secundarios a largo plazo que tratan de prevenir los problemas relacionados con la diabetes en diferentes órganos, como riñón, vasos, nervios periféricos, retina, etc. (49)

**7.1. Control Básico y manejo en Atención Primaria.** La forma más esencial, fácil y económica de controlar la DM2 es regulando la ingesta por medio de revisiones dietéticas y realizar un actividad física continua. Además, a este nivel, el paciente debe conocer ciertas pautas del manejo de su enfermedad, como son: a) Evaluación y registro continuo de los valores de glucemia. b) Reconocer y tratar los niveles altos y bajos de glucemia. Este registro permite poder realizar los ajustes pertinentes en las comidas, la actividad física o los medicamentos, con la finalidad de mantener los niveles de glucosa en un rango apropiado.(50)

**7.2. Medicamentos para tratar la Diabetes.** Si la dieta y el ejercicio no ayudan a mantener los niveles de glucemia en niveles normales o casi normales, se establece una condición que abre la puerta a una segunda fase de la enfermedad que corresponde a la toma de medicamentos antidiabéticos orales. Dado que estos fármacos actúan de diferentes formas, en inicio se prefiere monoterapia y según resultados se debe ajustar dosis, frecuencia o combinación de fármacos.

En este sentido el siguiente cuadro (Figura 2), ilustra de manera muy didáctica cómo de hacerse la escala de tratamiento farmacológico en los pacientes con DM2. Este cuadro es el resultado de los datos aportados por diferentes estudios avalados por la American Diabetes Association (ADA) y por la European Association for the Study of Diabetes (EASD). (53)

**7.3. Pautas generales de tratamiento farmacológico en la DM2.** La ADA y la EASD publicaron en 2012 recomendaciones para el tratamiento centradas en el paciente, teniendo en cuenta el coste, el grado de cumplimiento y los potenciales efectos secundarios de cada antidiabético. En realidad, la elección de un determinado fármaco viene dada por diferentes aspectos que se centran en características del paciente (efectos sobre el peso, las comorbilidades, efectos adversos, el riesgo de hipoglucemia, etc.) y características del medio del paciente (costes, cumplimiento de las pautas, preferencias del paciente, etc.)

De estas recomendaciones se obtiene el siguiente consenso:

- El fármaco de elección inicial, es la Metformina. Este medicamento por sí mismo logra controles adecuados de glucemias a corto plazo, por lo que si no existe contraindicación y es bien tolerada debe indicarse a todo

paciente con diagnóstico de DM2 que no mejore con dieta y ejercicio. Debe preferirse la monoterapia siempre que se pueda.

- Si la monoterapia con un agente antidiabético oral, a las dosis máximas toleradas, no alcanza o no mantiene el objetivo de HbA1C en un periodo de tres meses, hay que añadir un segundo agente oral, que puede ser un agonista del receptor GLP-1 o un fibrato. Si con ello no mejora, se debe empezar a plantear la insulinoterapia.

- En los pacientes con DM2 recién diagnosticados con muchos síntomas o glucemias o HbA1C muy elevadas, se debe considerar iniciar el tratamiento con insulina subcutánea, combinada o no con tratamiento oral.(51)

En la Figura 2 se visualiza un esquema bastante completo acerca del algoritmo de tratamiento de la DM2. Este esquema se extrae de la publicación de Rosario Iglesias González(50) sobre el tratamiento de la DM2 bajo los postulados de la EASD y la ADA.

**7.4. La Cirugía Bariátrica dentro de los algoritmos del tratamiento de la DM2.** La cirugía bariátrica está indicada en los adultos diabéticos con un IMC > 35 Kg/m<sup>2</sup>, especialmente si la DM2 o las comorbilidades asociadas son difíciles de controlar con el estilo de vida y el tratamiento farmacológico. Los pacientes con DM2 sometidos a la cirugía bariátrica necesitan recibir apoyo y seguimiento médico durante toda la vida. Los beneficios a largo plazo, la relación coste-eficacia y los riesgos de la cirugía bariátrica en los individuos con DM2 deben ser estudiados por un comité de especialistas (endocrinólogos, gastroenterólogos, cirujanos bariátricos, endoscopistas, anestesiólogos, nutricionistas, psicólogos-psiquiatras y radiólogos.) (67)



Figura 2. Tratamiento de la DM2. Bases generales. Cuadro según Iglesias González R. Rev. Diabetes Prácticas.

Figura 2. Tratamiento de la hiperglucemia en diabetes mellitus tipo 2

**Tratamiento de la hiperglucemia en DM2. Consenso ADA/EASD 2012**

		Alimentación saludable, control de peso, aumento de la actividad física				
- Monoterapia inicial		Metformina				
Eficacia (↓ HbA1c)		alta				
Hipoglucemia		riesgo bajo				
Peso		neutro/pérdida				
Efectos secundarios		GI/acidosis láctica				
Costes		bajo				
		Si se necesita para alcanzar los objetivos individualizados de HbA1c después ~3 meses, proseguir con combinaciones de dos fármacos (el orden no denota una preferencia específica)				
- Combinación <sup>a</sup> de dos fármacos		Metformina + Sulfonilurea <sup>b</sup>	Metformina + Tiazolidindiona	Metformina + Inhibidor DPP-4 receptor GLP-1	Metformina + Agonista del receptor GLP-1	Metformina + Insulina (por lo
Eficacia (↓ HbA1c)		alta	alta	intermedia	riesgo bajo	la más alta
Hipoglucemia		riesgo moderado	riesgo bajo	riesgo bajo	riesgo bajo	riesgo alto
Peso		ganancia	ganancia	neutro	pérdida	ganancia
Efectos secundarios		hipoglucemia	edema, IC, Fx	raro	GI	hipoglucemia
Costes		bajo	alto	alto	alto	variable
		Si se necesita para alcanzar los objetivos individualizados de HbA1c después ~3 meses, proseguir con combinaciones de tres fármacos (el orden no denota una preferencia específica)				
- Combinación de tres fármacos		Metformina + Sulfonilurea <sup>b</sup>	Metformina + Tiazolidindiona	Metformina + Inhibidor DPP-4	Metformina + Agonista del receptor GLP-1	Metformina + Insulina (por lo general basal)
		+ TZD	+ SU <sup>b</sup>	+ SU <sup>b</sup>	+ SU <sup>b</sup>	+ TZD
		o DPP-4-i	o DPP-4-i	o TZD	o TZD	o DPP-4-i
		o GLP-1 RA	o GLP-1 RA	o Insulina <sup>c</sup>	o Insulina <sup>c</sup>	o GLP-1 RA
		o Insulina <sup>c</sup>	o Insulina <sup>c</sup>			
		Si la terapia combinada que incluye insulina basal falla en alcanzar los valores deseados de HbA1c después de ~3-6 meses, proseguir a estrategias de insulina más complejas, normalmente en combinación con uno o dos fármacos no insulina				
- Estrategias de insulina más complejas		Insulina <sup>d</sup> (múltiples dosis diarias)				

ADA: American Diabetes Association; DM2: diabetes mellitus; DPP-4-i: inhibidores de la enzima dipeptidil peptidasa 4; EASD: European Association for the Study of Diabetes; Fx: fracturas; GI: gastrointestinales; GLP-1 RA: agonistas de los receptores del péptido similar al glucagón tipo 1; HbA1c: hemoglobina glucosilada; IC: insuficiencia cardíaca; SU: sulfonilureas; TZD: tiazolidindionas.

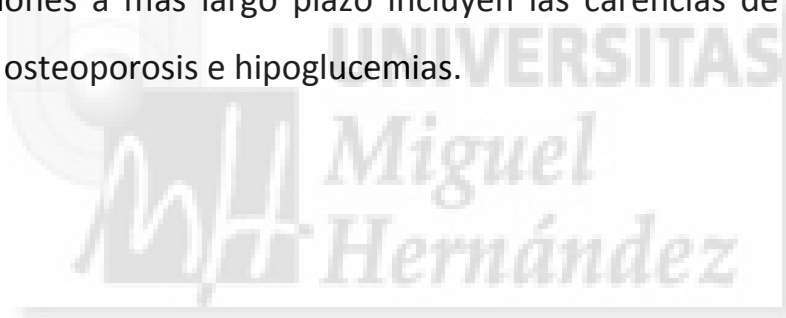
<sup>a</sup> Se debe considerar iniciar el tratamiento en esta etapa en pacientes con HbA1c muy alta (por ejemplo ≥ 9%). <sup>b</sup> Considerar de secretagogos de acción rápida, no sulfonilurea (meglitinidas) en pacientes con horarios de comida irregulares o que desarrollan hipoglucemia posprandial tardía con las sulfonilureas.

<sup>c</sup> Normalmente una insulina basal (NPH, glargina, detemir) en combinación con agentes no insulínicos. <sup>d</sup> Algunos agentes no insulínicos se pueden continuar con la insulina. Hay que considerar iniciar el tratamiento en esta etapa si el paciente se presenta con hiperglucemia grave (glucemia ≥ 300-350 mg/dl; HbA1c ≥ 10,0-12,0%) con o sin características catabólicas (pérdida de peso, cetosis, etc.).

Consenso ADA/EASD 2012.

Las ventajas de la cirugía bariátrica han sido ampliamente demostradas en estudios realizados en las últimas tres décadas. En general, se puede declarar que dependiendo de la técnica quirúrgica y del enfoque del estudio, la cirugía logra una tasa de remisión que va del 40 al 95%. (68;69)

Se habla de remisión y no curación, pues se da a entender que la DM2 es un complejo síndrome que involucra diferentes factores en su patogénesis y la cirugía actúa en algunos de ellos, pero no en todos. Sin embargo la cirugía bariátrica sigue teniendo índices de morbi-mortalidad, que si bien han disminuido con los años, aún representan un importante hándicap.(70) Además, la mayor desventaja es que no se puede ofrecer a todo paciente diabético, sino a aquellos que están asociados a obesidad y cumplen con los criterios de indicación quirúrgica (se explican en el apartado de cirugía bariátrica) Es por ello que actualmente no hay suficiente evidencia para recomendar esta cirugía en los pacientes con IMC < 35 Kg/m<sup>2</sup> fuera de un protocolo de investigación. Las preocupaciones a más largo plazo incluyen las carencias de vitaminas y minerales, osteoporosis e hipoglucemias.



## **DINÁMICA DE LAS CÉLULAS DEL PÁNCREAS**

### **1. EL PÁNCREAS Y SUS CÉLULAS**

Hace unos años se pensaba que el único protagonista de las alteraciones asociadas a la diabetes era el páncreas, puesto que desde los estudios de Banting et al. en 1922 (71) se aceptó la DM2 como un fallo en la producción de insulina. Pero al día de hoy se sabe que la DM2 es un complejo síndrome con un intrincado grupo de factores pancreáticos y extrapancreáticos en su desarrollo. No obstante, a pesar de haber perdido su papel protagónico en el desarrollo de la diabetes, es fundamental conocer aspectos anatomo-funcionales del páncreas y sus células, ya que la posibilidad de remisión de esta enfermedad depende en la mayoría de los casos de la reserva funcional de este órgano.

El páncreas es una glándula mixta, pues su producción conjuga productos que van a la sangre (páncreas endocrino) y productos que van al tracto digestivo (páncreas exocrino.) El tejido exocrino está conformado por células acinares productoras de enzimas digestivas que contribuyen a la digestión de alimentos. El tejido endocrino lo conforman los islotes de Langerhans, que producen hormonas con diversas funciones y cuyo objetivo final es mantener el metabolismo glucídico. Así mismo, el páncreas está cubierto por una capa de tejido conectivo, rico en células mesoteliales, con finos tabiques que dividen la glándula en lóbulos. (Figura 1) (72;73)

Las células de los islotes están delimitadas en forma incompleta por una capa delgada de tejido conectivo reticular que se continúa en el interior de los islotes en escasa cantidad. Los islotes se componen de una serie de grupos celulares que están contenidos en una estructura altamente

organizada, donde las células  $\beta$  están en el interior del islote y el resto de los grupos se disponen en la periferia.(74;75) El tejido endocrino adulto contiene cuatro tipos celulares diferentes:

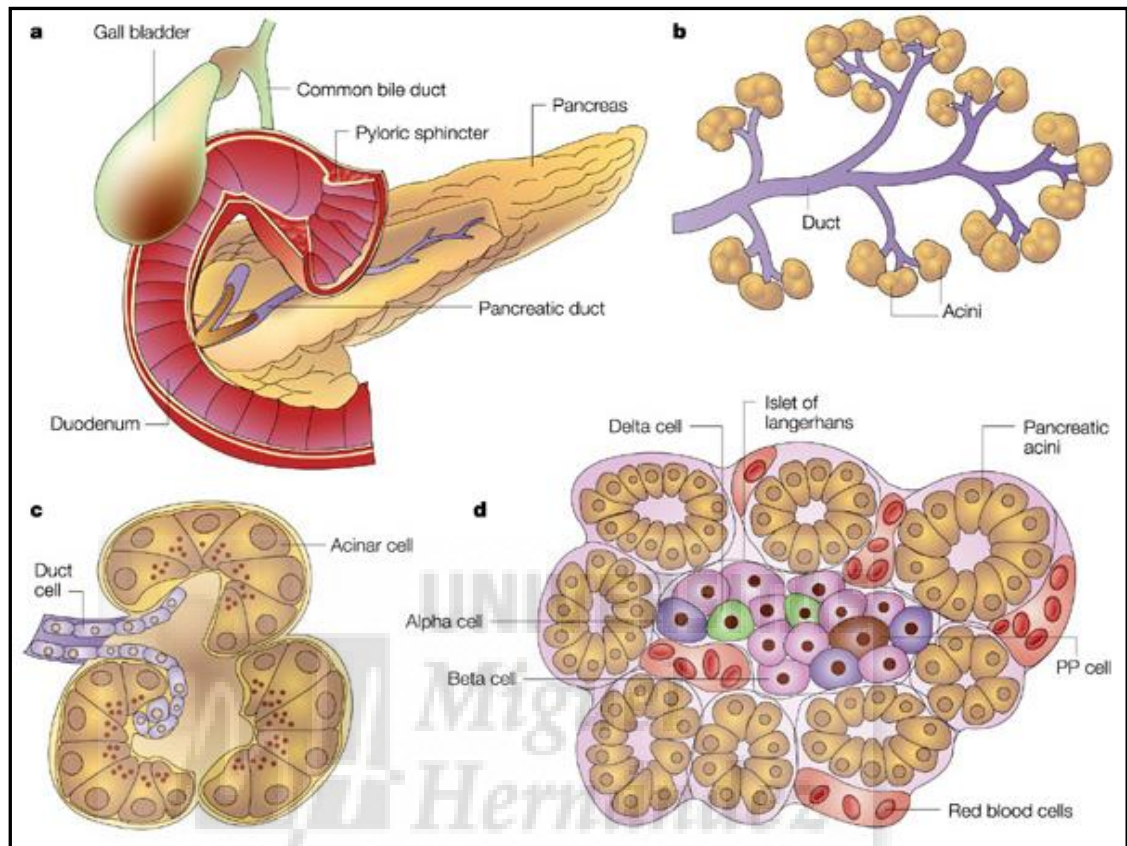


Figura 1. Páncreas: a) Relaciones anatómicas. b y c) Acinos y conductos pancreáticos. d) Estructura básica del islote de Langerhans con sus diferentes poblaciones celulares. Cortesía de Nabeel Bardeesy & Ronald A. DePinho. *Pancreatic cancer biology and genetics. Nature Reviews. 2002. Cancer 2, 897-909 (72)*

-Células  $\beta$ : productoras de insulina. Representan el 70 % de la población celular de los islotes.

-Células  $\alpha$ : son el 20% de la población celular y se encargan de producir el glucagón.

-Células  $\delta$ : productoras de somatostatina. Abarcan entre 5 a 10%.

-Y las células PP: productoras del polipéptido pancreático o PP, que suponen alrededor de 2%.

Existen algunos tipos celulares secundarios como por ejemplo las células productoras del polipéptido intestinal vasoactivo (VIP) y las células secretoras mixtas (o enterocromafines -EC).

Otro tipo celular, recientemente encontrado en la periferia del islote pancreático, es el parecido a las células neuronales de Schwann, ocupan menos de 1% y se cree que podrían ser importantes en la regeneración pancreática. (74;76)

## **2. DESARROLLO EMBRIONARIO DEL PÁNCREAS**

El desarrollo y la diferenciación de órganos como el páncreas requieren la activación de un conjunto único de transcripción de factores codificados genéticamente. Los estudios genéticos en ratones han revelado el papel de varias señales de transcripción celular en el páncreas. Estos factores determinan la diferenciación y proceso de neogénesis de las células  $\beta$  y en el humano este proceso se inicia a mitad de la gestación y permanece durante toda la vida, pero en menor grado. (77) La génesis de células  $\beta$  tiene lugar de manera análoga en ratones y seres humanos, aunque parece ocurrir durante un periodo más largo en el embrión humano. Cada etapa de la evolución del páncreas en roedores viene señalada con el día embrionario en que se lleva a cabo y se expresa con el código numérico que inicia por E. (78)

El páncreas es un derivado de los brotes endodérmico dorsal y ventral que surgen de la parte caudal del intestino anterior y que se fusionan durante la rotación del estómago e intestino. Cada brote tiene un sistema de conductos. El brote endodérmico dorsal formará la mayor parte del

páncreas (cabeza, cuerpo y cola). El brote ventral desarrollará el proceso uncinado y parte de la cabeza del páncreas. (Figura 2)(79)

Las señales de transcripción vienen determinadas por homeodominios que son secuencias de ADN de tres hélices y aproximadamente 60 aminoácidos, que transmiten un orden específica en la diferenciación celular. Cuando la información de uno de estos homeodominios se procesa el resultado induce a la diferenciación de cada estirpe celular. Cada célula depende de un tiempo apropiado de expresión de algunos de estos homeodominios. Uno de esos factores que es primordial en el desarrollo del páncreas es el Factor Promotor de Insulina (Pdx1) u homeodominio pancreático y duodenal tipo 1. (80)

El Pdx1 es un factor de transcripción expresado en varios tejidos y es necesario para el desarrollo de páncreas y maduración de las células  $\beta$ . Se ha detectado en todas las células embrionarias proto-diferenciadas y durante la neogénesis. (81) El gen que codifica al Pdx1 tienen el potencial de dar lugar a todas las líneas celulares en el páncreas, tanto células endocrinas como exocrinas, así como células de los conductos pancreáticos. El Pdx1 es el nombre más utilizado en los estudios realizados en roedores, y en los humanos es también conocido como Factor de Crecimiento Insulínico (IGF-1). No obstante se suele utilizar el nombre de Pdx1 en las estirpes celulares de mamíferos en general ya que se han detectado receptores de este factor en la periferia de células  $\alpha$  y  $\beta$  normales de roedores, perros y de humanos. Este factor se usa como marcador en células en diferenciación. (76)

El Pdx1 es constante en el desarrollo pancreático, pero a medida que el individuo va madurando, se va restringiendo progresivamente sólo a los

islotos, produciéndose en el 90% en las células  $\beta$ . El Pdx1 es esencial para la expresión, procesamiento y secreción de insulina, y es regulado por los niveles de glucosa.(82) Su sobreexpresión permite la expresión de glucagón y no de insulina.

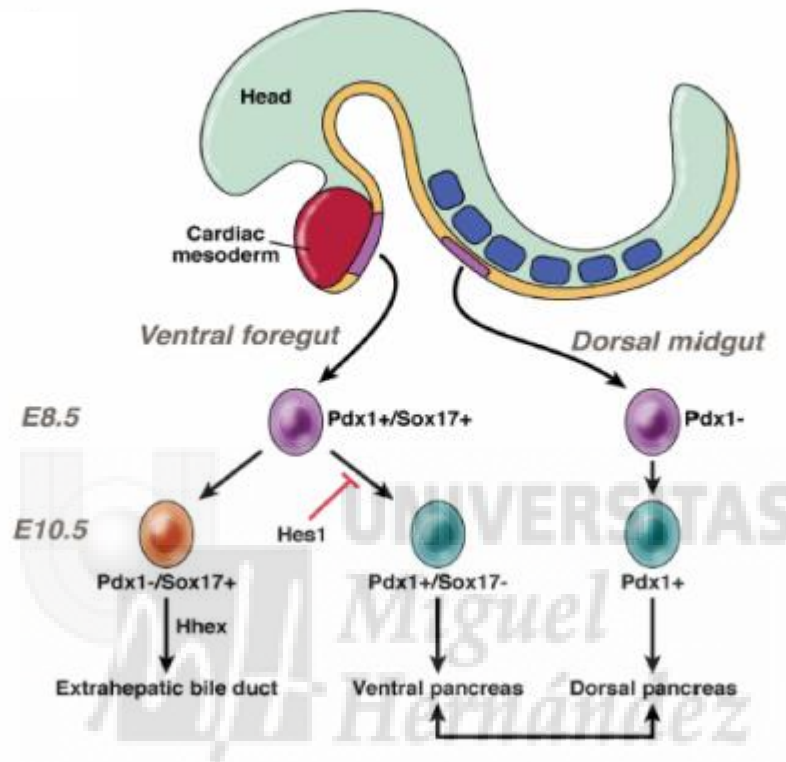


Figura 2. Desarrollo del páncreas: Regulación molecular del desarrollo del páncreas embrionario, 2 parches de endodermo (amarillo) -1 en el intestino anterior ventral (foregut) y otro en el dorsal del intestino medio (midgut) reciben señales de las estructuras para la especificación de páncreas (púrpura). Las células expresan el factor de transcripción Pdx1 entre la semana 8 y 9 (E8.5) Con el tiempo, una parte de las células estimuladas por Pdx1 + Sox17 dan lugar al conjunto de tejidos que componen la vía biliar extrahepática. En tanto otra parte de las células estimuladas por Pdx1 + Sox17 dan la yema del páncreas ventral que desarrollan el proceso uncinado y parte de la cabeza del páncreas. El endodermo dorsal sólo se ve estimulado por el Pdx1 y formará la cabeza, cuerpo y cola. Aproximadamente en E.10.5 se fusionan ambas yemas: ventral y dorsal durante la rotación del intestino. Cortesía de Ben Z. Stanger & Matthias Hebrok. Control of Cell Identity in Pancreas Development and Regeneration. Gastroenterology. 2013 June ; 144(6): 1170–1179.(79)

El Pdx1 promueve la diferenciación de las células madre embrionarias humanas hacia células endocrinas y exocrinas bajo el control del Factor de Transcripción Endodérmico tipo 2 (Foxa2.) Del mismo modo, a partir del Pdx1 se puede inducir la expresión de genes o de proteínas como la  $\beta 2$ /NeuroD, Pax4, Nkx2.2, Pax6 y Nkx6.1 que son necesarias para que las células ductales del adulto humano puedan lograr la diferenciación a las células  $\beta$ . Algunos de estos factores de transcripción y sus efectos se aprecian en el esquema de la Figura 3, donde se representa de forma comparativa el proceso de diferenciación celular pancreática entre el ratón y el hombre.(78)

La eliminación de Pdx1 de las células  $\beta$  diferenciadas en ratones da como resultado la pérdida del fenotipo y la incapacidad para expresar el receptor celular Glut 2 y la enzima glucokinasa, que son requeridas para la producción de insulina en respuesta a la glucosa. Aunque la expresión de Glut 2 se localiza en la membrana celular de las células  $\beta$ , también se han observado células Glut 2 dentro de los conductos pancreáticos en el nacimiento; sin embargo, descienden durante el período postnatal. Las mutaciones del gen que codifica para Pdx1 se asocian como causa de la diabetes MODY tipo 4.(83;84)

Por otro lado la hormona incretínica GLP-1 también podría jugar un papel importante en la generación de células  $\beta$ , en especial en modelos animales de diabetes. Esta hormona intestinal ejerce acciones insulínótropas, uniéndose a un homodímero de receptores de proteína G, que estimulan la secreción de insulina. (85) Se ha visto que también ejerce acción para diferenciar células embrionarias hacia células secretoras de glucagón y somatostatina.



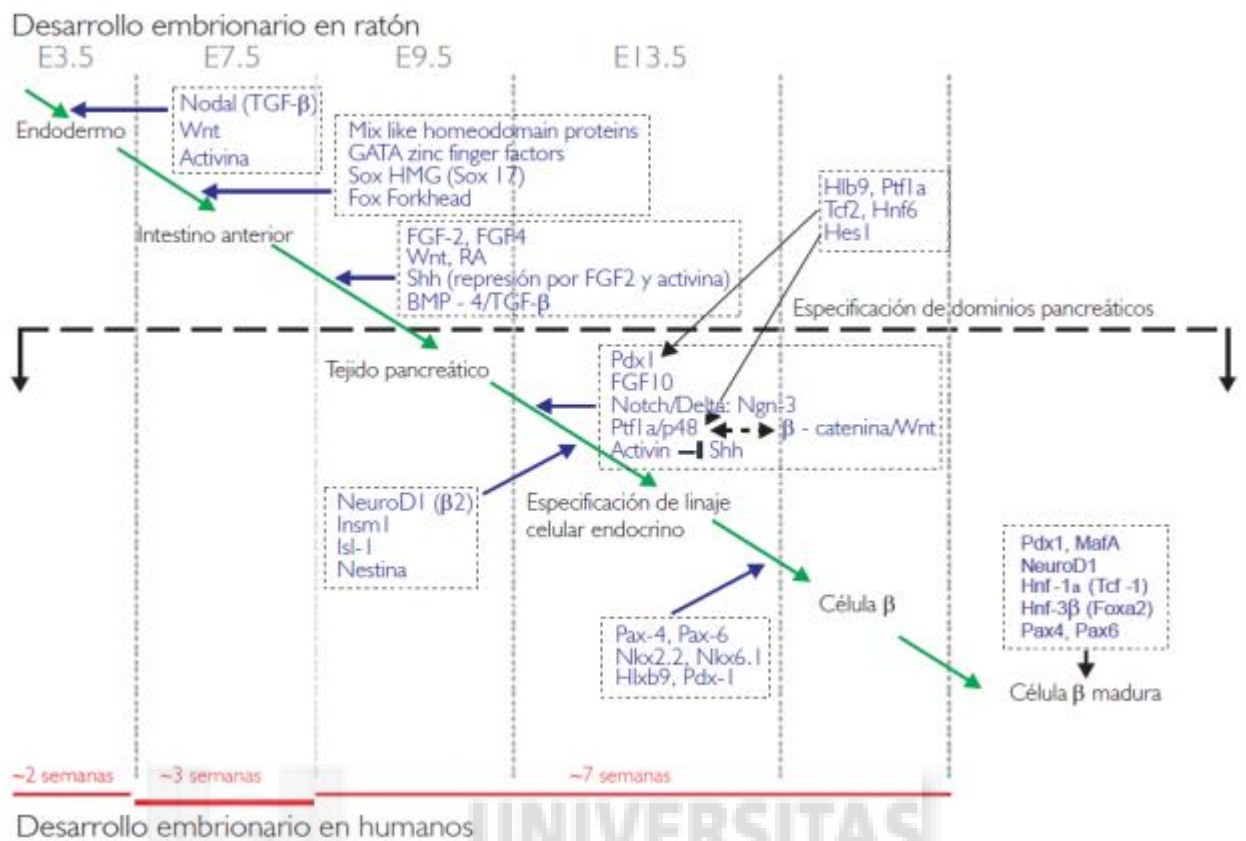


Figura 3. Desarrollo embrionario de las células  $\beta$ . La figura muestra una comparación aproximada entre el desarrollo embrionario del ratón y el del ser humano. La cascada de eventos comienza con la aparición del endodermo y se visualizan por etapas los distintos factores asociados a la generación y especificación celular para obtener células  $\beta$ . El tiempo está mejor descrito en los embriones de roedores (expresado como E) que en el humano. Los factores de transcripción Pdx-1, Ptf1a y Ngn-3 promueven la especificación celular endocrina y son vitales en el desarrollo celular. La célula  $\beta$  pancreática madura muestra una expresión de algunos de estos factores de transcripción. Cortesía de Olvera GCP, Leo AGE, Hernández MHL. Pancreas and  $\beta$  cells: Differentiation mechanisms, morphogenesis and endocrine cellular specification. *Regeneration? Bol Med Hosp Infant Mex.* 2008. 65:306-324.(78)

Así mismo, se conoce que los receptores para GLP-1 en la célula  $\beta$  son esenciales en el desarrollo de la diabetes, y que pueden activar la transcripción del factor Pdx1. De hecho este mecanismo suele estar bloqueada por las altas concentraciones de glucosa, explicando uno de los eventos de la glucotoxicidad. (86)

Otro factor de transcripción importante en el desarrollo de los islotes pancreáticos es la neurogenina-3 (Ngn3). Este factor tiene un papel crítico

en la transcripción de productos hormonales de las células de los islotes, especialmente las células  $\alpha$  y  $\beta$ . Su mutación resulta de una pérdida completa de las células endocrinas pancreáticas, así como del inicio de diabetes. En cambio su sobreexpresión influye en el desarrollo pancreático produciendo un aumento de las células endocrinas.(87) En realidad, se considera que el factor actúa a través de una subpoblación de células indiferenciadas pancreáticas precoces en los ductos pancreáticos. Estas células progenitoras se activan bajo la influencia de la Ngn3 que, a su vez, es capaz de diferenciar todos los subtipos posibles de células endocrinas, incluidas las células  $\beta$ . La mayoría de las células progenitoras Ngn3 surgen de dichas células progenitoras ductales, aunque se desconoce la naturaleza exacta de cómo se forman dichas células precursoras. (88)

La génesis embrionaria de las células  $\beta$  va seguida de una considerable expansión de la masa celular durante las etapas posteriores de la vida fetal. Se cree que ello ocurre principalmente a través de la replicación de las células  $\beta$  existentes, porque se asocia a índices ligeramente elevados de proliferación celular. (89)

### **3. DINÁMICA DE LAS CÉLULAS $\beta$ EN LA DIABETES**

Algunos estudios sobre el genoma han identificado de forma unánime numerosos locus que confieren una predisposición a la DM2; algunos de estos locus codifican reguladores conocidos del crecimiento o la regeneración de las células  $\beta$ .(90) Por otro lado también es conocido que las células  $\beta$  pueden tener una capacidad para aumentar su masa más pronunciada de lo que se había pensado. En los últimos años se han desarrollado nuevos instrumentos genéticos que ofrecen respuestas

inequívocas a las cuestiones relativas a los mecanismos moleculares exactos implicados en la generación de nuevas células  $\beta$ . (91)

La reserva funcional del páncreas endocrino es considerable, por lo que los síntomas clínicos de comienzo de la enfermedad en el caso de la DM1 o de empeoramiento del cuadro metabólico en el caso de la DM2 aparecen cuando la masa de células  $\beta$  pancreáticas es inferior al 10-20%. (92) Una estrategia terapéutica eficiente debería combinar el control de los factores causales de la enfermedad junto con la protección de la masa de célula  $\beta$  residual y la atenuación de los factores agravantes (control glucémico, control del sobrepeso, etc).

Como ya hemos descrito previamente los primordios pancreáticos en humanos son el origen de la estirpe celular de este órgano y ya son evidentes en la semana 4 de gestación. A la semana 10 ya es posible determinar marcadores para los 4 linajes celulares. Y esta producción continúa más allá del parto, siendo la producción de células  $\beta$  mayor que en el resto de las líneas celulares. (93)

La masa de células  $\beta$  experimenta un aumento progresivo y lento durante la vida de la persona, lo que podría reflejar una compensación por los progresivos incrementos de la demanda de insulina. (79;92) Se cree que la adolescencia puede ser un estadio dinámico del crecimiento celular porque existe un incremento particularmente pronunciado de la capacidad secretora, de esta como de otras hormonas. También, durante el embarazo cambia la masa celular  $\beta$ . En esta etapa tanto la hiperplasia como la hipertrofia explican un aumento de más del doble de las células  $\beta$ . Esto se ha demostrado claramente en roedores, y los datos de seres humanos concuerdan con este fenómeno. Las variaciones de las células  $\beta$

asociadas a la gestación se corresponden con un incremento de la proliferación de dichas células, el cual se debe en parte, según se cree, a aumentos de hormonas tróficas como el lactógeno placentario y la prolactina. Este proceso es sumamente reversible después del parto.(94)

Otro claro ejemplo de la capacidad dinámica de la masa de células  $\beta$  es la obesidad, un estado en que la resistencia a la insulina expone a dichas células  $\beta$  a un incremento considerable de la demanda. Las ratas y los ratones obesos experimentan un aumento que cuadruplica la masa de células  $\beta$ , y se ha confirmado una respuesta similar en los seres humanos obesos, aunque en un grado cuantitativamente inferior. Se cree que el incremento compensador de las células  $\beta$  explica que muchas personas obesas no padezcan diabetes mellitus a pesar del aumento masivo de las necesidades de insulina asociado a la obesidad. Asimismo, se deduce que probablemente una respuesta insuficiente sea el mecanismo subyacente a la hiperglucemia en las personas que acaban padeciendo diabetes mellitus. (95)

Dado el potencial dinámico de las células  $\beta$ , una de las preguntas más obvias es si el páncreas adulto tiene un nicho de células progenitoras o si el crecimiento de las células  $\beta$  se produce simplemente por la replicación de las células  $\beta$  preexistente. Un concepto arraigado sostiene que las células ductales son el origen de las progenitoras de nuevas células  $\beta$ . Este concepto deriva de la observación de que, en muchas ocasiones en que hay regeneración, se observa una evidente acumulación de células de los islotes en la inmediata proximidad de los conductos pancreáticos (y a veces incluso su aparición en la luz de los conductos). (79)

Años atrás se creía que las células progenitoras influenciadas por el factor de transcripción Ngn3 sólo estaban presentes en el páncreas embrionario; pero estudios recientes como los de Xu et al. (96) demuestran que pueden actuar como progenitoras de las células  $\beta$  en etapas postnatales, lo que indica que el páncreas adulto puede conservar la capacidad de restaurar vías que se destinan a formar nuevas células  $\beta$ . Además, en los seres humanos, anatómicamente los islotes se disponen en regiones yuxtaductales y esta característica es muy notoria incluso en condiciones normales; de manera que este reordenamiento celular da a entender a algunos investigadores que esta característica no es simple azar, sino que debe tener su explicación funcional. Se han propuesto otras vías de nuevas células  $\beta$  que deben considerarse en futuros estudios y entre ellas están las descritas en la Figura 4. (79)

1. Las células  $\beta$  sirven como progenitores para sí mismas. (97)
2. Las células de los ductos, expresan Ngn 3 tras lesión y pueden transmutarse a células  $\beta$ . (88)
3. La expresión de Pdx1, Ngn3 y MafA (“Musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene family A”) en las células acinares adultos promueve la reprogramación hacia células  $\beta$ . (79;82)
4. Células  $\alpha$  pueden sufrir una trans-diferenciación en células  $\beta$  después de su agotamiento. (98)

Con independencia del predominio relativo de alguna de las anteriores vías descritas (y de las fuentes de células no  $\beta$  en la regeneración) la masa de células  $\beta$  está influenciada por el delicado equilibrio que se establece entre la replicación y la apoptosis, así como directamente relacionada con la demanda de insulina por el metabolismo.

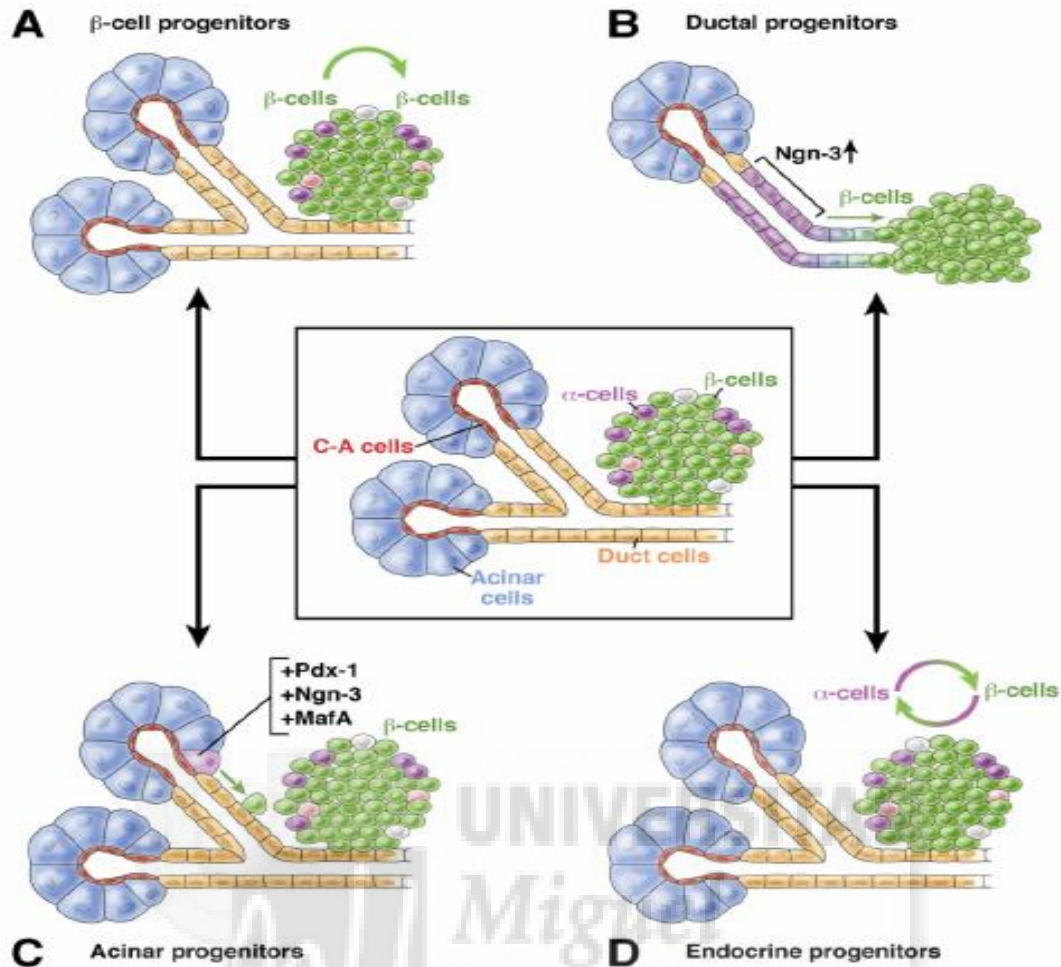


Figura 4. La Plasticidad celular en el páncreas adulto. Representación de los elementos estructurales del páncreas exocrino y el islote endocrino, incluyendo células  $\alpha$ - y  $\beta$ . (A) Las células  $\beta$  sirven como progenitores para sí mismas y se expanden a través de la proliferación. (B) Tras una lesión, conducto o células de los conductos asociada comienzan a expresar Ngn3, lo que podría dar lugar a la formación de células endocrinas, incluyendo células  $\beta$ -células. (C) La expresión de Pdx1, Ngn-3 y MafA en las células acinares adultas promueve la reprogramación hacia células  $\beta$ . (D) Células  $\alpha$  pueden sufrir trans-diferenciación en células  $\beta$  después de su agotamiento, mientras que las células  $\beta$  pueden convertirse en células  $\alpha$  o células no diferenciadas durante una situación de estrés. Cortesía de Ben Z. Stanger & Matthias Hebrok. Control of Cell Identity in Pancreas Development and Regeneration. *Gastroenterology*. 2013 June; 144(6): 1170–1179.(79)

Por otro lado, estudios como los de Talchai y colaboradores,(90) han demostrado que la disminución de las células  $\beta$  durante el embarazo y el envejecimiento, se asocia en mayor grado a una des-diferenciación de estas células y no a la muerte programada de las mismas. Este trabajo

vuelve a renovar una teoría expuesta por Weir (95) que ya entonces sugería que la des-diferenciación de las células  $\beta$  durante el desarrollo de la DM2, es un proceso que se produce porque las células pierden las características que las definen como tal, y por tanto regresan a un estado inmaduro previo (como en la época fetal o neonatal) conllevando a una alteración de la secreción de insulina (Figura 5).

**$\beta$ -cell dedifferentiation - endocrine dysfunction**

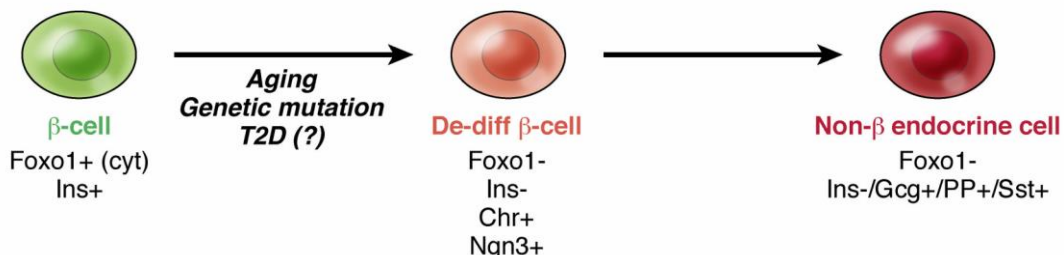


Figura 5. Proceso de Des-diferenciación de la célula  $\beta$ . Mecanismo por el que reduce la masa celular  $\beta$ . Se cree que este proceso se activa con el envejecimiento (Aging), debido a mutaciones (Genetic Mutation) e incluso en ambientes hiperglicémicos (T2D = DM2) Cortesía de Ben Z. Stanger & Matthias Hebrok. *Control of Cell Identity in Pancreas Development and Regeneration. Gastroenterology. 2013 June; 144(6): 1170–1179.*(79)

Otro interesante grupo de mecanismos reguladores del crecimiento celular está vinculado a las vías de señalización. La señalización mediante los receptores de la insulina y del Factor de Crecimiento Insulínico tipo 1 (IGF-1) es esencial para la masa de células  $\beta$  a merced de los efectos en la replicación y la supervivencia.(79;92) Otras señales extracelulares implicadas en el crecimiento de las células  $\beta$  también involucran a la hormona del crecimiento, al lactógeno placentario, la prolactina, el factor de crecimiento epidérmico, la gastrina y al GLP-1. Una de las principales motivaciones para comprender los principios moleculares del crecimiento de las células  $\beta$  estriba en las posibilidades de desarrollo de tratamientos

dirigidos para estimular el crecimiento controlado de las células  $\beta$ . El uso terapéutico de las incretinas proporciona un claro ejemplo de este concepto. Estudios en roedores han indicado que una parte de los efectos beneficiosos de los análogos del GLP-1 y de los inhibidores de la degradación enzimática del GLP-1 (inhibidores de la DPP-4) es justamente el estímulo a la regeneración de las células  $\beta$ . De hecho algunos de estos nuevos fármacos fundamentan su efecto en la capacidad para aumentar la masa celular  $\beta$ . (99) Sin embargo, su efecto se pierde al suspender la medicación con lo cual se sigue escapando el mecanismo que logre establecer una dinámica estable en las células  $\beta$ .

Pruebas en ratones también muestran considerable plasticidad dentro de islotes, lo que permite conversiones de las células de los islotes en una u otra estirpe, según las necesidades del organismo y sólo de cara a una extrema destrucción de células  $\beta$ . (98) En este sentido trabajos como el de Bramswing et al.(100) han demostrado ser útiles pues describen que gracias a líneas celulares clonales seleccionadas para ciertas características, tales como defectos de secreción después de la exposición alta a glucosa o una glucotoxicidad crónica o la susceptibilidad a la muerte inducida por citoquinas pueden ejercer un efecto de peso mayor del que se pensaba, como veremos más adelante. (101)

#### **4. PÉRDIDA DE LA MASA CELULAR $\beta$**

Los aspectos relacionados con la proliferación, supervivencia y destrucción de la célula  $\beta$  pancreática están siendo objeto de estudio por muchos grupos de investigación en los últimos años. Estas investigaciones han generado un modelo patogénico en el que la apoptosis de la célula  $\beta$  junto



con una capacidad limitada de regeneración de la misma, a partir de sus células progenitoras que conduce a una insuficiencia del páncreas endocrino para controlar el metabolismo glucídico. Los efectos colaterales de esta pérdida de control metabólico conducen a su vez a complicaciones importantes asociadas a la glucotoxicidad. (92;96;101;102)

Se conoce que el descenso relativo o absoluto de la masa de células  $\beta$  pancreáticas es el común denominador de todas las formas de diabetes. Pero a diferencia de anteriores conceptos, se ha demostrado que la deficiencia parcial de las células  $\beta$  es el principal defecto fisiopatológico en la DM2 y no solamente una característica de la DM1 (en la que la deficiencia es más completa). (92)

La muerte de la célula  $\beta$  es el factor clave en la DM1, ya que cuando la masa celular disminuye por debajo de unos niveles críticos, aparecen los síntomas clínicos que a su vez son reflejo de la hiperglucemia grave y de las complicaciones metabólicas resultantes.(98) Sin embargo, el concepto de daño de la célula  $\beta$ , últimamente también se ha hecho patente en el desarrollo de la DM2, donde quizás el proceso destructivo tiene un papel más insidioso, pero que indefectiblemente termina por desencadenar una insuficiencia pancreática. Esto quizás sea debido a que la masa de células  $\beta$  varía a lo largo de la historia natural de la enfermedad.(102) Una evidencia de ello se observa en las personas en las que la evolución de su diabetes primariamente se controla con dieta, luego se controla sólo si asocian al tratamiento, antidiabéticos orales y aun así terminan por necesitar la administración de insulina para regular la glucemia.

La apoptosis es un proceso de muerte celular regulada que participa en el modelamiento del organismo durante el desarrollo embrionario y en el

control de las poblaciones celulares en la vida adulta. Tanto el exceso de muerte apoptótica como su defecto están actualmente implicados en el desarrollo de numerosas enfermedades.(103;104) Esta vía de muerte programada está regulada de una manera compleja y básicamente consiste en su control por señales extracelulares que ponen en marcha un proceso autodestructivo en el que la mitocondria actuaría como arsenal que libera factores apoptogénicos que inician un proceso de destrucción de proteínas claves para la supervivencia celular y la del ADN. Estas señales extracelulares pueden ser proteínas producidas por otras células que en este caso actuarían como inductoras, pero también pueden ser moléculas pequeñas que pueden llegar a ser tóxicas para células con defensas disminuidas o incluso factores ambientales como radiaciones, o sustancias presentes en los alimentos. (101)

Es importante resaltar que la muerte celular por apoptosis es consecuencia de una acción predominante de factores denominados pro-apoptóticos y que las células tienen mecanismos de defensa que contrarrestan buena parte de las señales extracelulares que están recibiendo. Por ello, el destino final de la célula resulta de la capacidad que tienen sus sistemas de defensa para contrarrestar el ataque. Dada la complejidad del proceso de muerte celular por apoptosis y de su regulación, los estudios experimentales realizados hasta ahora en modelos animales y celulares de DM1 y DM2 muestran un escenario diverso, donde el mecanismo es nuevamente multifactorial (Figura 6)(105). De todo esto se deduce que el determinante real de la disminución de la masa de células  $\beta$  en el individuo con DM2, es un aumento de la tasa de apoptosis.

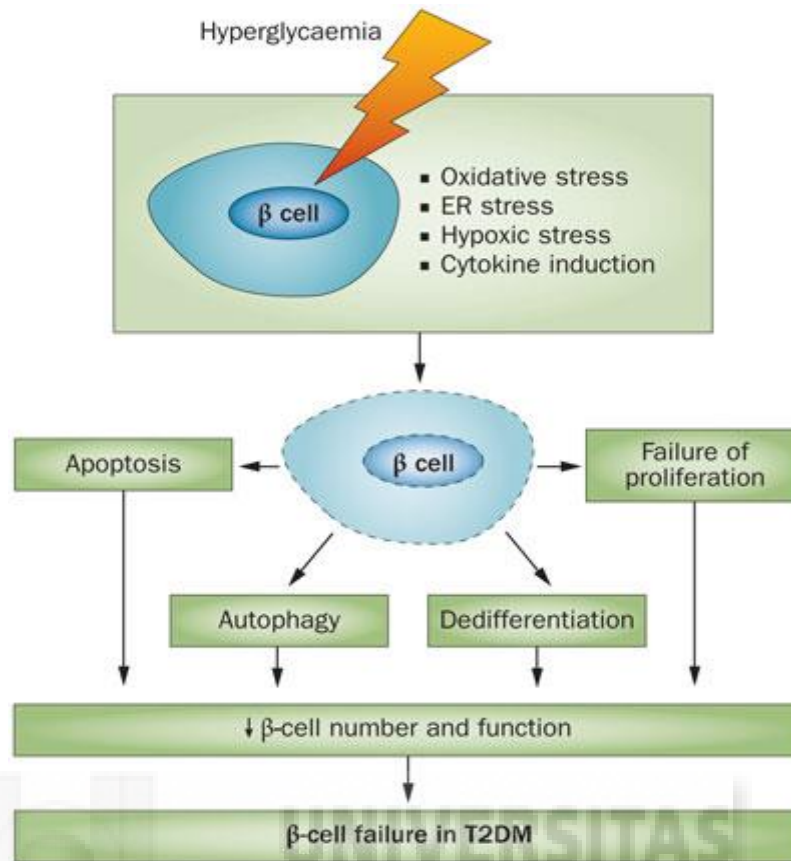


Figura 6. La disminución de la masa celular  $\beta$  ocurre por diferentes mecanismos, tales como: la apoptosis, la des-diferenciación y fallos en la regeneración. Todos ellos influenciados por un medio metabólico alterado que genera un estrés oxidativo. Cortesía de Tadahiro Kitamura *The role of FOXO1 in  $\beta$ -cell failure and type 2 diabetes mellitus. Nature Reviews Endocrinology. 2013. 9, 615-623. (105)*

En lo que se refiere a los mecanismos de destrucción celular propiamente dichos, las citoquinas solubles del tipo la interleukina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) interferón gamma (INF- $\delta$ ) y el Factor de Necrosis Tumoral A (TNFa), tienen una acción apoptótica marcada sobre células  $\beta$  y podrían por tanto estar implicados en el proceso destructivo en la diabetes.(106) Buena parte de las acciones deletéreas de la IL-1 $\beta$  dependen de la producción de óxido nítrico en el interior de la célula. Esta molécula tiene diversas acciones dependiendo de su concentración en el interior de la célula y de su combinación con otras moléculas generadas en situaciones de estrés oxidativo. La IL-1 $\beta$  induce la expresión de una forma muy activa de la

enzima que cataliza la generación de óxido nítrico a partir del aminoácido arginina, la isoforma 2 de la sintetasa del óxido nítrico (NOS2). En estas condiciones, la producción de altas concentraciones de óxido nítrico desborda los mecanismos de neutralización que por otra parte son poco eficaces en la célula  $\beta$  y por tanto se pone en marcha el proceso de destrucción celular por apoptosis.(107)

La intervención terapéutica temprana en la DM2 es básica para preservar la función de las células  $\beta$ . Muchos investigadores afirman que los mejores resultados de remisión de DM2 ocurren en sujetos con una historia más corta de evolución de la enfermedad. Si bien en los individuos obesos esta mejora se determina porque la disminución de peso mejora la RI, en los individuos diabéticos no obesos es fundamental evitar el agotamiento de las células  $\beta$  del páncreas.

El estrés metabólico y un medio inflamatorio crónicos generan un deterioro en las células  $\beta$ ; son condiciones que a su vez son consecuencias del fallo de las mismas, lo que crea un círculo vicioso que culmina con el fallo pancreático, que una vez establecido difícilmente se puede revertir. Es posible que el páncreas se someta a un período de la regeneración dentro de un período compensatorio temprano y, en ese período, niveles normales de glucemia puedan recuperar la funcionalidad de la masa celular  $\beta$  pero si la hiperglucemia persiste, los mecanismos compensatorios se agotan.(106) En este sentido, se maneja una hipótesis propuesta por Fenske y colaboradores en 2012 (108) donde el efecto de glucotoxicidad puede provocar un daño inmunológico tal que lo que en inicio fuera una respuesta inmune natural, con el tiempo se convierta en una respuesta condicionada por un mecanismo de memoria inmunitaria,

pasando la DM2 a considerarse como una DM1. Las investigaciones moleculares a nivel celular están llevando a este camino.

## **5. MECANISMOS QUE GENERAN DISFUNCIÓN DE LAS CÉLULAS $\beta$**

Muchos factores de estrés fisiológicos afectan la función de células  $\beta$ . Las células  $\beta$  responden a la activación de vías de compensación para mejorar la respuesta secretora de insulina en presencia de hiperglucemia. Sin embargo, al mismo tiempo se activan varios programas intrínsecos que sinérgicamente promueven la disfunción de estas células y, en última instancia, la muerte de las mismas.(103) Existen múltiples factores que promueven la disfunción de la masa celular  $\beta$ , entre ellos describimos los siguientes:

### **5.1.- El estrés del Retículo Endoplásmico**

El estrés del Retículo Endoplásmico (RE) parece surgir cuando se incrementa la producción de insulina para satisfacer la demanda metabólica aumentada. Ello hace necesario el aumento de flujo a través del RE rugoso, con la tensión evidente en la respuesta a proteínas desplegadas que activan la vía secretora de la proinsulina. Tales cambios pueden promover la disfunción secretora de las células  $\beta$  y, si la condición se mantiene en el tiempo, la apoptosis celular. (109)

En un estudio publicado en 2012, investigadores de la Universidad de San Francisco (UCSF)(110) han descrito que la destrucción de las células  $\beta$  y la diabetes subyacente tiene su fundamento en una proteína llamada Tiorredoxina de interacción (TXNIP). Esta molécula actúa como cofactor proteínico y parece clave en la amplificación del estrés del RE en las

primeras etapas de la diabetes. La TXNIP tiene la capacidad de activar un sistema inflamatorio de citocinas a través de interleucina 1. (IL-1) La inhibición de la TXNIP en las personas puede proteger sus células  $\beta$  de la apoptosis inducida por inflamación y, tal vez, retrasar la aparición de la diabetes.(111)

### **5.2.- Estrés Metabólico y Oxidativo**

El estrés Metabólico y Oxidativo Metabólico se deriva de una alteración en el estado nutricional, es decir, es una condición que suele estar asociada a la obesidad extrema. En casos de obesidad mórbida, el daño a la célula  $\beta$  se produce por tres elementos: la glucotoxicidad, la lipotoxicidad, y la gluco-lipotoxicidad.(112) La relación entre estos 3 elementos y la respuesta inflamatoria autoinmune de los sujetos obesos diabéticos está muy bien descrita en varios estudios. Más adelante se hará un análisis del estrés oxidativo asociado a la glucotoxicidad, que es el fenómeno que destaca en los sujetos diabéticos no obesos.

Tal vez, un concepto emergente es el vínculo entre el estrés oxidativo y el daño del ADN que conduce a la expresión de un factor de transcripción alterada. Aunque las células  $\beta$  están programadas para proveer de energía a través de la producción de ATP y generar mecanismos de señalización secundaria aún en un ambiente rico en procesos oxidativos, trabajar continuamente en este medio agota su capacidad. Ello es debido a que las células  $\beta$  carecen de ciertas enzimas antioxidantes que disponen otras estirpes celulares que son reactivas con el oxígeno y sus derivados. El aumento de la producción de derivados oxidados puede promover la disfunción de la masa celular  $\beta$  y con ello promover a su disfunción. (106)

### **5.3.- Inflamación**

Es ampliamente conocida la relación de la obesidad con un estado pro-inflamatorio crónico. Y este estado de inflamación promueve la RI, manifestaciones clínicas de la DM2 y el síndrome metabólico. No obstante, esta asociación no parece tan clara cuando existen individuos obesos sin DM2 y, por el contrario, individuos delgados con la enfermedad. Más allá de la predisposición genética hay varias líneas de investigación abiertas que tratan este tema desde el punto de vista de la respuesta inflamatoria.(113)

Es evidente que la inflamación crónica de bajo grado juega un papel importante en la patogénesis de la RI. De hecho los individuos diabéticos con RI cursan con niveles elevados de Proteína C Reactiva (PCR) y de citocinas proinflamatorias tales como el TNF $\alpha$  y la interleukina-6 (IL-6),(114) pero no así en los pacientes no diabéticos, independientemente de su IMC. Otros marcadores que se han estudiado son: el ácido siálico, la glicoproteína ácida  $\alpha$ -1, el cortisol y la interleukina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ). (106;112;115) En todos ellos y otras citocinas proinflamatorias similares puede establecerse un nexo con la génesis de la DM2 y con la presencia de eventos cardiovasculares o enfermedades renales, independientes del grado de obesidad. (116) Todo ello sugiere que la DM2 es en sí una enfermedad inflamatoria, cuyos mecanismos aún no se han descubierto.(2)

La histología de islotes de pacientes con DM2 posee características típicas de la inflamación del tejido incluyendo la expresión de citocinas y quimiocinas. Además son característicos de individuos diabéticos cuyos islotes estén desestructurados por la presencia de infiltrado celular

inflamatorio, de amiloide, de fibrosis e incluso por la masa de células  $\beta$  en apoptosis. (113) Antes se pensaba que esto era consecuencia de la evolución natural de la enfermedad y que la causa de esta infamación era exclusivamente atribuible al estrés metabólico, es decir, hiperglucemia elevada y los niveles altos de AGL. Sin embargo, si bien es cierto que estos elementos son condicionantes para la génesis del proceso, investigadores como Phillips et al. (117) han demostrado una serie de fenómenos en cascada dentro de las células del islote pancreático, en especial de las células  $\beta$ , que se activan como respuesta inmunológica innata (Figura 7).(118)

Mientras que el proceso inflamatorio anterior puede contribuir a la secreción de insulina defectuosa en pacientes con DM2, el sistema inmune también puede contribuir a la adaptación de células  $\beta$  durante los estados de aumento de la demanda de insulina. De hecho, la IL-6 es elevada de forma aguda por el ejercicio y crónicamente por la obesidad y la DM. La IL-6 también estimula a las células  $\alpha$  del páncreas a secretar glucagón.(2)

También refuerza la importancia de las interacciones locales entre las células  $\alpha$  y  $\beta$ . Más allá de las vías inflamatorias descritas anteriormente, el sistema inmune adaptativo puede eventualmente también ser activado en pacientes con DM2. De hecho, se han detectado en los islotes de sujetos con DM2 un tipo de célula inmunológica del tipo linfocito T, llamados: linfocitos T-autoantígeno sensible. Su número aumenta con el tiempo y parece que se correlacione con una la precipitación de la progresión de la enfermedad.(123) No obstante, el papel de la autoinmunidad de islote en el contexto de la DM2 y sus mecanismos aún no se ha dilucidado.



#### **5.4.- Amiloide en el páncreas**

La Amilina es una proteína que funciona como parte del páncreas endocrino y contribuye al control de la glucemia. El péptido se secreta a partir de los islotes pancreáticos en la circulación sanguínea. La función metabólica de la amilina es comparable a la insulina en el sentido de que se activa ante la presencia de glucosa en sangre, pero actúa como un inhibidor de la aparición de la glucosa en el plasma.(124)

Por lo tanto, funciona como un socio sinérgico a la insulina, con la que se secreta a partir de células  $\beta$  pancreáticas en respuesta a las comidas. El efecto global es reducir la velocidad de aparición de la glucosa en la sangre después de comer; esto se logra a través de coordinar ralentizar el vaciado gástrico, la inhibición de la secreción de ácido en el estómago o de enzimas pancreáticas, o de la expulsión de bilis por parte del hígado. También se conoce un efecto anorexígeno a nivel central. Así mismo inhibe la neoglucogénesis compensadora a través de la liberación de glucagón. Sus efectos colectivamente reducen la demanda total de insulina. (123)

La amilina se genera en las células  $\beta$  en forma de un precursor denominado IAPP. Cuando la demanda de insulina aumenta en la DM2, la demanda de amilina también. Sin embargo, las enzimas que convierten las moléculas precursoras en la insulina (proinsulina) y de amilina (IAPP), no son capaces de mantener una actividad elevada, y por lo tanto a expensas de formar más insulina se empieza a acumular IAPP. La agregación de gránulos de IAPP conduce a la formación de amiloide dentro de los islotes que puede conducir a la apoptosis inducida por amiloide de las células  $\beta$ .(119-121)

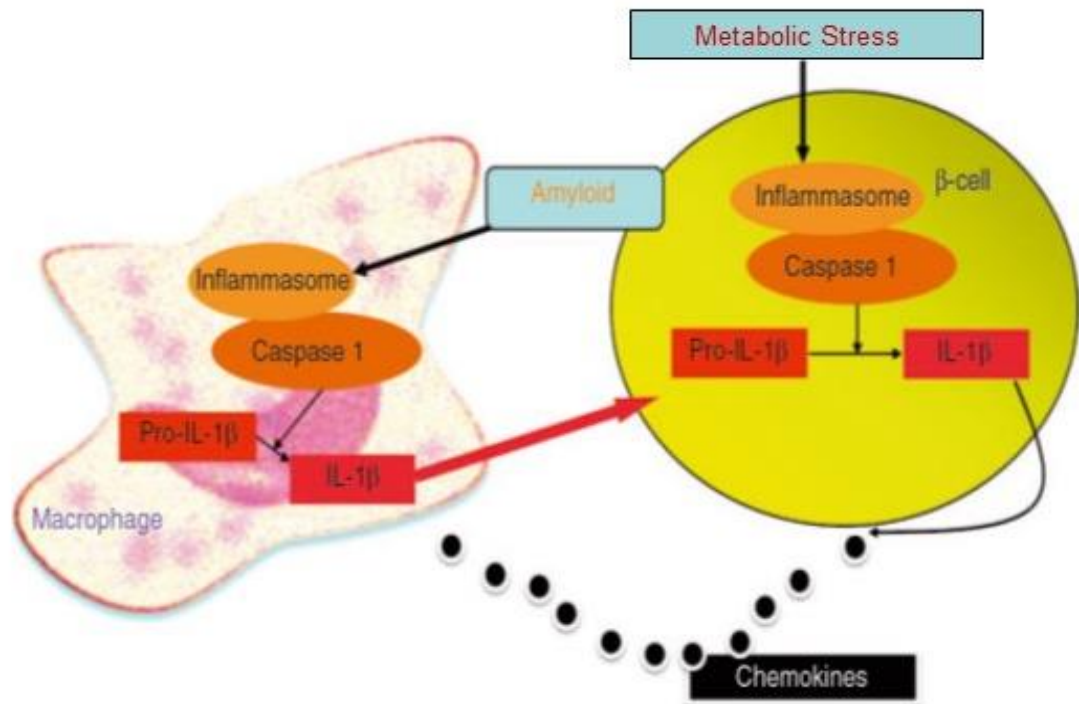


Figura 7. Inflamación en la célula  $\beta$ . La hiperglucemia y niveles elevados de AGL activan receptores en la célula  $\beta$  llamados inflamosoma. Estas proteínas activan una cascada inflamatoria que involucra a la interleukina-1 $\beta$  que a su vez promueve la liberación de quimiocinas seguido por reclutamiento de macrófagos como respuesta inflamatoria natural y rápida. No obstante estos macrófagos magnifican la señal inflamatoria secretando más citocinas. Además el amiloide también contribuye a reclutar más células inflamatorias y cuando el proceso se hace crónico el páncreas se ve infiltrado por otras células inflamatorias. Todo este sistema se retroalimenta y conlleva a concentraciones perjudiciales de IL-1 $\beta$ . Cortesía de: Donath MY. Targeting inflammation in the treatment of type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab.* 2013;15(Suppl. 3):193–196.(118)

### 5.5.- La integridad y organización de los islotes pancreáticos

Los estados de hiperglucemia generan estados inflamatorios que alteran la integridad y organización de los islotes pancreáticos. Es por todos conocidos que el páncreas en individuos con DM2 suele estar infiltrado por células inflamatorias. Así mismo, el acúmulo de amiloide contribuye a la apoptosis celular. Esta condición puede contribuir a la mala regulación de la secreción de insulina y glucagón, quizás contribuyendo a la

hiperglucagonemia que exacerba la hiperglucemia en DM2. Además, la pérdida de la integridad de los islotes podría disminuir la respuesta de las células  $\beta$  a las incretinas. (106)

## **6. LA GLUCOTOXICIDAD**

La glucotoxicidad es un concepto renovado que está íntimamente involucrado tanto en la patogénesis de la DM2 como en su evolución en el fracaso secundario al tratamiento farmacológico con hipoglucemiantes orales. Se dice que es un concepto renovado pues ya en 1940 Haist, Campbell y Charles Best, sugirieron la teoría de la glucotoxicidad y más tarde el término fue retomado por Rossetti.(122) Por otro lado, Unger y sus colegas también proponen que dentro del concepto de glucotoxicidad se incluya la sobreestimulación continua de la célula  $\beta$  por la glucemia elevada, lo que podría eventualmente conducir a agotamiento de las reservas de insulina, el empeoramiento de la hiperglucemia, y finalmente el deterioro de la función celular  $\beta$ . (123)

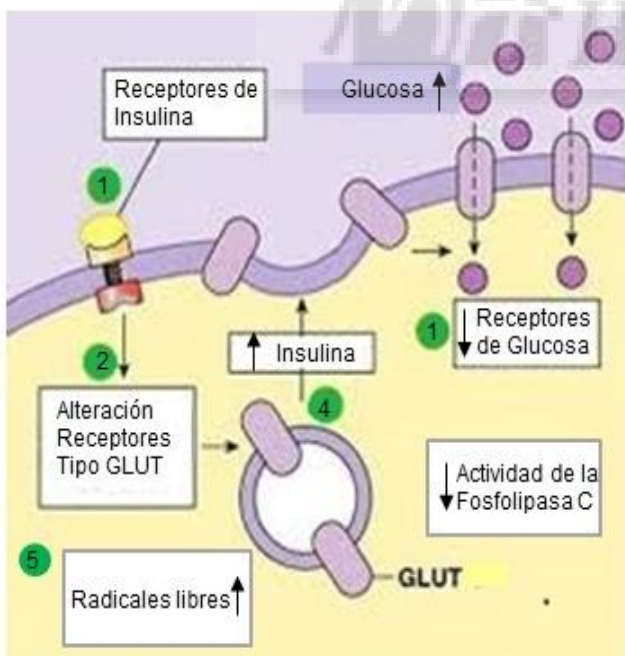
La glucotoxicidad puede definirse como el conjunto de efectos adversos que producen los altos niveles de glucosa en sangre de forma crónica ejerciendo un efecto deletéreo sobre las estructuras celulares y sus funciones. Estos niveles moderados y altos de glucosa, mantenidos en el tiempo, pueden inducir un estado de resistencia a la insulina (RI) y disminución progresiva de la secreción de dicha hormona.(122)

La acción principal de la glucotoxicidad en la fisiopatología de la DM2 es la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) a través de su relación con el estrés oxidativo que afecta a las células  $\beta$ .(124) Como hemos comentado previamente, las células  $\beta$  tienen niveles muy bajos de

enzimas antioxidantes en comparación con otros tejidos, lo que sugiere que esta estirpe celular es especialmente vulnerable al estrés oxidativo. Sin embargo, más allá del estrés oxidativo es evidente que son diversos los efectos tóxicos de la glucosa en la célula  $\beta$  y cabe destacar que aunque la masa celular no haya disminuido, la función celular sí está fuertemente alterada. Toda esta situación sugiere que los niveles de hiperglucemia crónica, por sí misma, pueden inducir un defecto funcional en la liberación de insulina. Los mecanismos que se generan por efecto de la glucotoxicidad se relacionan directamente con la producción y función de la insulina, así como con la RI.(125) Algunos de estos mecanismos se resumen en el siguiente cuadro (Figura 8).

Los mecanismos que generan un exceso de glucosa en sangre pueden ser variados entre ellos(126):

Figura 8. Mecanismos de Glucotoxicidad.



#### MECANISMOS DE GLUCOTOXICIDAD

1. Glicosilación de proteínas. Tanto de la insulina como de los receptores de la hormona o de la glucosa.
2. Alteración receptores de glucosa tipo GLUT.
3. Disminución de actividad de fosfolipasa C.
4. Secreción descompensada de insulina.
5. Aumento radicales libres

1. La Glicosilación de proteínas. En un medio excesivamente hiperglucémico; la glucosa se une a los terminales N de las proteínas y se altera su función. Esto puede ocurrir en la propia hormona insulina, como en los receptores de insulina o de glucosa.

2. Disminución de la síntesis y actividad del transportador de glucosa 4 (GLUT 4) en el músculo y en la célula  $\beta$  (GLUT 2). Estos receptores son esenciales para el metabolismo glucídico celular. Ante un aumento de glucosa en sangre el organismo compensa reduciendo el número o actividad.

3. Disminución de la actividad de la fosfolipasa C. Esta enzima es necesaria para la formación de inositol fosfatos, que participan en la secreción insulínica. Disminuyendo su actividad también se altera la producción de insulina y se acumula proinsulina.

4. Secreción descompensada de insulina. La hiperinsulinemia tiene un efecto de retroalimentación negativa frenando la síntesis de la hormona.

5. Aumento de radicales libres. La glucosa actúa como un radical libre produciendo citotoxicidad.

*Glucolipototoxicidad.* En los casos de individuos obesos y diabéticos se acepta que la DM2 es una enfermedad tanto del metabolismo de los carbohidratos como de las grasas y que la diabetes tiene un fundamento en la RI. No obstante, no todos los obesos desarrollan diabetes, por lo que se deduce que existe una susceptibilidad genética a desarrollarla cuando los factores ambientales se conjugan para ello. Los obesos con RI, tienen un gran aumento de la lipogénesis, que es la forma de depósito del exceso de calorías como triglicéridos, pero también presentan una lipólisis

aumentada comparado con sujetos de peso normal o delgados y a consecuencia de ello una elevación de los Ácidos Grasos Libres (AGL) y de la RI.(127;128)

Es conocido que los AGL son el nexo entre obesidad, la RI y la hiperinsulinemia; y que el aumento crónico de ellos induce también disminución de la secreción insulínica con intolerancia a la glucosa (IG) y que finalmente desemboca en la clínica de la DM2. Por otra parte, hiperglucemias crónicas leves o moderadas, propias de la IG, mantienen y exacerban los defectos secretorios de insulina observados en la DM2 y ello contribuye a su vez a la RI, en sujetos no obesos. Visto así, los niveles altos de glucosa no sólo representan la manifestación bioquímica de la enfermedad, sino que son en sí mismos un factor responsable y permanente de mantener el estado diabético. En DM2, ya sea lo inicial el daño de la célula  $\beta$  o la RI, la hiperglucemia juega un papel central en iniciar y mantener estos defectos.(128)

## TÉCNICAS QUIRÚRGICA EN CIRUGÍA BARIÁTRICA Y METABÓLICA

### 1. GENERALIDADES

La cirugía bariátrica ha demostrado ser el tratamiento más eficaz para los pacientes con obesidad mórbida.(129) Las diferentes técnicas de cirugía bariátrica han sido desarrolladas con base en la modificación de la capacidad de ingesta o de la superficie de absorción de los nutrientes. Con estas variaciones se logra que se altere el patrón de secreción de todos los péptidos que regulan la ingesta tanto en el metabolismo de los lípidos como de los glúcidos. En la actualidad existen diversas técnicas quirúrgicas para el tratamiento de la obesidad mórbida, pero aún hoy, todavía es difícil aceptar de forma generalizada cuál es la técnica más idónea para la pérdida mantenida de peso a menor riesgo quirúrgico, menores complicaciones, menor coste y, sobre todo, capaz de reducir las comorbilidades asociadas a la obesidad.

La gran diversidad de modificaciones en los tres grupos principales de técnicas quirúrgicas (restrictivas, malabsortivas y mixtas) demuestra que no hay un firme fundamento fisiopatológico que permita diseñar la que se podría considerar la más adecuada. Y ello muy probablemente se debe, por una parte, a las dificultades impuestas por la compleja etiopatogenia de la enfermedad y por otra, a que son escasos los modelos experimentales existentes.(130)

Desde el trabajo de Buchwald et al. (131) el bypass Gástrico en Y de Roux (BPG) es el procedimiento que más datos ha aportado en este sentido, pero los resultados más consistentes en el tiempo corresponden a la Derivación Biliopancreática (DBP). Lo único claro hasta hoy en día es que las técnicas restrictivas puras logran reducciones ponderales menores que

las técnicas malabsortivas, y que éstas últimas, aunque tienen un efecto terapéutico más permanente en el tiempo, generan muchos problemas de déficit de nutrientes.(38) A continuación en la Tabla 1, se esquematiza una clasificación general de las técnicas bariátricas y metabólicas más utilizadas.

Tabla 1. Técnicas Quirúrgicas De Cirugía Bariátrica y Metabólica.

TIPO	TÉCNICA	CARACTERÍSTICA
<b>MALABSORTIVAS PURAS</b>	Bypass yeyunoileal (JIB)	No se practica actualmente
<b>RESTRICTIVAS</b>	Gastroplastia anillada	En desuso
	Banda Gástrica Ajustable (BGA)	Efectividad según dispositivo
	Gastrectomía Vertical	Indicación única Vs. Primer paso de un Switch
<b>MIXTAS</b>	Bypass Gastrointestinal en Y de Roux	GOLD-STANDAR
	Derivación Biliopancreática	(Scopinaro, Larrad, Marceau)
	Cruce Duodenal (CD) o <i>Switch Duodenal</i> .	Alta Dificultad Técnica
	Minibypass Gástrico (MBG)	Mixta de Asa corta
<b>EXPERIMENTALES</b>	Trasposición Ileal (TI)	Malabsortiva con intención metabólica
	Derivación Duodenoileal de una anastomosis. ( <i>Single Anastomosis Doudeno-ileal + Sleeve Gastrectomy</i> )	SADI –SG cirugía metabólica.
	Bypass Gástrico de una sola anastomosis	BAGUA – variante del MBG.
	Bypass Duodenoeyunal (DJB) sin gastrectomía	Intención tratamiento DM2
	Gastroplastia Tubular Plicada (GTP)	Restrictiva

Además están las técnicas bariátricas endoscópicas tales como:

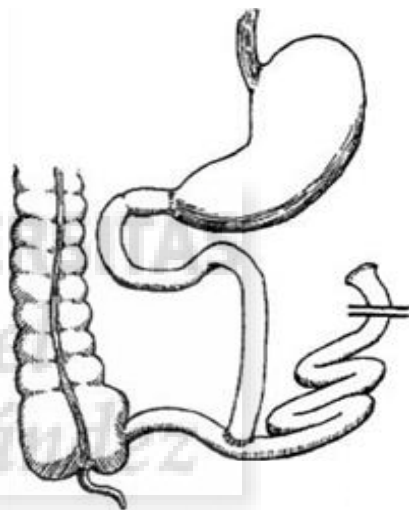
- Balón intragástrico (restrictiva)
- Endobarrier (malabsortiva)
- POSE - *Primary Obesity Surgery Endoluminal* (restrictiva)



## 2. DESCRIPCIÓN DE LAS TÉCNICAS QUIRÚRGICAS ASOCIADAS A CIRUGÍA BARIÁTRICA Y METABÓLICA.

### I. TÉCNICA MALABSORTIVA - BYPASS YEYUNO-ILEAL

Esta técnica desfuncionalizaba el intestino, al seccionarlo a nivel del yeyuno alto, haciendo luego una anastomosis de la boca yeyunal proveniente del estómago al íleon terminal, abandonando el cabo excluido (Figura 1). Su aplicación tiene origen en los inicios de la década de los cincuenta (R. Varco 1953) y su fundamento era la exclusión del paso de los alimentos a nivel de intestino proximal, puesto que se había observado que este mecanismo promovía la reducción de peso. (132) Sin embargo mientras se practicó no se tuvo claro conocimiento de cuáles eran las bases que promovían la pérdida de peso más allá de la lógica explicación que supone la alteración de la absorción de los nutrientes.



*Figura 1. Bypass Yeyuno-ileal (134)*

No obstante, las complicaciones principales de esta técnica son la desnutrición, la malabsorción de minerales (como el calcio cuyo déficit generó importantes casos de osteopenia) y sobre todo las alteraciones hepáticas. Debido a los problemas hepáticos se planteó que este tipo de derivación podría generar un factor hepatotóxico por parte del segmento intestinal excluido post bypass. A este factor también fue atribuida la mayor incidencia de litiasis biliar en este tipo de intervenciones. Además, existen estudios(133) con ratas obesas y diabéticas donde los resultados post bypass yeyunoileal son pobres, ya que los animales mantienen los

niveles de hiperinsulinismo y de hipertrigliceridemia, con lo cual como técnica para cirugía metabólica no parece adecuada a largo plazo, y se ha abandonado como técnica bariátrica.

## **II. TÉCNICAS RESTRICTIVAS**

### **II. 1. GASTROPLASTIA ANILLADA**

Desde la década de los setenta se diseñaron varias técnicas de gastroplastias, cuya finalidad era actuar sobre la cámara gástrica. De todas ellas, la gastroplastia vertical con banda de Mason(134) fue la más practicada sobre todo durante la década de los ochenta. Esta técnica consiste en la creación de 2 reservorios gástricos uno de ellos, el proximal, es pequeño (20 ml) y se halla verticalizado separado del resto mediante grapas. Además se coloca una anilla o banda que produce una estenosis de unos 5 cm de diámetro por donde los alimentos quedan frenados (Figura 2).

Se trata de una técnica de tiempo operatorio corto y permite una rápida recuperación del paciente. Presenta pocas complicaciones, una baja mortalidad, y es fácil de reintervenir si es necesario.(135) Entre los inconvenientes, muestra una efectividad variable a largo plazo con una pérdida del sobrepeso variable, vómitos frecuentes, y una recuperación del peso con el tiempo por poco control alimentario por parte del enfermo. También precisa de un alto índice de reintervenciones por fallo de la línea de grapas y conversiones a otro tipo de técnica. La colaboración del paciente en cuanto a control de la ingesta es un factor importante en los resultados, ya que una ingesta excesiva produce vómitos frecuentes y reflujo gastroesofágico que agreden con el tiempo la línea de sutura. La

asociación de un dispositivo externo adyacente a una línea de sutura suele perpetuar complicaciones como la fuga, lo que ha llevado al desuso de la misma. (135;136)



Figura 2. (137)

Gastroplastia anillada.



Figura 3. (139)

Banda Gástrica Ajustable



Figura 4. (141)

Gastrectomía Vertical

## II. 2. BANDA GÁSTRICA AJUSTABLE

Técnica que utiliza un dispositivo que actúa como barrera y disminuye la capacidad de distensión gástrica. Se desarrolló en los años ochenta con el propósito de evitar una cirugía directa de la pared del estómago pero logrando la finalidad concreta de disminuir la ingesta. La anilla gástrica ajustable, técnicamente, consiste en rodear la parte superior del estómago con una banda ajustable de silicona creando un reservorio gástrico de 50 cc por el que pasan los alimentos con mayor dificultad y logrando sensación de plenitud más rápidamente.(137)(Figura 3)

Consta de una cámara interior expansible a través de un puerto que queda anclado de forma subcutánea, lo que permite el inflado o desinflado de la banda. Con esto podemos modificar el vaciado de los alimentos sin necesidad de reintervenir quirúrgicamente. Hay diferentes patentes de

este tipo de banda, siendo la americana, la sueca y la francesa las más utilizadas. Básicamente hay cuatro tipos de complicaciones relacionadas con la técnica: la dilatación gástrica por encima de la banda, la erosión o inclusión de la banda en la pared del estómago, problemas con el puerto que la conecta y trastornos motores y esofágicos, que han sido desde siempre los más difíciles de tratar puesto que son consistentes en el tiempo. El efecto beneficioso de esta cirugía sobre el metabolismo hidrocarbonado al parecer está más asociado a la pérdida de peso que a un efecto directo. (138)

### **II. 3. GASTRECTOMÍA VERTICAL (GV) O SLEEVE GASTRECTOMY**

La gastrectomía vertical consiste en una resección del tejido del estómago que comprende un 80% de la capacidad del mismo, con exéresis del fundus y cuerpo del estómago de forma lineal desde una situación a aproximadamente 4 cm del píloro hasta el ángulo de Hiss, quedando un remanente gástrico que oscila de los 50 ml a 150 ml, según el tamaño de la sonda guía. (Figura 4)

La gastrectomía vertical procede de la técnica de derivación biliopancreática (DBP) de Hess y Marceau en 1990. En la DBP original, un primer tiempo se enfocaba en la reducción gástrica con el diseño de una plastia tubular para, posteriormente, realizar el bypass duodenal. En 2002, Gagner (139) presenta este primer tiempo de la DBP como una intervención única, ya que por dificultades técnicas no se pudo realizar el segundo tiempo. Y planteó esta reducción gástrica como punto inicial para producir una pérdida de peso primaria que luego, al cabo de unos meses, cuando el paciente lograra condiciones fisiológicas idóneas, continuar con

la segunda fase de la técnica. Con el tiempo, este planteamiento fue protocolizado para los pacientes con alto riesgo quirúrgico o anestésico y/o con grados muy altos de obesidad mórbida (más de 60 de IMC.) Pero años más tarde, los pacientes se negaban a someterse a una segunda fase de la cirugía pues reconocían estar satisfechos con su pérdida ponderal.

Por lo tanto, desde hace unos años esta técnica ha pasado de ser un primer tiempo, a un tiempo definitivo; ya que se ha comprobado que muchos pacientes presentaban sólo con la GV una pérdida de peso notable, con una buena calidad de vida y sin los posibles inconvenientes de la técnica malabsortiva añadida.(138;140) Además, se omite un tiempo quirúrgico, lo que beneficia mucho a este tipo de pacientes que tienen muchas comorbilidades asociadas. A todo esto también se ha sumado el propio deseo de los pacientes de no someterse a la segunda cirugía, pues la pérdida de peso inicial es para ellos satisfactoria. Esto ha hecho que se reconsidere la GV como entidad única dentro de las técnicas quirúrgicas bariátricas.

Este procedimiento ha calado hondamente entre los cirujanos bariátricos, sobre todo en grupos noveles, pues en inicio presenta menos complejidades técnicas que otras cirugías y se elimina la necesidad de una anastomosis. No obstante, no es ni mucho menos, la técnica que menos complicaciones acarrea. Entre dichas complicaciones las fístulas derivadas de fugas a nivel del ángulo de Hiss han hecho que varios autores desarrollen teorías y estudios complejos para explicar formas de prevenirlas, con resultados y conclusiones muy dispares. En este sentido han cobrado más protagonismo todas aquellas maniobras que hacen posible el tratamiento de las mismas, pues hasta un 3% de los pacientes operados pueden presentar esta complicación de forma temprana o

tardía. En diferentes foros quirúrgicos se desaconseja esta técnica en pacientes con enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE) dado que empeora la evolución y clínica de la misma. (141)

### **III. TÉCNICAS DE COMPONENTE MIXTO**

#### **III. 1. BYPASS GASTRO-YEYUNAL EN Y DE ROUX (BPG)**

Técnicamente lo que caracteriza al Bypass Gástrico en Y de Roux (BPG) es la creación de un reservorio gástrico de 20-30 ml acompañado de un cambio en la estructura de la anatomía intestinal. Este cambio se produce al realizar una sección del yeyuno distalmente al ligamento de Treitz (aproximadamente a 100 cm –según diferentes grupos de estudio-.). Posteriormente se procede a las anastomosis intestinales: gastro-yeyunal y yeyuno-yeyunal con el asa alimentaria que suele disponerse entre los 150 y los 200 cm de longitud (según técnica.)(142;143) Por tanto con el BPG se crean tres asas intestinales, una de las cuales es la que realiza la función absortiva de los nutrientes que es llamada asa alimentaria. Luego, una segunda asa, que es el asa biliopancreática, se encarga de transportar la bilis, los jugos gástricos, intestinales y pancreáticos, para la digestión intestinal. Y por último el asa común que es la porción donde se van a unir las dos asas anteriores y donde en realidad se realiza el proceso de digestión. (Figura 5). El BPG combina la restricción gástrica con un componente malabsortivo (fundamento de las técnicas mixtas.)

Actualmente la vía de abordaje de elección es la laparoscópica. Ofrece una buena calidad de vida para el paciente y la pérdida de peso es mayor que en las técnicas restrictivas puras. Las pérdidas de peso se ha demostrado que se mantienen durante más de cinco años desde la intervención

quirúrgica. Sin embargo, la mayor pérdida de peso tiene lugar en el primer año post-intervención que en el resto. Su eficacia es limitada para IMC mayores de 60. Esta técnica tiene una baja incidencia de vómitos y reintervenciones. De entre las complicaciones técnicas destacan las fugas de la línea de grapas del reservorio gástrico y del remanente, las hernias internas y estenosis de la anastomosis gastrointestinal. En el aspecto nutricional los elementos más afectados son la vitamina B12 y el hierro. (144)

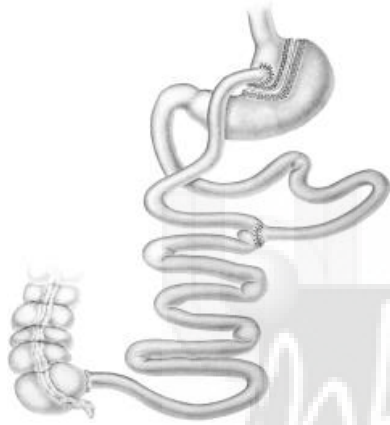


Figura 5. (144)  
Bypass Gástrico en Y de Roux



Figura 6. (151)  
Cruce Duodenal

### III. 2. DERIVACIÓN BILIOPANCREÁTICA (DBP)

Técnicamente consiste en la resección transversal del estómago (gastrectomía distal transversal con reservorio gástrico de 200-500 ml de capacidad) y una reducción del intestino delgado "útil" para disminuir la absorción de grasas. Al igual que en el bypass también se crean tres asas intestinales, (145) dejando un asa común de aproximadamente 50 cm.

Una de sus variantes es la desarrollada y promovida por Scopinaro en 1979 (146), fue creada para evitar los numerosos efectos secundarios del bypass yeyuno-ileal, en especial los efectos de alteración hepática tan

graves que se sucedían. En contrapartida al bypass yeyuno-ileal, con la DBP se logra la normalización en la absorción de sales biliares, agua y electrolitos y la ausencia de un asa ciega. Desde su descripción inicial Scopinaro ha realizado variantes en la técnica, donde se describen 4 fases (*a. Half-half b. Short Loop c. Little Stomach d. Very Little Stomach y e. Ad hoc Stomach*) siendo la última la más difundida y la que se sigue realizando aún hoy con indicación sobre pacientes con IMC elevado, o en los que técnicas previas han fallado.

Otra modalidad de la DBP llevada a cabo en nuestro país es la DBP de Larrad (147). En 2008 A. Larrad publica una modificación de la técnica de Scopinaro, donde la resección gástrica es mayor (4/5 partes) dejando un reservorio gástrico a expensas del fundus, ello generado por una gastrectomía subcardial. Además se realiza la reconstrucción con un asa biliopancreática corta (50-75 cm), un asa alimentaria de más de 300 cm y el asa común de 50 cm de la válvula ileocecal. En teoría estos cambios buscaban disminuir la incidencia de úlceras en la boca anastomótica gastro-yeyunal.

Y una última fórmula es la DBP de Marceau(148) que se describe posteriormente y que se conoce como Cruce o Switch duodenal, donde la principal diferencia con la DBP clásica es la conservación del píloro, debido a que la gastrectomía es vertical y no distal.

Entre las complicaciones a largo plazo de la DBP están la anemia ferropénica, las diarreas y la hipoproteïnemia. Por ello se hace necesario una estricta vigilancia nutricional de los pacientes y la administración de hierro, calcio y suplementos vitamínicos en el seguimiento sobre todo a largo plazo. (136)



### **III. 3. DERIVACIÓN BILIOPANCREÁTICA CON SWITCH DUODENAL (Switch o Cruce duodenal)**

En los noventa, la técnica de Scopinaro fue adaptada y modificada en humanos por los trabajos de Marceau y Hess (149;150) con la creación de una derivación duodenal o "duodenal switch" y una gastrectomía vertical, ofreciéndose como una técnica de una efectividad equiparable a otras técnicas en el tratamiento quirúrgico de la obesidad mórbida. Se trata de una variante de la DBP con gastrectomía vertical o tubular con preservación pilórica y de la actividad vagal. Técnicamente se realiza una sección duodenal a 3 cm del píloro, con una anastomosis duodeno-ileal a 100 cm de la unión ileocecal (canal común); el asa alimentaria se realiza a 2,5 m de la válvula ileocecal donde se unirá con el asa biliopancreática. (Figura 6)

Del Switch destaca que se preserva el antro y el píloro porque se supone que así se evita el vaciado directo de la comida al intestino delgado y evitamos en gran parte el síndrome de Dumping. Es la intervención que produce mejores pérdidas de peso y proporciona una buena calidad de vida. Entre las ventajas, la principal es que la pérdida de peso es excelente y mantenida durante años (pérdida de sobrepeso 75-90%.) Entre las desventajas de esta técnica destaca una desnutrición severa, con malabsorción de hierro y de vitaminas liposolubles (A, D, E, K) que requieren controles y suplementos. Del mismo modo se han informado de alteraciones en el vaciado gástrico en los primeros meses tras la cirugía que en algunos casos han llevado a la reintervención.(151)

### III. 4. MINIBYPASS GÁSTRICO (MBG)

Técnica desarrollada al final de los noventa por Robert Rutledge (152). En el Minibypass Gástrico (MBG) se divide el estómago a nivel de la unión del cuerpo y el antro, en un lugar donde el asa yeyunal puede ser interpuesto cómodamente. Posteriormente se realiza una gastrectomía tubular paralela a la curvatura menor y hasta el ángulo de His. El asa yeyunal se sube de forma antecólica, y se anastomosa de forma término-lateral al extremo distal del reservorio gástrico. (Figura 7)

Esta disposición de la anatomía donde el asa yeyunal queda distante del esófago tiene la intención de disminuir la incidencia de esofagitis que parecía acompañar al BPG en su evolución. Para que el BPG llegase hasta la actual técnica, pasó por variedad de modalidades que ante todo trataban de resolver el reflujo biliar y la reganancia

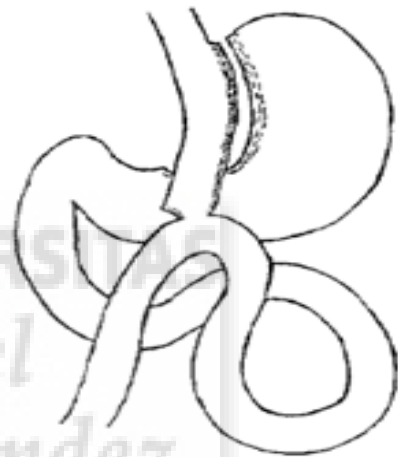


Figura 7. Minibypass Gástrico (155)

de peso con el paso de los años a causa de la dilatación de la bolsa gástrica. Por eso con el tiempo cada vez se iba reduciendo más y más el reservorio gástrico. Sin embargo, algunas complicaciones en el bypass se siguen sucediendo como la úlcera marginal, la anemia resistente a tratamiento oral o más frecuente aún, problemas asociados a náuseas y vómitos, derivados en su mayoría de estenosis a nivel de la anastomosis. Es por tanto que el MBG muestra resultados interesantes en relación a la disminución de la tasa de úlceras marginales, esofagitis y de vómitos asociados a la estenosis de la anastomosis. Así mismo reduce el tiempo operatorio y la estancia media hospitalaria. (153;154)

## IV. TÉCNICAS EXPERIMENTALES

### IV. 1. TRASPOSICIÓN ILEAL (TI)

Esta técnica consiste en realizar una trasposición de un segmento de íleon terminal y reubicarlo en el tramo digestivo superior después del ligamento de Treitz de forma isoperistáltica. (Figura 8) La comida poco digerida a nivel de tubo digestivo superior estimularía la secreción de GLP-1, y de forma indirecta mejoraría el perfil glucémico y por ende produciría una pérdida de peso. (155)

Figura 8 Trasposición Ileal (158)



Se inició de forma experimental en la década de los ochenta con el objetivo de establecer cuál era la causa que determinaba la disminución de la ingesta después de un bypass yeyuno-ileal. En el proceso de pérdida de peso después de un bypass yeyuno-ileal hay una disminución clara de la ingesta que vendría determinada por la sensación de malestar

después de las comidas (diarrea, náuseas, flatulencia, etc.) y también por una sobreestimulación ileal de nutrientes, los cuales harían disparar unas señales internas que inhibirían el apetito y consecuentemente se produciría una disminución de peso. Así pues, se abrió la línea de investigación sobre los mecanismos hormonales implicados en el cambio del metabolismo haciendo énfasis en la teoría del intestino posterior (*"Hindgut"*) (156)

Posteriormente se ha comprobado que la TI en ratas diabéticas y no obesas hace mejorar el perfil glucémico pero no les afecta en el peso ni en

la ingesta. También en otros estudios en ratas se ha comprobado además del aumento del GLP-1, un aumento del PYY. Esta intervención supone una disminución de la glucosa plasmática y un mejor control de la DM2 y de ella se podrían beneficiar pacientes afectos de obesidad mórbida y un pobre control metabólico. Sin embargo, en los ensayos clínicos realizados en pacientes sin obesidad (IMC bajo,) aunque logra efectos metabólicos por contraposición, ha generado cuadros graves de malnutrición.(157;158)

#### **IV. 2. DERIVACIÓN DUODENOILEAL DE UNA SOLA ANASTOMOSIS CON GASTRECTOMÍA VERTICAL. (SADI-SG)**

En 2007 el grupo multidisciplinar del Hospital Clínico San Carlos de Madrid, liderado por el cirujano Sánchez Pernaute (159), trabaja en una técnica que se deriva del cruce duodenal pero con dos modificaciones importantes: la anastomosis duodeno-ileal término-lateral y la distancia constante del asa común (200 cm contando desde válvula ileocecal) que se considera importante, pues el mantener constante el tamaño del asa común mejora el control de los pacientes, ya que controlan con mayor fiabilidad el segmento intestinal donde en teoría se hace la “digestión”. (Figura 9)

La técnica está siendo sometida a un estudio prospectivo que prevé una pérdida de peso, por lo menos similar a la obtenida después de bypass gástrico o el switch duodenal, con los beneficios teóricos de un menor tiempo operatorio, disminución de posibles fugas anastomóticas (dado que sólo se realiza una anastomosis) y sin complicaciones por apertura del mesenterio. Las complicaciones inherentes a esta técnica son en general las mismas que en la DBP pero al haber sólo una anastomosis, el riesgo de fuga disminuye (según han podido demostrar en sus publicaciones.) La

misma técnica ha sufrido variaciones hoy en día. Una de ellas implica preservar el estómago (obviar la gastrectomía) a fin de lograr una mejor respuesta metabólica, con menos pérdida de peso. (159;160)

#### IV. 3. BYPASS DE UNA SOLA ANASTOMOSIS (BAGUA)

El BAGUA se ha desarrollado a partir del MBG descrito previamente y es una modificación que se presenta como opción quirúrgica para el tratamiento de la DM2. La modificación del procedimiento original consiste en hacer una anastomosis latero-lateral en lugar de término-lateral como se hace en la técnica original. Este cambio intenta reducir la exposición de la mucosa gástrica a la secreción bilio-pancreática, evitando así el posible efecto deletéreo de la exposición crónica a los jugos biliares que constituye la crítica más significativa al procedimiento original.

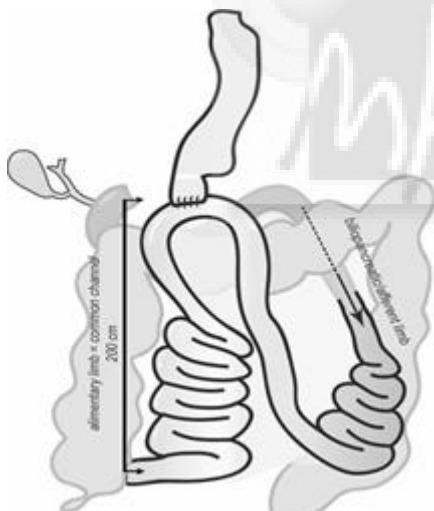


Figura 9. SADI-SG (162)

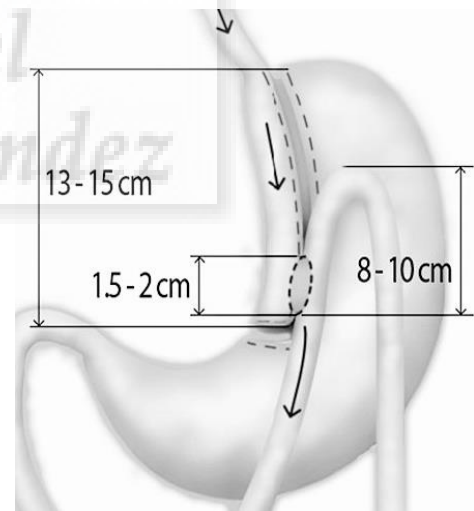


Figura 10. BAGUA (164)

Además, al fijar el asa de yeyuno a la nueva bolsa gástrica unos centímetros por encima de la anastomosis gastro-yeyunal, la secreción bilio-pancreática tiene menos posibilidades de entrar en la cavidad gástrica (gracias a la fuerza de gravedad). Al ser la anastomosis latero-lateral, esta posibilidad se reduce aún más. Además, el asa de yeyuno

refuerza la línea de grapas contra su disrupción y previene la posible dilatación de la bolsa gástrica. (Figura 10) De todas formas, esta técnica está en fase experimental y al igual que en el caso del MBG faltan estudios a largo plazo para saber los efectos derivados del reflujo biliar al estómago. (161-163)

#### **IV. 4. BYPASS DUODENO-YEYUNAL SIN GASTRECTOMÍA (DJB)**

En principio la reordenación de la anatomía en este tipo de cirugía se parece al Switch duodenal pero la mayor diferencia es que el volumen gástrico se mantiene intacto, mientras que todo el duodeno y el yeyuno proximal se excluyen. El duodeno se secciona proximalmente y se cierra cerca de 1-2 cm por debajo del píloro. Luego se realiza una anastomosis desde la sección pilórica a un asa de yeyuno. La rama biliopancreática se divide aproximadamente a 30 cm del ligamento de Treitz y se realiza una anastomosis término-lateral de 50 cm en el yeyuno en una Y de Roux. (164;165)

Las ventajas potenciales de esta técnica son varias como la preservación del estómago, donde su mantenimiento puede ser adecuado en las zonas geográficas en las que una alta incidencia de cáncer gástrico estimularía la preocupación por dejar atrás un estómago remanente inaccesible a la exploración endoscópica.



*Figura 11. Bypass duodenoyeyunal (168)*

Por otra parte, la preservación del estómago puede evitar las complicaciones típicas de BPG como la anemia y la deficiencia de vitamina B12.

Aunque la DJB está propuesta como técnica novedosa para el tratamiento de la DM2 no asociada a obesidad, se sigue indicando sólo bajo protocolos de estudio. En una serie de Jiang en 2012, presentó 7 pacientes no obesos con el objetivo de alcanzar la resolución de la diabetes con cifras de HbA1C < 7 sin medicación.(166) El 40% consiguió la remisión, sin una reducción alarmante de su IMC. En otro estudio sobre DJB se observa la mejoría en la sensibilidad a la insulina y la función de las células  $\beta$ , así como una reducción de GIP, leptina, y la producción de glucagón. La DJB da lugar a control glucémico y la reducción en el requerimiento de insulina.(19;165)

#### **IV. 5. GASTROPLASTIA TUBULAR PPLICADA (GTP)**

La Gastroplastia Plicada (GTP) no es un nuevo procedimiento bariátrico, sino una adaptación de un viejo procedimiento que se realizaba a principios del s.XX para tratar las dilataciones gástricas infantiles. En 2007 el cirujano iraní Talebpour (167) publicó los primeros casos de obesidad mórbida intervenidos por esta técnica. En este mismo orden, el grupo brasileño liderado por el Dr. Almino-Ramos ha dado un impulso a la técnica publicando diferentes series y resultados. La GTP se caracteriza por ser un procedimiento restrictivo, que se fundamenta en la invaginación de los pliegues gástricos sobre sí mismos utilizando una sonda guía intragástrica de apoyo y que conserva la luz del estómago en una proporción y volumen similares a los de la GV. La sutura (de una o dos

capas de sutura no absorbible) abarca toda la curvatura mayor desde el ángulo de Hiss hasta aproximadamente 2-3 cm del píloro. Se considera un procedimiento reversible y se fundamenta en dos principios: la viabilidad de la pared gástrica invaginada y la persistencia de las adherencias sero-serosas. (Figura 12) (168;169)

Aunque en principio se trata de una técnica sencilla y fácilmente reproducible no está exenta de complicaciones, siendo la más frecuente y representativa los vómitos en el postoperatorio inmediato y mediato, donde se llega a requerir tratamiento con mórficos y corticoides, pues son de difícil manejo. Así mismo, son relevantes las hemorragias, la migración interna de los pliegues invaginados o la herniación transmural.

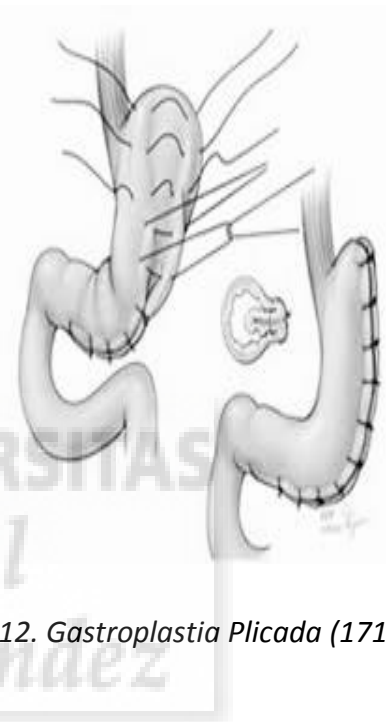


Figura 12. Gastroplastia Plicada (171)

### **3. TÉCNICAS ENDOSCÓPICAS.**

Los nuevos procedimientos pretenden lograr los mismos resultados alcanzados por las técnicas quirúrgicas bariátricas clásicas de forma menos invasiva y poder ser aplicadas a un mayor número de pacientes. Son técnicas que realizan especialistas en endoscopias y se promocionan como procedimientos menos invasivos, más baratos, que requieren una menor convalecencia y que se pueden realizar en pacientes que no son candidatos a cirugía debido al riesgo quirúrgico. (170)

Los tratamientos endoscópicos para el manejo de la obesidad aún no se han generalizado, debido a la falta de evidencia sobre su efectividad a largo plazo. Además, existe la imperiosa necesidad de especificar las



indicaciones de estos procedimientos, pues afirmar que se pueden utilizar en todo paciente que no sea candidato a cirugía, es un planteamiento arriesgado. Sin embargo, es posible que en el futuro los tratamientos endoscópicos formen parte del arsenal terapéutico contra la obesidad, situándose entre el tratamiento médico y el quirúrgico. A medio y, sobre todo, a largo plazo es probable que los pacientes con obesidad muy severa y alto riesgo de enfermedades metabólicas sigan necesitando algún procedimiento de cirugía bariátrica.(171)

Las técnicas bariátricas endoscópicas de mayor auge en la actualidad son:

- Balón intragástrico (restrictiva)
- Endobarrier (malabsortiva)
- POSE - Primary Obesity Surgery Endoluminal (restrictiva)

### **3.1. BALÓN INTRAGÁSTRICO (BIG)**

El balón intragástrico (BIG) es una esfera de silicona flexible y blanda, que se introduce en el estómago del paciente mediante una endoscopia. Su fundamento fisiológico se apoya en la idea de reducir el volumen de luz gástrica generando una sensación de plenitud o de saciedad precoz para que la persona reduzca el consumo de alimentos, lo cual facilitará el proceso de reducción de peso en personas con obesidad. El balón gástrico está desarrollado especialmente para no deteriorarse con la acidez del estómago; presenta una válvula de silicona que se cierra automáticamente cuando el balón está lleno y es un producto de uso temporal, que exige un compromiso por parte del paciente en reeducar su comportamiento, con el propósito de reducir el peso durante el uso del

producto y mantener esta pérdida de peso una vez retirado el dispositivo.(172)

La aplicación del BIG se desarrolló a partir de la observación de los efectos de la pérdida de peso que causa naturalmente un bezoar (formación de grandes cantidades de bolos alimenticios que impiden el vaciamiento gástrico). Fue diseñado a principio de los 80 para colocarlo y cerrarlo en el estómago mediante endoscopia que más tarde se complementa con la inyección de solución fisiológica, que actúa como un bezoar artificial para fluctuar libremente dentro del estómago y permitir un ajuste volumétrico durante su colocación. (Figura 13)(173)

*Figura 13. Balón Intragástrico (176)*



La recomendación comercial del balón sugiere que puede estar hasta 6 meses dentro del estómago. Sin embargo, se sabe que en alrededor de 5 meses, el organismo reconoce el balón como estímulo falso y la pérdida de peso disminuye. Por esta razón, hay médicos que retiran el balón en este momento y colocan otro 2 meses más tarde. Las complicaciones del BIG están relacionadas con el método endoscópico en sí, la sedación y perforación, a su contacto prolongado con la mucosa y su migración, que puede resultar en obstrucción esofágica o intestinal. Además, el estímulo del contacto directo del balón con la pared gástrica genera una hipertrofia de la misma que dificulta posteriores cirugías con manipulación del estómago.

## V.2. DISPOSITIVOS DE BYPASS INTESTINAL: ENDOBARRIER

El EndoBarrier® (GI Dynamics, Boston, MA, EEUU) es un dispositivo que permite realizar un bypass del intestino proximal sin necesidad de intervenir al paciente. Se trata de una “manguera” que se ancla en el duodeno y se despliega a lo largo de 60 cm del intestino proximal. De esta manera los nutrientes pasan por su interior sin contactar con la mucosa intestinal; de manera que no se produce la absorción de los alimentos y se acelera el tránsito. El fundamento de este dispositivo se apoya en la hipótesis del “Foregut” según la cual el bypass del duodeno y los primeros segmentos yeyunales produce un cambio en la secreción de incretinas debido a la falta de contacto de los alimentos con la mucosa intestinal de estas áreas. (Figura 14)(174)

Figura 14. EndoBarrier® (177)

Los resultados publicados hasta el momento son escasos pero favorables, con un porcentaje de exceso de peso perdido (PEPP) de entre el 11,9% y el 23,6% a las 12 semanas de haber colocado el dispositivo. El mayor problema del EndoBarrier es que no puede dejarse implantado de manera permanente, al igual que el BIG y debe retirarse al año de su colocación. Las complicaciones más frecuentes son las náuseas, vómitos, dolor abdominal, migración del dispositivo u obstrucción intestinal. Otros riesgos menos frecuentes descritos en las publicaciones médicas incluyen infección, traumatismo y sangrado, obstrucción de la prótesis, migración del anclaje y posibilidad de



perforación, tanto en el periodo de tratamiento como durante la maniobra de extracción.(175)

El Endobarrier al igual que el BIG son métodos eficaces durante el tiempo que están implantados en el organismo, pero tras su retirada la gran mayoría de los pacientes vuelven a reganar el peso perdido y además son métodos invasivos no exentos de complicaciones. Son necesarios más ensayos clínicos con un gran número de pacientes y seguimientos a largo plazo, para determinar la eficacia de este dispositivo.

### **3.2. DISPOSITIVOS DE REDUCCIÓN DEL VOLUMEN GÁSTRICO ENDOLUMINAL: POSE**

Existen diversos sistemas comerciales que permiten realizar suturas en el estómago, lo que se ha utilizado para realizar una plicatura endoscópica del mismo. La plicatura endoscópica del estómago provoca una disminución de su volumen, creando una restricción gástrica y una saciedad precoz que sería la responsable de la pérdida de peso. (176)

El POSE (*Primary Obesity Surgery Endoluminal*) o Cirugía Primaria Endoscópica de la Obesidad, es una técnica invasiva endoscópica que se lleva a cabo a nivel de la cámara gástrica donde se realizan suturas permanentes o no, para fruncir o plicar el estómago, siendo necesario para ello unas 7-12 suturas. Es una nueva técnica casi en experimentación que parece ser relativamente sencilla, pero como toda técnica invasiva, puede generar complicaciones, en este caso relacionadas sobre todo con los puntos de sutura. Aunque las suturas están preparadas para permanecer durante toda la vida en el estómago, el POSE es un

procedimiento reversible. Es decir, si se estima necesario, es posible deshacer los pliegues y devolver el estómago a su estado original. Sin embargo, un estudio realizado por el grupo de la *Cleveland Clinic* demostró un PEPP del 27,7% al año de la realización del procedimiento, aunque en la actualidad se ha evidenciado disrupción de todas o algunas de las suturas de los pacientes incluidos en el ensayo clínico. (170;177)

En resumen, se puede decir que los tratamientos endoscópicos que existen en la actualidad logran una buena pérdida de peso a corto plazo pero pierde efectividad a medio-largo plazo.





## **CIRUGÍA METABÓLICA**

### **1. EL SÍNDROME METABÓLICO**

El síndrome metabólico (SM) es una entidad clínica controvertida que se caracteriza por la presencia de insulinoresistencia e hiperinsulinismo compensador asociados a trastornos del metabolismo glucídico, cifras elevadas de presión arterial, alteraciones lipídicas (hipertrigliceridemia, descenso del HDL, presencia de LDL tipo B, aumento de Ácidos Grasos Libres (AGL), lipemia postprandial, etc.) y obesidad. Todos estos factores determinan un incremento de la morbimortalidad de origen aterosclerótico y en resumen elevan el riesgo de enfermedad cardiovascular. (178)

Clínicamente la Resistencia a la Insulina (RI) se define como la incompetencia de una determinada concentración de insulina para conseguir el control de la glucosa. Sin embargo, hoy en día hablar sobre RI implica una alteración de los receptores celulares de las células  $\beta$  del páncreas, de los hepatocitos y del tejido periférico a la acción de la insulina. Aunque la RI se considere la base fisiopatológica de la DM2, no unificaría todos los aspectos etiológicos en el SM, ya que este último implica una anormalidad celular compleja fundamentalmente en el tejido adiposo, el hígado y en el músculo esquelético. Además de la susceptibilidad genética, influyen otros factores ambientales tales como:

(179)

- Obesidad central o abdominal.
- Sedentarismo.
- Dieta hipercalórica rica en grasas y carbohidratos.
- Tabaquismo.
- Hiperuricemia.

- Hipercoagulabilidad y defectos de la fibrinólisis.
- Hiperleptinemia o resistencia a la leptina.
- Y también: homocisteína (papel controvertido en la RI), leucocitosis, elevación de la Velocidad de Sedimentación Globular (VSG), hiperandrogenismo, hígado graso, cálculos biliares, osteoporosis, acantosis nigricans, síndrome del ovario poliquístico, etc.

Múltiples evidencias demuestran la mayor probabilidad de desarrollar DM2 en los pacientes que presentan un SM. La fisiopatología en este caso radica, en buena parte, en la resistencia a la insulina asociado a un excesivo flujo de AGL. Por lo tanto, se produce, un aumento en la síntesis de insulina secundario a la resistencia tisular, agotando finalmente la capacidad de las células  $\beta$  pancreáticas y entrando en situación de hiperglucemia que puede llegar a ser irreversible.(180)

## **2. DE LA CIRUGÍA BARIÁTRICA A LA CIRUGÍA METABÓLICA.**

Desde la publicación del Dr. Walter Pories en la revista *Annals of Surgery* de 1995 del artículo titulado: *“Who Would Have Thought It? An Operation Proves to Be the Most Effective Therapy for Adult-Onset Diabetes Mellitus”* (9) la búsqueda del mecanismo que subyace a la mejoría de la DM2 tras cirugía bariátrica sigue siendo el objetivo de muchos estudios. En aquel entonces Pories prodigó que realizando un bypass gástrico, el 82,9 % de sus pacientes con DM2 consiguieron el control de sus glucemias de forma mantenida. Pero esto no es un nuevo concepto. Es una idea antigua con matices renovados. De hecho desde la década de los 50, ya se empezaba a comentar el tema como se pone de manifiesto en el trabajo: *“La mejoría de la Diabetes Mellitus que sigue a la gastrectomía subtotal”* expuesto por Friedman et al.(181) en la revista *Surgery Gynecology and Obstetric*. Dado



el drástico efecto sobre la homeostasis de la glucosa, la cirugía metabólica ha ganado un creciente interés como posible tratamiento para la DM2 tanto en obesos mórbidos (IMC>35), como actualmente en pacientes no obesos mórbidos (IMC entre 30 y 35 o menor de 30 - normopeso).

El descenso de la glucemia y las necesidades de insulina se manifestaban en el postoperatorio inmediato. A raíz de estos hallazgos, y puesto que en el BPG se actúa sobre el intestino, en 1998 el doctor Hickey, compañero de Pories, publica un artículo en *Annals of Surgery* con este título tan sugerente: *A New Paradigm for Type 2 Diabetes Mellitus. Could It Be a Disease of the Foregut?* (21) En esta ocasión, comparaban los resultados de varios parámetros implicados en la diabetes entre pacientes tratados mediante bypass gástrico y un grupo control no operados. En todos los casos el resultado era mejor para los sometidos a la cirugía y lo que es más interesante y enigmático, la respuesta: la mejoría de la diabetes se produce inmediatamente a la intervención, sin apenas haber adelgazamiento. Por lo tanto, el adelgazamiento no explica por completo el control de la glucemia, ya que se da una rápida normalización, antes de adelgazar significativamente y además, algunos pacientes permanecen obesos; pero su diabetes está controlada. Para Hickey existen dos mecanismos que expliquen este fenómeno: uno, la disminución de la ingesta y dos, la exclusión del duodeno y principio del yeyuno, donde debe existir una actividad endocrina no aclarada. (10)

A partir de este momento, las publicaciones a favor de la resolución de la diabetes en pacientes obesos operados se suceden constantemente. En 1999, Sjostrom (182) publica resultados del prestigioso estudio sueco SOS

(Swedish obese subjects), demostrando que la cirugía de la obesidad es superior al tratamiento médico para controlar la diabetes, la hipertensión y la dislipemia en pacientes obesos. Existen varios estudios que hablan a favor de la remisión de la DM2 después de cirugía bariátrica. El más citado sin duda es el meta-análisis de Buchwald en la revista JAMA de 2004.(131) En este artículo el autor demuestra un porcentaje global de resolución de la DM2 tras cirugía bariátrica en pacientes obesos (IMC>35) de 56% para la Banda Gástrica Ajustable (BGA) 80% para el Bypass Gástrico (BPG) y del 95% para la Derivación Biliopancreática (DBP). Además, a largo plazo, las cirugías malabsortivas o mixtas mantienen mejores porcentajes de resolución de la diabetes que la cirugía netamente restrictiva. Así mismo, del grupo de pacientes operados sólo el 1% moría anualmente, mientras que en el de no operados alcanzaba el 4.5 % de mortalidad. Estos hallazgos han llevado a afirmar que la diabetes no tiene por qué ser una enfermedad crónica de larga evolución sin tratamiento eficaz y con una evolución que conduzca inexorablemente al deterioro vascular del paciente. (183)

Cuando se dice que la diabetes es una condición sin tratamiento eficaz, se hace referencia a que cualquier tratamiento médico logra controlar la hiperglucemia durante un tiempo pero, a pesar de las combinaciones existentes en la actualidad, el desenlace final de la mayoría de los pacientes es una insuficiencia pancreática con dependencia de insulina exógena. Además, la suspensión del tratamiento regresa la enfermedad a valores patológicos. En 2003, Torgerson,(184) haciendo una revisión del estudio SOS insiste en que a 10 años de seguimiento la cirugía sigue superando al tratamiento médico. Y en estudios controlados aleatorizados

recientes, se ha confirmado que la cirugía bariátrica es más eficaz que el tratamiento médico en la remisión de la DM2. (185-187)

Los resultados de la cirugía bariátrica en pacientes obesos pusieron de manifiesto que la resolución de la diabetes no dependía exclusivamente de la pérdida de peso, ya que la mejoría en los niveles de glucemia se producía casi de forma inmediata, sin verse influenciada por la pérdida de peso o las alteraciones alimentarias. Es decir, este planteamiento viene a señalar que existe algún mecanismo que se activa o se desactiva tras los cambios en el reordenamiento intestinal en la cirugía bariátrica, y dicho mecanismo logra mejorar el metabolismo glucídico y no depende de la movilización de AGL en el tejido adiposo. (11) De hecho, la mejoría de las comorbilidades supone, sin duda, un beneficio más importante que la pérdida de peso en sí. La evidencia creciente muestra también que el BPG y la DBP son capaces de inducir cambios significativos en las hormonas intestinales y factores reguladores de la homeostasis energética, apoyando la idea de que los procedimientos de estas operaciones son un efecto verdaderamente metabólico. (188)

Por otro lado, al margen de la cirugía metabólica, plantear el uso de la cirugía de forma explícita para tratar exclusivamente la diabetes es un concepto revolucionario, y representa una interrupción de los actuales paradigmas terapéuticos. Sin embargo muchos médicos pueden ser renuentes a aceptar la idea de un tratamiento quirúrgico de la DM2. No obstante, los datos científicos sugieren que un enfoque quirúrgico para la diabetes es más que una sugerencia herética. En diferentes reuniones y congresos sobre este tema, parece establecerse una lucha constante entre

los cirujanos y los endocrinólogos por establecer el destino de la DM2, cuando en realidad lo que hace falta es un trabajo en equipo. Es por ello que se considera importante estudiar las técnicas quirúrgicas destinadas a mejorar la diabetes como camino para esclarecer mecanismos fisiopatológicos que abran nuevas dianas de tratamiento.

En el año 2006 el Dr. Rubino,(189) un cirujano italiano residente en los EE.UU., trabajó con ratas genéticamente diabéticas no obesas y en sus investigaciones confirmó nuevamente que un bypass genera una mejoría en el control de la diabetes y que al revertir dicho bypass, las ratas vuelven otra vez a ser diabéticas. Lo destacable en los estudios del Dr. Rubino era que las ratas no eran obesas, por lo tanto ha desviado la atención de la resolución de la diabetes desde el área de cirugía de la obesidad a cirugía metabólica. Estas ideas abrían la posibilidad de operar a diabéticos no obesos.(188)

Es por ello que expertos en el tema revisaron de manera formal sus experiencias y las mismas fueron analizadas por un grupo de 50 expertos de todo el mundo en un consenso llevado en marzo 2007 en Roma. (32) Los resultados del análisis se abrieron a la opinión y aportaciones de la comunidad científica con el objetivo de confeccionar recomendaciones para poder realizar cirugía metabólica en los pacientes de forma segura y obtener los mejores resultados funcionales. (190) Lo que es evidente en este sentido, es que estos nuevos conceptos abren un campo muy prometedor a la cirugía, en cuanto al gran número de pacientes que pueden beneficiarse de cirugía y en cuanto a las numerosas e interesantes líneas de investigación médica y quirúrgica que deben abrirse. (Tabla 1)

Tabla 1. Diferencias entre la cirugía bariátrica y metabólica. Modificado de F Rubino & DE Cummings. Nature Rev Endo 2012.

	Cirugía Bariátrica	Cirugía Metabólica
<b>Objetivo</b>	Disminución de peso.	Control de la glucemia y reducir factores de riesgo cardiovascular y en órganos diana.
<b>Criterio de indicación de cirugía.</b>	IMC	DM2 que no se controla con fármacos. Síndrome metabólico. Enfermedad cardiovascular de origen metabólico.
<b>Técnicas</b>	Tradicional – GV, BPG, DBP, BGA.	Tradicional – GV, BPG, DBP, BGA. Experimentales: ED, duodenal sleeve, TI.
<b>Medida de efectividad</b>	Exceso de peso Perdido.	Control Glucémico dado por la HbA1c. Control de HTA, lipemia, pérdida de peso, etc.
<b>Mecanismo de acción</b>	Restricción y Malabsorción.	Complejo Sistema de señales neuroendocrinas en estudio.

GV: Gastrectomía Vertical, BPG: Bypass Gástrico, DBP: Derivación Biliopancreática, BGA: Banda Gástrica Ajustable, TI: Transposición Ileal, ED: Exclusión Duodenal. HbA1c: hemoglobina glucosilada. HTA: hipertensión.

Proponer cirugía a pacientes con DM2 con un IMC por encima de 35 Kg/m<sup>2</sup> es una actitud validada por diferentes protocolos y aceptada con rotundidad en diferentes sociedades científicas. El abanico se ha abierto a pacientes en IMC entre 30 y 35, ya que los datos existentes demuestran un comportamiento en cuanto a la resolución o mejora de la DM2 similar al que tienen los pacientes con IMC>35. Pero en pacientes por debajo de un IMC de 30 es una situación que hasta los propios cirujanos ponen en duda, y sólo se acepta bajo un protocolo de estudio científico.(191)

Por otra parte, la casi totalidad de los estudios coinciden en que los peores resultados se obtienen en los pacientes con un largo periodo de evolución de la enfermedad, y con más años de tratamiento con insulina. Los pacientes en tratamiento con sólo anti-diabéticos orales y menos de cinco años de evolución tienen una mejor resolución o al menos mayor probabilidad de remisión. Esto sin duda está altamente asociado al deterioro de las células  $\beta$  del páncreas, que como ya se ha planteado

anteriormente, tienen una capacidad regenerativa limitada a la magnitud del daño que haya podido generar la glucotoxicidad mantenida.(104)

Por tanto parecería obvio que plantear cirugía a pacientes diabéticos de forma precoz es un concepto que debe ser cautelosamente estudiado. Además la técnica escogida debería ser aquella que supusiera una resolución definitiva de la condición de hiperglucemia mantenida en el tiempo. En este sentido es mayoritariamente aceptado que el procedimiento quirúrgico para estos pacientes debería incluir un reordenamiento intestinal, pues aunque técnicas restrictivas han demostrado también tener beneficios metabólicos, hoy por hoy, dichos beneficios no han demostrado su permanencia en el tiempo.

La impresión general es que estamos en el inicio de una nueva era de descubrimientos en el tratamiento de la diabetes, y que aún queda un largo camino por recorrer. Así mismo, todas las líneas de investigación actuales suponen una enorme fuente de información sobre el papel del tracto gastrointestinal en la fisiología nutricional y las alteraciones metabólicas del ser humano. Se considera un intento tímido de aproximar conceptos quirúrgicos a conceptos endocrinos, el apuntalar el apéndice de cirugía metabólica a la cirugía de la obesidad. Es evidente que la obesidad determina un conjunto de alteraciones en las vías metabólicas de lípidos, glúcidos y proteínas; y que cualquier evento que modifique dichas vías se considerará como tratamiento metabólico. Sin embargo, llama la atención que siga considerándose herético hablar de cirugía de la diabetes como concepto exclusivamente ligado al metabolismo glúcido. Sin embargo hay que ir poco a poco acercando posturas entre los diferentes expertos.

Desde nuestro punto de vista, valoramos la opinión de Shauer en su editorial de 2011, (69) donde señala que los cirujanos no sólo deben seguir las recomendaciones de la IDF, sino que deben difundir las mismas y educar a los médicos de atención primaria, internistas, endocrinólogos, y demás especialistas en el área, así como a los pacientes sobre el papel actual de la cirugía en el tratamiento de la DM2.

### **3. EL VÍNCULO METABÓLICO-QUIRÚRGICO**

Los trabajos del Dr. Rubino et al. (11;188;192;193) sin duda son referente para muchos cirujanos actuales que se dedican al campo de la cirugía de la obesidad y metabólica. Los estudios de Rubino dieron pie al debate que plantea la necesidad de saber cuáles mecanismos subyacen a la mejora de la glucemia de los pacientes sometidos a cirugía con reordenamiento intestinal. Las primeras teorías en ser valoradas discutían los siguientes eventos como responsables:

- 1) Aumento de la secreción postprandial de péptidos como el GLP-1 debido a la rápida entrega de nutrientes al intestino distal (hipótesis intestino posterior o hindgut).
- 2) La exclusión del intestino proximal del flujo de nutrientes, posiblemente por la regulación a la baja de algún factor anti-incretina aún no determinado (es la hipótesis del intestino anterior o foregut).
- 3) Alteración de la secreción de grelina, mecanismo que parece está más relacionado con el apetito y la ingesta calórica que con la DM en sí.
- 4) Cambios en los nutrientes de detección intestinal mecanismos que regulan la sensibilidad a la insulina, donde estudios de dietas ricas en ácidos grasos del tipo ácidos linolénicos mejoran el metabolismo glucídico.

5) Las perturbaciones de ácidos biliares que alteran la síntesis de glucosa por el hígado.

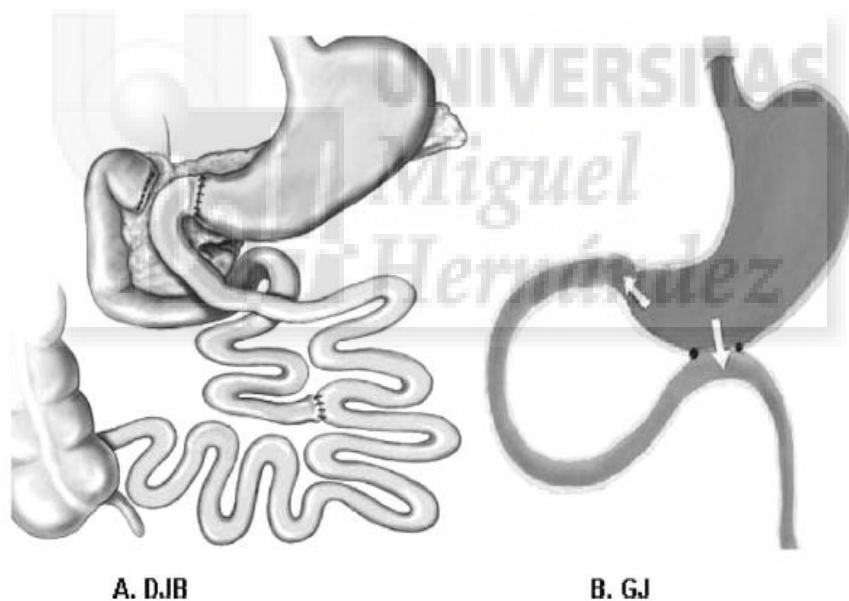
6) Y alteraciones de factores intestinales, especialmente en el duodeno, que aún no se han descubierto.

De todos estos mecanismos el que ha tenido mejor cabida en la comunidad científica es el postulado de la Exclusión Duodenal. De hecho el trabajo más sonado en este sentido es el del propio Rubino en 2006(194) donde puso en evidencia que mientras que realizar un bypass duodeno-yeyunal mejoró enormemente la diabetes en ratas Goto Kakizaki (GK), realizar un acceso equivalente para los nutrientes ingeridos al intestino posterior, sin excluir el flujo de nutrientes a través del intestino delgado proximal (a través de una simple gastro-yeyunostomía), no mejoró la diabetes del mismo modo en este modelo animal. Además, las alteraciones típicas de la DM2 a nivel periférico, se reinstalaron en aquellos animales tratados con el bypass duodeno-yeyunal cuando el flujo de nutrientes a través del intestino proximal se restableció quirúrgicamente a través de una ruta gastro-duodenal normal, a pesar de conservar la gastroyeyunostomía. (Figura 1)

Es por ello que los animales que originalmente se sometieron a una simple gastroyeyunostomía, la diabetes mejoró en gran medida por una nueva operación en la que el intestino proximal quedó excluido del flujo de nutrientes, pero la gastroyeyunostomía se mantenía intacta. Estos resultados demuestran que el aislamiento del flujo de nutrientes a un segmento del intestino proximal es importante en la mejora de la tolerancia a la glucosa y apoyan la hipótesis de un factor aún indeterminado, que se origina en el intestino delgado proximal, que



podría perjudicar la sensibilidad a la insulina en pacientes diabéticos. En resumen, previniendo el paso de los nutrientes al área duodenal a través de un bypass intestinal, mejora la tolerancia a la glucosa sólo en los pacientes diabéticos. Estos hallazgos son consistentes con la posibilidad de que la derivación quirúrgica del intestino delgado proximal conduzca a la reversión de una supuesta característica de la mecánica intestinal de los pacientes diabéticos. Pero sin olvidar puntualizar que este efecto no se produce en los individuos normales. En consecuencia, la DM2 también puede ser caracterizada por un componente de la disfunción del duodeno-yeyunal, es decir, que en parte la fisiopatología de la enfermedad tiene un componente de disfunción intestinal.(18;189)



*Figura 1. Cirugías desarrolladas en el trabajo de Rubino en 2006. A. Derivación duodenal-yeyunal (DJB). En esta operación el intestino proximal se excluye del tránsito de nutrientes. B. Gastroyeyunostomía (GJ). Esta operación consiste en realizar un sencillo bypass entre el estómago distal y el primer segmento de yeyuno. Por lo tanto el beneficio obtenido en la DJB se pierde al reestablecer el paso por el duodeno como en la GJ.*

## 4. MECANISMOS DE LA CIRUGÍA METABÓLICA PARA MEJORAR EL CONTROL GLUCÉMICO

### 4.1 EL EFECTO INCRETÍNICO Y LAS INCRETINAS

Se conoce como incretinas una serie de hormonas intestinales que se liberan al torrente circulatorio tras la ingestión de alimentos y que cumplen una función esencial en el metabolismo energético del organismo. La visión actual del llamado "eje neuro- entero-insular" se basa totalmente en el concepto de las incretinas.(195)

El término incretina se acuñó en 1932 en base al acrónimo de "*IN*testinal *seCRET*ion of *INS*ulin." En la década de los 70 el llamado "efecto incretina" se describió como la diferencia observada en los valores de secreción de insulina para un mismo nivel de glucemia tras un aporte de glucosa; dependiendo de la misma, era administrada de forma endovenosa o tras su ingesta oral, siendo mayor en esta última. (196;197)

Uno de los efectos más importantes de las incretinas es la secreción de insulina por el páncreas y la disminución de los niveles de glucosa en sangre. Además, también inducen el crecimiento de las células  $\beta$  en el páncreas (acción anti-apoptóticos de las incretinas). Las acciones de las incretinas están mediadas por un mecanismo hormona-receptor. Las incretinas se unen a receptores específicos de membrana de las células  $\beta$ , lo que resulta en la activación de la adenilciclase y el aumento de los niveles de AMPc celular, mejorando de esta manera la liberación de insulina. Las hormonas con efecto incretínico más estudiadas son el GLP-1, el GIP y el PYY.(198-200)

### El GLP-1 – Glucaqon Like Péptide type 1: Péptido similar al Glucaqón.

La incretina GLP-1 es secretada por las células L del íleon distal en respuesta a los nutrientes y señales neurales derivados del intestino proximal. Actúa directamente sobre las células  $\beta$  pancreáticas estimulando la secreción de insulina en una manera dependiente de la dosis. También suprime la secreción de glucagón y con ello inhibe la neoglucogénesis hepática. Es además una señal saciante que disminuye el vaciado gástrico, regula la expresión del gen de la proinsulina y ejerce otros efectos sobre el sistema nervioso central en la regulación del eje neuro-entero-insular.(201)

Las células L se encuentran predominantemente en el íleon y el colon, aunque también se han localizado en el estómago y el intestino proximal. De hecho, las células L se encuentran en las proximidades de las neuronas y la microvasculatura del intestino lo que permite a estas células verse influenciadas por señales neurales y hormonales.(202)

El GLP-1 se degrada rápidamente por la enzima inhibidora de la dipeptidil dipeptidasa IV. (DPP-IV) con lo cual tiene una vida media extremadamente corta de aproximadamente 2 minutos y con un patrón bifásico como el de la insulina. Por lo tanto, los niveles circulantes de GLP-1 aumentan rápidamente al cabo de 15-30 minutos después de la ingesta, seguido de un segundo pico menor a los 90-120 minutos. La glucosa y la grasa se han encontrado para ser potentes estimuladores de la secreción de GLP-1. Algunos de los efectos de la GLP-1 se resumen a continuación en el cuadro 1. (63)

Cuadro 1. Efectos metabólicos del GLP-1.

**EFFECTOS DEL GLP-1 EN EL ORGANISMO.**

- Aumenta la masa celular  $\beta$  pancreáticas y mantiene su función.
- Incrementa la secreción de insulina y mejora la sensibilidad periférica de la hormona.
- Disminuye la glucosa plasmática en ayunas y después de las ingestas.
- Disminuye la HbA1c.
- Suprime la secreción de glucagón.
- Retrasa el vaciado gástrico, que genera sensación de saciedad y reduce la ingesta alimentaria.

Los niveles basales de GLP-1 y su respuesta postprandial están reducidos en personas obesas con DM2. Esta particularidad generó una importante línea de investigación que durante un tiempo sugería que se podía responsabilizar al GLP-1 de la alteración metabólica en estos individuos. El trabajo de Nauck et al. en 1986,(203) llegó a considerar que hasta un 75% de la secreción de insulina era activada por una señal dependiente de GLP-1. Este trabajo y otros tantos similares derivaron en el boom de la farmacoterapia en torno a sustancias con capacidad de estimular los receptores de GLP-1 resistentes a DPP-IV (para prolongar su vida media). De estas investigaciones surgieron los agonistas o análogos de GLP-1 o incretin-miméticos, como son el exenatide, el liraglutide y los fármacos de la familia de las gliptinas.(197;204;205)

Es mucho lo que se ha escrito sobre el GLP-1 y en los últimos años muchas terapias médicas y quirúrgicas tenían como objetivo valorar la capacidad de aumentar o disminuir el GLP-1. Sin embargo, en la actualidad y tras años de seguimiento de los fármacos comercializados y de proponer diferentes líneas de investigación asociadas al efecto incretínico, el GLP-1 va perdiendo protagonismo. (42) Incluso Nauck y colaboradores publicaron una revisión del tema en 2011 sobre la dinámica de la secreción del GLP-1 en individuos con y sin diabetes después de la glucosa oral y comidas

mixtas.(206) Los hallazgos no apoyan la afirmación de un defecto generalizado de la secreción del GLP-1 para explicar la patogénesis y evolución de la DM2. Es más, los fármacos incretin-miméticos también tienen su límite de acción en la evolución natural de la enfermedad.

#### *El GIP - Polipéptido Inhibidor Gástrico.*

El GIP es secretado por las células K del intestino fundamentalmente en duodeno y el yeyuno, en respuesta a la ingestión oral de hidratos de carbono y lípidos. Receptores de GIP se expresan en los islotes pancreáticos, el intestino, el tejido adiposo, del corazón, de la pituitaria, la corteza suprarrenal y en varias regiones del cerebro. Como GLP-1, el GIP se degrada rápidamente por la enzima DPP-IV con una vida media plasmática al menos en su forma exógena de alrededor de 5-7 minutos.(68) Aunque menos potente que el GLP-1, el GIP también actúa sobre las células  $\beta$  pancreáticas aumentando la secreción de insulina. A diferencia de la GLP-1, el GIP no tiene ningún efecto sobre el vaciamiento gástrico ni la secreción de glucagón (Figura 2). Los datos de los estudios que examinan los niveles de GIP en individuos diabéticos siguen siendo discrepantes, pudiendo no haber cambios, disminuir o incluso estar aumentado.(207)

La respuesta del GIP en la cirugía bariátrica es más variable que la del GLP-1. Varios estudios han informado de que los niveles de GIP se reducen después de BPG, posiblemente como resultado de la reducción de la estimulación de las células K en el intestino proximal como consecuencia de la derivación. Sin embargo, también se han descrito elevaciones persistentes en los niveles de GIP hasta 20 años después del bypass yeyuno-ileal. No parece que existan cambios en los niveles de GIP en las técnicas restrictivas. (65;208;209)

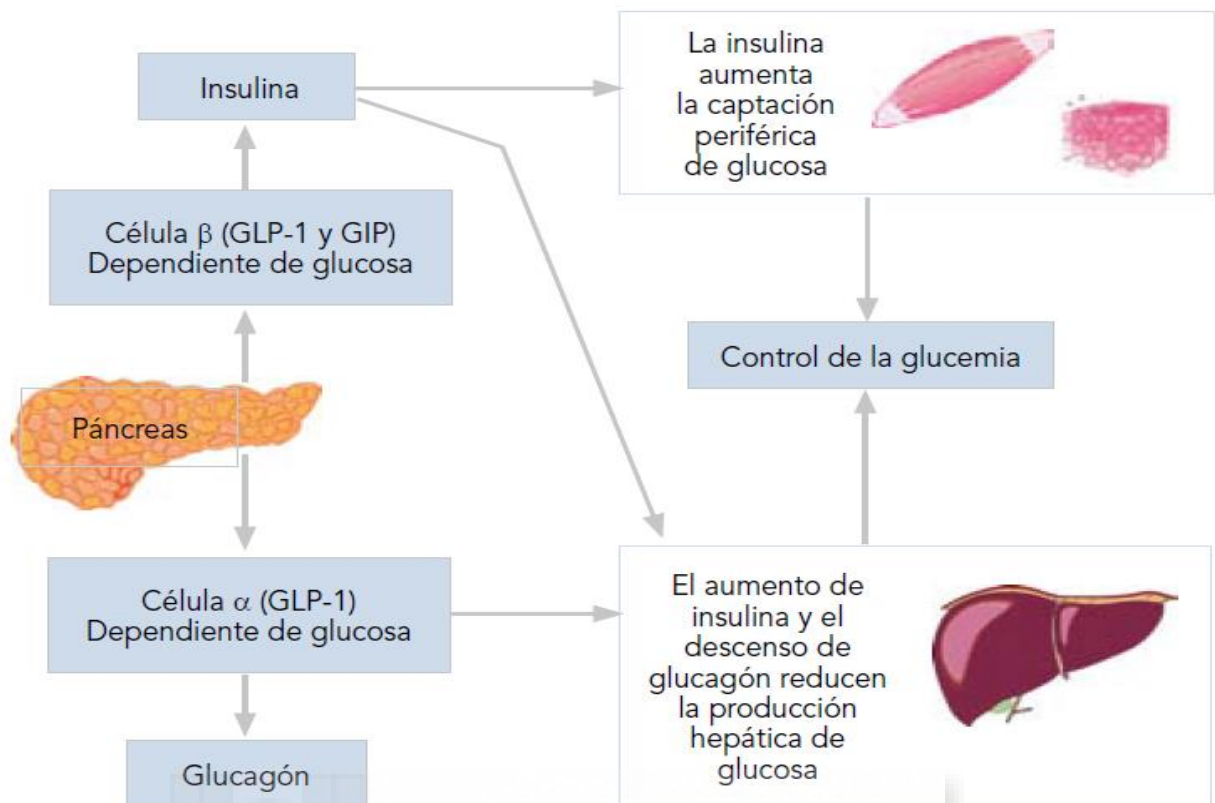


Figura 2. Esquema general del efecto incretínico. Cortesía de P Nogales Aguado y F Arrieta Blanco. *Jano*. Enero 2010.(197)

### El PYY - Péptido YY – Péptido Tirosin-Tirosina.

El PYY debe su denominación a que presenta en su estructura dos residuos de tirosina (Y). También se secreta a partir de las células L en la mucosa del tracto digestivo, en mayor parte en el íleon y el colon y una pequeña cantidad en esófago, estómago y duodeno. También está presente en el páncreas, en las neuronas del sistema nervioso central (hipotálamo, tronco cerebral, médula espinal) y del sistema nervioso periférico (neuronas entéricas). Las concentraciones de esta hormona en circulación se incrementan después de la ingesta de alimento.(210)

El PYY ejerce su función a través del receptor de neuropéptido Y, y se encarga de inhibir la motilidad gástrica e incrementa la absorción de agua y electrolitos en el colon. El PYY también podría suprimir la secreción

pancreática de insulina. Se secreta a los 15 minutos de empezar la ingesta y persiste elevado hasta 6 horas más tarde. El máximo plasmático de PYY está influenciado por el número de calorías y la composición de la comida. A igual aporte calórico, la concentración de PYY es mayor si la dieta es rica en grasa que si predominan los hidratos de carbono o las proteínas.(209)

En los bypass que aceleren la llegada de nutrientes al íleon distal debemos esperar una respuesta aumentada de PYY. Se ha publicado aumento de diez veces en las concentraciones de PYY postprandial después del BPG, en comparación con la respuesta observada en obesos y personas delgadas de control no operados.(211) También después de la GV los niveles de PYY aumentan; pero la respuesta parece ser transitoria. En un ensayo aleatorio, encontraron que GV y BPG proporcionan un aumento similar de PYY durante los primeros 6 meses después de la cirugía. Sin embargo, la secreción de PYY se redujo significativamente a los 12 meses en el grupo de GV, mientras que la respuesta se mantuvo en el grupo BPG.(209;212)

#### **4.2. FOREGUT VERSUS HINDGUT. TEORÍA DE LAS INCRETINAS Y DE LAS ANTI-INCRETINAS.**

Se han propuesto dos teorías para explicar qué parte del reordenamiento intestinal es esencial para el efecto sobre la diabetes. La "hipótesis del intestino distal" (*"Hindgut"*) sostiene que los resultados del control de la diabetes se deben al contacto precoz de nutrientes al intestino distal, lo que mejora la señal fisiológica del metabolismo de la glucosa. Mediadores de candidatos potenciales de este efecto son las llamadas hormonas incretínicas tanto el GLP-1 como el GIP y el PYY. (213)

Una hipótesis alternativa es que la exclusión del duodeno y del yeyuno

proximal del tránsito de nutrientes puede evitar una señal que promueva la resistencia a la insulina y por ende genere la DM2 ("hipótesis del intestino proximal" – "*Foregut*").(214) En esta teoría, hasta la fecha, se han relacionado muchos mensajeros y no sólo las incretinas, ya que se da por sentado que la manipulación directa del intestino delgado proximal, actúa más allá del páncreas y debe existir alguna señal aún no identificada que sea responsable de la mejora en la RI y en el metabolismo glucídico. Todavía hoy estas señales no están del todo dilucidadas y los diferentes trabajos arrojan diferentes valores según la técnica y diferentes moléculas como las responsables.

Para explicar cómo la Exclusión Duodenal mejora la diabetes y la posible contribución del intestino delgado proximal a la fisiopatología de esta enfermedad, se desarrolló la teoría de las "anti-incretinas."(215) Se ha demostrado que el sistema de incretinas puede promover acciones que eventualmente podrían conducir a hipoglucemia, una condición que puede ser mortal si no es tratada a tiempo.(29)

Es por ello que suena razonable postular la existencia de un mecanismo contrarregulador estimulado por el mismo pasaje de los nutrientes. En este sistema de "anti-incretinas", se hipotetiza acerca de una sustancia "X" que tendría acciones opuestas a las de las incretinas, es decir, disminución de la secreción de insulina, bloqueo de la acción de la insulina (o sea resistencia a la insulina) y también reducción del crecimiento de las células  $\beta$ . En concreto estas acciones de las anti-incretinas van a prevenir la hipoglucemia inducida por las incretinas.(188;192)

En consecuencia, una producción equilibrada de incretinas y anti-incretinas es necesaria para mantener los niveles de glucosa normales. Un



cambio hacia una producción excesiva de "anti-incretinas" podría causar resistencia a la insulina, la disminución de la secreción de insulina, y el agotamiento de las células  $\beta$ ; en otras palabras, se generan los elementos que se consideran causa de la DM2. Así mismo, una producción insuficiente de "anti-incretinas" (como por ejemplo lo que ocurre después de las cirugías que impiden el pasaje de los nutrientes en los segmentos proximales del intestino delgado) produce un desequilibrio en los efectos de las incretinas, que conducen a la hipoglucemia, y la proliferación de las células  $\beta$  (Figura 3)(65)

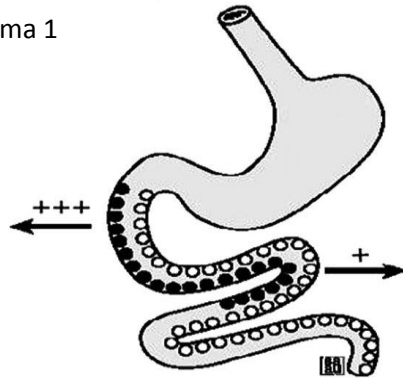
Con el conocimiento actual, no hay candidatos obvios para el papel de anti-incretinas. Las anti-incretinas pueden, de hecho, ser una hormona desconocida o un factor no conocido para funciones que todavía no son completamente entendidas. También hay anomalías que están en consonancia con la existencia de un factor anti-incretínico proximal que interfiere con el sistema GLP-1/GIP. La inversión de la alteración de la primera fase de la secreción de insulina después de un bypass gástrico sugiere una posible recuperación de las funciones normales, un "sistema incretínico" después de la operación. Centrar la atención en el intestino delgado proximal representa una buena oportunidad para investigar nuevas vías en el estudio de la fisiopatología de la DM2.(188)

## **5. NUEVAS TEORÍAS**

De entre los resultados más buscados en la cirugía bariátrica, quizás es la rápida y sostenida remisión de la DM2. (68;182;185)La evidencia experimental tanto de animales como en el hombre, sugiere que la mejora de la diabetes después de una cirugía bariátrica es, en parte, independiente de los cambios en las concentraciones de insulina en

Figura 3. Teoría del efecto anti-incretínico según los esquemas descritos por Rubino en sus trabajos.(215)

Esquema 1

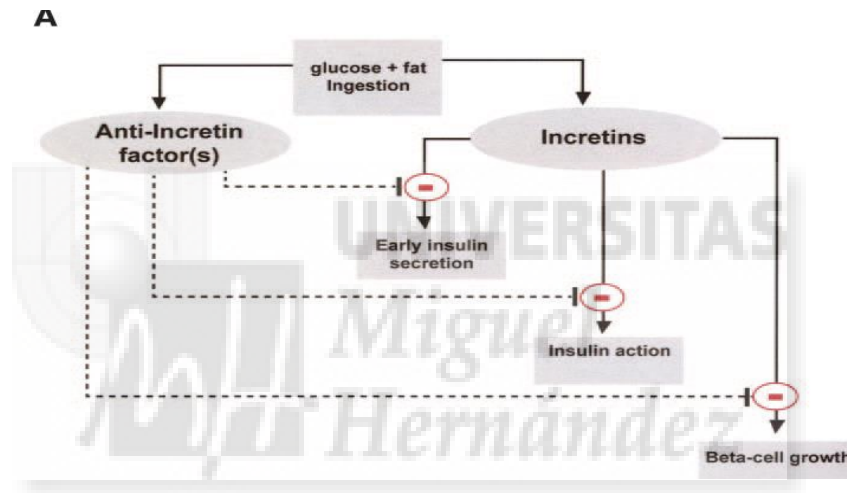


*Hipótesis sobre la posible contribución del intestino proximal a las alteraciones del metabolismo de la glucosa en diabéticos tipo 2.*

*El paso de nutrientes a través del intestino anterior puede implicar, además de la respuesta de la incretina conocida, una señal concomitante de contra-regulación (factor "anti-incretina") destinada a prevenir la hipoglucemia*

- *Células productoras de incretinas (duodeno-yeyuno-íleon)*
- *Células productoras del factor X anti-incretínico*

Esquema 2



plasma, de la pérdida de peso y de la disminución de calorías en la ingesta.(20) Las propuestas de cirugía experimental han descrito diversos cambios en la secreción de diferentes hormonas incretinas (sobre todo de GLP-1). Pero desde hace unos 5 años, las observaciones recientes tratan de esclarecer el origen de la diabetes involucrando otros mecanismos. A partir de aquí, el GLP-1 pierde protagonismo y cobran fuerza otras teorías que se suman a explicar fenómenos que pueden influir en la regulación de la glucemia.(216) Algunos de estos fenómenos son:

- 1) Reducción de la producción de glucosa endógena hepática debido a enzimas que se activan en la luz intestinal que activan el mecanismo de neoglucogénesis intestinal.(217)
- 2) EL reordenamiento intestinal produce una detección temprana de nutrientes sin digerir en la luz intestinal que activa un eje neuro-entérico y activa un mecanismo contra-regulador a nivel de sistema nervioso central que culmina con la inhibición de la neoglucogénesis hepática.(218)
- 3) Los cambios en la resistencia a la insulina hepática asociados a cambios en los niveles periféricos de ácidos biliares en el suero mejoran los perfiles de glucosa. La bilis también mejora la glucemia mediante la estimulación de hormonas incretinas GLP-1 y PYY.(219)
- 4) El reordenamiento intestinal no sólo supone un aumento en las vellosidades y proliferación de células neuroendocrinas, también implica un cambio en la flora intestinal y no son pocos los estudios que relacionan esta microbiota con los cambios metabólicos en la diabetes.(220)

### **5.1. Neoglucogénesis intestinal:**

La concentración de glucosa es mantenida dentro de un rango muy definido (independiente del ayuno o la alimentación), por un delicado balance entre la absorción intestinal, la producción de glucosa por el hígado y otros órganos, así como por la utilización de glucosa por los tejidos periféricos.(217) La producción interna de glucosa se denomina neoglucogénesis o gluconeogénesis y es un mecanismo que genera moléculas de glucosa a partir de otros metabolitos fuera de los hidratos de carbono, que tiene como función proveer glucosa necesaria para el

cerebro, testículos y eritrocitos ya que la glucosa es la única fuente de energía para estos órganos.

Existen investigaciones recientes que han puesto en evidencia que el intestino delgado por sí mismo puede contribuir a la síntesis de glucosa, a través de un proceso de neoglucogénesis intestinal. La reciente observación de que el intestino delgado tiene la capacidad de sintetizar la glucosa y la libera en la sangre portal ha constituido un importante avance en la comprensión de la diabetes.(221) De hecho se ha puesto en evidencia que en el intestino humano también se expresan las enzimas Glucosa-6-Fósforo sintetasa (G6P-asa) y Fosfoenolpiruvato carbocinasa (PEPCK),(222) las cuales son clave en el proceso de neoglucogénesis intestinal. Estas enzimas son abundantes en el hígado, pero sus niveles no son especialmente altos en el intestino. Al menos en el intestino normal. En el intestino, tras un reordenamiento quirúrgico, se observa una marcada inducción de ambas enzimas en segmentos de yeyuno e íleon distal.(223)

Así mismo, la gluconeogénesis intestinal se lleva a cabo sobre todo cuando se inducen genes Glc6Pase y PEPCK, por ejemplo durante el ayuno y comidas con alta carga proteica. Además, en los seres humanos sometidos a trasplante de hígado, se produce un aumento significativo en la concentración de glutamina en plasma. Estas observaciones destacan el papel probable de los riñones y el intestino en la producción de glucosa, porque la glutamina es un precursor mayor de glucosa en estos órganos y no en el hígado. Esto demuestra la importancia de la gluconeogénesis intestinal en la fase anhepática durante el trasplante hepático, pues la producción de glucosa interna prosigue pese a la alteración hepática.(224) La liberación de glucosa intestinal de origen interno al flujo portal, quizás

se interpreta en los receptores hepáticos como glucosa que llega de los alimentos y en consecuencia la señal alterada de gluconeogénesis en el hígado de los diabéticos se regule. Por último, la detección portal de la gluconeogénesis intestinal, induce hipofagia (221) y la infusión de glucosa en la vena porta puede modular el nivel de glucemia del organismo.(225) En resumen, todos estos fenómenos llevan a considerar que el reordenamiento intestinal puede causar aumento de la gluconeogénesis intestinal, lo cual, a su vez, puede disminuir la ingesta de alimentos y restaurar la homeostasis de la glucosa. Con lo cual si bien el GLP-1 pierde protagonismo en el control de la diabetes, el intestino no.(226)

### **5.2. Detección temprana de nutrientes: eje neuro-entero-hepático.**

El bypass gástrico crea un complejo reordenamiento de la anatomía gastrointestinal, que supone una reducción del volumen del estómago, la exclusión de segmentos proximales del intestino delgado (duodeno y yeyuno), y la entrega acelerada de nutrientes al íleon. Tal reordenamiento de la anatomía gastrointestinal puede activar más de un mecanismo de acción que justifique la mejora del metabolismo glucídico.(227;228)

El fenómeno más aceptado es el de la presencia de mecanorreceptores intestinales que se activan ante un contacto acelerado de los nutrientes con la mucosa yeyunal y, por lo general, dichos nutrientes no están del todo digeridos. Por lo tanto, el directo y rápido contacto de glucosa y de ácidos grasos de cadena larga (LCFA) con la mucosa intestinal estimula respuestas incretínicas a través de un circuito neuroentérico.(229) Se ha observado que tanto la glucosa como los LCFA generan impulsos de activación del eje neuroendocrino-intestinal a través del nervio vago y que

estos impulsos se dirigen a la parte posterior del cerebro, que a su vez produce un impulso de retroalimentación para el hígado.(217) La estimulación vagal también puede aumentar la secreción de incretina y reduce la producción endógena de glucosa por el hígado.(229) De hecho, Breen y colaboradores en su trabajo publicado en 2012(230) comprobaron en modelos animales que la infusión de la glucosa directamente en el yeyuno produce un efecto similar al que activan los LCFA con la ingesta. En este trabajo no sólo comentan que la Exclusión Duodenal favorece la presencia de los nutrientes de forma precoz en el yeyuno con el consecuente efecto incretínico en la normalización de los niveles de glucosa en suero, sino que además hicieron hincapié en la activación del nervio vago y en la reducción de la neoglucogénesis hepática.

En 2014 Salinari publicó un estudio en ratas GK(20) diseñado específicamente para investigar el papel de los diferentes segmentos anatómicos del intestino delgado en la regulación de la sensibilidad a la insulina. Las ratas fueron asignadas al azar en cinco grupos: 1. Derivación duodeno-yeyunal (DJB), 2. Resección yeyunal (yeyunectomía), 3. Resección ileal (ileectomía), 4. Ratas con operación simulada (Sham), y 5. Controles no operados. Los resultados de este estudio mostraron que la DJB y jejunectomía mejoran el metabolismo glucídico en ratas GK diabéticas pero no en ratas Wistar normales, lo que confirma hallazgos de Rubino y otros estudios, que indican que la Exclusión Duodenal mejora la tolerancia a la glucosa oral en la diabetes, pero no en los animales de glucosa tolerante. Así pues, si la sensibilidad a la insulina mejoraba después de DJB y jejunectomía en ratas diabéticas, estos cambios no pueden ser atribuidos exclusivamente a cambios en la circulación de incretinas. Con lo cual estos resultados apoyan la hipótesis del Foregut,

que la desviación de los alimentos de zonas proximales del intestino podría reducir o eliminar algún factor que contribuya a desarrollar la resistencia a la insulina. Además, no observar estos cambios en las ratas sometidas a resección ileal ha confirmado que el íleon queda excluido de la ecuación.(20;214;231)

Curiosamente, varios estudios, el último de ellos de Known et al. en 2014,(214) han informado de que en la Exclusión Duodenal realizada como parte de un bypass gástrico en pacientes con cáncer de estómago, su diabetes mejoraba en función a una mejoría en la resistencia a la insulina. Sin embargo, en los pacientes no diabéticos no se observaba este fenómeno. En conjunto, estos hallazgos sugieren que el duodeno y el yeyuno proximal podrían contribuir a la homeostasis de la glucosa de manera diferente en los estados diabéticos frente a los no diabéticos, a través de mecanismos aún desconocidos. De hecho los diferentes efectos de ED en sujetos normales *versus* sujetos diabéticos requieren mayor investigación.

### **5.3. El Efecto de los Ácidos Biliares Séricos (ABS):**

No son pocos los estudios que han demostrado que los ácidos biliares séricos (ABS) se elevan después cirugías con reordenamiento intestinal.(219;232-234) Los ABS fueron previamente conocidos por sus papeles importantes en la absorción de lípidos de la dieta y la homeostasis del colesterol. También está documentado que juegan un papel crucial en la glucosa sistémica, los lípidos y la homeostasis de la energía. Específicamente, los ABS pueden suprimir la expresión de múltiples genes implicados en la gluconeogénesis. (232;235)Así mismo contribuyen a la

disminución de los triglicéridos séricos, evitan la acumulación de grasa en el hígado y aumentan el gasto de energía en la grasa parda. Es por ello que cambios anatómicos y funcionales después de cirugía bariátrica, pueden contribuir a diversos fenómenos, tales como el aumento del reciclado de ácidos biliares de la luz intestinal.(236) Todos estos factores deben ser analizados, pues pueden ser potenciales contribuyentes de ABS elevados después de cirugías metabólicas.

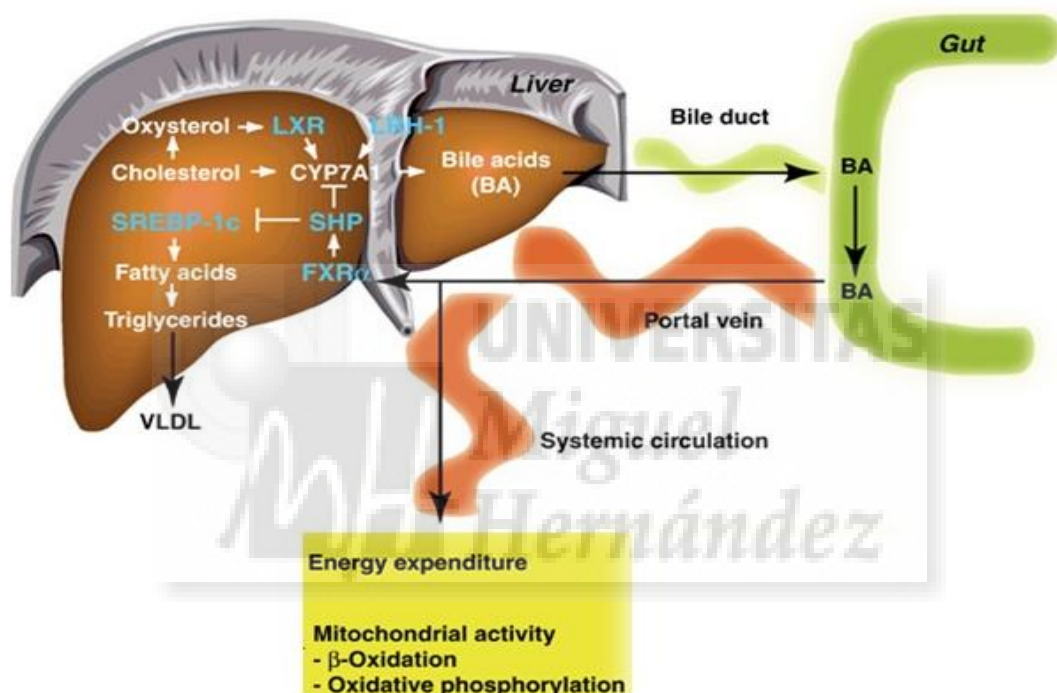


Figura 4(219;232). Participación de los Ácidos biliares en el metabolismo energético. Modificado de Houten SM. et al. Endocrine functions of bile acids. EMBO J. 2006 Apr 5;25(7):1419-25. BA=Ácidos Biliares. VLDL=colesterol de muy baja densidad. Gut=Intestino.(232)

En comparación con sujetos no diabéticos de la misma edad y peso, los individuos con DM2 tienen 54-80% más de concentración de grasa del hígado(237) y dicha concentración se correlaciona positivamente con la resistencia a la insulina hepática de los diabéticos pero no en los sujetos normales.(236) En un estudio de Ryysy et al.(238) se demostró que la cantidad de insulina necesaria para conseguir la normoglucemia en sujetos



con DM2 estaba estrechamente relacionada con el contenido de grasa en el hígado. La cirugía bariátrica puede conducir a aminorar la esteatosis hepática y aunque este fenómeno depende en gran medida de la pérdida de peso que produce la cirugía, es evidente que también existe un factor adicional que logra mejorar la diabetes sin que se relacione con la pérdida de tejido graso en el hígado. De hecho, Han y colaboradores(236) demostraron este evento en ratas GK operadas con un sistema de Exclusión Duodenal. En el estudio de Han se evidencia que la resistencia a la insulina mejoró al disminuir los niveles de insulina y ello se produjo independientemente de la pérdida de peso y del nivel de esteatosis hepática (ausente en las ratas GK). La conclusión de Han en su investigación induce a pensar que la mejora de la sensibilidad a la insulina hepática se puede atribuir a otras causas, como la secreción de ácidos biliares aumentada.

Del mismo modo, se ha visto que el flujo constante de la bilis en el duodeno puede desempeñar un papel importante en el mantenimiento de la estructura de la mucosa de este segmento así como la producción del llamado factor “anti-incretínico.”(219) Thomas et al.(239) informaron que la secreción de GLP-1 parece estimularse en respuesta a la activación de un receptor por los ácidos biliares, que está presente en el duodeno. Esto explicaría por qué durante la administración de una nutrición parenteral total, no se activa este mecanismo, ya que los nutrientes no pasan por la luz intestinal. Este fenómeno fue puesto en evidencia por Speck en sus estudios de 2011.(240) De allí que el flujo ininterrumpido de la bilis podría haber desempeñado un papel importante en el mantenimiento de la estructura de la mucosa del duodeno que es excluido y permanece

intacta. Por esta misma causa se prefiere la administración de nutrición enteral de forma precoz que la parenteral en pacientes críticos.

#### **5.4. La Microbiota**

La microbiota intestinal constituye un complejo ecosistema de organismos que desempeña una importante función en el estado de salud del ser humano. Tiene una función digestiva contribuyendo a la síntesis de micronutrientes, a la absorción de electrolitos y minerales y a la digestión y absorción de determinadas sustancias indigeribles. Por otro lado, la microbiota también contribuye a la destrucción de toxinas y carcinógenos, evita la colonización por bacterias patógenas, contribuye al desarrollo del sistema inmune y modula el estado inflamatorio.(241)

Los humanos desarrollamos la flora intestinal en los primeros días de vida, hasta llegar a tener en la edad adulta 100 billones de bacterias. Sin una microbiota equilibrada se altera todo el metabolismo, elevando el riesgo de sufrir enfermedades, debilitando el cuerpo y haciendo que las recuperaciones sean más largas.(220;241)

Hoy en día se sabe que la flora intestinal es esencial para la vida porque los mamíferos que crecen libres de gérmenes y no adquieren su microbiota normal al nacer presentan un desarrollo corporal anormal con pared intestinal atrófica, alteraciones metabólicas, corazón, pulmones e hígado de bajo volumen y alteración funcional, temperatura corporal baja, cifras elevadas de colesterol en sangre, sistema inmunitario inmaduro y sistema linfático atrófico.(242)

El tipo de nutrientes que componen la dieta diaria de una persona también influye en su flora intestinal. Si es alta en grasas, puede

incrementar la proporción de bacterias productoras de endotoxinas y generar “endotoxemia metabólica”, una situación que promueve la aparición de la DM2.(243) Sin embargo, consumir alimentos funcionales que contienen elementos no digeribles, como la fibra, estimula el crecimiento de bacterias intestinales beneficiosas que podrían ser eficaces para tratar la obesidad por su efecto saciante y regulador del peso.(244)

Un estudio realizado en 2006 en roedores por la Universidad de Washington demostró que la flora intestinal de los ratones con obesidad tiene un número mayor de bacterias tipo Firmicutes y un número menor de Bacteroidetes, es decir un aumento de la relación Firmicutes/Bacteroidetes ( $F > B$ ). (245) Sin embargo, en los ratones delgados la distribución de ambos tipos de bacterias era la opuesta ( $F < B$ ). Investigaciones posteriores corroboraron estas mismas diferencias en la flora intestinal humana, comprobando que la microbiota de los sujetos con sobrepeso tiene mayor capacidad para extraer energía de los alimentos, es decir consigue más calorías con la misma dieta.(246) En concordancia con esto, se ha demostrado que los pacientes con DM2 presentan mayor proporción  $F/B$  y esta proporción es mayor a medida que la enfermedad avanza y el control glicémico se deteriora. El aumento de la relación  $F/B$  es importante al considerar que el principal componente de las membranas celulares de las bacterias gram-negativas (Firmicutes) es el lipopolisacárido (LPS), conocido estimulador de la inflamación. Consecuentemente el aumento de LPS contribuye a la resistencia insulínica y por ende, favorece el desarrollo de la DM2 y la alteración del metabolismo energético.(244;245)

Del mismo modo que se conoce que la microbiota intestinal ejerce efecto sobre la obesidad, hay investigadores que han preconizado que la

microbiota intestinal podría contribuir al inicio de la resistencia a la insulina y al estado inflamatorio del huésped.(247) De hecho, un estudio de Membrez, Cani et al. valoró esta hipótesis tratando a ratones ob/ob con antibióticos de amplio espectro (norfloxacina y ampicilina) administrados en el agua de los animales.(248) El tratamiento antibiótico eliminó casi por completo la población bacteriana intestinal. Al final del tratamiento de dos semanas, los niveles de glucemia en ayunas se normalizaron y la tolerancia a la glucosa oral mejoró notablemente en los animales tratados, a pesar de que persistía la obesidad de estos animales. Así mismo se evidenció una reducción significativa del lipopolisacárido (LPS) y el TNFa circulantes lo que indicaba que la inflamación crónica de baja intensidad se había reducido. También se observó un incremento del almacenamiento de glucógeno hepático y una reducción de los triglicéridos hepáticos en ayunas. Aunque se ha demostrado que un tratamiento antibiótico a corto plazo mejora la diabetes en ratones, los beneficios a largo plazo y los efectos secundarios de este enfoque siguen pendientes de estudio.(247)

## **MODELO DE ANIMAL EXPERIMENTAL**

### **1. MODELOS ANIMALES EN LA INVESTIGACIÓN DE LA DIABETES**

Los modelos animales han sido ampliamente utilizados en investigación de la diabetes. El escoger un modelo u otro para la experimentación a menudo viene determinada por el factor que se desea estudiar. Sin embargo, hay que tener en cuenta que la extrapolación de resultados de los animales al hombre conlleva ciertos riesgos ya que la enfermedad en animales no es una copia exacta de la enfermedad en el hombre.(249) No obstante, los modelos experimentales permiten investigar los mecanismos patogénicos que ayudan a entender el desarrollo de la hiperglucemia, la hipofunción del páncreas y la resistencia a la insulina. Y todo ello es útil a la hora de explorar nuevos métodos para la prevención y el tratamiento de esta patología. Aun así, la experimentación con animales está siendo muy discutida y sujeta a restricciones legales y éticas que varían en todo el mundo. (250)

Los primeros estudios realizados sobre diabetes en animales utilizaron perros a los cuales se les resecaba parte del páncreas para confirmar el papel fundamental de este órgano en la homeostasis de la glucosa. Banting y colaboradores fueron quienes publicaron el artículo de 1922 donde describían la curación de la diabetes mellitus en un perro. (251) Desde esta publicación se sucedieron varios estudios que culminaron con el descubrimiento y la purificación del concepto de la insulina como hormona reguladora del metabolismo de la glucosa. Sin embargo, no es hasta 1951 y gracias al desarrollo de técnicas de bioensayo en sangre, que se establece la existencia de dos grandes grupos de la enfermedad, uno de inicio precoz y asociado a déficit de insulina (DM1) y otra tardía asociada a hiperinsulinemia (DM2). (249) Desde entonces, diversas denominaciones

se han tenido en cuenta en base a esta diferencia y los estudios en animales han ido, día a día, arrojando nuevas luces en este sentido, lo cual hace patente que el estudio experimental en animales sigue siendo un pilar fundamental en la lucha contra esta entidad patológica.

Desde los perros utilizados por Banting hasta la actualidad, diversos modelos animales se han empleado en la investigación de la diabetes. En especial de la clase de los mamíferos. Algunos ejemplos aparecen en la Tabla 1.

*Tabla 1. Algunos modelos animales experimentales en DM2.(249)*

<b>Especie</b>	<b>Línea representativa</b>
<b>Rata</b>	<i>Osuka Long Evans Tokushima Fatty (OLEFT)</i>
<b>Ratón</b>	<i>db/db mutant</i>
<b>Hamster</b>	<i>H. chino (Cricetulus griseus)</i>
<b>Mono</b>	<i>Rhesus (Macaca mulatta)</i>
<b>Conejo</b>	<i>Nueva Zelanda</i>

Los animales de experimentación son un elemento imprescindible del desarrollo de ensayos clínicos, cuya manipulación debe ser estrictamente controlada. Es importante conocer el origen del animal para hacer comparables los resultados obtenidos en un mismo grupo. De igual forma se indica que la experimentación sólo debe hacerse con animales criados específicamente para ello y siempre buscando al máximo su confort y evitando sufrimientos innecesarios.

En este sentido se aplican los principios enunciados por Russell y Burch en 1959 en su obra *“The principle of humane experimental technique”* que expone que la excelencia científica está ligada al uso humanitario de los animales de experimentación.(252) Dichos principios son:

- La Reducción, indica que se debe utilizar el número menor posible de animales necesario para que los resultados sean estadísticamente significativos.
- El Reemplazamiento, señala que siempre que sea posible, se debe sustituir el animal de experimentación por otro modelo (modelos matemáticos, test serológicos, cultivos celulares, modelos in vitro o simulación por ordenador.) Por lo tanto el modelo animal sólo será utilizado cuando el conocimiento esperado sea lo suficientemente importante para justificar su uso.
- El Refinamiento, hace referencia a la estandarización, según normas internacionales, de los cuidados que se deben proveer a los animales.

Entre estos cuidados están:

- ▲ Evitar estrés en el animal, aplicando analgesia cuando sea necesario y utilizando mecanismos de eutanasia aprobados por las leyes vigentes.
- ▲ Diseñar protocolos adecuados para evitar tener que repetir el experimento con el consecuente uso de un mayor número de animales.
- ▲ Hacer universales dichos protocolos para obtener resultados comparables en diferentes regiones y países

Toda esta normativa es la base en la que se sustentan los comités de bioética que examinan cada uno de los proyectos de investigación que se solicitan.

## **2. LOS ROEDORES COMO MODELO EXPERIMENTAL EN EL ESTUDIO DE LA DIABETES**

Dentro de los modelos de experimentación no sólo en diabetes sino a nivel general, son sin duda los roedores, dentro de la clase de mamíferos, el modelo más utilizado. Los roedores ofrecen claras ventajas sobre otras especies, tal como un manejo y mantenimiento más fácil. En los roedores la posibilidad de obtener resultados en cortos períodos es más tangible. Y en relación a estudios sobre el metabolismo, al día de hoy se dispone un amplio arsenal de técnicas de laboratorio para determinar los distintos factores implicados en la regulación del metabolismo glucídico. (253)

Gran cantidad de investigadores consideran el ratón como el modelo animal por excelencia. El ratón se caracteriza por ser un modelo con altas tasas de reproducción lo que lo hace ideal para el estudio de trastornos inmunológicos, enfermedades infecciosas, estudios de oncología, embriología y agentes teratógenos.(92)

En segundo lugar se encuentra la rata, que al igual que el ratón permite disponer de gran número de sujetos en poco tiempo. Por sus características anatómicas se prefiere este modelo para estudios en el campo de la cirugía, nutrición y endocrinología. Del mismo modo, es el modelo más utilizado en estudios conductuales.

Entre otras especies están: los cobayos como modelo de estudios inmunológicos, farmacológicos y nutricionales y el hámster que se enfoca mayormente en estudios de reproducción.



Es importante señalar que tanto en el hombre como en los roedores, la génesis embrionaria de las células  $\beta$  va seguida de una considerable expansión de la masa celular durante las etapas posteriores de la vida fetal. Se creía que esta expansión era sólo posible por la replicación de las células  $\beta$  con las que se nace, ya que se asociaba a índices ligeramente elevados de proliferación celular y porque ya no se observaban células progenitoras pancreáticas en estadíos avanzados. (92)

En relación a la anatomo-fisiología del páncreas del humano versus el de los roedores se conoce en estudios recientes que si bien en los muridos la célula  $\beta$  constituye alrededor del 70-80% del islote y la célula  $\alpha$  en torno al 20%, parece ser que en el hombre las células  $\beta$  representan un 55 % y las células  $\alpha$  un 40%. Estos trabajos han puesto de manifiesto la especial relevancia de las células secretoras de glucagón en la función del islote humano.

Otro claro ejemplo de la capacidad dinámica de la masa de células  $\beta$  se desarrolla en los estados de alta adiposidad. En los sujetos obesos, la resistencia a la insulina expone a las células  $\beta$  a un incremento considerable de la demanda, que se manifiesta con altos niveles de insulina en sangre. Tanto en los humanos como en roedores obesos se ha visto en un momento dado aumento de la masa de células  $\beta$ . Se estima que el incremento compensador de las células  $\beta$  explica que muchas personas obesas no padezcan DM2 hasta que la reserva se hace insuficiente. (254) El que la mayoría de los experimentos se lleven a cabo en roedores también se debe a que la herencia en esta especie es poligénica y varios estudios del genoma en su totalidad han identificado los posibles locus alterados en los cromosomas de estos animales. En ellos, al igual que en la DM2 de los seres humanos, puede sospecharse de

un exceso de transmisión materna (herencia mitocondrial). Así mismo, los modelos animales de diabetes, desarrollan algunas características que pueden ser comparadas con las complicaciones de la diabetes en los seres humanos. Estos incluyen lesiones renales, los cambios estructurales en los nervios periféricos y anomalías en la retina. La investigación sobre estos fenómenos representa otro ejemplo de cómo los animales de experimentación abren áreas que por razones éticas, no pueden ser fácilmente estudiados en el hombre.(253)

### 3. CLASIFICACIÓN DE LOS ROEDORES DENTRO DE MODELOS EXPERIMENTALES PARA EL ESTUDIO DE LA DIABETES

Para explicar cómo se escogen los modelos animales para los diferentes estudios, se suelen emplear diferentes clasificaciones. La clasificación más común es la que los divide según sean para el estudio de DM1, con daño pancreático o del estudio de DM2, con énfasis en la insulinoresistencia. (Tabla 2)

Tabla 2. Modelos según objetivo de estudio: DM1 Versus DM2. (255)

Tipo de Estudio	Modelo más usado	Característica principal
Para DM1	- Rata de BioBreeding (BB)	DM1 que muestra insulinitis y tendencia a la cetoacidosis. No obstante desarrollan inmunodeficiencia.
	- Ratón No Obese Diabetic (NOD)	Cetoacidosis y degeneración de células $\beta$ . Mejor que las BB pues no muestran inmunodeficiencia y sus resultados se extrapolan mejor al humano.
Para DM2	- Rata Zucker Diabetic Fatty	DM2 asociada a obesidad. Mutación en el receptor de la leptina.
	- Rata Goto-Kakizaki	DM2 no asociada a obesidad. Es el modelo ideal para estudio de tratamientos en la DM2.

Otra de las clasificaciones más usada depende del tipo de factor patogénico que se desea estudiar, por ejemplo DM2 asociado o no a obesidad (Tabla 3). La obesidad, la hiperinsulinemia y la consecuente insulinoresistencia periférica, son el escenario previo más común de la DM2 en el hombre. Es por ello que no es extraño que se hayan usado modelos animales de obesidad para intentar aprender más sobre la diabetes. De hecho, las investigaciones en la actualidad están enfocadas en el estudio del por qué algunas personas con obesidad nunca desarrollan DM2 mientras que otros sin adiposidad evidente desarrollan hiperglucemia sin apenas insulino-resistencia. Con todas estas clasificaciones, se hace más patente, si cabe, que los modelos animales de DM2 llegan a ser tan complejos y heterogéneos como lo son las diferentes presentaciones de la enfermedad en el hombre.

*Tabla 3. Modelos de roedores asociados al estudio de la DM2 y obesidad. Cuadro diferencial de ventajas y desventajas. (255)*

Animal	Características	Ventaja	Desventaja
<b>Sprague-Dawley</b>	No obesa. No diabética	Posibilidad de protocolo de engorde Resistente a la agresión quirúrgica Bajo coste. Buenos controles-Sham.	Monitorización continua del peso y la ingesta calórica
<b>Zucker fa/fa</b>	Obesa Diabética con Síndrome Metabólico	Elevada adiposidad y desarrollo acelerado de hiperinsulinemia	Moderada HiperGlucemia.
<b>OLETF</b>	Obesa Diabética sin síndrome metabólico	Hiperinsulinemia e insulinoresistencia	Desarrollo tardío de la etapa diabética.
<b>Goto Kakizaki</b>	No obesa. Diabética.	Útil para explicar efectos metabólicos independientes de la adiposidad.	Costosa y de difícil mantenimiento.

Existe una clasificación que implica el mecanismo de génesis o creación del modelo experimental, que las divide en modelos inducidos y modelos espontáneos. (Tabla 4) Esta clasificación nos parece la más completa para explicar la elección del animal de experimentación, con lo cual se explica a continuación.

#### **4. MODELOS INDUCIDOS VERSUS ESPONTÁNEOS EN LA DM2**

Los modelos inducidos son aquellos donde se somete a los animales a modificaciones intrínsecos (genéticos) o extrínsecos (ambiental) para que desarrollen una o más manifestaciones clínicas de la DM2 humana. En cambio se habla de modelos de DM2 espontáneos, en los casos de cepas que proceden de un animal en el que se ha detectado diabetes de forma espontánea. Dichos animales se seleccionan para realizar una serie de cruces endogámicos que terminan desarrollando un determinado rasgo fenotípico de la DM2 humana. En algunas ocasiones se dice que estos modelos no son totalmente “espontáneos” ya que existen animales que requieren modificaciones dietéticas especiales para que se genere un estado de hiperglucemia. Dentro de los modelos espontáneos existen los intrínsecos y los análogos.

- ▶ Los modelos inducidos se pueden generar, principalmente por cinco mecanismos:

- a) Manipulación genética

En la actualidad las sofisticadas técnicas de biología molecular permiten generar un gran número de modelos animales útiles para el estudio de la DM2. Teóricamente estas técnicas pueden diseñar modelos a demanda del investigador, ya que con ellas se logra que

se elimine o se sobre-exprese alguna proteína en específico que se sospeche pueda tener un papel concreto en el metabolismo

Tabla 4. Modelos experimentales según su mecanismo de génesis.

<b>A. Modelos inducidos</b>		- Manipulación Genética. - Inducción Hormonal. - Efecto Farmacológico. - Inducción Quirúrgica. - Efecto Dietético
<b>B. Modelos espontáneos</b>	<b>1.- Modelos intrínsecos</b>	
	– La rata Zucker Diabetic Fatty (ZDF)	
	– El ratón ob/ob	
	– El ratón db/db	
	<b>2.- Modelos análogos</b>	
	– La rata OLETF (Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty Rat)	
	– La rata Goto-Kakizaki (GK)	

Entre las técnicas genéticas más utilizadas para generar modelos diabéticos están manipulaciones de algún gen con intención de: a) Sobreexpresión: da lugar a ratones llamados transgénicos. b) Eliminación: da lugar a ratones llamados “knock-out”. c) Reemplazo: se generan ratones llamados “knock-in.”(256)

b) Acción hormonal

Es conocido el efecto hiperglucemiante de los corticoides en los humanos. Del mismo modo, la administración de corticoides en diferentes etapas de la vida del animal, también puede desembocar en un estado de hiperglucemia comparable a la DM2 humana. Los modelos generados de esta forma se denominan “análogos” ya que una condición específica conduce a un mismo efecto tanto en animales como en humanos. (255)Estos modelos se consideran idóneos para el estudio de la DM2 en pacientes trasplantados o con

tratamiento esteroideo crónico. Dosis elevadas de hormonas tipo glucagón y la hormona de crecimiento, también pueden producir estados de hiperglucemia. Así mismo, la administración de algunas catecolaminas, de hormonas tiroideas o de somatostatina, puede inducir modelos de diabetes en animales. (257)

c) Efecto farmacológico

Dentro de los modelos de DM2 generados por el efecto tóxico de algún fármaco, los más conocidos y utilizados por los investigadores son los modelos de ratones a los que se administra la Estreptozotocina (STZ.) Este medicamento es un derivado de la nitrosurea que se aísla de una actinobacteria (*Streptomyces achromogenes*) que tiene actividad antibiótica y antineoplásica, pero que como efecto secundario adicional, interfiere en el metabolismo de la glucosa de los ratones recién nacidos. La STZ es un potente agente alquilante que altera la función de las glucocinasas, de los receptores del transporte de la glucosa celular e induce múltiples puntos de fractura del ADN de las células  $\beta$  del páncreas. Es decir, la STZ es tóxica para las células  $\beta$  con la particularidad de que el grado de alteración pancreática viene determinada por la dosis del fármaco. En este sentido se pueden estudiar estados diabetógenos en diferente grado de avance. Por ejemplo, en altas dosis, induce un déficit severo de insulina y hasta cetosis, mientras que a bajas dosis conlleva a diabetes sin cetosis. Sin embargo, los modelos obtenidos por este mecanismo tienen un gran hándicap y es que en la DM2 humana es una enfermedad multifactorial y al día de hoy rara vez es causada por un único elemento, con lo cual las extrapolaciones de los resultados de

investigaciones con este modelo al hombre, deben hacerse de forma racional. (258)

d) Inducción quirúrgica

La manipulación quirúrgica del Sistema Nervioso Central a nivel del hipotálamo puede generar una condición de hiperfagia que genera un estado de hiperinsulinemia, diabetes y obesidad. Por otro lado, las pancreatectomías parciales o totales, pueden provocar estados diabetógenos de tipo hipoinsulinémico. Se debe extirpar aproximadamente el 90 % de la glándula para lograr un incremento estable y moderado de la glucemia. (249)

e) Efecto dietético

La ingesta de alimentos enriquecidos con grasas saturadas o azúcares simples, como la sacarosa, puede inducir a hiperinsulinemia. Así mismo, puede aumentar el depósito de ácidos grasos a nivel del tejido adiposo lo que induce a la resistencia a la insulina. Sin embargo, para que un modelo diabético se consolide con este sistema requiere, evidentemente, de una susceptibilidad genética.(208)

Por su parte los modelos espontáneos pueden establecerse según la manera en la cual se genera la DM2. En tal sentido, se tiene dos tipos: **los modelos intrínsecos y los análogos.**(251)

A.- Los **modelos intrínsecos** involucran mutaciones genéticas propias del animal que muestran manifestaciones clínicas de la DM2, similares al hombre. Es decir, no desarrollan el síndrome de la DM2 como tal, sino que imitan algunos de sus signos o síntomas, y en base a ello se estudia la

fisiología y la patogenia de la DM2 y de las complicaciones derivadas de esas manifestaciones.

\*Algunos modelos intrínsecos son:

a. La rata Zucker Diabética y Obesa –Zucker Diabetic Fatty- (ZDF):

Esta rata se caracteriza por ser un modelo de obesidad que genera DM2 asociada a los efectos de resistencia a la insulina de los estados hiperlipídicos. A los 3 meses de vida el porcentaje de grasa corporal de estas ratas es del 40% ya que desarrollan hipertrofia e hiperplasia de los adipocitos. El gen alterado en la ZDF es el receptor de la leptina, pero a diferencia de otros modelos, la insulinoresistencia (RI) aparece de forma precoz y de forma similar al hombre. De allí que sea el modelo más estudiado para analizar la DM2 asociada a obesidad. Hay que destacar que para que la rata sea adecuada para los estudios debe ser la mutación homocigota recesiva del llamado gen de la diabetes ya que los genotipos dominantes o heterocigotos no presentan las alteraciones en el perfil lipídico. No obstante, todos las ZDF sí presentan una alteración en el desarrollo de las células  $\beta$  que se hereda de forma independiente a la mutación del receptor de la leptina y la RI. Aunque si es usada para el estudio de la obesidad con o sin manifestaciones diabéticas, como modelo de DM2 exclusiva no es adecuado pues los valores de hiperglucemia no son representativos. (255)

b. El ratón ob/ob:

Son ratones cuya mutación altera la propia cadena polimérica de leptina. De esta mutación se generan alteraciones que conducen a obesidad (gen ob/ob) y por tanto se genera resistencia a la insulina derivada de alteraciones en el metabolismo graso. No obstante, al igual que la ZDF, es



un buen modelo para el estudio de la DM2 asociada a obesidad, pero no DM2 exclusiva. La característica más valorada de este ratón es que presentan menos tendencia a formar tumores y otras alteraciones propias de especies mutantes así como una esperanza de vida mayor.

c. El ratón db/db:

La mutación de este ratón muestra muchas de las características de la DM2 humana asociadas a alteraciones en el receptor de la leptina. Es una mutación que se transmite de forma autosómica recesiva. La evolución de la enfermedad en estos ratones se presenta de forma bifásica; en primer lugar desarrollan hiperinsulinemia y después valores muy bajos de insulina coincidiendo con un aumento en el proceso de apoptosis de las células  $\beta$  de los islotes.

B.- Por otro lado están los modelos análogos que son animales cuyas mutaciones sí conllevan al desarrollo del síndrome diabético como tal. Se les considera sustitutos animales de la enfermedad humana ya que no sólo se estudia en ellos las manifestaciones clínicas, sino también la base genética que representan a fin de descubrir genes en el hombre que puedan explicar la génesis y la heterogeneidad de la enfermedad.

\*De entre los modelos análogos los más destacados son:

**A) OLETF (Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty Rat):**

La denominación de Otsuka corresponde a la compañía farmacéutica que mantiene una línea de ratas de Log- Evans, que se caracterizan por desarrollar diabetes de forma espontánea. Estas ratas se distinguen de otras cepas porque generan una DM2 de aparición tardía y de curso crónico. Además es poligénica como en el humano y el daño a nivel de los

islotos pancreáticos se produce de forma secuencial en 3 fases: fase precoz (infiltrado linfocitario a los 2 meses) fase hiperplásica (de los 2 a los 10 meses de edad caracterizado por aumento del tamaño de las células y de la fibrosis) y fase tardía (en ratas con más de 10 meses caracterizado por la atrofia de los islotos). En estas ratas se ha demostrado que la administración de insulina exógena logra evitar la disfunción y cambios morfológicos del páncreas. Por último, otra característica de esta cepa es que parece que su herencia puede estar ligada al cromosoma X, por lo que la enfermedad es más frecuente en machos. (255)

#### **B) La rata Goto-Kakizaki (GK):**

Es considerada el modelo ideal para el estudio de la DM2, especialmente porque no está asociado a obesidad. Esta cepa fue desarrollada desde la década de los 70 por un grupo de investigadores japoneses liderados por Yoshi Goto y Masaei Kakizaki (259) quienes realizaron cruces endogámicos recurrentes de ratas Wistar no diabéticas pero cuyos niveles de Glucemia se encontraban en el límite alto de la normalidad. Dicho modelo reproduce bien las principales características de la DM2 humana: glucemias elevadas, disminución de la tolerancia a la glucosa, deterioro en la secreción de insulina y aumento de la resistencia periférica a la insulina. Típicamente, la Glucemia en ayunas está sólo ligeramente elevada, pero aumenta considerablemente tras la ingesta de glucosa. Las características que hacen de esta rata un modelo adecuado para el estudio la DM2 se explican en un apartado más adelante. (28;260)

## 5. INVESTIGAR CIRUGÍA METABÓLICA EN RATAS

Como hemos apuntado anteriormente, antes de considerar cualquier estudio, es muy importante determinar y elegir el modelo animal adecuado basado en los objetivos y resultados deseados. Es recomendable para aquellos investigadores que deseen realizar estudios sobre cirugía metabólica, obesidad y diabetes que conozcan las características inherentes de cada modelo de rata, pues los resultados se podrán extrapolar a la población según su aproximación al patrón humano.

En la publicación realizada por SB Mistry en 2009,(253) dio a conocer una revisión sobre los modelos más utilizados en el estudio de la cirugía de la DM2. Una reproducción de la tabla que publicó este investigador en su trabajo se anexa en la Figura 1.

Del trabajo de Mistry sobre modelos experimentales de DM2, se concluye que:

- La rata Zucker fa/fa es el modelo que mejor explica los efectos de la cirugía bariátrica, así como es idónea para representar el efecto de las hormonas que regulan el peso y el apetito. En cambio la cepa de rata Zucker tipo ZDF representa un modelo útil para estudiar la RI asociada a obesidad, con la desventaja de que exhibe una tasa elevada de mortalidad tras su manipulación.
- Por otro lado la rata OLETF se caracteriza por asociar un importante componente hereditario en el estudio de la DM2. Las manifestaciones clínicas de la DM2 son de aparición tardía (entre las 18 y 25 semanas de vida) y se relaciona con un grado de obesidad leve. Este modelo ha sido utilizado, sobre todo, para estudiar medicamentos antidiabéticos. Sin

embargo, este modelo es tenido en cuenta rara vez en el estudio de técnicas quirúrgicas.

Figura 1. Estudios descritos en el trabajo de SB Mistry en relación a los modelos de ratas experimentales para el estudio de la DM2. La imagen muestra la tabla que indica tipo de cirugía y efectos logrados.

Table 2 Surgical rat models of type 2 diabetes mellitus

Surgical rat models of type 2 diabetes mellitus						
Author	Type of rat	No. rats	Surgical procedure	Glycemic effect	GI hormones changes	Other effects
Pereferer et al. [8]	ZF, ZDF, SD	10	SG	No change	Increased ghrelin, no changes in insulin and GLP-1	Killed after 2 weeks, 1 dehiscence, 1 died
Yuichi et al. [33]	ZF	27	Gastric Band	Improved		None reported
Xu et al. [32]	ZF	48	RYGB	Improved		Weight loss
Meguid et al. [39]	SD	24	RYGB		Decreased ghrelin, no change in GLP-1	Weight decreased
Aprahamian et al. [37]	SD	21	RYGB	Improved	Increase ghrelin, no change insulin	Decrease food intake and weight
de Campos Martins et al. [41]	Wistar	12	JB follow by DJB	Improved more with JB		Hindgut group better results
Pacheco et al. [21]	GK	12	RYGB	Improved	Increased: Insulin and GLP-1, Leptin and glucagon decreased	None
Wang et al. [22]	GK		MDJB vs. IT	Improved in both	GLP-1 increased more in IT than MDJB	Weight and food intake decreased in both groups, short recovery period in IT

ZF Zucker fatty, Zucker ZDF diabetic fatty, SD Sprague-Dawley, GK Goto-Kakizaki, SG sleeve gastrectomy, RYGB Roux-en-Y-Gastric Bypass, DJB duodeno-jejunal bypass, MDJB modified duodeno-jejunal bypass, IT ileal transposition, JB jejunal bypass

- Finalmente, la rata GK es el modelo que se ha utilizado más para estudiar los efectos de la cirugía metabólica de la DM2 no asociada a obesidad. En este estudio uno de los objetivos es dar respuesta al interrogante del por qué algunas personas desarrollan diabetes sin obesidad ni IR, con lo cual este modelo nos parece el idóneo. A continuación se describen las características más resaltantes de esta cepa.

## 6. LA RATA GOTO KAKIZAKI

La rata Goto Kakizaki (GK) es un modelo animal que presenta niveles elevados de glucemia en época temprana de la vida sin desarrollar obesidad. El origen de las GK procede de las ratas Wistar, que se

manipularon genéticamente para que desarrollaran intolerancia a la glucosa. La causa más probable de esta intolerancia es el deterioro de la masa de células  $\beta$  del páncreas. Además, la exposición crónica a la hiperglucemia (glucotoxicidad) también puede alterar aún más la función de las células  $\beta$ . Así pues, la RI no parece ser primordial en el desarrollo de la hiperglucemia en este modelo de rata diabética y permite estudiar la DM2 no asociada a la obesidad. (261)

La cepa de ratas GK se inició por la cría selectiva de ratas Wistar con niveles muy elevados de glucosa en sangre, tras una prueba de tolerancia a la glucosa oral. Después de cinco generaciones se ha demostrado la continuidad de esta alteración de la glucemia estimulada a su vez por una alterada secreción de insulina. Como las ratas Wistar son el origen de las GK, se ha utilizado a las primeras como animales de control para las segundas. Sin embargo, a pesar de estas similitudes, otras características tales como la morfología y el metabolismo de los islotes parecen diferir de la Wistar original, y obviamente el peso corporal de ratas adultas GK son típicamente un 10-30% inferiores a los controles Wistar de la misma edad.(260)

Existen alrededor de una veintena de colonias de ratas GK derivadas de la cepa original japonesa. La expansión en la década de los 80 incluyó series que destacaron por tener sus propias características. De manera que la colonia de París difería en algunos rasgos de la colonia de Estocolmo, de la de Cardiff o de la de Coimbra. Esta particularidad debe ser tenida en cuenta a la hora de extrapolar conclusiones. No obstante, las propiedades generales de estas ratas se pueden resumir en los siguientes apartados.

### - Predisposición Genética:

Aún se está lejos de averiguar cuáles son las regiones cromosómicas implicadas en el desarrollo de la diabetes en las GK. Existen varios estudios genéticos que sugieren que este modelo se genera a partir de un conjunto de seis loci que se segregan de forma independiente y que tienen la capacidad de establecer características fenotípicas en el animal tal como: defectos en la regulación de la glucosa en ayunas, los niveles de glucosa postprandial y niveles de secreción de insulina.(28;260;262)

Sin embargo, los estudios genéticos explican mejor la resistencia a la insulina que el daño pancreático. En las GK como en los pacientes con DM2 se desarrolla antes un estado de hiperinsulinemia, que demuestra que la RI precede a la disfunción de las células  $\beta$  pancreáticas. Si bien se piensa que el fracaso de la célula  $\beta$  también puede estar determinado genéticamente, ya que al igual que sucede en los pacientes con DM1, en los pacientes con DM2 el difícil control de los niveles de Glucemia con el tiempo conduce irremediablemente al desarrollo de complicaciones de alta demanda sanitaria, tales como ceguera, nefropatía y enfermedad cardiovascular. (28)

Vale destacar que la naturaleza de la base de un proceso hereditario en la diabetes de la rata GK apoya la acción aditiva de varios genes en la génesis de la enfermedad, situación que es similar a la base como enfermedad poligénica en la mayoría de pacientes con DM2.

### - Influencia de la gestación en un medio hiperglucídico:

Independientemente del determinismo genético, en este modelo se han descrito factores epigenéticos que participan en su desarrollo. De tal forma que cuando la hembra GK expone a su feto a niveles altos de

glucosa en el útero, este medio puede ser responsable del desarrollo anormal de las primeras células  $\beta$  en el esbozo pancreático.

Este planteamiento ha vuelto a reabrir la hipótesis de que la DM2 humana pueda tener su origen en el desarrollo fetal temprano y permanecer posteriormente latente durante décadas. Además una característica que ha puesto en evidencia la rata GK es que la pérdida de capacidad regenerativa de las células  $\beta$  es transmitida de una generación a otra. Esto se conoce como respuestas epigenéticas transgeneracionales. (262)

- Condición de prediabetes:

Un rasgo resaltante de la rata GK, es que tras el nacimiento, presenta un período de normoglucemia que abarca principalmente la etapa de destete y que se relaciona con los eventos de prediabetes en el hombre. Es decir, se conoce que la respuesta anormal al metabolismo glucídico está latente, pero sólo se pone en evidencia al cabo del tiempo, o en casos de someter a las ratas jóvenes a pruebas de tolerancia a la glucosa.

Hasta pasados 12 meses de vida las ratas GK presentan hiperglucemia moderada en ayunas de forma estable, es decir sin progreso a un estado cetósico. Por lo tanto, muestra una etapa temprana de la diabetes, cuando la rata GK no presenta complicaciones graves asociadas con esta condición. Es por ello que se postula como un modelo apropiado para estudiar los eventos que ocurren en el período prediabetes, en comparación con las ratas diabéticas obesas que presentan hiperglucemia grave y la hiperlipidemia.

Se ha especulado sobre el origen de esta condición y la teoría más evidente es que en época fetal ya existe un daño a nivel pancreático y factores tanto extrínsecos como intrínsecos después del nacimiento

(ejemplo, persistencia de la glucotoxicidad, cambios en la dieta o alteración de señales en los receptores del factor de crecimiento insulínico tipo 2 [IGF-2], daño de la capacidad de regeneración celular, etc.) se presentan como catalizadores de la enfermedad. Un esquema que explica las fases del desarrollo en el tiempo de la diabetes en las ratas lo explica Portha en diferentes trabajos y que se muestra en la Tabla 5. (260;263)

- Cambios histológicos del páncreas:

El aumento de la fibrosis del páncreas del sujeto diabético no está usualmente presente en las ratas GK jóvenes, pero aumenta la incidencia con la edad. Con lo cual se considera que la pérdida de células  $\beta$  (primaria, secundaria o adquirida,) o la alteración de la diferenciación de las mismas, tiene su génesis en la exposición crónica a la hiperglucemia (glucotoxicidad). Diferentes estudios también han puesto en evidencia esta propiedad en el humano y el debate ahora se focaliza en los posibles mecanismos responsables de la formación de un microambiente anormal en el islote pancreático, como causa de la disfunción de los mecanismos de apoptosis y regeneración del número de células  $\beta$  o de la alteración en su función. (92)

Por otro lado, una característica morfológica de islotes de rata GK es la presencia de grandes islotes pancreáticos que muestran un aumento de tejido conectivo entre las células endocrinas (tanto  $\alpha$  como  $\beta$ ). En consecuencia, las líneas celulares productoras de glucagón y somatostatina se ven interrumpidas y entremezcladas con grupos de células  $\beta$ . Estos cambios fibróticos aumentan con el tiempo.

Existen estudios que han demostrado que la marcada reacción inflamatoria que acompaña a los islotes pancreáticos de las ratas GK, se



considera un mecanismo fisiopatológico importante en la génesis de la DM2. Se han observado numerosos macrófagos y granulocitos alrededor de los islotes de manera que recuerdan a la reacción inflamatoria perivascular que ocurre en la microangiopatía diabética. Es importante reseñar que estas características histológicas de los islotes se ven revertidas en los casos en que las ratas han sido sometidas a algún tipo de tratamiento para la diabetes (farmacológico, dietético o quirúrgico). (264)

Tabla 5. Esquema del desarrollo espontáneo de la DM2 en las ratas GK.

Exposición hipergluce-mi a materna	Glucemia Normal Basal Prediabetes	Hiperglucemia basal Intolerancia a la Glucosa Diabetes
<b>Nacimiento</b>		
Tiempo de vida	28 días	56 días
<b>Fetal</b>	<b>Lactante</b>	<b>Adulto</b>
<b>Cambios Histológico</b>	Reducción de la masa de células $\beta$ Inflamación de los islotes pancreáticos, angiopatía y fibrosis	
<b>Fisiológico</b>	Secreción de insulina postpandrial deficiente Aumento de la neogluco-génesis hepática y de la resistencia periférica a la insulina	

- Aumento de la síntesis de glucosa en el hígado:

Otra cualidad de este modelo experimental es el aumento en la producción hepática de glucosa que ocurre también aproximadamente a las 8 semanas de vida. Hay estudios que revelan una disminución del efecto de la insulina supresor en la producción de glucosa hepática, lo que demuestra que el hígado de las ratas GK adultas muestra resistencia a la acción de la insulina. Ello se traduce en un aumento de la síntesis de glucosa hepática, ya que los hepatocitos traducen este fallo de señales como un ayuno prolongado y activan las vías oxidativas de la neogluco-génesis. El daño hepático descrito en las ratas GK incluye

alteraciones en la actividad de los complejos mitocondriales, el aumento de la oxidación de proteínas, la disminución de enzimas antioxidantes (superóxido dismutasa, glutatión S-transferasa, NADH-quinona oxidoreductasa-1) y un aumento significativo de los biomarcadores de la apoptosis, incluyendo la expresión de p21 y p53.(27)

- Resistencia periférica a la insulina:

Es complejo explicar la presencia de insulinoresistencia en las ratas GK, sin poder relacionarla con alteraciones en el metabolismo lipídico, que suelen derivarse de la presencia de obesidad en el sujeto. Cuando se habla de insulinoresistencia es clave la función de los ácidos grasos libres, sobre todo a nivel hepático. Pero en las GK la adiposidad no es la causa principal de la resistencia a la insulina. Al parecer, los estudios realizados a través de la experimentación con clamps normoglicémicos han puesto en evidencia la alteración en los receptores de la insulina por medio de un defecto de la enzima Akt. Se ha descrito que la rata GK muestra un número reducido de estos receptores, en comparación con controles Wistar. Sobre todo está descrita la reducción en tejidos como el músculo esquelético y cardíaco, así como en la grasa blanca y parda. La enzima Akt también llamada Proteinkinasa B en su forma secundaria (Akt2) es una importante molécula de señalización en la vía de señalización de la insulina. Se requiere para inducir el transporte de glucosa dentro de la célula. Por lo que una actividad reducida de la Akt2 puede explicar el desarrollo de la insulinoresistencia. (260)

- Funcionamiento del receptor de GLP-1:

Estudios en ratas GK sobre el uso de fármacos agonistas del receptor de GLP-1 han demostrado la implicación de esta hormona y su receptor en la

génesis de la diabetes. Así pues, el uso farmacológico de agonistas del receptor de GLP-1 en el periodo de prediabetes de la rata, inducían a una regeneración de la célula  $\beta$  y de esta forma prevenían el desarrollo de hiperglucemia. La prueba de ello también es tangible en el hombre con el desarrollo del Exenatide, fármaco que actúa sobre los agonistas del receptor de GLP-1 y logra inhibir el decrecimiento de la masa funcionante de células  $\beta$ . (209)

- Alteraciones en órganos diana:

Al igual que otros modelos animales de diabetes, la rata GK desarrolla algunas características que pueden ser comparadas con las complicaciones de la diabetes humana. Estas características han demostrado ser útiles para estudios relacionados con la patogénesis de la nefropatía diabética, complicaciones vasculares, hipertensión y cardiopatía, osteopenia en condiciones de hiperglucemia crónica, cambios estructurales en los nervios periféricos y anomalías en la retina que conducen a ceguera.(255)

Las características descritas previamente, hacen de las ratas GK un modelo experimental apropiado para el estudio de la DM2, razón por la cual se escogió en nuestro estudio. La siguiente tabla (Tabla 5) muestra los rasgos comparables entre el hombre y la GK.

Tabla 5. Características comparables en el hombre en relación a la rata GK.

Característica	Paciente DM2	Rata GK
<b>Propiedades de la células <math>\beta</math></b>		
Reducción de las células $\beta$	✓	✓
Aumento de la apoptosis de las células $\beta$ debida a glucotoxicidad	✓	✓
Disminución de la regeneración de células $\beta$	No	✓
<b>Cambios histológicos en el páncreas</b>		
Aumento de la fibrosis en el tejido pancreático	✓	✓
Infiltración de macrófagos y reacción inflamatoria alrededor de los islotes	✓	✓
Amiloidosis de los islotes pancreáticos	✓	No
<b>Alteraciones fisiológicas</b>		
Fase de prediabetes con hiperinsulinemia	✓	✓
Respuesta reducida de la insulina	✓	✓
Síntesis y desarrollo normal de la Proteína C –proinsulina-	Desconocido	✓
Activación del mecanismo oxidativo y no oxidativo de producción de glucosa hepática	✓	✓
Respuesta de la insulina a GLP-1 normal	✓	✓
<b>Alteraciones a nivel celular</b>		
Disminución de la expresión del receptor GLUT2	✓	No
Reducción de la expresión de la Proteinkinasa B	Desconocido	✓
Alteración a nivel mitocondrial	✓	✓
Oxidación de la Glucosa	Disminuída	Variable
Aumento en la producción de lactato	Desconocido	✓
<b>Ambiente en el embarazo</b>		
Hiper glucemia materna como factor de riesgo de la diabetes	✓	✓
<b>Efecto de los tratamientos conocidos para la DM2</b>		
Respuesta de las células $\beta$ al tratamiento farmacológico	✓	✓
Respuesta al cambio dietético	✓	✓
Respuesta a la manipulación quirúrgica del tracto gastrointestinal	✓	✓

## **JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO**

### **1. INTRODUCCIÓN**

Existe una evidencia creciente que muestra que la cirugía de la obesidad es capaz de inducir cambios significativos en las hormonas intestinales y factores reguladores de la homeostasis energética, apoyando la idea de que los efectos de estas operaciones son en realidad efectos verdaderamente metabólicos, con capacidad de mejorar los factores que predisponen a la DM2.(15)

Es más, si se considera la capacidad de inducir la remisión de la DM2, la cirugía bariátrica parece ser aún más eficaz en la diabetes que en la obesidad. Por tanto la definición de "operaciones bariátricas" podría ser insuficiente para definir los procedimientos quirúrgicos que se traducen en algo más que la pérdida de peso. Tal vez sería más apropiado considerar la definición de "cirugía metabólica" e incluso de "cirugía para la diabetes" para aquellas operaciones que se realizan en pacientes con DM2 sin otras alteraciones añadidas (obesidad, hipertensión, hipetrigliceridemia, etc.) y con la finalidad última de corregir principalmente esta alteración metabólica.(12)

Pero si bien las indicaciones de cirugía bariátrica para los pacientes con diabetes y obesidad, están ampliamente establecidas,(33) es evidente que en la campo de la DM2 no asociada a obesidad, aún falta esclarecer muchos mecanismos fisiopatológicos, para poder establecer protocolos de actuación. Mientras tanto cirujanos como pacientes plantean continuamente en foros científicos del tema, las siguientes preguntas:

*-¿Cuándo se puede plantear la cirugía a un paciente diabético no obeso?*

*-¿Deben insistir los endocrinólogos en continuar con las terapias médicas en pacientes en los que se prevé una proyección de la enfermedad de muchos años de evolución?*

*-¿Se puede obviar que la hiperglucemia mantenida continúa ejerciendo su efecto deletéreo sobre diferentes órganos mucho antes de que el diagnóstico clínico de la DM2 se haya realizado?*

*-¿Se debería tomar en cuenta otros factores al margen del IMC para recomendar una cirugía en el tracto intestinal que mejore el metabolismo glucídico?*

Muchas de estas preguntas probablemente sean respondidas en los próximos años y en ese sentido nace la inquietud de desarrollar este proyecto de investigación. Dada la compleja etiopatogenia de la DM2, es evidente que aún hoy se hacen necesarios modelos experimentales. Dichos modelos permitirán el análisis de los mecanismos fisiopatológicos (centrales, intestinales, endocrinos, etc.) implicados en la recuperación del metabolismo energético, así como una mejor comprensión de los factores funcionales y de los mecanismos moleculares que regulan la proliferación y/o regeneración de las células  $\beta$ .

Con nuestro estudio se ha propuesto desarrollar una nueva técnica quirúrgica que logre restablecer los niveles glucídicos sin afectar al peso global del individuo. Con los resultados obtenidos hemos dado por válido el procedimiento técnico de la propuesta quirúrgica. La efectividad de la técnica viene respaldada por los resultados analíticos e histológicos obtenidos, que son comparables a otros estudios en esta línea de investigación. Con la validación experimental en el modelo animal, no se pretende establecer indicaciones formales acerca de la cirugía de la DM2 en pacientes no obesos, sino sumar una propuesta adicional a los tratamientos quirúrgicos existentes en la actualidad.

En realidad, el propósito final de todo el estudio ha sido aportar más información al medio científico sobre el tema de la cirugía de la diabetes, área de estudio que se encuentra en extenso auge, y donde diferentes grupos de investigación a nivel mundial están desarrollando diferentes experimentos con la finalidad de averiguar cuáles son los factores que están involucrados en el mecanismo que produce la mejoría de la DM2 tras cirugía intestinal. De manera que, pensamos que los resultados obtenidos en este proyecto aportarán al mundo científico nuevos datos que permitan confirmar o rechazar ciertos postulados e incluso abrir nuevos caminos para ampliar el estudio.

## **2. CONSENSOS NACIONALES E INTERNACIONALES.**

En el año 2007 se reúnen en Roma un grupo de aproximadamente 50 expertos, compuesto por los endocrinólogos y cirujanos más influyentes del mundo en el campo de la cirugía metabólica, y tras numerosas exposiciones y encuestas acuerdan afirmar que:

*“La cirugía gastrointestinal puede ser apropiada para el tratamiento de la DM2 en pacientes entre 30 y 35 de índice de masa corporal (IMC) que no tengan un control adecuado mediante el estilo de vida y el tratamiento médico”.*

La Diabetes Surgery Summit (DSS) se constituye entonces como árbitro que reconoce la legitimidad de abordajes quirúrgicos para el tratamiento de la diabetes en pacientes cuidadosamente seleccionados. Además de la anterior afirmación, se acordaron otras muchas conclusiones que vienen reflejadas en el resumen que realiza Rubino en una publicación del Annals of Surgery de 2010.(32) Otras de las conclusiones a las que se llegó fue el

de priorizar los ensayos clínicos para investigar el papel exacto de la cirugía en pacientes con obesidad menos severa y diabetes sin obesidad. Por otra parte, deben alentarse las investigaciones sobre los mecanismos de control quirúrgico de la diabetes ya que pueden ayudar a avanzar en la comprensión de la fisiopatología de la diabetes que aún sigue siendo incierta. Con todo esto la DSS establece las bases para una subespecialidad descrita en las bases de **"La cirugía de la diabetes"**, y si bien estimula a mejorar el acceso a las opciones quirúrgicas respaldadas por estudios, también lanza una alerta para prevenir el daño derivado del uso inadecuado de procedimientos no probados.

En 2011 la International Diabetes Federation (IFD) acuerda que la cirugía de la diabetes es eficaz, más barata que el tratamiento médico y se debe considerar como una opción de tratamiento, sobre todo si disminuye las muertes por causa de enfermedad cardiovascular.(265;266) Por su parte, en 2013, representantes de la Sociedad Española de Endocrinología y Nutrición (SEEN), Sociedad Española de Cirugía de la Obesidad y Enfermedades Metabólicas (SECO), Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad (SEEDO) y la Sociedad Española de la Diabetes (SED) elaboraron el documento de posicionamiento de la cirugía metabólica como un procedimiento universal útil en un gran número de pacientes diabéticos.(33) Este documento de consenso nacional, abre un campo a la cirugía muy prometedor en cuanto al gran número de pacientes que pueden beneficiarse de nuevas indicaciones de intervenciones y en cuanto a líneas de investigación médica y quirúrgica que se deben desarrollar. En nuestra investigación hemos tratado de ajustarnos a los criterios de este documento en cuanto a la investigación experimental. A continuación se



presenta un resumen de los postulados más relevantes del Consenso Español de 2013.

### **3. DOCUMENTO ESPAÑOL SOBRE EL TRATAMIENTO QUIRÚRGICO DE LA DIABETES. POSICIONAMIENTO DE LA SENN, SEEDO, SECO Y SED DE 2013.**

#### **3.1. INDICACIONES**

A.- La cirugía metabólica está indicada en pacientes con obesidad (IMC  $\geq$  35 Kg/m<sup>2</sup>), con especial atención si la diabetes o sus comorbilidades son difíciles de controlar con cambios en el estilo de vida y tratamiento farmacológico (nivel de evidencia B).

B.- Aunque no recomendamos de manera indiscriminada la cirugía metabólica en DM2 con IMC 30-35 Kg/m<sup>2</sup>, debido a insuficientes datos a largo plazo sobre reducción de morbimortalidad cardiovascular y/o disminución de complicaciones microvasculares (nivel de evidencia E), se puede plantear su aplicación en ciertas situaciones.

B.1.- Analizando la experiencia positiva de algunas series de casos y ensayos clínicos pequeños a corto y medio plazo en la mejoría del control glucémico y de las comorbilidades asociadas, consideramos que podrían ser candidatos a cirugía metabólica los pacientes con DM2 e IMC 30-35 Kg/m<sup>2</sup> que cumplan los siguientes requisitos:

B.1.1. Pacientes en los que, habiendo sido evaluados por un endocrinólogo en el contexto de un equipo interdisciplinar, se haya descartado otras formas de diabetes diferentes de la DM2 (DM1, LADA o MODY)

B.1.2. Que muestren un deterioro progresivo del control glucémico (HbA1C > 7,5 %) a pesar del tratamiento convencional optimizado y en los que, especialmente, coexistan otras comorbilidades mayores no controladas adecuadamente (dislipemia aterogénica, hipertensión, apneas obstructivas del sueño).

B.2.- La inclusión de pacientes fuera de estos criterios debe formar parte de protocolos de investigación bien diseñados y controlados, confrontados a tratamientos convencionales basados en cambios del estilo de vida y tratamiento farmacológico habitual.

C.- Conviene señalar que las tasas de remisión son menores cuando el diagnóstico de la diabetes supera los 10 años, el paciente sigue tratamiento con insulina y existe evidencia de escasa reserva pancreática.

### **3.2. CONDICIONES DESDE EL PUNTO DE VISTA QUIRÚRGICO**

La cirugía metabólica debe ser realizada por un cirujano bariátrico experto y debe basarse en técnicas ya conocidas, pudiendo adaptarse a las nuevas condiciones de peso y control metabólico que necesite el paciente. Los procedimientos novedosos deben formar parte únicamente de ensayos clínicos estructurados.

La cirugía metabólica debe realizarse en el contexto de una colaboración interdisciplinar que agrupe, con los cirujanos bariátricos, a otros especialistas con los que compartir experiencias y resultados: endocrinólogos, cardiólogos, internistas, investigadores básicos y clínicos, etc.

### 3.3. CRITERIOS DE REMISION DE LA DM2 CON TRATAMIENTO QUIRÚRGICO.

Se debe emplear el concepto de remisión y no el de curación en la evaluación de los resultados de la cirugía metabólica. Los criterios de remisión de la DM2 propuestos en este posicionamiento son los mismos que los establecidos por consenso por un grupo de expertos que describen en el artículo de Buse et al. en la revista de Diabetes de Care de 2009.(70) En cualquier caso la cirugía debe contribuir en la totalidad de los casos a alcanzar las metas mínimas de buen control metabólico (con/sin tratamiento activo coadyuvante): HbA1C < 7 %, LDL <100 mg/dL, triglicéridos <150 mg/dL, HDL >40 mg/dL (hombres) y >50 mg/dL (mujeres) y TA< 140/80 mmHg.

Los criterios de remisión de la DM2 avalados por la ADA(1) tienen en cuenta las cifras de HbA1c y de glucemia en ayunas, así como la necesidad de tratamiento farmacológico y el tiempo de duración del mismo. Así pues, define diferentes términos:

A.- Remisión parcial de la DM2: en presencia de una cifra de HbA1c < 6,5%, una glucosa basal entre 100 y 125 mg/dl con ausencia de tratamiento farmacológico, durante por lo menos un años de seguimiento.

B.- Remisión completa de la DM2: se define por una HbA1c < 6,5%, una glucosa basal < 100 mg/dl (< 5,6 mmol/l) y ausencia de tratamiento farmacológico al menos tras un año de seguimiento.

C.- Remisión prolongada de la DM2: cuando los resultados se mantienen al menos por 5 años. De forma que pacientes que sólo logren reducir cifras de HbA1c, o reducir tratamiento farmacológico se considera “mejoría de la DM2” y no remisión.

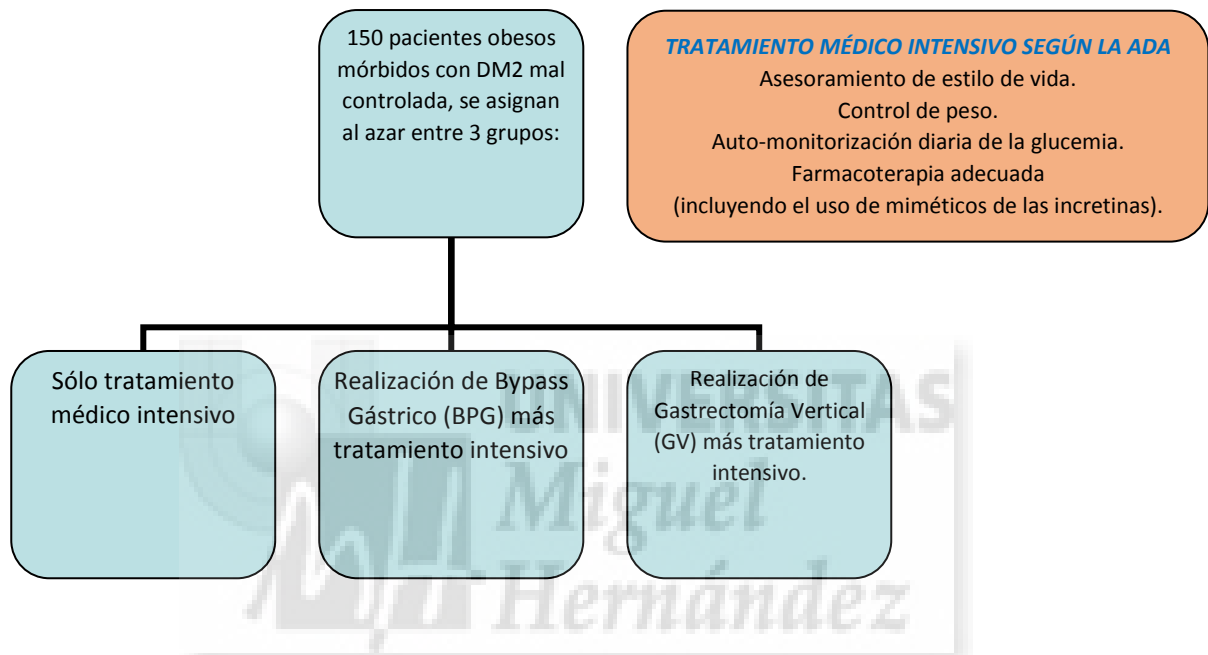
De todas formas, la remisión de la diabetes sigue siendo un concepto muy heterogéneo. Este hecho dificulta la comparación entre las muestras de diversos estudios en el mundo quirúrgico. Es frecuente que la remisión se defina en términos de "normalización" de la glucemia en ayunas o de los valores de hemoglobina glucosilada (HbA1C) factor que obliga a suspender o disminuir la dosis de los antidiabéticos o la insulina. Sin embargo, esta definición no incluye criterios específicos para los niveles de HbA1C (variando desde < 6,0 a 7,0 % en de uno a otros artículos), así como no se describen plazos de tiempo cuantificable para dicha "normalización". Por ello se recomienda utilizar las bases del Consenso anual de la ADA, con el fin de lograr estudios que puedan comparar diferentes series de pacientes y diferentes técnicas quirúrgicas.

De igual forma se debe demandar estudios de alta calidad que comparen las tasas de remisión de la diabetes mediante la cirugía bariátrica. A este respecto, a nivel mundial ya se han realizado varios ensayos controlados aleatorizados como el de Dixon et al. donde aleatorizaron 60 pacientes obesos grado I con un IMC de 30-40 Kg/m<sup>2</sup> y un diagnóstico de DM2 de menos de 2 años, comparando banda gástrica versus una terapia médica convencional. Hasta un 73% de los pacientes en el grupo quirúrgico logró el objetivo primario en comparación al 13% en el grupo de tratamiento médico.(267)

Por su parte Schauer et al. en el estudio STAMPEDE (*Surgical Therapy and Medications Potentially Eradicate Diabetes Efficiently*) asignaron al azar a 150 participantes obesos con DM2 mal controlada (HbA1C >7%) en uno de los siguientes grupos: 1) Solo tratamiento médico intensivo, 2) BPG o 3)

GV, con terapia médica intensiva como complemento a los procedimientos quirúrgicos. La efectividad del tratamiento se definió como una HbA1C  $\leq$  6% a los 12 meses. Todos los participantes recibieron tratamiento médico intensivo según las recomendaciones de la ADA que se especifican el cuadro siguiente.(268)

Figura 1. Estudio STAMPEDE.



Del estudio STAMPEDE se concluyó que el 42% de los pacientes del grupo de BPG logró el objetivo primario, en comparación con un 37% en el grupo de GV, y 12% en el grupo de tratamiento médico. Los pacientes sometidos a BPG normalizaron la HbA1C sin antidiabéticos orales, mientras que un 28% en el grupo con gastrectomía requirió uno o más fármacos para controlar la glucemia; en cambio en el grupo de control médico, se debió aumentar la pauta de tratamiento farmacológico.

No se puede dejar de mencionar dentro de las líneas de estudio actuales los resultados de Lee WJ et al. que realizaron un estudio retrospectivo sobre aproximadamente 200 casos de pacientes diabéticos con IMC a partir de 27 Kg/m<sup>2</sup>.(269) De ellos el 86% fueron sometidos a BPG y el 14%

a técnicas restrictivas. Al año el IMC medio se redujo de 28,5 a 23,4 Kg/m<sup>2</sup> y la HbA1C disminuyó a 6.3%. La remisión de la DM2 se logró en el 72,4% de los pacientes. Los pacientes con una duración de la diabetes de < 5 años tenían una mejor tasa de remisión de la diabetes que los pacientes con la duración de la diabetes > 5 años. Del mismo modo, los pacientes con IMC > 30 Kg/m<sup>2</sup> tuvieron una mejor tasa de remisión de la diabetes que aquellos con IMC < 30 Kg/m<sup>2</sup>. Tras aplicar un análisis estadístico se confirmó que el tiempo de evolución de la diabetes y el tipo de cirugía predicen en mayor grado la remisión de la diabetes. Por lo tanto, aunque existan algunos casos de recaída a largo plazo, la evidencia de los estudios antes mencionado confirman que la mejora de la glucemia y los beneficios de la misma persisten años después de la cirugía.

#### **4.- PROPUESTA PARA UNA NUEVA TÉCNICA QUIRÚRGICA EXPERIMENTAL PARA EL TRATAMIENTO DE LA DM2**

Cualquier nueva técnica quirúrgica propuesta para el tratamiento de la DM2 debe fundamentarse en los principios ya comentados previamente de los diferentes documentos de consenso, así como en los estándares de la ADA que se detallan en el cuadro lateral a continuación.

La Asociación Americana de Diabetes (ADA) actualiza de forma periódica las normas y estándares de atención al paciente diabético. Estas normas están destinadas a proporcionar a los médicos, pacientes, investigadores, financiadores y otros individuos interesados con los componentes de la atención de la diabetes, los objetivos generales de tratamiento, y herramientas para evaluar la calidad de la atención. Las normas de atención concluyen con evidencias y recomendaciones de estrategias para mejorar el proceso del manejo integral del paciente diabético. Hay que destacar que las pruebas recomendaciones clínicas y expertos por sí solas no pueden mejorar la vida de los pacientes, sino que deben tener una traducción efectiva, eficaz y eficiente en la práctica clínica diaria. Respecto a la cirugía bariátrica y metabólica en el paciente con DM2 las normas de la ADA (1) describen lo siguiente:

Las ventajas de la cirugía bariátrica han sido demostradas, ya que normaliza casi o completamente la glucemia en el 40-95 % de pacientes con DM2, dependiendo del estudio y del procedimiento quirúrgico empleado. La cirugía bariátrica es costosa a corto plazo y se ha asociado a riesgos. La mortalidad y morbilidad directamente relacionadas con la cirugía ha disminuido bastante en los últimos años, con índices de mortalidad de 30 días ahora del 0,28 %, similar a aquellos que se someten a colecistectomía laparoscópica. Las preocupaciones a más largo plazo incluyen las carencias de vitaminas y minerales, osteoporosis e hipoglucemias (raras pero a menudo severas por hipersecreción de insulina).

- Deberá considerarse la cirugía bariátrica en adultos con un IMC > 35 Kg/m<sup>2</sup> y DM2, especialmente si la diabetes o la comorbilidad asociada son difíciles de controlar a través del estilo de vida y el tratamiento farmacológico.

- Los pacientes con DM2 que han sido sometidos a cirugía bariátrica requieren un mantenimiento del estilo de vida y vigilancia médica durante el resto de sus vidas.

- Aunque algunos ensayos de poca envergadura han demostrado que la cirugía bariátrica resulta beneficiosa para la glucemia de los pacientes con DM2 e IMC de 30–35 Kg/m<sup>2</sup>, actualmente no hay pruebas suficientes para recomendar de forma general la cirugía en pacientes con un IMC < 35 Kg/m<sup>2</sup> fuera de un protocolo de investigación.

- Los beneficios a largo plazo, la rentabilidad y los riesgos de la cirugía bariátrica en pacientes con DM2 deberán estudiarse en estudios controlados aleatorizados bien diseñados.

## 5.- ¿QUÉ LLEVA A PENSAR QUE EXISTE CAMPO PARA UNA NUEVA TÉCNICA QUIRÚRGICA EXPERIMENTAL?

Para responder a esta cuestión nos basaremos en cuatro evidencias:

a.- Analizando la evolución de la cirugía bariátrica en el tiempo y considerando sus beneficios sólo en términos de efectividad para inducir la remisión de la DM2, las técnicas quirúrgicas para la obesidad parecen ser aún más eficaces en corregir las disfunciones metabólicas como la diabetes que el problema de la obesidad en sí misma.

b.- La sociedad conoce de estos resultados y no son pocos los diabéticos que a sabiendas del avance silencioso e implacable de la enfermedad empiezan a demandar soluciones definitivas a su condición, aun cuando su IMC sea menor de 35 o, en inicio, no presenten complicaciones derivadas de la DM2.

c.- Existen diferentes técnicas para la cirugía de la obesidad y todavía hoy en

día ninguna ha podido establecer su supremacía sobre el resto. Además, en diferentes proporciones todas ellas logran mejorar la DM2. Sin embargo técnicas exclusivamente para el tratamiento de la DM2 en pacientes no obesos aún están en fase experimental, y cualquier aporte que podamos dar en este sentido, lo consideramos beneficioso.

d.- A lo largo de la historia de la medicina, no son pocos los casos en que la cirugía ha abierto nuevos caminos de exploración acerca de la fisiopatología y tratamiento de diversas enfermedades. Y en muchas oportunidades los datos aportados por las técnicas quirúrgicas terminan creando las bases para un desarrollo farmacológico posterior. Con este propósito pensamos que nuestra propuesta puede aportar nuevos conocimientos para el tratamiento de la DM2.

## **6.- ¿CUÁLES SON LAS BASES ANATOMO-FISIOLÓGICAS DE ESTA NUEVA TÉCNICA QUIRÚRGICA EXPERIMENTAL?**

Dado que uno de los objetivos del estudio es plantear una nueva técnica quirúrgica para el tratamiento de la DM2 en paciente no obeso, en primer lugar se explican las bases anatómo-fisiológicas que fundamentan una nueva técnica.

En este sentido tenemos 6 puntos clave para evaluar:

1. Exclusión del duodeno versus la llegada acelerada de los alimentos al íleon.
2. Preservación de la cámara gástrica
3. Fundamento para una sola anastomosis



4. ¿Dónde ubicar la anastomosis?
5. ¿Cuáles deben ser las longitudes del asa?
6. ¿Es necesario adicionar una técnica antirreflujo?

Se explica cada apartado en el modelo humano y modelo experimental animal, según el diseño que se explicará en la metodología de este estudio.

#### 6.1.- Exclusión del duodeno versus la llegada acelerada de los alimentos al íleon.

Para abordar este fundamento se debe recordar la disyuntiva que existe en relación a cuál de las hipótesis predomina en el efecto intestinal, que produce el beneficio de la DM2. Entonces vuelve a surgir la pugna entre la hipótesis del intestino proximal versus el distal (*Foregut vs. Hindgut.*)(16;270)

Por consiguiente, con base en los estudios que señalan que el efecto que mejor explica la mejoría de la DM2 en los procedimientos bariátricos es el la exclusión del duodeno y el yeyuno proximal del tránsito de nutrientes, en nuestro estudio vamos a considerar la teoría del Foregut como eje de la nueva técnica. En nuestro caso sólo se realizará un cierre en el paso de los alimentos por el píloro, sin reseca tejido alguno y, posteriormente, se abrirá paso al circuito alimentario a través de una anastomosis gastroyeyunal.

#### 6.2.- Preservación de la cámara gástrica.

Muchas de las técnicas bariátricas que suponen una restricción en el volumen de la cámara gástrica tienen como finalidad dos aspectos: la

restricción alimentaria e inhibir el efecto que sobre la ingesta genera la grelina desde el fundus gástrico.(18;271) Sin embargo, estos efectos no serían deseados en una cirugía para la DM2 en sujetos sin obesidad, donde en principio no se requiere reducir el peso corporal inicial. Por tanto, damos por supuesto que los mecanismos de control de la DM2 desde el punto de vista de la cirugía bariátrica incluyen, más que una restricción a la ingesta, la acción de mecanismos hormonales.

Entonces sería deseable preservar el estómago y evitar efectos de restricción calórica como ya describieron Sun y colaboradores en el artículo presentado en *Obesity Surgery* de 2013.(272) En la rata preservar la región química del estómago y realizar la sección a nivel de la región mecánica. En el humano implicará ante todo la preservación del fundus gástrico.

### 6.3.- Fundamento de una sola anastomosis.

El BPG y la DBP son técnicas que obtienen los mejores beneficios en relación a la mejoría del metabolismo glucídico. Sin embargo, son técnicas que conllevan una complejidad importante en su desarrollo y más aún por vía laparoscópica, que en los últimos años se establece como la vía de abordaje de elección. Aunque las maniobras para realizar esta técnica están más que estandarizadas, no son pocos los cirujanos que reconocen los beneficios de una sola anastomosis.(153;273;274) Beneficios tales como:

- Disminuir el riesgo de deshicencia y fugas al elaborar una sola línea de sutura anastomótica.
- Disminuir el tiempo operatorio.
- No apertura de los mesos intestinales, elemento fundamental a la hora

de realizar un bypass en Y de Roux o una derivación biliopancreática. Además, abogando a la sinceridad, en la práctica clínica diaria es elemental observar que técnicas que implican una mayor facilidad y comodidad para su ejecución por vía endoscópica (como la gastrectomía vertical) han tenido mejor cabida entre los cirujanos que técnicas que exijan una mayor destreza manual (como la derivación biliopancreática). Es por ello que, buscando estos beneficios, en este estudio nos inclinamos por desarrollar una técnica que promoviese una sola anastomosis, tal y como se plantea en el bypass gástrico de un asa en omega. En la rata se ejecutó esta anastomosis en una sutura manual con hilo de bajo calibre, irreabsorbible.

#### 6.4.- ¿Dónde ubicar la anastomosis?

Si se preserva la cámara gástrica se hace importante establecer dónde realizar la reestructuración del tránsito intestinal. En primer lugar se pensó en una reconstrucción tipo Switch duodenal preservando el píloro y los primeros milímetros del duodeno y allí mismo hacer la anastomosis.(275;276) Este planteamiento busca evitar el baño de la mucosa gástrica con líquidos biliares y pancreáticos, elemento que a su vez genera los problemas de úlceras marginales y gastritis por reflujo. Sin embargo, los frecuentes problemas que se han presentado en relación al retraso del vaciamiento y alteraciones de motilidad y retención gástrica, por el fenómeno de gastroparesia, habitual en los pacientes diabéticos, hizo reconsiderar el mantener el píloro.(277)

La relajación del píloro siguiente distensión gástrica es un factor crucial en la expulsión de contenido gástrico al duodeno. Aunque ha sido bien establecido que la motilidad del píloro está bajo control vagal, (278)el

mecanismo de relajación pilórica en respuesta a la distensión gástrica sigue siendo poco clara. Los síntomas de la gastroparesia incluyen náuseas postprandial, dolor epigástrico, ardor, hinchazón, saciedad precoz, excesiva eructos, anorexia y vómitos.(279) Aunque asociado a diversidad de entidades patológicas, la causa más frecuente de gastroparesia es la diabetes mellitus. Cerca de la mitad de los pacientes con DM1 o DM2 pueden presentar un retraso en el vaciamiento gástrico.(280) Los datos recientes sugieren que el defecto en el vaciado no sólo se debe a una neuropatía autonómica, sino que la hiperglucemia per se, puede contribuir a la patogénesis de los trastornos de la motilidad gástrica. De hecho, la mejoría del control glucémico en pacientes diabéticos se asocia con mejoras en el vaciado gástrico y mejoría de los síntomas. (277)

Teniendo en cuenta que se propone una cirugía experimental, pero que se supone definitiva para el tratamiento de la DM2, es mandatorio pensar que si la misma no es efectiva se pueden producir alteraciones del vaciado gástrico no sólo por la glucemia no corregida sino por probables cuadros de estenosis de la anastomosis a nivel del duodeno. Por lo que por esta causa se desestima la realización de anastomosis duodeno-yeyunales.

Por tanto se retoma la idea de una anastomosis gastroyeyunal en omega. Esta forma de montaje para excluir el duodeno viene a ser una nueva forma de ver el Billroth II. La principal diferencia con esta técnica es que la anastomosis gastroyeyunal no se realiza de forma término-lateral sino latero-lateral, en la parte verticalizada del estómago. Sin embargo, pensando en un posible reflujo alcalino o en complicaciones como el síndrome de dumping nos hemos planteado realizar una variante del tubo

gástrico reverso (TGR) de Gavriliu y Heimlich (281).

El TGR es una técnica quirúrgica desarrollada en la década de los cincuenta para plantear una reconstrucción del tracto digestivo a nivel de la transición esófago-gástrica. Por lo general su desarrollo estaba propuesto como un tipo de esofagoplastia cuando por causas congénitas (atresia) o patológicas (fundamentalmente patología cancerosa) debía de resecarse el esófago. La propuesta inicial de sus creadores era aprovechar la curvatura gástrica mayor para realizar un colgajo tubular que se pudiera subir a través del diafragma y servir de neoesófago.(282) Con este principio, se propone que en lugar de anastomosar directamente el intestino a la curvatura mayor del estómago se proceda a realizar un TGR y allí realizar la anastomosis. Las características que nos impulsan a plantear este diseño es que se juega con la gravedad a favor del descenso del flujo biliar.

De hecho, expertos en la técnica del Minibypass Gástrico (MBG), como son el Dr. Rutledge en EE.UU., el Dr. Deitel en Canadá y el Dr. Kuslar en India han recomendado prevenir el efecto lesivo del reflujo biliar,(283-285) si se realiza la anastomosis gastroyeyunal por debajo del área anatómica conocida como “pata de ganso” (inserción del nervio de Latarjet en la curvatura menor del estómago.) Al parecer, hay mecanismos fisiológicos inherentes a la inervación que hablan a favor de esta ubicación, más allá del efecto esperado por la gravedad. Por lo tanto, con nuestro TGR, la porción de estómago descendida, cumple con esta condición. Pero el tubo reverso no sólo está pensado para evitar el reflujo, sino que también creemos que estrechar la cámara gástrica en dirección caudal permite frenar en cierto grado el paso de los alimentos al intestino y disminuir en

lo posible el fenómeno de dumping. Además, con este tubo se dispone de un rico y confiable suministro de sangre, y realizando una anastomosis de amplitud adecuada se logra transportar el alimento de manera eficiente. En todo caso es necesario evitar la manipulación excesiva de la cámara gástrica y de los nervios del estómago.

En caso de haber reflujo, el contacto con la mucosa gástrica sería menor (sólo a nivel del TGR) y si se produjesen alteraciones ulcerógenas graves (que ya son raras en la historia del MBG) siempre cabe la posibilidad de reseca esta zona y reconvertir a un bypass en Y de Roux.

En el último consenso sobre MBG y Bypass en Omega realizado en 2014 en Montreal, Canadá, el Dr. Deitel ha adelantado algunas de las conclusiones a las que llegaron los diferentes expertos en el tema, en un resumen que puede leerse en la red.(286) En dichas conclusiones se aprecia una tendencia en el mundo quirúrgico a valorar técnicas menos agresivas como el MBG, que pueden ajustarse a las necesidades del paciente según su IMC o estado metabólico. En un anexo al final de esta sección, resumimos los aspectos más notables de dicho consenso, que están pendientes de publicación oficial, y que pueden consultarse en: *Published on Bariatric News* (<http://www.bariatricnews.net>) *MiniGastric Bypass (One Anastomosis) Course*.

### 6.5.- ¿Cuáles deben ser las longitudes del asa?

Dentro de las diferentes técnicas de una sola anastomosis el fundamento técnico se basa la distancia mínima requerida para excluir al duodeno sin crear mayores alteraciones absortivas a nivel del yeyuno. Como referencia

tomamos las distancias más comumente utilizadas en el Billroth II(287) donde la anastomosis gastroyeyunal se ubica entre 60-100 cm desde el ángulo de Treitz, en el hombre. En la rata esta distancia supone alrededor de 8 cm (a nivel del primer lipoma fijo del asa libre yeyunal).

#### 6.6.- ¿Es necesario adicionar una técnica antirreflujo?

Es evidente que en la experiencia quirúrgica una anastomosis gastroyeyunal tiene muchas complicaciones desde el punto de vista del reflujo biliar a los compartimentos gástrico y esofágico. De hecho este punto fue la transición fundamental para abandonar el Billroth II en las reconstrucciones del tránsito digestivo después de una gastrectomía.

En este sentido nos apoyamos en la experiencia que ha dado la técnica del BAGUA donde el cambio más importante en comparación con el original del MBG de Rutledge es el tipo de anastomosis.(162) La anastomosis del BAGUA implica una conexión estómago-yeyuno de forma latero-lateral.(288) Además, se fija el asa de yeyuno a la nueva bolsa del estómago unos centímetros más arriba de la anastomosis, de manera que el contacto del flujo biliar ocurre algunos centímetros más caudalmente (aproximadamente a 15-20 cm de la anastomosis.) Se supone que el efecto de la fuerza de la gravedad y la conexión lateral con el estómago (junto con la entrada de la secreción gástrica y el bolo alimenticio), minimiza el contacto de las secreciones biliopancreáticas con la mucosa gástrica. En la rata, el mismo efecto se logra fijando el asa yeyunal a la parte del estómago por encima de la anastomosis, aproximadamente a 3 cm de la misma.

Refiriéndonos de nuevo al Consenso de Montreal 2014,(286) vale destacar que de todos los expertos consultados, alrededor de un 15% de los cirujanos que realizan cirugías tipo MBG o de Bypass en Omega, reconocen realizar alguna maniobra anti-reflujo biliar. En este sentido, no obstante, la evidencia juega a nuestro favor, pues el Dr. Deitel ha hecho referencia sobre el hecho de que no se evidenció desarrollo de carcinoma de estómago en aquellos pacientes que fueron sometidos a vagotomía y piloro-plastia debido a enfermedad ulcerosa. De hecho, la bilis siempre estuvo presente en la parte inferior del estómago y entonces no se comunicaron casos de displasia o neoplasia relevantes.(289;290) También señaló que en un estudio en 1991 realizado por Franz y colaboradores(291) ya se había comentado que los cambios neoplásicos en el estómago de roedor ocurren únicamente a nivel de los dos tercios proximales de su cámara gástrica y no en el tercio distal, como suele presentarse en el estómago humano.

Del mismo modo, hay que tener en cuenta que el desarrollo de carcinoma en el estómago de modelos animales como los roedores, no puede extrapolarse fielmente a los humanos, al menos en relación al reflujo biliar o a la presencia de carcinógenos como el *H. Pilory*. En 1994 la *International Agency for Reasearch on Cancer* y la Organización Mundial para la Salud basados en la evidencia científica hasta el momento reseñaban que los estudios experimentales en modelos roedores de cáncer, no habían probado suficiente similitud a la patología en el hombre.(292) La mayor diferencia entre el animal y el humano es la condición de cuadrúpedo del primero, donde presenta el abdomen al mismo nivel, y el contenido intestinal puede refluir más fácilmente. En el



hombre la bipedestación y gravedad juegan como mecanismos protectores.

Además, suponiendo un posible problema de reflujo gastroesofágico por la manipulación del estómago, no se descarta poder realizar una técnica antirreflujo en los sujetos que se estimen. De hecho, realizar el tubo reverso gástrico a mitad de la curvatura mayor, dejará posibilidad de no manipular el fundus gástrico, en previsión de poder realizar una funduplicatura de Nissen si fuera necesario.

A continuación se esquematiza las secuencias de Gráficos que explican el diseño que hemos realizado:

Figura 1. Técnicas quirúrgicas existentes donde se apoyan el diseño de la Exclusión Duodenal.

A. Minibypass

B. Tubo Gástrico Reverso

C. Bypass de una Anastomosis

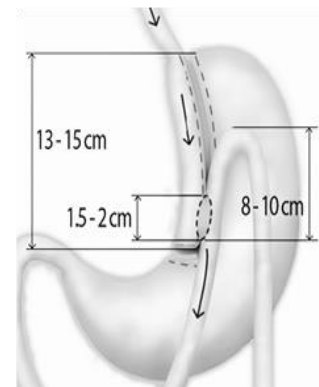
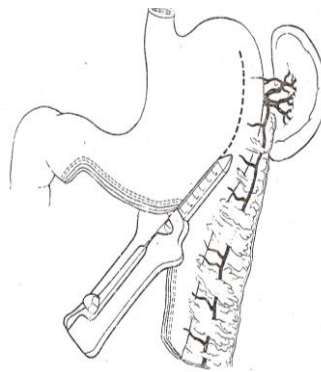
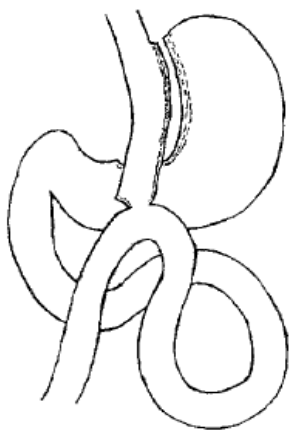
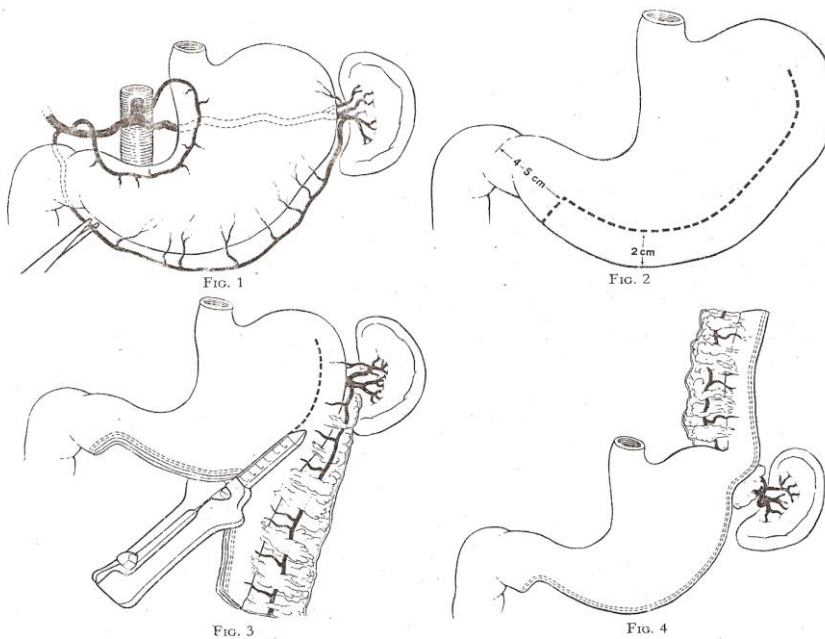
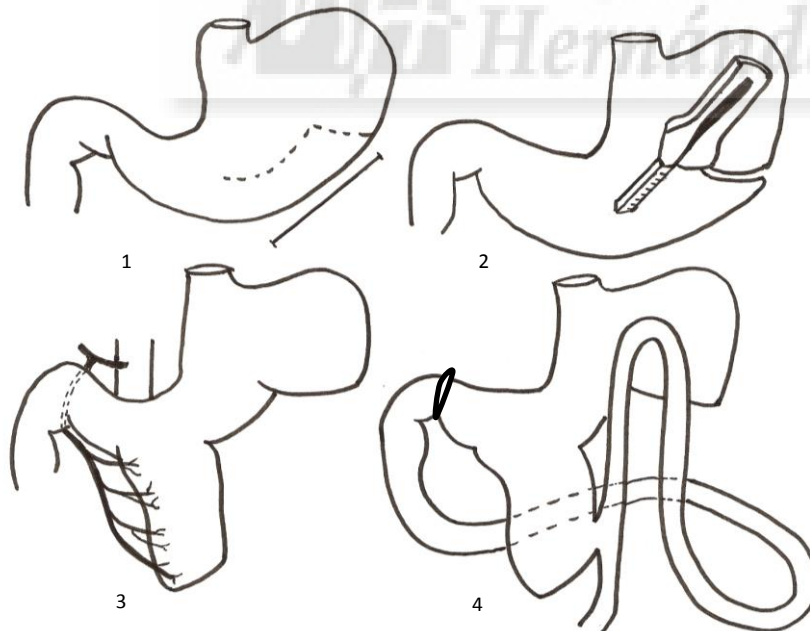


Figura 2. Técnica según Gavriliu-Heimlich clásica.



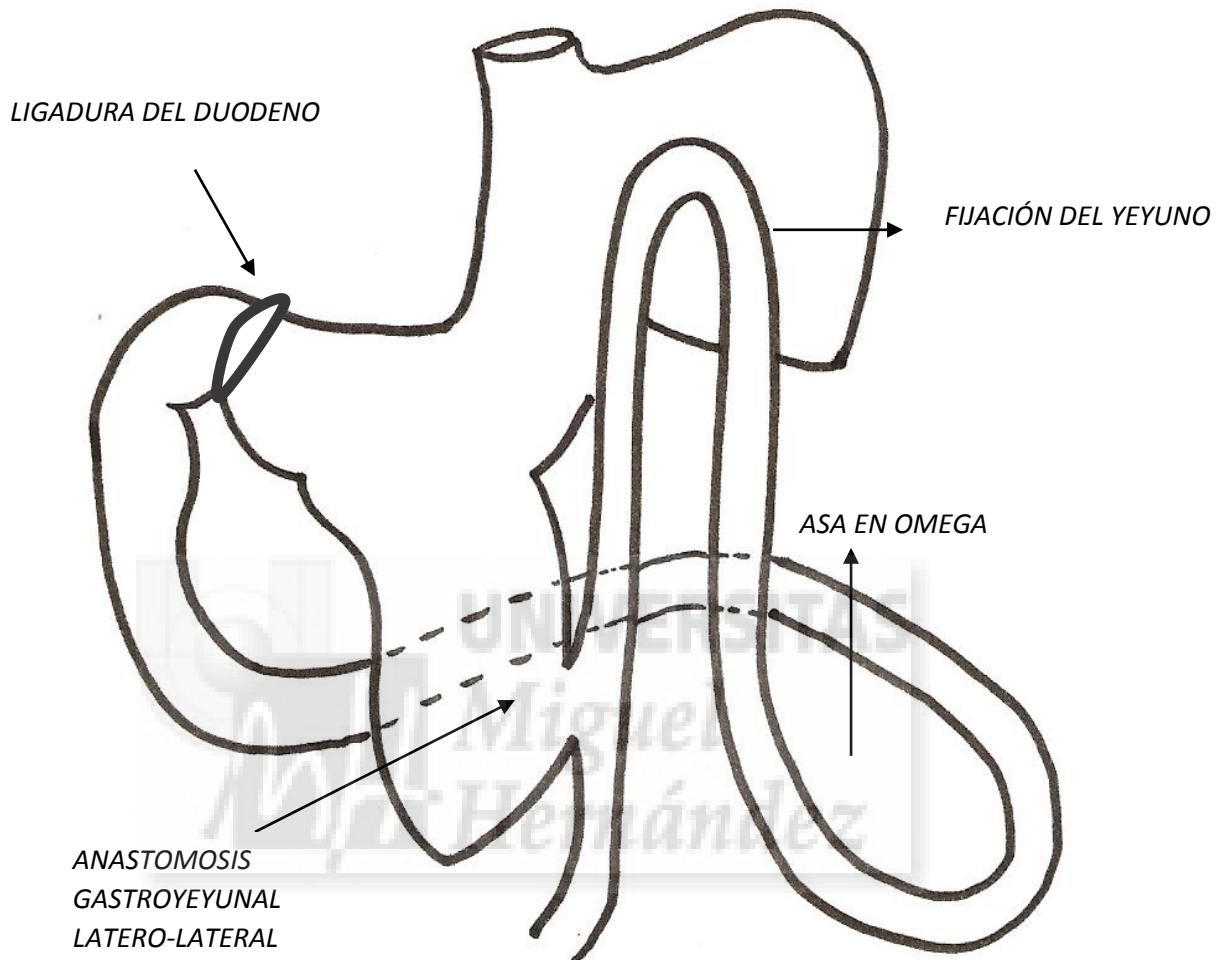
Secuencia para la realización de un tubo gástrico reverso según publicación de Gavriliu.  
 1.- Disposición anatómica del estómago. División del tronco celíaco. Recorrido de la arteria gastroepiplóica derecha a través del ligamento gastrocólico. 2.- Esquema preliminar de la creación de un Tubo Gástrico Reverso (TGR) 3.- Creación del tubo gástrico con grapadora mecánica. 4.- Disposición del TGR como neoesófago.

Fig. 4 Técnica de Exclusión Duodenal.



Secuencia para la realización de un tubo gástrico reverso según nuestra propuesta.  
 1.- Esquema preliminar de la creación de un tubo gástrico. 2.- Creación de la plastia gástrica con grapadora mecánica 3.- Resultado final de la plastia gástrica. Obsérvese que la arteria gastroepiplóica provee el riego sanguíneo adecuado a la plastia. 4.- Reorganización del tránsito intestinal según la propuesta del bypass gástrico de una sola anastomosis.

Figura 4. Técnica quirúrgica propuesta.



**Técnica Quirúrgica Experimental Desarrollada:**

***Exclusión Duodenal a través de bypass gastro-intestinal de una sola anastomosis en asa omega. Preservación de cámara gástrica y con variante de tubo reverso gástrico como elemento anti-reflujo biliar. (De ahora en adelante: Exclusión Duodenal)***

**MiniGastric Bypass (OneAnastomosis) Course.**

**Published on Bariatric News (<http://www.bariatricnews.net>)**

*This article was coauthored by: Mervyn Deitel, MD, FASMBS (Toronto, Canada) and Kuldeepak S. Kular, MD (Bija, India)*

*En agosto de 2014 se realizó un curso especial sobre Minibypass gástrico (MBG/ OAGB, Omega loop bypass) con la colaboración de prestigiosos cirujanos de la talla de Jean Marc Chevalier, Kudeepak S. Kular, Mervyn Deitel y Wei Jei Lee. Este curso se celebró en Montreal, en el marco del XIX Congreso Mundial de la IFSO.*

*Todos los ponentes del curso han publicado series recientes realizando MBG u OAGB. De hecho, y se puede acceder a los trabajos de los ponentes a través de PubMed. Estos documentos siguen revelando que MBG tiene excelentes resultados. Un plan de estudios con los resúmenes de estos trabajos actuales se distribuyó a los asistentes. Asistieron a este curso más de 30 expertos en el tema, además de un centenar de cirujanos, muchos de los cuales ya están realizando el MBG en sus centros. Es de destacar, que de todos los cirujanos que realizan el MBG, ya han realizado previamente otras operaciones bariátricas.*

*El Dr. K.S. Kular presentó la prevención y el tratamiento de la úlcera marginal después de MBG en una serie de más de 1.000 pacientes. Si bien es recomendable una dieta rica en frutas y verduras, el tipo de dieta o el consumo de alcohol no se relacionaron con la aparición de úlceras marginales. No obstante el tabaquismo y el consumo de AINES y salicilatos si están asociados. Sin embargo pudo apreciar que la úlcera marginal después MBG es menor que después de Bypass Gástrico en Y de Roux (BGYR.) Las hernias de hiato (HH) generalmente no se reparan durante el MBG y esta cirugía conduce a resolución de más del 85% de la ERGE. Si después de cirugía se presenta sintomatología asociada a la HH, Robert Rutledge recomienda la reparación del defecto al cabo de 12-18 meses después de la MBG. Rutledge, el creador de la MBG en 1997, hizo hincapié en la erradicación de H. pylori y la necesidad de suplementos postoperatorias, incluyendo el hierro, el calcio (preferiblemente lácteos), multivitamínicos, yogur, frutas frescas y vegetales. Casos de hipoglucemia postprandial se han descrito de forma anecdótica*

*El Dr. WJ Lee de Taiwán comentó la comparación de más de 10 años entre el MBG y el BGYR (y más recientemente el LSG), en términos de pérdida de peso postoperatoria, complicaciones, resolución de la diabetes, elevación de GLP1 y calidad de vida, se encontró superioridad del MBG en cada caso.*

*La técnica del Dr. García-Caballero del Bypass de una sola anastomosis (OAGB) que realiza desde 2001 fue presentada por él mismo, haciendo hincapié en las variantes antirreflujo que realiza entre el asa aferente del omega y el estómago. Sus resultados también han sido superiores a otras operaciones bariátricas en relación a la remisión de la diabetes mellitus. Actualmente trabaja, en la adaptación del OAGB en la cirugía de la diabetes según el IMC. Un método similar del también español Dr. Miguel A. Carbajo fue presentado por Enrique Luque De León de México. Los resultados con 2.400 OAGB realizados durante 12 años mostraron resultados superiores en comparación al BGYR, la LSG y a la banda gástrica (BGA). Se estima que alrededor de un 15% de los cirujanos que realizan el MBG realiza algún tipo de maniobra antirreflujo.*

*El Dr. Mervyn Deitel de Canadá, señaló que no hay evidencia de una mayor incidencia de cáncer gástrico o intestinal después de MBG. Además, recalzó que en la literatura existen aproximadamente 40 casos de carcinoma después de BGYR, así como algunos casos después de BGA, y dos casos después de la LSG. Después de MBG, no se han reportado casos de carcinoma en el estómago o el esófago. Del mismo modo señaló que de entre las miles de operaciones vagotomía y piloroplastia que se realizaron para la enfermedad ulcerosa, entre las décadas de 1960-70, la bilis siempre estuvo presente en la parte inferior del estómago y entonces no se reportaron casos de carcinoma. Se recordó que ya en 1991, Franz mostró que los cambios neoplásicos en el estómago de roedor ocurren únicamente a nivel de los dos tercios proximales de su cámara gástrica y no en el tercio distal, como suele presentarse en el estómago humano. Igualmente, el seguimiento a largo plazo de los pacientes que fueron sometidos a Billroth II se ha encontrado una disminución de la incidencia de carcinoma, y los estudios que reflejan este dato, fueron realizados antes de conocerse la influencia del H. pylori.*

UNIVERSITAS

Miguel

Hernandez

*HIPÓTESIS*

*La Exclusión Duodenal con técnica de asa en omega de una sola anastomosis, preservando cámara gástrica y realizando técnicas antirreflujo, logra mejorar los niveles de glucemia en la rata Goto Kakizaki sin modificar el peso.*



## **OBJETIVO PRIMARIO**

*Evaluar el efecto Exclusión Duodenal sobre el metabolismo glucídico y la pérdida de peso en un modelo animal sin obesidad (rata Goto Kakizaki).*

## **OBJETIVOS SECUNDARIOS**

- Analizar el impacto de la Exclusión Duodenal sobre diferentes factores plasmáticos reguladores de la glucemia.
- Evaluar si el tiempo de exposición a la enfermedad empeora los valores plasmáticos e histológicos.
- Valorar la existencia de cambios histológicos de los sujetos intervenidos en relación a los controles.
- Corroborar que la normoglucemia mantenida después de cirugía, regenera y mejora la capacidad funcional de las células  $\beta$  del páncreas.





## **1. DISEÑO DEL ESTUDIO EXPERIMENTAL**

Este proyecto de investigación se fundamentó en un estudio de naturaleza empírica experimental que tuvo como finalidad avalar una nueva técnica quirúrgica sobre cirugía de la DM2 en individuos no obesos. Por lo tanto, para demostrar la utilidad de la técnica propuesta, en primer se ha demostrado su eficacia en un modelo animal. Para este fin, se escogió el modelo de la rata diabética no obesa, de uso extendido en los últimos estudios sobre esta temática.

Así mismo, el estudio es un estudio prospectivo de tipo intervencionista. Como estudio de investigación aplicada tuvo como metas resolver cuestiones de tipo práctico y su desarrollo estuvo dirigido a la producción y/o mejora de procesos ya existentes. Es decir, en el campo de la cirugía de la DM2 ya existen propuestas de técnicas quirúrgicas, y nuestro planteamiento técnico constituye un medio adicional para obtener información que pueda dar respuesta a cuestiones aún no dilucidadas sobre el tema. También hemos considerado que el proyecto representa un estudio de tipo primario, dado que los datos se han recogido de la misma fuente de la que se han generado.

## **2. ESQUEMA DE TRABAJO**

### **2A. FASES DEL ESTUDIO.**

El estudio se realizó en dos fases:

FASE I - Esta fase se dirigió a lograr la validación de la técnica. Para ello se desarrolló el procedimiento quirúrgico sobre ratas Wistar. En ellas se aplicaron todos los cuidados pre y postquirúrgicos del mismo modo que debía realizarse en las ratas diabéticas no obesas. En esta fase se

obtuvieron datos referentes al procedimiento anestésico y quirúrgico, con el fin de racionalizar los recursos para la segunda fase.

FASE II - En la segunda fase se aplicó la técnica a las ratas Goto Kakizaki (GK), que son el modelo de experimentación de diabetes no asociada a obesidad por excelencia. En esta fase se realizó un estudio prospectivo intervencionista es el que se establecen 2 grupos: a) Grupo intervención y b) Grupo placebo-control (Sham.) El grupo Sham viene a señalar que los cambios que se detectan no se producen sólo por estrés quirúrgico, sino que es necesario el fundamento anatómico y fisiológico que contienen los sujetos del grupo intervenido. En los estudios de técnicas quirúrgicas novedosas, se acepta que el grupo Sham sea considerado el mismo grupo control.

Por otro lado, hay una variable que se ha querido destacar dentro del grupo de las ratas que van a ser sometidas a la nueva intervención, y es la variable tiempo. La inclusión de esta variable ha supuesto que las operaciones se llevarán a cabo en 3 períodos, diferenciadas entre sí, en aproximadamente 4 semanas. Con este esquema se han obtenido datos en los animales sometidos a cirugía precoz, intermedia y procedimiento de forma tardía. La finalidad de esta diferenciación ajustada al tiempo fue la de evaluar si una intervención temprana conduce a mejores resultados postoperatorios. Por tanto, se analizaron tres momentos o grupos temporales:

- Intervención Temprana – a las 12 semanas de vida.
- Intervención Intermedia – a las 16 semanas de vida.
- Intervención Tardía – a las 20 semanas de vida.

Igualmente cada grupo temporal tenía una representación de una muestra de ratas operadas y otras de ratas control/Sham.

La siguiente tabla explica la distribución temporal del procedimiento.

(Tabla1)

*Tabla 1. Diseño de la fase experimental del estudio. Calendario de actuación sobre los grupos temporales.*

GRUPO	SEM 8	SEM 12	SEM 16	SEM 20	SEM 24	SEM 28
<b>OPERACIÓN</b>						
<b>PRECOZ</b>	Evolución de la DM2 en las ratas. A las 8 semanas se demostró que eran diabéticas.	Cirugía		Sacrificio		
<b>INTERMEDIA</b>			Cirugía		Sacrificio	
<b>TARDÍA</b>				Cirugía		Sacrificio

## **2B. CÁLCULO DEL TAMAÑO MUESTRAL.**

Con base en las proyecciones de resultados en publicaciones previas sobre el tema, se evidenció que con la finalidad de encontrar una diferencia con significado estadístico, la “n” de la muestra fue estimada en 6 sujetos por grupo. Por lo tanto, para esta segunda fase del estudio en ratas GK se utilizó una estrategia tipo “tier approaches” con la finalidad de reducir el número de animales utilizados, hasta un máximo de 36 sujetos en total. La manipulación de los animales se ha contado desde la intervención quirúrgica hasta el sacrificio, siendo para los individuos de todos los grupos un tiempo de manipulación postoperatoria de 8 semanas.

## **3. COMITÉ DE ÉTICA Y LEGISLACIÓN**

Los animales se alojaron según la normativa del Servicio de Experimentación Animal (SEA) de la Universidad Miguel Hernández de Elche, aprobada por Comisión Gestora en el año 1999 y reformada en el

año 2007. Esta normativa se rige según las disposiciones de la Ley de protección de animales utilizados para experimentación y otros fines científicos, en cuatro niveles:

**- . Legislación Europea.**

a) Directiva del Parlamento Europeo y del Consejo de 22 de septiembre de 2010 relativa a la protección de los animales utilizados para fines científicos. [Enlace: Directiva-63-2010-ue.](#)

b) Conducted in support of the revision of Directive 86/609/EEC on the protection of animals used for scientific purposes.

[Enlace: severity-classification-of-scientific-procedures-on-animals](#)

c) Sobre la utilización confinada de organismo modificados genéticamente. [Enlace: dir98\\_81omq](#)

**- . Legislación Española.**

a) RD 53/2013: Normas aplicables para la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos.

b) Del Boletín Oficial del Estado del 8 de noviembre de 2007.

[Enlace: ley-32-cuidado-animales-en-su-explotacion-transporte-experimentacion-y-sacrificio](#)

c) Descripciones Hamelin: Sistema de registro de animales empleados en experimentación.

**- . Legislación de la Comunidad Valenciana.**

En el Documento Oficial de La Generalitat Valenciana del 30 de enero de 2007; dentro del Real Decreto 1201/05, y el Decreto 13/2007, de la Generalitat Valenciana, Directiva CEE 86/609.

[Enlace: doqv-30-de-enero 07-decreto-proteccion-animales-fines-experimentacion1.](#)

#### - Legislación de la Universidad Miguel Hernández de Elche.

La UMH, dispone de normativa propia, de obligado cumplimiento, para regular el uso adecuado tanto del propio SEA, como de los animales que se crían y mantienen en el servicio. El SEA gestiona la normativa que estipula una serie de principios éticos ligados al uso y cuidado de los animales de experimentación, que fueron aprobados en el Consejo de Gobierno de la UMH en sesión de 25/07/2007)

De igual forma, para aplicar esta legislación tanto los grupos investigadores como el SEA se someten a una evaluación que lleva a cabo el Comité de Ética de Investigación y Experimentación (CEIE) de la UMH.

El CEIE es un órgano independiente al servicio de la comunidad científica entre cuyas funciones destaca el propiciar un mejor conocimiento interno del Código de Buenas Prácticas Científicas así como atender consultas o arbitrar en posibles conflictos.

El Código de Buenas Prácticas Científicas (CBPC) de la UMH es un conjunto de recomendaciones y compromisos sobre la práctica de la actividad científica, destinados a favorecer la calidad de la investigación realizada y a prevenir problemas de integridad en el comportamiento de los científicos. Su contenido es complementario a lo que ya disponen las normas legales existentes. El CBPC constituye un instrumento colectivo de autorregulación. Su contenido ha sido supervisado y puesto al día en el marco del CEIE.

El presente proyecto de investigación recibió aprobación del CEIE y se le otorgó la identificación con clave: DHA-LZT-001.

#### 4. MODELOS ANIMALES: CONDICIONES DE ACLIMATIZACIÓN Y CARACTERÍSTICAS NUTRICIONALES.

Se utilizaron dos modelos de rata: Wistar y Goto Kakizaki.

La rata Wistar se empleó en la Fase I, para desarrollar el protocolo quirúrgico efectivo. Esta cepa fue adquirida a la Universidad Miguel Hernández en la propia cría de la que disponen en el SEA.

La rata Goto Kakizaki se utilizó en la Fase II para establecer la efectividad de la nueva técnica experimental en un modelo diabético. Fueron adquiridas dos parejas de ratas de la cepa Taconic (Hudson, Nueva York) y criadas en el SEA, hasta lograr un número adecuado de ratas para asegurar individuos al estudio. Las características que se debían aclarar al CEIE se exponen en la Tabla 2 como parte del ordenamiento de prevención de Riesgos Laborales.

*Tabla. 2 Elección del animal como modelo experimental.*

Especie	Cepa	Sexo	Características
Rata	Goto-kakizaki	Macho	Cepa desarrollada a partir de manipulación genética, que no supone riesgo al investigador.

Se escogieron ratas machos para el estudio de Fase II para evitar la influencia del ciclo hormonal de las hembras, durante el análisis de las muestras.

De forma general se mantuvo a los animales en las siguientes condiciones:

- .- Jaulas con camas de viruta de madera tratada.
- .- Ciclos Luz / Oscuridad de 12 horas (de 20:00 h. a 8:00h en un medio de oscuridad).
- .- Temperatura de 22 grados centígrados.
- .- Humedad relativa entre 40-60%.

En la alimentación de las ratas se utilizó pienso en forma de croquetas (2014 Teklad Global - Protein Rodent Maintenance, Laboratorio Harlan, Indianapolis) porque es un alimento completo adaptado a las necesidades nutricionales de las ratas. Su composición nutricional básica comprende:

- Energía	2,9 kcal/gr
- Proteína bruta	14,3 %
- Grasas brutas	4 %
- Carbohidratos	48 %
- Celulosa bruta	4,1 %
- Calcio	0,7 %
- Fósforo	0,6 %

## 5. CUIDADOS GENERALES Y PREOPERATORIOS

- » Se estableció una pauta de cuidados generales propios de los animales en relación al alimento, aseo y elementos conductuales, en consenso con los técnicos del animalario y tratando siempre de mantener las características de cada grupo estables.
- » La extracción de sangre para el análisis de las variables serológicas se desarrolló en cada animal en 3 momentos: a las 8 semanas de vida, en la semana previa a la cirugía y en la semana previa al sacrificio. La técnica se expone en la Tabla 3.
- » Dos días antes de la cirugía se iba retirando paulatinamente el pienso de los animales y se dejaba un complemento nutricional de

batidos enterales tipo, Nutavant® (Persan Farma, Gran Canaria)

- » Tanto para la extracción de sangre como para la cirugía se dejaron los animales en ayunas: 1) de alimento sólido, hasta 8 horas antes de la cirugía y 2) con batidos protéicos y agua *ad libitum* hasta 1 hora antes de la intervención.

## 6. EXTRACCIONES DE SANGRE

Tabla 3. Características de la extracción de sangre en la rata.

Vía de extracción	Volumen de cada extracción Expresada en ml	Frecuencia de extracción
Cola	0,4 ml	3 tomas: basal a las 8 sem. de vida, precirugía y postcirugía, en el sacrificio según el grupo que corresponda.

La extracción de sangre se llevó a cabo de dos formas. Para los controles de la curva de Glucemia sólo se extrajo una mínima gota de sangre de un pequeño corte en la cola de la rata y se midió en el glucómetro tal como se hace en los controles rutinarios de los pacientes diabéticos. Para una mayor cantidad de sangre se optó por realizar punción de la vena coxígea de la rata, bajo inducción anestésica leve a fin de evitar el estrés del animal. (Figuras 1 y 2)

## 7. PROTOCOLO DE ANESTESIA Y ANALGESIA

Las intervenciones quirúrgicas y las extracciones de suero de la cola se realizaron bajo anestesia inhalada para lo cual se utilizó:

- regulador de flujo de gases
- oxígeno
- cámara de anestesia
- mascarilla de anestesia para roedores
- vaporizador anestésico
- anestésico (isoflurano)



Figura 1. Pasos para la extracción de muestras para la curva de glucemia.

## Metodología para la extracción de muestras sanguíneas



1. Rata Goto Kakizaki: a las 8 semanas se les extrajo sangre a todas las ratas del estudio para confirmar que eran diabéticas.



2. Las muestras para realizar la curva de glucemia se tomaron de la cola del animal.



3. La gota de sangre se extrajo en los 4 tiempos a medir después de la sobrecarga oral de glucosa.



4. En todas las muestras analizadas se utilizó el mismo glucómetro portátil y sus respectivas tiras reactivas (Acchuchek Compact Plus© de Roche)

Figura 2. Pasos para la extracción de muestras para aislar el suero para el estudio hormonal.

## Metodología para la extracción de muestras sanguíneas



5. En cada sesión de recolección de muestras (8 semanas, prequirúrgico y postquirúrgico) se tomaron 5 muestras (basal y tras toma de bolo de glucosa oral, a los 10-30-60-120 minutos)



6. A los 60 minutos tras ingesta de glucosa se obtenía una muestra de la vena coxígea de aproximadamente 0,8 ml para el análisis hormonal posterior.



7. A las muestras se les administró un inhibidor de la dipeptidil dipeptidasa IV para evitar la degradación enzimática propia de la sangre.



8. Posteriormente se centrifugó cada muestra para extraer el suero que se almacenó en congelación a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis.

### **Severidad del procedimiento:**

La severidad de un procedimiento se determinó por el grado de dolor, sufrimiento, angustia o daño prolongado que fue previsto que presentaría un animal de forma individual durante el procedimiento. La clasificación de la categoría de severidad se tuvo en cuenta en todas las intervenciones y manipulaciones de los animales. Se tomó como base el efecto más severo al que iba a ser sometido un animal, después de aplicar todas las técnicas apropiadas de refinamiento. Además, por el mero hecho de realizar experimentación quirúrgica en los animales, se considera un procedimiento de severidad máxima dado que en las intervenciones quirúrgicas bajo anestesia general se esperaba dolor, sufrimiento o angustia postoperatorios moderados, severos o persistentes, independientemente de la eficacia de la técnica. Según el esquema de categorías que utiliza el SEA, nuestros animales presentarían dolor de tipo severo (Tabla 4.)

*Tabla 4. Categorías del nivel de dolor. Clasificación en cuatro categorías.*

\*\*\*Sin recuperación: los procedimientos que se realizan en su totalidad bajo anestesia general de la cual el animal no recupera la consciencia, deben clasificarse como "sin recuperación".

\*\*\*Leve: el dolor a consecuencia de los procedimientos a los que se somete a los animales pueden generar sufrimiento o angustia leve y de corta duración. Estos procedimientos, así como aquellos que no alteren de forma significativa el bienestar o el estado general de los animales, deben clasificarse como "leves".

\*\*\*Moderado: los procedimientos a consecuencia de los cuales es probable que los animales experimenten dolor, sufrimiento o angustia moderados de corta duración, o leves pero duraderos, así como los procedimientos que pudieran causar una alteración moderada del bienestar o del estado general de los animales, deben clasificarse como "moderados".

\*\*\*Severo: los procedimientos a consecuencia de los cuales es probable que los animales experimenten dolor, sufrimiento o angustia intensos o moderados pero prolongados, así como los procedimientos que pudieran causar una alteración grave del bienestar o del estado general de los animales, deben clasificarse como "severos".

## 8. ANESTESIA

El protocolo de anestesia se llevó a cabo con las directrices del SEA según se explica en la siguiente tabla. Tabla 5.

Tabla 5. Tipos de anestesia utilizados en el estudio.

Fase	Producto nombre genérico	Vía	Dosis en mg/kg	Concentración	Control de la profundidad de la anestesia
Cirugía Inducción	Isoflurano	Aérea		5%	Ausencia de reflejos corneal e interdigital
Cirugía Mantenimiento	Isoflurano	Aérea		1,5-2,5%	Ausencia de reflejos corneal e interdigital
Perioperatoria	Mepivacaína	Subcutánea e Intramuscular	0,6mg/kg	2%	Hasta una dosis máx. de 2mg/kg

Previa a la incisión laparotómica en el abdomen de la rata, se infundió anestésico local tipo mepivacaína a nivel subdérmico. El resto de la dosis se colocó al momento del cierre a nivel de los músculos a nivel abdominal y en el tejido subcutáneo con el fin de disminuir el dolor perioperatorio a nivel de las suturas, y evitar que los animales trataran de roer la herida.

El proceso anestésico inhalado se llevó a cabo como se describe a continuación:

- Para la inducción se introdujo el animal en una cámara especial para vaporizar los anestésicos. Se vaporizaron 4-5% de isoflurano y oxígeno a 0,5-1 l/min. Una vez que el animal perdía la conciencia se le colocaba en la mesa de intervención y se le ajustaba la mascarilla especial para el mantenimiento constante de la inhalación de los gases.

- La fase de mantenimiento se realizó durante la intervención regulando el vaporizador al 1-2% de isoflurano y 100% de oxígeno, con flujo de 0,5-1 l/min.
- Para la recuperación se desconectaba el vaporizador de isoflurano y después el oxígeno. En función de la recuperación del animal se le dejaba ventilando con oxígeno al 100% durante el tiempo que fuese necesario.

Durante la fase de mantenimiento se realizaron controles cada 15 minutos de constantes vitales, dosis de drogas y posibles reacciones adversas que se produzcan durante la intervención, además se comprobaron parámetros de profundidad anestésica y analgésica como son la ausencia de movimientos o de respuesta a estímulos externos. En todo momento se mantuvo al animal sobre una manta térmica para evitar la hipotermia.

## **9. ANALGESIA**

Ya en la FASE I cuando se intervinieron las ratas Wistar se evidenció importante dolor postoperatorio en los animales, que obligó al ajuste continuo del protocolo de analgesia, que finalmente quedó como se describe en la Tabla 6.

### ***Criterios de Punto Final***

Los protocolos de supervisión de los centros de experimentación animal tienen como objetivo anticiparse a los posibles problemas de salud y bienestar que pueden derivarse de la realización de un procedimiento experimental en los modelos animales. En realidad, no existe un protocolo de supervisión estándar para todos los procedimientos, por lo que debe adaptarse a cada estudio. En nuestro caso, bajo la supervisión del equipo

Tabla 6. Esquema de analgésicos utilizados en el estudio.

Fase	Producto Nombre genérico	Vía	Dosis en mg/kg	Frecuencia	Duración del tratamiento
<i>Prequirúrgica</i>	Meloxicam + Paracetamol	Oral	2 mg/Kg y 300 mg/kg (en agua de bebida)	-Toma libre	24 horas previa a cirugía
	Buprenorfina	SC	0.1mg/kg	- Una dosis	-30' precirugía
	Meloxicam	SC	2 mg/kg	- Una dosis	-30' precirugía
<i>Postquirúrgica inmediata</i>	Buprenorfina	Parche Dérmico	25mg/h	- Parche en postoperatorio inmediato	Hasta 3er día post cirugía
<i>Postquirúrgica de mantenimiento</i>	Meloxicam + Paracetamol	Oral	2mg/Kg y 300 mg/kg (en agua de bebida)	- Toma libre	5 días
<i>Rescate</i>	Buprenorfina	SC	0.1mg/kg	- Una dosis cada 12h si signos de dolor agudo	Hasta recuperación

veterinario del SEA de la UMH, se diseñó un esquema de trabajo que tenía como principal consideración los órganos o sistemas que con mayor probabilidad se veían afectados debido al tipo de procedimiento. Esto permitió diseñar un protocolo con medidas correctoras que se aplicaron en los casos de que el animal presentase signos de dolor o distrés prolongado. Este protocolo siguió un planteamiento de trabajo ya extensamente desarrollado en el SEA y que se fundamentaba principalmente en una valoración cuantificable que permitió relacionar el estado del animal con las medidas correctoras que debían tomarse en los distintos casos. De la misma manera, se establecieron los criterios de punto final. (Tabla 7)

Una definición de criterio de punto final podría ser la siguiente: indicador más temprano en un experimento con animales de un nivel de dolor o distrés tal que, independientemente de los objetivos científicos del

estudio, debe considerarse para evitar o limitar dicho dolor o distrés tomando acciones como aliviar al animal de dicho malestar, retirarlo del estudio o, en último caso, sacrificarlo humanitariamente. El objetivo de los criterios de punto final es, por tanto, limitar el sufrimiento de los animales a lo estrictamente necesario. Es moralmente obligatorio buscar indicadores de deterioro del animal para evitar dicho sufrimiento innecesario y, por supuesto, la muerte.

El esquema seguido fue el siguiente:

Puntuación:	
0 a 4	Normal
5 a 9	Aumente la frecuencia de revisiones del animal.
10 a 18	Consulte al veterinario
> 18	Sacrificio obligatorio

**Puntuaciones superiores al 18 se definieron en este estudio como criterio de punto final**

Para determinar la puntuación que conlleva al criterio de punto final se siguieron las pautas que se describen en la Tabla 7 como *Protocolo de Supervisión* de criterios de punto final. Además, como parte de la valoración conjunta entre el SEA y el equipo de investigadores, se utilizó también el score de expresiones faciales. Existen estudios de bienestar animal que nos orientan sobre cómo debemos supervisar los animales para detectar posibles problemas con celeridad. El estudio de las expresiones faciales de la rata en función de la severidad del dolor, que valora:

- Ajuste orbital: explicado por la extrusión de las orbitas oculares y las fascias de dolor. Así mismo, era determinante la presencia de porfirina, periorbital.

- Consistencia de mejillas y cuellos (pliegues cutáneos que traducían deshidratación.)

- Abultamiento de la nariz.

- Posición de las orejas.

- Movimientos de los bigotes.

En una fotografía posterior (Figura 3), se observa algunas de las reacciones evaluadas en este score.

## 10. SACRIFICIO

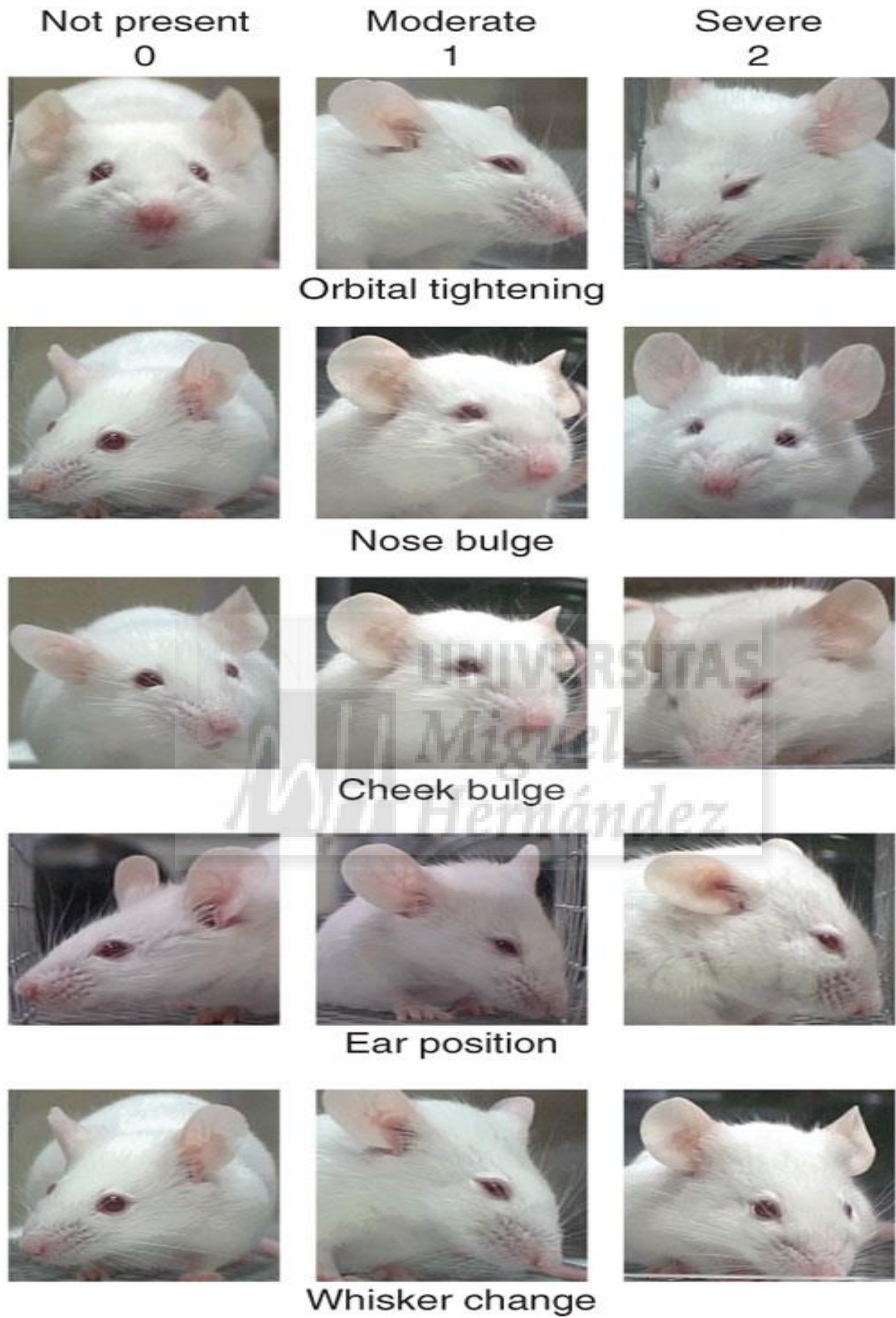
Si un animal cumplía con criterios de punto final se procedió a su sacrificio en cámara de CO<sub>2</sub>. (Tabla 8) Se escogió el CO<sub>2</sub> diluido en oxígeno al 70% por la pérdida rápida de consciencia sin hipoxia. Esto produce una anestesia rápida seguida de la muerte, con menor irritación de las vías aéreas. En el centro de experimentación animal está recomendado por su buena eficacia, con fácil aplicación, buena valoración estética y escaso riesgo para el experimentador.

*Tabla 8. Técnica eutanásica de los animales con criterios de punto final.*

Método	Producto	Vía	Dosis mg/kg	Concentración mg/ml	Fase	Puntuación*
CO <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	Inhalatoria	-	> 70%	Final del estudio	4

\* Según cuadro de criterios de punto final.





*Figura 3. Score de las facies de la rata para valorar el nivel de dolor.*

Tabla 7. Protocolo de Supervisión de criterios de punto final.

<b>HOJA DE PUNTUACIÓN. PROTOCOLO SUPERVISIÓN RATAS</b>				
<b>Responsable Supervisión/Nº Procedimiento:</b>				
<b>Nº Identificación Animal</b>				
<b>PESO CORPORAL*</b>				
Normal o disminución <5%		0		
Disminución 5-10 / 10-15 / 15-20%		2/4/10		
Disminución >20%		19		
<b>RESPUESTA AL MANEJO</b>				
Normal		0		
Ligeramente disminuido/aumentado		2		
Muy disminuido/aumentado, agresivo		4		
<b>COMPORTAMIENTO, APARIENCIA Y SIGNOS CLÍNICOS</b>				
Agresividad compañeros		1		
Estereotipias		3		
Piloerección		2		
Piloerección y exudado nasal/ocular		5		
Espalda arqueada		5		
Convulsiones, diarrea, coma (**)		8 (19)		
Automutilaciones		19		
Distrés respiratorio severo		19		
Pérdida de sangre significativa		19		
Deshidratación severa		19		
<b>TUMORES</b>				
Tamaño inferior a 2 cm <sup>3</sup> /40cm <sup>3</sup>		7		
Tamaño superior a 2 cm <sup>3</sup> /40cm <sup>3</sup>		19		
Necrosis, ulceración y/o sangrado		19		
<b>TOTAL</b>				

## **11. MATERIAL QUIRÚRGICO**

Para la realización de las intervenciones quirúrgicas y obtención de muestras de sangre se utilizaron los siguientes materiales:

- Tijeras de Mayo y Metzembraum
- Tijeras finas curvas de microcirugía
- Pinzas rectas con dientes
- Pinzas de disección finas rectas de Adson
- Pinzas finas de Crile curvas
- Pinzas hemostáticas de Halsted-Mosquito curvas y rectas.
- Porta-agujas de Mayo y de microcirugía.
- Hilos de sutura (Seda 2/0 para la gastroplastia y cierre del duodeno y posteriormente el de la pared abdominal; monofilamento irreabsorbible de 6/0 para la anastomosis y puntos antireflujo; monofilamento irreabsorbible de polipropileno 4/0 para la sutura intradérmica en piel)

## **12. TÉCNICA QUIRÚRGICA**

Previa anestesia y en decúbito supino, se realizó una laparotomía media de 3 cm en sentido cráneo-caudal desde el apéndice xifoides.

- Una vez en cavidad abdominal se identificaron las estructuras. (Figura 4)
- Seguidamente se traccionó suavemente desde la parte mecánica del estómago liberándolo de la fijación al hígado cuyo lóbulo izquierdo lo cubre en gran parte.
- Se identificaron los epiplones, el bazo, los vasos cortos y el antro-píloro.
- Ligadura del duodeno con cierre de la región postpilórica. Con puntos transfixivos de seda de 2/0.

- Medición de la longitud total de la curvatura mayor y el ancho del cuerpo del estómago.
- Elección del sitio teórico de sección a nivel de curvatura mayor, abarcando en su mayoría la porción mecánica del estómago.
- Sección de la cámara gástrica para la creación del tubo gástrico (Figura 5):

Figura 4. Disposición Anatómica Abdominal en la rata.

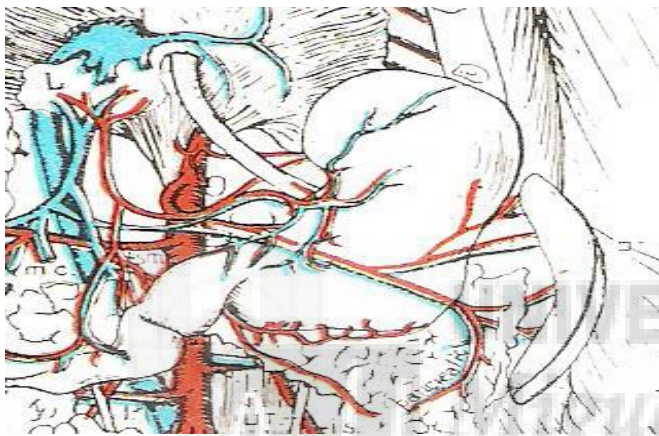
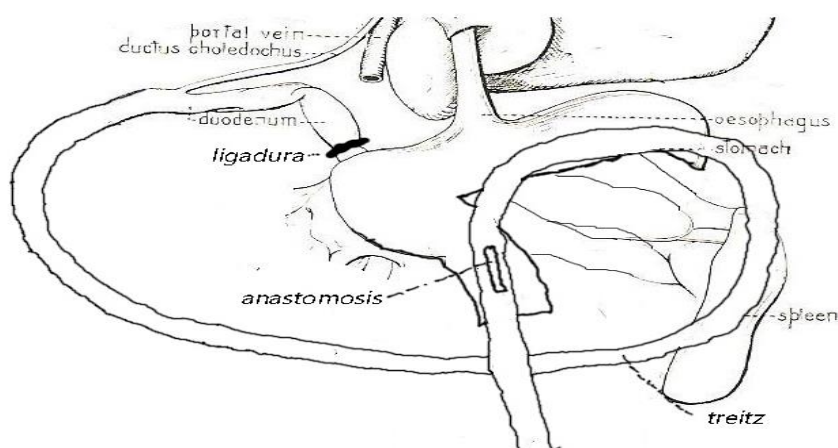


Figura 5. Diseño del Tubo Gástrico y anastomosis de primer asa yeyuno al tubo gástrico.



- a.- Se llevó a cabo un corte diagonal en el punto elegido de la curvatura mayor en una extensión no superior a un tercio de la anchura gástrica.
- b.- Movilización del tubo gástrico obtenido, comprobando su descenso.
- c.- Cierre del mismo y de la porción gástrica con seda 3/0 monoplano sutura continua invaginante.

→ Elección del asa anastomótica:

- a.- Se subió de forma antecólica el primer asa yeyunal aproximadamente entre 5-8 cm desde el punto donde se localiza el asa fija. Se utilizó como referencia anatómica el lipoma intestinal que se ubica en esa porción.
- b.- Fijamos el primer asa yeyunal a la cara anterior del cuerpo gástrico y se dejó caer el asa paralelo al tubo gástrico.
- c.- Realización de la anastomosis latero-lateral en la porción más caudal del nuevo tubo gástrico mediante sutura continua con monofilamento irreabsorbible de polipropileno 6/0.

- Se comprobó la integridad del paso intestinal y la ausencia de fugas
- Comprobación de hemostasia.
- Recuperación de volumen de forma intraperitoneal, infundiendo suero en la cavidad.
- Cierre por planos: plano muscular y aponeurótico con seda de 2/0 y plano cutáneo con monofilamento de polipropileno de 4/0 intradérmica con puntos ocultos.

*(Al final de esta sección se muestran diferentes esquemas de la técnica, la preparación del quirófano y el procedimiento quirúrgico en imágenes.)*

### **13. TÉCNICA QUIRÚRGICA SIMULADA**

En inicio se realizaron los mismos pasos que en la técnica quirúrgica propuesta realizándose la sección del estómago pero sin realizar el bypass ni las enterotomías descritas en la técnica nueva. Se conservaron la región pilórica intacta y el circuito de alimentos a través del intestino proximal.

### **14. CUIDADOS POSTOPERATORIOS**

- Inmediatamente después de la intervención se inició con el protocolo de analgesia para controlar el dolor postquirúrgico. (Ver esquema previo)
- Dieta líquida durante todo el curso postoperatorio, desde la intervención hasta un máximo de 5 días, según evolución y tolerancia. Se colocaron dos biberones en cada jaula. Uno de ellos contenía agua + mezcla de paracetamol y meloxicam y el otro biberón contenía la solución de nutrición enteral, diluida al 50% que se aportó desde el día de la intervención. Al cabo de las primeras 48-72 horas tras la intervención, si la evolución era favorable se iba reintroduciendo poco a poco el pienso estándar.
- Se ajustaron los medios necesarios para controles de la herida de la laparotomía y re-aclimatización de los sujetos.

### **15. FINALIZACIÓN DEL PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL**

Los métodos actuales para la cuantificación de la regeneración de células  $\beta$  exigieron el sacrificio de los animales y el análisis de las secciones de páncreas y otros tejidos. Durante la etapa final, después de la última extracción sanguínea, se procedió al sacrificio del animal mediante sobredosis de anestésico inhalado. Los animales se sacrificaron para obtener muestras de los tejidos para los estudios histológicos.

# INTERVENCIÓN QUIRÚRGICA

## PREPARACIÓN DEL QUIRÓFANO



A. Rata GK. Antes de la cirugía y las extracciones de sangre se dejan aproximadamente 8 horas de ayuno.



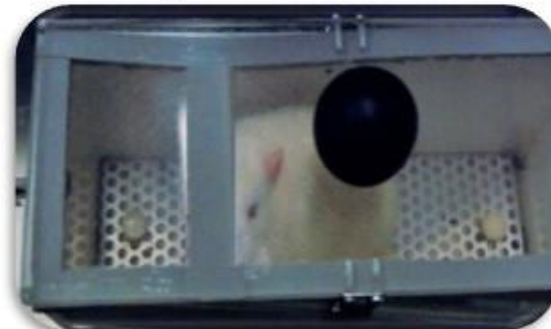
B. Sistema de anestesia inhalada que utiliza Isoflurano.



C. Instrumental Quirúrgico con material especial para microcirugía.



D. Disposición de la mesa de quirófano, para mantener condiciones de antisepsia.



E. Cámara para la inducción anestésica que mezcla el Isoflurano con oxígeno.



F. Disposición del equipo quirúrgico.

# INTERVENCIÓN QUIRÚRGICA

Secuencia en imágenes de las etapas de la cirugía.  
Etapa 1: exclusión duodenal.



1. Rasurado del área, antisepsia e infiltración de anestésico local.



2. Laparotomía media subxifoidea. Apertura de planos hasta cavidad abdominal.



3. Localización de la primera porción duodenal, después del píloro.

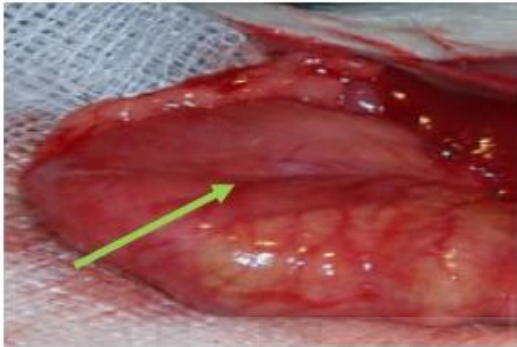


4. Ligadura doble del duodeno para excluirlo del tránsito alimentario.

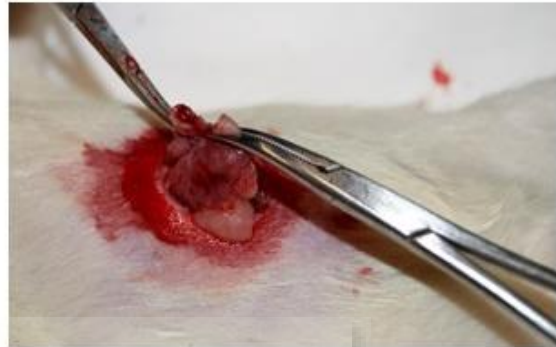


# INTERVENCIÓN QUIRÚRGICA

Secuencia en imágenes de las etapas de la cirugía.  
Etapa 2: tubo reverso.



1. Evisceración de la cámara gástrica. Nótese la diferencia en el estómago de la porción química de la mecánica (ver flecha)



2. Sección gástrica en curvatura mayor para lograr la sección vertical y poder realizar el tubo reverso.



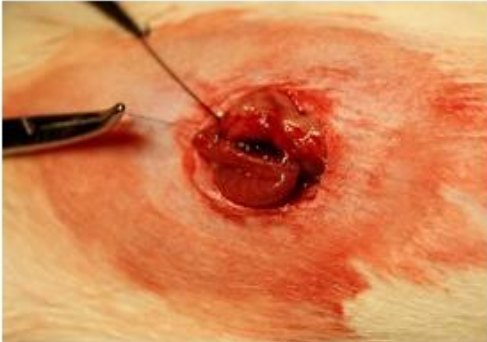
3. Cierre de la línea de sección con sutura continua. Disposición final del neo-estómago tubular a expensas de curvatura mayor.



4. Localización del asa fija y primera porción duodenal donde se realizará la anastomosis.

# INTERVENCIÓN QUIRÚRGICA

Secuencia en imágenes de las etapas de la cirugía.  
Etapa 3: anastomosis gastro-yeyunal..



1. Anastomosis latero-lateral gastro-yeyunal, con monofilamento no reabsorbible de 6.0, en una capa continua.



2. Tras la anastomosis se fija el asa de yeyuno ascendente cámara gástrica superior, con intención de evitar reflujo biliar a la cámara gástrica.



3. Cierre por planos con nueva infiltración anestésica de la herida.



4. El cierre de piel se realiza con sutura intradérmica para evitar la lesión del propio animal sobre la herida.

# VARIABLE ANTROPOMÉTRICA

## EL PESO

La variable peso es fundamental en este estudio pues la premisa que hemos pretendido exponer indica que los cambios anatómicos inducen a cambios serológicos e histológicos, sin afectar al peso del individuo. En los individuos diabéticos no obesos sometidos a cirugía metabólica no asociada a exceso de tejido debe vigilarse que su capacidad nutricional no se ve afectada, ya que estados de malnutrición pueden derivar en defectos de crecimiento y desarrollo e incluso en situaciones de riesgo vital. El peso de cada uno de los animales fue medido en los tres momentos de la toma sanguínea: a las 8 semanas de vida, antes de la cirugía y antes del sacrificio. Para ello se utilizó una balanza tipo AH-1200 con capacidad de 1.200 gramos y una resolución 0,02 g. (centésimas de gramo) con capacidad de autocalibración electrónica.

# VARIABLES BIOQUÍMICAS

## 1. MUESTRAS SEROLÓGICAS.

En el desarrollo de un nuevo procedimiento quirúrgico, además de la viabilidad técnica hay que confirmar que el fundamento fisiológico se produzca. Es decir, que el cambio anatómico se traduzca en un cambio fisiológico que signifique una mejoría en el metabolismo glucídico. Para confirmar que el nuevo procedimiento quirúrgico logra los efectos hipoglucemiantes planteados se realizaron mediciones de variables

bioquímicas en las muestras de sangre. Estas muestras de sangre se obtuvieron de todos y cada uno de los animales en tres oportunidades:

- ▲ 1 Muestra a las 8 semanas - muestra que confirma diabetes en el sujeto. Del mismo modo, las mediciones a las 8 semanas permitió demostrar que los grupos eran coparables.
- ▲ 1 Muestra en la semana de la cirugía – prequirúrgica en tres diferentes tiempos. Se tomaron muestras en 3 grupos: a las 12, 16 y 20 semanas de vida con intención de definir evolución de la diabetes en el tiempo. Se supone que a mayor tiempo de exposición a la DM2 mayores efectos deletéreos y menos capacidad de regeneración.
- ▲ 1 Muestra previa al sacrificio a las 8 semanas después de la cirugía – demostrar que se producen cambios que pueden ser atribuidos a la cirugía.

En las muestras sanguíneas se determinó la **glucemia**, las principales **hormonas** que participan en metabolismo glucídico (Cuadro 1) y el **Factor de Necrosis  $\alpha$**  (TNFa) como variable para valorar inflamación.

*Cuadro 1. Variables Hormonales asociadas al metabolismo glucídico que se valoran en este estudio.*

- PÉPTIDO C – PROINSULINA
- GLP-1 – Péptido similar al Glucagón tipo 1
- GIP - Polipéptido inhibidor gástrico
- INSULINA
- GLUCAGÓN
- PÉPTIDO YY

## **2. CURVA DE GLUCOSA**

Los niveles de glucosa en sangre de cada animal fueron determinados en muestras capilares obtenidas de la cola de los animales. La determinación se llevó a cabo en los tres momentos del estudio: a las 8 semanas de vida, en el preoperatorio y previo al sacrificio. En todos los casos se realizó un mínimo corte de la punta de la cola de cada rata para obtener una gota de sangre que luego se procesó a través de un glucómetro portátil y sus respectivas tiras reactivas (Acchuchek Compact Plus®, Roche, Barcelona)

Para este procedimiento las ratas se mantuvieron en ayuno durante la noche (16 horas). En primer lugar se midieron las glucemias basales identificadas en el estudio como Glucemia Basal en Ayunas (GBA) y posteriormente se realizó una prueba de tolerancia a la glucosa. Para la Sobrecarga Oral de Glucosa (SOG) se administró una solución de oral glucosada al 50% a través de una sonda oral. Las muestras de sangre se tomaron a los 10, 30, 60 y 120 min.

## **3. EXTRACCIÓN DE SANGRE PARA DETERMINACIÓN DE VARIABLES BIOQUÍMICAS**

La extracción de sangre, para obtener el suero que fue utilizado para determinar las hormonas, se llevó a cabo dentro del procedimiento de SOG. Por lo tanto, tras tomar la muestra de glucemia a los 60 minutos tras la sobrecarga de glucosa se procedió a la extracción de una muestra sanguínea de la vena coxígea de cada rata.

Para este fin se colocó el animal dentro de un sistema de inmovilización donde quedaba la cola fuera para poder manipularla. Se aplicó un torniquete de goma en la base de la cola para lograr la ingurgitación de las

venas y tras colocar una mínima cantidad de anestesia local (lidocaína) se puncionó la vena hasta extraer la cantidad mínima necesaria para los estudios sin que interfiera en la volemia del animal (0,8 ml de sangre).

Una vez extraída la sangre se depositaron en un recipiente estéril al que se aplicó un inhibidor de proteasa (Inhibidor de la dipeptidil dipeptidasa IV DPP-IV de la marca Merck-Millipore®.) Las hormonas normalmente se encuentran presentes en el plasma y el tejido intersticial a concentraciones muy bajas; por ello, una vez que una hormona es secretada por un tejido endocrino, generalmente se une a un transportador específico (proteína plasmática) y el complejo es diseminado a tejidos distantes. Las proteínas transportadoras plasmáticas existen para todas las clases de hormonas endocrinas. Las proteínas transportadoras para las hormonas peptídicas previenen la destrucción de las hormonas por las proteasas plasmáticas. Por lo tanto, para evitar la degradación de las muestras de sangre y obtener una mejor lectura en los análisis de inmunoensayo, a las muestras se les aplicó el inhibidor de proteasa. Posteriormente se llevaron los recipientes de las muestras a un agitador tipo vórtex para mezclar e incluir adecuadamente el inhibidor y tras un minuto de mezclado se dejaron que las muestras coagulasen en reposo a temperatura ambiente, durante 30 minutos.

A continuación, todas las muestras fueron centrifugadas a 1200 rpm en una centrífuga tipo (PowerSpin™ VX C818 de velocidad variable, 8 tubos de 10 mL [Ø16mm x 100mm]) durante 10-15 minutos hasta que el plasma se separó de los elementos formes. Se extrajo el suero en nuevos recipientes de polipropileno (no vidrio para evitar alteraciones) y se llevó a un congelador a -80 °C hasta su análisis correspondiente en los Kits de inmunoensayo.

Las muestras para el estudio inmunoquímico para las hormonas fueron procesadas en el Instituto Murciano de Investigaciones Biosanitarias en el grupo de trabajo de Análisis Clínicos. En este grupo de trabajo se propuso la utilización de kits de inmunoensayo que fueron específicamente diseñados para este estudio y se solicitaron ya preparados a la casa comercial. (Laboratorios Merck-Millipore®.)

#### **4. MECANISMO DE ACCIÓN DE LAS PRUEBAS DE INMUNOENSAYO**

Se define como análisis de inmunoensayo al conjunto de técnicas inmunoquímicas de laboratorio que tienen como fundamento el usar los complejos antígeno-anticuerpo (Ag-Ac) como referencia para la cuantificación de un determinado analito (sustancia objeto del análisis) que puede estar asociado al anticuerpo (Ac) como al antígeno (Ag). La cuantificación se realiza por diferentes métodos que utilizan para la medición una molécula que marca o señala una parte de la reacción del complejo Ag-Ac. Los análisis de inmuno-ensayo se fundamentan en la gran especificidad y afinidad de los Ac por su Ag y gracias a este fenómeno, se pueden cuantificar compuestos presentes en líquidos orgánicos en concentraciones muy reducidas, del orden de nanogramos/ml o de picogramos/ml.

Existen diferentes clasificaciones de las técnicas de inmuno-ensayo aunque las más utilizadas son:

a) Por el medio donde se realiza la medición: se dividen en homogéneo y heterogéneo.

a.1- Homogéneo: la señal generada por la unión del Ag y el Ac se mide directamente en el mismo medio que se utiliza para favorecer la formación del complejo inmune.

a.2- Heterogéneo: la unión del complejo Ag-Ac se mide en un medio diferente al utilizado para la unión del complejo inmune. Este proceso implica por lo general una etapa intermedia de lavado para eliminar interferencias.

b) Por la técnica de medición: pueden ser competitivo o no competitivo.

b.1- Competitivo: el analito (en este caso suele ser un Ag) objeto de la medición compite con otro Ag marcado por un Ac. Se mide por la cantidad del Ag marcado sin conjugado que se considera es inversamente proporcional al analito.

b.2- No competitivo (llamado también tipo sándwich): el Ag de la muestra reacciona con dos Ac diferentes que se fijan a distintas partes del Ag. Uno de los Ac generalmente está en soporte sólido para facilitar la separación de la fracción ligada, y el otro Ac lleva la marca que van a detectar los instrumentos de lectura. Se mide por la cantidad del marcador considerando que es directamente proporcional a la cantidad del analito.

c) Por el marcador: con esta clasificación se destaca cuál es la sustancia marcadora que pone en evidencia el complejo inmune y que es la va a ser leída por un equipo específico de lectura. En este sentido los inmuno-ensayos pueden ser:



- Radioinmunoensayo (RIA): el marcador es un isótopo radioactivo.
- Enzimoimmunoanálisis (EIA): el marcador es una enzima. Es uno de los procedimientos más utilizados en ciencias de la salud y se conocen por su abreviatura del inglés ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)
- Fluoroimmunoanálisis: el marcador es una molécula fluorescente (FPIA.)
- Inmunoquimioluminiscente: el marcador es en general una enzima capaz de catalizar una reacción quimioluminiscente. Son tanto o más sensibles que los radioinmunoensayos, y no presentan riesgos de manipulación de sustancias radioactivas.

\*Se considera que los inmunoensayos con formato homogéneo no competitivo son los más sensibles y específicos. En nuestro caso hemos utilizado este modelo asociado además a un marcador quimioluminiscente que utiliza microesferas fluorescentes de perlas magnéticas.

## **5. SISTEMA MILLIPLEX® MAP**

Para identificar hormonas metabólicas específicas, se requiere detectar paneles de hormonas metabólicas, y ello demanda un cierto nivel de automatización en equipos de alto rendimiento. En nuestro caso se utilizó el sistema panel de MILLIPLEX® MAP que se basa en la tecnología Luminex® y xMAP®. Este sistema es uno de los de más rápido crecimiento en el campo de la investigación de las ciencias biológicas y es capaz de realizar una variedad de bioensayos incluyendo inmunoensayos fluorescentes que utilizan códigos a través de perlas magnéticas conocidas como microesferas MagPlex™-C.

El panel MILLIPLEX® MAP diseñado para este estudio se desarrolló con la intención de medir la función metabólica hormonal de las ratas

centrándose en el potencial terapéutico de las hormonas metabólicas. Además, la plataforma Luminex® xMAP® con el formato de perlas magnéticas tiene una ventaja adicional que permite la detección de múltiples analitos simultáneamente, lo que permite un ahorro de tiempo, mano de obra y de costos respecto a métodos tradicionales.

En nuestro caso el panel de MILLIPLEX® xMAP® para el análisis metabólico de la rata logró la cuantificación simultánea de: Péptido C, GIP, GLP-1, el glucagón, insulina, PYY, y TNF $\alpha$ , teniendo en cuenta que su uso es exclusivo en investigación, no para procedimientos de diagnósticos.

Los anticuerpos específicos para cada hormona están unidos por enlaces covalentes a las microesferas que pueden ser detectadas por el sistema Luminex®. A su vez cada anticuerpo unido de forma única a las microesferas presenta un etiquetado distintivo con un tinte fluorescente. Las microesferas son detectadas por el uso de doble láser en el que se basa el sistema Luminex®.

La tecnología xMAP® permite la medición de hormonas múltiples en un único ensayo con cantidad limitada de suero. Además durante el ensayo de los diferentes reactivos se combinan con el analito para formar un complejo de microesfera-muestra-anticuerpo. La iluminación del complejo libera oxígeno que se canalizará a través de las cuentas y a través de un aceptor de desencadenantes de quimioluminiscencia que emite una señal lumínica que es detectada en un lector de placas. La cantidad de luz generada es proporcional a la concentración de la hormona en la muestra. Por lo general se utilizan dos anticuerpos que reconocen diferentes sitios de la hormona de interés, y uno de ellos suele estar biotinilado y el otro se utiliza para recubrir el captador de las microesferas.

El sistema Luminex® utiliza técnicas patentadas donde las microesferas utilizan códigos de color con dos colorantes fluorescentes. A través de concentraciones precisas de estos colorantes, se pueden crear hasta 100 conjuntos de microesferas de colores cada uno de los cuales está recubierto con un anticuerpo de captura específico.

Después de que un analito es capturado por el sistema, se introduce un anticuerpo de detección biotinilado. La mezcla de reacción se incuba a continuación con el conjugado Estreptavidina-Ficoeritrina (EF), la molécula informadora, para completar la reacción en la superficie de cada microesfera.

Las microesferas son pasadas rápidamente a través de un láser que excita los colorantes internos que marcan el conjunto de microesferas. Un segundo láser excita al EF, el colorante fluorescente en la molécula informadora. Finalmente, los procesadores de señales digitales de alta velocidad identifican cada microesfera de forma individual y así es posible cuantificar el resultado con la captación de las señales indicadoras fluorescentes.

#### INSTRUMENTACIÓN / MATERIALES

1. Pipetas ajustables con puntas capaces de transportar 25  $\mu$ L 1000  $\mu$ L
2. Multicanal Pipetas capaces de dispensar 5  $\mu$ L 50  $\mu$ L o 25  $\mu$ L a 200  $\mu$ L
3. Reservorios de Reactivos
4. Tubos de Polipropileno
5. Gomas elásticas
6. Papel de aluminio
7. Almohadillas o pañitos absorbentes
8. Agitador vórtex

9. Sonicador (Branson limpiador ultrasónico Modelo # B200)
10. Shaker Titer Plate (Lab-Line Instruments Modelo # 4625)
11. Luminex 200™ con software xPONENT por Luminex Corporation
12. Lavador automático de placas de perlas magnéticas (Bio-Tek ELx405, EMD Millipore)

#### DIRECTRICES TÉCNICAS SEGÚN LA CASA COMERCIAL

Las perlas de anticuerpo inmovilizado son sensibles a la luz por lo que fueron protegidos de la luz en todo momento. Para ello se procedió a cubrir las placas de las muestras que contienen perlas con papel de aluminio durante todas las etapas de incubación.

Todo el lavado se realizó con el tampón de lavado proporcionado por el Kit ya que un lavado incompleto podría afectar negativamente a los resultados del ensayo. Después de la hidratación, todos los estándares y controles fueron transferidos a tubos de polipropileno. Los estándares preparados por dilución en serie se utilizaron dentro de 1 hora de preparación tal y como indican las instrucciones de la casa Millipore. Además las placas fueron leídas inmediatamente como establecen las recomendaciones, ya que un retraso en la lectura de una placa puede dar lugar a disminución de la sensibilidad de algunos analitos.

El agitador de placa de titulación se debe establecer a una velocidad para proporcionar una mezcla orbital máxima sin salpicaduras de líquido fuera de los pozos. Para el agitador de placas recomendado, esto sería un ajuste de 5-7 que es de aproximadamente 500-800 rpm.

Para conseguir la limpieza de las sondas de aguja se llevó a cabo mediante sonicación (mezclado de partículas de una muestra por efecto de los

ultrasonidos) y todos los reactivos se sometieron a agitación mediante vortex antes de ser añadidos a la placa.

PREPARACIÓN DE MUESTRAS Y REACTIVOS PARA INMUNOENSAYO:

- A. Muestras sanguíneas → Se procedió a la descongelación de las muestras a temperatura ambiente durante 4 horas. Nuevamente fueron centrifugadas antes de su uso en el ensayo para eliminar las partículas, a 3000 rpm durante cinco minutos antes de la configuración del ensayo.
- B. Preparación de perlas de anticuerpo inmovilizado → En primer lugar se llevó a cabo la sonicación de cada vial de anticuerpos de microesferas durante 30 segundos y posteriormente se mezcló en el vórtex durante 1 minuto.
- C. Preparación de las perlas → Seguidamente se añadió 150 µl de cada vial grano anticuerpo a la botella de mezcla y llevar a volumen final de 3,0 ml con bolas de diluyente.
- D. Preparación de Controles de Calidad → Antes de su uso, fueron reconstituidos las muestras de control y calidad 1 y 2, con 250 µl de agua desionizada. Se invirtió el frasco varias veces para mezclar y agitar.
- E. Preparación del tampón de lavado → Se dejó el tampón de lavado 10X a temperatura ambiente y posteriormente se mezcló para precipitar todas las sales en solución. Se diluyó 30 ml de tampón de lavado 10X con 270 ml de agua desionizada.
- F. Preparación de Matrix Serum → Se administró 1,0 ml de agua desionizada a la botella que contenía la matriz de suero liofilizado.

Después del mezclado se dejó 10 minutos para la reconstitución completa.

PROCEDIMIENTO FINAL:

1. Añadimos 200 ml de tampón de ensayo en cada pocillo de la placa. Se selló y mezcló en un agitador de placas durante 10 minutos a temperatura ambiente (20-25°C).

2. Se procedió a decantar el tampón y eliminar la cantidad residual de todos los pocillos invirtiendo la placa y golpearla con decisión sobre toallas absorbentes varias veces.

3. Se añadieron 25 µl de solución matriz apropiada para los pozos de fondo, de normalización y de control. Luego 25 µl de tampón de ensayo para el fondo (nivel 0 pg/ml) y pocillos de muestra. Seguidamente 25 µl de la solución estándar o de control en los pocillos correspondientes y finalmente 25 µl de cada muestra de suero en los pocillos correspondientes.

4. Se mezclaron todos los reactivos en la mezcladora vórtex.

5. Posteriormente se procedió a sellar cada placa con el sellador específico del kit. Se cubrieron las placas con papel de aluminio y se incubaron en un agitador de placas durante la noche (18-20 horas) a 4 °C.

6. Al cabo del tiempo estipulado se dejó que los reactivos en las placas alcanzasen la temperatura ambiente. Luego se procedió al lavado (hasta 3 veces) según las instrucciones de la casa comercial.

7. Seguidamente se adicionó 50 µl de la mezcla detectora de anticuerpos en cada pocillo y nuevamente se cubrió cada placa con papel de aluminio

para la incubación con agitación durante 30 minutos a temperatura ambiente (20-25 ° C).

8. Luego de la incubación se agregaron 50 µl de Estreptavidina-Ficoeritina para determinar la concentración de las hormonas de interés a cada pocillo que contiene los 50 µl de la mezcla para la detección de anticuerpos. De nuevo se cubrieron las placas con papel de aluminio y se sucedió otra nueva fase de incubación con agitación durante 30 minutos a temperatura ambiente (20-25 ° C).

9. Se lavaron las placas 3 veces y se añadió 100 µl de fluido funda (o de accionamiento de fluido si se utiliza MAGPIX®) a todos los pocillos.

10. Inmediatamente se llevaron las placas al sistema Luminex 200™, con software xPONENT, para su lectura.

**CONTROLES DE CALIDAD:**

Los rangos para cada analito en Control de Calidad 1 y 2 se proporcionan en la siguiente tabla:

QUALITY CONTROL RANGES Milliplex Rat Metabolic Magnetic Bead Panel Catalog # RMHMAG-84K Control Catalog # RMH-6084 Lot # RMH-104 and RMH-204							
Hormone	QC Level	Expected Range	Units	Hormone	QC Level	Expected Range	Units
C-Peptide	Control I	967 – 2009	pg/mL	Leptin	Control I	1062 – 2205	pg/mL
	Control II	2648 – 5500	pg/mL		Control II	2892 – 6007	pg/mL
Ghrelin	Control I	94 – 196	pg/mL	MCP-1	Control I	911 – 1893	pg/mL
	Control II	279 – 580	pg/mL		Control II	2707 – 5622	pg/mL
GIP	Control I	33 – 69	pg/mL	PP	Control I	86 – 178	pg/mL
	Control II	100 – 208	pg/mL		Control II	264 – 549	pg/mL
GLP-1	Control I	487 – 1012	pg/mL	PYY	Control I	88 – 182	pg/mL
	Control II	1459 – 3029	pg/mL		Control II	269 – 559	pg/mL
Glucagon	Control I	187 – 388	pg/mL	TNFα	Control I	197 – 409	pg/mL
	Control II	511 – 1062	pg/mL		Control II	552 – 1147	pg/mL
IL-6	Control I	1973 – 4097	pg/mL	Amylin	Control I	492 – 1023	pg/mL
	Control II	5712 – 11864	pg/mL		Control II	1419 – 2948	pg/mL
Insulin	Control I	864 – 1794	pg/mL				
	Control II	2681 – 5568	pg/mL				

**Note: The Quality Control Ranges are generated with overnight assay format using serum matrix provided in the kit. Quality Control values in culture media are not tested.**  
 EMD Millipore • (616) 441-8400 • www.millipore.com  
 RMH-6084 104 204 (REV 05 FEB 2014)

# VARIABLES HISTOLÓGICAS

## 1. TÉCNICAS HISTOLÓGICAS

Al momento del sacrificio se recogieron muestras de diferentes tejidos. En lo que compete a este proyecto el tejido escogido para su análisis en profundidad fue el páncreas, asumiendo su participación protagónica en el desarrollo de la DM2 no asociado a obesidad. Del resto de los tejidos se realizó descripción básica.

## 2. PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Inmediatamente de la extracción de las muestras de tejidos las mismas fueron sumergidas en una solución de formaldehído al 10% hasta su procesamiento.

Las muestras de tejido fueron tratadas en el laboratorio de anatomía patológica del Hospital General Universitario de Alicante. En este laboratorio se llevó a cabo el procedimiento básico de tratamiento de tejidos el cual incluye los procesos que se describen en el apartado a continuación.

## 3. PROCEDIMIENTO BÁSICO DE TRATAMIENTO DE TEJIDOS.

*Proceso teórico según datos del laboratorio del Instituto de Neurociencias y de la web:*

*<http://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/18704/1/HISTOLOGIA.pdf>*



**- Lavado del fijador y aclaramiento:** el lavado se llevó a cabo para eliminar el exceso de fijador, para luego poder hacer la inclusión sin interferencia por parte del fijador. Además, existen medios de inclusión que son hidrófobos, como la parafina, y precisan de la eliminación de agua en la muestra. Para eliminar los restos de agua se procedió a la deshidratación de los tejidos. Debido a que una gran parte del tejido está constituido por agua, se aplica una serie gradual de soluciones acuosas de menor a mayor grado de agente deshidratante, en nuestro caso alcohol etílico, iniciando con alcohol al 0,5%, luego se aumentó paulatinamente la concentración de la solución de 10 en 10 hasta llegar al 100 % de concentración cuando se estimó que se había eliminado todo el agua de los tejidos, extra e intracelular. Después de haber deshidratado el tejido, se procedió al aclaramiento con xilol que es una sustancia que actúa como disolvente que es miscible tanto en el alcohol como en parafina.

**- Inclusión:** la inclusión se refiere al proceso de proporcionar un soporte sólido a los tejidos para posteriormente poder seccionarlos en cortes muy finos. El método de inclusión más usado es la parafina. El procedimiento estándar realizado consistió en colocar la muestra de tejido en un recipiente y agregar la parafina fundida a 60°C, colocando la muestra en una estufa de 30 minutos a 6 horas manteniendo la temperatura a 60°C. Debido al calor, el xilol se evapora y los espacios anteriormente ocupados por el medio de aclaramiento fueron ocupados por la parafina. Después se colocó la pieza en un molde de metal de forma rectangular y tamaño pre-establecido según protocolo del laboratorio y se dejó solidificar a temperatura ambiente, formándose un bloque sólido de parafina con el trozo de tejido incluido, en las cuales se ha anotado las coordenadas de orientación de los tejidos.

- **Corte:** el bloque de parafina posteriormente se lleva a corte utilizando micrótopo de rotación, con cuchillas de acero. El grosor escogido se dejó entre 5 y 10  $\mu\text{m}$ , espacio suficiente como para permitir el paso de la luz del microscopio óptico.

- **Coloración:** para las muestras generales de los tejidos se aplicó la coloración básica de hematoxilina-eosina (HE).

### **→ COLORACIÓN CON HEMATOXILINA-EOSINA**

La HE es la tinción más usada para el estudio de cortes histológicos en el microscopio óptico, ya que es una coloración topográfica de rutina que ayuda a distinguir detalles morfológicos de células y tejidos. Existen múltiples variantes, según se emplee un tipo u otro de eosina y de hematoxilina y en variadas concentraciones. El método supone la aplicación de la tinción de hematoxilina, que por ser un colorante de pH básico, tiñe estructuras ácidas (basófilas) en tonos azulados y púrpura (ejemplo, los núcleos celulares.) Por su parte la eosina, que es un colorante ácido, tiñe componentes básicos (acidófilas) en diferentes tonos de rosa (ejemplo, el citoplasma.)

Para para teñir los cortes con este colorante se empleó la HE de Harris. En primer lugar se procedió a eliminar la parafina porque es insoluble en agua y para ello se utilizó nuevamente el Xilol como disolvente, sumergiendo los cortes hasta en 3 ocasiones de 5 minutos cada vez. Luego se hidrató el tejido con alcohol etílico en concentración decreciente. Utilizamos primero etanol absoluto, luego etanol al 90%, 80% y 70% y agua destilada, 5 minutos cada vez. Se aplicó la hematoxilina dejando reaccionar por 5 minutos y se procedió al lavado en agua del grifo. Luego se aplicó la eosina y se dejó sólo 30 segundos; posteriormente se lavó

nuevamente con agua destilada por dos veces y después con agua de grifo. Seguidamente se realizó una nueva deshidratación con alcohol para el montaje de los cortes en los portaobjetos.

#### → COLORACIÓN CON CRESIL VIOLETA

Para las muestras de páncreas, además, se llevó a cabo una tinción adicional con cresil-violeta. El violeta de cresilo es un colorante acidófilo que tiñe el núcleo celular y el retículo endoplasmático rugoso (sustancia de Nissl), por lo que se emplea con frecuencia en aquellos tejidos donde se quiere poner en evidencia carga celular, demostrando la presencia de los núcleos. El cresil violeta se une a los grupos fosfatos del ADN del núcleo celular.

Puesto que en nuestro estudio uno de los objetivos fue demostrar la regeneración de las células  $\beta$  del páncreas consideramos que la tinción con este colorante nos permitiría a grandes rasgos observar la proliferación celular a nivel de los islotes de Langerhans, observando el aumento de carga nuclear celular.

La tinción se realizó según el protocolo básico siguiente:

1. Lavado de los cortes en agua destilada (1-3 minutos)
2. Tinción con violeta de cresilo al 1% (5-10 minutos)
3. Lavado en agua destilada (aprox. 1 minuto)
4. Diferenciación en alcohol-acético (etanol 70% con ácido acético) (aprox.15 segundos)
5. Deshidratación (etanol 96%, etanol 100%), aclarado y montaje

#### 4. TÉCNICAS DE INMUNOHISTOQUÍMICA

Para estudiar en profundidad la morfología de las distintas regiones del páncreas, así como la evolución de los islotes de Langerhans y las células  $\beta$ , se procesaron las muestras a través de colorantes de tipo inmunológico. Estas técnicas tienen como fin detectar la expresión de proteínas en el tejido diana y se fundamentan en la aplicación de un anticuerpo primario al tejido para que reconozca la proteína de interés. Luego se añade un anticuerpo secundario conjugado con biotina que reconoce el anticuerpo primario, amplificando así la señal y posibilitando el revelado posterior.

Las muestras para el estudio inmunohistoquímico fueron procesadas en el Instituto de Neurociencias de Alicante, en la Unidad de Investigación de Neurobiología del Desarrollo, en el grupo de trabajo de Embriología Experimental. En este grupo de trabajo se propuso la utilización del anticuerpo Nkx6.1. Este anticuerpo es una proteína que actúa en la codificación del gen NKX61 y que participa en el desarrollo embrionario de las células  $\beta$  del páncreas.

En nuestro estudio, el Kit del anticuerpo utilizado emplea como anticuerpo secundario, un Ac específico para roedores. El preparado inmunológico se maneja en una concentración de 1:200 que distribuye la casa comercial Hybridoma Bank con referencia N<sup>o</sup>F55A10. Por lo tanto, este Kit utiliza un anticuerpo de biotina anti-ratón que, asociado a un sistema del tipo de la inmuno-peroxidasa, es el que detecta la actividad del anticuerpo.

## **5. SEÑALES QUE DETERMINAN EL DESARROLLO DEL PÁNCREAS:**

### **EL ANTICUERPO Nkx6.1**

En la diabetes mellitus hay una pérdida o disfunción de las células- $\beta$  del páncreas que son la clave para la homeostasis del metabolismo glucídico. En ambos tipos de diabetes hay una alteración de las células  $\beta$ , que en la DM1 se asocia a la destrucción autoinmune de dichas células en tanto que en la DM2 implica la pérdida la secreción de insulina y una disminución gradual de la masa celular. Se ha demostrado que el desarrollo, la diferenciación y funcionamiento de las células  $\beta$  del páncreas se controla por factores de transcripción.(293)

La posibilidad de desarrollar una terapia basada en células para el tratamiento de la diabetes ha impulsado el creciente interés en identificar las vías moleculares que controlan el desarrollo de células endocrinas del páncreas. Como ya hemos explicado previamente en el apartado sobre la dinámica de las células  $\beta$ , el desarrollo y la diferenciación de órganos como el páncreas requieren la activación de un conjunto único de transcripción de coordenadas de factores codificados genéticamente. (294) Los estudios genéticos en ratones han revelado el papel crítico de varias señales de transcripción celular en el páncreas, factores que determinan la diferenciación y proceso de neogénesis de las células  $\beta$ . (256) Estas señales de transcripción vienen determinadas por homeodominios que son secuencias de ADN de tres hélices y aproximadamente 60 aminoácidos, que transmiten una orden específica en la diferenciación celular.(72)

Aunque la proliferación de células  $\beta$  parece ser el principal mecanismo de la regeneración de células  $\beta$  durante la edad adulta la formación de las células  $\beta$  consta con una serie de precursores totipotenciales para la masa

celular de células  $\beta$  (295). Antiguamente se pensaba que estas células sólo estaban presentes en estados embrionarios. Pero hoy se conoce que las mismas pueden ser activadas por los factores de transcripción, dependiendo de las necesidades propias del organismo.

Previamente se ha descrito que el factor de transcripción más importante en el embrión de los mamíferos es el Factor Promotor de Insulina (Pdx1).

El Pdx1 (homeodominio pancreático y duodenal tipo 1) es un factor de transcripción necesario para el desarrollo del páncreas y maduración de las células  $\beta$ . El Pdx1 también es conocido como Factor de Crecimiento Insulínico o promotor Insulínico (IGF-1) en los humanos.(82) El gen que codifica al Pdx1 tienen el potencial de dar lugar a todas las líneas celulares en el páncreas, tanto células endocrinas como exocrinas, así como células de los conductos pancreáticos. La información que se transcribe en el Pdx1 es primordial para el desarrollo del intestino anterior (foregut) y así mismo su presencia determina la transcripción de los homeodominos de la familia de los Nkx. De hecho en roedores el Pdx1 determina la expresión casi exclusiva del Nkx6.1, el cual es clave para el desarrollo, diferenciación, mantenimiento y supervivencia de una masa de células  $\beta$  en los adultos.(296)

El homeodominio Nkx6.1 es el factor que dirige específicamente la diferenciación de la célula pluripotencial específicamente a convertirse en célula  $\beta$  secretora de insulina y es el único homeodominio cuya restricción absoluta en el páncreas altera la reproducción de las células  $\beta$ . Fue identificado por primera vez en las células de un insulinoma de hámster (Rudnick et al. 1994.)(297) En el desarrollo embrionario el Nkx6.1 se expresa inicialmente en casi todo el epitelio de las papilas pancreáticas y

posteriormente en el adulto se restringe a las células  $\beta$  y precursores de células  $\beta$ . El Nkx6.1 también se expresa en el desarrollo de la médula espinal, en las células productoras de serotonina de la mucosa de la región antropilórica del estómago y en el mesénquima asociado con el esófago y la parte anterior del estómago. (298;299)

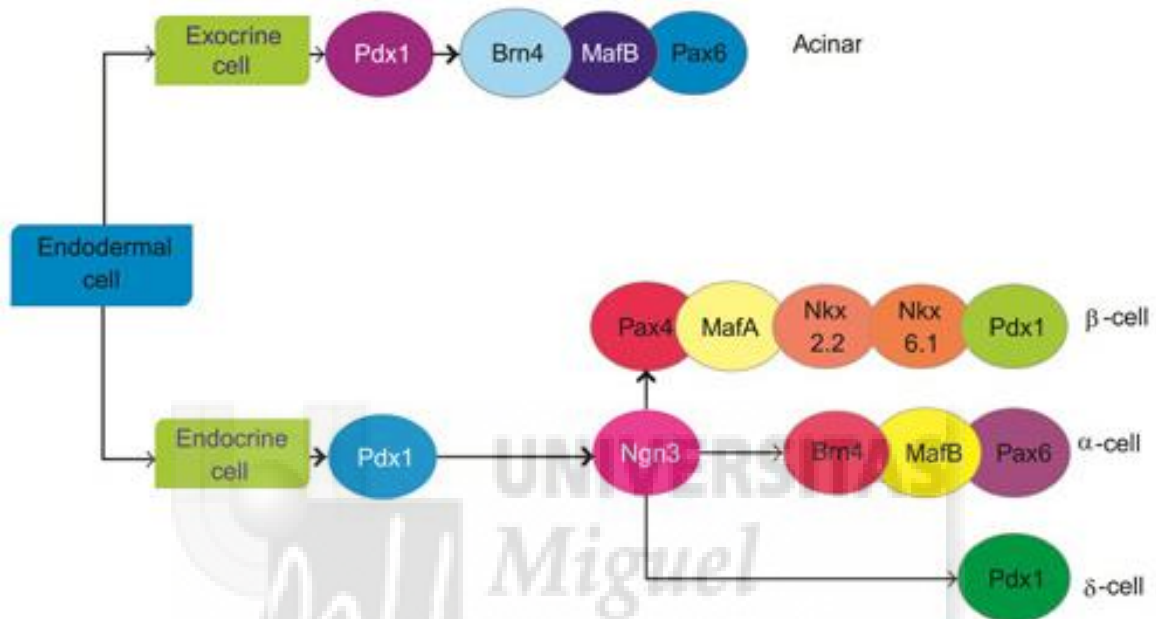


Figura 1. Cascada de transcripción de los diferentes factores que influyen en la diferenciación celular pancreática. Obsérvese que el Nkx6.1 se ubica en la línea precursora de las células  $\beta$ , después de la Ngn3. Cortesía de H. Kaur, N. Bhaskar, S. Ishaq, Q. Najeeb. *Stem Cells: Source for diabetes cell therapy. Journal of Diabetology*, October 2012; 3:3

Cuando experimentalmente se ha inducido en roedores una alteración dirigida del gen de Nkx6.1 se provoca un defecto severo en la diferenciación de células  $\beta$ . Este efecto viene a demostrar que el Nkx6.1 ratones tiene su punto de acción dentro de la cascada de transcripción en un paso más específico para las células  $\beta$  que la expresión de la neurogenina 3 (Ngn3).(90) De manera que los anticuerpos contra Nkx6.1 son herramientas muy valiosas para el estudio del papel y la función de las células  $\beta$ . Sin embargo, los mecanismos por los que estos factores

controlan la expresión del Nkx6.1 y otras funciones potenciales en el desarrollo de la glándula siguen siendo campos desconocidos.(304;309)

## **6. PREPARACIÓN DE LOS CORTES PARA INMUNOHISTOQUÍMICA**

Las muestras fijadas en formol al 10% se lavaron en PBS (tampón fosfato salino) y a continuación fueron deshidratadas progresivamente en etanol en una secuencia creciente (25%, 50%, 75% y 100%.) Posteriormente las muestras fueron incubadas en butanol (2 lavados de 30 minutos), para retirar toda traza de etanol (no miscible con la parafina). A continuación, las muestras se incubaron en parafina líquida a 58°C, donde se realizaron 6 cambios de parafina de 30 minutos con el fin de eliminar totalmente los restos de butanol.

Una vez incluida la muestra, se depositó en un molde de plástico con forma de cubo donde se orientó y se dejó solidificar la parafina a temperatura ambiente. Una vez sólida la parafina se extrajo el bloque del molde y se seccionó la muestra en el microtomo. El grosor de cada sección se fijó en 10 µm. Los cortes fueron montados en portaobjetos en series paralelas usando una disolución de Etanol 17,5% en agua. Una vez secados los cortes a 37°C durante un día, se almacenaron a temperatura ambiente.

Los cortes de parafina fueron desparafinados en xilol durante una noche. Al día siguiente los cortes fueron rehidratados en una serie decreciente de alcoholes al 100%, 96%, 70% hasta agua. Cada paso fue de 10 minutos.

Según las instrucciones de la casa comercial del anticuerpo utilizado, se procedió a una técnica de re-exposición de los epítomos. La técnica consiste en la aplicación de calor por hervido en un tampón de citrato



sódico a 0,01M en agua. El hervido se llevó a cabo en un microondas a 750 watos de potencia en 4 tiempos de 4 minutos.

Después del tratamiento, los cortes fueron lavados en PBS Tritón (PBST) al 0,1% para eliminar los restos de citrato sódico. A continuación, se bloqueó la peroxidasa endógena del tejido con agua oxigenada durante 30 minutos a temperatura ambiente en un medio protegido de la luz. Y para bloquear las uniones inespecíficas del anticuerpo primario se utilizó lisina al 10% en PBST. El anticuerpo primario se incubó a la concentración indicada en suero fetal bovino (BSA) al 1% con azida al 0,1% en PBST. Se dejó actuar durante una noche a temperatura ambiente.

Al día siguiente se recuperó el anticuerpo primario y se lavaron los portaobjetos varias veces en PBST. Se usó el anticuerpo secundario biotinilado a 1:200 de concentración en PBST durante una hora a temperatura ambiente. Tras varios lavados en PBST se añadió el complejo ABC (Vector Laboratories) a la concentración de 1:300 en PBST. Este complejo contiene avidina y la peroxidasa del rábano biotinilada. La avidina tiene una gran afinidad por la biotina y forma un complejo donde se unen la peroxidasa biotinilada a la avidina dejando al menos un sitio de unión libre para la biotina del anticuerpo secundario. Al añadirlo a los cortes, la avidina se une al secundario biotinilado y ancla la peroxidasa al lugar de expresión de la proteína. Para el revelado se usó como sustrato de la peroxidasa 1 ml de Diaminobenzidina (DAB) con agua oxigenada al 0,6%. La reacción provoca un precipitado de color marrón (Figura 2)

Tras adicionar el elemento para el revelado, la reacción fue detenida con PBS y se deshidrataron los portaobjetos en una serie creciente de etanoles hasta llevarlos a 100% etanol, desde donde se pasaron a xilol, para luego

montarlos con Eukitt y dejarlos secar varios días en una estufa a 37°C. Posteriormente se reservan para su estudio.

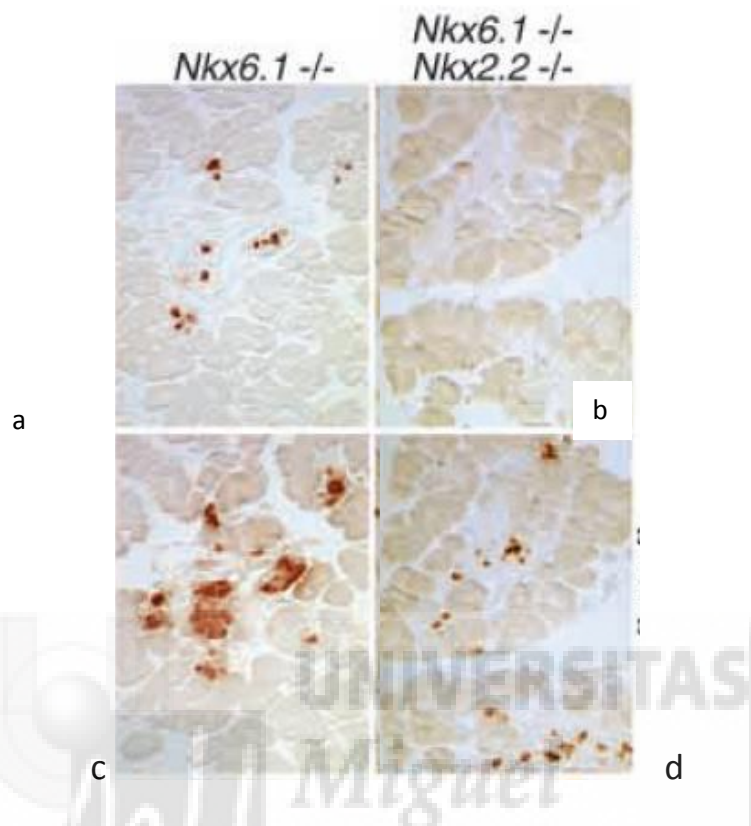


Figura 2. Imágenes que muestra cómo se ven al microscopio cortes histológicos en ratones. Páncreas teñidos con técnica de inmunohistoquímica basados en el Nkx6.1 y Nkx6.2. Imágenes a y b páncreas de ratones con diabetes. Imágenes c y d páncreas de ratones normales. Los gránulos marronáceos vienen a señalar la reproducción de células  $\beta$  en el tejido pancreático. Cortesía de Sander M et al. Homeobox gene Nkx6.1 lies downstream of Nkx2.2 in the major pathway of  $\beta$ -cell formation in the pancreas. *Development* 2000 Dec;127(24):5533-40.

## 7. EVALUACIÓN DE LAS MUESTRAS HISTOLÓGICAS

El análisis de resultados de los tejidos extraídos se realizó en dos fases diferentes:

\*\*\*En la primera fase se realizó un muestreo de diferentes órganos, con el fin de valorar la idoneidad de los tejidos tras su fijación en formol y debido al tiempo que se almacenaron antes de su análisis.

\*\*\*En la segunda fase se procedió al estudio en detalle de las muestras de páncreas que se sometieron a tres tipos de tinción, con la siguiente finalidad:

Hematoxilina Eosina – para localizar y describir a grandes rasgos los Islotes de Langerhans. Con esta tinción se observó el citoplasma rosado y el núcleo fucsia de las diferentes células que componen el islote.

Cresil Violeta – con esta tinción se quiso detallar las características de los Islotes de Langerhans con mayor definición ya que esta tinción tiene mayor afinidad por los núcleos celulares. Con el cresil violeta el citoplasma de la célula se tiñe de lila y el núcleo violeta.

Inmunohistoquímica con Ac. Nkx6.1 – la reacción de inmunohistoquímica es de todas las técnicas la más específica para teñir los núcleos de las células  $\beta$  del páncreas. Los acúmulos marronáceos que se ponen en evidencia a nivel de cada islote de Langerhans significa la presencia de las células productoras de insulina. No se tiñen el resto de poblaciones celulares.

Se realizó un análisis netamente descriptivo de los tejidos procesados. Los hallazgos observados en los diferentes cortes se aprecian en las fotografías obtenidas por cámara de alta resolución en el microscopio utilizado. Al lado de cada imagen se apunta el cambio observado a nivel del páncreas tanto en ratas con operación simulada (Sham) como en rata con Exclusión Duodenal.



## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis de resultados se planteó en dos fases diferentes:

\* En una primera se realizó un estudio descriptivo de las variables del estudio y su distribución en función de los grupos. Las variables cuantitativas gaussianas fueron definidas por media y desviación típica. Dada que la muestra del estudio es pequeña para cada grupo también se incluyó el rango de distribución entre valor mínimo y máximo.

\* En una segunda fase, se realizó un estudio con un análisis estadístico que tuvo como objetivo determinar qué factores de riesgo se asocian entre los dos grupos definidos del estudio (Sham versus exclusión) y entre los grupos temporales (precoz, intermedio y tardío) Además, dentro de un mismo grupo se compararon valores preoperatorios versus postoperatorios en las ratas sometidas a Exclusión Duodenal. Se identificó la magnitud de asociación y las diferencias que existen entre los grupos. Para la comparación de medias independientes intergrupos se emplearon los tests t de Student y la U de Mann Whitney, mientras que para analizar variables pareadas, intragrupos se utilizó el test de t de Student apareado y el ANOVA. En algunas variables se hace evidente la diferencia para cuantificar la magnitud de la asociación de realizar la exclusión duodenal de no realizarla, y se calculó el Riesgo Relativo con un intervalo de confianza del 95%. No se llevó a cabo ningún análisis multivariante con modelo de regresión logística.

Todas las variables se someterán a análisis según el programa estadístico SPSS-PC versión 21.0.

Al comparar dos variables se pretende un contraste de hipótesis donde se entiende por un valor significativo o valor  $\alpha$ , cuando la  $p$  es menor al 0.05, y permite rechazar la hipótesis nula.



## RESULTADOS DE LA FASE I

Se realizaron 18 intervenciones en ratas Wistar suministradas por el SEA de la UMH. De las 18 ratas intervenidas, 10 superaron satisfactoriamente el proceso y 08 murieron, en su mayoría sin superar las primeras 48 horas del postoperatorio. Al realizar las autopsias se determinaron como causas de muerte los siguientes eventos:

01 - hemorragia a nivel gástrico

01 - sobredosificación de anestesia y analgesia

03 - obstrucción intestinal

02 - dehiscencia de anastomosis

01 – exceso de tiempo operatorio

a) El problema de la hemorragia se pudo subsanar realizando maniobras de la sección gástrica en un sólo movimiento, utilizando el instrumental hemostático como referencia y procurando en todo momento una estricta hemostasia. Dado que las técnicas se consideran de microcirugía, no se pudieron realizar procedimientos de hemostasia con dispositivos de electrocauterio o materiales hemostáticos, y en todo momento se controló el sangrado con técnicas de presión.

b) En la sobredosificación anestésica se plantearon disyuntivas en cuanto al tiempo de anestesia, dosis de inducción y mantenimiento, dosis ajustadas al peso y protocolo de anestesia con analgesia conjunta versus secuencial. Con la ayuda de los veterinarios del SEA, se logró ajustar la dosis a la presentada en el diseño experimental.

c) El mayor número de decesos se registraron en relación a la obstrucción intestinal siendo a su vez causa de este fenómeno tres eventos:

- Para facilitar y agilizar la intervención, con el fin de evitar sangrados en el proceso, se propuso realizar primero la anastomosis gastroyeyunal y luego el tubo gástrico. Pero este orden no aseguraba el correcto emplazamiento de la anastomosis y provocó torsiones en el asa.
- El ancho de la boca anastomótica también representó un problema siendo resuelto con incisiones cada vez más anchas y no ajustadas al diámetro que en principio mostraba el yeyuno.
- En las primeras tubulizaciones gástricas las secciones horizontal y vertical separadas nos condujeron a una manga muy estrecha que acumuló el paso de los alimentos. Así pues, para el diseño del tubo se ha preferido una sección oblicua que permite una tubulización de la cámara gástrica más acorde con la anatomía de la rata.

Para valorar la efectividad del paso de los alimentos a través del tubo gástrico y la anastomosis y con el fin de evaluar los casos de obstrucción intestinal, se procedió a realizar pruebas de imagen en las ratas. Estas pruebas se realizaron con Resonancia Magnética en un equipo especial para animales que dispone el SEA. *(Las imágenes se describen al final de este apartado.)*

d) En relación a la dehiscencia de anastomosis se optó por realizar la misma con sutura continua de muy bajo calibre. No se ejecutó comprobación alguna del paso del contenido, que ante la fragilidad de los tejidos de las ratas, esta maniobra podría desgarrar inadvertidamente la pared intestinal o aflojar la sutura.



e) El exceder el tiempo operatorio suponía un estrés adicional del animal que junto con la manipulación del tracto intestinal implicaba un proceso de deshidratación importante, al que le debemos sumar el período de ayuno prequirúrgico. Por tal motivo, aparte de controlar mejor los tiempos, se incluyó un procedimiento de rehidratación intraoperatoria, infundiendo suero salino intraperitonealmente, momentos antes del cierre abdominal.

La experimentación en las ratas Wistar conllevó al siguiente protocolo de ejecución quirúrgica:

» *Laparotomía media subxifoidea y preparación del área quirúrgica*

Una vez anestesiadas las ratas y colocadas en decúbito supino en la mesa quirúrgica, se fijan sus extremidades en extensión para exponer el área abdominal. Tras rasurar el abdomen y realizar antisepsia con solución yodada se procedió a colocar la primera dosis de anestésico local en la región abdominal donde se iba a realizar la incisión. La laparotomía media se llevó a cabo en sentido cráneo-caudal desde el apéndice xifoides y realizando la apertura de los finos planos de la pared abdominal, hasta exponer las estructuras internas (aproximadamente 3 cm). Se identificaron el hígado, los epiplones, el bazo y el estómago. Se disecaron adherencias del epiplón o del bazo a las paredes gástricas. Estas maniobras revelaron que la manipulación de los tejidos debía ser muy delicada a fin de evitar tracciones y desgarros. Se localizó el estómago por debajo del hígado del cual hay que liberarlo en la fijación persistente que se produce entre la cara anterior gástrica y el lóbulo izquierdo hepático que cubre en casi su totalidad al estómago, situación bastante diferente a la anatomía del humano.

» *Cierre del paso al duodeno*

Al traccionar suavemente de la parte mecánica del estómago, se identificaron los vasos cortos, la parte química del estómago y la región antro-pilórica. Adyacente a esta última estructura se pudo localizar el duodeno y tras una mínima sección del mesenterio intestinal se procedió a realizar una ligadura doble del duodeno en la región postpilórica con ligadura de seda de 2.0, que impidió el paso de los alimentos a través de esta región anatómica.

» *Creación del tubo gástrico*

En la curvatura mayor del estómago se seleccionó el sitio teórico en la curvatura que representaba el inicio del tubo gástrico. Este sitio se determinó que fuera en el límite de la parte mecánica de la química. Se colocó una pinza hemostática que marca el trayecto de la posterior sección del estómago y la misma no se retiró hasta empezada la sutura del cierre. La sección horizontal en el punto elegido de la curvatura mayor debía realizarse en una extensión no superior a un tercio de la anchura gástrica, para evitar procesos de obstrucción. Así mismo, la sección se realizó con un solo movimiento oblicuo que limita la manipulación de los tejidos y el sangrado en dicha área. Posteriormente se movilizó el tubo gástrico resultante, comprobando su descenso. Inmediatamente se procedió con el cierre de la pared gástrica con seda 4.0 con sutura continua, a la par que se libera la pinza hemostática.

» *Anastomosis Gastroyeyunal*

Midiendo aproximadamente 6 cm desde el ángulo de Treitz, se eligió el lugar para realizar la anastomosis al nuevo tubo gástrico. Se ejecutó la anastomosis latero-lateral en la porción más caudal del nuevo tubo gástrico mediante sutura continua de 6.0 monofilamento irreabsorbible, para evitar la digestión de la sutura y que el cierre del paso duodenal, perdurara durante el tiempo del estudio. El ancho de la anastomosis fue de aproximadamente 5mm. Tras la anastomosis se fijó el primer asa yeyunal a la cara anterior del cuerpo gástrico y se dejó caer el asa en paralelo a fin de evitar posibles torsiones y movilizaciones del asa. Esta última maniobra además se consideró como parte de la técnica antirreflujo del contenido biliar hacia el estómago.

» *Cierre de la pared abdominal*

Tras haber infundido suero en la cavidad peritoneal para reponer líquidos, se recolocaron las asas en su disposición original así como el resto de las estructuras. Antes de iniciar el cierre se colocó nuevamente una dosis de anestésico local en planos profundos y superficiales de la incisión. El cierre fue realizado en dos planos, el primero muscular con sutura continua de material reabsorbible de 2.0 y el segundo plano de tegumentos con sutura continua intradérmica de monofilamento de 4.0. Se desinfecta la herida con solución alcohólica y se deja sin cubrir. A las ratas Wistar que sobrevivieron al procedimiento no se les realizó extracción sanguínea alguna y fueron sacrificadas según el protocolo del SEA una vez cumplido el ciclo de vida útil experimental.

## ESTUDIO DEL PASO DE LOS ALIMENTOS A TRAVÉS DEL TUBO-GÁSTRICO Y LA ANASTOMOSIS Y DESCRIPCIÓN DE CASO DE SUBOCCLUSIÓN INTESTINAL

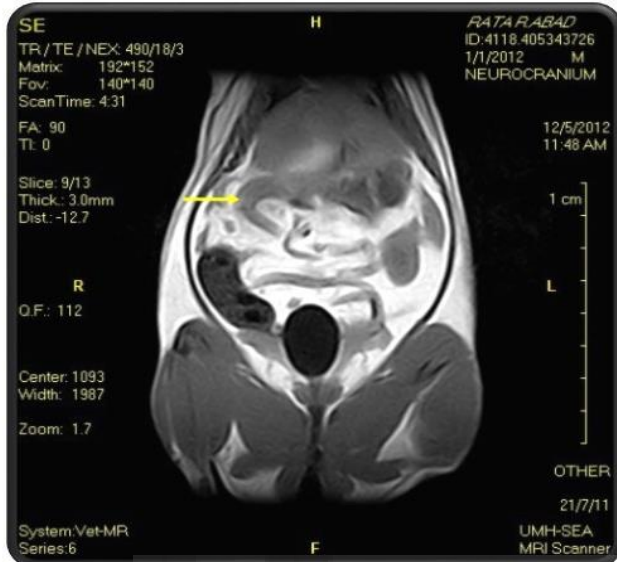


Imagen 1. Anatomía normal de la rata. La flecha señala el paso de contenido a través del duodeno.



Imagen 2. Corte Sagital en rata GK a la que se le ha realizado la técnica de ED. La flecha señala el paso de contenido a través del estómago tubulizado.

Imagen 3.: A.-Corte Dorsal y B.- Corte Transversal en rata GK a la que se le ha realizado la técnica de ED. La flecha señala el estómago dilatado por el paso limitado a través de la anastomosis gastro-jejunal. Imagen de sub-oclusión, detectado en la Fase 1 del estudio.

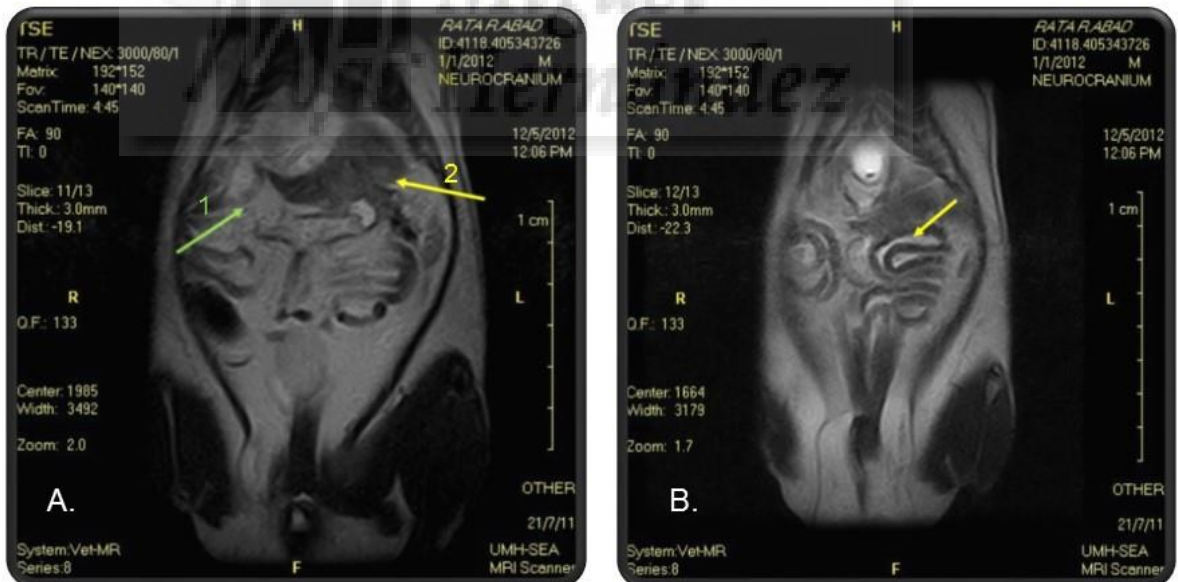
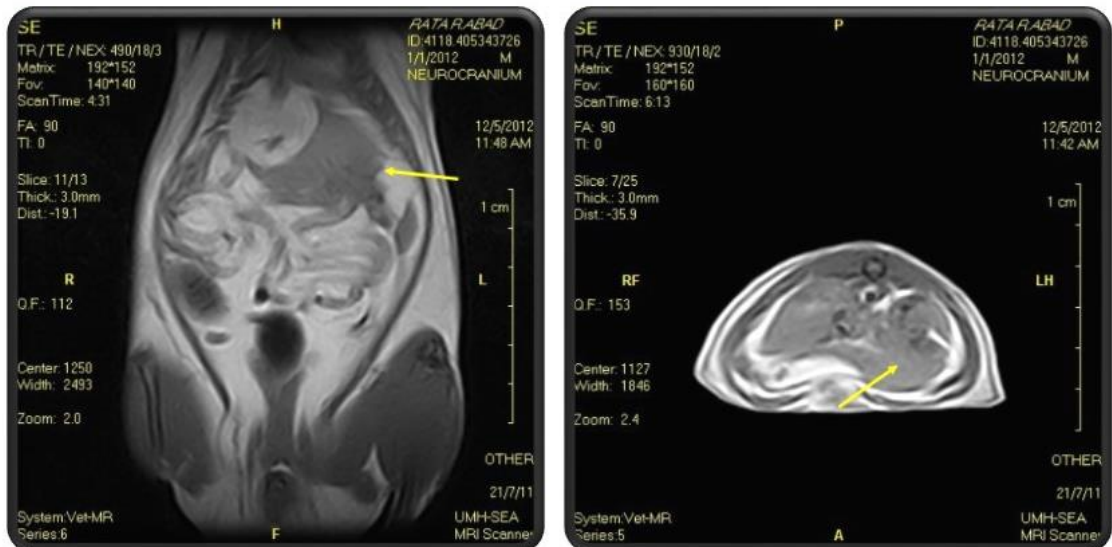


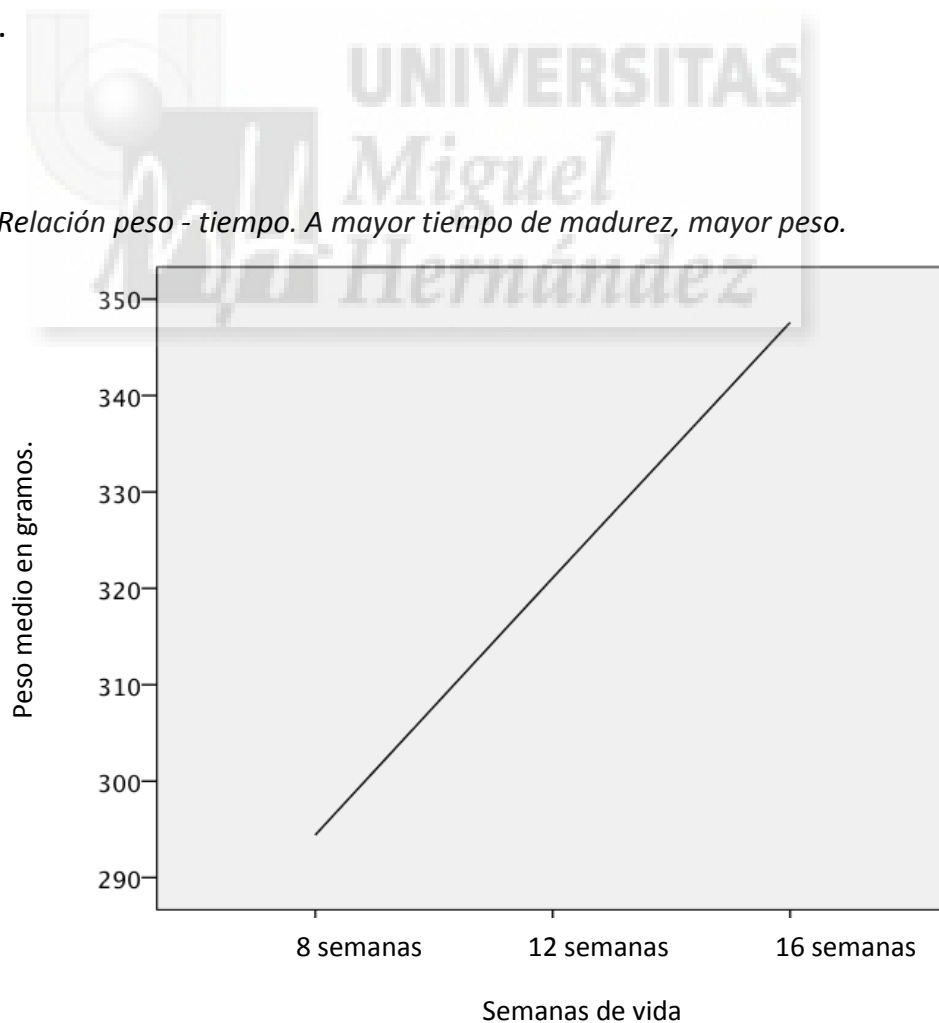
Imagen 4.: rata GK a la que se le ha realizado la intervención de ED.  
 A.-Corte Dorsal en T1 se evidencia paso excluido por el duodeno (flecha 1) y paso a través de la anostomosis gastroyeyunal (flecha 2)  
 B.- Corte Dorsal en T2 se observa paso normal al intestino y la disposición en omega sin alteraciones. La flecha señala el nivel de la anastomosis.



# 1. VARIABLE ANTROPOMÉTRICA

## EL PESO

Entre los objetivos del estudio se propuso valorar los efectos de la cirugía sobre la masa corporal de los animales. La cirugía se planteó en diferentes momentos de la evolución de la enfermedad y por lo tanto en diferentes momentos del desarrollo y crecimiento de los animales. Vigilar estrechamente el peso permitió establecer que los cambios metabólicos no han alterado el desarrollo de las ratas. En el Gráfico 1 se refleja la relación lineal esperada entre la madurez de cada animal y el peso esperado.



## ANÁLISIS DESCRIPTIVO DEL PESO

Las siguientes tablas reflejan el peso basal a las 8 semanas de vida y luego el peso preoperatorio y postoperatorio, según grupo de intervención: precoz, intermedio y tardío. Todas las tablas expresan valores en gramos.

### GRUPO PRECOZ

Tabla 1. Descriptivo del peso en animales intervenidos a las 12 semanas del grupo Sham.

PESO	N	Media	SD	Mediana	Rango [min-Max]
BASAL	6	182,67	26,66	176,00	154 - 213
PREOPERATORIO	6	292,67	19,39	293,00	265 - 314
POSTOPERATORIO	6	356,83	21,18	365,50	325 - 381

SD: Desviación Estándar; Rango [min-Max]: valor máximo y mínimo del grupo.

Tabla 2. Descriptivo del peso en animales intervenidos a las 12 semanas del grupo de Exclusión duodenal.

PESO	N	Media	SD	Mediana	Rango [min-Max]
BASAL	6	225,83	16,65	226,50	207 - 254
PREOPERATORIO	6	296,17	14,07	295,50	278 - 315
POSTOPERATORIO	6	366,17	15,23	369,50	346 - 384

SD: Desviación Estándar; Rango [min-Max]: valor máximo y mínimo del grupo.

### GRUPO INTERMEDIO

Tabla 3. Descriptivo del peso en animales intervenidos a las 16 semanas del grupo Sham.

PESO	N	Media	SD	Mediana	Rango [min-Max]
BASAL	6	205,67	10,88	207,00	195 - 214
PREOPERATORIO	6	312,67	23,80	307,00	290 - 353
POSTOPERATORIO	6	366,00	30,43	367,00	333 - 416

SD: Desviación Estándar; Rango [min-Max]: valor máximo y mínimo del grupo.



Tabla 4. Descriptivo del peso en animales intervenidos a las 16 semanas del grupo de Exclusión duodenal.

<b>PESO</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>SD</b>	<b>Mediana</b>	<b>Rango [min-Max]</b>
<b>BASAL</b>	6	193,33	12,23	197,00	175 – 206
<b>PREOPERATORIO</b>	6	389,88	14,15	327,00	321 – 383
<b>POSTOPERATORIO</b>	6	388,67	23,98	388,50	360 - 416

SD: Desviación Estándar; Rango [min-Max]: valor máximo y mínimo del grupo.

## GRUPO TARDÍO

Tabla 5. Descriptivo del peso en animales intervenidos a las 20 semanas del grupo Sham.

<b>PESO</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>SD</b>	<b>Mediana</b>	<b>Rango [min-Max]</b>
<b>BASAL</b>	6	224,50	13,75	225,00	208 – 241
<b>PREOPERATORIO</b>	6	365,33	24,45	357,00	332 – 401
<b>POSTOPERATORIO</b>	6	402,67	25,10	397,00	379 - 446

SD: Desviación Estándar; Rango [min-Max]: valor máximo y mínimo del grupo.

Tabla 6. Descriptivo del peso en animales intervenidos a las 20 semanas del grupo de Exclusión duodenal.

<b>PESO</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>SD</b>	<b>Mediana</b>	<b>Rango [min-Max]</b>
<b>BASAL</b>	6	193,17	12,38	193,50	175 – 206
<b>PREOPERATORIO</b>	6	323,00	41,61	324,50	275 – 378
<b>POSTOPERATORIO</b>	6	374,33	22,47	374,00	341 - 401

SD: Desviación Estándar; Rango [min-Max]: valor máximo y mínimo del grupo.

A continuación se realizó la representación gráfica de los tres grupos temporales incluyendo las medias de peso. En todos los grupos se evidencia un segmento quebrado en la línea del peso. Esta variación señala el momento puntual de pérdida de peso correspondiente al perioperatorio y atribuible a los cambios en la dieta. Una vez superado este período y reestablecidas las condiciones de alimentación habitual, las ratas de ambos grupos recuperan su ritmo de crecimiento.

Gráfico 2. Curva del peso en animales Sham versus Exclusión Duodenal grupo de cirugía precoz.

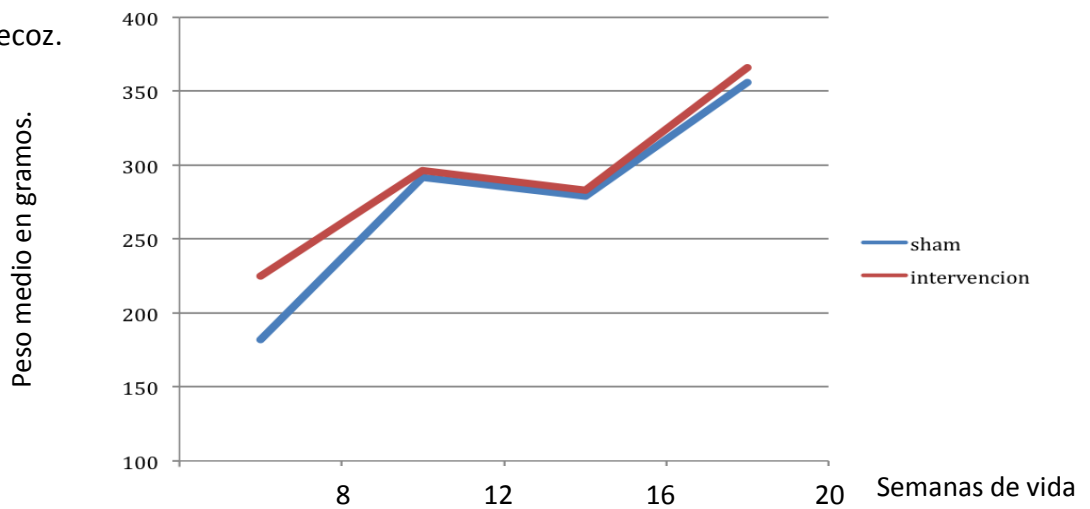


Gráfico 3. Curva del peso en animales Sham versus Exclusión Duodenal grupo de cirugía intermedia.

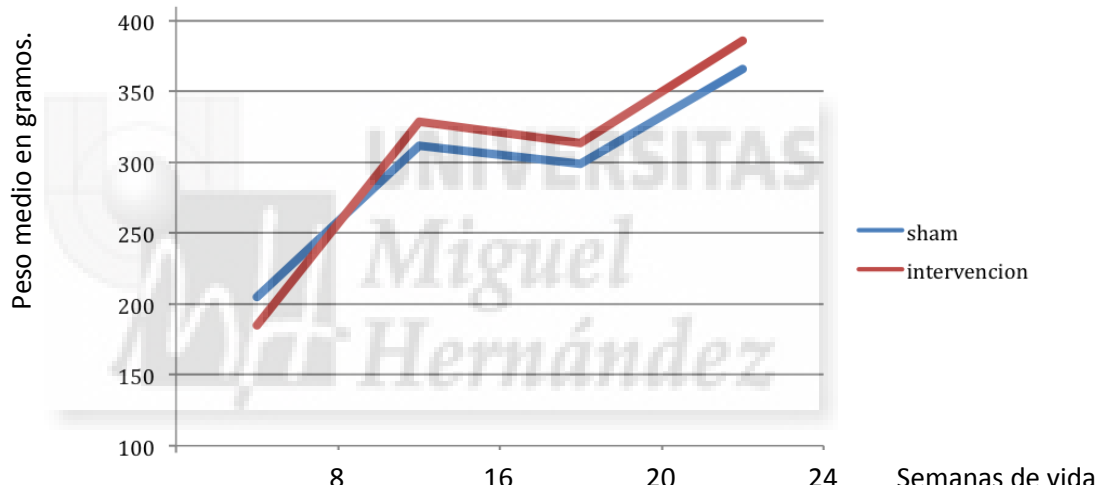
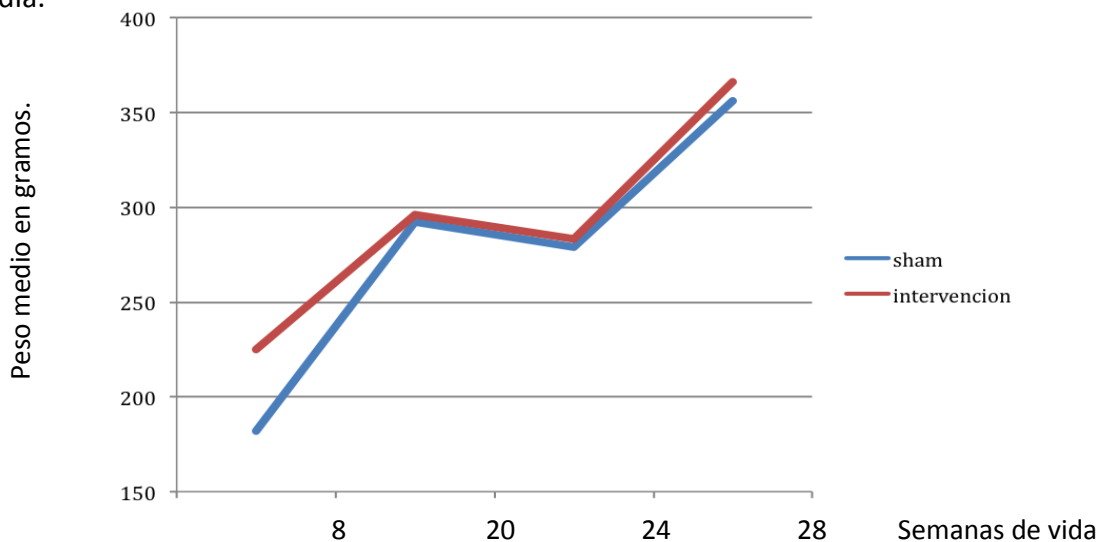


Gráfico 4. Curva del peso en animales Sham versus Exclusión Duodenal grupo de cirugía tardía.



## ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL PESO

Se comparó el peso en el postoperatorio de ambos grupos (Sham versus Exclusión Duodenal) para evidenciar si una cirugía ha producido pérdida de peso que fuera significativa.

Tabla 7. Peso postoperatorio. Contraste entre grupo Sham Versus Exclusión duodenal.

PESO	SHAM			EXCLUSIÓN DUODENAL			p
	N	Media	SD	N	Media	SD	
<b>BASAL</b>	6	356,83	21,18	6	366,17	15,23	0,40
<b>PREOPERATORIO</b>	6	366,00	30,43	6	388,67	29,98	0,18
<b>POSTOPERATORIO</b>	6	402,67	25,10	6	374,33	22,47	0,06

SD: Desviación Estándar; p: <0,005

Al comparar ratas con cirugía falsa o control (Sham) con las ratas intervenidas con procedimiento metabólico (Exclusión Duodenal) se observa que no existen diferencias estadísticas. Por lo tanto, variaciones en la variable peso no pueden atribuirse a la cirugía.

## 2. VARIABLES BIOQUÍMICAS

### 2.1 LA GLUCEMIA

El principal efecto esperado de la cirugía de Exclusión Duodenal fue lograr cambios en los niveles de glucemia. Por esta razón la glucemia fue medida en ayunas (Glucemia Basal en Ayunas – GBA) y después de Sobrecarga Oral de Glucosa (SOG). En el caso de las ratas GK, la SOG es el elemento que mejor demuestra los cambios a nivel del control glucídico, sobre todo a los 60 minutos después de la ingesta. De ahí que el valor a los 60 minutos es referencia.

## ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LA GLUCEMIA – VALORES PRE-OPERATORIOS

Las siguientes tablas y gráficos reflejan la glucemia en el preoperatorio de las 36 ratas según el grupo de intervención: precoz, intermedio y tardío. Todas las tablas expresan valores en mg/dl.

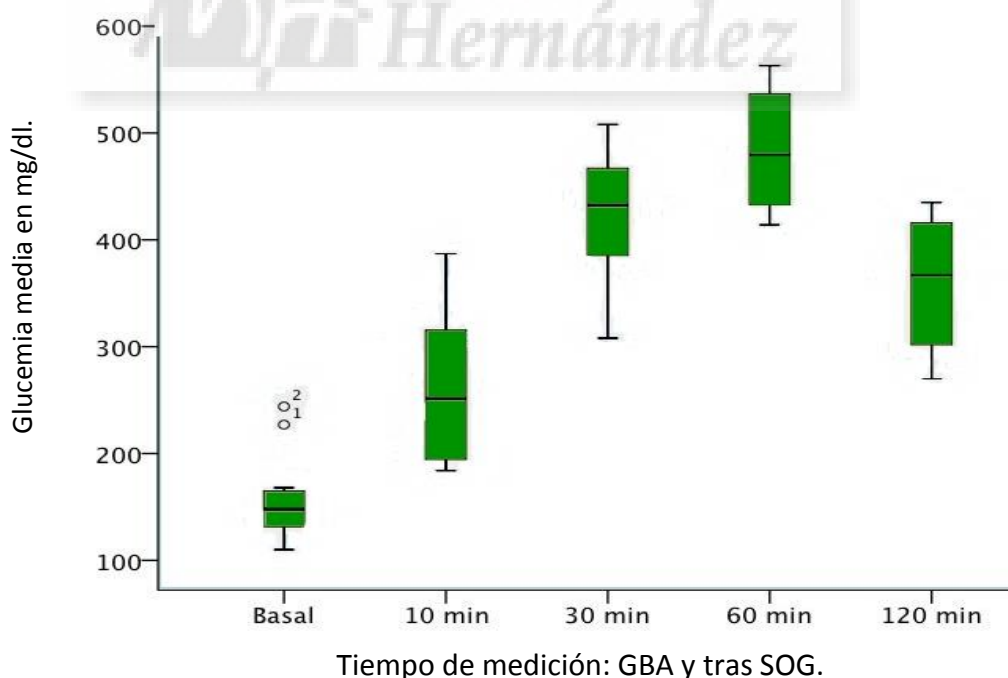
### GRUPO PRECOZ

Tabla 8. Descriptivo de glucemia preoperatoria en animales intervenidos a las 12 semanas. Valores para Sham y Exclusión Duodenal.

GLUCEMIAS		N	Media	SD	Rango [min-Max]
GBA		12	118,75	6,99	105 – 132
SOG	10 minutos	12	262,42	66,64	184 – 387
	30 minutos	12	425,92	57,06	308 – 508
	60 minutos	12	483,75	55,67	414 – 563
	120 minutos	12	362,08	60,28	270 – 435

GBA: Glucosa Basal en Ayunas; SOG: Sobrecarga Oral de Glucosa; SD: Desviación Estándar; Rango [min-Max]: valor máximo y mínimo del grupo.

Gráfico 5. Glucemias medias del grupo cirugía precoz en el preoperatorio a las 12 semanas de vida.



En este grupo se observó una distribución homogénea entre las 12 ratas y se demostraron niveles elevados de glucemia preoperatoria, con un valor medio a los 60 minutos tras SOG de 483 mg/dl.

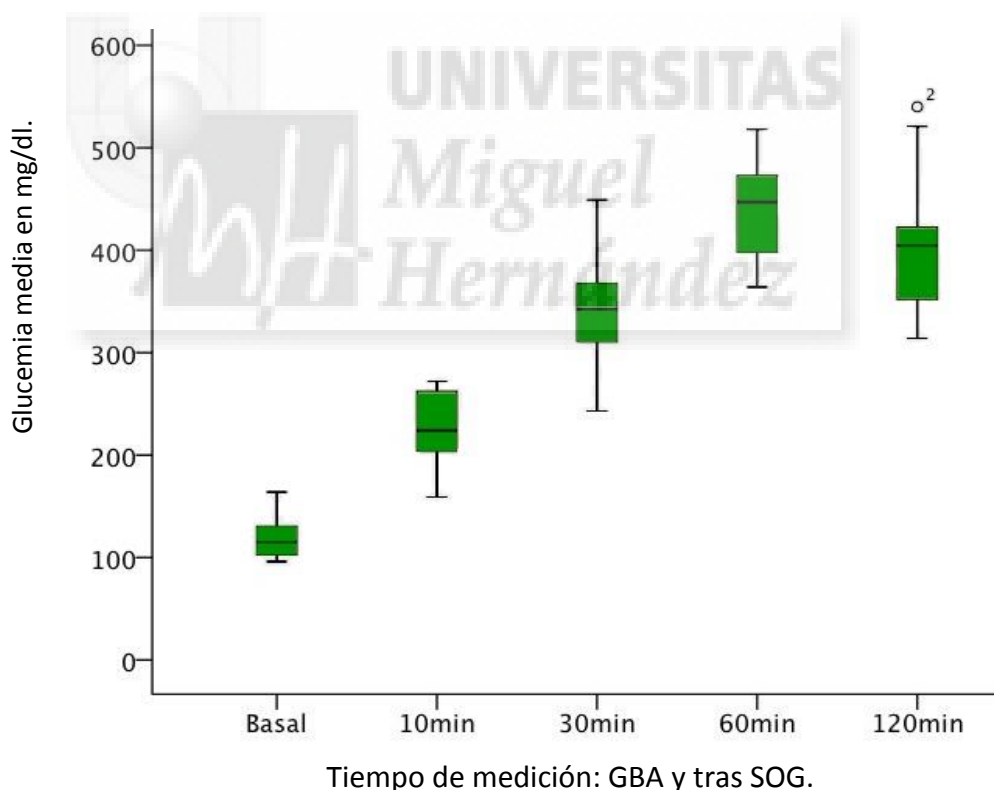
## GRUPO INTERMEDIO

Tabla 9. Descriptivo de glucemia preoperatoria en animales intervenidos a las 16 semanas. Valores para Sham y Exclusión Duodenal.

GLUCEMIAS		N	Media	SD	Rango [min-Max]
GBA		12	157,69	165,83	96 – 128
SOG	10 minutos	12	264,69	136,68	159 – 272
	30 minutos	12	377,69	109,45	243 – 449
	60 minutos	12	460,86	82,51	364 – 505
	120 minutos	12	427,02	107,16	314 - 540

GBA: Glucosa Basal en Ayunas; SOG: Sobrecarga Oral de Glucosa; SD: Desviación Estándar; Rango [min-Max]: valor máximo y mínimo del grupo.

Gráfico 6. Glucemias medias del grupo cirugía intermedia en el preoperatorio a las 16 semanas de vida.



En el grupo de cirugía intermedia se evidenció una distribución homogénea entre las 12 ratas y se observaron niveles elevados de glucemia preoperatoria, con un valor medio a los 60 minutos tras SOG de 460,86 mg/dl.

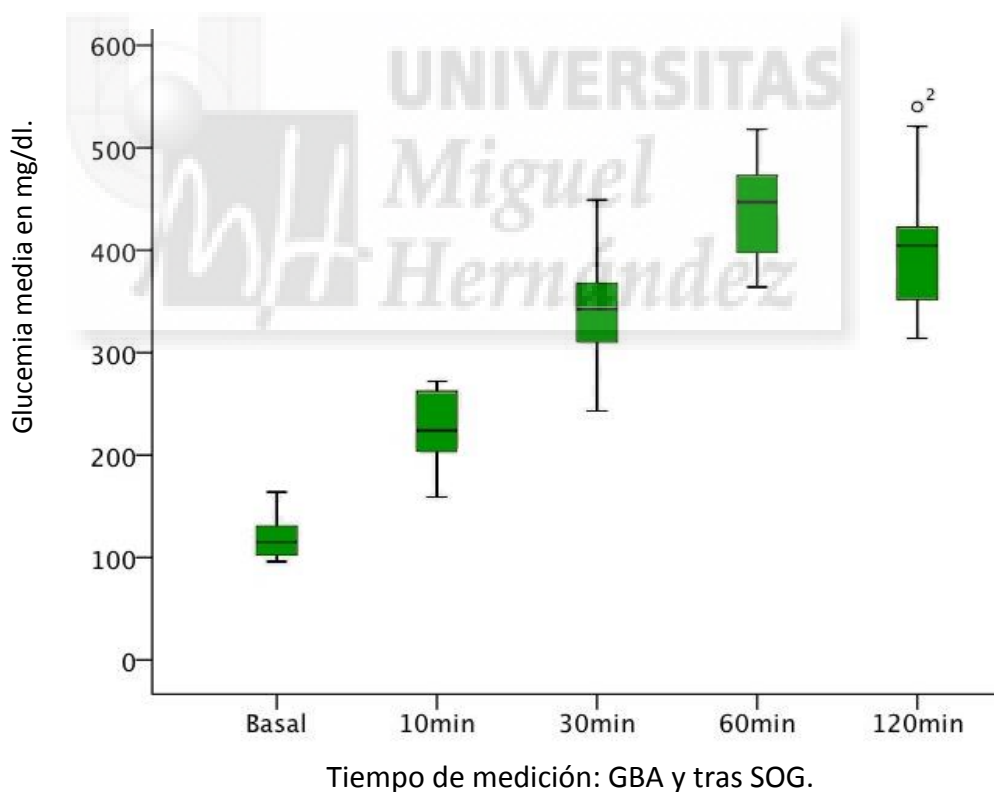
## GRUPO TARDÍO.

Tabla 10. Descriptivo de glucemia preoperatoria en animales intervenidos a las 20 semanas. Valores para Sham y Exclusión Duodenal.

GLUCEMIAS		N	Media	SD	Rango [min-Max]
GBA		12	113,58	7,60	97 – 125
SOG	10 minutos	12	255,75	51,03	181 – 362
	30 minutos	12	408,25	55,71	319 – 490
	60 minutos	12	483,17	55,88	400 – 569
	120 minutos	12	422,58	45,06	330 - 492

GBA: Glucosa Basal en Ayunas; SOG: Sobrecarga Oral de Glucosa; SD: Desviación Estándar; Rango [min-Max]: valor máximo y mínimo del grupo.

Gráfico 7. Glucemias medias del grupo cirugía tardía en el preoperatorio a las 20 semanas de vida.



En el grupo de cirugía tardía la distribución de los casos fue homogénea y se observaron niveles elevados de glucemia preoperatoria, con un valor medio a los 60 minutos tras SOG de 483,17 mg/dl.

## ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LA GLUCEMIA – VALORES POST-OPERATORIOS

Las siguientes tablas reflejan la glucemia en el postoperatorio de las 36 ratas según el grupo de intervención: precoz, intermedio y tardío. Además, se clasifican también según si fueron sometidas a cirugía falsa (Sham – control) versus cirugía de Exclusión Duodenal como procedimiento metabólico. Todas las tablas expresan valores en mg/dl.

### GRUPO PRECOZ

Tabla 11. Descriptivo de glucemia postoperatoria en ratas Sham. Valores de muestras recogidas a las 20 semanas de vida, 8 semanas después de la cirugía.

GLUCEMIAS		N	Media	SD	Rango [min-Max]
GBA		6	114,66	6,56	102 - 120
SOG	10 minutos	6	194,50	39,93	166 - 263
	30 minutos	6	332,50	48,12	269 - 395
	60 minutos	6	474,83	58,29	405 - 545
	120 minutos	6	413,50	50,28	346 - 470

GBA: Glucosa Basal en Ayunas; SOG: Sobrecarga Oral de Glucosa; SD: Desviación Estándar; Rango [min-Max]: valor máximo y mínimo del grupo.

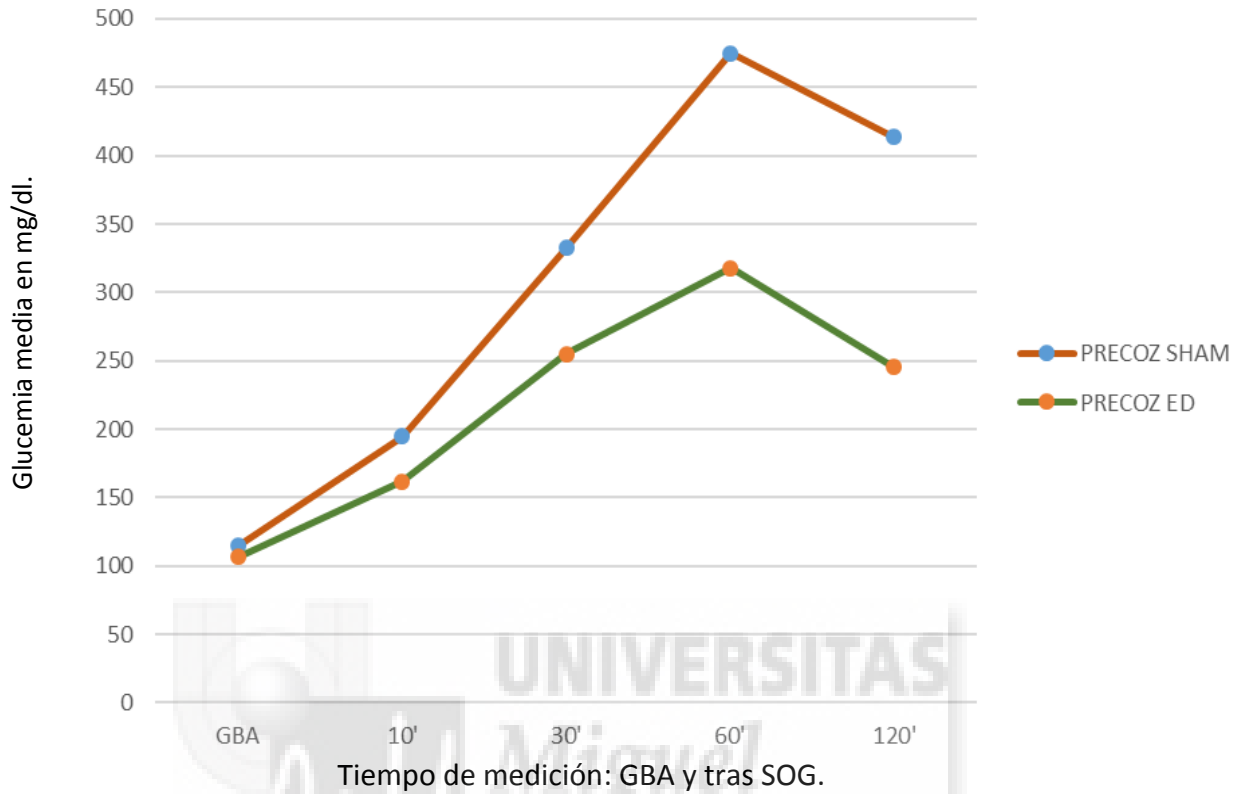
Tabla 12. Descriptivo de glucemia postoperatoria en ratas con ED. Valores de muestras recogidas a las 20 semanas de vida, 8 semanas después de la cirugía.

GLUCEMIAS		N	Media	SD	Rango [min-Max]
GBA		6	106,50	6,71	98 – 116
SOG	10 minutos	6	161,83	19,79	139 – 182
	30 minutos	6	255,00	33,57	214 – 289
	60 minutos	6	317,66	34,94	283 – 375
	120 minutos	6	245,16	30,84	201 - 280

GBA: Glucosa Basal en Ayunas; SOG: Sobrecarga Oral de Glucosa; SD: Desviación Estándar; Rango [min-Max]: valor máximo y mínimo del grupo.

Después de cirugía las ratas SHAM presentaron glucemia media a los 60 minutos de SOG de 474,83 mg/dl y las ratas con EXCLUSIÓN DUODENAL mostraron una glucemia media a los 60 minutos de 317,66 mg/dl.

Gráfico 8. Glucemias medias del **GRUPO CIRUGÍA PRECOZ** en el postoperatorio. Sham versus Exclusión Duodenal.



### GRUPO INTERMEDIO

Tabla 13. Descriptivo de glucemia postoperatoria en ratas Sham. Valores de muestras recogidas a las 24 semanas de vida, 8 semanas después de la cirugía.

GLUCEMIAS		N	Media	SD	Rango [min-Max]
<b>GBA</b>		6	117,16	7,73	107 – 126
<b>SOG</b>	<b>10 minutos</b>	6	246,16	64,22	145 – 347
	<b>30 minutos</b>	6	361,16	36,18	319 – 414
	<b>60 minutos</b>	6	560,16	94,90	432 – 666
	<b>120 minutos</b>	6	499,00	79,80	403 – 592

GBA: Glucosa Basal en Ayunas; SOG: Sobrecarga Oral de Glucosa; SD: Desviación Estándar; Rango [min-Max]: valor máximo y mínimo del grupo.



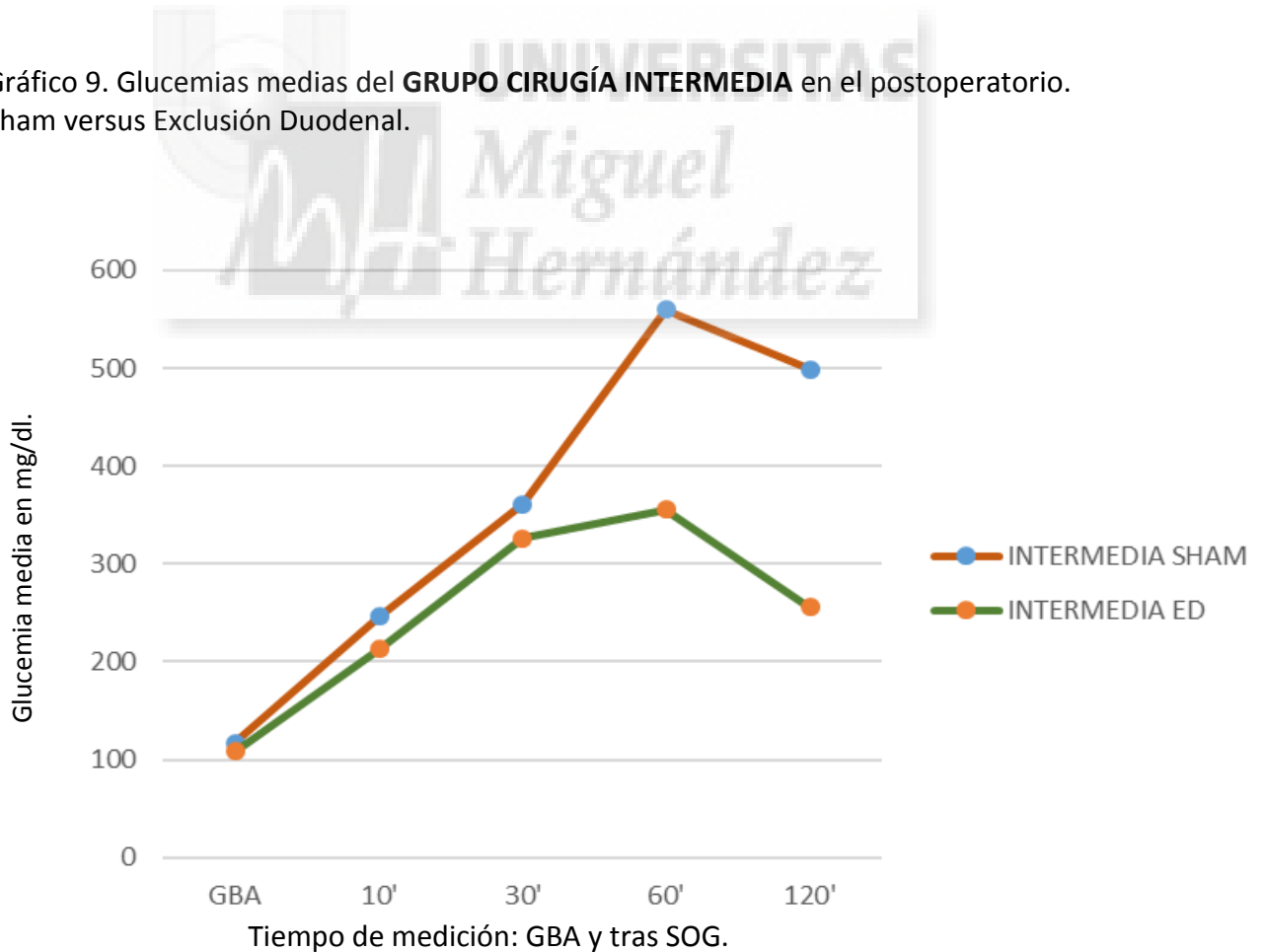
Tabla 14. Descriptivo de glucemia postoperatoria en ratas con ED. Valores de muestras recogidas a las 24 semanas de vida, 8 semanas después de la cirugía.

GLUCEMIAS		N	Media	SD	Rango [min-Max]
GBA		6	103,33	6,18	101 – 115
SOG	10 minutos	6	212,83	58,46	140 – 316
	30 minutos	6	326,50	72,19	223 – 412
	60 minutos	6	355,33	54,00	290 – 408
	120 minutos	6	255,33	63,60	178 - 364

GBA: Glucosa Basal en Ayunas; SOG: Sobrecarga Oral de Glucosa; SD: Desviación Estándar; Rango [min-Max]: valor máximo y mínimo del grupo.

Después de cirugía las ratas SHAM presentaron glucemia media a los 60 minutos de SOG de 560,16 mg/dl y las ratas con EXCLUSIÓN DUODENAL mostraron una glucemia media a los 60 minutos de 355,33 mg/dl.

Gráfico 9. Glucemias medias del **GRUPO CIRUGÍA INTERMEDIA** en el postoperatorio. Sham versus Exclusión Duodenal.



## GRUPO TARDÍO

Tabla 15. Descriptivo de glucemia postoperatoria en ratas Sham. Valores de muestras recogidas a las 28 semanas de vida, 8 semanas después de la cirugía.

GLUCEMIAS		N	Media	SD	Rango [min-Max]
GBA		6	123,66	10,74	114 – 144
SOG	10 minutos	6	328,33	42,38	290 – 411
	30 minutos	6	403,83	49,49	346 – 487
	60 minutos	6	534,16	104,47	432 – 666
	120 minutos	6	435,50	59,30	369 - 521

GBA: Glucosa Basal en Ayunas; SOG: Sobrecarga Oral de Glucosa; SD: Desviación Estándar; Rango [min-Max]: valor máximo y mínimo del grupo.

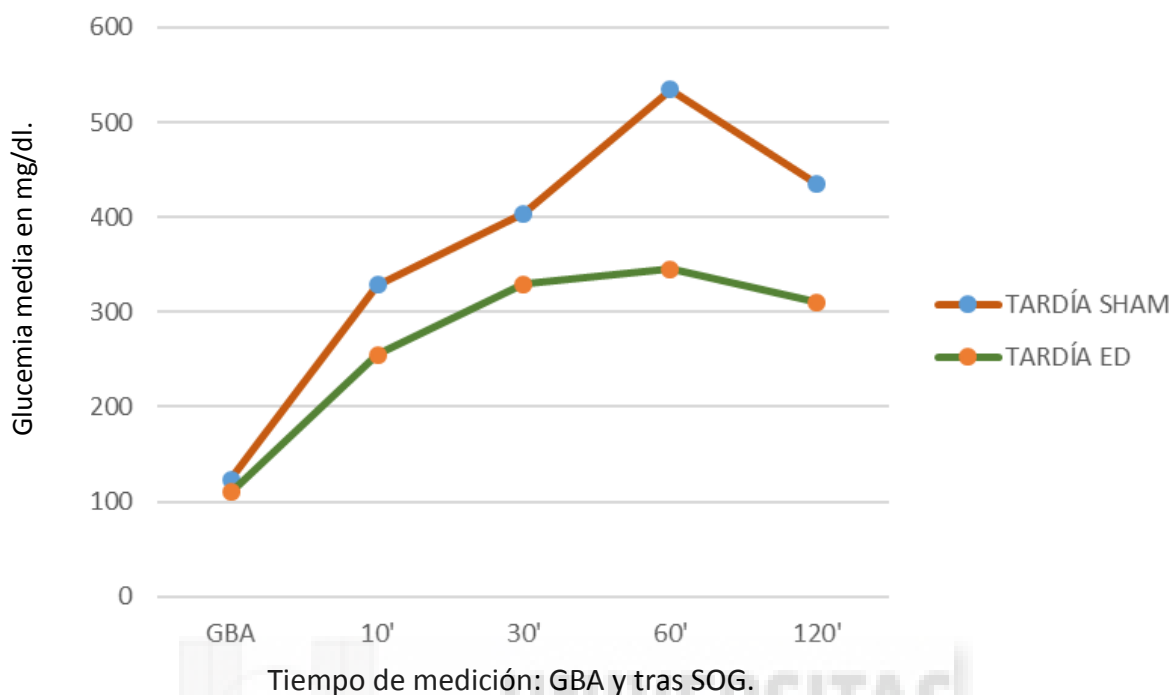
Tabla 16. Descriptivo de glucemia postoperatoria en ratas con ED. Valores de muestras recogidas a las 28 semanas de vida, 8 semanas después de la cirugía.

GLUCEMIAS		N	Media	SD	Rango [min-Max]
GBA		6	110,16	2,85	106 – 114
SOG	10 minutos	6	255,00	31,91	219 – 294
	30 minutos	6	329,33	28,71	307 – 384
	60 minutos	6	345,33	32,54	303 – 381
	120 minutos	6	310,33	40,47	263 - 362

GBA: Glucosa Basal en Ayunas; SOG: Sobrecarga Oral de Glucosa; SD: Desviación Estándar; Rango [min-Max]: valor máximo y mínimo del grupo.

Después de cirugía las ratas SHAM presentaron glucemia media a los 60 minutos de SOG de 534,16 mg/dl y las ratas con EXCLUSIÓN DUODENAL mostraron una glucemia media a los 60 minutos de 345,33 mg/dl.

Gráfico 10. Glucemias medias del **GRUPO CIRUGÍA TARDÍA** en el postoperatorio. Sham versus Exclusión Duodenal.



### ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA GLUCEMIA – INTERGRUPOS: SHAM VERSUS EXCLUSIÓN DUODENAL.

Se compararon los valores de glucemia en el postoperatorio de ambos grupos (Sham versus Exclusión Duodenal) para evidenciar si los cambios postcirugía tenían significancia estadística. Valores glucemia en mg/dl.

Tabla 17. Glucemia postoperatoria en **GRUPO CIRUGÍA PRECOZ**. Contraste de variables intergrupos: Sham Versus Exclusión duodenal.

GLUCEMIAS		SHAM			EXCLUSIÓN DUODENAL			p
		N	Media	SD	N	Media	SD	
GBA		6	114,66	6,56	6	106,50	6,71	0,937
SOG	10 minutos	6	194,50	39,93	6	161,83	19,79	0,394
	30 minutos	6	332,50	48,12	6	255,00	33,57	0,015
	60 minutos	6	474,83	58,29	6	317,66	34,94	0,002
	120 minutos	6	413,50	50,28	6	245,16	30,84	0,002

GBA: Glucosa Basal en Ayunas; SOG: Sobrecarga Oral de Glucosa; SD: Desviación Estándar; p:<0,005

En la tabla anterior se refleja una diferencia significativa entre las ratas Sham y con ED intervenidas de forma precoz. Las ratas con exclusión muestran valores de recuperación de la hiperglucemia, que son más evidentes a los 30, 60 y 120 minutos posteriores a la SOG.

Tabla 18. Glucemia postoperatoria en **GRUPO CIRUGÍA INTERMEDIA**. Contraste de variables intergrupos: Sham Versus Exclusión duodenal.

GLUCEMIAS		SHAM			EXCLUSIÓN DUODENAL			p
		N	Media	SD	N	Media	SD	
GBA		6	117,16	7,73	6	103,33	6,18	0,240
SOG	10 minutos	6	246,16	64,22	6	212,83	58,46	0,699
	30 minutos	6	361,16	36,18	6	326,50	72,19	0,699
	60 minutos	6	560,16	94,90	6	355,33	54,00	0,002
	120 minutos	6	499,00	79,80	6	255,33	63,60	0,002

GBA: Glucosa Basal en Ayunas; SOG: Sobrecarga Oral de Glucosa; SD: Desviación Estándar; p:<0,005

El contraste de variables entre ratas Sham y ratas con ED intervenidas a tiempo intermedio muestra valores de recuperación de la hiperglucemia a favor de las ratas con ED, que son más evidentes a los 60 y a los 120 minutos posteriores a la SOG.

Tabla 19. Glucemia postoperatoria en **GRUPO CIRUGÍA TARDÍA**. Contraste de variables intergrupos: Sham Versus Exclusión duodenal.

GLUCEMIAS		SHAM			EXCLUSIÓN DUODENAL			p
		N	Media	SD	N	Media	SD	
GBA		6	123,66	10,74	6	110,16	2,85	0,699
SOG	10 minutos	6	328,33	42,38	6	255,00	31,91	0,009
	30 minutos	6	403,83	49,49	6	329,33	28,71	0,015
	60 minutos	6	534,16	104,47	6	345,33	32,54	0,002
	120 minutos	6	435,50	59,30	6	310,33	40,47	0,015

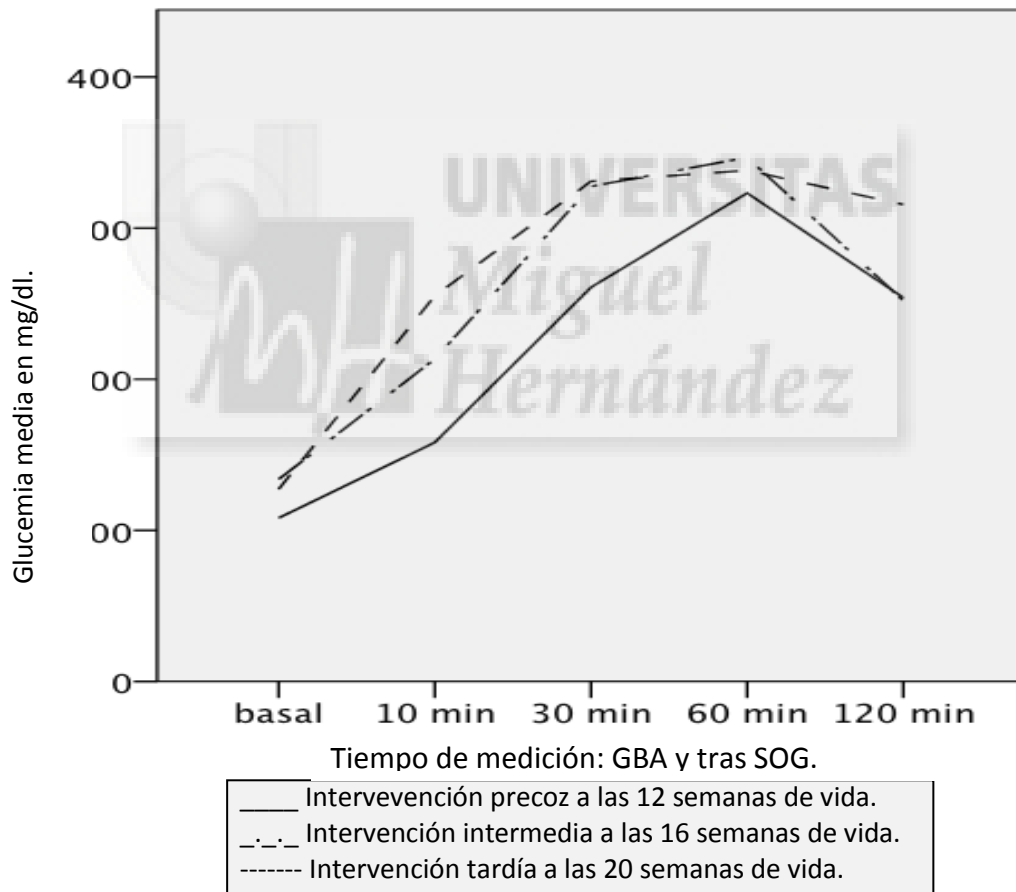
GBA: Glucosa Basal en Ayunas; SOG: Sobrecarga Oral de Glucosa; SD: Desviación Estándar; p:<0,005

En las ratas intervenidas de forma tardía, se evidencia una recuperación de los valores de glucemia a favor de las ratas con ED que son valores estadísticamente significativos en especial a los 10, 30, 60 y 120 minutos posteriores a SOG.

### **ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LAS GLUCEMIAS INTERGRUPOS: TIEMPO DE CIRUGÍA: PRECOZ – INTERMEDIA – TARDÍA, EN EL GRUPO DE ED.**

Como la glucemia disminuye a expensas de las ratas con ED, se decidió realizar comparaciones exclusivamente en este grupo. En primer lugar se compararon las curvas de glucemias de los 3 grupos temporales.

Gráfico 11. Glucemias de los tres grupos temporales en el postoperatorio.



Se evidencia una mejoría mayor en las ratas intervenidas a las 12 semanas de vida en comparación con las operadas a las 20 semanas de vida. Para valorar si estos cambios son significativos se aplicó variable de contraste intergrupos. Valores de glucemia expresados en mg/dl.

Tabla 19. Glucemia postoperatoria. Contraste de variables intergrupos, comparación de glucemias medias de las ratas con exclusión duodenal en los grupos temporales:

GLUCEMIA	N	PRECOZ	INTERMEDIA	TARDÍA	P	
<b>GBA</b>	18	106,50	103,33	110,16	0,118	
<b>SOG</b>	<b>10 minutos</b>	18	161,83	212,83	255,00	<b>0,007</b>
	<b>30 minutos</b>	18	255,00	326,50	329,33	<b>0,023</b>
	<b>60 minutos</b>	18	317,66	355,33	345,33	0,342
	<b>120 minutos</b>	18	245,16	255,33	310,33	<b>0,040</b>

GBA: Glucosa Basal en Ayunas; SOG: Sobrecarga Oral de Glucosa; p:<0,005

Las diferencias entre las ratas operadas con ED en los diferentes grupos temporales son significativas a los 10, 30 y 120 minutos posteriores a SOG.

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LAS GLUCEMIAS INTRAGRUPPO: ANTES Y DESPUÉS DE CIRUGÍA EN EL GRUPO CON EXCLUSIÓN DUODENAL.

Se compararon las curvas de glucemias antes y después de Exclusión Duodenal. Valores de glucemia expresados en mg/dl.

Tabla 19. Glucemia postoperatoria. Contraste de variables intergrupos, comparación de glucemias medias de las ratas con exclusión duodenal en los grupos temporales:

GLUCEMIAS	N	Media	SD	p	
<b>GBA</b>	PREOPERATORIA	18	147,24	133,948	0,022
	POSTOPERATORIA	18	108,33	5,412	
<b>SOG</b>	10 minutos Preop	18	274,02	115,455	<b>0,048</b>
	10 minutos Postop	18	209,89	54,373	
	30 minutos Preop	18	424,02	94,184	<b>0,001</b>
	30 minutos Postop	18	303,61	57,961	
	60 minutos Preop	18	483,18	71,073	<b>0,001</b>
	60 minutos Postop	18	339,44	42,393	
	120 minutos Preop	18	414,90	84,319	<b>0,001</b>
	120 minutos Postop	18	270,28	53,096	

GBA: Glucosa Basal en Ayunas; SOG: Sobrecarga Oral de Glucosa; SD: Desviación Estándar; p:<0,005.

Existe significancia estadística en las ratas con ED antes y después de cirugía; en especial a los 10, 30 y 120 minutos posteriores a SOG.

## 2. VARIABLES BIOQUÍMICAS

### 2.2 ESTUDIO HORMONAL

Además de valorar los cambios que generó la Exclusión Duodenal en la glucemia, se planteó estudiar cuáles hormonas de las habituales que se describen en el metabolismo glucídico han podido influir en los cambios. Se estudiaron 6 variables hormonales que se describen a continuación.

#### ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LAS VARIABLES HORMONALES.

Se compararon valores en el preoperatorio tanto para ratas con cirugía simulada como con Exclusión Duodenal, en los diferentes grupos temporales. Valores hormonales expresados en pg/ml.

#### GRUPO PRECOZ

Tabla 20. Valores hormonales preoperatorios en ratas Sham y en ratas con Exclusión Duodenal, intervenidas de forma precoz a las 12 semanas de vida.

HORMONA	N	Media	SD	Mediana	Rango [min-Max]
PEPTIDOC	12	853,26	183,42	907,34	531,06 - 1093
GIP	12	230,26	84,16	207,12	116,93 - 381,43
GLP-1	12	69,12	38,22	78,72	0,0 - 114,96
GLUCAGÓN	12	58,37	25,56	50,69	14,29 - 92,23
INSULINA	12	993,42	331,77	920,95	643,93 - 1666
PYY	12	61,64	40,48	48,12	24,45 - 133,38

SD: Desviación Estándar; Rango [min-Max]: valor máximo y mínimo del grupo.

Tabla 21. Valores hormonales postoperatorios en ratas Sham y en ratas con Exclusión Duodenal, intervenidas de forma precoz a las 12 semanas de vida.

<b>HORMONA</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>SD</b>	<b>Mediana</b>	<b>Rango [min-Max]</b>
PEPTIDOC	12	786,94	345,87	847,06	132,49 - 1408
GIP	12	136,40	62,03	117,95	62,49 - 280,51
GLP-1	12	105,61	32,51	105,79	56,42 - 161,60
GLUCAGÓN	12	43,04	16,35	40,81	18,85 - 68,37
INSULINA	12	542,87	316,51	410,18	256,50 - 1330
PYY	12	32,04	20,51	33,38	17,00 - 73,48

SD: Desviación Estándar; Rango [min-Max]: valor máximo y mínimo del grupo.

## GRUPO INTERMEDIO

Tabla 22. Valores hormonales preoperatorios en ratas Sham y en ratas con Exclusión Duodenal, intervenidas en cirugía intermedia a las 16 semanas de vida.

<b>HORMONA</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>SD</b>	<b>Mediana</b>	<b>Rango [min-Max]</b>
PEPTIDOC	12	694,78	151,15	701,32	502,99 - 973,06
GIP	12	193,60	101,99	150,29	97,10 - 388,06
GLP-1	12	160,80	70,06	133,92	91,35 - 346,56
GLUCAGÓN	12	58,73	40,03	49,40	20,92 - 157,83
INSULINA	12	485,18	364,63	384,16	70,73 - 1541
PYY	12	73,10	149,07	27,75	24,00 - 540,41

SD: Desviación Estándar; Rango [min-Max]: valor máximo y mínimo del grupo.

Tabla 23. Valores hormonales postoperatorios en ratas Sham y en ratas con Exclusión Duodenal, intervenidas en cirugía intermedia a las 16 semanas de vida.

<b>HORMONA</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>SD</b>	<b>Mediana</b>	<b>Rango [min-Max]</b>
PEPTIDOC	12	581,54	143,29	605,25	318,31 - 838,90
GIP	12	196,04	72,41	204,09	92,90 - 325,65
GLP-1	12	164,00	43,63	148,20	95,74 - 231,30
GLUCAGÓN	12	74,84	29,89	66,90	46,65 - 153,82
INSULINA	12	603,13	320,64	517,13	130,01 - 1077
PYY	12	52,14	45,59	38,33	34,00 - 140,28

SD: Desviación Estándar; Rango [min-Max]: valor máximo y mínimo del grupo.



## GRUPO TARDÍO

Tabla 24. Valores hormonales preoperatorios en ratas Sham y en ratas con Exclusión Duodenal, intervenidas de forma tardía a las 20 semanas de vida.

HORMONA	N	Media	SD	Mediana	Rango [min-Max]
PEPTIDOC	12	569,10	77,89	585,37	433,49 - 716,60
GIP	12	151,87	62,76	134,87	78,03 - 271,96
GLP-1	12	121,10	35,55	110,72	81,52 - 208,02
GLUCAGÓN	12	46,08	16,45	44,42	20,06 - 76,01
INSULINA	12	785,74	204,12	778,32	462,46 - 1191,00
PYY	12	30,45	14,73	23,74	11,06 - 61,39

SD: Desviación Estándar; Rango [min-Max]: valor máximo y mínimo del grupo.

Tabla 25. Valores hormonales postoperatorios en ratas Sham y en ratas con Exclusión Duodenal, intervenidas de forma tardía a las 20 semanas de vida.

HORMONA	N	Media	SD	Mediana	Rango [min-Max]
PEPTIDOC	12	553,39	311,24	465,52	213,33 - 1472
GIP	12	149,81	53,59	142,32	49,86 - 247,28
GLP-1	12	157,88	43,90	169,50	81,52 - 223,84
GLUCAGÓN	12	52,29	17,38	48,49	31,47 - 85
INSULINA	12	618,71	348,33	434,24	289,29 - 1440
PYY	12	42,07	23,92	37,26	10,06 - 76,05

SD: Desviación Estándar; Rango [min-Max]: valor máximo y mínimo del grupo.

Se realizó una comparativa entre el grupo de cirugía simulada (Sham-control) y el grupo de Exclusión duodenal después de la cirugía (postoperatorio). A grandes rasgos se observaron cambios entre ambos grupos. Dichos cambios se valoran para cada variable en los siguientes gráficos. Valores en todas las mediciones reflejadas en pg/ml.

Gráfico 12. **PÉPTIDO C**. Valores medios en el postoperatorio. Comparativa Sham versus Exclusión Duodenal, en los tres grupos temporales.

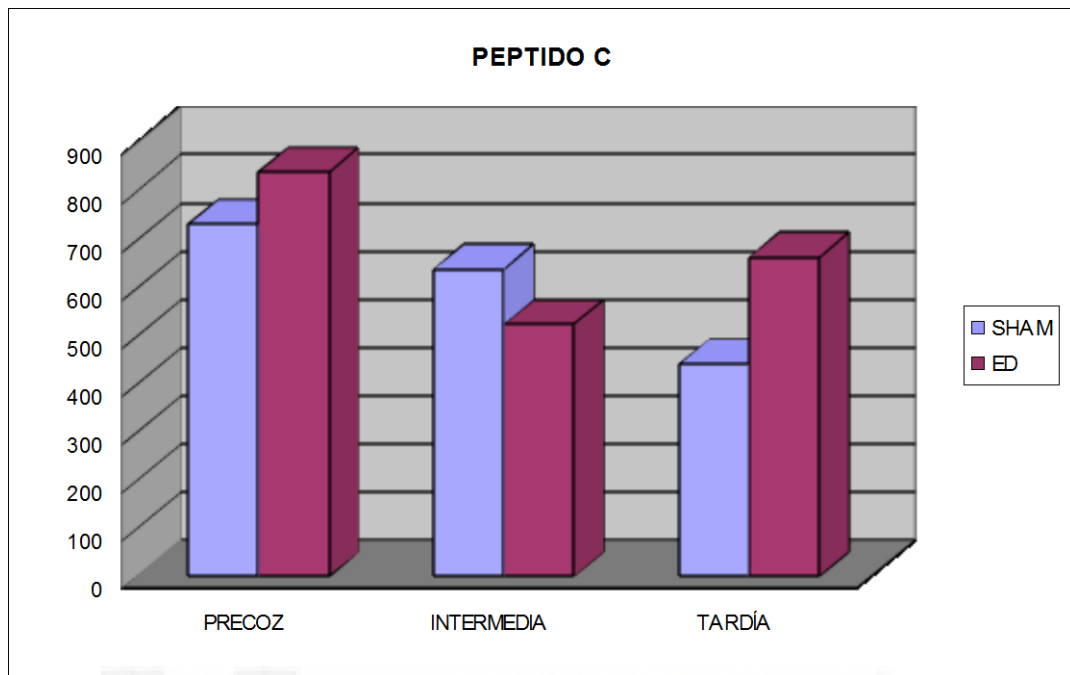


Gráfico 13. **GIP**. Valores medios en el postoperatorio. Comparativa Sham versus Exclusión Duodenal, en los tres grupos temporales.

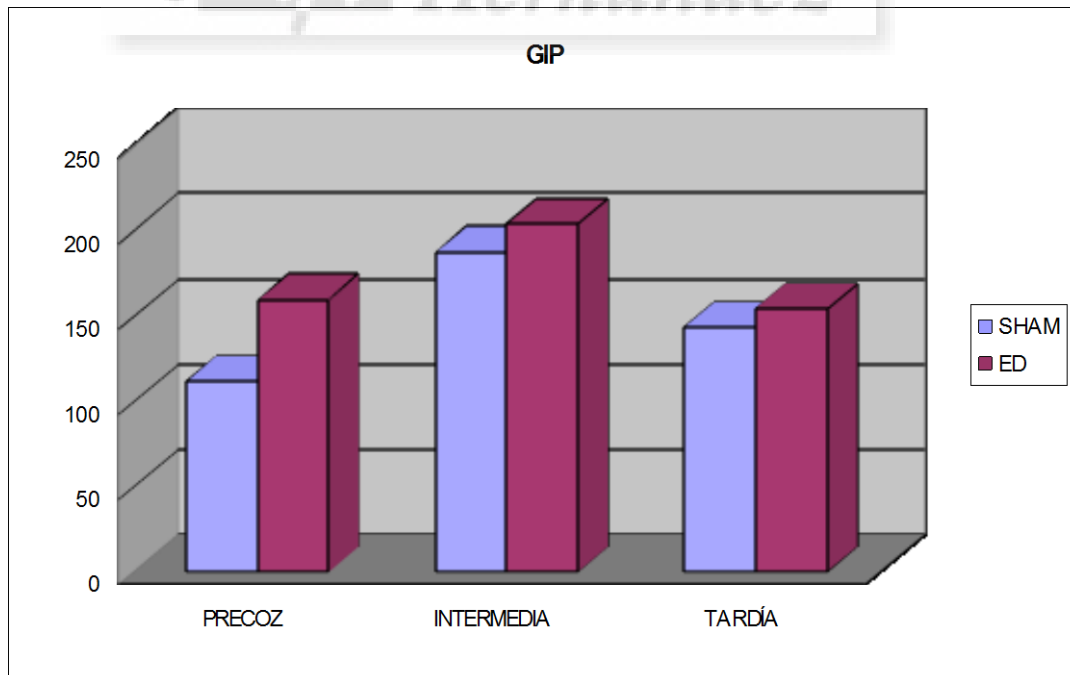


Gráfico 14. **GLP-1**. Valores medios en el postoperatorio. Comparativa Sham versus Exclusión Duodenal, en los tres grupos temporales.

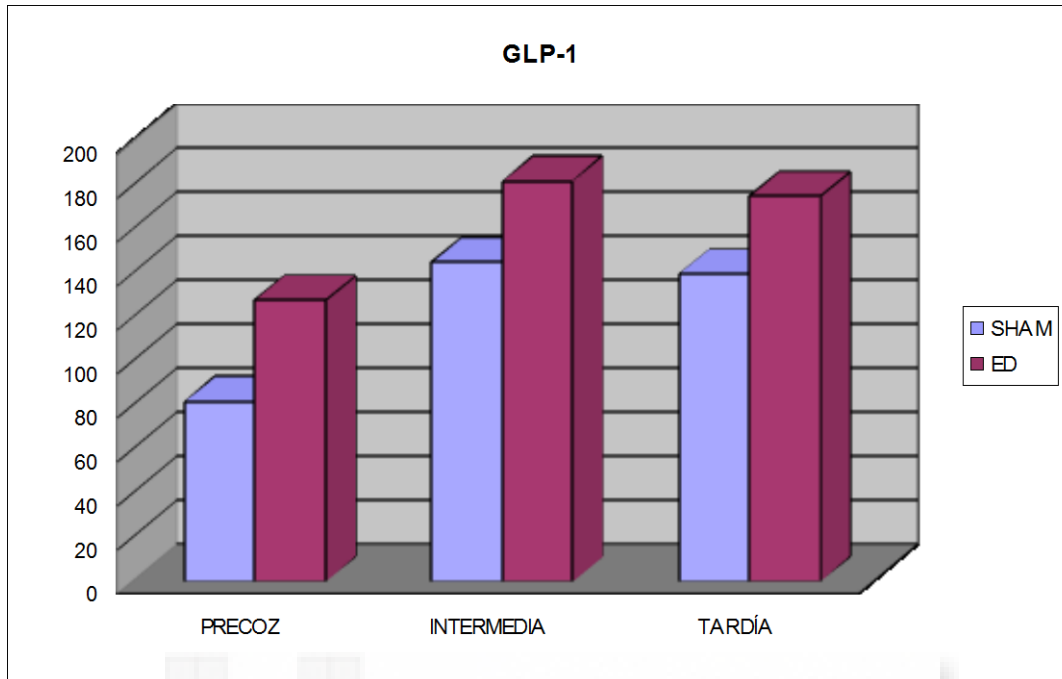


Gráfico 15. **GLUCAGÓN**. Valores medios en el postoperatorio. Comparativa Sham versus Exclusión Duodenal, en los tres grupos temporales.

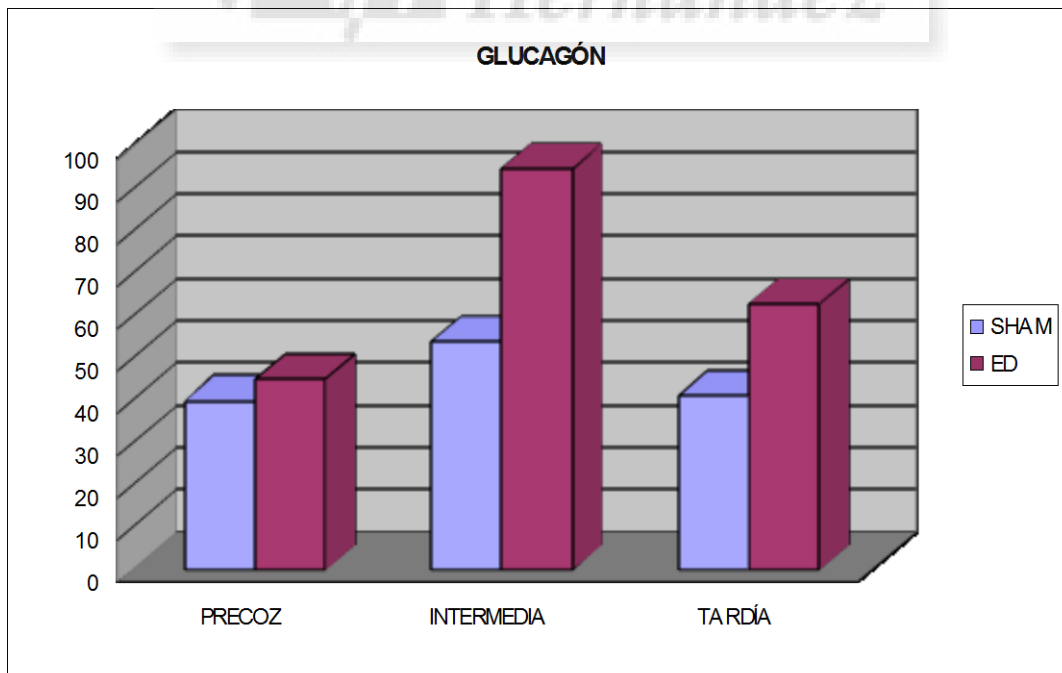


Gráfico 16. **INSULINA**. Valores medios en el postoperatorio. Comparativa Sham versus Exclusión Duodenal, en los tres grupos temporales.

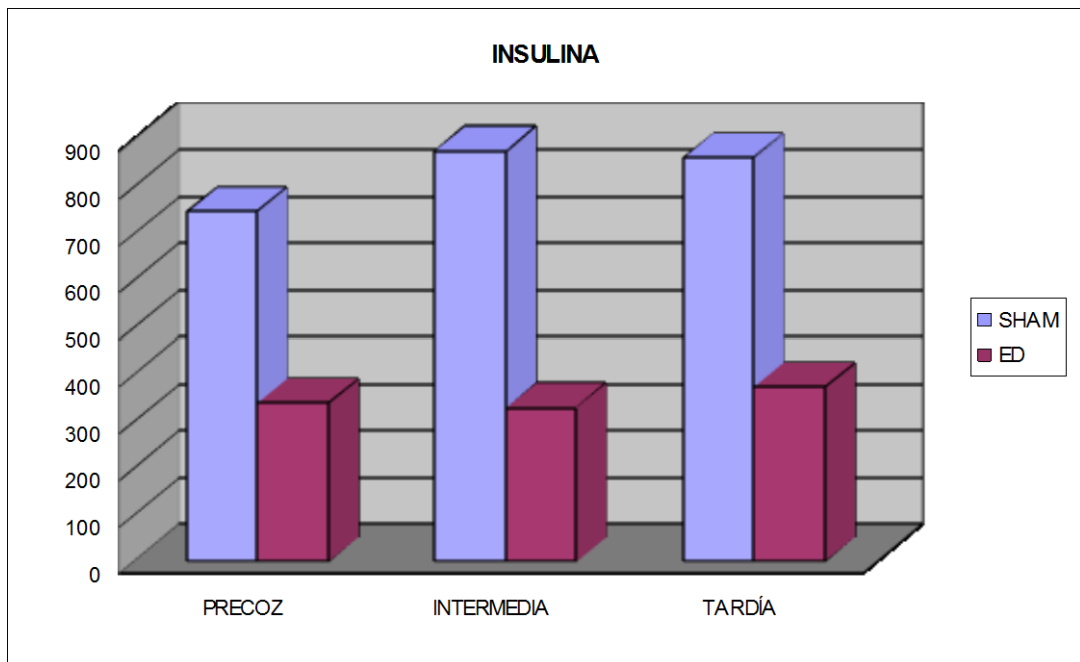
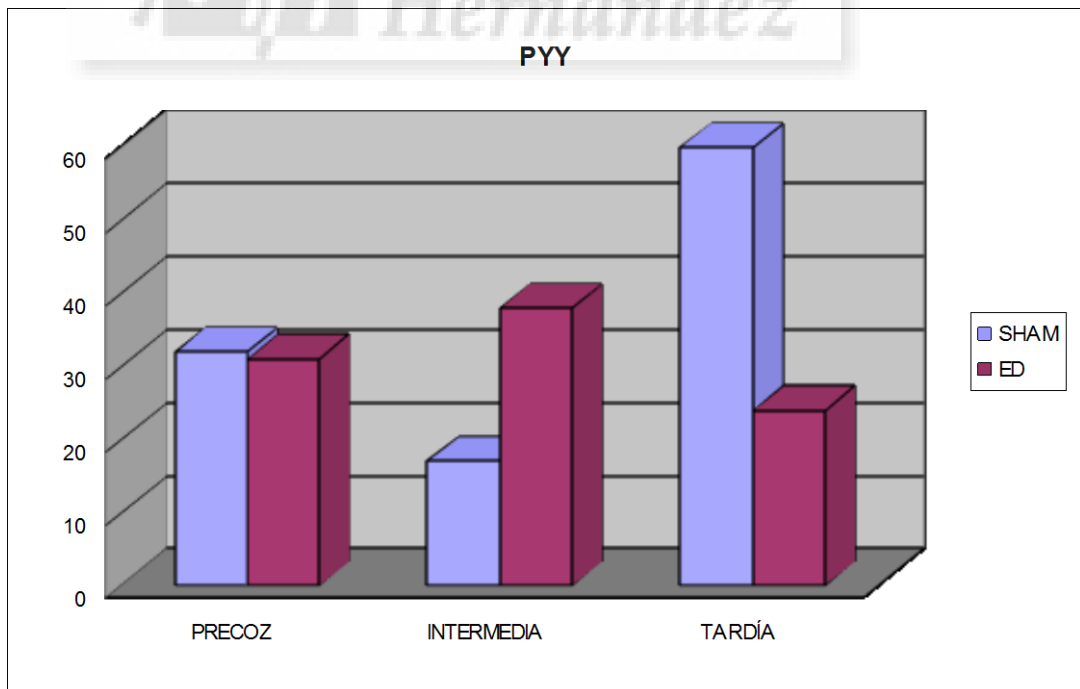


Gráfico 17. **PYY**. Valores medios en el postoperatorio. Comparativa Sham versus Exclusión Duodenal, en los tres grupos temporales.



## ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LAS VARIABLES HORMONALES – INTERGRUPOS: SHAM VERSUS EXCLUSIÓN DUODENAL.

Se compararon los valores de las diferentes hormonas durante el postoperatorio de ambos grupos (Sham versus Exclusión Duodenal) para evidenciar si los cambios observados previamente son estadísticamente significativos. Valores hormonales expresados en pg/ml.

### GRUPO PRECOZ

Tabla 26. Valores hormonales postoperatorios en el grupo de cirugía precoz. Contraste de variables intergrupos: Sham Versus Exclusión duodenal.

HORMONA	RATA	N	Media	SD	p
PEPTIDOC	Sham	6	732,89	433,92	0,61
	Exclusión	6	840,99	260,55	
GIP	Sham	6	112,39	45,44	0,19
	Exclusión	6	160,42	70,83	
GLP-1	Sham	6	82,32	21,44	0,005
	Exclusión	6	128,91	23,75	
GLUCAGÓN	Sham	6	40,88	21,17	0,67
	Exclusión	6	45,20	11,35	
INSULINA	Sham	6	746,28	343,15	0,033
	Exclusión	6	339,47	57,83	
PYY	Sham	6	32,89	24,44	0,88
	Exclusión	6	31,19	18,07	

SD: Desviación Estándar; p:<0,005.

Realizar cirugía metabólica de forma precoz a las 12 semanas de vida puso en evidencia cambios estadísticamente significativos en dos variables:

1. GLP-1: aumentan los valores de GLP-1 en las ratas con ED en comparación con las ratas Sham.
2. La insulina: la hiperinsulinemia de base disminuye de forma importante en las ratas sometidas a ED frente a las Sham.

## GRUPO INTERMEDIO

Tabla 27. Valores hormonales postoperatorios en el grupo de cirugía intermedia.  
Contraste de variables intergrupos: Sham Versus Exclusión duodenal.

HORMONA	RATA	N	Media	SD	p
PÉPTIDO C	Sham	6	639,52	132,31	0,17
	Exclusión	6	523,55	139,99	
GIP	Sham	6	188,02	66,98	0,72
	Exclusión	6	204,06	83,02	
GLP-1	Sham	6	145,10	35,18	0,14
	Exclusión	6	182,89	45,76	
GLUCAGÓN	Sham	6	54,10	6,51	0,008
	Exclusión	6	95,58	29,85	
INSULINA	Sham	6	876,34	185,36	0,001
	Exclusión	6	329,92	112,66	
PYY	Sham	6	17,82	15,37	0,006
	Exclusión	6	86,46	38,84	

SD: Desviación Estándar; p:<0,005.

En el grupo de cirugía intermedia se evidencian valores estadísticamente significativos en tres variables:

1. Glucagón: se evidencia aumento de esta hormona en el grupo de ED.
2. Insulina: nuevamente se observa disminución de la insulinemia en ratas ED frente a la Sham.
3. PYY: los valores de péptido YY son mayores en el grupo de ED que en el grupo control.

\*En este grupo intermedio se puede apreciar aumento del GLP-1 en las ratas ED, pero dicho aumento no es estadísticamente significativo.

## GRUPO TARDÍO

Tabla 28. Valores hormonales postoperatorios en el grupo tardío. Contraste de variables intergrupos: Sham Versus Exclusión duodenal.

HORMONA	RATA	N	Media	SD	p
PEPTIDO C	Sham	6	442,45	46,66	0,23
	Exclusión	6	664,34	425,92	
GIP	Sham	6	144,50	58,51	0,74
	Exclusión	6	155,12	53,17	
GLP-1	Sham	6	140,43	55,42	0,19
	Exclusión	6	175,33	20,91	
GLUCAGÓN	Sham	6	41,28	8,70	0,025
	Exclusión	6	63,31	17,25	
INSULINA	Sham	6	862,87	345,56	0,007
	Exclusión	6	374,56	66,84	
PYY	Sham	6	60,00	18,44	0,003
	Exclusión	6	24,15	12,15	

SD: Desviación Estándar; p:<0,005.

Realizar la intervención quirúrgica de forma tardía a las 20 semanas de vida mostró valores estadísticamente significativos en las siguientes hormonas:

1. Glucagón: se evidencia aumento del glucagón en el grupo de ED con respecto al grupo Sham.
2. Insulina: nuevamente se observa disminución de la insulinemia en ratas ED y como en los grupos temporales anteriores esta diferencia es importante.
3. PYY: en el grupo de cirugía tardía los valores de péptido YY son mayores en el grupo Sham en relación a las ratas con ED.

\*En el grupo de cirugía tardía también se observa un discreto aumento del GLP-1, el cual no es estadísticamente significativo.

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LAS VARIABLES HORMONALES – INTRAGRUPOS: PREOPERATORIO VERSUS POSTOPERATORIO.

Para las variables que mostraron significancia estadística se realiza una comparativa de antes y después dentro de su mismo grupo (Sham versus ED) y en cada grupo temporal.

### GRUPO PRECOZ

Tabla 29. Valores de insulina y GLP-1, Sham y Exclusión Duodenal en el grupo precoz. Contraste de variables intragrupos: preoperatorio versus postoperatorio.

HORMONA		N	Media	SD	p	
<b>SHAM</b>	INSULINA	Preoperatoria	6	1069,27	465,22	NS
		Postoperatoria	6	746,28	343,15	
	GLP-1	Preoperatoria	6	77,12	43,15	NS
		Postoperatoria	6	82,32	21,44	
<b>ED</b>	INSULINA	Preoperatoria	6	917,56	109,19	0,001
		Postoperatoria	6	339,47	57,83	
	GLP-1	Preoperatoria	6	61,12	34,62	0,013
		Postoperatoria	6	128,91	23,75	

SD: Desviación Estándar; NS: no significativo; p:<0,005.

En la tabla previa se evidencia que los cambios de la insulina y en GLP-1 son significativos del preoperatorio frente al postoperatorio exclusivamente en las ratas sometidas a ED.



## GRUPO INTERMEDIO

Tabla 30. Valores de insulina y GLP-1, Sham y Exclusión Duodenal en el grupo intermedio. Contraste de variables intragrupos: preoperatorio versus postoperatorio.

HORMONA		N	Media	SD	p	
<b>SHAM</b>	INSULINA	Preoperatoria	6	673,91	439,48	NS
		Postoperatoria	6	876,34	185,36	
	GLUCAGÓN	Preoperatoria	6	32,90	12,87	NS
		Postoperatoria	6	54,10	6,51	
	PYY	Preoperatoria	6	20,16	18,33	NS
		Postoperatoria	6	17,82	15,37	
<b>ED</b>	INSULINA	Preoperatoria	6	296,46	117,82	NS
		Postoperatoria	6	329,92	112,66	
	GLUCAGÓN	Preoperatoria	6	84,55	41,95	NS
		Postoperatoria	6	95,58	29,85	
	PYY	Preoperatoria	6	126,04	204,54	NS
		Postoperatoria	6	86,46	38,84	

SD: Desviación Estándar; NS: no significativo;  $p < 0,005$ .

En la comparativa pre y postoperatorio en la cirugía realizada en tiempo intermedio (16 semanas) no se evidencian diferencias significativas en ninguno de los grupos.

## GRUPO TARDÍO

Tabla 31. Valores de insulina y GLP-1, Sham y Exclusión Duodenal en el grupo tardío. Contraste de variables intragrupos: preoperatorio versus postoperatorio.

HORMONA		N	Media	SD	p	
<b>SHAM</b>	INSULINA	Preoperatoria	6	811,21	168,33	NS
		Postoperatoria	6	862,87	345,56	
	GLUCAGÓN	Preoperatoria	6	54,16	16,98	NS
		Postoperatoria	6	41,28	8,7	
	PYY	Preoperatoria	6	39,20	14,40	0,003
		Postoperatoria	6	60,00	18,44	
<b>ED</b>	INSULINA	Preoperatoria	6	760,28	248,55	0,009
		Postoperatoria	6	374,56	66,84	
	GLUCAGÓN	Preoperatoria	6	38,01	12,27	0,05
		Postoperatoria	6	63,31	17,25	
	PYY	Preoperatoria	6	21,70	9,26	NS
		Postoperatoria	6	24,15	12,15	

SD: Desviación Estándar; NS: no significativo; p:<0,005.

En las ratas se operadas de forma tardía se evidencia significación estadística en tres variables:

1. La insulina: disminuye considerablemente en el grupo ED en comparación con las ratas Sham donde aumenta levemente.
2. El glucagón: persiste elevado en el grupo de exclusión.
3. El PYY: que muestra elevación importante en el grupo Sham, en comparación a las ratas con ED, y contrariamente a la tendencia en los anteriores grupos temporales.

## 2. VARIABLES BIOQUÍMICAS

### 2.3 EL FACTOR DE NECROSIS TUMORAL $\alpha$

Con la intención de evidenciar si la Exclusión Duodenal tenía la capacidad de influir en la respuesta inflamatoria que sucede al daño funcional de la célula  $\beta$ , se realizó medición de uno de los marcadores más utilizados en este campo: el Factor de Necrosis Tumoral  $\alpha$  (TNFa.) Valores expresados en pg/ml.

#### ANÁLISIS DESCRIPTIVO

Tabla 32. Factor de Necrosis Tumoral  $\alpha$  en ratas Sham y ratas con Exclusión Duodenal en el grupo de cirugía precoz.

TNFa	N	SHAM		ED	
		Media	SD	Media	SD
<b>PREOPERATORIO</b>	6	0.0	0.0	0.0	0.0
<b>POSTOPERATORIO</b>	6	2,48	3,03	0.0	0.0

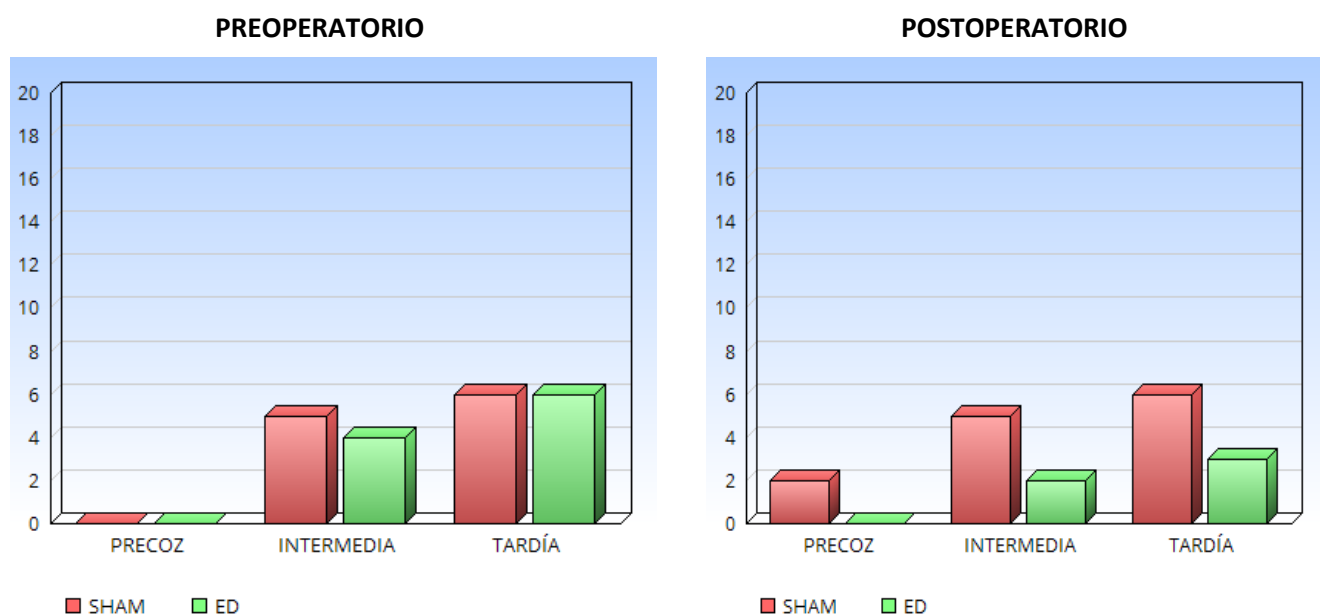
Tabla 33. Factor de Necrosis Tumoral  $\alpha$  en ratas Sham y ratas con Exclusión Duodenal en el grupo de cirugía intermedia.

TNFa	N	SHAM		ED	
		Media	SD	Media	SD
<b>PREOPERATORIO</b>	6	5,06	4,24	4,67	3,75
<b>POSTOPERATORIO</b>	6	5,35	4,28	2,62	3,59

Tabla 34. Factor de Necrosis Tumoral  $\alpha$  en ratas Sham y ratas con Exclusión Duodenal en el grupo de cirugía tardía.

TNFa	N	SHAM		ED	
		Media	SD	Media	SD
<b>PREOPERATORIO</b>	6	6,19	2,69	6,72	1,65
<b>POSTOPERATORIO</b>	6	6,69	3,86	2,97	2,92

Gráfico 18. **TNF $\alpha$** . Valores medios pre y postoperatorios. Comparativa Sham versus Exclusión Duodenal, en los tres grupos temporales.



## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En los gráficos previos se evidenciaron diferencias entre las ratas con cirugía Sham en comparación con las ratas operadas con ED. Se aplicó test de contraste para valorar dichas diferencias. Los resultados se muestran a continuación.

Tabla 35. TNF  $\alpha$  en ratas Sham y ratas con Exclusión Duodenal comparación intragrupo antes y después de cirugía.

		Preoperatorio	Postoperatorio		
		Media	Media	p	Cambio
PRECOZ	SHAM	0	2,48	0,001	Aumenta inflamación de forma significativa.
	ED	0	0	0	No cambios.
INTERMEDIA	SHAM	5,06	4,67	0,44	Mínimo cambio sin significancia.
	ED	5,35	2,62	0,01	Disminuye inflamación con significado estadístico.
TARDIA	SHAM	6,19	6,72	0,06	Aumenta inflamación y se acerca a la significancia.
	ED	6,69	2,97	0,08	Disminuye inflamación y se acerca a la significancia.

De la tabla anterior se concluye que:

1. A medida que la rata avanza en su desarrollo, la presencia de TNFa en el suero es más evidente. Así pues en las ratas con 12 semanas de vida, tanto Sham como con Exclusión Duodenal, no se detecta TNFa en el suero pero a medida que la rata madura, la inflamación se hace más evidente.

2. Después de cirugía, las ratas con Exclusión Duodenal mejoran su estado inflamatorio basal, siendo esta mejora más evidente en las ratas intervenidas de forma precoz que las intervenidas tardíamente. Se calcula el riesgo de presentar inflamación en relación al tipo de cirugía, con el siguiente resultado:

Tabla 36. Riesgo Relativo de presentar inflamación según marcador de TNF  $\alpha$ . Ratas Sham versus Exclusión Duodenal comparación intergrupo antes y después de cirugía.

Estimación de riesgo			
	Valor	Intervalo de confianza al 95%	
		Inferior	Superior
Razón de las ventajas para tipo de cirugía (ED / Sham)	,100	,021	,486
Para la cohorte TNFa en ratas con inflamación.	,400	,202	,794
Para la cohorte TNFa en ratas sin inflamación.	4,000	1,354	11,819
N de casos válidos	36		

En la estimación del Riesgo relativo de presentar inflamación se observa que las ratas con cirugía simulada (Sham) tienen 4 veces más riesgo de presentar inflamación en comparación con las ratas que han sido sometidas a intervención con ED. En el intervalo de confianza del 95% no se incluye la unidad, por lo que se considera a la ED como factor protector.

### 3. VARIABLES HISTOLÓGICAS

#### CORTES DESCRIPTIVOS

**1. HÍGADO:** se muestran cortes hepáticos a diferentes ampliaciones de la lente de MO. En estos cortes se observa el hígado de rata GK Sham del grupo tardío (ratas diabéticas en progresión) para demostrar la ausencia de esteatosis.

TINCIÓN DE HEMATOXILINA-EOSINA  
Hígado de la rata GK a las 28 semanas de vida.

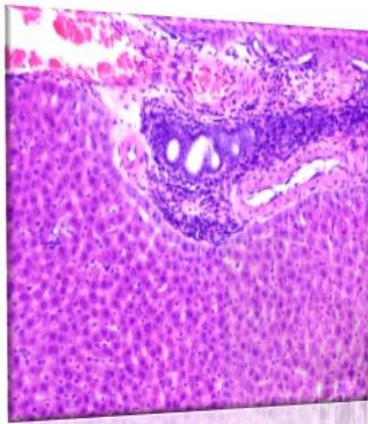


Figura 1. Visión al MO con lente 2X del parénquima hepático.

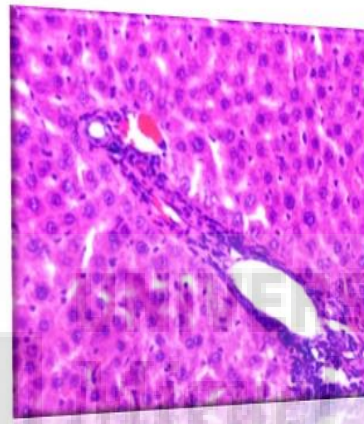


Figura 2. Espacio Porta visible con lente 4X. No evidencia de esteatosis en la rata diabética no asociada a obesidad

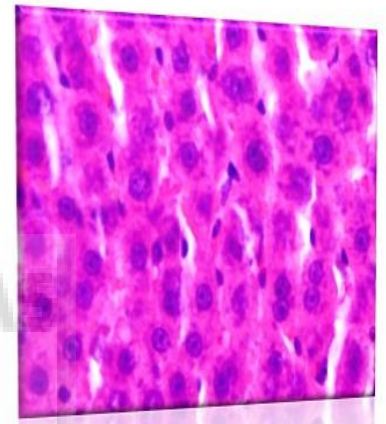
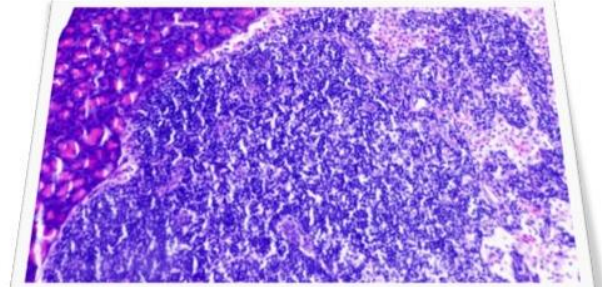
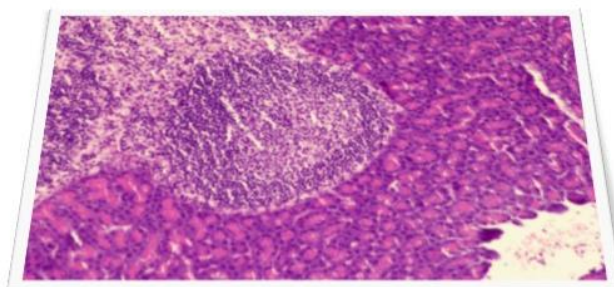


Figura 3. Visión al MO con lente 10X. Hepatocitos de aspecto normal.

**2. PÁNCREAS:** se muestran cortes pancreáticos a diferentes ampliaciones en la misma rata GK Sham del grupo tardío. En estos cortes se evidencia la infiltración linfocitaria que acompaña a la progresión de la diabetes.

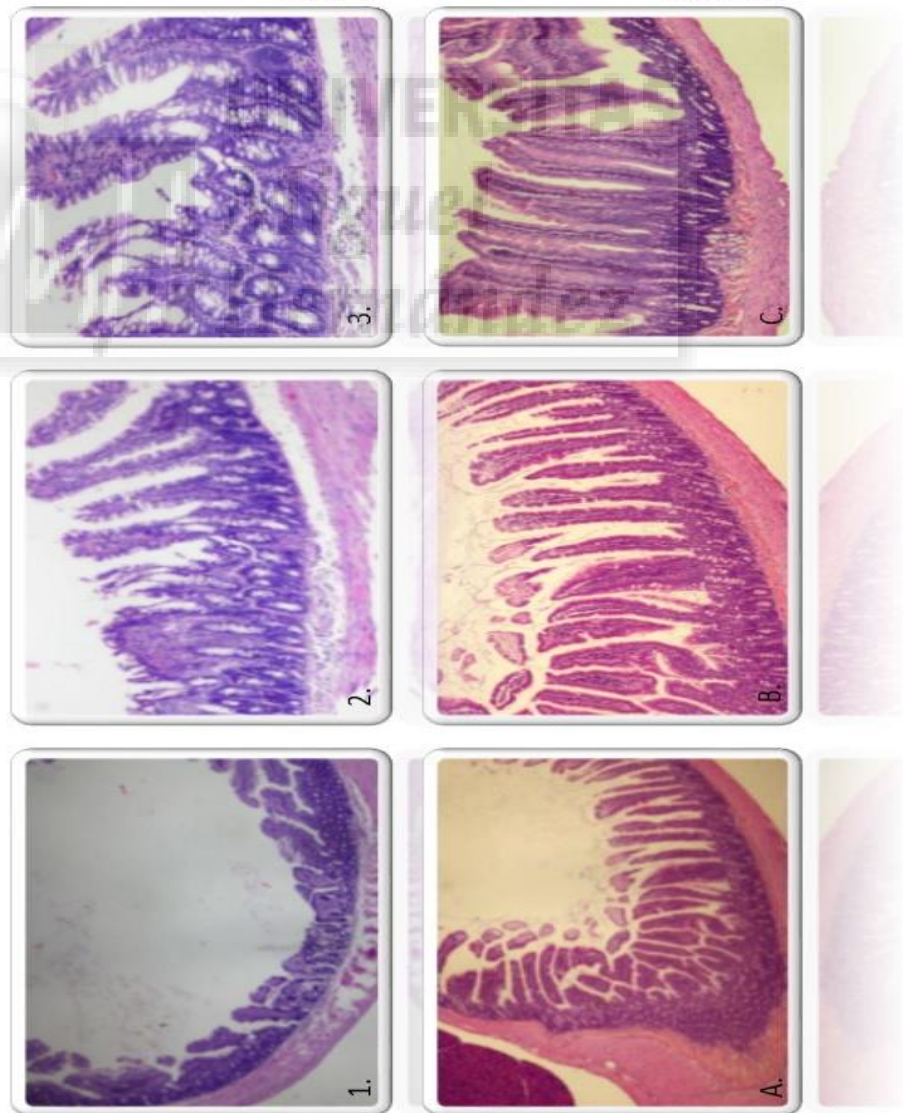
PÁNCREAS DE RATA CON SHAM OPERADA A LAS 20 SEMANAS DE VIDA  
HEMATOXILINA- EOSINA CON MO DE 4X  
INFILTRACIÓN LINFOCITARIA  
PÁNCREAS DE RATA AÚN DIABÉTICA CON ÁREAS EXTENSAN DE INFLAMACIÓN



## TINCIÓN DE HEMATOXILINA-EOSINA

Intestino de la rata GK a las 28 semanas de vida.

Rata Sham versus rata operada



Figuras: 1. MO 2X; 2. MO 4X y 3. MO 10X  
Rata Sham – intervenida a las 12 semanas de vida  
Vellosidades cortas menor porcentaje celular

Figuras: A. MO 2X; B. MO 4X y C. MO 10X  
Rata Operada – intervenida a las 12 semanas de vida  
Vellosidades largas mayor porcentaje celular  
Aumento de células productoras de incretinas.

## CORTES EXPLICATIVOS A NIVEL DEL PÁNCREAS

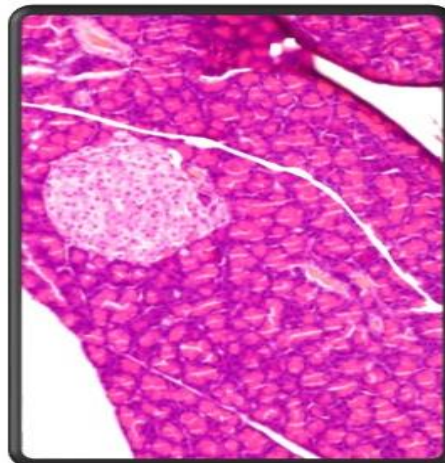
Diferentes tipos de tinción en los cortes pancreáticos para poner en evidencia los cambios entre las ratas Sham (con DM2 en progresión) en comparación con ratas con ED (con DM2 en remisión).

### PÁNCREAS DE RATA CON EXCLUSIÓN DUODENAL SOMETIDA A LAS TRES TINCIIONES

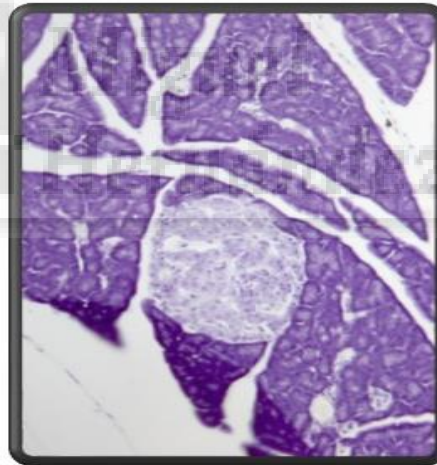
VISIÓN AL MO EN 10X

#### HEMATOXILINA-EOSINA/ CRESIL VIOLETA/ INMUNOTINCIÓN (AC. Nkx6.1)

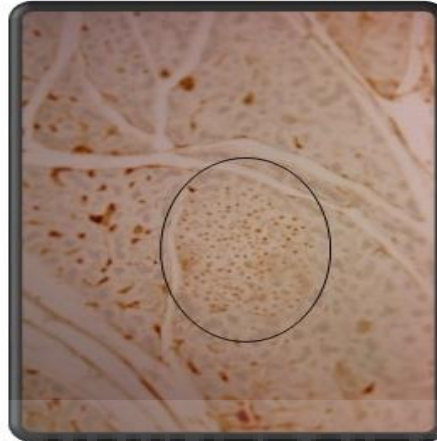
1. HE – Islotes Langerhans: tinción de células  
→ citoplasma rosado, núcleo fucsia.



2. Cresil Violeta – Islotes Langerhans: tinción de  
núcleos celulares → citoplasma lila, núcleo violeta




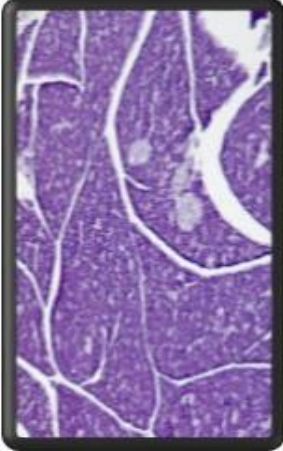

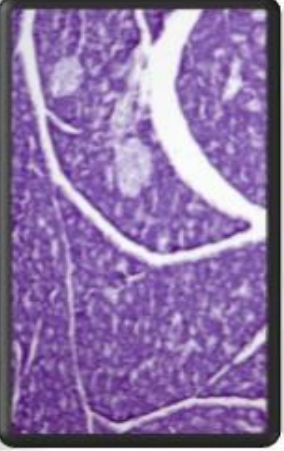
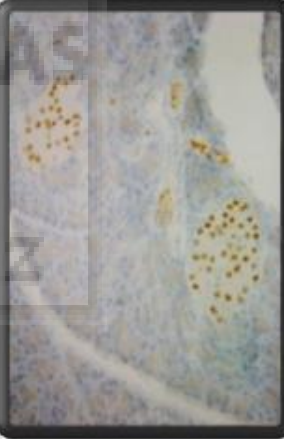
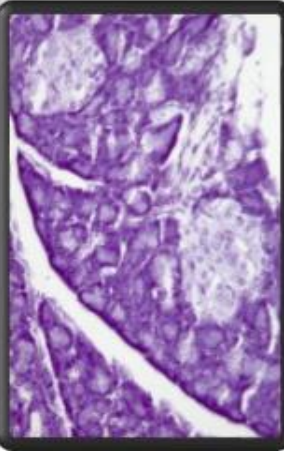
3. Inmunohistoquímica – Islotes Langerhans: tinción  
de núcleos de células β por el Ac. Nkx6.1 → núcleos  
deposición marrón, dentro del círculo.





**CORTES DE PÁNCREAS DE RATA SHAM OPERADA A LAS 12 SEMANAS  
TINCIÓN DE CRESIL VIOLETA VERSUS INMUNOHISTOQUÍMICA**

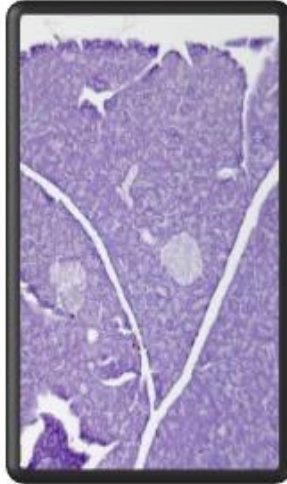
**RATA SHAM DEL GRUPO PRECOZ**

	Inmunotinción	Cresil Violeta
<b>MO a 5x</b> Se evidencian varios islotes de Langerhans. Pequeños y redondeados.		
<b>MO a 10x</b> Los núcleos se tiñen débilmente.		
<b>MO a 20x</b> Aún se observa buen número de células beta.		

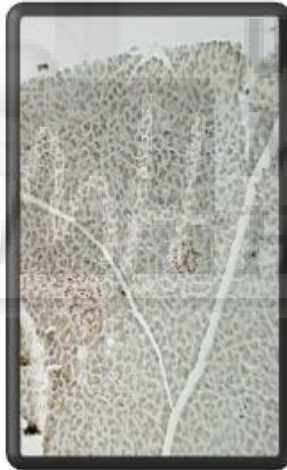
## RATA CON EXCLUSIÓN DUODENAL DEL GRUPO PRECOZ

### CORTES DE PÁNCREAS DE RATA CON E.D. OPERADA A LAS 12 SEMANAS TINCIÓN DE CRESIL VIOLETA VERSUS INMUNOHISTOQUÍMICA

Cresil Violeta



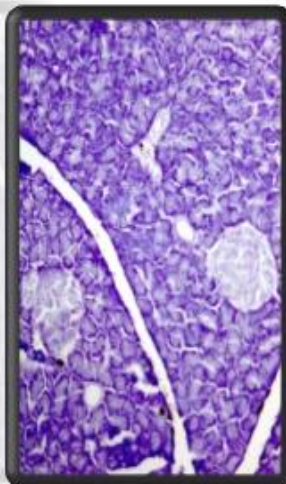
Inmunotinción



**MO a 5x**

Mayor número de islotes de Langerhans que en la Sham. Los islotes son pequeños y redondeados como las Sham en la misma semana.

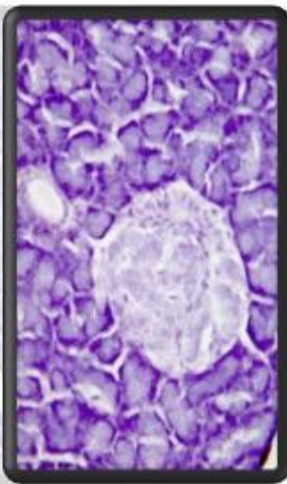
Cresil Violeta



**MO a 10x**

Núcleos de mayor número y mejor definición que las ratas Sham.

Cresil Violeta

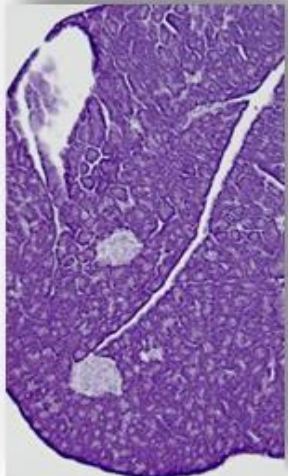

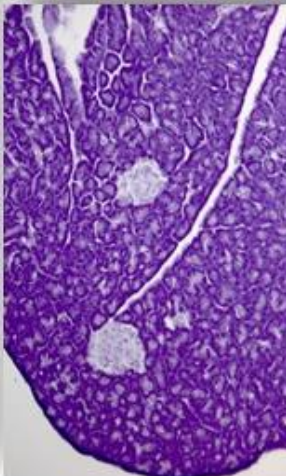

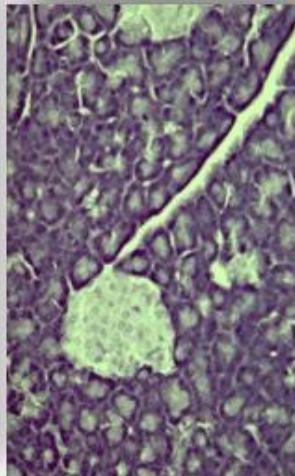



**MO a 20x**

Inmuno-tinción nuclear de células beta, intenso.

**CORTES DE PÁNCREAS DE RATA SHAM OPERADA A LAS 16 SEMANAS  
TINCIÓN DE CRESIL VIOLETA VERSUS INMUNOHISTOQUÍMICA**

**RATA SHAM DEL GRUPO INTERMEDIO**

Cresil Violeta	Inmunotinción
	
	
	

**MO a 5x**

Se evidencian varios islotes de Langerhans. Pequeños y redondeados.

**MO a 10x**

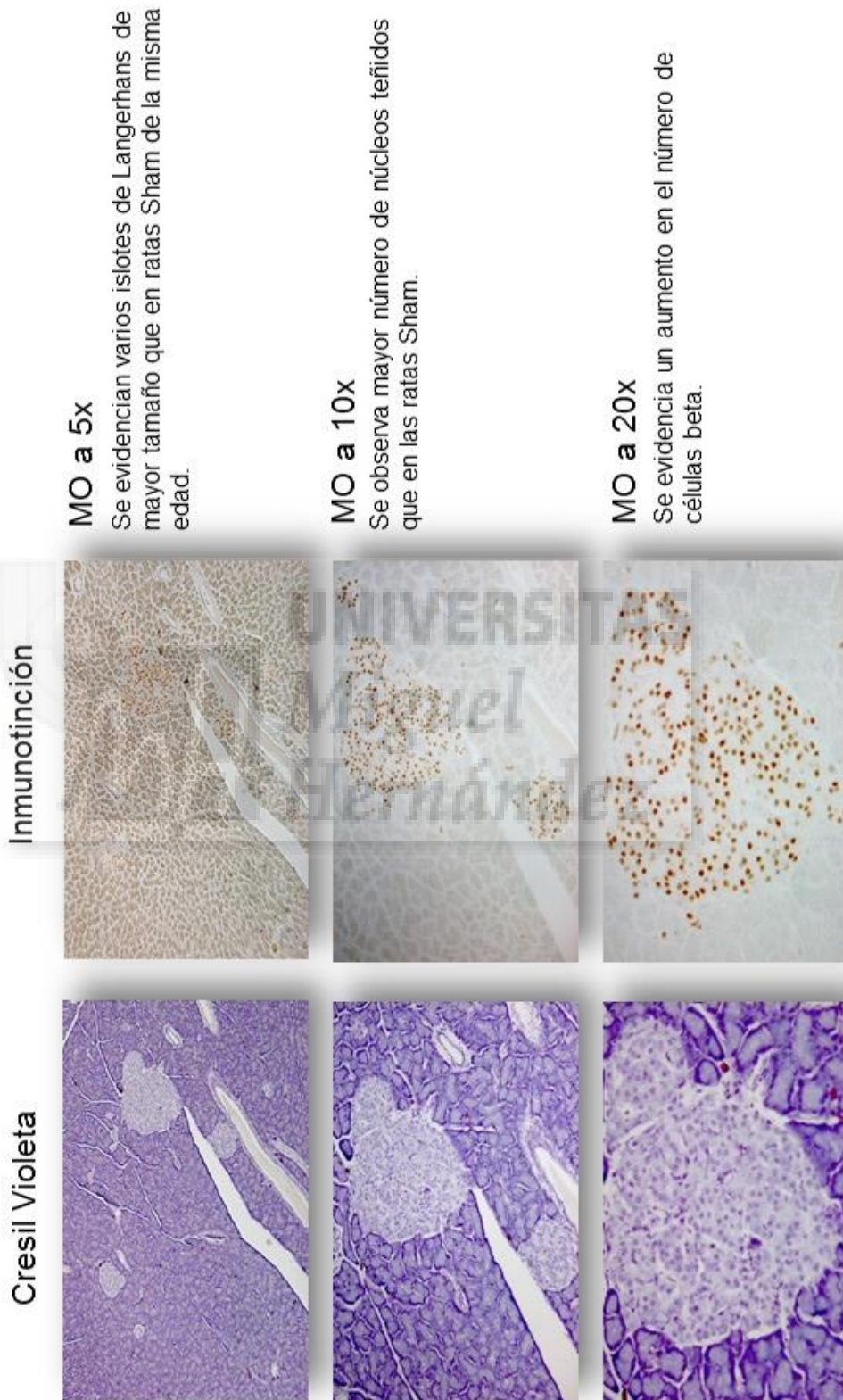
Los islotes tiñen débilmente los núcleos.

**MO a 20x**

Muy débil tinción de las células beta.

## RATA CON EXCLUSIÓN DUODENAL DEL GRUPO INTERMEDIO

### CORTES DE PÁNCREAS DE RATA CON E.D. OPERADA A LAS 16 SEMANAS TINCIÓN DE CRESIL VIOLETA VERSUS INMUNOHISTOQUÍMICA



**MO a 5x**

Se evidencian varios islotes de Langerhans de mayor tamaño que en ratas Sham de la misma edad.

**MO a 10x**

Se observa mayor número de núcleos teñidos que en las ratas Sham.

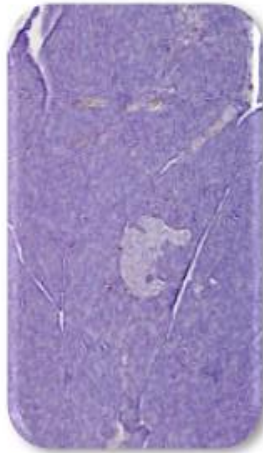
**MO a 20x**

Se evidencia un aumento en el número de células beta.

## RATA SHAM DEL GRUPO TARDÍO

### CORTES DE PÁNCREAS DE RATA SHAM OPERADA A LAS 20 SEMANAS TINCIÓN DE CRESIL VIOLETA VERSUS INMUNOHISTOQUÍMICA

Cresil Violeta

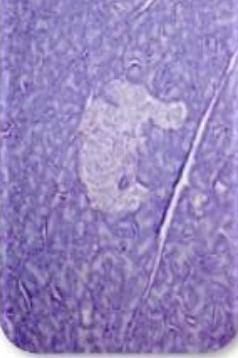


Inmunotinción



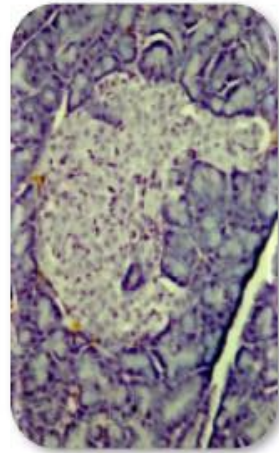
MO a 5x

Se observan pocos islotes de Langerhans, los cuales son pequeños y redondeados.



MO a 10x

Los islotes presentan escasos núcleos celulares.



MO a 20x

Escasa o nula tinción de las células beta.

## RATA CON EXCLUSIÓN DUODENAL DEL GRUPO TARDÍO

### CORTES DE PÁNCREAS DE RATA CON E.D. OPERADA A LAS 20 SEMANAS TINCIÓN DE CRESIL VIOLETA VERSUS INMUNOHISTOQUÍMICA

Cresil Violeta



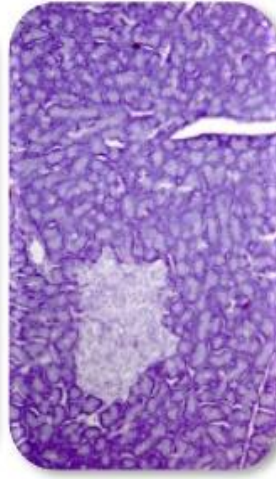
Inmunotinción



**MO a 5x**

Presencia de islotes de Langerhans de mayor tamaño.

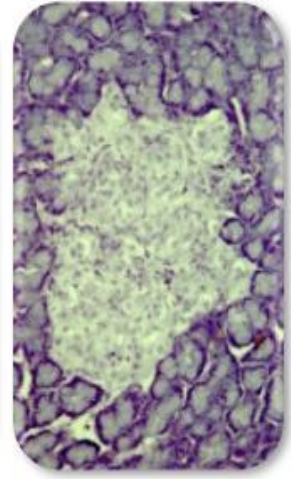
Cresil Violeta



**MO a 10x**

Se observa mayor número de núcleos teñidos que en las ratas Sham.

Cresil Violeta



**MO a 20x**

Estos núcleos teñidos se traducen en un mayor número de células beta. La tinción es más intensa.

SHAM VERSUS ED EN TINCIÓN H.E. – CORTES CON DIFERENTES AUMENTO.  
EVOLUCIÓN DE LOS ISLOTES DE LANGERHANS EN LOS TRES TIEMPOS

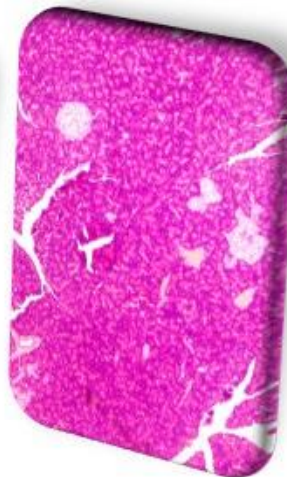
**PÁNCREAS DE RATAS SHAM – RATA DIABÉTICA**

Cortes teñidos con Hematoxilina-eosina

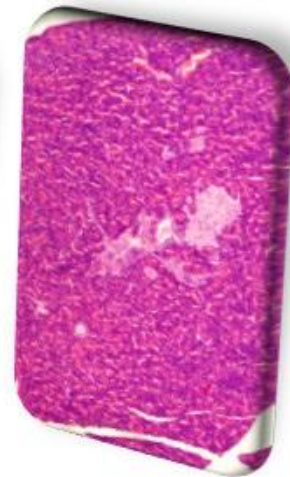
Evolución en el tiempo



Rata Sham de 12 semanas  
Mayor número de islotes de Langerhans.  
Pequeños y redondeados.



Rata Sham de 16 semanas  
Islotes de Langerhans: menor número, pero de  
mayor tamaño, redondeados.



Rata Sham 20 semanas  
Escasos Islotes, grandes y desestructurados.

Páncreas MO a 4x

Páncreas MO a 10x

**RATAS CON ED EN INMUNOTINCIÓN – CORTES CON DIFERENTES AUMENTO.  
EVOLUCIÓN DE LOS ISLOTES DE LANGERHANS EN LOS TRES TIEMPOS**

**PÁNCREAS DE RATAS CON E.D. – RATA CURADA**  
**Cortes teñidos por Inmunotinción con Ac. Nix6.1**

**Evolución en el tiempo**



Rata ED de 12 semanas  
Los Islotes de Langerhans son pequeños y redondeados, los cuales están en mayor número dado la temprana edad de los sujetos. La tinción de las células beta es intensa.

Rata ED de 16 semanas  
Islotes de Langerhans: menor número, pero de mayor tamaño con importante número de células beta.

Rata ED 20 semanas  
Islotes, grandes y desestructurados pero que aún conservan células beta.

Islote pancreático MO a 10X

Islote pancreático MO a 20X



## DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Uno de los primeros investigadores en lanzar una declaración atrevida en cuanto a la DM2 y su relación con la cirugía fue el Dr. Pories a principios de la década de los 90,(9;300) y desde entonces sigue siendo un motivo de discusión entre cirujanos, endocrinólogos y expertos en ciencias básicas. No obstante, debieron de pasar más de 25 años para que esta idea cuajara en la comunidad científica. Es decir, lo que se descubrió por casualidad, luego fue motivo de intensos estudios aplicando el método científico a fin de demostrar por qué los pacientes con DM2 sometidos a cirugía gastrointestinal mejoran su condición sin que de ello dependa de una pérdida de peso previa. De hecho, la mayoría de los pacientes son dados de alta ya del hospital sin necesidad de insulina.

En el marco teórico se han expuesto varios estudios realizados en los últimos años que concluyen que la cirugía bariátrica mejora eficazmente la diabetes.(131;182;185;186;301;302) Los elementos más discutidos son el efecto de las incretinas, los cambios morfológicos en la mucosa intestinal, la vía de la neoglucogénesis hepática e intestinal, la disfunción y apoptosis de células  $\beta$  debido a glucotoxicidad y factores asociados a ambiente y genómica. Lo que queda claro del estudio de esta diversidad de fenómenos es que la diabetes es un estado al que se llega tras la alteración de múltiples mecanismos con lo que, pensar que una sola molécula o un evento aislado pueda resolverla es una realidad lejana a los datos actuales.

El metanálisis de Buchwald en 2004(131) abrió la puerta de forma amplia con un meta-análisis que informa del seguimiento de 3.188 pacientes diabéticos intervenidos de cirugía bariátrica en los que encontraron una

tasa de resolución de 83,7% con bypass gástrico en Y de Roux laparoscópico, el 98,9% después de derivación biliopancreática y el 47,9% después de la banda gástrica ajustable. Sin duda, los números que se han publicado posteriormente y los consensos que se han establecido entre los expertos del tema,(33) han logrado fortalecer la evidencia de que la cirugía metabólica debe proponerse a sujetos diabéticos con obesidad mórbida. No obstante, la cirugía metabólica diseñada para pacientes sin obesidad sigue siendo un campo del área experimental. Los trabajos en animales aún tienen mucha información que aportar en tanto los ensayos clínicos en humanos empiezan a tomar relevancia.

En esta línea WJ Lee y su grupo de investigación informaron en 2012(269) de un estudio multicéntrico, donde compararon 200 pacientes con DM2, 172 fueron sometidos a bypass gástrico, 24 a gastrectomía vertical y los otros 4 a bandas ajustables. Un año después de la cirugía, el IMC promedio se redujo de  $28,5 \pm 3,0$  a  $23,4 \pm 2,3$  kg/m<sup>2</sup> y la HbA1C disminuyó a  $6,3 \pm 0,5\%$ . La remisión de la DM2 se logró en el 72,4% de los pacientes. Y al aplicar los análisis de regresión estadística evidenciaron que aquellos pacientes con una evolución de su diabetes de menos de 5 años tenían una mejor tasa de remisión que los de más de 5 años de historia natural de la enfermedad (90,3% vs. 57,1%,  $p = 0,006$ ). Por su parte, Ramos et al.(303) publicaron su experiencia con la derivación duodeno-yeyunal (DJB) laparoscópica en 20 pacientes con DM2 donde se logró una reducción del 43,8% en los niveles de glucosa en sangre y una reducción del 22,8% en los niveles de HbA1c a los 6 meses. En contraste, Ferzli y colaboradores(304) han descrito los resultados de 7 pacientes que se sometieron a DJB, mostrando una mejora en el uso de medicación para el tratamiento de la DM2, pero ninguno de ellos, logra un nivel de HbA1c

<7% o un nivel de glucosa en ayunas <130 mg / dL. Así mismo, la revisión sistemática realizada por el equipo de Fried en 2010,(31) evaluó 16 estudios con 343 pacientes diabéticos con IMC por debajo de 35 que fueron sometidos a diversos procedimientos bariátricos y mostró que el 85% de los pacientes mejoraban su diabetes, pero en realidad ninguno de los 16 estudios pudo dilucidar el mecanismo de esta mejoría.

Aunque el mecanismo exacto de la resolución de la diabetes por medio de cirugía no puede explicarse en su totalidad, existe una creciente evidencia de que los procedimientos que desvían la comida de la primera porción intestinal podrían mejorar la DM2 mediante una reducción de la resistencia a la insulina y gracias a la mejora de la función de las células  $\beta$  del páncreas. Así mismo, estos fenómenos ocurren en sujetos no obesos, donde la restricción calórica de la ingestión o la disminución de peso no parecen vitales para prevenir o retrasar la morbilidad asociada con la DM2. De hecho, es frecuente observar a pacientes con DM2 y con IMC de menos de 30 Kg/m<sup>2</sup> que son sometidos a amputaciones debido a la progresión de la enfermedad pese a cumplir estrictamente con la dieta y el tratamiento farmacológico.

¿Por qué necesitamos un nuevo procedimiento? En realidad no es la necesidad de estandarizar una técnica lo que promueve la investigación a los cirujanos en este campo, sino la posibilidad de aportar un nuevo conocimiento a la comunidad científica en pro de mejorar la condición de los pacientes diabéticos, que cada día son más numerosos en la población. En última instancia, si se ha de recurrir a la cirugía para frenar el efecto deletéreo de la enfermedad, desde el mundo quirúrgico se aboga por proponer una técnica que logre la remisión de la DM2 con mínima morbilidad y mortalidad, y que demuestre efectividad en el tiempo.

Además, debe ser una técnica cuya evolución al cabo de los años no predisponga a otras alteraciones secundarias (por ejemplo de tipo carencial), ya que existe la probabilidad de tener que plantearse a pacientes cada vez más jóvenes. Del mismo modo, dicho procedimiento debe ser fisiológico y relativamente simple de realizar, con una disminución del tiempo operatorio y complicaciones postoperatorias mínimas para que, a la vez que eficaz, resulte eficiente. Nuestro estudio aporta un grano de arena más a todos los estudios que están surgiendo a nivel mundial con este fin.

¿Por qué una Exclusión Duodenal en asa de omega? Porque posee ventajas teóricas: como que el número de anastomosis se reduce a 1 y no hay apertura mesentérica en comparación con el Bypass Gástrico en Y de Roux convencional o el BPD. Además, series recientes en humanos en relación al MBG y otras variantes de cirugía de una sola anastomosis han demostrado que el tiempo operatorio se reduce. De igual forma, también se ha informado de menor tasa de complicaciones médicas y postoperatorias precoces.(284;285;305;306) Así pues, retomar cirugía de bypass en asa en omega no sólo parece una perspectiva atractiva sino que a través de estudios como el nuestro se convierten en un camino viable. No obstante, debemos reconocer que en diferentes cursos y congresos se ha podido observar la resistencia del medio quirúrgico en retomar técnicas que utilicen un asa en omega, incluso no sólo en el tratamiento de la DM2 sino como técnica bariátrica. Los cirujanos consideran que regresar a reconstrucciones anatómicas similares al Billroth II puede ser contraproducente y que el reflujo biliar que obligó a abandonar estas técnicas es una situación que no se puede obviar. Sin embargo, trabajos como los de Lee WJ y Kular KS con el MBG(284;305) y los de Carbajo

Martínez y García Caballero con el BAGUA en nuestro país,(163;288) han demostrado que dichos temores son infundados. De hecho, en el presente, en la India, más del 50% de los procedimientos bariátricos utilizan el MBG como técnica de elección, pues señalan que la versatilidad de la técnica permite adaptar el diseño original al grado de afectación metabólica en IMC del paciente.(307) Grupos de cirujanos en Canadá, Francia, Italia, España, Portugal y Estados Unidos consideran al MBG una cirugía con mayor repercusión metabólica que el propio BPG en Y de Roux.

En una exposición de la experiencia actual con MBG de diferentes cirujanos reunidos en el consenso sobre MBG en Canadá en 2014,(286) comentaron que un elemento fundamental para evitar el reflujo biliar era sin duda disponer la anastomosis por debajo de la inserción del nervio de Latarjet en la curvatura menor del estómago. Es por ello que en nuestro trabajo consideramos que la adición del tubo gástrico reverso puede ser una opción para reducir la posibilidad de reflujo biliar. También somos de la opinión de que si a la anastomosis gastroyeunal latero-lateral se le asocia una caída vertical del asa en omega, es decir se fija el asa al estómago que queda por encima de la anastomosis, se podría lograr el efecto del cruce en "X" descrito por Braun en su procedimiento original y por tanto reducir la posibilidad de formación de úlceras marginales.(308;309)

Otra ventaja de nuestra disposición es que conservar el estómago nos permite manipularlo en un futuro si fuera necesario por otras causas (por ejemplo, reflujo gastroesofágico). Si durante la ejecución de la técnica se producen complicaciones (como fugas de anastomosis o síndromes de oclusión intestinal) aún queda suficiente tejido para proceder con una gastrectomía subtotal con reconstrucción en Y de Roux clásico.

Igualmente, si con esta Exclusión Duodenal no se lograra tener una remisión de la diabetes o el control de glucemia no fuera satisfactorio, también se puede convertir la técnica a una derivación biliopancreática, tipo cruce o tipo SADI.

¿Por qué operar precozmente en sujetos diabéticos no obesos? Está bien documentado que la resistencia a la insulina y la disfunción de las células  $\beta$  son fenómenos característicos de la DM2.(24) También está ampliamente descrito que la funcionalidad de las células  $\beta$  tiende a disminuir progresivamente en el tiempo, incluso con tratamiento. Trabajos como el de Grossman en 2010, Speck en 2011 y Salinari en 2014, demuestran en animales que la glucotoxicidad es el elemento más nocivo de la enfermedad.(20;240;310) A la misma conclusión llegaron Nannipieri, Camastra en 2013 y Blanco en 2014 en sus estudios en humanos.(212;311;312) De estos trabajos y de otros como el nuestro se deduce que es factible cortar los círculos viciosos que activan la producción de glucosa a expensas de neoglucogénesis, que activan la RI y que dañan la célula  $\beta$  del páncreas.

Es importante destacar que las ratas GK son animales que manifiestan características de la DM2 sin obesidad, por tanto la remisión de la enfermedad es independiente de la cantidad de peso perdido. Este hecho es relevante en nuestro caso, donde el peso en las ratas fue comparable en los tres grupos de estudio. Por lo tanto el supuesto de que la RI es un factor que va de la mano exclusivamente de la obesidad no es consistente, y no sólo la pérdida de peso significa una mejora en el estado glucémico.(313) Sin embargo es importante recalcar que ante ausencia de obesidad, el grado y curso temporal de la inversión de la DM2 son críticamente dependientes del estado de las células  $\beta$ . Por lo tanto, el

grado inicial del que parte la función pancreática, es decir, una mayor disfunción de las células  $\beta$ , disminuye la probabilidad de que pueda revertirse la enfermedad por tratamiento o cirugía alguna.(95;312;314-317) Este paradigma muy probablemente se aplique a cualquier tratamiento en los pacientes diabéticos, incluyendo cambios en el estilo de vida y tratamiento farmacológico intensivo. No obstante, el efecto de la cirugía metabólica amplifica el impacto de la función de las células  $\beta$  residual mediante la mejora drástica de la sensibilidad a la insulina y los mecanismos de regeneración celular que se describen en el apartado sobre las células  $\beta$ . Por lo tanto, el grado inicial de deterioro de la función de las células  $\beta$  puede ser el resultado de una evolución natural de la enfermedad durante más tiempo. Y pasado dicho umbral de tiempo, la función de las células  $\beta$  no podrá ser restaurada. Es por ello que incluimos la variable tiempo en el estudio, para evidenciar si aplicar la Exclusión Duodenal era igual de efectiva en ratas con evolución temprana que en las que llevaban más tiempo con la diabetes. Las intervenciones tanto médicas como quirúrgicas para prevenir y tratar la diabetes mediante la mejora de la función de células  $\beta$  se basan en la premisa de que la disfunción de las células  $\beta$  se puede revertir. Esto parece cierto para al menos una parte del espectro de la patogénesis, pero los límites de la reversibilidad permanecen sin explorar. Los datos disponibles sugieren que los efectos de la diabetes establecidos en función de las células  $\beta$  no se mantienen después de la retirada de las terapias activas.(20) Del mismo modo, trabajos recientes como los de Wierup, (318) demuestran que revertir cirugía de reordenamiento intestinal en estos pacientes conlleva de nuevo al desarrollo y progresión de la DM2.

No obstante, desde las propuestas de Pories al día de hoy, las explicaciones sobre la mejora de la glucemia tras cirugía bariátrica difieren de unos autores a otros. Y aunque el mecanismo preciso que induce la mejoría de la DM2 después de ciertas manipulaciones del tracto digestivo es aún hoy una incógnita, es evidente que el reordenamiento de la anatomía del tracto gastrointestinal puede ejercer varios efectos antidiabéticos más allá de los relacionados con la reducción de la ingesta de alimentos y/o disminución del peso corporal. Insistimos en recalcar esta característica de la cirugía bariátrica, pues el hecho de que la glucemia mejore significativamente antes de que se haya producido pérdida de peso alguna es lo que ha hecho que esta línea de investigación sea tan estudiada. Y aún después de más de 20 años desde la primera oleada de publicaciones sobre el tema, no son pocos los clínicos que se asombran de que pueda darse de alta a un paciente después de cirugía bariátrica sin que sea necesario administrar insulina.

Pero es necesario enfatizar que los diferentes estudios, en los cuales se busca dilucidar el papel específico que las diferentes variaciones anatómicas producen en el metabolismo glucídico no buscan “curar” la diabetes a través de la cirugía, sino que lo que se pretende es dilucidar cómo los conocimientos que se generan por los cambios quirúrgicos pueden favorecer las investigaciones en el área farmacéutica y así poder desarrollar nuevos medicamentos antidiabéticos eficaces, ya que los existentes en el momento actual controlan la enfermedad pero no detienen su evolución, ni su efecto deletéreo en los órganos diana. De hecho, aún hoy, estudios controlados aleatorizados han confirmado que la cirugía bariátrica es más eficaz que el tratamiento médico en la remisión de la DM2.(185;186;268)



El intestino produce más de 100 péptidos bioactivos conocidos y posiblemente otros factores relevantes no descubiertos. De las hormonas incretínicas, mucho se ha escrito sin poder llegar a un acuerdo. Pero quizás enfocar exclusivamente la mirada a investigar éstos péptidos haya hecho que se esté ignorando el factor “anti-incretínico” de Rubino, un elemento que sigue siendo un misterio.(11;215) Aclarar las moléculas responsables de los beneficios de la cirugía gastrointestinal sobre la homeostasis de la glucosa es uno de los objetivos de la investigación actual en este campo. Sin embargo cada detalle cuenta, y los resultados encontrados en nuestro trabajo pueden dar pie a otros estudios que conduzcan a aclarar la etiopatogenia y por tanto la resolución de esta enfermedad. Para ello a continuación se analizan uno a uno los resultados obtenidos en las diferentes variables estudiadas.

### **ANALISIS POR VARIABLES**

El peso: nuestros datos han puesto en evidencia una regulación metabólica sin cambios en el peso de las ratas. Este fenómeno es de vital importancia para clarificar que la mejora en el metabolismo de la glucosa no depende, al menos en los modelos diabéticos no obesos, de la relación entre el tejido graso y el aumento de ácidos grasos; fenómenos que suelen asociarse a la génesis de la DM2. Del mismo modo, estudios previos con técnicas de Exclusión Duodenal con conservación de la cámara gástrica, como el bypass duodeno-yeyunal (DJB) de Almino C. Ramos en 2009 o el trabajo de Daniel de Luis en 2012 cursan con mejora de la glucemia.(303;319) La principal diferencia de la técnica de Exclusión Duodenal que proponemos con la DJB realizada previamente es la idea de colocar un asa en omega para la realización de una sola anastomosis, con intención de simplificar el procedimiento y reducir los riesgos que implican

dos anastomosis. Por otro lado, si comparamos nuestra intervención con otras cirugías de una sola anastomosis como el BAGUA de Martínez Carbajo o García Caballero,(163;288) en las que se realiza gastrectomía vertical, y la restricción está presente como objetivo bariátrico, en nuestro caso hemos buscado simplemente excluir el contacto de los alimentos con el duodeno.

Además, excluir al duodeno en sujetos sin obesidad no predispone a un estado de malnutrición importante; efecto que sí se ha demostrado en técnicas de mayor componente malabsortivo como la derivación biliopancreática o la trasposición ileal.(158;276) Si bien ni el peso ni el IMC son determinantes para definir un estado de malnutrición, el hecho de que los animales de nuestro estudio hayan seguido ganando peso y aumentado de tamaño con el tiempo hace pensar que la manipulación que hemos realizado no somete al animal a un estado carencial que interfiera con su desarrollo. Este evento es fundamental para plantear técnicas para el tratamiento de la DM2 que se propongan para pacientes con IMC < de 30 Kg/m<sup>2</sup> e incluso para el rescate de algún paciente con DM1.

Glucosa en sangre: uno de los efectos más evidentes en nuestro estudio fue la mejoría de la glucosa en sangre, evidenciada en todos los grupos temporales que fueron sometidos a la Exclusión Duodenal. Los cambios de la glucemia fueron más evidentes en las muestras tomadas de forma postprandial (después del estímulo de la sobrecarga oral de glucosa) ya que en situación basal las GK no muestran tanta alteración como después de ser sometidas a carga de glucosa.

Con todo, el lograr recuperar valores normales de glucosa en sangre expresados en un rango menor a 120 mg/dl no era el objetivo final, sino que el recuperar la normogluemia en realidad significa disminuir de forma considerable la glucotoxicidad que caracteriza a los enfermos de DM2. Frenar o eliminar el efecto de glucotoxicidad es el efecto deseado de los diferentes métodos terapéuticos ya que niveles elevados de glucemia conllevan implícitas el desarrollo de complicaciones graves en la DM2 como son las alteraciones cardiovasculares producto del daño en la microvasculatura, y eventos como la neuropatía, nefropatía y retinopatía. El lograr un efecto hipoglucemiante habla en favor de que es posible plantear tratamiento quirúrgico en casos donde el control metabólico de los enfermos no se logre con las medidas terapéuticas habituales.

Además, también hemos comprobado en este estudio que la normogluemia induce a la disminución del proceso de apoptosis de las células  $\beta$  del páncreas y ello reactiva la regeneración celular en los islotes de Langerhans. Este efecto protector sobre las células  $\beta$  ya se ha demostrado que es crucial en la remisión a largo plazo de la DM2 después de un bypass gástrico.(240;272) De tal manera que a falta de estudios a largo plazo de nuestra técnica en animales o la proyección de la misma a un ensayo clínico en humanos, la perspectiva es buena.

Si bien todos los grupos temporales mostraron una recuperación de los niveles de glucemia, este evento fue más evidente en las ratas operadas de forma precoz (a las 12 semana de vida) confirmando que el tiempo de evolución de la enfermedad es clave en la efectividad de la cirugía.

En los seres humanos, la probabilidad de remisión de la diabetes gracias a cirugía viene supeditado al tiempo de exposición a la enfermedad (menos

mejoría si más años de evolución de la DM2), a un mal control glucémico y a la necesidad de insulino terapia en el preoperatorio. Todo esto sugiere que un menor deterioro en número o en la función de células  $\beta$  en el momento de la cirugía puede maximizar el efecto de la misma.(269) Este último planteamiento es lo que ha llevado a autores como Breen a proponer que la cirugía metabólica puede ampliar su indicación a pacientes con DM2 no obesos y DM1 con tratamiento insulínico de pocos años de instauración.(230) El trabajo de este grupo proporciona la evidencia que señala que la DJB normaliza las concentraciones de glucosa en ratas con DM1 de tipo autoinmune. Estos hallazgos apoyan aún más el uso emergente de la cirugía gastrointestinal para el tratamiento de la diabetes y desvelar los mecanismos de detección en el intestino como dianas terapéuticas potenciales para esta condición.

La insulina: la insulina es un factor importante que afecta al equilibrio del metabolismo de la glucosa del organismo. Un sujeto con DM2 se caracteriza por presentar una primera fase de hiperinsulinismo, seguida de una fase de hipoinsulinemia probablemente debida al agotamiento funcional de las células  $\beta$  del páncreas. La disfunción secretora pancreática con una liberación de insulina pulsátil alterada conduce a una inapropiada supresión de la producción de glucosa hepática, es decir, altera la neoglucogénesis hepática y por lo tanto se produce una elevación de la glucemia sistémica, que en consecuencia, provoca una mayor demanda por parte de las células  $\beta$  para producir insulina. Este estado a largo plazo es lo que conlleva un agotamiento de las células  $\beta$ .(320)

El papel de la hiperinsulinemia en la patogénesis de la enfermedad es controvertido, ya que en algunos estudios la describen como una consecuencia de elevada resistencia periférica a la insulina principalmente

asociada a los niveles de adiposidad.(59;60) En cualquier caso, el empeoramiento gradual de la resistencia a la insulina también influye en los sistemas de retroalimentación negativa de las células del páncreas, el cual aumenta su producción y genera los estados de hiperinsulinemia. La demanda excesiva de insulina activa un círculo vicioso que culmina con el agotamiento de las células  $\beta$  y el asentamiento y progresión de la DM2.(23) Por consiguiente, cualquier método que logre reducir la hiperinsulinemia y, por tanto, restaurar la actividad de las células  $\beta$  puede ser terapéuticamente útil, al romper el círculo vicioso en el desarrollo y exacerbación de la DM2.(23;321;322)

La Resistencia a la Insulina (RI) es la clave de la patogénesis de la DM2 en la obesidad. En los pacientes obesos la RI viene dada por el estado proinflamatorio permanente que genera la hipertrofia de los adipocitos. La liberación de citoquinas inflamatorias (por ejemplo, TNF, IL-6, MCP-1) de los adipocitos y macrófagos en la grasa visceral se ha implicado en la patogénesis de la DM2.(323) No obstante, esta situación no explica la RI en sujetos sin obesidad. En éstos parece que la RI se altera por mecanismos que alteran los receptores de insulina, sobre todo a nivel hepático. Además de esto, es probable que exista una señal diabetogénica en el intestino que estimula los islotes para producir insulina en respuesta a una activación de la neoglucogénesis hepática: otro círculo vicioso. Varias líneas de investigación tratan de dilucidar la función de estos receptores y cómo la reorganización anatómica, producto de la Exclusión Duodenal, logra disminuir la RI hepática.(321) Lo que se concluye cada vez con más frecuencia es que la hiperinsulinemia por sí misma puede conducir a la progresión de la DM2 y que es probable que la RI que la genera tenga una explicación genética aún sin resolver.(322;324;325)

Cuando se habla de disfunción de células  $\beta$  suele hacerse más hincapié en el hecho de que existen factores extrínsecos a los islotes que pueden inhibir la respuesta a la insulina. De hecho, Rubino et al. sugieren que un "factor" de inhibición de la secreción de insulina puede ser producido en el intestino delgado y que el bypass intestinal puede reducir o suprimir su síntesis y/o su entrada al torrente circulatorio.(215) Este evento permitiría la restauración de la primera fase de la secreción de insulina. Este mismo factor, o incluso otro factor secretado por el intestino delgado, también puede ser el que determine el desarrollo de la RI. Así pues, pruebas como el clamp euglucémico de Fronzo han comparado la administración de glucosa oral versus endovenosa y en sus pruebas pudieron observar que la respuesta hipoglucemiante de la insulina se activa en mayor grado si el organismo detecta la glucosa en la luz intestinal.(326) En resumen, la restauración de la secreción de insulina, así como la normalización de la sensibilidad a la insulina en sujetos con DM2 intervenidos con reordenamiento intestinal parece estar relacionada con el efecto de algún factor intestinal como consecuencia de la redistribución anatómica.

A pesar de todo, autores como Petersen afirman que la regulación de la insulina no es lo que produce la mejoría de la DM2 sino la disminución de la RI.(125) Al parecer la RI va a tener un origen intrínseco en las personas, es decir un rasgo de características hereditarias y que explicaría por qué pacientes obesos no desarrollan diabetes mientras otros pacientes sin obesidad padecen DM2. La identificación de la alteración metabólica que conduce a la RI debe permitir un estudio adicional del papel de los factores genéticos que pueden contribuir al desarrollo de la DM2.(324)

Ya hemos hablado de que la DM2 representa un heterogéneo grupo de enfermedades caracterizado por un aumento en la resistencia a la acción

de la insulina en los tejidos periféricos y un deterioro en la secreción de dicha hormona por parte de la célula  $\beta$  pancreática. Ambas anomalías se encuentran íntimamente imbricadas pero, en la mayoría de los enfermos, la RI parece que precede a la disfunción manifiesta de las células  $\beta$ , y se piensa que tiene su origen en una predisposición genética.(327) Además, puede observarse disfunción subclínica de las células  $\beta$  en familiares de primer grado no diabéticos de pacientes con DM2, lo cual es consistente con la hipótesis de que el fracaso de la célula  $\beta$  se encuentra también determinado genéticamente.(328)

En la actualidad se reconoce que algunos subtipos de DM2 son secundarios a defectos monogénicos, tales como el síndrome juvenil de diabetes del adulto (Diabetes MODY—)(329) y la llamada diabetes mitocondrial. La predisposición a la resistencia insulínica y/o a la disfunción de células  $\beta$  se hereda de forma no Mendeliana,(330) debido a su heterogeneidad genética y patogenia multigénica. Así pues, los estudios genéticos humanos acerca de la predisposición a la RI están plagados de incertidumbres y se ven complicados además por las considerables variaciones existentes en el *pool* genético humano. Sin embargo, en la mayoría de los pacientes con DM2, varios (si no múltiples) factores genéticos y ambientales contribuyen tanto al origen como a la progresión y a las complicaciones tardías de la enfermedad. La identificación de los genes responsables permitiría avanzar en el conocimiento de los mecanismos que mantienen los niveles normales de glucosa y cuya disfunción provoca la enfermedad. Además, podría ayudar a identificar individuos de riesgo, los cuales podrían beneficiarse de tratamientos y/o cambios en el estilo de vida antes de que la enfermedad se desarrolle.

Pero al margen de la base genética, lo que queda claro es que mejorar el estado inicial del funcionamiento pancreático mejora los pulsos de secreción de insulina. Y en nuestro estudio hemos demostrado una mejora funcional de las células  $\beta$  en el grupo de ratas sometidas a Exclusión Duodenal, probablemente porque un estado de normoglucemia ha atenuado la pérdida de células  $\beta$  de los islotes y ha favorecido una mejor regulación de los niveles de insulina. Así mismo, hemos comprobado que una regulación de la secreción de insulina durante la fase de hiperinsulinismo es posible, logrando cortar el círculo vicioso. De forma que evitando el paso de los alimentos por el duodeno se ha logrado disminuir la hiperproducción compensadora de insulina que se presenta en los sujetos con DM2. Sin embargo, si el hiperinsulinismo deriva en RI o si la resistencia periférica a la insulina conlleva hiperinsulinemia es una interrogante que queda por esclarecer.

El GLP-1: se han descrito gran cantidad de estudios donde esta hormona incretínica se considera responsable de la mejora del metabolismo glucídico posterior a cirugía.(211;331) En dichos estudios se habla de un aumento de los niveles basales de la hormona después del reordenamiento intestinal e incluso después de gastrectomía vertical. Ya hemos comentado en el marco teórico que el Péptido Similar al Glucagón tipo 1 (GLP-1) favorece la regeneración pancreática de las células  $\beta$  y por ende la regulación de los pulsos de insulina. Todo ello mejora los niveles de glucosa en sangre. Se presume que el aumento de GLP-1 podría ser el resultado del transporte expedito de glucosa a la luz intestinal intestino.(195;206;209)

En nuestros resultados se observa un aumento de los niveles de GLP-1 en el grupo de ratas sometidas a Exclusión Duodenal. En el estudio, el



aumento de GLP-1 sólo es estadísticamente significativo en el grupo de cirugía precoz y, como en trabajos previos publicados por otros autores, se evidencia el aumento del efecto incretínico de esta hormona tras cirugía. El aumento de los niveles de GLP-1 parece estar asociado al aumento de la población de células en el yeyuno y quizás también en el duodeno proximal. Estas células intestinales, productoras de incretinas, aumentan tanto en las cirugías de exclusión del tracto intestinal anterior (Teoría del Foregut) como en aquellas que aceleran el tránsito de alimentos al intestino posterior (Teoría Hindgut) e incluso en las cirugías meramente restrictivas (como en la GV), por lo que el entusiasmo inicial de atribuir todos los cambios metabólicos al GLP-1 ha disminuido.(332) De hecho, como el GLP-1 aumenta en todas las anteriores situaciones mencionadas, se ha sugerido que debe existir un mecanismo adicional que promueva el aumento de GLP-1 tras cirugía.

Sin embargo, es evidente el beneficio de niveles aumentados de GLP-1 en el metabolismo de la glucosa. De hecho, los primeros estudios que señalaron a esta hormona como responsable principal de la mejoría metabólica se vieron apoyadas por las líneas de investigación que culminaron con el desarrollo de fármacos de la familia de los análogos de GLP-1. El mayor representante de esta familia de medicamentos para el tratamiento de la DM2 es el Exenatide.(204) El Exenatide incrementa la función de células  $\beta$ , a través de la mejora de la secreción del Péptido C hasta 2,5 veces más que su producción basal, después de 1 año de tratamiento. Estos resultados demostraron ser mejores que la insulino terapia.(207) Claro está, siempre y cuando exista reserva pancreática, ya que en caso contrario, es decir sin reserva de masa celular  $\beta$ , el efecto del exenatide queda abolido.(311) Este mismo razonamiento

se observa en nuestros resultados, donde la elevación del GLP-1 es sólo representativa en el grupo de cirugía precoz y va disminuyendo en el tiempo. En resumen, se esperan cambios futuros en las teorías actuales que señalan al GLP-1 como “único” responsable de la mejoría de la glucemia, cuando en realidad es sólo un eslabón más de la cadena de la fisiopatología de la DM2.

El GIP: otra hormona incretínica que modifica sus valores tras cirugía es el Péptido Insulinotrópico Dependiente de la Glucosa (GIP). Esta hormona se secreta fundamentalmente por las células K del intestino. La función del GIP es inducir la secreción de insulina, que es estimulada principalmente por la hiperosmolaridad de glucosa en la luz intestinal.(65) Los pacientes diabéticos tienen niveles más bajos de secreción de GIP comparados con un sujeto no diabético. Además el GIP aumenta la secreción de glucagón en pacientes con DM2 y esto, evidentemente, puede compensar el efecto insulinotrópico del GIP.(209) Es quizás por esta causa que el GIP presenta resultados dispares entre los diferentes estudios que han tratado de analizar su efecto en modelos experimentales de DM2. Hay trabajos que describen aumento del GIP tras cirugía, mientras que otros describen disminución y algunos valores que no se modifican con la manipulación intestinal.(333) En nuestro estudio no hay evidencia de diferencias estadísticas entre los niveles de GIP en ratas con Exclusión Duodenal versus ratas Sham, por lo que no podemos establecer conclusiones que expliquen la labor del GIP en el efecto anti-diabético después derivación intestinal.

El Glucagón: las ratas GK así como los pacientes con DM2 tienen típicamente hiperglucagonemia que contribuye a la hiperglucemia postprandial. Es desconcertante ver que la disminución de la glucemia

postprandial después de cirugías que excluyen el paso de alimentos por el intestino anterior no se acompaña de una disminución del glucagón, sino por el contrario de un aumento de sus valores. De hecho, este fenómeno se describe como paradójico, ya que el aumento en el glucagón se produce a pesar del marcado aumento del GLP-1 que actúa como hormona intestinal contrareguladora del glucagón y en presencia de hiperinsulinemia, puesto que la insulina en sí misma, también actúa como hormona contrareguladora de las células  $\alpha$  del páncreas.(334)

El origen de este aumento de glucagón no está claro. La correlación entre la RI hepática y la respuesta de glucagón apoya que exista un papel en esta concordancia que aún no se ha descubierto. La explicación más aceptada pasa por el hecho de que la hiperinsulinemia genera también RI de las células  $\alpha$  del páncreas y ello evita que estas células tengan su control por retroalimentación. Cabe destacar que en el páncreas endocrino el receptor de glucagón se expresa fundamentalmente en la célula  $\beta$  pancreática, lo cual sugiere que existe una fuerte interacción paracrina bidireccional entre la célula  $\alpha$  y la célula  $\beta$ .(334-336) Este planteamiento se fundamenta en que si en la DM2 existe RI en la propia célula  $\beta$ , del mismo modo, se podría asumir que un fenómeno similar ocurre en las células  $\alpha$ , lo cual llevaría a una incapacidad para controlar la secreción de glucagón mediada por insulina. Por lo tanto, se puede plantear la posibilidad de que exista una célula  $\alpha$  fuera del control de la retroalimentación, lo que no queda claro es si este evento puede ser un defecto temprano que precede a la génesis del defecto secretor de insulina o pueda surgir de forma concomitante.(334)

Así mismo, la RI es la responsable de que no se frene la producción de glucosa por el hígado tras las comidas (neoglucogénesis hepática),

originando en el sujeto con DM2 una doble presencia de glucosa en sangre: la ingerida con los alimentos y la producida con su hígado. Esto lleva a una constante hiperglucemia, que luego es enmascarada por la hiperinsulinemia compensatoria, que esconde por años la elevada concentración de glucosa en sangre, pero que produce colesterol y triglicéridos en sangre elevados, hígado graso, aumento de peso y un largo etc. Durante el estado de post-absorción (10-12 horas de ayuno durante la noche), la producción de glucosa hepática depende de un delicado equilibrio entre la secreción basal de glucagón (efecto estimulante), y la secreción de insulina basal (efecto inhibidor). Aproximadamente el 75% del efecto total depende de la acción estimuladora de glucagón.(24)

Aunque también se debe considerar que el glucagón estándar que se mide en las pruebas de inmunoensayo tiene limitaciones en cuanto a su capacidad para discriminar entre glucagón de origen pancreático y el procedente de otras fuentes. No obstante, en nuestro estudio los niveles elevados de glucagón sólo son significativos en el grupo de cirugía tardía, sin que podamos establecer un criterio de beneficio o perjuicio en este sentido. Estudios más amplios de hormonas contrarreguladoras del metabolismo glucídico quizás puedan revelar más información.(336)

El PYY: el Péptido YY (PYY) es un conocido factor de saciedad que se ha postulado como responsable para mediar en la reducción del apetito y la mejora de la saciedad tras cirugía metabólica. En el trabajo de Speck(240) las ratas que fueron sometidas a DJB presentaron niveles elevados de insulina en plasma y también fueron altos los niveles de GLP-1 en comparación con el grupo de tratamiento simulado. Sin embargo, los niveles plasmáticos del PYY fueron similares entre los grupos. En nuestro estudio es difícil establecer un efecto asociado al PYY, ya que los valores

intergrupo fueron contradictorios, con aumento del PYY en el grupo Sham en cirugía intermedia y aumento en el grupo ED en cirugía tardía. Posteriormente al realizar el análisis intragrupo (antes y después en las ratas operadas con exclusión) no se evidencian cambios significativos, por lo que no podemos afirmar que exista evidencia de que los cambios en los niveles PYY puedan contribuir directamente en las mejoras postquirúrgicas en la glucosa.

El Péptido C: la pro-insulina o Péptido C es considerado un marcador fiable de la secreción de insulina pancreática y estudios recientes lo consideran un parámetro representativo de la función de las células  $\beta$  del páncreas. Los sujetos con DM2 presentan niveles elevados de Péptido C (>3,75 ng/dl) más alteración en la tolerancia a la glucosa e hiperinsulinismo, como probable manifestación de una disfunción de las células  $\beta$ . Se supone que niveles aumentados de Péptido C implican un aumento de la demanda a las células  $\beta$  para que aumenten la producción de insulina. Las células  $\beta$ , en un intento de compensar esta elevada demanda, inician un procesamiento post-traducciona defectuoso con la secreción de gránulos de hormona antes de que el mecanismo de producción se haya completado. De ahí que niveles elevados de Péptido C traduzcan un mayor defecto de la actividad  $\beta$  pancreática.(337;338)

Ahora bien, los pacientes diabéticos que presentan elevación de Péptido C suelen ser aquellos con presencia de obesidad. Por lo tanto, la hipersecreción de Péptido C en pacientes obesos con diabetes es un reflejo de la RI periférica a la insulina, más que una disfunción de las células  $\beta$  pancreáticas, ya que al no ingresar insulina al medio intracelular, este defecto se traduce como niveles bajos de insulina y se dispara su producción. Pero en realidad no hay niveles bajos de insulina sino todo lo

contrario, hiperinsulinismo debido a la RI. Sin embargo, en los sujetos diabéticos no obesos parece que los niveles de Péptido C no se disparan y se mantienen estables durante largos períodos de tiempo.(339) Este efecto se corresponde con los hallazgos en este estudio, sobre todo en el grupo de intervención precoz, donde los niveles de Péptido C se encuentran dentro del rango de la normalidad y no parece evidenciarse diferencia entre los niveles preoperatorios y los postoperatorios. Así mismo, los valores intra e intergrupos del Péptido C no han supuesto un factor que influyera sobre los valores de normogluemia en los sujetos con Exclusión Duodenal.

No obstante, a este respecto hay que hacer un inciso. El principal valor de los resultados del Péptido C en este estudio radica en observar y evaluar la alteración que se produce en el tiempo, con la evolución natural de la enfermedad. Este hecho lo observamos en la evolución de los niveles en las ratas Sham, donde la progresión de la enfermedad arroja valores en descenso de Péptido C. Sin embargo, en las ratas con ED no son concluyentes, pues tras cirugía no se evidencia aumento concomitante de esta prehormona. Lo que sí podemos evidenciar es que los niveles pre y postoperatorios no cambian significativamente debido a la cirugía y que es evidente que los valores de Péptido C se presentan más estables en las ratas intervenidas precozmente en comparación con las ratas intervenidas de forma tardía. Las ratas intervenidas de forma tardía tienen valores bajos de Péptido C y ello puede explicar que la recuperación de los efectos diabetógenos sea menor en este grupo. De hecho, este resultado resalta una premisa que se comenta en estudios como el de Ramos-Leví en 2013,(340) donde se considera que los valores de Péptido C preoperatorios son predictivos de los resultados que se obtendrán tras

cirugía. Esta situación ha llevado a postular que enfermos con datos de Péptido C muy bajos no deberían someterse a cirugía pues el poco beneficio no justifica el riesgo quirúrgico. Esto es debido a que el fallo en la célula  $\beta$  es tal que la manipulación quirúrgica no logrará recuperar la condición del enfermo. En este tema, al igual que en otros apartados, son necesarios más estudios.

El TNFa: la evolución sobre el concepto de la DM2 como una enfermedad inflamatoria es un enfoque llamativo y novedoso para la comprensión de esta enfermedad. Es evidente que la inflamación crónica de bajo grado juega un papel importante en la patogénesis de la DM2. De hecho, ya se ha demostrado que individuos diabéticos cursan con niveles elevados de marcadores inflamatorios en comparación con sujetos no diabéticos, independientemente de su volumen de masa corporal u obesidad.(117;118) Los marcadores más estudiados son la Proteína C Reactiva (PCR) y citocinas proinflamatorias tales como el Factor de Necrosis Tumoral  $\alpha$  (TNFa) y la interleukina-6 (IL-6). Otros marcadores que se han estudiado son: el ácido siálico, la glicoproteína ácida  $\alpha$ -1, el cortisol y la interleukina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ). (114;341) En todos ellos puede establecerse un nexo con la presencia de RI y asociar la insulinoresistencia con la génesis de la DM2. Todo ello sugiere que la DM2 en el obeso puede ser una enfermedad inflamatoria, pero cuyos mecanismos aún no se han descubierto.(342)

Entre los marcadores inflamatorios, el TNFa ha sido de los primeros en estudiarse a fondo. Las primeras investigaciones siempre apuntaban a la presencia de TNFa asociada a obesidad y a la RI.(117;343) Ello es debido a que el TNFa también se expresa abundantemente en el tejido adiposo humano y diversos experimentos han demostrado que su concentración

en plasma en sujetos obesos disminuye después de la pérdida de peso.(344)

Pero el TNFa también tiene la capacidad de estimular la RI no asociada a obesidad. En primer lugar el TNFa puede por sí mismo inactivar la actividad del receptor de la insulina. Ello se demuestra en los estados con RI asociados a procesos inflamatorios agudos como los estados de sepsis.(343;345) El desarrollo de RI en esta situación deriva en un aumento de la gluconeogénesis hepática y una disminución en la captación de glucosa a nivel periférico.(113;118) De hecho, en los seres humanos, la presencia de un polimorfismo del promotor de TNFa (G-308A) está asociada con concentraciones de TNFa aumentado en el plasma y un 1,8 veces mayor riesgo de desarrollar diabetes en comparación con los no portadores de esa variedad genética.(114;342;346) Por tanto, se pensó que la administración exógena de TNFa a sujetos experimentales podría inducir resistencia a la insulina, mientras que la neutralización del mismo a través de anticuerpos puede mejorar la sensibilidad a la hormona.(343) Aunque la evidencia actual sugiere que la neutralización de TNFa en los sujetos con DM2 no es suficiente para causar una mejora metabólica, lo que sí es evidente es que la presencia del TNFa en sujetos con DM2 habla a favor de 2 eventos: inflamación crónica y daño a la célula  $\beta$ . Quizás bloquear los receptores de TNFa no haya podido mostrarse como una diana terapéutica, pero se postula que sí podría utilizarse como marcador de evolución de la enfermedad como ya lo han demostrado marcadores como la PCR y la IL-6, que son de utilidad para predecir el desarrollo de la DM2 en adultos caucásicos, no fumadores.

Basándonos en este análisis, no podemos pasar por alto los hallazgos encontrados en el estudio, donde en las ratas sometidas a Exclusión



Duodenal se detectó TNFa en menor proporción que en las ratas Sham. Además se evidenció que intervenir en un período precoz de la enfermedad tiene mejor respuesta antiinflamatoria que operar de forma tardía, donde la recuperación de ese estado inflamatorio es menor. Al calcular el riesgo relativo de presentar inflamación asociada a TNFa, se evidenció que la cirugía representa un evento protector, con lo cual se retoma la teoría de definir la DM2 no asociada a obesidad como enfermedad inflamatoria.

Cambios histológicos: en el presente estudio se complementaron los hallazgos de los valores bioquímicos con características histológicas. Se ha descrito que una característica fundamental de los pacientes diabéticos obesos es la esteatosis hepática y con la observación de diferentes cortes del hígado de nuestros animales hemos podido mostrar que dicho fenómeno no se evidencia en ninguno de los grupos temporales.

El principal hallazgo es la evidencia de regeneración de células  $\beta$  de los islotes de Langerhans del páncreas después de la cirugía de Exclusión Duodenal. De hecho, tras la cirugía aumentó el número de islotes y el número de células  $\beta$  en las ratas con cirugía metabólica en comparación con las ratas con cirugía simulada. La proliferación de células  $\beta$  se puso en evidencia gracias al marcador inmunohistoquímico Nkx6.1.(294) Además, el grado de daño inicial que mostraba el páncreas de una rata diabética determinaba el grado de su recuperación. Es decir, a mayor daño pancreático (más exposición a la enfermedad, característica del grupo de intervención tardía) menor capacidad de regeneración celular. Esta recuperación disminuida también se correlaciona con los valores séricos en dicho grupo, donde se apreció menor recuperación de los valores de glucemia e insulinemia y menores niveles de Péptido C.

Otra característica histológica que se observa en los cortes de páncreas de las ratas Sham y de las operadas con Exclusión Duodenal es la desestructuración de la arquitectura del islote a medida que evoluciona la enfermedad. De hecho, en las ratas Sham y en las ratas del grupo tardío se observa mayor desestructuración, la cual suponemos se asocia a la infiltración linfocitaria y al mayor depósito de amiloide. La desestructuración no es una simple característica del islote, sino que es probable que tenga una repercusión funcional, ya que aunque las ratas con Exclusión Duodenal recuperan parte de su masa celular  $\beta$  (mayor número de núcleos celulares  $\beta$ ) es evidente que la forma redondeada y fisiológica del islote no puede recuperarse. Es muy probable que esto se deba al efecto del amiloide depositado en el islote, el cual no se elimina una vez instalado, ni siquiera tras cirugía. Es probable que estos depósitos ocupen un espacio que limiten el aumento de la masa celular pancreática; aunque la célula  $\beta$  conserve su plasticidad, no encuentra espacio físico para regenerarse. De hecho, se ha demostrado que la producción de amilina se llega a suprimir tras cirugía bariátrica como el bypass intestinal, pero no en la gastrectomía vertical(212), con lo que se hace tangible que el efecto protector del reordenamiento intestinal prevalece sobre la restricción calórica, al menos en este aspecto de la enfermedad. Es muy probable que la ocupación del páncreas por amiloide sea la causa de la falta de recuperación de la DM2 en pacientes con enfermedad de larga data, y no una insuficiencia *per se* de células  $\beta$ , pues ya hemos visto que éstas conservan su capacidad de regeneración por mucho tiempo.

También se han podido observar de forma somera cambios en las vellosidades intestinales a nivel de la porción de yeyuno que se anastomosa con el estómago. Esto se traduce como una intensa labor del

sistema neuroendocrino del intestino y la ya demostrada elevación del GLP-1. Más resultados con respecto a los hallazgos histológicos se detallan en una segunda parte de este proyecto de investigación, donde se describen los efectos de la Exclusión Duodenal en órganos implicados en el metabolismo glucídico tales como el riñón, las arterias y el hígado.(347)

En resumen, todos los factores expuestos en este estudio ponen de manifiesto que la DM2 es una enfermedad multifactorial donde un sólo elemento no explica su patogénesis y por lo tanto la modificación de un solo componente de la cadena no producirá una recuperación adecuada y mantenida en el tiempo de la enfermedad. Si bien el reordenamiento de la anatomía intestinal *per se* logra mejorar los valores de glucemia, la influencia intestinal se vería insuficiente sino se viera apoyada por una recuperación de la funcionalidad del páncreas. Sobre el tema de la DM2 en sujetos no obesos aún quedan muchos elementos por dilucidar, pero es evidente que aunque sus mecanismos difieren de forma importante de la génesis de la DM2 de los pacientes obesos, tanto unos como otros se ven beneficiados de una actitud quirúrgica temprana. No obstante, esto no significa que abogamos a generalizar la propuesta de cirugía a la población en general afectada de DM2. Nuestro planteamiento viene a exponer que aún hoy se necesitan muchos estudios a nivel experimental para llegar a dilucidar la patogénesis de la enfermedad y por tanto poder ofrecer a los enfermos el tratamiento idóneo.



## CONCLUSIONES

La técnica diseñada ha sido la:

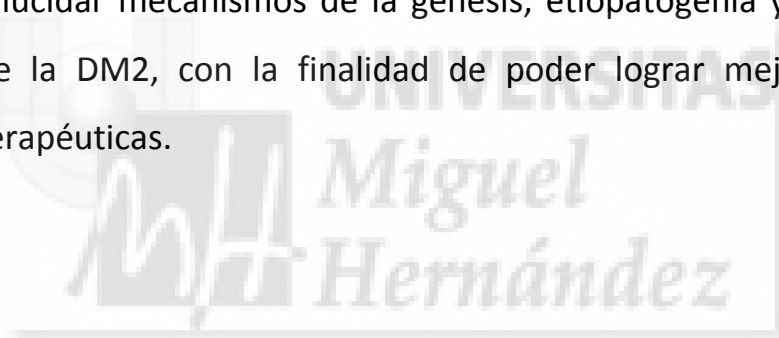
***Exclusión Duodenal a través de bypass gastro-intestinal de una sola anastomosis en asa omega. Preservación de cámara gástrica y con variante de tubo reverso gástrico como elemento anti-reflujo biliar.***

La Exclusión Duodenal con las modificaciones propuestas ha logrado mejorar los niveles de glucemia en la rata GK sin modificar el peso, que fue el planteamiento principal de nuestro estudio. De hecho, la nueva técnica ha logrado corregir la hiperglucemia presente en los animales de forma espontánea, sin que los mismos den muestras de malnutrición.

- La Exclusión Duodenal ha demostrado reducir los niveles de glucemia en ratas Goto Kakizaki (modelo experimental de rata diabética no obesa), sin afectar el peso.
- Con la ejecución de la Exclusión Duodenal se han generado diferencias significativas en los agentes metabólicos plasmáticos habitualmente implicados en la regulación de los niveles de glucemia antes y después de la intervención, y comparativamente con los controles. De entre las variables estudiadas, la insulinemia y el TNFa, son las que arrojan resultados más representativos.
- La exposición prolongada a la enfermedad empeora los valores plasmáticos e histológicos y merma la capacidad de la técnica de lograr resultados beneficiosos.
- La Exclusión Duodenal ha logrado cambios histológicos fundamentalmente a nivel del páncreas de los sujetos

intervenidos en relación a los controles. Cambios en otros tejidos también se han puesto en evidencia como una mayor proliferación de vellosidades intestinales.

- Los niveles de glucemia dentro del rango de la normalidad, mantenidos en el tiempo después de la cirugía, regeneran y mejoran la capacidad funcional de las células  $\beta$  del páncreas, logrando incluso revertir la característica diabetógena inicial del modelo experimental animal escogido para este estudio.
- Con este trabajo se pone en evidencia que son necesarios un mayor número de estudios a nivel experimental que permitan dilucidar mecanismos de la génesis, etiopatogenia y progresión de la DM2, con la finalidad de poder lograr mejores dianas terapéuticas.



## BIBLIOGRAFÍA

- (1) American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes. Diabetes Care. 2014. 37[supl. 1], 14-80.
- (2) International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas. Sixth Edition.[2014.]. Brussels, Belgium., Disponible en: <http://www.idf.org/diabetesatlas>.
- (3) Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. Diabetes Res Clin Pract 2010 Jan;87(1):4-14.
- (4) Andreelli F, Amouyal C, Magnan C, Mithieux G. What can bariatric surgery teach us about the pathophysiology of type 2 diabetes? Diabetes Metab 2009 Dec;35(6 Pt 2):499-507.
- (5) Lakdawala M, Bhasker A. Report: Asian Consensus Meeting on Metabolic Surgery. Recommendations for the use of Bariatric and Gastrointestinal Metabolic Surgery for Treatment of Obesity and Type II Diabetes Mellitus in the Asian Population. Obes Surg. 2010;20(7):929-36.
- (6) Thomas JE, Foody JM. The Pathophysiology of Cardiovascular Disease in Diabetes Mellitus and the Future of Therapy. Journal of the CardioMetabolic Syndrome 2007 Feb 1;2(2):108-13.
- (7) Rubino F, Gagner M. Potential of surgery for curing type 2 diabetes mellitus. Ann Surg 2002 Nov;236(5):554-9.
- (8) Pinkney J, Kerrigan D. Current status of bariatric surgery in the treatment of type 2 diabetes. Obes Rev 2004 Feb;5(1):69-78.
- (9) 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 1995 Sep;222(3):339-50.
- (10) Lebovitz HE. Insulin resistance--a common link between type 2 diabetes and cardiovascular disease. Diabetes Obes Metab 2006 May;8(3):237-49.
- (11) Rubino F. Is type 2 diabetes an operable intestinal disease? A provocative yet reasonable hypothesis. Diabetes Care 2008 Feb;31 Suppl 2:S290-S296.
- (12) Rubino F, Shukla A, Pomp A, Moreira M, Ahn SM, Dakin G. Bariatric, metabolic, and diabetes surgery: what's in a name? Ann Surg 2014 Jan;259(1):117-22.
- (13) Cummings DE, Overduin J, Foster-Schubert KE. Gastric bypass for obesity: mechanisms of weight loss and diabetes resolution. J Clin Endocrinol Metab 2004 Jun;89(6):2608-15.
- (14) Dixon JB. Obesity and diabetes: the impact of bariatric surgery on type-2 diabetes. World J Surg 2009 Oct;33(10):2014-21.
- (15) Rubino F. From bariatric to metabolic surgery: definition of a new discipline and implications for clinical practice. Curr Atheroscler Rep 2013 Dec;15(12):369.

- (16) Patrity A, Aisa MC, Annetti C, Sidoni A, Galli F, Ferri I, et al. How the hindgut can cure type 2 diabetes. Ileal transposition improves glucose metabolism and beta-cell function in Goto-kakizaki rats through an enhanced Proglucagon gene expression and L-cell number. *Surgery* 2007 Jul;142(1):74-85.
- (17) Pacheco D, de Luis DA, Romero A, Gonzalez SM, Conde R, Izaola O, et al. The effects of duodenal-jejunal exclusion on hormonal regulation of glucose metabolism in Goto-Kakizaki rats. *Am J Surg* 2007 Aug;194(2):221-4.
- (18) Rubino F, Zizzari P, Tomasetto C, Bluet-Pajot MT, Forgione A, Vix M, et al. The role of the small bowel in the regulation of circulating ghrelin levels and food intake in the obese Zucker rat. *Endocrinology* 2005 Apr;146(4):1745-51.
- (19) Cohen RV, Rubino F, Schiavon C, Cummings DE. Diabetes remission without weight loss after duodenal bypass surgery. *Surg Obes Relat Dis* 2012 Sep;8(5):e66-e68.
- (20) 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 Mar;63(3):1069-78.
- (21) Hickey MS, Pories WJ, MacDonald KG, Jr., Cory KA, Dohm GL, Swanson MS, et al. A new paradigm for type 2 diabetes mellitus: could it be a disease of the foregut? *Ann Surg* 1998 May;227(5):637-43.
- (22) Patrity A, Facchiano E, Sanna A, Gulla N, Donini A. The enteroinsular axis and the recovery from type 2 diabetes after bariatric surgery. *Obes Surg* 2004 Jun;14(6):840-8.
- (23) Taylor R. Pathogenesis of type 2 diabetes: tracing the reverse route from cure to cause. *Diabetologia* 2008 Oct;51(10):1781-9.
- (24) Carrera Boada CA, Martinez-Moreno JM. Pathophysiology of diabetes mellitus type 2: beyond the duo "insulin resistance-secretion deficit". *Nutr Hosp* 2013 Mar;28 Suppl 2:78-87.
- (25) Ferrannini E, Mingrone G. Impact of different bariatric surgical procedures on insulin action and beta-cell function in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2009 Mar;32(3):514-20.
- (26) Nannipieri M, Mari A, Anselmino M, Baldi S, Barsotti E, Guarino D, et al. The role of beta-cell function and insulin sensitivity in the remission of type 2 diabetes after gastric bypass surgery. *J Clin Endocrinol Metab* 2011 Sep;96(9):E1372-E1379.
- (27) Movassat J, Calderari S, Fernandez E, Martin MA, Escriva F, Plachot C, et al. Type 2 diabetes - a matter of failing beta-cell neogenesis? Clues from the GK rat model. *Diabetes Obes Metab* 2007 Nov;9 Suppl 2:187-95.
- (28) Portha B, Lacraz G, Kergoat M, Homo-Delarche F, Giroix MH, Bailbe D, et al. The GK rat beta-cell: a prototype for the diseased human beta-cell in type 2 diabetes? *Mol Cell Endocrinol* 2009 Jan 15;297(1-2):73-85.



- (29) Service GJ, Thompson GB, Service FJ, Andrews JC, Collazo-Clavell ML, Lloyd RV. Hyperinsulinemic hypoglycemia with nesidioblastosis after gastric-bypass surgery. *N Engl J Med* 2005 Jul 21;353(3):249-54.
- (30) Kellogg TA, Bantle JP, Leslie DB, Redmond JB, Slusarek B, Swan T, et al. Postgastric bypass hyperinsulinemic hypoglycemia syndrome: characterization and response to a modified diet. *Surg Obes Relat Dis* 2008 Jul;4(4):492-9.
- (31) Fried M, Ribaric G, Buchwald JN, Svacina S, Dolezalova K, Scopinaro N. Metabolic surgery for the treatment of type 2 diabetes in patients with BMI <35 kg/m<sup>2</sup>: an integrative review of early studies. *Obes Surg* 2010 Jun;20(6):776-90.
- (32) Rubino F, Kaplan LM, Schauer PR, Cummings DE. The Diabetes Surgery Summit consensus conference: recommendations for the evaluation and use of gastrointestinal surgery to treat type 2 diabetes mellitus. *Ann Surg* 2010 Mar;251(3):399-405.
- (33) Rubio MA, Monereo S, Lecube A, Resa J, Masdevall C, de IC, V, et al. Joint Position Statement of the SEEN-SECO-SEEDO-SED Societies on metabolic surgery for type 2 diabetes mellitus. *Endocrinol Nutr* 2013 Dec;60(10):547-8.
- (34) Reis CE, varez-Leite JI, Bressan J, Alfenas RC. Role of bariatric-metabolic surgery in the treatment of obese type 2 diabetes with body mass index <35 kg/m<sup>2</sup>: a literature review. *Diabetes Technol Ther* 2012 Apr;14(4):365-72.
- (35) Scharf K, Morton J. Metabolic surgery for type 2 diabetes in BMI <35: a surgeon's view. *Obes Surg* 2014 Jan;24(1):144-5.
- (36) Cohen R. Metabolic surgery: who and when? Is there a good answer? *Nutr Hosp* 2013 Mar;28 Suppl 2:14-6.
- (37) Kaiser N, Leibowitz G, Neshar R. Glucotoxicity and beta-cell failure in type 2 diabetes mellitus. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2003 Jan;16(1):5-22.
- (38) Saber AA, Elgamal MH, McLeod MK. Bariatric surgery: the past, present, and future. *Obes Surg* 2008 Jan;18(1):121-8.
- (39) Vidal P, Ramón José M, Goday A, Benaiges D, Trillo L, Parri A, et al. Laparoscopic Gastric Bypass Versus Laparoscopic Sleeve Gastrectomy as a Definitive Surgical Procedure for Morbid Obesity. Mid-Term Results. *Obes Surg*. 2013;23(3):292-9.
- (40) Zimmet PZ, Magliano DJ, Herman WH, Shaw JE. Diabetes: a 21st century challenge. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2014. Jan;2(1):56-64.
- (41) Kahn SE, Cooper ME, Del Prato S. Pathophysiology and treatment of type 2 diabetes: perspectives on the past, present, and future. *Lancet*.2014;383:1068-83.
- (42) Timsit J, Bellanne-Chantelot C, Dubois-Laforgue D, Velho G. Diagnosis and management of maturity-onset diabetes of the young. *Treat Endocrinol* 2005;4(1):9-18.
- (43) Kavvoura FK, Owen KR. Maturity onset diabetes of the young: clinical characteristics, diagnosis and management. *Pediatr Endocrinol Rev* 2012 Dec 20;10(2):234-42.

- (44) Brophy S, Davies H, Mannan S, Brunt H, Williams R. Interventions for latent autoimmune diabetes (LADA) in adults. *Cochrane Database Syst Rev* 2011;(9):CD006165.
- (45) Pollak C, Vásquez A. Diabetes autoinmune (latente) del adulto. *Revista médica de Chile* 2012;140:1476-81.
- (46) Cernea S, Buzzetti R, Pozzilli P. Beta Cell Protection and Therapy for Latent Autoimmune Diabetes in Adults. *Diabetes Care* 2009 Nov 1;32(suppl 2):S246-S252.
- (47) Weiss PA, Scholz HS, Haas J, Tamussino KF, Seissler J, Borkenstein MH. Long-term follow-up of infants of mothers with type 1 diabetes: evidence for hereditary and nonhereditary transmission of diabetes and precursors. *Diabetes Care* 2000 Jul 1;23(7):905-11.
- (48) Borges-Martins L, Betea D, Daly A, Beckers A. [Secondary forms of diabetes mellitus associated with endocrine diseases]. *Rev Med Liege* 2005 May;60(5-6):442-7.
- (49) Gomez-Peralta F, Abreu PC. Do we need new treatments for type 2 diabetes? *Endocrinol Nutr* 2014 Jun;61(6):323-8.
- (50) Iglesias González R, Barutell Rubio L, Artola Menéndez S, Serrano Martín R. Resumen de las recomendaciones de la ADA 2014 para la práctica clínica en el manejo de la Diabetes Mellitus. *ADA Pub.*2014. 05[Supl. Extra. 2], 1-24.
- (51) Infante Campos A, et al. Guía práctica clínica sobre Diabetes Mellitus tipo 2. Sistema de publicaciones del gobierno vasco. 2008. 1-45.
- (52) Encuesta Nacional de Salud, 2003. Ministerio de Sanidad y Consumo. Disponible en [http://www.msc.es/estadEstudios/estadisticas/docs/ENSE2003\\_SN.pdf](http://www.msc.es/estadEstudios/estadisticas/docs/ENSE2003_SN.pdf).
- (53) Cebolla Garrofé B. Euro Diabetes Index. Björnberg A YPA, editor. 2014. Brussels. Health Consumer Powerhouse Ltd.
- (54) Ismail-Beigi F, Moghissi E, Tiktin M, Hirsch IB, Inzucchi SE, Genuth S. Individualizing glycemic targets in type 2 diabetes mellitus: implications of recent clinical trials. *Ann Intern Med* 2011 Apr 19;154(8):554-9.
- (55) Tahrani AA, Bailey CJ, Del PS, Barnett AH. Management of type 2 diabetes: new and future developments in treatment. *Lancet* 2011 Jul 9;378(9786):182-97.
- (56) Gannon MC, Nuttall FQ. Control of blood glucose in type 2 diabetes without weight loss by modification of diet composition. *Nutr Metab (Lond)* 2006;3:16.
- (57) Pinheiro V, Canaan R, Gonzálves A. Insulinemia, Ingesta y Metabolismo Energético. *Revista chilena de nutrición* 2008;35:18-24.
- (58) Schwartz MW, Woods SC, Porte D, Seeley RJ, Baskin DG. Central nervous system control of food intake. *Nature* 2000 Apr 6;404(6778):661-71.
- (59) White MF. Insulin signaling in health and disease. *Science* 2003 Dec 5;302(5651):1710-1.

- (60) Baskin DG, Figlewicz Lattemann D, Seeley RJ, Woods SC, Porte J, Schwartz MW. Insulin and leptin: dual adiposity signals to the brain for the regulation of food intake and body weight. *Brain Research* 1999 Nov 27;848(12):114-23.
- (61) Jequier E. Leptin Signaling, Adiposity, and Energy Balance. *Ann N Y Acad Sci* 2002 Jun 1;967(1):379-88.
- (62) 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* 2006 Nov;244(5):741-9.
- (63) Escalada FJ. The physiology of glucagon-like peptide-1 and its role in the pathophysiology of type 2 diabetes mellitus. *Med Clin (Barc)* 2014;143 Suppl 2:2-7.
- (64) Sierra-Ascencio ME, Rios-Vaca A, Reza-Albarran A. Exenatide: use in humans. *Gac Med Mex* 2006 Nov;142(6):483-91.
- (65) Flatt PR. Effective surgical treatment of obesity may be mediated by ablation of the lipogenic gut hormone gastric inhibitory polypeptide (GIP): evidence and clinical opportunity for development of new obesity-diabetes drugs? *Diab Vasc Dis Res* 2007 Jun;4(2):151-3.
- (66) Rodriguez A. Novel Molecular Aspects of Ghrelin and Leptin in the Control of Adipobiology and the Cardiovascular System. *Obesity Facts* 2014;7(2):82-95.
- (67) Picot J, Jones J, Colquitt JL, Loveman E, Clegg AJ. Weight loss surgery for mild to moderate obesity: a systematic review and economic evaluation. *Obes Surg*. 2012 Sep;22(9):1496-506.
- (68) 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 Mar;122(3):248-56.
- (69) Schauer PR, Rubino F. International Diabetes Federation position statement on bariatric surgery for type 2 diabetes: implications for patients, physicians, and surgeons. *Surg Obes Relat Dis* 2011 Jul;7(4):448-51.
- (70) Buse JB, Caprio S, Cefalu WT, Ceriello A, Del PS, Inzucchi SE, et al. How do we define cure of diabetes? *Diabetes Care* 2009 Nov;32(11):2133-5.
- (71) Simoni RD, Hill RL, Vaughan M. The Discovery of Insulin: the Work of Frederick Banting and Charles Best. *Journal of Biological Chemistry* 2002 Jun 28;277(26):e15.
- (72) Bardeesy N, DePinho RA. Pancreatic cancer biology and genetics. *Nat Rev Cancer* 2002 Dec;2(12):897-909.
- (73) Slack JM. Developmental biology of the pancreas. *Development* 1995 Jun;121(6):1569-80.
- (74) Heller RS. The comparative anatomy of islets. *Adv Exp Med Biol* 2010;654:21-37.

- (75) Slack JM. Developmental biology of the pancreas. *Development* 1995 Jun;121(6):1569-80.
- (76) Madsen OD. Pancreas phylogeny and ontogeny in relation to a 'pancreatic stem cell'. *C R Biol* 2007 Jun;330(6-7):534-7.
- (77) Hagai H. Configurational anatomy of the pancreas: its surgical relevance from ontogenetic and comparative-anatomical viewpoints. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2003;10(1):48-56.
- (78) Olvera GCP. Pancreas and  $\beta$  cells: Differentiation mechanisms, morphogenesis and endocrine cellular specification. *Regeneration? Bol Med Hosp Infant Mex.* 2008.65: 306-324.
- (79) Stanger BZ, Hebrok M. Control of cell identity in pancreas development and regeneration. *Gastroenterology* 2013 Jun;144(6):1170-9.
- (80) Servitja JM, Ferrer J. Transcriptional networks controlling pancreatic development and beta cell function. *Diabetologia* 2004 Apr;47(4):597-613.
- (81) Sarkar SA, Kobberup S, Wong R, Lopez AD, Quayum N, Still T, et al. Global gene expression profiling and histochemical analysis of the developing human fetal pancreas. *Diabetologia* 2008 Feb;51(2):285-97.
- (82) Lavon N, Yanuka O, Benvenisty N. The effect of overexpression of Pdx1 and Foxa2 on the differentiation of human embryonic stem cells into pancreatic cells. *Stem Cells* 2006 Aug;24(8):1923-30.
- (83) Fajans SS, Bell GI, Polonsky KS. Molecular mechanisms and clinical pathophysiology of maturity-onset diabetes of the young. *N Engl J Med* 2001 Sep 27;345(13):971-80.
- (84) Stoffers DA, Kieffer TJ, Hussain MA, Drucker DJ, Bonner-Weir S, Habener JF, et al. Insulinotropic glucagon-like peptide 1 agonists stimulate expression of homeodomain protein IDX-1 and increase islet size in mouse pancreas. *Diabetes* 2000 May;49(5):741-8.
- (85) Deutsch G, Jung J, Zheng M, Lora J, Zaret KS. A bipotential precursor population for pancreas and liver within the embryonic endoderm. *Development* 2001 Mar;128(6):871-81.
- (86) Abraham EJ, Leech CA, Lin JC, Zulewski H, Habener JF. Insulinotropic hormone glucagon-like peptide-1 differentiation of human pancreatic islet-derived progenitor cells into insulin-producing cells. *Endocrinology* 2002 Aug;143(8):3152-61.
- (87) Gradwohl G, Dierich A, LeMeur M, Guillemot F. neurogenin3 is required for the development of the four endocrine cell lineages of the pancreas. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000 Feb 15;97(4):1607-11.
- (88) Treff NR, Vincent RK, Budde ML, Browning VL, Magliocca JF, Kapur V, et al. Differentiation of embryonic stem cells conditionally expressing neurogenin 3. *Stem Cells* 2006 Nov;24(11):2529-37.

- (89) Dhawan S, Georgia S, Bhushan A. Formation and regeneration of the endocrine pancreas. *Curr Opin Cell Biol* 2007 Dec;19(6):634-45.
- (90) Talchai C, Xuan S, Lin HV, Sussel L, Accili D. Pancreatic beta cell dedifferentiation as a mechanism of diabetic beta cell failure. *Cell* 2012 Sep 14;150(6):1223-34.
- (91) Servitja JM, Ferrer J. Transcriptional networks controlling pancreatic development and beta cell function. *Diabetologia* 2004;47(4):597-613.
- (92) Ferrer J, Martin M, Servitja JM. Putting pancreatic cell plasticity to the test. *J Clin Invest* 2007 Apr;117(4):859-62.
- (93) Sarkar SA, Kobberup S, Wong R, Lopez AD, Quayum N, Still T, et al. Global gene expression profiling and histochemical analysis of the developing human fetal pancreas. *Diabetologia* 2008 Feb;51(2):285-97.
- (94) Ferrannini E. The stunned beta cell: a brief history. *Cell Metab* 2010 May 5;11(5):349-52.
- (95) Weir GC, Bonner-Weir S. Five stages of evolving beta-cell dysfunction during progression to diabetes. *Diabetes* 2004 Dec;53 Suppl 3:S16-S21.
- (96) Xu X, D'Hoker J, Stange G, Bonne S, De LN, Xiao X, et al. Beta cells can be generated from endogenous progenitors in injured adult mouse pancreas. *Cell* 2008 Jan 25;132(2):197-207.
- (97) Dor Y, Brown J, Martinez OI, Melton DA. Adult pancreatic beta-cells are formed by self-duplication rather than stem-cell differentiation. *Nature* 2004 May 6;429(6987):41-6.
- (98) Thorel F, Nepote V, Avril I, Kohno K, Desgraz R, Chera S, et al. Conversion of adult pancreatic alpha-cells to beta-cells after extreme beta-cell loss. *Nature* 2010 Apr 22;464(7292):1149-54.
- (99) Xu G, Stoffers DA, Habener JF, Bonner-Weir S. Exendin-4 stimulates both beta-cell replication and neogenesis, resulting in increased beta-cell mass and improved glucose tolerance in diabetic rats. *Diabetes* 1999 Dec;48(12):2270-6.
- (100) Bramswig NC, Everett LJ, Schug J, Dorrell C, Liu C, Luo Y, et al. Epigenomic plasticity enables human pancreatic alpha to beta cell reprogramming. *J Clin Invest* 2013 Mar 1;123(3):1275-84.
- (101) Poirout V, Robertson RP. Glucolipotoxicity: fuel excess and beta-cell dysfunction. *Endocr Rev* 2008 May;29(3):351-66.
- (102) Weir GC, Bonner-Weir S. Islet beta cell mass in diabetes and how it relates to function, birth, and death. *Ann N Y Acad Sci* 2013 Apr 1;1281(1):92-105.
- (103) Kaiser N, Donath MY, Gross DJ, Cerasi E. Non-insulin dependent diabetes and apoptosis of beta-cells. *Journ Annu Diabetol Hotel Dieu* 1999;13-23.

- (104) Donath MY, Gross DJ, Cerasi E, Kaiser N. Hyperglycemia-induced beta-cell apoptosis in pancreatic islets of *Psammomys obesus* during development of diabetes. *Diabetes* 1999 Apr;48(4):738-44.
- (105) Kitamura T. The role of FOXO1 in [beta]-cell failure and type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol* 2013 Oct;9(10):615-23.
- (106) Halban PA, Polonsky KS, Bowden DW, Hawkins MA, Ling C, Mather KJ, et al. Beta-Cell Failure in Type 2 Diabetes: Postulated Mechanisms and Prospects for Prevention and Treatment. *J Clin Endocrinol Metab* 2014 Apr 8;99(6):1983-92.
- (107) Rützi S, Ehses JA, Sibling RA, Prazak R, Rohrer L, Georgopoulos S, et al. Low- and High-Density Lipoproteins Modulate Function, Apoptosis, and Proliferation of Primary Human and Murine Pancreatic beta Cells. *Endocrinology* 2009 Oct 1;150(10):4521-30.
- (108) Fenske WK, Pournaras DJ, Aasheim ET, Miras AD, Scopinaro N, Scholtz S, et al. Can a protocol for glycaemic control improve type 2 diabetes outcomes after gastric bypass? *Obes Surg* 2012 Jan;22(1):90-6.
- (109) Fonseca SG, Burcin M, Gromada J, Urano F. Endoplasmic reticulum stress in beta-cells and development of diabetes. *Curr Opin Pharmacol* 2009 Dec;9(6):763-70.
- (110) Lerner AG, Upton JP, Praveen PV, Ghosh R, Nakagawa Y, Igarria A, et al. IRE1alpha induces thioredoxin-interacting protein to activate the NLRP3 inflammasome and promote programmed cell death under irremediable ER stress. *Cell Metab* 2012 Aug 8;16(2):250-64.
- (111) Eizirik DL, Cardozo AK, Cnop M. The role for endoplasmic reticulum stress in diabetes mellitus. *Endocr Rev* 2008 Feb;29(1):42-61.
- (112) Maedler K, Sergeev P, Ris F, Oberholzer J, Joller-Jemelka HI, Spinas GA, et al. Glucose-induced beta cell production of IL-1beta contributes to glucotoxicity in human pancreatic islets. *J Clin Invest* 2002 Sep;110(6):851-60.
- (113) Donath MY, Shoelson SE. Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nat Rev Immunol* 2011 Feb;11(2):98-107.
- (114) Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA* 2001 Jul 18;286(3):327-34.
- (115) Pickup JC, Mattock MB, Crook MA, Chusney GD, Burt D, Fitzgerald AP. Serum sialic acid concentration and coronary heart disease in NIDDM. *Diabetes Care* 1995 Aug;18(8):1100-3.
- (116) Navarro-Gonzalez JF, Mora-Fernandez C. The role of inflammatory cytokines in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2008 Mar;19(3):433-42.
- (117) Phillips CM, Perry IJ. Does inflammation determine metabolic health status in obese and nonobese adults? *J Clin Endocrinol Metab* 2013 Oct;98(10):E1610-E1619.
- (118) Donath MY. Targeting inflammation in the treatment of type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab* 2013 Sep;15 Suppl 3:193-6.

- (119) Haataja L, Gurlo T, Huang CJ, Butler PC. Islet amyloid in type 2 diabetes, and the toxic oligomer hypothesis. *Endocr Rev* 2008 May;29(3):303-16.
- (120) Montane J, Klimek-Abercrombie A, Potter KJ, Westwell-Roper C, Bruce VC. Metabolic stress, IAPP and islet amyloid. *Diabetes Obes Metab* 2012 Oct;14 Suppl 3:68-77.
- (121) Marszalek M. Amylin under examination. Fibrillogenic polypeptide hormone of the pancreas. *Postepy Hig Med Dosw (Online)* 2014;68:29-41.
- (122) Rossetti L, Giaccari A, DeFronzo RA. Glucose toxicity. *Diabetes Care* 1990 Jun;13(6):610-30.
- (123) Unger RH, Grundy S. Hyperglycaemia as an inducer as well as a consequence of impaired islet cell function and insulin resistance: implications for the management of diabetes. *Diabetologia* 1985;28(3):119-21.
- (124) Muoio DM, Newgard CB. Mechanisms of disease: Molecular and metabolic mechanisms of insulin resistance and beta-cell failure in type 2 diabetes. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008 Mar;9(3):193-205.
- (125) Petersen KF, Shulman GI. Etiology of insulin resistance. *Am J Med* 2006 May;119(5 Suppl 1):S10-S16.
- (126) Bachar E, Ariav Y, Cerasi E, Kaiser N, Leibowitz G. Neuronal nitric oxide synthase protects the pancreatic beta cell from glucolipotoxicity-induced endoplasmic reticulum stress and apoptosis. *Diabetologia* 2010;53(10):2177-87.
- (127) Fernandez EB. [Glucolipotoxicity, resistance to the action of insulin and type 2 diabetes mellitus]. *An R Acad Nac Med (Madr)* 2007;124(3):547-56.
- (128) Kim JW, Yoon KH. Glucolipotoxicity in Pancreatic beta Cells. *Diabetes Metab J* 2011 Oct 31;35(5):444-50.
- (129) Belle SH, Berk PD, Courcoulas AP, Flum DR, Miles CW, Mitchell JE, et al. The Safety and Efficacy of Bariatric Surgery: The Longitudinal Assessment of Bariatric Surgery (LABS). *Surg Obes Relat Dis* 2007 Mar;3(2):116-26.
- (130) Gonzalez-Gonzalez JJ, Sanz-Alvarez L, Garcia BC. [Obesity in the history of surgery]. *Cir Esp* 2008 Oct;84(4):188-95.
- (131) Buchwald H, Avidor Y, Braunwald E, Jensen MD, Pories W, Fahrenbach K, et al. Bariatric surgery: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2004 Oct 13;292(14):1724-37.
- (132) Deitel M, Shahi B, Anand P, Deitel F, Cardinell D. Long-term Outcome in a Series of Jejunioleal Bypass Patients. *Obes Surg*. 1993;3(3):247-52.
- (133) Wills C, Jr. Long-term Follow-up of Jejunioleal Bypass Patients with Preoperative Cirrhosis of the Liver. *Obes Surg*. 1994;4(1):37-9.
- (134) Mason EE. Vertical banded gastroplasty for obesity. *Archives of Surgery* 1982 May 1;117(5):701-6.

- (135) Mason EE, Cullen JJ. Management of complications in vertical banded gastroplasty. *Curr Surg* 2003 Jan;60(1):33-7.
- (136) Mason EE. Development and future of gastroplasties for morbid obesity. *Arch Surg* 2003 Apr;138(4):361-6.
- (137) O'Brien PE, Dixon JB. Laparoscopic adjustable gastric banding in the treatment of morbid obesity. *Archives of Surgery* 2003 Apr 1;138(4):376-82.
- (138) Gagner M, Gumbs A. Gastric banding: Conversion to sleeve, bypass, or DS. *Surg Endosc* 2007;21(11):1931-5.
- (139) Gagner M, Gentileschi P, de CJ, Kini S, Patterson E, Inabnet WB, et al. Laparoscopic reoperative bariatric surgery: experience from 27 consecutive patients. *Obes Surg* 2002 Apr;12(2):254-60.
- (140) Tucker ON, Szomstein S, Rosenthal RJ. Indications for Sleeve Gastrectomy as a Primary Procedure for Weight Loss in the Morbidly Obese. *J Gastrointest Surg* 2008;12(4):662-7.
- (141) Gagner M, Deitel M, Erickson A, Crosby R. Survey on laparoscopic sleeve gastrectomy (LSG) at the Fourth International Consensus Summit on Sleeve Gastrectomy. *Obes Surg*. 2013;23(12):2013-7.
- (142) Fobi MA, Lee H, Holness R, Cabinda D. Gastric bypass operation for obesity. *World J Surg* 1998 Sep;22(9):925-35.
- (143) Müller MK, Rñider S, Wildi S, Hauser R, Clavien PA, Weber M. Long-term follow-up of proximal versus distal laparoscopic gastric bypass for morbid obesity. *Br J Surg* 2008 Nov 1;95(11):1375-9.
- (144) Abellan I, Luj+ín J, Frutos MD, Abrisqueta J, Hern+índez Q, L+!pez V, et al. The influence of the percentage of the common limb in weight loss and nutritional alterations after laparoscopic gastric bypass. *Surgery for Obesity and Related Diseases*10(5):829-33.
- (145) Scopinaro N, Marinari G, Camerini G. Laparoscopic Standard Biliopancreatic Diversion: Technique and Preliminary Results. *Obes Surg*. 2002;12(2):241-4.
- (146) Scopinaro N, Papadia F, Marinari G, Camerini G, Adami G. Long-term control of type 2 diabetes mellitus and the other major components of the metabolic syndrome after biliopancreatic diversion in patients with BMI < 35 kg/m<sup>2</sup>. *Obes Surg* 2007 Feb;17(2):185-92.
- (147) Larrad JA, Alvarez MP, Fernandez MP, Cano P, Jimenez O, V, Esquifino AI. Larrad biliopancreatic diversion. Description of a rat experimental model. *Cir Esp* 2008 Feb;83(2):89-92.
- (148) Marceau P, Biron S, Bourque RA, Potvin M, Hould FdrS, Simard S. Biliopancreatic Diversion with a New Type of Gastrectomy. *Obes Surg*. 1993;3(1):29-35.
- (149) Hess DS, Hess DW. Biliopancreatic diversion with a duodenal switch. *Obes Surg* 1998 Jun;8(3):267-82.



- (150) Marceau P, Hould FS, Potvin M, Lebel S, Biron S. Biliopancreatic diversion (duodenal switch procedure). *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999 Feb;11(2):99-103.
- (151) Baltasar A, del RJ, Escriva C, Arlandis F, Martinez R, Serra C. Preliminary results of the duodenal switch. *OBES SURG* 1997 Dec;7(6):500-4.
- (152) Rutledge R. The mini-gastric bypass: experience with the first 1,274 cases. *Obes Surg* 2001 Jun;11(3):276-80.
- (153) Lee WJ, Wang W, Lee YC, Huang MT, Ser KH, Chen JC. Effect of laparoscopic mini-gastric bypass for type 2 diabetes mellitus: comparison of BMI>35 and <35 kg/m<sup>2</sup>. *J Gastrointest Surg* 2008 May;12(5):945-52.
- (154) Lee WJ, Lee YC, Ser KH, Chen SC, Chen JC, Su YH. Revisional surgery for laparoscopic minigastric bypass. *Surg Obes Relat Dis* 2011 Jul;7(4):486-91.
- (155) Wang TT, Hu SY, Gao HD, Zhang GY, Liu CZ, Feng JB, et al. Ileal transposition controls diabetes as well as modified duodenal jejunal bypass with better lipid lowering in a nonobese rat model of type II diabetes by increasing GLP-1. *Ann Surg* 2008 Jun;247(6):968-75.
- (156) Patrity A, Facchiano E, Annetti C, Aisa MC, Galli F, Fanelli C, et al. Early improvement of glucose tolerance after ileal transposition in a non-obese type 2 diabetes rat model. *Obes Surg* 2005 Oct;15(9):1258-64.
- (157) DePaula AL, Macedo AL, 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* 2008 Mar;22(3):706-16.
- (158) DePaula AL, Macedo AL, Mota BR, Schraibman V. Laparoscopic ileal interposition associated to a diverted sleeve gastrectomy is an effective operation for the treatment of type 2 diabetes mellitus patients with BMI 21-29. *Surg Endosc* 2009 Jun;23(6):1313-20.
- (159) Sanchez-Pernaute A, Rubio Herrera MA, Perez-Aguirre E, Garcia Perez JC, Cabrerizo L, Diez VL, et al. Proximal duodenal-ileal end-to-side bypass with sleeve gastrectomy: proposed technique. *Obes Surg* 2007 Dec;17(12):1614-8.
- (160) Sanchez-Pernaute A, Rubio M, Perez Aguirre E, Barabash A, Cabrerizo L, Torres A. Single Anastomosis duodenoileal bypass with sleeve gastrectomy: metabolic improvement and weight loss in first 100 patients. *Surg. Obes. Relat. Dis.* 2013.9(5):731-735.
- (161) Garcia-Caballero M, Carbajo M. One anastomosis gastric bypass: a simple, safe and efficient surgical procedure for treating morbid obesity. *Nutr Hosp* 2004 Nov;19(6):372-5.
- (162) Carbajo M, Ortiz de Solorzano J, Garcia-Lanza C, Perez Miranda M, Guadalupe Fonseca O, Castro M. Bypass gástrico laparoscópico de una sola anastomosis (BAGUA) asistido con brazo robótico: Técnica y resultados en 1.126 pacientes. *Rev. Mexicana de Cirugía Endoscópica*. 2008. 9[1], 6-13.

- (163) Garcia-Caballero M, Valle M, Martinez-Moreno JM, Miralles F, Toval JA, Mata JM, et al. Resolution of diabetes mellitus and metabolic syndrome in normal weight 24-29 BMI patients with One Anastomosis Gastric Bypass. *Nutr Hosp* 2012 Mar;27(2):623-31.
- (164) Cohen R, Caravatto PP, Correa JL, Noujaim P, Petry TZ, Salles JE, et al. Glycemic control after stomach-sparing duodenal-jejunal bypass surgery in diabetic patients with low body mass index. *Surg Obes Relat Dis* 2012 Jul;8(4):375-80.
- (165) Cohen RV, Schiavon CA, Pinheiro JS, Correa JL, Rubino F. Duodenal-jejunal bypass for the treatment of type 2 diabetes in patients with body mass index of 22-34 kg/m<sup>2</sup>: a report of 2 cases. *Surg Obes Relat Dis* 2007 Mar;3(2):195-7.
- (166) Jiang F, Zhu H, Zheng X, Tu J, Zhang W, Xie X. Duodenal-jejunal bypass for the treatment of type 2 diabetes in Chinese patients with an average body mass index < 24 kg/m<sup>2</sup>. *Surg Obes Relat Dis* 2014 Jul;10(4):641-6.
- (167) Talebpour M, Amoli BS. Laparoscopic total gastric vertical plication in morbid obesity. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2007 Dec;17(6):793-8.
- (168) Ramos A, Galvao NM, Galvao M, Evangelista LF, Campos JM, Ferraz A. Laparoscopic greater curvature plication: initial results of an alternative restrictive bariatric procedure. *Obes Surg* 2010 Jul;20(7):913-8.
- (169) Pujol GJ, Garcia Ruiz de GA, Casajoana BA, Secanella ML, Vicens MA, Masdevall NC. Laparoscopic Gastric Plication: a new surgery for the treatment of morbid obesity. *Cir Esp* 2011 Jun;89(6):356-61.
- (170) Brethauer SA, Pryor AD, Chand B, Schauer P, Rosenthal R, Richards W, et al. Endoluminal procedures for bariatric patients: expectations among bariatric surgeons. *Surg Obes Relat Dis* 2009 Mar;5(2):231-6.
- (171) Anderson MA, Gan SI, Fanelli RD, Baron TH, Banerjee S, Cash BD, et al. Role of endoscopy in the bariatric surgery patient. *Gastrointest Endosc* 2008 Jul;68(1):1-10.
- (172) Fernandes MAP. Intra-gastric balloon for obesity. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2007. Art. No.: CD004931.
- (173) Mazure RA, Breton I, Cancer E, Mellado C, Abiles V et al. Intra-gastric balloon in obesity treatment. *Nutri Hosp* 2009;24:138-43.
- (174) Schouten R, Rijs CS, Bouvy ND, Hameeteman W, Koek GH, Janssen IMC, et al. A Multicenter, Randomized Efficacy Study of the EndoBarrier Gastrointestinal Liner for Presurgical Weight Loss Prior to Bariatric Surgery. *Ann Surg*. 2010;251(2).
- (175) Rohde U, Hedbäck N, Gluud LL, Vilsboll T, Knop FK. Effect of the EndoBarrier Gastrointestinal Liner on obesity and type 2 diabetes: protocol for systematic review and meta-analysis of clinical studies. *BMJ Open* 2013 Sep 1;3(9).
- (176) Espinos JC, Turro R, Mata A, Cruz M, da CM, Villa V, et al. Early experience with the Incisionless Operating Platform (IOP) for the treatment of obesity : the Primary Obesity Surgery Endolumenal (POSE) procedure. *Obes Surg* 2013 Sep;23(9):1375-83.

- (177) Schauer P, Chand B, Brethauer S. New applications for endoscopy: the emerging field of endoluminal and transgastric bariatric surgery. *Surg Endosc* 2007;21(3):347-56.
- (178) Prasad H, Ryan DACMF, Stapleton D. Metabolic Syndrome: definition and therapeutic implication. *Postgrad Med*. 2012. 124(1): 21-30.
- (179) Brady TM, Parekh RS. Metabolic syndrome: signs and symptoms running together. *Pediatric Transplantation* 2010 Feb 1;14(1):6-9.
- (180) Ma X, Zhu S. Metabolic syndrome in the prevention of cardiovascular diseases and diabetes still a matter of debate? *Eur J Clin Nutr* 2013 May;67(5):518-21.
- (181) Friedman M, Sancetta AJ, Magovern GJ. The amelioration of diabetes mellitus following subtotal gastrectomy. *Surg Gynecol Obstet*. 1955. 100(2):201-4.
- (182) Sjostrom L, Lindroos AK, Peltonen M, Torgerson J, Bouchard C, Carlsson B, et al. Lifestyle, diabetes, and cardiovascular risk factors 10 years after bariatric surgery. *N Engl J Med* 2004 Dec 23;351(26):2683-93.
- (183) Garcia-Caballero M. Surgery of type 2 diabetes mellitus: the great discovery of bariatric surgery. *Nutri Hosp* 2010.25(5):393-394.
- (184) Torgerson JS. The "Swedish Obese Subjects" (SOS) Study. What does weight loss really accomplish?. *MMW Fortschr Med* 2002 Oct 3;144(40):24-6.
- (185) Serrot FJ, Dorman RB, Miller CJ, Slusarek B, Sampson B, Sick BT, et al. Comparative effectiveness of bariatric surgery and nonsurgical therapy in adults with type 2 diabetes mellitus and body mass index <35 kg/m<sup>2</sup>. *Surgery* 2011 Oct;150(4):684-91.
- (186) Mingrone G, Panunzi S, De GA, Guidone C, Iaconelli A, Leccesi L, et al. Bariatric surgery versus conventional medical therapy for type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2012 Apr 26;366(17):1577-85.
- (187) Kashyap SR, Bhatt DL, Schauer PR, on behalf of the STAMPEDE Investigators CCO. Bariatric surgery vs. advanced practice medical management in the treatment of type 2 diabetes mellitus: rationale and design of the Surgical Therapy And Medications Potentially Eradicate Diabetes Efficiently trial (STAMPEDE). *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 2010 May 1;12(5):452-4.
- (188) Rubino F, R'bib SL, del GF, Mazumdar M, McGraw TE. Metabolic surgery: the role of the gastrointestinal tract in diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol* 2010 Feb;6(2):102-9.
- (189) Rubino F. Bariatric surgery: effects on glucose homeostasis. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2006 Jul;9(4):497-507.
- (190) Dixon JB, le Roux CW, Rubino F, Zimmet P. Bariatric surgery for type 2 diabetes. *Lancet* 2012 Jun 16;379(9833):2300-11.
- (191) Busetto L, Sbraccia P, Frittitta L, Pontiroli AE. The growing role of bariatric surgery in the management of type 2 diabetes: evidences and open questions. *Obes Surg* 2011 Sep;21(9):1451-7.

- (192) 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 Jan;239(1):1-11.
- (193) 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* 2006 Nov;244(5):741-9.
- (194) Rubino F, Shukla AP, Cummings DE, Rosenbaum MW, Soni A, Mingrone G. Refractory hyperglycemia after gastric bypass surgery: a novel subtype of type 2 diabetes? *Diabetes Care*. 2014 Dec;37(12):e254-5
- (195) Baggio LL, Drucker DJ, Camastra. Biology of incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology*. 2007.132(6): 2131-57
- (196) Ahren B, Holst JJ, Mari A. Characterization of GLP-1 effects on beta-cell function after meal ingestion in humans. *Diabetes Care* 2003 Oct;26(10):2860-4.
- (197) Nogales Aguado P ABF. Incretinas: nueva opción terapéutica para la diabetes mellitus tipo 2. *JANO* 2010.3:62-66.
- (198) Lamounier RN, Pareja JC, Tambascia MA, Geloneze B. Incretins: clinical physiology and bariatric surgery--correlating the entero-endocrine system and a potentially anti-dysmetabolic procedure. *Obes Surg* 2007 May;17(5):569-76.
- (199) Mingrone G. Role of the incretin system in the remission of type 2 diabetes following bariatric surgery. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2008 Oct;18(8):574-9.
- (200) Bose M, Olivan B, Teixeira J, Pi-Sunyer FX, Laferrere B. Do Incretins play a role in the remission of type 2 diabetes after gastric bypass surgery: What are the evidence? *Obes Surg* 2009 Feb;19(2):217-29.
- (201) Ahren B. Glucagon-like peptide-1 (GLP-1): a gut hormone of potential interest in the treatment of diabetes. *Bioessays* 1998 Aug;20(8):642-51.
- (202) Seghieri M, Rebelos E, Gastaldelli A, Astiarraga BD, Casolaro A, Barsotti E, et al. Direct effect of GLP-1 infusion on endogenous glucose production in humans. *Diabetologia* 2013;56(1):156-61.
- (203) Nauck M SFERCW. Reduced incretin effect in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia*. 1986.29(1):46-52
- (204) Amori RE, Lau J, Pittas AG. Efficacy and safety of incretin therapy in type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2007 Jul 11;298(2):194-206.
- (205) Bose M, Olivan B, Teixeira J, Pi-Sunyer FX, Laferrere B. Do Incretins play a role in the remission of type 2 diabetes after gastric bypass surgery: What are the evidence? *Obes Surg* 2009 Feb;19(2):217-29.
- (206) Nauck MA, Vardarli I, Deacon CF, Holst JJ, Meier JJ. Secretion of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) in type 2 diabetes: what is up, what is down? *Diabetologia* 2011;54(1):10-8.

- (207) Buse JB, Nauck M, Forst T, Sheu WHH, Shenouda SK, Heilmann CR, et al. Exenatide once weekly versus liraglutide once daily in patients with type 2 diabetes (DURATION-6): a randomised, open-label study. *The Lancet* 381(9861):117-24.
- (208) Laferrere 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* 2008 Jul;93(7):2479-85.
- (209) Edholm T, Cejvan K, bdel-Halim SM, Efendic S, Schmidt PT, Hellstrom PM. The incretin hormones GIP and GLP-1 in diabetic rats: effects on insulin secretion and small bowel motility. *Neurogastroenterol Motil* 2009 Mar;21(3):313-21.
- (210) Palop OG, Caixàs A. Peptide YY: a new strategy for the treatment of obesity. *Endocrinol Nutr.* 2009.56(1):1-3.
- (211) Morínigo R, Moizé V, Musri M, Lacy AM, Navarro S, Marín JL, et al. Glucagon-Like Peptide-1, Peptide YY, Hunger, and Satiety after Gastric Bypass Surgery in Morbidly Obese Subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006 May 1;91(5):1735-40.
- (212) Nannipieri M, Baldi S, Mari A, Colligiani D, Guarino D, Camastra S, et al. Roux-en-Y gastric bypass and sleeve gastrectomy: mechanisms of diabetes remission and role of gut hormones. *J Clin Endocrinol Metab* 2013 Nov;98(11):4391-9.
- (213) Sabench F, Hernandez M, Blanco S. The effects of ileal transposition, gastrojejunal bypass and vertical gastropasty on the regulation of ingestion in an experimental obesity model associated with diabetes mellitus type 2. *Cir Esp.* 2009. 85(4) 222-28.
- (214) Kwon Y, Abdemur A, Lo ME, Park S, Szomstein S, Rosenthal RJ. The foregut theory as a possible mechanism of action for the remission of type 2 diabetes in low body mass index patients undergoing subtotal gastrectomy for gastric cancer. *Surg Obes Relat Dis* 2014 Mar;10(2):235-42.
- (215) 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* 2006 Nov;244(5):741-9.
- (216) Rhee NA, Vilsball T, Knop FK. Current evidence for a role of GLP-1 in Roux-en-Y gastric bypass-induced remission of type 2 diabetes. *Diabetes, Obesity and Metabolism* 2012 Apr 1;14(4):291-8.
- (217) Mingrone G, Castagneto-Gissey L. Type 2 diabetes mellitus in 2013: A central role of the gut in glucose homeostasis. *Nat Rev Endocrinol* 2014 Feb;10(2):73-4.
- (218) le Roux CW, Aylwin SJ, Batterham RL, Borg CM, Coyle F, Prasad V, et al. Gut hormone profiles following bariatric surgery favor an anorectic state, facilitate weight loss, and improve metabolic parameters. *Ann Surg* 2006 Jan;243(1):108-14.
- (219) Pournaras DJ, Glicksman C, Vincent RP, Kuganolipava S, aghband-Zadeh J, Mahon D, et al. The role of bile after Roux-en-Y gastric bypass in promoting weight loss and improving glycaemic control. *Endocrinology* 2012 Aug;153(8):3613-9.

- (220) Conway de Macario E, Macario AJL. Methanogenic archaea in health and disease: A novel paradigm of microbial pathogenesis. *International Journal of Medical Microbiology* 2009 Feb;299(2):99-108.
- (221) Mithieux G. Influence of diabetes surgery on a gut-brain-liver axis regulating food intake and internal glucose production. *Nutr Hosp* 2013 Mar;28 Suppl 2:109-14.
- (222) Yáñez AJ, Nualart F, Droppelmann C, Bertinat R, Brito M, Concha II, et al. Broad expression of fructose-1,6-bisphosphatase and phosphoenolpyruvate carboxykinase provide evidence for gluconeogenesis in human tissues other than liver and kidney. *J Cell Physiol* 2003 Nov 1;197(2):189-97.
- (223) Troy S, Soty M, Ribeiro L, Laval L, Migrenne Sp, Fioramonti X, et al. Intestinal Gluconeogenesis Is a Key Factor for Early Metabolic Changes after Gastric Bypass but Not after Gastric Lap-Band in Mice. *Cell Metabolism*8(3):201-11.
- (224) Battezzati A BS. Methods of measuring metabolism during surgery in humans: focus on the liver-brain relationship. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2004. 7(5):523-30.
- (225) Burcelin R, Dolci W, Thorens B. Portal glucose infusion in the mouse induces hypoglycemia: evidence that the hepatoportal glucose sensor stimulates glucose utilization. *Diabetes* 2000 Oct 1;49(10):1635-42.
- (226) Andreelli F, Foretz M, Knauf C, Cani PD, Perrin C, Iglesias MA, et al. Liver Adenosine Monophosphate-Activated Kinase-alpha-2 Catalytic Subunit Is a Key Target for the Control of Hepatic Glucose Production by Adiponectin and Leptin But Not Insulin. *Endocrinology* 2006 May 1;147(5):2432-41.
- (227) Caiazzo R, Zerrweck C, Verhaeghe R, Hubert T, Arnalsteen L, Pattou F. Gastric bypass and glucose metabolism. *Diabetes Metab* 2009 Dec;35(6 Pt 2):528-31.
- (228) Cohen RV, Pinheiro JC, Schiavon CA, Salles JE, Wajchenberg BL, Cummings DE. Effects of gastric bypass surgery in patients with type 2 diabetes and only mild obesity. *Diabetes Care* 2012 Jul;35(7):1420-8.
- (229) Wang TT, Hu SY. Ileal transposition controls diabetes as well as modified duodenal jejunal bypass with better lipid lowering in a nonobese rat model of type II diabetes by increasing GLP-1. *Ann Surg*. 2008. 247(6): 968-975.
- (230) Breen DM, Rasmussen BA, Kokorovic A, Wang R, Cheung GW, Lam TK. Jejunal nutrient sensing is required for duodenal-jejunal bypass surgery to rapidly lower glucose concentrations in uncontrolled diabetes. *Nat Med* 2012 Jun;18(6):950-5.
- (231) Lee W, Ahn S, Lee J, Park D, Lee HJ, Kim HH, et al. Comparative Study of Diabetes Mellitus Resolution According to Reconstruction Type After Gastrectomy in Gastric Cancer Patients with Diabetes Mellitus. *Obes Surg* 2012;22(8):1238-43.
- (232) Houten SM, Watanabe M, Auwerx J. Endocrine functions of bile acids. *The EMBO Journal* 2006 Mar 16;25(7):1419-25.
- (233) Patti ME, Houten SM, Bianco AC, Bernier R, Larsen PR, Holst JJ, et al. Serum Bile Acids Are Higher in Humans With Prior Gastric Bypass: Potential Contribution to Improved Glucose and Lipid Metabolism. *Obesity* 2009 Sep 1;17(9):1671-7.

- (234) 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* 2013 Mar 1;6(2):443-56.
- (235) Roberts RE, Glicksman C, Aghband-Zadeh J, Sherwood RA, Akuji N, Le Roux CW. The relationship between postprandial bile acid concentration, GLP-1, PYY and ghrelin. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2011 Jan;74(1):67-72.
- (236) Han H, Hu C, Wang L, Zhang G, Liu S, Li F, et al. Duodenal-jejunal Bypass Surgery Suppresses Hepatic De Novo Lipogenesis and Alleviates Liver Fat Accumulation in a Diabetic Rat Model. *Obes Surg* 2014 Jun 5.
- (237) Kotronen A, Juurinen L. Increased liver fat, impaired insulin clearance, and hepatic and adipose tissue insulin resistance in type 2 diabetes. *Gastroenterology*. 2008. 135(1):122-130.
- (238) Ryysy L, Häkkinen AM, Goto T, Vehkavaara S, Westerbacka J, Halavaara J, et al. Hepatic fat content and insulin action on free fatty acids and glucose metabolism rather than insulin absorption are associated with insulin requirements during insulin therapy in type 2 diabetic patients. *Diabetes* 2000 May 1;49(5):749-58.
- (239) Thomas C, Gioiello A, Noriega L, Strehle A, Oury J, Rizzo G, et al. TGR5-mediated bile acid sensing controls glucose homeostasis. *Cell Metab* 2009 Sep;10(3):167-77.
- (240) Speck M, Cho YM, Asadi A, Rubino F, Kieffer TJ. Duodenal-jejunal bypass protects GK rats from  $\beta$ -cell loss and aggravation of hyperglycemia and increases enteroendocrine cells coexpressing GIP and GLP-1. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2011 May;300(5):E923-E932.
- (241) Wu X, Ma C, Han L, Nawaz M, Gao F, Zhang X, et al. Molecular Characterisation of the Faecal Microbiota in Patients with Type II Diabetes. *Curr Microbiol* 2010;61(1):69-78.
- (242) Hooper LV., Wong MH. Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine. *Science*. 2001. 291:881-884.
- (243) Duncan SH, Belenguer A, Holtrop G, Johnstone AM, Flint HJ, Lobley GE. Reduced Dietary Intake of Carbohydrates by Obese Subjects Results in Decreased Concentrations of Butyrate and Butyrate-Producing Bacteria in Feces. *Applied and Environmental Microbiology* 2007 Feb 15;73(4):1073-8.
- (244) Bäckhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A, et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004 Nov 2;101(44):15718-23.
- (245) Bäckhed F, Manchester JK, Semenkovich CF, Gordon JI. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2007 Jan 16;104(3):979-84.
- (246) Raouf D. Obesity pandemics and the modification of digestive bacterial flora. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2008;27(8):631-4.

- (247) Serino M, Fernández-Real JM, Fuentes EG, Queipo-Ortuño M, Moreno-Navarrete JM, Sánchez A, et al. The gut microbiota profile is associated with insulin action in humans. *Acta Diabetol* 2013;50(5):753-61.
- (248) Membrez M, Blancher F, Jaquet M, Bibiloni R, Cani PD, Burcelin RmG, et al. Gut microbiota modulation with norfloxacin and ampicillin enhances glucose tolerance in mice. *The FASEB Journal* 2008 Jul 1;22(7):2416-26.
- (249) Hugues B, Rodriguez Garcia JC, Rodriguez Gonzalez JC, Marrero MT. Animales de experimentación como modelos de la diabetes mellitus tipo 2. *Rev. Cubana Endocrinol.* 2014. 13(2): 160-168.
- (250) Rees DA, Alcolado JC. Animal models of diabetes mellitus. *Diabet Med* 2005 Apr;22(4):359-70.
- (251) Arias-Diaz J, Balibrea J. Animal models in glucose intolerance and type-2 diabetes. *Nutr Hosp* 2007 Mar;22(2):160-8.
- (252) Balls M. FRAME, animal experimentation and the Three Rs: past, present and future. *Altern Lab Anim* 2009 Dec;37 Suppl 2:1-6.
- (253) Mistry SB, Omana JJ, Kini S. Rat models for bariatric surgery and surgery for type 2 diabetes mellitus. *Obes Surg* 2009 May;19(5):655-60.
- (254) Ostenson CG, Efendic S. Islet gene expression and function in type 2 diabetes; studies in the Goto-Kakizaki rat and humans. *Diabetes Obes Metab* 2007 Nov;9 Suppl 2:180-6.
- (255) Sabench-Pereferer F., Hernandez GM, del Castillo DD. Experimental metabolic surgery: justification and technical aspects. *Obes Surg* 2011 Oct;21(10):1617-28.
- (256) Plum L, Wunderlich FT, Baudler S, Krone W, Bruning JC. Transgenic and knockout mice in diabetes research: novel insights into pathophysiology, limitations, and perspectives. *Physiology (Bethesda )* 2005 Jun;20:152-61.
- (257) Stojanovska L, Rosella G, Proietto J. Evolution of dexamethasone-induced insulin resistance in rats. *Am J Physiol* 1990 May;258(51):E748-E756.
- (258) Wang Z, Gleichmann H. GLUT2 in pancreatic islets: crucial target molecule in diabetes induced with multiple low doses of streptozotocin in mice. *Diabetes* 1998 Jan;47(1):50-6.
- (259) Goto Y, Kakizaki M, Masaki N. Production of spontaneous diabetic rats by repetition of selective breeding. *Tohoku J Exp Med* 1976 May;119(1):85-90.
- (260) Portha B, Giroix MH, Turrel-Cuzin C, Le-Stunff H, Movassat J. The GK rat: a prototype for the study of non-overweight type 2 diabetes. *Methods Mol Biol* 2012;933:125-59.
- (261) Movassat J, Saulnier C, Serradas P, Portha B. Impaired development of pancreatic beta-cell mass is a primary event during the progression to diabetes in the GK rat. *Diabetologia* 1997 Aug;40(8):916-25.



- (262) Akash MS, Rehman K, Chen S. Goto-Kakizaki rats: its suitability as non-obese diabetic animal model for spontaneous type 2 diabetes mellitus. *Curr Diabetes Rev* 2013 Sep;9(5):387-96.
- (263) Calderari S, Gangnerau MN, Thibault M, Meile MJ, Kassis N, Alvarez C, et al. Defective IGF2 and IGF1R protein production in embryonic pancreas precedes beta cell mass anomaly in the Goto-Kakizaki rat model of type 2 diabetes. *Diabetologia* 2007 Jul;50(7):1463-71.
- (264) Jorgensen W, Jelnes P, Rud KA, Hansen LL, Grunnet N, Quistorff B. Progression of type 2 diabetes in GK rats affects muscle and liver mitochondria differently: pronounced reduction of complex II flux is observed in liver only. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2012 Aug 15;303(4):E515-E523.
- (265) Zimmet P, Alberti KG, Rubino F, Dixon JB. IDF's view of bariatric surgery in type 2 diabetes. *Lancet* 2011 Jul 9;378(9786):108-10.
- (266) Dixon JB, Zimmet P, Alberti KG, Rubino F. Bariatric surgery: an IDF statement for obese Type 2 diabetes. *Surg Obes Relat Dis* 2011 Jul;7(4):433-47.
- (267) Dixon JB, O'Brien PE, Playfair J. Adjustable gastric banding and conventional therapy for type 2 diabetes: A randomized controlled trial. *JAMA* 2008 Jan 23;299(3):316-23.
- (268) Schauer PR, Bhatt DL, Kirwan JP, Wolski K, Brethauer SA, Navaneethan SD, et al. Bariatric Surgery versus Intensive Medical Therapy for Diabetes: 3-Year Outcomes. *N Engl J Med* 2014 Mar 31;370(21):2002-13.
- (269) Lee WJ, Hur K, Lakadawala M, Kasama K, Wong S, Lee YC. Gastrointestinal Metabolic Surgery for the Treatment of Diabetic Patients: A Multi-Institutional International Study. *J Gastrointest Surg* 2012;16(1):45-52.
- (270) 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* 2006 Nov;244(5):741-9.
- (271) Thaler JP, Cummings DE. Minireview: Hormonal and metabolic mechanisms of diabetes remission after gastrointestinal surgery. *Endocrinology* 2009. Jun;150(6):2518-25.
- (272) Sun D, Liu S, Zhang G, Chen W, Yan Z, Hu S. Type 2 diabetes control in a nonobese rat model using sleeve gastrectomy with duodenal-jejunal bypass (SGDJB). *Obes Surg* 2012 Dec;22(12):1865-73.
- (273) Carbajo Caballero M, Garcia-Caballero M, Ortiz de Solorzano J, Osorio D, Garcia-Lanza C. Bypass gástrico laparoscópico-robótico de una sola anastomosis: Resultados preliminares sobre 300 casos. *Rev Mexicana de Cirugía Endoscópica*.2004 6(1):5 -10.
- (274) Garcia-Caballero M, Valle M, Martinez-Moreno JM, Miralles F, Toval JA, Mata JM, et al. Resolution of diabetes mellitus and metabolic syndrome in normal weight 24-29 BMI patients with One Anastomosis Gastric Bypass. *Nutr Hosp* 2012 Mar;27(2):623-31.

- (275) Baltasar A, del RJ, Escriva C, Arlandis F, Martinez R, Serra C. Preliminary results of the duodenal switch. *OBES SURG* 1997 Dec;7(6):500-4.
- (276) Scopinaro N, Papadia F, Marinari G, Camerini G, Adami G. Long-term control of type 2 diabetes mellitus and the other major components of the metabolic syndrome after biliopancreatic diversion in patients with BMI < 35 kg/m<sup>2</sup>. *Obes Surg* 2007 Feb;17(2):185-92.
- (277) Phillips LK, Deane AM, Jones KL, Rayner CK, Horowitz M. Gastric emptying and glycaemia in health and diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol* 2015 Feb;11(2):112-28.
- (278) Allescher HD, Daniel EE, Dent J, Fox JE, Kostolanska F. Extrinsic and intrinsic neural control of pyloric sphincter pressure in the dog. *The Journal of Physiology* 1988 Jul 1;401(1):17-38.
- (279) Camilleri M, Bharucha AE, Farrugia G. Epidemiology, Mechanisms, and Management of Diabetic Gastroparesis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*9(1):5-12.
- (280) Webb W FRP. Gastroparesis: current management. *Compr Ther.* 1995. 21[12], 741-745.
- (281) Heimlich H. The use of a gastric tube to replace the esophagus as performed by Dr. Dan Gavriiliu of Bucharest. *Surgery* 1957.17(4):56-8.
- (282) Schwartz B, Hall WW. Replacement of entire esophagus by reversed gastric tube procedure (Heimlich-Gavriiliu operation). *The American Journal of Surgery*102(1):79-82.
- (283) Rutledge R, Kular KS. A comparison of the outcomes of revision of the RouxenY (RNY) and minigastric bypass (MGB). hard vs. easy. *Eur J Endosc Laparosc Surg.* 2014. 1:16.
- (284) Kular KS, Manchanda N, Rutledge R. Analysis of the five-year outcomes of sleeve gastrectomy and mini gastric bypass: a report from the Indian sub-continent. *Obes Surg* 2014 Oct;24(10):1724-8.
- (285) Deitel M. Minigastric (one anastomosis) bypass becoming a mainstream operation. *Bariatric News*, 2013.Dec[18]:13.
- (286) Deitel M, Kuslar KS. MiniGastric Bypass (One Anastomosis) Course. Epub., *Bariatric News* (<http://www.bariatricnews.net>) .
- (287) Myers WH, Friedell MT. A new technique for gastrojejunostomy with the Billroth II operation. *Surg Gynecol Obstet.* 1958. 106(2):239-241.
- (288) Carbajo MA, Jimenez JM, Castro MJ, Ortiz-Solorzano J, Arango A. Outcomes in weight loss, fasting blood glucose and glycosylated hemoglobin in a sample of 415 obese patients, included in the database of the European accreditation council for excellence centers for bariatric surgery with laparoscopic one anastomosis gastric bypass. *Nutr Hosp* 2014;30(5):1032-8.

- (289) Georgiadou D, Sergentanis TN, Nixon A, Diamantis T, Tsigris C, Psaltopoulou T. Efficacy and safety of laparoscopic mini gastric bypass. A systematic review. *Surg Obes Relat Dis* 2014 Sep;10(5):984-91.
- (290) Scozzari G, Trapani R, Toppino M, Morino M. Esophagogastric cancer after bariatric surgery: systematic review of the literature. *Surgery for Obesity and Related Diseases* 9(1):133-42.
- (291) Frantz JD. Proliferative lesions of the nonglandular and glandular stomach of rats. Bretton G CM, et al., editors. Washington, DC, 1991., *Guides for Toxicologic Pathology STP/ARF/AFIP*.
- (292) Peek RM. *Helicobacter pylori* infection and disease: from humans to animal models. *Dis Model Mech* 2008 Jul;1(1):50-5.
- (293) Servitja JM, Ferrer J. Transcriptional networks controlling pancreatic development and beta cell function. *Diabetologia* 2004 Apr;47(4):597-613.
- (294) Henseleit KD, Nelson SB, Kuhlbrodt K, Hennings JC, Ericson J, Sander M. NKX6 transcription factor activity is required for alpha- and beta-cell development in the pancreas. *Development* 2005 Jul;132(13):3139-49.
- (295) Watada H, Mirmira RG, Leung J, German MS. Transcriptional and translational regulation of beta-cell differentiation factor Nkx6.1. *J Biol Chem* 2000 Nov 3;275(44):34224-30.
- (296) Sander M, Sussel L, Connors J, Scheel D, Kalamaras J, Dela CF, et al. Homeobox gene Nkx6.1 lies downstream of Nkx2.2 in the major pathway of beta-cell formation in the pancreas. *Development* 2000 Dec;127(24):5533-40.
- (297) Schisler JC, Jensen PB, Taylor DG, Becker TC, Knop FK, Takekawa S, et al. The Nkx6.1 homeodomain transcription factor suppresses glucagon expression and regulates glucose-stimulated insulin secretion in islet beta cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005 May 17;102(20):7297-302.
- (298) Nelson SB, Schaffer AE, Sander M. The transcription factors Nkx6.1 and Nkx6.2 possess equivalent activities in promoting beta-cell fate specification in Pdx1+ pancreatic progenitor cells. *Development* 2007 Jul;134(13):2491-500.
- (299) Pedersen IL, Klinck R, Hecksher-Sorensen J, Zahn S, Madsen OD, Serup P, et al. Generation and characterization of monoclonal antibodies against the transcription factor Nkx6.1. *J Histochem Cytochem* 2006 May;54(5):567-74.
- (300) Pories W, Macdonald KG, Flickinger EG, Dohm GL, Sinha MK, Barakat HA, et al. Is type II diabetes mellitus (NIDDM) a surgical disease? *Ann Surg*. 1992. 215(6):633-42.
- (301) Baker MT. The history and evolution of bariatric surgical procedures. *Surg Clin North Am* 2011 Dec;91(6):1181-201, viii.
- (302) Moshiri M, Osman S, Robinson TJ, Khandelwal S, Bhargava P, Rohrmann CA. Evolution of bariatric surgery: a historical perspective. *AJR Am J Roentgenol* 2013 Jul;201(1):W40-W48.

- (303) Ramos AC, Galvao Neto MP, de Souza YM, Galvao M, Murakami AH, Silva AC, et al. Laparoscopic duodenal-jejunal exclusion in the treatment of type 2 diabetes mellitus in patients with BMI<30 kg/m<sup>2</sup> (LBMI). *Obes Surg* 2009 Mar;19(3):307-12.
- (304) Ferzli GS, Dominique E, Ciaglia M, Bluth MH, Gonzalez A, Fingerhut A. Clinical improvement after duodenojejunal bypass for nonobese type 2 diabetes despite minimal improvement in glycemic homeostasis. *World J Surg* 2009 May;33(5):972-9.
- (305) Lee WJ, Chong K, Lin YH, Wei JH, Chen SC. Laparoscopic sleeve gastrectomy versus single anastomosis (mini-) gastric bypass for the treatment of type 2 diabetes mellitus: 5-year results of a randomized trial and study of incretin effect. *Obes Surg* 2014 Sep;24(9):1552-62.
- (306) Lee WJ, Lin YH. Single-anastomosis gastric bypass (SAGB): appraisal of clinical evidence. *Obes Surg* 2014 Oct;24(10):1749-56.
- (307) Kular KS, Manchanda N, Rutledge R. A 6-Year Experience with 1,054 Mini-Gastric Bypasses first Study from Indian Subcontinent. *Obes Surg*. 2014;24(9):1430-5.
- (308) Vogel SB, Drane WE WER. Clinical and radionuclide evaluation of bile diversion by Braun enteroenterostomy: prevention and treatment of alkaline reflux gastritis. An alternative to Roux-en-Y diversion. *Ann Surg*. 1994.219(5):458-465.
- (309) Sun W, Dai X, Li J, Li S. Braun gastrointestinal bypass surgery exerts similar hypoglycemic effects, with minimal operation time and earlier functional recovery, than Roux-en-Y bypass in type 2 diabetic rats. *Obes Surg* 2014 Feb;24(2):171-8.
- (310) Grossman EJ, Lee DD, Tao J, Wilson RA, Park SY, Bell GI, et al. Glycemic control promotes pancreatic beta-cell regeneration in streptozotocin-induced diabetic mice. *PLoS One* 2010;5(1):e8749.
- (311) Blanco J, Jimenez A, Casamitjana R, Flores L, Lacy A, Conget I, et al. Relevance of beta-cell function for improved glycemic control after gastric bypass surgery. *Surg Obes Relat Dis* 2014 Jan;10(1):9-13.
- (312) Camastra S, Muscelli E, Gastaldelli A, Holst JJ, Astiarraga B, Baldi S, et al. Long-term effects of bariatric surgery on meal disposal and beta-cell function in diabetic and nondiabetic patients. *Diabetes* 2013 Nov;62(11):3709-17.
- (313) Gerich JE. Insulin resistance is not necessarily an essential component of type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2000 Jun;85(6):2113-5.
- (314) Briatore L, Salani B, Andraghetti G, Maggi D, Adami GF, Scopinaro N, et al. Beta-cell function improvement after biliopancreatic diversion in subjects with type 2 diabetes and morbid obesity. *Obesity (Silver Spring)* 2010 May;18(5):932-6.
- (315) Camastra S, Manco M, Mari A, Greco AV, Frascerra S, Mingrone G, et al. Beta-cell function in severely obese type 2 diabetic patients: long-term effects of bariatric surgery. *Diabetes Care* 2007 Apr;30(4):1002-4.
- (316) Nannipieri M, Mari A, Anselmino M, Baldi S, Barsotti E, Guarino D, et al. The role of beta-cell function and insulin sensitivity in the remission of type 2 diabetes after gastric bypass surgery. *J Clin Endocrinol Metab* 2011 Sep;96(9):E1372-E1379.

- (317) Zimmet P, Alberti KG. Surgery or Medical Therapy for Obese Patients with Type 2 Diabetes? *N Engl J Med* 2012 Mar 26;366(17):1635-6.
- (318) Wierup N, Lindqvist A, Spegel P, Groop L, Hedenbro J, Ekelund M. Short- and long-term hormonal and metabolic consequences of reversing gastric bypass to normal anatomy in a type 2 diabetes patient. *Obes Surg* 2015 Jan;25(1):180-5.
- (319) de LD, Domingo M, Romero A, Gonzalez SM, Pacheco D, Primo D, et al. Effects of duodenal-jejunal exclusion on beta cell function and hormonal regulation in Goto-Kakizaki rats. *Am J Surg* 2012 Aug;204(2):242-7.
- (320) Sun D, Wang K, Yan Z, Zhang G, Liu S, Liu F, et al. Duodenal-jejunal bypass surgery up-regulates the expression of the hepatic insulin signaling proteins and the key regulatory enzymes of intestinal gluconeogenesis in diabetic Goto-Kakizaki rats. *Obes Surg* 2013 Nov;23(11):1734-42.
- (321) Pories WJ, Dohm GL. Diabetes: Have We Got It All Wrong?: Hyperinsulinism as the culprit: surgery provides the evidence. *Diabetes Care* 2012 Dec 1;35(12):2438-42.
- (322) Reed MA, Pories WJ, Chapman W, Pender J, Bowden R, Barakat H, et al. Roux-en-Y Gastric Bypass Corrects Hyperinsulinemia Implications for the Remission of Type 2 Diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2011 May 18;96(8):2525-31.
- (323) Shanik MH, Xu Y, Hákrha J, Dankner R, Zick Y, Roth J. Insulin Resistance and Hyperinsulinemia: Is hyperinsulinemia the cart or the horse? *Diabetes Care* 2008 Feb 1;31(Supplement 2):S262-S268.
- (324) Corkey BE. Banting Lecture 2011: Hyperinsulinemia: Cause or Consequence? *Diabetes* 2012 Jan 1;61(1):4-13.
- (325) Henquin JC, Sempoux C, Marchandise J, Godecharles S, Guiot Y, Nenquin M, et al. Congenital Hyperinsulinism Caused by Hexokinase I Expression or Glucokinase-Activating Mutation in a Subset of  $\beta$ -Cells. *Diabetes* 2013 May 1;62(5):1689-96.
- (326) DeFronzo RA TJAR. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol* 237[3], E214-E223:201.
- (327) Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature* 2001 Dec 13;414(6865):799-806.
- (328) Polonsky KS, Semenkovich CF. The Pancreatic B Cell Heats Up. *Cell* 2001 Jun 15;105(6):705-7.
- (329) Stride A, Vaxillaire M, Tuomi T, Barbetti F, Njolstad PR, Hansen T, et al. The genetic abnormality in the beta cell determines the response to an oral glucose load. *Diabetologia* 2002;45(3):427-35.
- (330) Bell GI, Polonsky KS. Diabetes mellitus and genetically programmed defects in beta-cell function. *Nature* 2001 Dec 13;414(6865):788-91.
- (331) Salehi M, D'Alessio DA, MA. Going with the flow: adaptation of beta-cell function to glucose fluxes after bariatric surgery. *Diabetes* 2013 Nov;62(11):3671-3.

- (332) Vidal J, Jimenez A. Diabetes Remission Following Metabolic Surgery: Is GLP-1 the Culprit? *Curr Atheroscler Rep* 2013;15(10):1-7.
- (333) Rao R, Kini S. GIP and Bariatric Surgery. *Obes Surg*. 2011;21(2):244-52.
- (334) Li XC ZJL. Targeting glucagon receptor signalling in treating metabolic syndrome and renal injury in Type 2 diabetes: theory versus promise. *Clin Sci (Lond)*.2007 113(4): 183-193.
- (335) Lee Y, Wang MY, Du XQ, Charron MJ, Unger RH. Glucagon Receptor Knockout Prevents Insulin-Deficient Type 1 Diabetes in Mice. *Diabetes* 2011 Feb 1;60(2):391-7.
- (336) Larsson H, Ahren B. Islet dysfunction in insulin resistance involves impaired insulin secretion and increased glucagon secretion in postmenopausal women with impaired glucose tolerance. *Diabetes Care* 2000 May 1;23(5):650-7.
- (337) Berger B SGSG. Random C-peptide in the classification of diabetes. *Scand J Clin Lab Invest*. 2000.60(8): 687-693.
- (338) Little RR, Rohlfing CL, Tennill AL, Madsen RW, Polonsky KS, Myers GL, et al. Standardization of C-Peptide Measurements. *Clinical Chemistry* 2008 Jun 1;54(6):1023-6.
- (339) Lee WJ, Chong K, Ser KH, Chen JC, Lee YC, Chen SC, et al. C-peptide predicts the remission of type 2 diabetes after bariatric surgery. *Obes Surg* 2012 Feb;22(2):293-8.
- (340) Ramos-Levi AM, Matia P, Cabrerizo L, Barabash A, Torrejon MJ, Sanchez-Pernaute A, et al. C-peptide levels predict type 2 diabetes remission after bariatric surgery. *Nutr Hosp* 2013 Sep;28(5):1599-603.
- (341) Pickup JC, Mattock MB, Chusney GD, Burt D. NIDDM as a disease of the innate immune system: association of acute-phase reactants and interleukin-6 with metabolic syndrome X. *Diabetologia*. 1997 Nov;40(11):1286-92.
- (342) Pickup JC, Crook MA. Is type II diabetes mellitus a disease of the innate immune system? *Diabetologia*. 1998 Oct;41(10):1241-8.
- (343) Popa C, Netea MG, van Riel PLCM, van der Meer JWM, Stalenhoef AFH. The role of TNFalpha in chronic inflammatory conditions, intermediary metabolism, and cardiovascular risk. *Journal of Lipid Research* 2007 Apr 1;48(4):751-62.
- (344) Ziccardi P, Nappo F, Giugliano G, Esposito K, Marfella R, Cioffi M, et al. Reduction of Inflammatory Cytokine Concentrations and Improvement of Endothelial Functions in Obese Women After Weight Loss Over One Year. *Circulation* 2002 Feb 19;105(7):804-9.
- (345) Hotamisligil GS, Spiegelman BM. Tumor Necrosis Factor alfa: A Key Component of the Obesity-Diabetes Link. *Diabetes* 1994 Nov 1;43(11):1271-8.
- (346) Kubaszek A, Pihlajamäki J, Komarovski V, Lindi V, Lindsträm J, Eriksson J, et al. Promoter Polymorphisms of the TNF $\alpha$  (G-308A) and IL-6 (C-174G) Genes Predict the Conversion From Impaired Glucose Tolerance to Type 2 Diabetes: The Finnish Diabetes Prevention Study. *Diabetes* 2003 Jul 1;52(7):1872-6.

- (347) Meirelles K, Ahmed T, Culnan DM, Lynch CJ, Lang CH, Cooney RN. Mechanisms of glucose homeostasis after Roux-en-Y gastric bypass surgery in the obese, insulin-resistant Zucker rat. *Ann Surg* 2009 Feb;249(2):277-85.







## **ÍNDICE DE LÁMINAS**

### **(POR ORDEN DE APARICIÓN)**

#### **INTRODUCCIÓN**

1. Prevalencia Mundial de diabetes según la OMS. Proyección para el año 2025. **p.17**
2. Distribución de la Incidencia y Prevalencia de la Diabetes a nivel Mundial en 2014, según últimas publicaciones de la International Diabetes Federation (IDF). **p.19**

#### **MARCO TEÓRICO: DIABETES MELLITUS**

3. Mecanismos intrínsecos que conducen al desarrollo de hiperglucemia como base de la DM2. **p.41**
4. Tratamiento de la DM2. Bases generales. **p.57**

#### **MARCO TEÓRICO: DINÁMICA DE LAS CÉLULAS BETA**

1. Páncreas: a) Relaciones anatómicas. b y c) Acinos y conductos pancreáticos. d) Estructura básica del islote de Langerhans con sus diferentes poblaciones celulares. **p.60**
2. Desarrollo del páncreas: Regulación molecular del desarrollo del páncreas embrionario. **p.63**
3. Desarrollo embrionario de las células  $\beta$ . **p.65**
4. La Plasticidad celular en el páncreas adulto. Representación de los elementos estructurales del páncreas exocrino y el islote endocrino. **p.70**
5. Proceso de Des-diferenciación de la célula  $\beta$ . Mecanismo por el que reduce la masa celular  $\beta$ . **p.71**
6. Disminución de la masa celular  $\beta$  asociada a diferentes mecanismos. **p.75**
7. Inflamación en la célula  $\beta$ . **p.82**
8. Mecanismos de Glucotoxicidad. **p.84**

#### **MARCO TEÓRICO: TÉCNICAS QUIRÚRGICAS**

1. Bypass Yeyuno-ileal. **p.89**
2. Gastroplastia anillada. **p.91**
3. Banda gástrica ajustable. **p.91**
4. Gastrectomía vertical. **p.91**

5. Bypass Gástrico en Y de Roux. **p.95**
6. Cruce Duodenal. **p.95**
7. Minibypass Gástrico. **p.97**
8. Trasposición Ileal. **p.99**
9. SADI-SG. **p.101**
10. BAGUA. **p.101**
11. Bypass duodenoyeyunal. **p.102**
12. Gastroplastia Tubular Plicada. **p.104**
13. Balón Intragástrico. **p.106**
14. EndoBarrier®. **p.107**

#### **MARCO TEÓRICO: CIRUGÍA METABÓLICA**

1. Cirugías desarrolladas en el trabajo de Rubino en 2006. **p.121**
2. Esquema general del efecto incretínico. **p.125**
3. Teoría del efecto anti-incretínico según los esquemas descritos por Rubino en sus trabajos. **p.130**
4. Participación de los Ácidos biliares en el metabolismo energético. **p.136**

#### **MARCO TEÓRICO: MODELO ANIMAL EXPERIMENTAL**

1. Estudios descritos en el trabajo de SB Mistry en relación a los modelos de ratas experimentales para el estudio de la DM2. **p.156**

#### **JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO**

1. Estudio STAMPEDE. **p.173**
2. Técnicas quirúrgicas existentes donde se apoyan el diseño de la Cirugía de Exclusión Duodenal. **p.185**
3. Técnica según Gavriliu-Heimlich clásica. **p.186**
4. Técnica de Exclusión Duodenal según la propuesta de este estudio. **p.186**
5. Técnica quirúrgica propuesta. **p.187**

#### **DISEÑO DEL ESTUDIO**

1. Pasos para la extracción de muestras para la curva de glucemia. **p.201**
2. Pasos para la extracción de muestras para aislar el suero. **p.202**
3. Score de las facies de la rata para valorar el nivel de dolor. **p.209**

4. Disposición Anatómica Abdominal en la rata. **p.212**
5. Diseño del Tubo Gástrico y anastomosis de primer asa yeyuno al tubo gástrico. **p.212**

#### **INTERVENCIÓN QUIRÚRGICA.**

1. Preparación del quirófano. **p.215**
2. Etapa 1: exclusión duodenal. **p.216**
3. Etapa 2: tubo reverso. **p.217**
4. Etapa 3: anastomosis gastro-yeyunal. **p.218**

#### **VARIABLES A ESTUDIO.**

1. Cascada de transcripción de los diferentes factores que influyen en la diferenciación celular pancreática. **p.239**
2. Imágenes que muestra cómo se ven al microscopio cortes histológicos en ratones. **p.242**

#### **RESULTADOS: FASE I.**

1. Resonancia Magnética: Anatomía normal de la rata. **p.252**
2. Resonancia Magnética: Corte sagital en rata GK a la que se le ha realizado la técnica de ED. **p.252**
3. Resonancia Magnética. A: corte dorsal; B: corte transversal de rata con ED. **p.253**
4. Resonancia Magnética. A: corte dorsal en T1; B: corte dorsal en T2 rata con ED. **p.253**

#### **RESULTADOS: FASE 2.**

Cortes Histológicos – Hígado y Páncreas de rata Sham. **p.286**

- Intestino de rata Sham y rata con Exclusión Duodenal. **p.287**
- Páncreas: tres tinciones. **p.288**
- Páncreas de Rata Sham, Grupo Precoz. **p.289**
- Páncreas de Rata con ED, Grupo Precoz. **p.290**
- Páncreas de Rata Sham, Grupo Intermedio. **p.291**
- Páncreas de Rata con ED, Grupo Intermedio. **p.292**
- Páncreas de Rata Sham, Grupo Tardío. **p.293**
- Páncreas de Rata con ED, Grupo Tardío. **p.294**
- Páncreas rata Sham, evolución en el tiempo. **p.295**
- Páncreas rata con ED, evolución en el tiempo. **p.296**

