CIRUGÍA EXPERIMENTAL DE LA DIABETES MELLITUS TIPO 2 EN UN MODELO ANIMAL.

ANÁLISIS ANATOMOPATOLÓGICO DE LAS COMPLICACIONES ASOCIADAS

TESIS DOCTORAL PRESENTADA POR EL LICENCIADO EN MEDICINA Y CIRUGÍA:

RAFAEL ABAD ALONSO.

PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR EN MEDICINA POR LA UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE.

DIRECTORES DE TESIS:

Prof. Dr. Pablo Enríquez Valens

Prof. Dr. Rafael Calpena Rico

DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA Y CIRUGÍA

FINANCIACIÓN: FUNDACIÓN NAVARRO TRÍPODI

UNIVERSITAS
Miguel
Hernández

MARÍA SUSANA JIMÉNEZ MORENO, DIRECTORA DEL DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA Y CIRUGÍA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE

CERTIFICA:

Que, D. Rafael Abad Alonso ha realizado bajo la coordinación de este Departamento su memoria de tesis doctoral titulada "CIRUGÍA EXPERIMENTAL DE LA DIABETES MELLITUS TIPO 2 EN UN MODELO ANIMAL. ANÁLISIS ANATOMOPATOLÓGICO DE LAS COMPLICACIONES ASOCIADAS", cumpliendo todos los objetivos previstos, finalizando su trabajo de forma satisfactoria para su defensa pública y capacitándole para optar al grado de doctor.

Y para que así conste firmo la presente en San Juan de Alicante a 8 de Junio de 2015.

Fdo. María Susana Jiménez Moreno

UNIVERSITAS
Miguel
Hernández

Dr. D. RAFAEL CALPENA RICO. Catedrático del Departamento de Patología y Cirugía de la Universidad Miguel Hernández de Elche

y

Dr. D. Pablo Enriquez Valens. Profesor Asociado al Departamento de Patología y Cirugía de la Universidad Miguel Hernández de Elche.

CERTIFICAN:

Que la tesis titulada CIRUGÍA EXPERIMENTAL DE LA DIABETES MELLITUS TIPO 2 EN UN MODELO ANIMAL. ANÁLISIS ANATOMOPATOLÓGICO DE LAS COMPLICACIONES ASOCIADAS" de la que es autor D. Rafael Abad Alonso, ha sido realizada bajo nuestra dirección.

Y tras valorar el trabajo realizado por el aspirante al título de Doctor,

AUTORIZAMOS:

A su presentación y defensa ante el tribunal correspondiente.

Y para que así conste firmamos el presente documento en Alicante a 8 de Junio de 2012

Fdo. Dr. Rafael Calpena Fdo. Dr. Pablo Enriquez

UNIVERSITAS
Miguel
Hernández

La verdadera ciencia enseña,
por encima de todo, a dudar y a
ser ignorante.

Miguel de Unamuno.

UNIVERSITAS
Miguel
Hernández

UNIVERSITAS
Miguel
Hernández

UNIVERSITAS
Miguel
Hernández

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS
ÍNDICE DE ABREVIATURAS
RESUMEN
INTRODUCCIÓN……1
I. LA DIABETES MELLITUS TIPO 2……5
1.1 Planteamiento del problema: diabetes mellitas……6
1.1.1 Diagnóstico de la diabetes mellitus……7
1.1.2 Tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2……13
1.2 Morbimortalidad, prevalencia, incidencia y costes económicos……25
1.3 Complicaciones de la Diabetes Mellitus……32
1.3.1 Angiopatía diabética……32
1.3.2 Retinopatía diabética……33
1.3.3 Nefropatía Diabética……34
1.3.3.1 Glucosuria……34
1.3.3.2 Cuerpos cetónicos en orina……34
1.3.3.3 pH urinario……35
1.3.3.4 Densidad orina……35
1.3.3.5 Proteinuria……35
1.3.4 Esteatosis hepática no alcohólica……36
1.3.5 Inflamación crónica……37
1.4 La glándula pancreática……39
1.4.1 Proliferación de la célula beta pancreática……41
1.4.2 Regeneración de la célula beta pancreática……42
1.4.3 Estados de disfunción de la célula beta……43
1.4.3.1 Estadio 1: Compensación……44
1.4.3.2 Estadio 2: Adaptación estable……44
1.4.3.3 Estadio 3: Descompensación inestable temprana……45
1.4.3.4 Estadio 4: Descompensación estable……45
1.4.3.5 Estadio 5: Descompensación severa……46
1.4.4 El factor Nkx6.1……46
1.5 Evolución natural de la diabetes mellitus tipo 2……47
II: ANTECEDENTES Y BASES TEÓRICAS……53
2.1 Antecedentes de la investigación y bases teóricas……54
2.2 Definición de conceptos básicos……65
2.2.1 Fisiología de la ingesta y el metabolismo……65
2.2.1.1 Metabolismo insulina-leptina……65
2.2.1.2 Sistema gastrointestinal……68
2.2.1.3 Sistema central……72
2.2.2 Procedimientos Bariátricos. ……72
I.1 Bypass gastroileal……74
I.2 DBP……75

II.1 Gastroplastia…….76
II.2 Banda gástrica……..76
II.3 Gastrectomía vertical……..77
III.1 BPGYR……79
III.2 Switch duodenal……..80
IV.1 Transposisción ileal……..81
IV.2 Minibypass gástrico……82
IV.3 BGUA……..83
IV.4 Bypass duodeno-yeyunal sin gastrectomía…….83
IV.5 SADI-s ……..84
IV.6 Manipulación del sistema vagal……..85
V.1 Balón intragástrico……..86
V.2 Inyección de toxina botulínica……..86
VI.1 TOGa……86
VI.2 Gastroplastia vertical endoluminal……..87
VI.3 POSE……87
VI.4 Endobarrier……87
2.3 ¿Plantear una cirugía de la DMT2? ……88
2.4 Propuesta para una técnica quirúrgica para el tratamiento de la DMT2. ……89
2.4.1 Consensos internacionales……89
2.4.2 Consenso español……90
2.4.3 ¿Qué lleva a pensar que hay campo para una técnica quirúrgica en esta área?..... ……92
2.4.4 Bases anatomofisiológicas de la nueva técnica propuesta……93
2.5 Justificación del estudio……100
III. HIPÓTESIS …………103
3.1 Hipótesis de trabajo……104
IV. OBJETIVOS……107
4.2 Objetivo principal del estudio……108
4.2 Objetivos secundarios del estudio……108
V. MATERIAL Y MÉTODOS……..111
5.1 Diseño del estudio……112
5.2 Esquema general de actuación……112
5.3 Tipo de animales del estudio……113
5.3.1 Rata Wistar; fase I del estudio. ……113
5.3.2 Rata Goto-Kakizaki; fase II del estudio……114
5.4 Selección de los grupos de estudio……118
5.5 Condiciones de aclimatación……118
5.6 Cuidados generales y preoperatorios……119
5.7 Condiciones y características nutricionales……120

5.8 Protocolo de anestesia……120
5.9 Material quirúrgico……122
5.10 Técnica quirúrgica propuesta: exclusión duodenal……123
5.11 Técnica quirúrgica simulada (Sham) ……132
5.12 Cuidados postoperatorios……132
5.13 Evaluación del dolor……133
5.14 Protocolo de sacrificio……137
5.15 Recogida de datos……138
5.15.1 Fase I……138
5.15.2 Fase II……138
5.16 Extracción sanguínea de la Vena Coccígea de la cola……142
5.17 Obtención de muestras de orina……143
5.18 Análisis de orinas……143
5.18.1. Glucosa……143
5.18.2 Cuerpos cetónicos……144
5.18.3 pH……144
5.18.4 Densidad……144
5.18.5 Proteinas……145
5.19 Estudios histológicos y funcionales……145
5.19.1 Riñón……145
5.19.2 Páncreas……146
5.19.3 Hígado……147
5.19.4 Anastomosis y cámara gástrica……147
5.19.5 Mucosa duodenal……148
5.19.6 Técnicas histológicas……148
5.19.6.1 Hematoxilina eosina……148
5.19.6.2 PAS……148
5.19.6.3 Tioflavina T……149
5.19.6.4 Tricrómicro de Masson……149
5.19.6.5 Tinción de Gallego……150
5.19.6.6 Violeta de crescilo……150
5.19.6.7 Inmunihistoquímica Nkx6.1……150
5.20 Comité de ética y financiación……152
5.21 Análisis de los datos……153
VI. RESULTADOS……155
6.1 Fase I……156
6.2 Fase II…… 158
6.3 Glucemias a las 8 semanas……158
6.4 Orinas a la 8 semanas……159
6.5 Análisis de glucemias……163
6.5.1 Glucemias en animales operados a las 12 semanas……163

6.5.2 Glucemias en animales operados a las 16 semanas……166
6.5.3 Glucemias en animales operados a las 20 semanas……169
6.5.4 Análisis de glucemias entre los grupos previo a la cirugía……172
6.5.5 Análisis de glucemias entre los grupos tras la exclusión duodenal……173
6.5.6 Análisis de glucemias a las 20 semanas……174
6.6 Análisis de pesos……175
6.6.1 Análisis de pesos en animales previo a la intervención……175
6.6.2 Análisis de pesos en animales intervenidos a las 12 semanas……176
6.6.3 Análisis de pesos en animales intervenidos a las 16 semanas……177
6.6.4 Análisis de pesos en animales intervenidos a las 20 semanas……179
6.6.5 Análisis de pesos en animales a las 20 semanas……180
6.7 Análisis de orina……181
6.7.1 Análisis de orina en el grupo intervenido a las 12 semanas……181
6.7.1.1 Glucosuria……181
6.7.1.2 Cuerpos cetónicos……183
6.7.1.3 pH……185
6.7.1.4 Densidad……187
6.7.1.5 Proteinuria……189
6.7.2 Análisis de orina en el grupo intervenido a las 16 semanas……191
6.7.2.1 Glucosuria……191
6.7.2.2 Cuerpos cetónicos……193
6.7.2.3 pH……195
6.7.2.4 Densidad……197
6.7.2.5 Proteinuria……199
6.7.3 Análisis de orina en el grupo intervenido a las 20 semanas……201
6.7.3.1 Glucosuria……201
6.7.3.2 Cuerpos cetónicos……203
6.7.3.3 pH……205
6.7.3.4 Densidad……207
6.7.3.5 Proteinuria……209
6.7.4 Análisis de orina a las 20 semanas de vida……211
6.7.4.1 Glucosuria……211
6.7.4.2 Cuerpos cetónicos……213
6.7.4.3 pH……214
6.7.4.4 Densidad……216
6.7.4.5 Proteinuria……217
6.8 Factor de necrosis tumoral alfa……219
6.8.1 Análisis de niveles de FNTα en animales intervenidos a las 12 semanas……219

6.8.2 Análisis de niveles de FNTα en animales intervenidos a las 16 semanas……220
6.8.3 Análisis de niveles de FNTα en animales intervenidos a las 20 semanas……222
6.8.4 Análisis de niveles de FNTα en los animales tras la ED……223
6.8.5 Análisis de niveles de FNTα a las 20 semanas de vida……224
6.9 Páncreas……225
6.9.1 Hematoxilina-eosina……225
6.9.2 Violeta de cresilo e inmunohistoquímica Nkx6.1……234
6.9.2.1 Análisis de la expresión Nkx6.1……251
6.9.3 Tinción de Masson……253
6.9.4 Estimación del porcentaje de islotes……257
6.10 Hígado……258
6.10.1 Animales intervenidos a las 12 semanas. ……258
6.10.2 Animales intervenidos a las 16 semanas. ……260
6.10.3 Animales intervenidos a las 20 semanas. ……262
6.11 Mucosa duodenal……264
6.12 Estómago……270
6.13 Riñón……273
6.14 Estimación del riesgo……276
6.14.1 Glucosuria……277
6.14.2 Cuerpos cetónicos en orina……277
6.14.3 pH orina……278
6.14.4 Densidad orina……278
6.14.5 Proteinuria……279
6.14.6 FNT alfa……279
6.14.7 Fibrosis hepática……280
VII. DISCUSIÓN……283
7.1 Cambios en el perfil glucídico……284
7.2 Orina……290
7.2.1 Glucosuria……290
7.2.2 Cuerpos cetónicos……290
7.2.3 pH……291
7.2.4 Densidad……291
7.2.5 Proteinuria……292
7.3 Pesos……293
7.4 FNTα……294
7.5 Páncreas……295
7.6 Esteatosis hepática no alcohólica……299
7.7 Estómago……301
7.8 Duodeno……303

7.9 Nefropatía diabética. …….305
VIII. CONCLUSIONES…….309
IX. BIBLIOGRAFÍA…….313
ÍNDICE DE TABLAS……..339
ÍNDICE DE FIGURAS…….344
ÍNDICE DE IMÁGENES……..348

UNIVERSITAS Miguel Hernández

UNIVERSITAS
Miguel
Hernández

AGRADECIMIENTOS.

Al Prof. Rafael Calpena y al Dr. Pablo Enriquez por todo el tiempo y esfuerzo dedicado en este proyecto.

A David Amoedo, el mejor compañero que nunca pensé pudiera tener.

A la Doctora Lorea Zubiaga, sin ella nada de esto hubiera sido posible, todo un ejemplo a seguir como persona y como profesional. Nada que diga puede agradecer las horas echadas. Has sido la mejor de las compañeras, sin tí realizar este trabajo hubiera sido imposible.

A los Doctores Manolo Romero, y una vez más, Pablo Enriquez, por confiar en mi cuando parecía que nadie lo hacía. Si soy un buen cirujano es gracias a vosotros.

A todo el personal del Servicio de Experimentación Animal de la UMH, en especial a Jose Antonio Pérez, Yolanda Miralles, Paco, Darío y Emilio. Todas las enseñanzas y sobre todo la profesionalidad no tiene comparación.

A los doctores Jaime Ruiz Tovar y Soledad García por el continuo apoyo y ayuda.

Al Dr. Juan Antonio Vilchez, la Dra Fátima Sabench y al Instituto de Neurociencias de Alicante por su estrecha colaboración.

Y un especial agradecimiento a mis padres y hermanos, por haberme educado y enseñado tanto. El apoyo recibido en todo momento, el haber sido un ejemplo a seguir y los principios aprendidos que hacen que seamos una familia de la que me siento más que orgulloso. Muchas gracias de todo corazón.

UNIVERSITAS
Miguel
Hernández

UNIVERSITAS
Miguel
Hernández

ÍNDICE DE ABREVIATURAS.

ACCORD	Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes
ADA	American Diabetes Association
ADO	Antidiabéticos orales
ADVANCE	Action in Diabetes and Vascular Disease
AGL	Ácidos Grasos Libres
ARN-m	Ácido Ribonucleico mensajero
ATP	Adenosín trifosfato
BGUA	Bypass Gástrico de una anastomosis
BI	Billroth I
BII	Billroth II
BPGYR	Bypass Gástrico en Y de Roux
CCK	Colecistoquinina
CODE-2	Cost of Diabetes in Europe
DBP	Derivación Biliopancreática
DDCT	Diabetes Control and Complications Trial
BDY	Bypass DuodenoYeyunal
DM	Diabetes Mellitus
DMT1	Diabetes Mellitus tipo 1
DMT2	Diabetes Mellitus tipo 2
DPP4	Dipeptidil PeptidasasTtipo 4
DSS	Diabetes Surgery Summit
ED	Exclusión Duodenal
EHGNA	Enfermedad del Hígado Graso No Alcohólico
EHNA	Esteatosis Hepática no Alcohólica
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
FDA	Food an Drug Administration
GA	Glucemia de Ayunas
GBA	Glucemia Basal Alterada
GI	Gastrointestinales
GIP	Polipéptido inhibidor gástrico
GK	Goto Kakizaki
GLP-1	Péptido similar al glucagón tipo 1
GLUT-4	glucose transporter type 4

GSIS	Secreción aguda de insulina estimulada por la glucosa
GV	Gastrectomía Vertical
HbAc1	Hemoglobina Glicosidada
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
HE	Hematoxilina-Eosina
IAM	Infarto Agudo de Miocardio
IDF	International Diabetes Federation
IGF	Factor de Crecimiento Similar a la Insulina
IGO	Intolerantes a la Glucosa Oral
IMC	Índice de Masa Corporal
IRS-1	Insulin receptor substrate 1
LDL	lipoproteína de baja densidad
MGB	Minibypass gástrico
NGSP	National Glycohemoglobin Standaritation Program
NHANES	National Health and Nutrition Examination
NHP	Neutral Protamine Hagedorn
NPY	Neuropéptido Y
OMS	Organización Mundial de la Salud
OXM	Oxintomodulina
PAS	Ácido periódico de Schiff
PBS	Solución salina tamponada con fosfato
PP	Polipéptido pancreático
PYY	Péptido YY
RI	Resistencia a la Insulina
SADI	Bypass duodeno-ileal con gastrectomía tubular
SD	Desviación Estardar
SEA	Servicio de Experimentación Animal
SECO	Sociedad Española Cirugía de la Obesidad
SED	Sociedad Española de la Diabetes
SEEDO	Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad
SEEN	Sociedad Española de Endocrinología y Nutrición
SOG	Sobrecarga Oral de Glucosa
TAG	Tolerancia Alterada a la Glucosa
TGC	Triglicérido
TGI	Tránsito Gastrointestinal

TGR	Tubo Gástrico Reverso
TI	Transposición Ileal
TNF	Tumor Necrosis Factor
TZD	Tiazolidinedionas
UKPDS	United Kingdom Prospective Diabetes Study
UMH	Universidad Miguel Hernández
VIP	Polipéptido Intestinal Vasoactivo

UNIVERSITAS Miguel Hernández

UNIVERSITAS
Miguel
Hernández

UNIVERSITAS
Miguel
Hernández

RESUMEN.

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, la pérdida de peso y la repercusión en órganos diana de la DMT2, 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 histológicos en el páncreas, hígado y riñón, valorándose los fenómenos de inflamación crónica tanto a nivel histológico como serológicos, así como las curvas de glucemia tras sobrecarga oral de glucosa.

Se define el estudio como de investigación aplicada, ya que su objetivo plantea resolver cuestiones de tipo práctico y su desarrollo va dirigido a la producción y/o mejora de procesos ya existentes. También se considera al estudio de tipo primario, dado que los datos

se recogerán de la misma fuente de la que se generan. Su diseño se presenta como prospectivo, intervencionista y aleatorizado.

Resultados: disminución de los niveles de glucemia sin afectar la masa corporal. Histológicamente se evidenció un aumento en el número de islotes de Langerhans que al ser analizados con inmunohistoquímica objetivaron un aumento de células β productoras de insulina y disminución de fenómenos de fibrosis. A nivel hepático y renal se observó una ausencia de progresión de las lesiones típicas de la DMT2 en órganos periféricos diana. Los factores inflamatorios se vieron disminuidos.

Conclusión: se han obtenido datos que apoyan la teoría de la Exclusión Duodenal como factor relevante para evitar la aparición de complicaciones en órganos dianas de la DMT2.

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

UNIVERSITAS Miguel Hernández

UNIVERSITAS
Miguel
Hernández

UNIVERSITAS
Miguel
Hernández

INTRODUCCIÓN.

INTRODUCCIÓN.

La Diabetes Méllitus Tipo 2 (DMT2) es una de las enfermedades metabólicas más comunes y nocivas en los países occidentales, afecta a unos 150 millones de personas y se estima que el número ascienda a unos 300 millones para el 2025[1]. Representa el 90-95% de todos los casos de diabetes y es una epidemia creciente que supone una grave carga sobre los sistemas sanitarios ya que se considera que es la sexta causa de muerte en Estados Unidos y la quinta en Europa, y que quienes la padecen tienen seis veces más riesgo de sufrir un infarto cardiaco y cuatro más de accidente vascular; por lo que hay quien no duda en calificarla como "la epidemia del siglo XXI". Representa la quinta causa de ingreso hospitalario conllevando grandes gastos en los programas de salud pública.

La etiología es todavía un enigma y las modalidades terapéuticas sólo logran controlarla pero no pueden alcanzar la curación. Además, si se suspende el tratamiento, invariablemente, aumenta la glucemia y la enfermedad progresa. Además, la DMT2 es también la principal causa de la insuficiencia renal, ceguera, neuropatía y amputaciones, y es un factor de riesgo importante para enfermedades cardiovasculares. 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 de una forma más eficaz.

Hoy día existe en el mercado, así como en fase de experimentación avanzada, un amplio arsenal farmacológico para mantener una euglucemia en las personas afectadas. Sin embargo, no tenemos en nuestras manos aún un arma terapéutica para conseguir una curación. Los fármacos normoglucemiantes no consiguen detener la lenta pero imparable evolución de la enfermedad que lleva a los que la padecen a tener que aumentar las dosis diarias de antidiabéticos

orales (ADO) hasta ser necesario en un alto porcentaje el uso de insulinas subcutáneas. Y lo que es todavía peor, no se consiguen controlar las complicaciones que la hiperglucemia provoca a nivel vascular y que conlleva coronariopatías, neuropatía diabética, retinopatía y ceguera, neuropatía periférica o amputaciones de miembros distales.

Nos falta aún llegar a descubrir un nuevo tratamiento con el que curar definitivamente la DMT2 y con ella sanar a los más de 300 millones de afectados. Mientras tanto la cirugía puede ser la solución a esta grave enfermedad.

UNIVERSITAS Miguel Hernández

UNIVERSITAS
Miguel
Hernández

UNIVERSITAS
Miguel
Hernández

I. LA DIABETES MELLITUS TIPO 2.

1.1 Planteamiento del problema: diabetes mellitus[2,3].

Según la "American Diabetes Association" (ADA) en su publicación en enero del presente año, se define la diabetes como un grupo de desórdenes metabólicos caracterizados por hiperglucemia resultante del defecto de secreción de insulina, acción de la insulina, o ambas. La hiperglucemia crónica está asociada a daños a largo plazo, disfunción y fallo multiorgánico, especialmente a nivel ocular, renal, nervioso, cardiaco y vascular.

Hay numerosos procesos patogénicos que están involucrados en el desarrollo de la diabetes, desde la destrucción autoinmune de las células beta del páncreas con la consecuente deficiencia de insulina, hasta los desequilibrios en el metabolismo de los carbohidratos, grasas y proteínas que llevan a una deficiente acción periférica de la insulina.

Esta acción deficiente resulta de una inadecuada secreción y/o disminución de la respuesta tisular a la insulina en uno o más puntos del complejo metabolismo de acción de la hormona. Sin embargo, déficit en su secreción y alteraciones en su acción periférica son patologías que frecuentemente coexisten en el mismo paciente.

Los síntomas de la hiperglucemia incluyen poliuria, polidipsia, pérdida de peso, a veces con polifagia, y visión borrosa, además de un aumento de la susceptibilidad a infecciones.

Las complicaciones a largo plazo incluyen la retinopatía con potencial pérdida de visión; nefropatía que lleva a fallo renal; neuropatía con riesgo de síntomas gastrointestinales, genitourinarias y cardiovasculares, así como disfunción sexual. Los pacientes diabéticos tienen un mayor riesgo de arteriosclerosis, enfermedades cardiacas, arteriales periféricas y cerebrovasculares. La hipertensión y dislipemias son patologías frecuentes en diabéticos.

La Diabetes puede clasificarse en cuatro categorías clínicas:

1. Tipo 1: enfermedad autoinmune contra las células beta.

2. Tipo 2: con un rango entre resistencia periférica a la insulina hasta alteraciones en su secreción.
3. Diabetes gestacional.
4. Otros tipos:

a) Defectos genéticos en la función de las células beta.
b) Defectos genéticos en la acción insulínica.
c) Enfermedades del páncreas exocrino.
d) Endocrinopatías.
e) Inducida por drogas o fármacos.
f) Infecciosa.
g) Formas raras de diabetes inmunoinducidas.
h) Otros síndromes genéticos asociados a diabetes.

1.1.1 Diagnóstico de la diabetes mellitus [2,3].

Desde 1997 y en el último consenso en 2013, un comité de expertos en diagnóstico y clasificación de la Diabetes Mellitus reconoció a un grupo intermedio de individuos cuyos niveles de glucosa en sangre, si bien no cumplían criterios de DM, sí eran más elevados de los considerados normales. Estas personas fueron catalogadas con "glucemia basal alterada" (GBA) presentando niveles de glucemia entre 100 y 125 mg/dl, e "intolerantes a la glucosa oral" (IGO) cuando presentaban niveles de glucemia de 140 a 199 a las 2 horas del test oral de tolerancia a la glucosa.

Personas con ambas alteraciones son catalogadas como prediabéticas, lo cual indica el elevado riesgo de desarrollar en un futuro diabetes, y aunque no está catalogada como una entidad clínica sí tienen mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares.

La GBA y la IGO están asociadas a la obesidad, especialmente a la tipo abdominal o visceral, dislipemia con hipertrigliceridemia e hipo HDL, así como hipertensión.

Cambios en el estilo de vida, incremento de la actividad física, pérdida del 5-10% de la masa corporal y ciertos agentes farmacológicos han demostrado prevenir la evolución de estas dos entidades a la DM, aunque aún no se han conseguido demostrar la disminución de enfermedad cardiovascular y la reducción de la mortalidad.

Así como los niveles de HbAc1 son comúnmente usados para diagnosticar diabetes en individuos con factores de riesgo, nos puede también ayudar a identificar personas con alta posibilidad de sufrir DM. Las personas con un rango entre 6,0 y 6,5% tienen un alto riesgo de ser diabéticos; de hecho, la incidencia de diabéticos con niveles de HbAc1 en ese rango es 10 veces mayor que en gente con niveles normales.

Estudios prospectivos indican que personas con un nivel entre 5,5 y 6% tienen una incidencia acumulativa de diabetes del 12 al 25% cada 5 años. Análisis de regresión lineal indican que las cifras de glucemia de 110mg/dl de las personas con GBA corresponden a niveles de HbAc1 de 5,6%, mientras que en pacientes GBA a niveles de 100mg/dl corresponden a una HbAc1 de 5,4%. Finalmente, evidencias del Programa de Prevención de la Diabetes de la ADA indican que los programas de prevención en personas con niveles de HbAc1 de 5,9% son efectivos; por todo ello, los niveles más apropiados de HbAc1 para iniciar medidas de prevención son los comprendidos entre 5,5 y 6%.

Revisión y análisis de los datos incluidos en la National Health and Nutrition Examination (NHANES) comparan niveles de HbAc1 concluyendo que cifras de 5,7% son menos sensibles (66%) pero más específicas (88%) con un alto valor predictivo positivo de identificar gente con riesgo de desarrollar DM.

Por ello, individuos con niveles de HbAc1 de 5,7-6,4% deben ser informados del elevado riesgo de padecer DM que poseen así como del riesgo cardiovascular y del resto de complicaciones propias

de la DM. Personas con niveles límite de 5,7% deben ser evaluadas de forma independiente, sumando factores como obesidad o historia familiar.

Sobre los criterios diagnósticos para DM, desde 1997 el Comité de Expertos de la ADA y un poco más tarde, el Comité de Expertos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), establecen unos métodos diagnósticos de la DM y cada uno de ellos debe confirmarse en los días subsiguientes por cualquiera de los métodos (aunque de preferencia el mismo) excepto en el tercer caso que no está justificada la segunda determinación en presencia de clínica:

- Glucemia basal en plasma venoso igual o superior a 126 mg/dl.

- Glucemia en plasma venoso igual o superior a 200 mg/dl a las 2 horas tras sobrecarga oral de 75 gramos de glucosa y con las indicaciones de la OMS.

- Glucemia al azar en plasma venoso igual o superior a 200 mg/dl en presencia de síntomas clásicos de hiperglucemia (poliuria, polifagia, polidipsia, pérdida inexplicable de peso) o crisis de hiperglucemia.

- En ausencia de hiperglucemia inequívoca, el resultado debe ser confirmado por repetición de la prueba.

Notas:
- Glucemia basal es la glucemia en ayunas (no ingesta calórica en al menos las 8 horas previas).
- Glucemia al azar es la glucemia en cualquier momento del día, independientemente de la hora de la última comida.

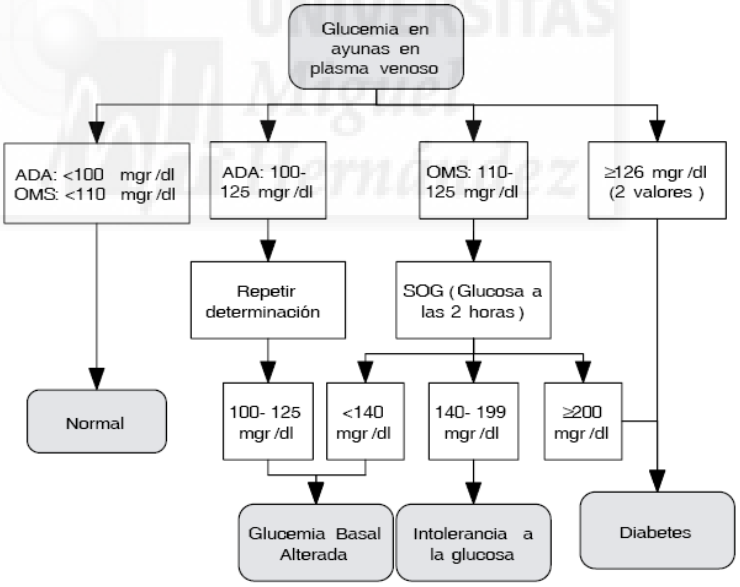
Aunque existían consideraciones para incluir los niveles de HbAc1 como criterio diagnóstico, el comité de expertos en el diagnóstico y clasificación de la diabetes consideraba prematuro su uso debido a la no estandarización de la determinación. En enero del

año 2010 la ADA, basándose en un comité de expertos, se admite como cuarto criterio diagnóstico de diabetes mellitus la HbAc1. De este modo, una HbAc1 ≥ 6,5 % estimada en un laboratorio que utilice el método certificado por el National Glycohemoglobin Standaritation Program (NGSP)[4] y estandarizado al Diabetes Control and Complications Trial (DDCT)[5], y al igual que ocurre con las otras determinaciones, repetida en una segunda ocasión en los días siguientes, es diagnóstica de diabetes. A diferencia de la glucemia basal y de la SOG, la determinación de la HbAc1 no requiere ayuno nocturno previo y presenta además como ventaja la menor variabilidad de los resultados en estados de estres y enfermedad. Sin embargo, el coste de la prueba, la no disponibilidad en todos los países, la incompleta correlación entre HbAc1 y glucemias medias en ciertos individuos y la presencia de hemoglobinopatías y de ciertos estados de alteraciones de la regeneración celular (la anemia dilucional del embarazo, anemias hemolíticas y anemias por déficit de hierro) limitan el uso de la prueba. Además, la aparición abrupta de diabetes mellitus tipo 1 en algunos niños, puede no presentar niveles elevados de HbAc1.

Tabla 1: algoritmo diagnóstico de la DM.

		Glucemia Basal (mg/dl)	Glucemia 2h SOG (mg/dl)	Glucemia al azar (mg/dl)	HbA1c (%)
Normal		<110	<140	<200	
Riesgo incrementado de DMT2	TAG		140-199		
	GBA	110-126			
					5,7-6,4
DMT2		≥126	≥200	≥200 más síntomas	≥6,5

Tabla 2: algoritmo diagnóstico de la DM [6,7].



En cuanto a los programas de cribado, aún no hay evidencia total que demuestre los beneficios para adoptar una estrategia para el diagnóstico precoz de la DMT2 en individuos asintomáticos, sin

embargo, sí es evidente la necesidad de búsqueda de nuevos casos entre las personas de alto riesgo mediante glucemias basales[6]:

- Sobrepeso u obesidad.
- Anualmente y a cualquier edad en población de riesgo:
    - Antecedentes familiares de primer grado de DMT2.
    - Sedentarismo.
    - Antecedentes personales de diabetes gestacional y/o fetos macrosómicos.
    - Diagnóstico previo de IOG o de GBA.
    - Hemoglobina glicosidada >5,7%.
    - Etnias de alto riesgo.
    - Antecedentes personales de enfermedad cardiovascular.
    - Marcadores de resistencia insulínica.
        - Dislipemia.
        - Sobrepeso y obesidad.
        - Perímetro abdominal >102 en hombres y >88 en mujeres.
        - Hipertensión.
        - Síndrome de ovario poliquístico.

La prevención de la DM cobra cada vez más relevancia insistiendo en esta población de riesgo. Así, en los paciente con pre-diabetes se recomienda una pérdida de peso de al menos el 7% mediante actividad física moderada durante al menos 150 minutos por semana y el uso de metformina en paciente con IMC>35kg/m2, mayores de 60 años o con antecedentes de diabetes gestacional. De este modo, el seguimiento estrecho es clave para el éxito de las medidas terapéuticas, realizándose, al menos una vez al año, una glucemia en ayunas y el tratamiento de los factores de riesgo cardiovascular adicionales en el paciente pre-diabético.

1.1.2 Tratamiento de la DMT2[2,3].

Una vez a un paciente le diagnosticamos DM, ¿qué es lo recomendable? Ante la aparición de un nuevo caso nuestra actitud debe ser:

1. Valoración integral del paciente con los siguientes pasos:
   a. Descartar DMT1 o secundaria mediante determinación de anticuerpos contra el ácido glutámico descarboxilasa (indicado en diabéticos adultos no obesos y de rápida progresión).
   b. Historia familiar de DM.
   c. Valoración de los factores de riesgo con mayor hincapié en los tipos cardiovasculares.
   d. Grado evolutivo de la diabetes (complicaciones crónicas).
   e. Uso de fármacos que puedan alterar la glucemia.
   f. Conocimientos del paciente acerca de la enfermedad y su tratamiento.
   g. Analizar su actividad física, dieta y entorno familiar y social.
2. Fijación de objetivos iniciales de control de acuerdo con el paciente.
3. Dentro de los objetivos de control tiene especial importancia el control de los factores de riesgo cardiovascular, porque aproximadamente el 65% de los diabéticos fallecen a consecuencia de una enfermedad cardiovascular, en parte debido a la propia diabetes (el riesgo cardiovascular se multiplica por dos en hombres y por cuatro en mujeres), pero también debido a su frecuente asociación con otros factores de riesgo como son la hipertensión, dislipemia y la obesidad. Esto es debido a que todos ellos comparten un mecanismo fisiopatológico: la resistencia periférica a la insulina-hiperinsulinismo, señas de identidad del llamado síndrome metabólico.

Tabla 3: objetivo del control de la DMT2[6].

	Objetivo de control	Intensificar intervenciones
HbA1c (%)	<7	>8
Glucemia basal	90-130	>130
Glucemia postpandrial	<180	>180
Colesterol total (mg/dl)	<185	>230
LDL (mg/dl)	<100	>130
HDL (mg/dl)	>40	<35
TGC (mg/dl)	<150	>200
Presión arterial (mmHg)	130/80	>140/90
IMC	<27	>30
Perímetro cintura	102H; <88M	
Consumo de tabaco	No	Si

En los últimos años se vienen recomendando los mismos objetivos de control y tratamiento para los pacientes diabéticos, al igual que para aquellos que han sufrido un evento cardiovascular, en base a estudios recientes[8] en los que se objetivaba cómo el riesgo cardiovascular de los pacientes diabéticos sin enfermedad cardiovascular es similar al de pacientes no diabéticos que habían sufrido un infarto agudo de miocardio. Otros estudios han obtenido resultados dispares en cuanto a la equiparación del riesgo de los pacientes diabéticos con los que han sufrido un infarto de miocardio o un ictus. Sin embargo, la mayoría de los estudios coinciden en destacar un riesgo casi igual[9-13]. Por ello siguen manteniéndose los mismos objetivos de control y terapéuticos, debido a que con tratamientos más agresivos han conseguido mejores resultados en cuanto a morbilidad y mortalidad en diabéticos[14-16]. En pacientes ancianos con expectativas de vida reducidas los criterios de control

deberán ser menos estrictos, limitándonos a mantener a los pacientes asintomáticos.

La intervención terapéutica en la DMT2 tiene una aproximación escalonada[2,3,6,17,18]:

Insulina.
Insulina noctura ± ADOs.
Terapia oral combinada.
Monoterapia de ADOs.
Terapia no farmacológica.
Si los objetivos glucémicos no se alcanzan en 2-4 meses intensificar intervenciones en el estilo de vida y avanzar al siguiente escalón.

1. Dieta:
    a. Cantidad de calorías adecuada a su actividad física, edad, sexo e IMC.
    b. Composición adaptada según su peso, presencia de factores de riesgo o complicaciones macro o microvasculares.
    c. Se pueden permitir consumos moderados de alcohol con las comidas.
    d. La cantidad diaria de grasas en la dieta debe ser menor del 30% del total de calorías, y menor del 10% la cantidad de ácidos grasos saturados.
2. Actividad física:
    a. Valorar la que realiza habitualmente y adaptar las recomendaciones a sus posibilidades y preferencias.
    b. Considerar los riesgos que puede suponer sobre las complicaciones (cardiopatía isquémica, retinopatía).
    c. Se recomienda realizar ejercicio de intensidad ligera o moderada durante al menos 30 minutos y como mínimo 3 días a la semana.
3. Farmacoterapia. En el ensayo clínico prospectivo de la UKPDS se evidenció que con el control intensivo de la glucemia se conseguía una reducción significativa de las complicaciones microvasculares, no existiendo diferencias entre los pacientes tratados con sulfonilureas e insulina. Sin embargo, en el grupo de pacientes obesos tratados con

metformina y sometidos a un control glucémico intensivo, se consiguió además una reducción significativa del riesgo de infarto de miocardio, por lo que éste es el tratamiento de elección en este grupo de pacientes.[19,20]

En la actualidad se dispone de 7 grupos de antidiabéticos orales (ADO) que poseen los siguientes mecanismos de acción:[18]

- Estimulan la secreción de insulina: sulfonilureas y secretagogos de acción rápida (glinidas).
- Disminuyen la resistencia a la insulina: biguanidas y glitazonas.
- Reducen o enletecen la absorción de la glucosa: inhibidores de las alfa-gluconidasas.
- Aumento del efecto incretina.

Las sulfonilureas estimulan la secreción de insulina preformada en el páncreas. En ancianos son de elección las de vida media corta (glipicida o gliquidona). Los efectos secundarios más frecuentes son el aumento de peso y las hipoglucemias, sin embargo, los alimentos interfieren en su absorción por lo que es necesaria su administración al menos treinta minutos antes de la ingesta. Son de elección en pacientes sin sobrepeso[6,18-20]. Las contraindicaciones son en caso de diabetes con déficit de insulina tipo 1 o secundarias a enfermedades pancreáticas, en embarazadas, antecedentes de reacciones adversas a sulfamidas, enfermedad hepática y renal.

Las biguanidas (Metformina) inhiben la neoglucogénesis siendo el fármaco de elección en pacientes con sobrepeso u obesidad, ya que no induce aumento de peso. Además es el único antidiabético oral que ha demostrado una reducción de las complicaciones macrovasculares a largo plazo[6,15,18,19], siendo su efecto secundario más común la diarrea que es dosis dependiente, autolimitada y transitoria; nunca produce hipoglucemia en monoterapia. Las contraindicaciones para su uso son en contexto de insuficiencia renal y/o hepática, embarazo o lactancia, alcoholismo activo, enfermedad aguda grave,

con el uso de contrastes yodados e insuficiencia cardiaca congestiva severa.

Entre las tiazolidinadionas (glitazonas) tenemos dos en la actualidad (pioglitazona y rosiglitazona). Su acción se basa en aumentar la captación y uso de glucosa en el músculo y el tejido graso, por lo que aumenta la sensibilidad de la insulina. Su efectividad, sin embargo, es inferior a la de las sulfonilureas y la metformina, por lo que su indicación sería en politerapia combinada en pacientes obesos en los que fracasa la monoterapia. No producen hipoglucemias, pero por contra sí inducen retención de líquidos que puede llevar a anemias dilucionales, descompensación de insuficiencia cardiaca o edemas; además puede inducir dislipemias. Las contraindicaciones para su uso son, en casos de DMT1, embarazo o lactancia, insuficiencia cardiaca y alteraciones hepáticas.

Los inhibidores de la alfa-glucosidasa (acarbosa y miglitol) actúan retardando la absorción de hidratos de carbono a nivel intestinal. Son útiles en casos de hiperglucemias postpandriales con glucemias basales no muy elevadas. Un gran beneficio es la ausencia de hipoglucemias en monoterapia, cosa que no ocurre en combinación con sulfonilureas, secretagogos o insulina. Su efecto secundario más frecuente es la flatulencia y sus contraindicaciones son el embarazo y lactancia y presencia de trastornos gastrointestinales.

Los secretagogos de acción rápida (repaglinida y nateglinida de la familia de las glinidas) producen una liberación postpandrial de insulina a través de un receptor diferente al de las sulfonilureas. Son ventajosos para el control de hiperglucemias postpandriales con el menor riesgo de hipoglucemias que las sulfonilureas, advirtiendo a los pacientes que omitan la dosis si no van a realizar la ingesta, puesto que inducen una liberación rápida de insulina y de corta duración, por lo que podría desencadenarse una hipoglucemia. Una gran ventaja es que están indicados en pacientes ancianos con insuficiencia renal, aunque pueden inducir cierto aumento de peso, y en aquella persona

con un horario de comida irregular[19]. Entre sus contraindicaciones están la DMT1, embarazo o lactancia, insuficiencia hepática.

Los criterios para iniciar terapia de insulinización son:

- Contraindicaciones para la toma de ADO.
- Control metabólico deficiente (HbAc1 >8%) a pesar de dosis plenas de ADOs.
- Pérdida de peso no explicable por dieta hipocalórica, persistencia de síntomas cardinales o cetonuria.
- Embarazo o lactancia.
- De forma transitoria en casos de descompensación hiperglucémica aguda, enfermedad febril intercurrente, tratamiento con corticoides, cirugía mayor, infarto agudo de miocardio o traumatismo grave.

La terapia con insulina puede iniciarse añadiendo una dosis de insulina intermedia tipo NPH nocturna o una lenta al tratamiento oral a dosis de 0,1-0,2 UI/kg/día.

Otra opción es la insulinización plena con insulina intermedia 0,2-0,3 UI/kg/día repartida en dos dosis (60% al desayuno y 40% a la cena, o bien en una única dosis si se usa una insulina lenta (glargina), suspendiendo, eso sí, todos los ADOs).

La dosis inicial se aumentará en 2-4 UI cada dos o tres días en función de los valores de glucemia capilar hasta alcanzar los objetivos propuestos. La dosis de NPH de la noche se variará en función de la glucemia antes del desayuno, y la dosis de la NPH matutina en función de los valores de glucemia antes de la cena. En caso de usarse insulina lenta, la dosis se modificará en función de la glucemia antes del desayuno. Una vez ajustada la dosis de insulina basal se deben realizar mediciones de glucemia después de las 3 principales comidas de forma que, si aparecen picos hiperglucémicos tras alguna de ellas, se añadiría insulina rápida antes de la comida correspondiente.

En cuanto a las posibles asociaciones en el tratamiento de la DMT2, la terapia combinada se basa en el aprovechamiento del efecto

sinérgico de los diferentes mecanismos de acción de los fármacos, lo que puede reducir la frecuencia o gravedad de los efectos adversos de los mismos y con una efectividad superior. Las pautas recomendadas de combinaciones son:[18,21]

- Sulfonilureas-Metformina: de primera elección por su seguridad cuando fracasan cualquiera de los dos en monoterapia y cuando no hay contraindicaciones para ninguno de ellos.[6,18,19]
- Sulfonilurea-Inhibidor de las alfa-gluconidasas: indicados en pacientes con control metabólico inadecuado en tratamiento en monoterapia con sulfonilureas, por glucemias postpandriales elevadas o cuando haya intolerancia o contraindicaciones al uso de metformina.
- Sulfonilurea-glitazona: es una combinación de segunda elección en pacientes obesos o intolerantes a metformina ya que disminuye las concentraciones de insulina y suele haber un incremento de peso y colesterol.
- Glinida-metformina: equiparable a la combinación de sulfonilureas con metformina, aunque dada su reciente introducción no se tiene aún suficiente experiencia. Es útil en pacientes con riesgo de hipoglucemias, horarios de comidas irregulares y en los que tienden a hiperglucemias postpandriales.
- Metformina-Glitazona: ambas tienen un mecanismo de acción sobre la resistencia periférica a la insulina, sin embargo la metformina actúa preferentemente a nivel hepático y las glitazonas a nivel de tejido periféricos, por lo que la acción se ve potenciada. Además no induce aumento de peso, resultando de gran utilidad en obesos.
- Glinida-Glitazona: potencialmente útil, sin embargo no se tiene aún suficiente experiencia y no ha sido formalmente autorizada. No obstante se presenta como una buena alternativa en pacientes con insuficiencia renal leve-moderada.
- Terapia combinada con tres fármacos orales: la más recomendada es metformina, sulfonilurea y una glitazona[22], útil en pacientes que no admiten la insulinización, aunque

el cumplimiento de la prescripción disminuye cuando aumenta el número de fármacos.

- Insulina-sulfonilurea: combinar insulina de acción intermedia o lenta al acostarse junto con sulfonilureas de vida media corta antes de las tres comidas; también se puede asociar a glimepirida en dosis única diaria. Con esta pauta se consigue un control metabólico similar al de dos o tres inyecciones de insulina pero con menor inducción de aumento de peso. Por ello, el paciente idóneo sería sin sobrepeso y que no consigue control con sulfonilureas en monoterapia o en asociación a metformina.[18,19]
- Insulina-Metformina: de elección en pacientes con sobrepeso u obesidad que no se controlan con insulina aislada, metformina en monoterapia o asociada a sulfonilurea. Esta combinación se acompaña de una estabilidad en la evolución del peso.[18,19]

UNIVERSITAS Miguel Hernández

Clase	Compuesto	Mecanismo	Acciones	Ventajas	Desventajas
Biguanidas.	Metformina.	AMP Kinasa.	↓ la producción y absorción de glucosa. ↑ la acción de la insulina.	No aumento de peso. No hipoglucemias. Reduce los eventos cardiovasculares.	Diarrea y dolor abdominal. Deficiencias de B12. Contraindicada en IR.
Sulfonilureas de 2ª generación.	Glibenclamida, Gliburide, Glimepiride.	Cierra los canales de K, dependientes de ATP en la membrana celular.	Aumenta la secreción de insulina.	Generalmente bien tolerado. Reduce los eventos cardiovasculares.	Hipoglucemias que pueden requerir ingresos hospitalarios. Ganacia de peso. Baja vida media.
Metiglitinidas.	Repaglinide, Nateglinide.	Cierra los canales de K, dependientes de ATP en la membrana celular.	Aumenta la secreción de insulina.	Efectos acentuados cercanos a la ingesta alimentaria.	Hipoglucemias. Ganacia de peso. Baja vida media.
Tiazolidinedionas.	Pioglitazona.	Activa la transcripción del factor nuclear PPAR gamma.	Aumenta la sensibilidad periférica a la insulina.	No provoca hipoglucemias. Aumenta los niveles de HDL y disminuye los de TGC.	Ganacia de peso. Edemas. Aumenta del colesterol LDL.
Inhibidores de la alfa glucosidasa.	Acarbosa, Miglitol.	Inhibición de la alfa glucosidasa intestinal.	Digestión y absorción enlentecida de los carbohidratos en el tracto gastrointestinal.	Disminuye la glucemia postpandrial.	Meteorismo, dolor abdominal, diarrea. Baja vida media.
Agonistas del receptor GLP-1 (miméticos de incretinas).	Exenatide, Liraglutide.	Activa los receptores GLP-1 (células Beta, páncreas endocrino; cerebro y sistema nervioso autónomo.)	Aumenta la secreción de insulina dependiente de glucosa. Disminuye la secreción de glucagón dependiente de glucosa. Enletece el vaciamiento gástrico. Aumenta la saciedad.	Reducción de peso. Potencial aumento tanto del a masa como de la función de las células beta.	Nauseas, vómitos y diarreas. Pancreatitis. Hiperplasia de células C (aumento del riesgo relativo de cáncer medular de tiroides). Seguridad a largo plazo desconocido.
Inhibidores de DPP4.	Sitagliptina, Vildagliptina, Saxagliptina, Linagliptina.	Inhibe la actividad DDP4, prolongando la supervivencia de las incretinas endógenas.	Activa el aumento de GLP-1 y GIP. ↑ la secreción de insulina y ↓ la de glucagón.	No produce hipoglucemias. No influye en el peso corporal.	Reportes ocasionales de angioedema o urticaria. Casos de pancreatitis. Seguridad a largo plazo desconocida.

Más recientemente se está empezando a usar un nuevo grupo farmacológico basado en el efecto incretina:

- *Fármacos con acción incretina*: El concepto del sistema hormonal con acción incretina es antiguo, las primeras descripciones del sistema incretina relacionadas con la diabetes datan de los años de la década de 1970[23]. Se refiere a las hormonas gastrointestinales *gastric inhibitory polypeptide* (GIP, «polipéptido inhibidor gástrico») y GLP-1, que se estimulan y liberan en el intestino tras la ingesta y tienen una serie de efectos antidiabéticos por su acción sobre los islotes pancreáticos y otros tejidos.

El GLP-1 se une al receptor específico GLP-1R y produce su actividad biológica en diferentes tejidos. La acción de GLP-1 es corta y limitada por la acción de las dipeptidil peptidasas tipo 4 (DPP4), que trasforman la forma activa de GLP-1 en la forma inactiva GLP-1, lo que ocurre en menos de 2 min. Sobre estos mecanismos fisiológicos se puede actuar y obtener un beneficio terapéutico, bien estimulando el GLP-1R con los llamados análogos de GLP-1, bien inhibiendo la degradación del GLP-1 endógeno a la forma inactiva con los inhibidores de las DPP4 (iDPP4)[24].

- *Análogos del péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP-1):* Son fármacos con acción GLP-1, estimulan los GLP-1R y son resistentes a la acción de la DPP-4. Actualmente disponemos en el mercado de 2 análogos de GLP-1: exenatida, de administración subcutánea cada 12 h, de la que existe una forma retardada de administración semanal aún no comercializada en España, y liraglutida, de administración subcutánea diaria. Ambas han demostrado un efecto reductor de la HbAc1 de 0,8 a 2 puntos (la cuantía de esta reducción depende de las cifras previas al tratamiento) y una pérdida de peso entre 2 y 4 kg[25,26]. Un reciente metaanálisis no encontró diferencias significativas en la reducción de HbA_{1c} entre exenatida semanal y liraglutida, lo que demuestra que estos análogos de GLP-1 tienen efectos hipoglucemiantes similares y equivalentes a

los encontrados tras la administración de una dosis diaria de insulina glargina[27]. Se pueden asociar con otros fármacos hipoglucemiantes, incluyendo insulina de acción lenta o prolongada. La asociación con insulina de acción prolongada potencia el efecto hipoglucemiante y reduce la dosis de insulina previamente utilizada, consiguiendo objetivos de HbA_{1c} en un 60% de los sujetos tratados[28].

Hay evidencias de su efecto protector cardiovascular, reducción del tamaño del infarto de miocardio y un aumento del número de cardiomiocitos. En el sistema vascular producen vasodilatación, con disminución de la presión arterial. Se ha observado una ligera mejoría en el perfil lipídico[29-32]. Sin embargo, no todo es positivo ya que entre sus efectos secundarios se encuentran las náuseas, diarreas y reacciones locales en el lugar de inyección, además se ha descrito una posible relación con pancreatitis por lo que ha de usarse con precaución en pacientes con factores de riesgo. Tienen un elevado precio y aún son necesarios estudios que demuestren mayor seguridad y eficacia.

- *Inhibidores de dipeptidil peptidasas tipo 4 (iDPP4):* grupo de fármacos vía oral que aumentan la disponibilidad y acción del GLP-1 endógeno, por lo que de forma dependiente de la glucosa incrementan la secreción de insulina e inhiben la liberación de glucagón, sin efecto ninguno sobre el vaciamiento gástrico, la ingesta ni el peso del paciente. Reducen la glucemia basal y postpandrial así como los valores de HbAc1 de manera muy similar a la metformina, sulfonilureas y la pioglitazona. Se ha demostrado su buena tolerancia con mínima presencia de efectos adversos como hipoglucemias o aumento de peso y pueden usarse en monoterapia o bien combinados con otros hipoglucemiantes o insulina; por el contrario, son de elevado precio y faltan estudios para demostrar sus efectos beneficiosos a nivel cardiovascular.[33]

Fig.1: metabolismo del GLP1 y mecanismo de acción de los fármacos con acción incretina[34].

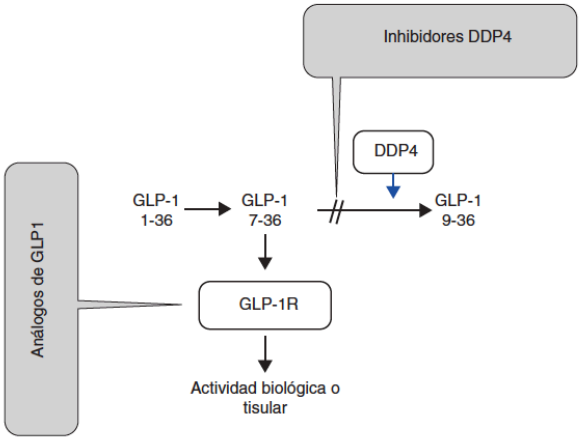


Tabla 4: principales alteraciones en la DMT2 y su modificación con la infusión de péptido similar al glucagón tipo 1[34].

Mecanismo	Alteración en la DMT2	Modificación con GLP-1
Producción de insulina dependiente de glucosa	↓	↑
Primera fase de la secreción de insulina	↓	↑
Glucagón	↑	↓
Consumo de glucosa	↓	↑
Vaciado gástrico	↑	↓
Ingesta	↑	↓
Peso	↑	↓

Tabla 5: principales diferencias de los fármacos con acción incretina[34].

Mecanismo	GLP-1	iDPP4
Producción de insulina dependiente de glucosa	↑	↑
Primera fase de la secreción de insulina	↑	↑
Glucagón	↓	↓
Consumo de glucosa	↑	↑
Vaciado gástrico	↓	No
Ingesta	↓	No
Peso	↓	No
Niveles de HbAc1	↓↓	↓

1.2 Morbimortalidad, prevalencia, incidencia y costes económicos.

La diabetes mellitus se puede considerar como uno de los principales problemas de salud mundial, entre otras razones por su elevada prevalencia, su elevado coste económico y el número de muertes prematuras que provoca.

A pesar de este arsenal terapéutico, tal y como se ha comentado su objetivo no es la cura de la enfermedad, sino minimizar sus complicaciones buscando en la medida de lo posible una normoglucemia. No obstante, el riesgo de complicaciones y de evolución de la DMT2 sigue presente, así pues el riesgo de retinopatía con buen control es del 76%, de micoalbuminuria del 36% y de neuropatía clínica del 60%[35]; a nivel macroangiopático y cardiovascular varios estudios como el ACCORD[36], ADVANCE[37] o el UKPDS[38] demuestran una correlación lineal entre las cifras de glucemias basales y el riesgo de muerte por IAM.

A nivel económico el impacto que supone anualmente la DMT2 se ha medido en varios estudios, así el coste total en nuestro país se estima en unos 2.403 millones de euros anuales según el

estudio CODE-2[39,40]. El coste medio anual por paciente con DMT2 se estimó entre los 1.088 y los 5.279€[39-41]; los costes directos sanitarios son de 3.009€ de media por paciente.[41]

La gran variabilidad en los costes de la atención sanitaria (primaria u hospitalaria) de la DM en los estudios analizados impide alcanzar conclusiones generales lo suficientemente fiables. En la atención primaria los mayores gastos son a consecuencia del tratamiento normoglucemiante, estimándose entre 149 y 244€ anual y por paciente[39-41]; el gasto anual por material fungible (tiras reactivas, agujas, jeringas) supera los 300€ por paciente y año[41,42]; el coste por medicamentos no antidiabéticos es de 521€ y los cuidados ambulatorios ascienden a los 410€ por paciente y año.[39,43]

Se estima que los costes indirectos constituyen el 28-43% de los totales de la DM[41,44]; el gasto hospitalario (que se debe principalmente por el tratamiento de las complicaciones) supone el 36-58% del gasto total.[44-48]

Se considera lógico pensar que un paciente con un control deficiente realiza más visitas al médico de atención primaria que uno con control estable. Se estiman en 10,2% y 2,6% de todas las visitas respectivamente.[49]

En cuanto a las complicaciones agudas, parece que la más costosa es la hipoglucemia grave (3.597€) seguida de la hiperglucemia (3.481€), las infecciones (2.803€) y la cetoacidosis (2.730€)[50-54]. Las complicaciones crónicas más costosas son: el trastorno cerebrovascular (4.242€), la neuropatía periférica (3.671€), la nefropatía (3.655€) y la retinopatía (2.187€).[50-52,54,55]

Tabla 6: distribución del coste sanitario medio anual del paciente diabético tipo 2 en España[50].

	Coste medio anual por paciente (euros)	
	Porcentaje sobre costes parciales	Porcentaje sobre el coste total
Coste total	1.305,15	100%
Coste total ambulatorio	333,58 (100%)	25,50%
Visitas al médico general	78,05 (23,4%)	6%
Visitas al endocrinólogo	8,43 (2,5%)	0,60%
Visitas a otros especialistas	86,02 (25,8)	6,60%
Visitas a paramédicos	78,61 (23,6)	6%
Visitas a urgencias	33,21 (9,9%)	2,50%
Pruebas	49,27 (14,8%)	3,80%
Coste total farmacéutico	554,28 (100%)	42,50%
ADOs	60,69 (10,9%)	4,60%
Insulina	61,25 (11,1%)	4,70%
Cardiovasculares	181,02 (32,7%)	14%
Hipolipemiantes	54,72 (9,9%)	4,20%
Gastrointestinales	42,21 (7,6%)	3,20%
Antidepresivos	17,25 (3,1%)	1,30%
Antibióticos	16,27 (2,9%)	1,20%
Test para autoanálisis	7,9 (1,4%)	0,60%
Otros	112,97 (20,4%)	8,70%
Coste total hospitalización	417,28 (100%)	32%
Estancia en UCI	56,09 (13,4%)	4,30%
Estancia en planta	361,19 (86,6%)	27,70%

Tabla 7: costes indirectos de la DM en España 2005.[50]

Concepto	Costes (euros)
Coste/paciente-año	719
Por bajas laborales	117 (8,5%)
Por jubilaciones prematuras	1.953 (82%)
Por horas laborales perdidas	200 (9,5%)
Sin complicaciones	132
Con complicaciones macrovasculares	1.777
Con complicaciones microvasculares	440

Tabla 8: coste de las complicaciones agudas y crónicas de la DM en España.[50]

Complicación DM	Costes (Euros)
Agudas	
Alteraciones metabólicas	1.220-6.179
Cetoacidosis	1.220-4.517
Hiperglucemia	1.737-6.162
Hipoglucemia	2.637-5.930
Infecciones	241-6.115
Crónicas	
Aterosclerosis	1.626-4.619
Enfermedad cardiovascular	834-15.773
Cardiopatía isquémica	834-15.727
Otras cardiopatías	1.438-4.962
Trastorno cerebrovascular	1.858-7.482
Vasculopatía periférica	2.098-7.181
Neuropatía periférica	1.513-7.502
Retinopatía	550-14.418
Nefropatía	1.610-5.468

Tabla 9: costes medios (desviación estándar) en euros por paciente y año de la DMT2 y de los recursos sanitarios usados en ella, en otros países europeos, según el estudio CODE-2[40,56].

	Costos/paciente-año				
País	Total	Recursos hospitalarios	Recursos ambulatorios	ADOs	Fármacos
Alemania	3.576 (920)	2.173 (755)	388 (47)	119 (8)	896
Bélgica	3.295 (6.550)	1.791 (5.864)	603 (931)	127 (114)	774
España	1.305 (2.197)	417 (1.960)	334 (307)	61 (101)	494
Francia	3.064 (6.696)	1.540 (6.252)	683 (1.433)	207 (169)	633
Holanda	1.827 (4.485)	548 (3.570)	450 (1.307)	102 (118)	734
Italia	2.991 (9.059)	1.787 (8.778)	555 (516)	63 (71)	586
Suecia	2.630 (6.630)	1.116 (6.135)	813 (1.088)	41 (37)	661
Reino Unido	2.214 (3.643	769 (4.015)	835 (775)	60 (71)	519

Tabla 10: principales estudios nacionales de costes en pacientes con DMT2 en España. Costes en € por paciente y año[57].

	Hart et al	López Bastida	CODE-2	Ballesta
Medicación hipoglucemiante	50,3	181,5	121,9	168
Medicación complicaciones	4,2	NC	424,4	478
Pruebas complementarias	38,1	6,88	49,27	81
Material de autoanálisis	17,9	Incluido en medicación	7,9	204
Procedimientos terapéuticos	35,8	NC	NC	267
Consultas médicas	53,7	105,6	172,5	239
Consultas de enfermería	NC	NC	78,61	300
Urgencias	NC	NC	33,21	402
Hospitalizaciones	181	177,9	417,28	419
Costes directos	381	470	1,305	2.560
Bajas laborales	NC	163,4	NC	96
Horas laborales perdidas	NC	NC	NC	156
Jubilaciones prematuras	NC	NC	NC	1.591
Mortalidad precoz	NC	124,6	NC	0
Costes directos	NC	288	NC	1.844
Costes totales	NC	758	NC	4.348

La DM se sitúa entre la cuarta y octava causa de defunción en los países desarrollados. En España ocupa la tercera posición en mujeres y la séptima en los varones. Es una de las pocas causas que provoca mayor mortalidad en las mujeres que en los varones. Existen variaciones importantes entre los países de nuestro entorno. En Europa las tasas oscilan entre las 7,9 defunciones por 100.000 personas/año en Grecia hasta las 32,2 en Italia. En cuanto a la tendencia, se observa un aumento desde los años sesenta en los países europeos. Sin embargo, en España la tendencia es descendente, aunque en números absolutos las defunciones han aumentado debido, sobre todo, al envejecimiento de la población[57]. De todas maneras, una de las limitaciones que tienen los estudios de mortalidad es la subestimación del problema. La mortalidad en los diabéticos ocurre principalmente por causas distintas de la propia diabetes y, con frecuencia, por sus complicaciones[58].

Sobre todo existen diferencias en la certificación y clasificación de la diabetes como causa de defunción cuando se asocia a afecciones tan frecuentes como las enfermedades cardíacas, la insuficiencia renal, etc., que hay que conocer para realizar con todas las garantías las comparaciones entre países.[59]

La mortalidad en los adultos con diabetes es más alta que en los no diabéticos, tanto en estudios de seguimiento como en transversales[60]. Aunque no todos los estudios identifican los mismos factores de riesgo para la mortalidad, éstos incluyen la edad al comienzo de la diabetes, el sexo, la duración de la diabetes y los factores de riesgo cardiovascular como tabaquismo, hipertensión o elevada presión sistólica, hiperlipemia y sedentarismo. Entre los factores de riesgo para la mortalidad pueden también incluirse la obesidad, el uso de la insulina y la falta de control de la glucemia. En las personas con diabetes no dependientes de la insulina, los que presentan marcadores de riesgo y complicaciones como microalbuminuria o retinopatía tienen un riesgo más alto de mortalidad. Las causas de mortalidad más frecuentes son las enfermedades del corazón con un 70%, seguidas de la propia diabetes, los cánceres y la neumonía.[61]

La diabetes mellitus fue la causa del 2,6 % del total de fallecimientos ocurridos en el año 2006 en España, lo que supuso una tasa de mortalidad de 22 por 100.000 habitantes. En hombres, las defunciones por diabetes ese año representaron el 2% del total, lo que supuso una tasa de mortalidad de 17,6 por 100.000, mientras que en mujeres representaron el 3,3% y una tasa de mortalidad de 26,2 por 100.000. La evolución del riesgo de mortalidad, evaluada a través de la tendencia en la tasa de mortalidad ajustada por edad, muestra que entre 1990 y 2006 el riesgo de mortalidad por diabetes descendió en España un 32%; este descenso fue mayor en las mujeres (40%) que en los hombres (20%). De hecho, a partir de 1998, el riesgo de muerte por diabetes, que venía siendo más alto en las mujeres, es ya mayor en los hombres. A pesar de esa disminución en el riesgo de muerte, la

proporción de fallecimientos por diabetes se ha mantenido prácticamente estabilizada desde 1990 (alrededor de un 2,6% de las defunciones), incrementándose ligeramente en los hombres. Lo que sí se observa es un aumento notable en la proporción de fallecidos por diabetes con más de 74 años de edad, que pasó del 63% en 1990 al 78% en 2006. Este crecimiento en las cifras de fallecidos por diabetes con más de 74 años, que se observa tanto en hombres (53% en 1990 y 67% en 2006) como en mujeres (69% y 85% en esos mismos años respectivamente) sería la causa de que el riesgo de mortalidad prematura por diabetes haya experimentado un extraordinario descenso: en 2006, el riesgo de mortalidad en menores de 75 años fue un 47% inferior al riesgo de mortalidad en 1990 (32% en hombres y 61% en mujeres).

A pesar de ello, la mortalidad prematura por diabetes constituye todavía un importante problema de salud en los hombres. Mientras que en 2006 el 33% de las defunciones por diabetes en hombres se producían antes de los 75 años, en las mujeres esa cifra era sólo del 15%. Esa diferencia en la edad de los fallecimientos por diabetes entre hombres y mujeres se traslada a la diferencia en el riesgo de mortalidad por esa causa entre unas y otros: el riesgo de mortalidad en el conjunto de la población es 1,1 veces mayor en hombres que en mujeres; en cambio, si se tiene en cuenta la mortalidad prematura, es decir los fallecimientos antes de los 75 años de edad, el riesgo de mortalidad por diabetes es 1,8 veces mayor en hombres que en mujeres.[62]

En España se han realizado en los últimos años varios estudios de base poblacional para calcular la prevalencia de DM, utilizando encuestas y determinaciones analíticas de la glucemia en ayunas o la prueba de sobrecarga oral de glucosa[63-71]. Esta metodología permite determinar la prevalencia de DM no diagnosticada además de la conocida y, si se ha realizado SOG, la prevalencia de tolerancia alterada a la glucosa (TAG) y de glucemia basal alterada. Las prevalencias de DM observadas en los estudios nacionales (tabla 1)

son muy variables, oscilando entre el 4,8 y el 18,7%. La mayor parte de esta variabilidad puede atribuirse a las características de las poblaciones analizadas, sobre todo la edad, y a los distintos criterios diagnósticos y metodología utilizados. Estos datos son concordantes con los de la Encuesta Nacional de Salud del año 2003[72], en la que se autodeclaraban diagnosticados de DM por su médico el 5% de los encuestados de todas las edades, y siguiendo tratamiento para la diabetes en las 2 semanas previas el 8,4%.

1.3 Complicaciones de la Diabetes Mellitus.

Los pacientes con DMT2 de larga evolución sufren en un alto porcentaje de alguna complicación a nivel micro o macroangiopático en correlación con el nivel de glucemia. No obstante, un control estricto no logra la reducción completa del riesgo de padecer una complicación.

1.3.1 Angiopatía diabética.

A nivel macroangiopático, está demostrado que la DMT2 es un factor principal relacionado con la arteriosclerosis y que aumenta el riesgo de coronariopatía y de accidente cerebrovascular hasta en 4 veces con respecto la población no diabética; un paciente diabético sin coronariopatía angiográficamente demostrable tiene el mismo riesgo de sufrir infarto agudo de miocardio que un paciente con coronariopatía, estimándose que los pacientes diabéticos con coronariopatía tienen una tasa de mortalidad del 43% en 7 años y del 75% en 10 años.[8,73,74]

1.3.2 Retinopatía diabética.

La retinopatía es otra de las grandes complicaciones del avance de la DMT2. Un paciente diabético tiene de 20 a 40 veces más probabilidades de quedarse ciego que un no diabético. A los 15 años de enfermedad casi el 2% de los afectos quedará ciego y el 10% desarrollará incapacidad visual asociada a enfermedad ocular diabética. Aproximadamente un 2,7% de diabéticos tipo 2 desarrollará ceguera total; la retinopatía diabética es la causa más frecuente de nuevos casos de ceguera en personas de 20 a 74 años.[75]

No es hasta 1989 que se aportan datos sobre la prevalencia de retinopatía diabética en una zona de España, observándose que la prevalencia de ésta fue del 37,8% de todos los diabéticos (43,7% los tratados con insulina y 36,9% los no insulinizados); así mismo el tiempo de evolución de la diabetes condiciona las cifras de prevalencia, de forma que con menos de 5 años de evolución se sitúa en un 24,5% y con más de 15 años de evolución se relaciona con unas cifras de hasta 69,4% de afectos. A partir de este estudio surgieron otros varios que aportan las siguientes cifras:[75]

Autor. Año	Área	Edad (años)	Muestra	Prevalencia (%)
Fernández-Vigo 1989	Galicia	oct-80	1.179	44,7
Romero Aroca 1992	Tarragona	feb-97	817	39,05
Gamazo 1993	Extremadura	oct-80	1.200	40,5
Flores 1994	Sevilla	jun-91	496	51,4
Goldaracena 1995	Pamplona	30-80	500	25,8
Carbonero 1996	Extremadura	nov-80	732	40,9

El tiempo de evolución de la diabetes es el factor más claramente relacionado con la prevalencia y gravedad de la retinopatía diabética en todos los estudios, en la DMT2 más del 60% de los pacientes presentan algún grado de retinopatía a los 20 años de evolución.[75]

1.3.3 Nefropatía Diabética.

A nivel renal la diabetes mellitus se ha convertido en la principal causa de insuficiencia renal terminal constituyendo el 30% de todas las causas de entrada en el tratamiento sustitutivo de la función renal[76]. La nefropatía diabética constituye una de las complicaciones típicas de la microangiopatía diabética en cuya patogenia influyen principalmente la hiperglucemia y la hipertensión arterial, aunque un control metabólico estricto disminuye el riesgo de desarrollo de microalbuminuria en un 31% de los diabéticos y el de la proteinuria un 54%. La prevalencia en pacientes DMT2 para la microalbuminuria es del 23%, y para la neuropatía establecida del 10-12% en España. Asimismo, la nefropatía y la retinopatía diabéticas suelen ir muy acompañadas en su evolución.

1.3.3.1 Glucosuria.

La presencia de glucosa en orina, o glucosuria, se basa en cuando el nivel de glucosa en sangre supera los 160-180mg/dl. A esos niveles el túbulo proximal se satura y comienza a excretar glucosa en la orina, con el consiguiente daño renal, y una diuresis osmótica con riesgo de deshidratación.

Sin embargo, este umbral presenta una gran variabilidad intra e interpaciente, ya que se ve modificado en presencia de patología renal, procesos acompañados de retención de sodio o en diabetes de larga evolución por daño renal crónico.

1.3.3.2 Cuerpos cetónicos en orina.

Es una manifestación de un estado de alteración metabólica resultado de vías análogas de energía. La presencia de cuerpos cetónicos en orina es indicativo de un estado catabólico en donde se

emplean ácidos grasos como fuente de energía dando como residuo los cuerpos cetónicos que son expulsados por la orina. Aunque aparecen en estados prolongados de ayuno o ejercicio intenso, la diabetes mellitus es la principal causa.

1.3.3.3 pH urinario.

Varios estudios publican la relación entre una orina acidótica con diabetes y la presencia de insulin-resistencia[77-79], así como la relación inversa entre el pH urinario y la mayor o menor presencia de componentes del síndrome metabólico[80,81], e incluso con un pH acidótico es factor predictivo del riesgo de sufrir síndrome metabólico[82].

1.3.3.4 Densidad orina.

La presencia de glucosa, cuerpos cetónicos y proteínas en orina elevan la densidad normal de la orina hasta niveles que oscilan los 1020 a 1030 gr/l.

1.3.3.5 Proteinuria.

En los adultos se refiere a la excreción urinaria superior a 150mg/24 horas y es un marcador de lesión renal importante.

La proteinuria es un factor de riesgo que acelera la insuficiencia renal. Además se ha comprobado correlación entre la tasa de proteinuria y la incidencia de muerte por factores cardiovasculares[83,84]. Indistintintamente de la causa de la proteinuria, la esperanza de vida de una persona con proteinuria constante o progresiva es menor a la de la población general comparable[85].

1.3.4 Esteatosis hepática no alcohólica.

El órgano hepático participa activamente en el metabolismo de los carbohidratos, liberando glucosa del tejido hepático en el período posprandial y en el de ayunas a través del glucógeno y de la gluconeogénesis. Además, puede almacenar glucosa del plasma o la glucosa resultante del proceso de la gluconeogénesis hepática en forma de glucógeno después de las ingestas.[86-89] Otra función primordial del hígado es metabolizar la insulina, lo que explica por qué los pacientes con enfermedades hepáticas, sobre todo cirrosis hepática, presentan un metabolismo de la glucosa alterado en un 60 a 80% de los casos. En los diabéticos y en los obesos se puede encontrar esteatosis hepática en el 21-78% y cirrosis hepática en el 1,2-13,4%[90]. Otra causa de esteatosis hepática es la propia cirugía bariátrica por los síndromes de intestino corto y las derivaciones bilio pancreáticas.

Para su etiopatogenia se ha barajado la teoría del doble impacto: por un lado la resistencia a la insulina que produciría un acúmulo de ácidos grasos libres, y por otro el factor adicional de estrés oxidativo que derivaría a la cirrosis[91].

En las últimas décadas se ha evidenciado que la resistencia a la insulina, además de ser una consecuencia de hepatopatía crónica y en especial de la cirrosis hepática, es a su vez, la principal etiopatogenia de esteatosis no alcohólica y existe una relación causa-efecto entre ambas condiciones [92-95].

Es sin duda la insulinresistencia la causa primaria más frecuente de esteatosis no alcohólica,[92-95]. Se ha demostrado que su presencia es predictor de esteatosis. Se ha postulado que la esteatohepatitis no alcohólica en sujetos delgados se asocia a algún grado de acúmulo de grasa abdominal.

1.3.5 Inflamación crónica.

La diabetes es una enfermedad crónica que presenta elevación de citoquinas circulantes como resultado de un proceso inflamatorio, entre las que reencuentran la proteina C reactiva, inlerleuquina 6 y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α). Sin embargo, la mayor parte de los estudios que miden esta relación se encuentran en contexto de otras comorbilidades como obesidad[96-100] ya que son secretados principalmente por el adipocito. Por su parte, también los sintetizan el macrófago y el tejido muscular[101,102], y su expresión se relaciona directamente con la resistencia a la insulina evaluada mediante «clamp» euglucémico, con la insulinemia y con la trigliceridemia[103].

El factor de necrosis tumoral (TNFα) es una citoquina proinflamatoria, descubierta inicialmente en el suero de ratones posterior a la infección con endotoxinas bacterianas. Más tarde, esta misma citoquina fue encontrada igualmente en ratas, conejos y en el hombre. El TNFα pertenece a la superfamilia de mediadores que llevan su nombre y a la cual pertenecen al menos 15 citoquinas. Entre las similitudes que comparten los miembros de esta superfamilia están el ser proteínas monotriméricas (excepto la Linfotoxina), estar principalmente expresadas en la membrana celular y participar en la regulación de la proliferación celular y la apoptosis, aunque varios miembros, tal como el TNF-α tienen una importante actividad proinflamatoria. El TNF-α tiene una potente actividad citotóxica, capaz de asesinar células tumorales y de actuar como un mediador letal en la respuesta inmune aguda o crónica de enfermedades infecciosas o inflamatorias crónicas. La mayor cantidad de proteína del TNF-α es elaborada en células del sistema inmune, aunque su ARNm es expresado en otros tipos de células, como astrocitos, osteoblastos o fibroblastos. La regulación postrascripcional es un método de control muy importante en el sistema inmune y común a muchas citoquinas de forma que sólo se genera cuando el sistema inmune lo necesite[104].

Normalmente esta citoquina puede actuar sobre muchos tejidos, como el endotelio vascular, el sistema nervioso central, hígado, pulmón, tejido muscular, sistema cardiovascular, los adipocitos, y asimismo generar efectos sobre el sistema endocrino, hematopoyético y tener acción tumoricida. Así tiene acción procoagulante, induce la producción de otras interleuquinas proinflamatorias, reduce la producción de albumina hepática y participa en procesos de apoptosis celular entre otras acciones.[105]

El aumento en la expresión del gen del TNF-α en el músculo y en el tejido adiposo[106] induciría insulino-resistencia gracias a su capacidad de fosforilar la serina del sustrato-1 del receptor de la insulina, disminuyendo la actividad tirosín-quinasa del receptor de la insulina[107]. Es por ello que se propone que la resistencia a la insulina causa quizá el aumento en la respuesta citoquímica asociada a la reacción de fase aguda de la DMT2. Para ello, se midieron concentraciones de ácido siálico, un marcador de fase aguda, que se halla elevada en DMT2 pero no en DMT1 no complicada y con similares controles glucémicos.[108-110]

Hay estudios con resultados dispares ya que no se conoce con exactitud si la DMT2 es consecuencia o causa de esa inflamación crónica, aunque hay más estudios a favor de la respuesta inflamatoria como consecuencia de la respuesta insulínica y la glucogenia intracelular[111-115]. Lo que sí se demuestra en todos estos estudios y otros más es que hay una relación directa entre el FNT-α y la resistencia periférica a la insulina[116-119]

Se han sugerido varios mecanismos por los que TNF-α puede inducir RI como el defecto en la capacidad del receptor de la insulina para la fosforilación[107,116,120] o la disminución de la expresión génica de los transportadores de glucosa insulín sensibles: GLUT-4[121,122].

1.4 La glándula pancreática.

La DMT2 es el resultado de la interacción entre un déficit en la secreción pancreática de insulina y una resistencia de los tejidos periféricos a su acción. La importancia de cada factor es variable, dominando la insulinopenia relativa en pacientes normopeso y la resistencia periférica en los obesos, que durante años pueden mantener una secreción de insulina normal o elevada con inadecuado grado de hiperglucemia. Sin embargo, estos resultados son dispares ya que se ha observado que el estado inflamatorio crónico en el contexto de la DMT2 induce un grado de resitencia periférica a la insulina, independientemente del peso[116-119].

El páncreas es una glándula mixta, contiene tejido exocrino conformado por células acinares productoras de enzimas digestivas, y también presenta un tejido endocrino compuesto por las células de los islotes de Langerhans, que producen, entre otras, hormonas que mantienen la homeostasis de la glucosa. En conjunto, los islotes representan alrededor de 1-3% del peso de la glándula.

El tejido endocrino adulto contiene cuatro tipos celulares diferentes, con mayor densidad en la zona de la cola. Estas células son: células productoras de insulina o β, que representan el 70%; células productoras de glucagón o α, que representan el 20%; las células productoras de somatostatina o δ, que representan entre el 5 al 10%, y las células productoras del polipéptido pancreático o PP, que abarcan alrededor del 2%. Existen algunos tipos celulares secundarios, las células productoras del polipéptido intestinal vasoactivo (VIP o células DI) y las células secretoras mixtas (EC o enterocromafines). Estos grupos están contenidos en una estructura altamente organizada, donde las células β están en el interior del islote y el resto de los grupos celulares se encuentra en la periferia. Recientemente se han hallado células similares a las células de Schwann localizadas en la periferia del islote y que podrían ser importantes en la regeneración del islote[123-125].

En el sujeto sano, la masa de células beta es el resultado de la suma de neogénesis, replicación e hipertrofia celular, menos la muerte por apoptosis, considerada esta última aproximadamente en el 0,5% de la masa celular. La vida media estimada de la célula beta en el adulto es de 60 días, con una masa celular que se mantiene estable desde la adolescencia y desciende significativamente en el anciano[126].

La masa de células beta es dinámica con una elevada capacidad de adaptación a los cambios metabólicos, pudiendo aumentar a expensa de neogénesis y diferenciación desde células acinares y ductales, durante un prolongado estado de hiperglucemia[127]. Se ha postulado, a través de la observación de modelos animales, que la regeneración de la masa pancreática se produce principalmente mediante replicación de células beta preexistentes, que desde neogénesis de células ductales del páncreas[128]. Para que se produzca expansión celular, existe un incremento de señales del GLP-1 que promueve proliferación, neogénesis y previene la apoptosis. Las señales de crecimiento pueden ocurrir en respuesta a glucemia postprandial, insulina, ácidos grasos y a varios factores de crecimiento (entre ellos el factor de crecimiento símil a la insulina -IGF1 y 2-, factor de crecimiento epidermoide)[129,130]. Estas señales no pueden realizar una regeneración efectiva, debido a un incremento en la muerte celular por apoptosis consecuente al efecto glucotóxico de la hiperglucemia prolongada.

El volumen de células beta está incrementado un 50% en personas obesas (en respuesta compensadora a la insulinorresistencia existente) en comparación con delgadas, mientras que obesos con intolerancia a la glucosa y diabetes presentan una disminución celular del 40% y 63% respectivamente (Fig. I). Sujetos delgados diabéticos tienen una reducción del 41% en la masa de células beta. Tanto en diabéticos como en intolerantes la tasa de replicación y neogénesis están conservadas, con un aumento de la apoptosis de 3 veces en delgados y 10 veces en obesos[131].

Fig. 2: esquema representativo de la masa de células beta en diferentes estados fisiopatológicos[129].

Es así que una disrupción en el balance entre la formación y muerte celular, secundaria a una menor neogénesis y replicación o un incremento en la apoptosis causa una disminución en la masa de células beta, con la consecuente reducción en la capacidad de secretar insulina[132]. Este es el mecanismo que está presente en intolerantes a la glucosa e indicaría que la pérdida del volumen de células beta es un proceso temprano que contribuye a la progresión a diabetes. La mayor apoptosis vista en pacientes con diabetes tipo 2 es el resultado de varios factores relacionados entre sí como lo son la glucotoxicidad, lipotoxicidad y el depósito de polipéptido amiloide insular entre otros[133].

1.4.1 Proliferación de la célula beta pancreática.

Es conocido que las células beta adultas tienen una capacidad limitada de proliferación. Ésta depende de factores genéticos y, con la edad, disminuye de manera exponencial. Un estudio[134] sugiere dos posibles mecanismos del incremento de células beta: uno por duplicación de células maduras preexistentes, y el segundo por generación de nuevas células beta a través de células madre progenitoras existentes en el epitelio ductal pancreático.

En condiciones fisiológicas las células beta tienen una baja capacidad de regeneración. No obstante, tanto las células endocrinas como las exocrinas se pueden regenerar, regulando la expresión de varios marcadores de proliferación, lo cual sugiere que los islotes y conductos pancreáticos contienen células progenitoras.

Las células beta siguen las distintas etapas del ciclo celular, el cual comprende dos fases: la interfase y la mitosis (M); en la interfase a su vez se distinguen tres periodos: crecimiento celular 1 (G1), síntesis (S) y la fase de crecimiento celular 2 (G2).

El número de células en ciclo es muy bajo, sólo un 3% del total de la masa se replica en edad adulta, frente a un 10% en estado fetal. A pesar de esto, existe una reserva de células en un estado G0 (quiescente o de reposo), susceptibles de entrar en ciclo y que podrían aumentar el número de células en ciclo en caso de ser requeridas. En la etapa fetal, la célula beta presenta una baja respuesta replicativa a la glucosa, mientras que en etapas más avanzadas la glucosa es un estímulo muy potente para la replicación de la célula beta[135].

1.4.2 Regeneración de las células beta pancreáticas.

La replicación y el crecimiento normal de las células beta dependen de un preciso control de entrada, recorrido y salida a través del ciclo celular. Estudios en humanos[136-138] muestran una capacidad de replicación en las células beta durante la infancia, coincidiendo con la expansión de la masa de células beta postnatales, aunque esta capacidad decae pronto después de la infancia, hasta <0,2% a los 5 años de edad, y siendo casi indetectable en los adultos.

Se ha observado en ratas una correlación negativa de la edad con la proliferación de las células beta pancreáticas[139], las cuales poseen una baja tasa de replicación y está limitada a un mínimo recambio.

Existen numerosos estudios[140-147] que demuestran la capacidad de replicación per se de la célula beta pancreática humana, aunque la proliferación de la células beta en humanos adultos es extremadamente baja, y raramente se encuentran islotes de gran tamaño.

Varios trabajos[148-150] constatan la existencia de neogénesis en el páncreas humano, evidenciando un aumento de células productoras de insulina en el ducto pancreático en algunas enfermedades como, por ejemplo, en una fase temprana de la DMT1 o en complicaciones graves del hígado. En este paradigma surgen las preguntas sobre la célula origen, así Xu en su trabajo[150] muestra la activación de factores de transcripción de linaje endocrino en células del ducto o adyacentes al mismo. En resumen, la replicación de células beta pancreáticas y la neogénesis son rutas que contribuyen a mantener una adecuada masa de células beta desde justo después del nacimiento.

Se han identificado diversos factores de crecimiento capaces de aumentar la replicación de las células beta pancreáticas, como son: el lactógeno placentario, la proteína relacionada con la parathormona y el GLP-1[151,152].

1.4.3 Estados de disfunción de la célula beta[153].

Existen múltiples mecanismos implicados en la destrucción de las células beta, incluidas la glucolipotoxicidad y los efectos de las adipoquinas inflamatorias, que fomentan la resistencia periférica a la insulina y con ello una mayor demanda secretora de la célula beta.

La progresión a diabetes puede ser separada en estadios caracterizados cada uno de ellos por cambios en parámetros metabólicos y en la función de la célula beta.

1.4.3.1 Estadio 1: Compensación.

Existe un incremento en la secreción de insulina para mantener la normoglucemia, en respuesta a la resistencia a la insulina presente. Para poder lograrlo hay un aumento en la masa de células beta, debido principalmente al mayor número celular y en menor medida a la hipertrofia celular.

En este período la célula beta optimiza la secreción de insulina produciendo un aumento en la expresión de genes que incluyen a los productos de secreción (insulina, IAPP), genes involucrados en el metabolismo de la glucosa (GLUT 2 y Glucoquinasa), enzimas claves para las lanzaderas mitocondriales (glicerol fosfato deshidrogenasa, piruvato carboxilasa) y factores de transcripción (PDX-1, Nhx-6.1), además de la supresión de genes que participan en gluconeogénesis y producción de lactato. Esta expresión fenotípica en la que se produce un incremento en la masa de células beta, es característica en obesos y permite el aumento de la respuesta insulínica ante el estímulo de la glucosa.

1.4.3.2 Estadio 2: Adaptación estable.

No es posible establecer un rango preciso de glucemia en este estadio, pero los niveles en ayunas oscilan entre 89 y 130mg/dl aproximadamente. Se considera un período estable porque pueden pasar varios años antes de la progresión desde TAG a diabetes, con un riesgo del 11% por año, que disminuye al 5% con cambios en el estilo de vida como se vio en el Diabetes Prevention Program. En este estadio ocurren cambios importantes como la pérdida de secreción aguda de insulina estimulada por la glucosa (GSIS) a expensas de su primera fase, la cual disminuye dramáticamente cuando la glucemia de ayunas alcanza los 100mg/dl y desaparece con glucemia de ayunas de 114mg/dl. En contraste con esto, la segunda fase de secreción de

insulina está parcialmente preservada, permaneciendo intacta la secreción mediada por secretagogos no glucídicos.

La pérdida de GSIS puede responder a un estado glucotóxico al que se encuentra sometida la célula beta que causa pérdida en la expresión de genes especializados en insulinosecreción. De esta manera se dejan de sobreexpresar los genes que permitían la respuesta adaptativa a la mayor demanda, mientras que aquellos suprimidos aumentan su expresión (Glucosa 6 fosfatasa, Fructosa 1,6 bifosfatasa, Lactato deshidrogenasa). Además, en respuesta al estrés, se activan genes antioxidantes, proapoptóticos y apoptóticos, acompañados por un marcado incremento de c-myc, activador del factor nuclear κβ e interleukina 1.

Las células beta se encuentran hipertróficas, debido a que se detiene la replicación mediada por la acción de la glucosa en el crecimiento celular.

1.4.3.3 Estadio 3: Descompensación inestable temprana.

Aquí, los niveles de glucosa aumentan rápidamente desde 130mg/dl a 285mg/dl. Ocurre, presumiblemente, porque hay una mayor declinación de la masa de células beta, a lo que se suma la acción glucotóxica y lipotóxica a la que está sometida la célula, que causan una ineficiente secreción de insulina constituyendo un punto crítico en donde la glucemia aumenta en un período corto para llegar al estadio 4.

1.4.3.4 Estadio 4: Descompensación estable.

En la mayoría de los casos los pacientes con diabetes tipo 2 están en esta etapa durante gran parte de su vida, caracterizado por niveles de glucemia que oscilan entre 285 y 350mg/dl, con una

reducción de la masa de células beta alrededor de 50%. Hay un estrés celular producido por hiperglucemia crónica, que perpetúa la expresión de genes proapoptóticos y apoptóticos, llevando a la célula beta a una mayor susceptibilidad a la apoptosis.

1.4.3.5 Estadio 5: Descompensación severa.

Es la etapa final de la diabetes, con valores de glucemia mayores a 350mg/dl, evidenciado por una marcada pérdida de la célula beta, período en el cual la necesidad de insulina se hace evidente a partir del fracaso a la medicación antidiabética oral.

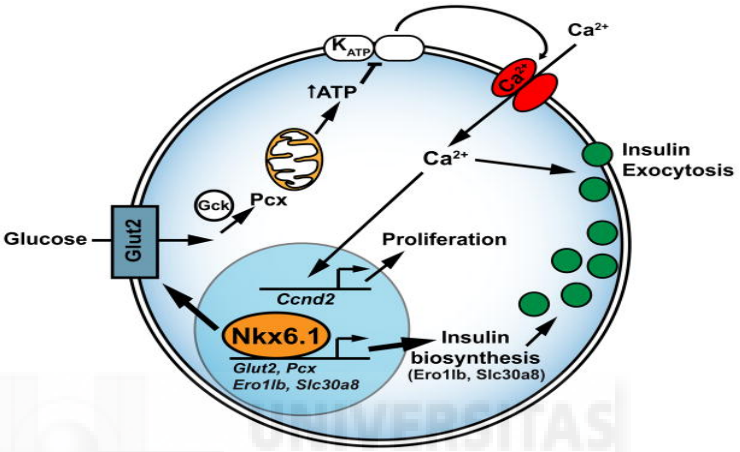
1.4.4 El factor Nkx6.1.

Varias líneas de evidencia sugieren que el factor de transcripción Nkx6.1 de las precursoras de las células beta podría tener un papel en la patogénesis de la DMT2. En primer lugar, estudios genéticos sugieren una asociación entre variantes del Nkx6.1 y la DMT2[154]. Segundo, se ha demostrado una asociación entre el descenso de la expresión de Nkx6.1 y el desarrollo de DMT2 en humanos y roedores[155,156]. Tercero, estudios in vitro de líneas celulares de células beta e islotes aislados sugieren un posible rol de Nkx6.1 en la regulación de la secreción de insulina estimulada por la glucosa, así como la proliferación de células beta[157,158]. Además, se ha demostrado que el factor Nkx6.1 es necesario para conferir identidad a la célula beta a partir de sus progenitores[159].

Se ha encontrado una relación directa entre la pérdida de Nkx6.1 y la aparción de DMT2 debido a defectos en la biosíntesis y secreción de insulina; la pérdida observada en las propiedades funcionales de producción de insulina en las células beta sigue a una

activación ectópica de genes de células delta en las células beta. Así pues, la reducción de niveles de Nkx6.1 contribuye a la patogénesis de la DMT2[160].

Fig. 3: función del factor Nkx6.1 en la célula beta adulta[160].

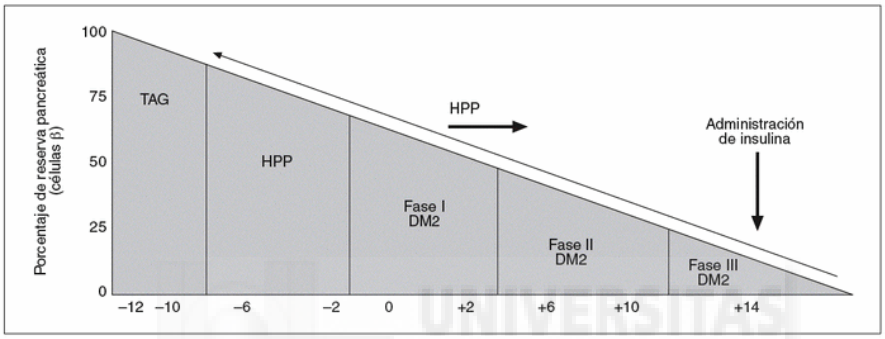


1.5 Evolución natural de la diabetes mellitus tipo 2.

La diabetes tipo 2 es una enfermedad evolutiva que se desarrolla en etapas. Su historia natural probablemente comienza 20 años antes de su aparición clínica; en los primeros 10 años del largo período preclínico con RI, el páncreas para compensar esta alteración, que es progresiva, aumenta la secreción de insulina, produciéndose una hiperinsulinemia capaz de mantener normales las glicemias de ayunas y post-prandiales. Esta etapa se asociaría a la lipotoxicidad del obeso insulino-resistente. En los segundos 10 años, y antes de que se manifieste la DM2, se mantiene la RI, pero la capacidad secretoria de la célula *beta* comienza a declinar y las glicemias se elevan llegando a cifras de intolerancia a la glucosa. En la última década, la glucotoxicidad es un factor importante en la perpetuación del daño del

aparato insular; en la medida que éste se acentúa y la RI se mantiene, los niveles glicémicos aumentan en forma progresiva y se manifiesta finalmente la diabetes clínica[161-163].

Fig. 4: evolución natural de la diabetes mellitus tipo 2 (DM2). La pérdida de células beta secretoras de insulina comienza unos 10 años antes de que la enfermedad se manifieste clínicamente. HPP: hiperglucemia posprandial; TAG: tolerancia anómala a la glucosa.



Se concluye que los intentos terapeúticos deben ser preventivos en el estado de obesidad-resistencia insulínica-hiperinsulinemia, a pesar de que aún hay normoglicemia. Si no se interviene en este período aparecerá la IOG, en la que también es todavía posible actuar para revertir la situación a la normalidad y evitar que se desarrolle la DMT2. Las terapias mejoran parcialmente la secreción, no la normalizan y sólo disminuyen la insulino-resistencia, ya que ésta persiste en cierto grado, debido a que está condicionada genéticamente[164].

Es un hecho de la práctica clínica que los diabéticos tipo 2 tratados con terapia oral, presentan a través del tiempo una falta de respuesta a dicho tratamiento, lo que se ha llamado universalmente fracaso secundario a las drogas orales. En los pacientes con fracaso secundario el defecto básico es el déficit de secreción insulínica - glucotoxicidad por hiperglicemia crónica, mientras que la resistencia insulínica, siendo elevada, es similar a la de los diabéticos tipo 2 que

siguen respondiendo a las drogas orales. En la DMT2 de larga data, la insulino-resistencia (gluco-lipotoxicidad) alcanza su máxima intensidad y no sigue acentuándose, mientras que la secreción insulínica continúa disminuyendo. Este último hecho ha sido también observado a través del tiempo con un progresivo deterioro beta insular, lo que determina que finalmente todos requieran insulina para su tratamiento[165,166].

Por tanto, se nos plantea la duda de cuándo usar el arma terapéutica para la DMT2 de la cirugía, qué cantidad de reserva pancreática es la adecuada y qué momento de la etiopatogénia de las complicaciones propias de la diabetes es el más apropiado para realizar una cirugía terapéutica de la DMT2. Pretendemos responder a este planteamiento realizando las cirugías en tres momentos evolutivos de la enfermedad, analizando anatomopatológicamente los daños que la hiperglucemia provoca en los órganos diana.

Todas estas complicaciones han ido incrementándose en íntima relación con los avances en diabetología ya que a medida que aumenta la esperanza de vida de los diabéticos el problema de sus comorbilidades se incrementa a pesar de que un buen control metabólico mejora el pronóstico general.

La DMT2 y sus enfermedades asociadas representan un problema de salud pública tal y como hemos observado. El manejo de todas estas supone aún hoy día un gran reto, no sólo para los que padecen de diabetes, si no también para la medicina y la investigación biomédica.

Está demostrado que la cirugía bariátrica mejora e incluso provoca una remisión completa de la enfermedad con una normoglucemia, hecho extensible a otras comorbilidades como son la hipertensión arterial o la dislipemia, por lo que el término más empleado es el de “cirugía metabólica”.

Este tipo de cirugía ha demostrado que posee capacidad para modificar la historia natural de la DMT2 lo que ha aumentado el interés por las investigaciones sobre los mecanismos fisiopatológicos involucrados, ya que los pacientes diabéticos obesos o no sometidos a esta cirugía presentan remisión de la DMT2, pudiendo suspender la medicación hipoglucemiante de forma definitiva, lo cual debería implicar un freno al desarrollo de sus complicaciones micro y macroangiopáticas.

Esto implicaría una mejoría espectacular en la calidad de vida de un DMT2, además de una reducción de la mortalidad asociada y una disminución considerable del gasto sanitario destinado. Todo ello sería posible con una única intervención quirúrgica.

UNIVERSITAS Miguel Hernández

UNIVERSITAS
Miguel
Hernández

UNIVERSITAS
Miguel
Hernández

UNIVERSITAS
Miguel
Hernández

II. ANTECEDENTES Y BASES TEÓRICAS.

2.1 Antecedentes de la investigación y bases teóricas.

Los mecanismos de control de la DMT2 desde el punto de vista de la cirugía bariátrica incluyen una disminución de la ingesta pero también mecanismos hormonales. Es necesario establecer un nexo entre la cirugía bariátrica y el control metabólico de la enfermedad, para poder plantear con criterio científico una cirugía específica para la DMT2. Entonces se llegó a plantear una duda razonable**,** *"¿puede ser considerada también una enfermedad intestinal y no sólo una entidad endocrina?"*.[167,168]

El primer indicio de este vínculo se observó en la rápida mejoría de los niveles de hiperglucemia tras la realización de un bypass en paciente con enfermedad ulcerosa, corroborado posteriormente de manera experimental, tanto en estudios sobre pacientes como en roedores[167,169-171]. Todo ello vino a sugerir que el control de la diabetes después de las operaciones de cirugía bariátrica es una consecuencia directa de la reorganización de la anatomía gastrointestinal y no sólo como resultado de la disminución de la ingesta calórica o la pérdida de peso. Este resultado sustenta la idea de que el tracto gastrointestinal desempeña un papel importante en la homeostasis de la energía, en consonancia con la evidencia de que muchas hormonas intestinales están involucradas en la regulación de la homeostasis de la glucosa. Por lo tanto, es razonable suponer que una significativa reorganización anatómica del tracto gastrointestinal puede causar cambios en el metabolismo energético y en la homeostasis de la glucosa.[167,172-174]

Estudios experimentales realizando interposición ileal, operación que consiste en la interposición de un segmento aislado de íleon en el yeyuno, constataron un aumento de los niveles de (GLP-1) y del péptido YY (PYY) en los roedores; esto se debe posiblemente a la temprana estimulación del intestino delgado distal con nutrientes

que están relativamente sin digerir. El aumento del GLP-1 y el péptido YY puede mejorar la secreción de insulina y posiblemente su acción.[175-177]

A partir de estos conceptos, sería importante dilucidar si la reorganización del tracto gastrointestinal lo que produce es un efecto directo que mejora la homeostasis de la glucosa, o si en realidad lo que genera es la recuperación de "ciertas anomalías" que se suceden en el organismo y que originan el desequilibrio en el metabolismo de la glucosa y la consiguiente diabetes. La última hipótesis implica que el tracto gastrointestinal puede albergar mecanismos críticos para la fisiopatología de la diabetes[178]. Es posible que las diferentes formas de modificar la anatomía gastrointestinal puedan tener efectos distintos sobre la homeostasis de la glucosa.

No hay una relación entre el peso perdido y la evolución de la DMT2 según los resultados analizados de acuerdo con el tipo de operación de obesidad empleada. Con respecto a la resolución de la diabetes, hay una gradación de los efectos a partir del 98,9% para la DBP, o cruce duodenal, a 83,7% para el bypass gástrico, a 47,9% para la banda gástrica[170]. Concentraciones normales y mantenidas de glucosa plasmática, insulina y hemoglobina glucosilada se han descrito en un 80% a un 100% de los obesos mórbidos con diabetes tratados quirúrgicamente mediante BPGYR o DBP. La mayoría de las series muestran que el retorno a niveles normales de glucemia y de niveles normales de insulina se produce sólo días después de la cirugía, mucho antes de que la pérdida de peso importante haya tenido lugar.

De Paula et al.[176] presentaron en 2008 los resultados iniciales de la interposición de íleon en seres humanos como posible alternativa a la cirugía de la DMT2. Sin embargo, aunque se controlan los niveles de glucemia en sangre, parece ser que a largo plazo esta técnica está mostrando más complicaciones que beneficios. De hecho, más allá de las complicaciones perioperatorias más frecuentes en esta técnica, se

ha relevado que el efecto sobre el IMC en los pacientes operados es poco menos que inaceptable, ya que los pacientes diabéticos con valores menores de 25, terminaron con valores de IMC inferiores a 19, demostrando claramente problemas de desnutrición.

Aunque algunos estudios sugieren que el BPGYR puede controlar la diabetes en una manera similar a la de interposición ileal, es decir, mediante el aumento de los niveles de GLP-1, la anatomía más compleja de el BPGYR sugiere diferentes, o por lo menos, adicionales mecanismos. La comparación del BPGYR a la interposición ileal es probablemente errónea. De hecho, a diferencia del BPGYR, la transposición ileal preserva la continuidad gastroduodenal, ruta habitual del tránsito de los alimentos. Por otra parte, la longitud del asa derivado en un BPGYR proximal estándar es tal que los nutrientes se vacían en el yeyuno medio-distal pero no en el íleon, como en la interposición ileal.

A partir de estos hallazgos, se han propuesto hipótesis para explicar qué parte de la reorganización anatómica típica de BPGYR es esencial para el efecto sobre la diabetes[167,179].

La "hipótesis del intestino distal" *("hindgut")* sostiene que los resultados del control de la diabetes se deben a la entrega expedita de nutrientes al intestino distal, lo que mejora la señal fisiológica del metabolismo de la glucosa. Mediadores de candidatos potenciales de este efecto son el GLP-1 y / u otros péptidos del intestino distal.[180]

La segunda hipótesis alternativa es que la exclusión del duodeno y del yeyuno proximal del tránsito de nutrientes, puede prevenir la secreción de una señal de supuestos que promueva la resistencia a la insulina y la DM2 ("hipótesis del intestino proximal" – *"foregut"*). Aunque las moléculas candidatas no han sido identificadas hasta la fecha, esta hipótesis implica una participación directa del intestino delgado proximal, en la etiología de la resistencia a la insulina.[167,169,181]

Rubino et al.[182] han realizado más estudios que apoyan la hipótesis del "foregut" como un mecanismo dominante en la mejora de la homeostasis de la glucosa después de un bypass gástrico. Se encontró que mientras que realizar un bypass duodenoyeyunal mejoró enormemente la diabetes en ratas Goto Kakizaki[181], 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 DMT2 a nivel periférico, se reinstalaron en aquellos animales tratados con el bypass duodenoyeyunal cuando el flujo de nutrientes a través del intestino proximal se restableció quirúrgicamente mediante una ruta gastro-duodenal normal, a pesar de conservar la gastroyeyunostomía. Del mismo modo, en los animales que originalmente se sometieron a una simple gastroyeyunostomía sin beneficios, la diabetes mejoró en gran medida por una nueva operación en la que el intestino proximal quedó excluido de flujo de nutrientes, pero la gastroyeyunostomía se mantenía intacta. Estos resultados demuestran que el aislamiento de un segmento de intestino proximal del flujo de nutrientes es importante en la mediación de la mejora de la tolerancia a la glucosa después de los procedimientos de bypass gastrointestinal y apoyan la hipótesis de un factor originario en el intestino delgado proximal que puede perjudicar la sensibilidad a la insulina en pacientes no diabéticos. Otras observaciones dan más apoyo a esta hipótesis.

Estudios clínicos preliminares parecen confirmar estos hallazgos también en seres humanos. Cohen et al.[183] realizaron una exclusión duodenal con gastroyeyunostomía para tratar la diabetes en dos pacientes que no eran obesos mórbidos. La operación no causó cambios significativos en el IMC y el peso corporal de los pacientes, en cambio disminuyeron los niveles de glucemia y HbAc1 a estándares normales. La remisión de la diabetes en los pacientes con obesidad mórbida también se ha divulgado después del bypass gástrico y de la derivación biliopancreática[171,184], que se caracterizan

por un grado variable de derivación del intestino delgado proximal. Pero también hay estudios que han documentado mejora y/o remisión de la diabetes después de una resección gástrica parcial o GV[185], con lo cual se supone que aún queda mucho por descubrir en esta nueva propuesta de cirugía metabólica[186].

Para investigar si el control de la diabetes es el resultado del tratamiento de la obesidad y de la inducción de la pérdida de peso, o existe alguna explicación adicional, se han realizado estudios experimentales[181,185,187,188] en ratas Goto-Kakizaki (GK), un modelo animal de DMT2 espontánea no obesas. Existen trabajos que han demostrado que el bypass duodenoyeyunal se mejora de forma espectacular la glucemia en ayunas y la tolerancia a la glucosa, independiente de la pérdida de peso y/o disminución de la ingesta calórica.

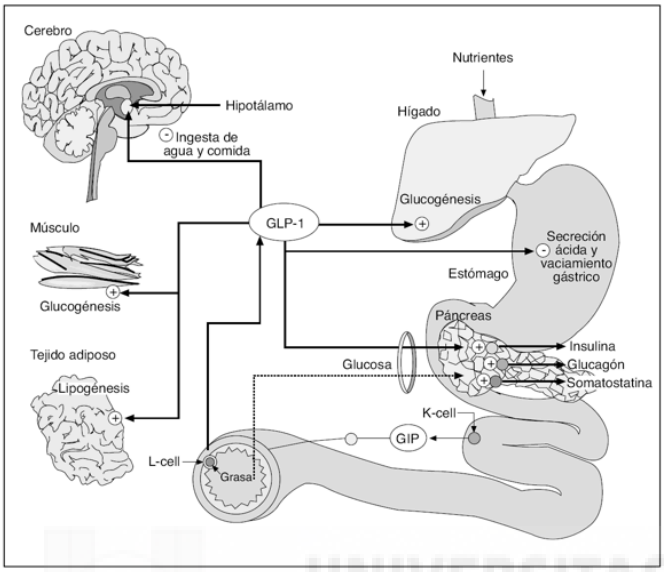
De hecho, si los procesos de bypass gastrointestinal trabajan sólo mediante el aumento de un mecanismo y/o la señal con influencia positiva sobre la sensibilidad a la insulina y/o secreción de la misma (es decir, GLP-1, la reducción de la absorción de glucosa, pérdida de peso, etc.), es de esperar que la cirugía de bypass gastrointestinal siempre debiera mejorar la homeostasis de la glucosa, ya sea que la operación se realice en diabéticos o en individuos sanos. En contraste con esta expectativa, se observó que cuando el BDY se realiza en los animales no diabéticos (ratas Wistar) la tolerancia a la glucosa es peor que los controles simulados pareados efectuados, en contraste con la notable mejora en ratas diabéticas después del BDY[179]. Estos datos son consistentes con los resultados de las investigaciones clínicas que presentan un deterioro de la tolerancia a la glucosa en los seres humanos no diabéticos que han sufrido la exclusión quirúrgica del duodeno, es decir, para el tratamiento de la úlcera péptica o cáncer gástrico.

En resumen, previniendo el paso de los nutrientes al área duodenal a través de un bypass gastrointestinal, 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 DMT2 también puede ser caracterizada por un componente de la disfunción del duodeno-yeyuno, es decir, que en parte la fisiopatología de la enfermedad tenga un componente de disfunción intestinal.

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"[167]. La visión actual del llamado "eje entero-insular" se basa totalmente en el concepto de las incretinas[189]. Algunas incretinas conocidas incluyen el péptido inhibidor gástrico (GIP) y el GLP-1, cuya acción sobre las células beta en gran parte se superponen. Las incretinas conllevan a acciones con mejora de la glucosa estimulada por la secreción de insulina, el crecimiento de las células beta (una acción anti-apoptóticos de las incretinas) y la mejora de la acción de la insulina. Así, el sistema de incretinas promueve acciones que eventualmente podrían conducir a la hipoglucemia, una condición que puede ser mortal si no es tratada a tiempo.[181,189,190]

Fig. 5: acciones de la incretina GLP-1[191].



Por lo tanto, es razonable postular la existencia de un mecanismo contrarregulador estimulado por el mismo pasaje de nutrientes. Ese "anti-sistema de las incretinas", que tienen acciones opuestas a las de las incretinas, es decir, disminución de la secreción de insulina, o de la reducción en la acción de la insulina (o resistencia a la insulina), y reducción del crecimiento de las células beta. En concreto estas acciones de las anti-incretinas, van a prevenir la hipoglucemia inducida.

Mientras que una producción equilibrada de incretinas y anti-incretinas es necesaria para mantener los niveles de glucosa normales, así 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, la DMT2. Asimismo, una producción insuficiente de "anti-incretinas" (es decir, después de las cirugías que impiden el pasaje de los nutrientes en los segmentos proximales del intestino delgado) puede causar inestabilidad en el sistema y conlleva un desequilibrio en los efectos

de las incretinas, que conducen a hiperinsulinemia, la hipoglucemia, y la proliferación de las células beta.

Así, mientras que un exceso de producción de anti-incretinas puede estar involucrado en la fisiopatología de la diabetes tipo 2, la lucha contra la producción incrementada de incretinas después de las operaciones de bypass gastrointestinal también puede explicar algunas de las complicaciones raras del BPGYR como la nesidioblastosis, o la hipoglucemia postprandial y el síndrome de dumping, que puede seguir la gastrectomía con exclusión duodenal. Con el conocimiento actual, no hay candidatos obvios para el papel de "anti-incretinas"[192].

Las anti-incretinas pueden ser de hecho una hormona desconocida o un factor no conocido para funciones que todavía no son completamente entendidas. Es interesante, sin embargo, que la acción del GIP y GLP-1 y la expresión de sus receptores son defectuosos en pacientes diabéticos. Por otra parte, la primera fase de la secreción de insulina después de la estimulación de la glucosa, que es regulada por el sistema GIP/GLP-1, está típicamente disminuida en la diabetes tipo 2. Estas anomalías están en consonancia con la existencia de un factor de anti-incretínico proximal que interfiere con el sistema GIP/GLP-1[193]. La inversión de la alteración de la primera fase de la secreción de insulina después del BPGYR sugiere una posible recuperación de las funciones normales del GIP después de la operación. Es necesaria una investigación adicional en esta dirección. Centrar la atención en el duodeno y el intestino delgado proximal representa una fascinante oportunidad para investigar cuáles nuevas vías esperanzadoras se pueden abrir en la búsqueda de la causa de la diabetes.

En este contexto, el control de la glucemia juega un papel primordial en la diabetes, ya que la hiperglucemia en personas no diabéticas induce una inhibición en la producción endógena de glucosa, un hecho denominado “efectividad de la glucosa” y que favorece la euglucemia, fenómeno que se encuentra disminuido en las

personas diabéticas, por lo que no hay control de la hiperglucemia[194-196].

Además de la hiperglucemia crónica, el medio metabólico mal controlado en la DMT2 está caracterizado por una elevación sustancial de ácidos grasos libres (AGL)[195] que se elevan en proporción a un peor control glucémico. Se ha comunicado que a las 72 horas de una normoglucemia con insulinización intensiva en pacientes con mal control glucémico, restaura la efectividad de la glucosa junto con la normalización de los niveles plasmáticos de AGL[197]. Elevando los niveles circulantes de AGL en pacientes no diabéticos se antagoniza la regularización de la formación endógena de glucosa por hiperglucemia, y a la inversa con la normalización de AGL durante 6 horas se mejoran los niveles de glucemia en pacientes diabéticos tipo 2. Más aun, en pacientes diabéticos con buen control glucémico, los niveles de AGL y de glucemia fueron comparables a pacientes no diabéticos[198]. Así la incapacidad de los circuitos hepáticos de glucosa para responder a la hiperglucemia en diabéticos mal controlados puede ser debido, al menos en parte, a aumentos sostenidos en plasma de AGL; la pérdida de los efectos inhibitorios de la insulina en la lipólisis probablemente contribuye a la elevación de los AGL en la DMT2.

El aumento en la síntesis de novo de glucosa mediante la gluconeogénesis es el principal proceso responsable del incremento de la formación endógena de glucosa en DMT2; mayores niveles de AGL estimulan potentemente la gluconeogénesis y por ende la hiperglucemia.[199,200]

Para investigar si el control de la diabetes es el resultado del tratamiento de la obesidad y de la inducción de la pérdida de peso, o existe alguna explicación adicional, se han realizado estudios experimentales en ratas Goto-Kakizaki (GK), un modelo animal de DMT2 espontánea no obesa. Este estudio ha demostrado que en la BDY mejora de forma espectacular la glucemia en ayunas y la tolerancia a la glucosa, independiente de la pérdida de peso y/o

disminución de la ingesta calórica. Este estudio fue la primera demostración experimental de que la pérdida de peso y disminución de la ingesta de calorías no pueden explicar completamente porque la cirugía mejora la DMT2.[181,187,188]

Estudios clínicos preliminares parecen confirmar estos hallazgos también en seres humanos. Cohen et al.[183] realiza BDY para tratar la diabetes en dos pacientes que no eran obesos mórbidos. La operación no causó cambios significativos en el IMC y el peso corporal de los pacientes, en cambio disminuyeron los niveles de glucemia y HbAc1 a estándares normales. La remisión de la diabetes en los pacientes con obesidad mórbida también se ha divulgado después del RYGBP y de la DBP, que se caracterizan por un grado variable de derivación del intestino delgado proximal. Pero también hay estudios que han documentado mejora y/o remisión de la diabetes después de una resección gástrica parcial o GV, con lo cual se supone que aún queda mucho por descubrir en esta nueva propuesta de cirugía metabólica.

El metanálisis de Buchwald et al.[201] mostró que los resultados del RYGBP a largo plazo exceden a la pérdida de peso, es decir, los pacientes sometidos a BPGYR, y de igual manera las otras operaciones bariátricas, rara vez regresan enteramente al peso inicial. La pérdida del 50 al 60% del exceso de peso significa, de hecho, que en muchos pacientes el restante 40 o 50% de dicho exceso no se elimina por la operación. Técnicamente, muchos pacientes mantienen el sobrepeso o siguen siendo francamente obesos y fallan en alcanzar la "remisión completa" de la obesidad. Esto está en contraste con la evidencia de que más del 80% de los pacientes que se someten al RYGBP y >90% de las personas que se someten a la BPD logran una remisión completa sostenida de la DMT2. Por lo tanto, si consideramos sólo en términos de capacidad de inducir la remisión de la enfermedad, el BPGYR (y la DBP) parecen ser aún más eficaz en la diabetes que en la obesidad en sí. Esta paradoja sugiere que 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" para estas operaciones cuando se realizan en pacientes con DMT2 y otras comorbilidades, independientemente de su grado de obesidad. De hecho, la inducción de remisión de la diabetes supone, sin duda, un mayor beneficio que la pérdida de peso de por sí, incluso en un paciente con obesidad mórbida. La evidencia creciente muestra también que el BPGYR 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.

Así mismo, un elemento a tener en cuenta en la etiología de la resistencia a la insulina es el factor de necrosis tumoral alfa, una citoquina secretada por macrófagos estimulados y que tiene un efecto catabólico que favorece la lipolisis y disminuye la lipogénesis[202,203], y que constituya un posible factor vinculado al empeoramiento de la homeostasis de la glucosa[204]. Experimentos in vitro en células musculares de ratas y humanos obesos con y sin resistencia a la insulina poseen mayor cantidad de RNA-m de dicho factor, estando su expresión asociada al estado de insulinresistencia[106], hecho observado in vivo en modelos animales[205]. El mecanismo por el cual el FNTalfa provoca la resistencia a la insulina está mediado por su acción inhibitoria sobre la cascada de fosforilación insulínica específica sobre IRS-1.

2.2 Definición de conceptos básicos.

2.2.1 Fisiología de la ingesta y el metabolismo.

La fisiología de la ingesta y el metabolismo de los alimentos es, hoy en día, un campo abierto al estudio y no son pocos lo trabajos que día a día salen a luz 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[206].

Actualmente para poder estudiar los mecanismos que regulan la ingesta y el metabolismo energético se realiza la siguiente esquematización.

- A través del metabolismo de la insulina/leptina.
- A través del sistema gastrointestinal.
- A través del sistema nervioso central.

2.2.1.1 Metabolismo insulina-leptina.

Estudios recientes asocian la obesidad con resistencia a los efectos biológicos tanto de la insulina, como de 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.[207]

1. INSULINA:(del latín insula,"isla") 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. De esta glucosa, y mediante glucólisis se obtendrá la energía necesaria en forma de ATP. Con lo cual su principal función es la de favorecer la

incorporación de glucosa de la sangre hacia las células Además tiene otras funciones metabólicas: estimula la lipogénesis, disminuye la lipólisis, e incrementa el transporte de aminoácidos a la célula. La insulina también modula la trascripción, 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) y a la relaxina.

La insulina se sintetiza como una preprohormona en una conformación unida por dos puentes disulfuro. Una actividad de proteasa específica rompe la molécula, que se disocia como péptido C, dejando el péptido amino terminal B unido por un puente disulfuro al péptido carboxiterminal A. La secreción de insulina por las células beta es regulada principalmente por los niveles de glucosa. Un incremento en el ingreso de glucosa a las células beta del páncreas conduce a un concomitante incremento en el metabolismo.

2. 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 escindido de las cadenas de la proinsulina, formándose la molécula de insulina. El péptido C y la insulina son secretados a la circulación portal en concentraciones equimoleculares. En la circulación periférica el nivel de 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 inyectada en el organismo y no reacciona de manera cruzada con los anticuerpos anti-insulina. 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, el nivel de péptido C se puede medir en un paciente con DMT2 para comprobar si el cuerpo aún está produciendo 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, excepto en los tumores de células del islote y en pacientes obesos.

3. LA LEPTINA: (del griego leptos delgado), también conocida como proteína OB, 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 incluyen un péptido señal de 21 aminoácidos. Los receptores de la leptina se expresan en numerosos tejidos del organismo, pero los efectos sobre el peso corporal dependen sobre todo de su expresión hipotalámica.

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 constituye una señal (retroalimentación negativa) que informa al hipotálamo de que el cuerpo tiene bastante comida y que 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.

2.2.1.2 Sistema gastrointestinal [206,207].

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.

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:

- 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 es secretado por 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. 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 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. Esto hace que determinados estudios se planteen como objetivos determinar las posibilidades terapéuticas en el campo de la DMT2, aunque se han de utilizar análogos del GLP-1 como el Exenatide.

En la regulación de la ingesta tiene un efecto inhibidor 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 afectos de DMT2, 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 Inhibidor Gástrico: (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. Actualmente se sabe que sus funciones principales son 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.

- El Péptido YY: (PYY) es secretado postpandrialmente por las células endocrinas intestinales de tipo L ubicadas en la mucosa del íleon distal y del colon, en proporción a las calorías ingeridas. 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 ileon. 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.

- La Ghrelina: hormona que actúa como reguladora del apetito y por tanto de la pérdida de peso. La ghrelina 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, hepática, placentaria o hipofisiaria entre otros. Sus receptores se encuentran a nivel multiorgánico incluyendo hígado, gónadas, pulmón o miocardio. A la vez, la disminución de la ghrelina 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 ghrelina 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 ghrelina después de la ingesta podría tener un papel en el origen de la obesidad.

- 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 disminuídos.

- El Péptido tirosina-tirosina: familia a la que también pertenece el polipéptido pancreático (PP) y el neuropéptido Y (NPY). Sintetizado en las células L del íleon distal y el colon. Segregado 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.

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

- El GLP-2: es secretado 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.

2.2.1.3 Sistema 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.[207,208]

2.2.2 Procedimientos bariátricos.

La cirugía bariátrica es el tratamiento más eficaz para los pacientes con obesidad mórbida y que cumplan los criterios establecidos para ser tributarios de tratamiento[209,210]. En la cirugía bariátrica lo más común es que se vea afectada anatómicamente la capacidad gástrica o la superficie de absorción de los nutrientes. El patrón de secreción de todos los péptidos que regulan la ingesta, así como el metabolismo lipídico y glucídico, se alteran.[211]

En la actualidad existen diversas técnicas quirúrgicas para el tratamiento de la obesidad mórbida pero aún hoy 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, mayor capacidad de reducir las comorbilidades asociadas a la obesidad.

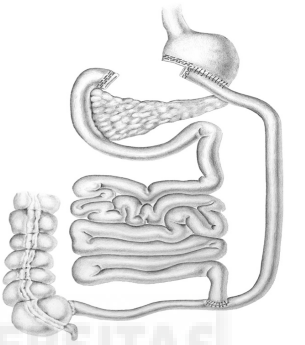
La gran diversidad de modificaciones en los tres grupos principales de técnicas quirúrgicas (restrictivas, malabsortivas y mixtas) demuestra que no hay un adecuado fundamento fisiopatológico que permita diseñar, la que se podría considerar, más adecuada[170,207,210]. Y ello muy probablemente se debe, por una parte, a las dificultades impuestas por la compleja etiopatogenia de la enfermedad y por otra, a que los escasos modelos experimentales existentes se han centrado más en el desarrollo y la resolución de problemas de técnica quirúrgica que en el análisis de los mecanismos fisiopatológicos (cerebrales, intestinales, tisulares y endocrinológicos) implicados tanto en la pérdida de peso, como en el mantenimiento del peso perdido o en la recuperación ponderal.

Desde hace unos años es el Bypass Gástrico en Y de Roux (BPGYR) el que más datos ha aportado en este sentido, pero los resultados más consolidados en el tiempo corresponden a la Derivación Biliopancreática (DBP)[212] No obstante, en la actualidad la Gastrectomía Vertical (GV) y el efecto "Ghrelina" viene a protagonizar resultados llamativos en el control de la obesidad y mejoría del síndrome metabólico. Lo único claro hasta hoy es que las técnicas restrictivas puras logran reducciones ponderales menores que las técnicas malabsortivas, que aunque tienen un efecto terapéutico más permanente en el tiempo, generan muchos problemas de déficit de nutrientes[213,214]. Es por ello, que la tendencia gira alrededor de técnicas mixtas en el tratamiento de la obesidad. Sin embargo, queda mucho por escribir en relación a cuál es la técnica ideal para la cirugía de la DMT2.

A continuación se describe una clasificación general de las técnicas bariátricas más utilizadas, así como los pocedimientos bariátricos.

I.1 Bypass gastro-ileal e ileo-cólico.

Su aplicación tiene origen en los inicios de la década de los cincuenta. Tanto el bypass yeyuno-ileal como el ileo-cólico tenían su fundamento en la exclusión del paso de los alimentos a nivel de intestino proximal, pero se practicaron sin el claro conocimiento de cuáles eras las bases que promovían la pérdida de peso más allá de la lógica explicación que supone la alteración de la absorción de los nutrientes. No obstante, las complicaciones principales de estas técnicas, debidas a desnutrición, malabsorción de minerales (como el calcio, cuyo déficit generó importantes casos de osteopenia) y sobre todo, las alteraciones hepáticas, donde se planteó que estas derivaciones de la anatomía normal del tubo intestinal podrían generar un factor hepatotóxico por parte del segmento intestinal excluido post bypass. Este factor también explicaba la mayor incidencia de litiasis biliar en este tipo de intervenciones.



Otros trabajos apuntan a que un bypass intestinal no excesivamente largo, preservando un segmento suficiente para una absorción aceptable, mejora las alteraciones metabólicas post bypass y permite una pérdida de peso adecuada. En el ámbito metabólico, destacan trabajos con ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina a las que la resección intestinal y el bypass yeyuno-ileal mejoran claramente el perfil glucémico. En cambio, en otro estudio con ratas obesas determinadas genéticamente, los resultados post bypass son pobres, manteniéndose los niveles de hiperinsulinismo y de

hipertrigliceridemia, por lo que como técnica para la cirugía metabólica no parece adecuada[170,213].

I.2. Derivación biliopancreática de Scopinaro (DBP).

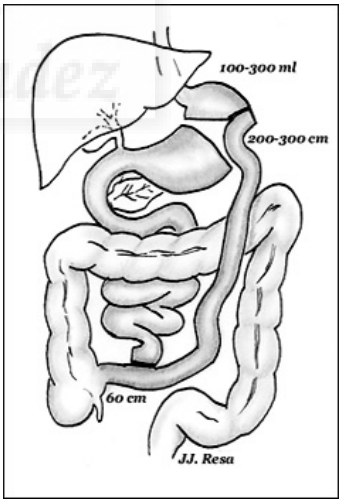
Técnicamente consiste en la resección transversal del estómago (gastrectomía distal transversal con reservorio gástrico de 200-500 ml de capacidad) y una reducción del intestino delgado "útil" para disminuir la absorción de grasas[171]. También es necesaria la creación de tres asas intestinales con las siguientes características:

1- Asa alimentaria: transporta los nutrientes (2,5 m.).

2- Asa biliopancreática: transporta bilis, jugos gástricos, intestinales y pancreáticos.

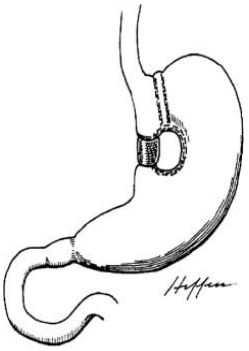
3- Asa común: 60 a 100 cm, porción donde se realiza el proceso de absorción de nutrientes.

Esta técnica está desarrollada y promovida por Scopinaro en 1979[171,212] y 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.



Entre las complicaciones a largo plazo está la anemia ferropénica, diarreas e hipoproteinemia. Es necesaria la administración de hierro, calcio y suplementos vitamínicos en el seguimiento postoperatorio sobre todo a largo plazo.[212,215]

II.1. Gastroplastia.

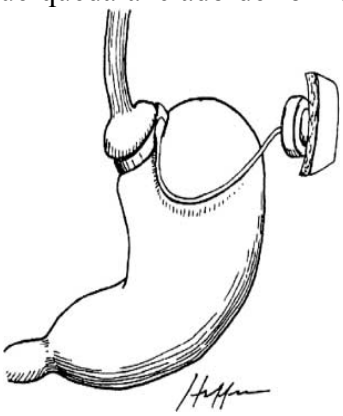


Desde la década de los setenta se diseñaron varias técnicas de gastroplastias pero la gastroplastia vertical con banda de Mason, fue la que más se realizó, sobre todo durante la década de los ochenta. Esta técnica consiste en la creación de 2 reservorios gástricos, uno de ellos, el proximal, es pequeño (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. 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[216]. 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. Aun así la persistencia de complicaciones de fuga en esta técnica sigue siendo uno de sus principales obstáculos.[216]

II. 2. Banda gástrica.

Desarrollada en los años ochenta con el propósito de evitar una cirugía directa de la pared del estómago, y diseñada especialmente para conseguir en concreto una disminución de la ingesta. Puede ser fija o ajustable, siendo esta última la más utilizada. 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 cm^3 por el que el paso de los alimentos es dificultosa,

logrando una sensación de plenitud precoz. 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, 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.[217]



II.3. Gastrectomía vertical.

La gastrectomía vertical o "sleeve gastrectomy" consiste en una resección gástrica vertical que comprende un 80% de la capacidad con exéresis del fundus y cuerpo del estómago de forma lineal desde el ángulo de Hiss hasta 3-4 cm del píloro (según grupos) quedando un remanente gástrico que oscila y los 50 ml a los 200 ml, no estando consensuado el volumen óptimo. No se realiza una vagotomía asociada, y por tanto no precisa de piloroplastia.

Inicialmente fue creada como el primer tiempo de una cirugía malabsortiva, con el fin de producir una buena pérdida de peso para luego, al cabo de unos meses, cuando se lograsen condiciones fisiológicas más idóneas, completar la técnica. Este planteamiento era el protocolizado para los pacientes con alto riesgo quirúrgico o anestésico y/o con grados muy altos de obesidad mórbida (más de 60 de IMC)[218].

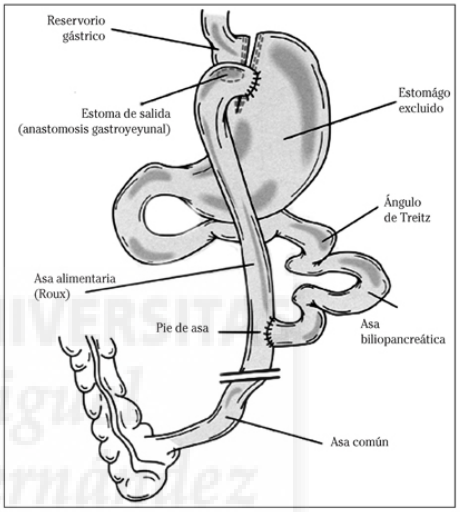
Sin embargo, desde hace unos años esta técnica ha pasado de ser un primer tiempo a un tiempo definitivo porque se ha visto que muchos pacientes presentaban, tras una GV, una pérdida de peso notable, con una buena calidad de vida y sin los posibles inconvenientes que la técnica malabsortiva añadida pudiera implicar. Además, se omite un tiempo quirúrgico elevado, con las complicaciones inherentes, lo que beneficia mucho a este tipo de pacientes que tienen muchas comorbilidades asociadas. Esto ha hecho que se reconsidere la GV como entidad única dentro de las técnicas quirúrgicas bariátricas.[207,218-220]

Por todo ello, hoy en día la GV es la técnica de elección en los pacientes con grados de súper obesidad y graves comorbilidades de difícil manejo terapéutico. El exceso de peso perdido se suele situar entre el 60 y el 70% a los 6 meses de la intervención, siendo superior de forma significativa a la pérdida del exceso de peso de otras técnicas restrictivas como la banda gástrica[219]. Los resultados a largo plazo son esperanzadores, pero siguen en fase de estudio. Además, se ha visto que patologías como la DMT2 o la hipertensión se resuelven casi en más del 90% de los casos al cabo de un año de la intervención.

No obstante, los estudios de mayor proyección en el tiempo están revelando que los beneficios en peso y metabolismo no son consistentes, y llegado a un punto se vuelve a ganar peso y resurgen las comorbilidades. Aún así, dada su facilidad técnica está cogiendo gran auge entre los cirujanos bariátricos.[219,220]

III. 1. Bypass Gastro-yeyunal en Y de Roux (BPGYR).

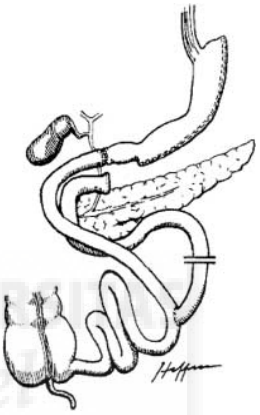
Técnicamente lo que caracteriza al BPGYR es la creación de un reservorio gástrico de 20-30 ml que acompaña a un cambio en la estructura de la anatomía intestinal[170]. Este cambio se produce al realizar una sección del yeyuno distalmente al ligamento de Treitz (aproximadamente a 100 cm según grupos de estudio) Posteriormente, se procede a las anastomosis intestinales: gastro-yeyunal y yeyuno-yeyunal con el asa alimentaria que suele disponerse entre los 150 a 200 cm de longitud (la variante distal viene dada también por grupos de estudio). Por tanto, con el BPGYR se crean tres asas intestinales, una de las cuales es la que realiza la función absortiva de los nutrientes que es llamada asa alimentaria[221]. 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[222]. Es decir, el BPGYR combina la restricción gástrica con un componente malabsortivo (fundamento de las técnicas mixtas) donde esencialmente la absorción que se ve más afectada es la de la vitamina B12 y del hierro.



Actualmente, se realiza por vía laparoscópica. Ofrece una buena calidad de vida para el paciente y la pérdida de peso es mayor que en las técnicas restrictivas puras. La pérdida de peso se ha demostrado que se mantiene en una proyección a 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.[222]

Esta técnica tiene una baja incidencia de vómitos y reintervenciones[221]. De entre las complicaciones técnicas destacan la disrupción de la línea de grapas del reservorio gástrico y del remanente, que predispone a fugas anastomóticas de difícil tratamiento.

III.2. Derivación biliopancreática con switch duodenal.

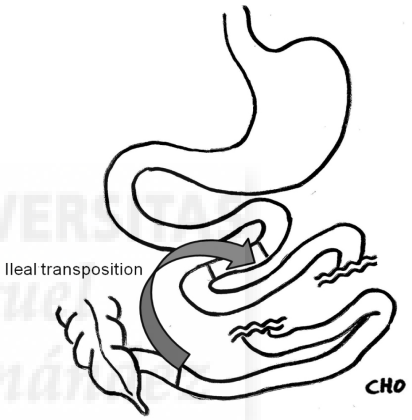


En los noventa, la técnica de Scopinaro fue adaptada y modificada en humanos por los trabajos de Marceau en 1993 y Hess en 1998 con la creación de una conexión duodenal o "duodenal switch" y una gastrectomía vertical, ofreciéndose como una técnica de una efectividad equiparable a otras técnicas en el tratamiento quirúrgico de la obesidad mórbida[223]. 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 león-cecal (canal común); el asa alimentaria se realiza a 2,5 m de la válvula ileo-cecal donde se unirá con el asa biliopancreática[170,223].

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%)[170,223]. De entre las desventajas puede haber una malabsorción de hierro y vitaminas liposolubles (A, D, E, K) que requieren controles y suplementos. Asimismo se han descrito reintervenciones debido a alteraciones en el vaciado gástrico[224].

IV.1. Transposición ileal.

Esta técnica consiste en realizar una transposición de un segmento de íleon terminal y colocarse al tramo digestivo superior después del ligamento de Treitz de forma isoperistáltica. La comida poco digerida a nivel de tubo digestivo superior estimularía la secreción de GLP-1, y de forma indirecta mejoraría el perfil glucémico. Produce una pérdida de peso en animales y la ventaja sería que se evitaría, en parte, el componente malabsortivo de otras técnicas.[180,225]



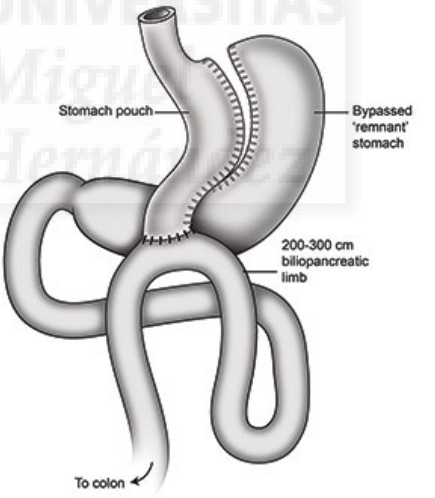
Se inició en la década de los ochenta y de forma experimental, con el objetivo de establecer cuál era la causa que determinaba la disminución de la ingesta después de un bypass yeyuno-ileal. En el proceso de pérdida de peso después de un bypass yeyuno-ileal hay una disminución clara de la ingesta que 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 el aumento 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.[180]

A la postre 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 DMT2 y de ella se podrían beneficiar pacientes afectos de obesidad mórbida y un pobre control metabólico.[225]

IV.2. Minibypass Gástrico (MGB).

Técnica desarrollada al final de los noventa por Robert Rutledge[226,227], un importante número de pacientes tratados hasta el momento. En el MGB se divide el estómago en la unión del cuerpo y el antro, en un lugar donde el asa yeyunal puede ser interpuesto cómodamente. Posteriormente, se realiza una gastrectomía vertical paralela a la curvatura menor y hasta el ángulo de Hiss. El asa yeyunal se sube de forma antecólica, y se anastomosa de forma termino lateral al extremo distal del estómago[226]. 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 BPGYR en su evolución.



Para que el BPGYR llegase hasta la actual técnica, pasó por variedad de modalidades que ante todo trataban de resolver el reflujo biliar y la reganancia 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 BPGYR 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[227]. Es por tanto que el MGB viene a dar resultados más que interesantes en relación a la disminución de la tasa de úlceras marginales, esofagitis y en los episodios de vómitos

asociados a la estenosis de la anastomosis. Así mismo, reduce el tiempo operatorio y la estancia media hospitalaria.

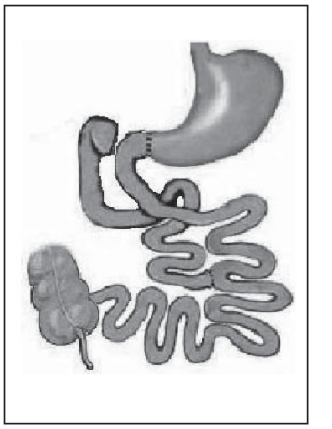
IV. 3. Bypass de una sola anastomosis (BGUA).

El BGUA se ha desarrollado a partir del MGB descrito previamente y es una modificación que se presenta como opción quirúrgica para el tratamiento de la DMT2[228-230]. La modificación del procedimiento original consiste en hacer una anastomosis latero-lateral en lugar de termino-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 carcinogénico de la exposición crónica que constituye la más importante crítica del procedimiento original[230]. 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.[229]

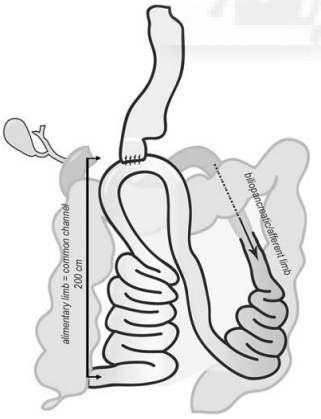
IV. 4 Bypass duodeno-yeyunal sin gastrectomía.

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.

Las ventajas potenciales de realizar un BDY 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 (por ejemplo, después de BPGYR). Por otra parte, la preservación del estómago puede evitar las complicaciones típicas de BPGYR como la anemia y la deficiencia de vitamina B12. Todavía, hoy en día, esta técnica tiene pocos seguidores, pues aún no existe un número adecuado de pacientes en seguimiento que hayan podido dilucidar complicaciones posibles a largo plazo.[183,231,232]



IV. 5. Bypass duodeno-ileal termino-lateral con gastrectomía tubular (SADI-s).



Técnica que viene siendo desarrollada desde 1997 por un equipo multidisciplinar en el Hospital Clínico San Carlos de Madrid. El Bypass duodeno-ileal término-lateral con gastrectomía tubular en manga es una nueva técnica bariátrica basada en la derivación biliopancreática con cruce duodenal, donde el duodeno se anastomosa con el íleon en una nueva modalidad de Billroth-II, donde se ubica al asa común a aproximadamente 200 cm de la válvula ileocecal[233]. La técnica está siendo sometida a un estudio prospectivo, con resultados ya preliminares[234], que prevé una pérdida de peso, por lo menos similar a la obtenida después de bypass gástrico, o el switch duodenal con los beneficios de un menor tiempo operatorio, la disminución de posibles fugas al realizar sólo una

anastomosis, y sin las complicaciones que trae la apertura del mesenterio.

IV.6. Manipulación del sistema vagal y la peristalsis gástrica.

Estos procesos experimentales se iniciaron en los años setenta cuando se expuso que en ratas a las que se producía una lesión hipotálamo ventromedial, se producía hiperfagia y obesidad, a la vez que un hiperinsulinismo. Este efecto se revertía con una vagotomía bilateral a nivel subdiafragmática, haciéndose necesarios más estudios en esta dirección. En 1981, Sclafani[235] muestra que una vagotomía subdiafragmática en ratas, reduce la obesidad inducida por la dieta, y en 1983 se plantea el acondicionamiento negativo hacia el comer que sufren las ratas vagotomizadas, las cuales presentan aversión a la comida[236]. No es hasta 1996, que en trabajos con cerdos, se coloca un implante de un electrodo bipolar en la pared antral del estómago a nivel de la subserosa. Este implante induce una estimulación que al cabo de tres meses produce una disminución de la ingesta con estímulos de alta frecuencia (100 Hz) y un aumento de la ingesta con estímulos de baja frecuencia.

Esto corroboró un estudio preliminar donde se comprobó que las variaciones de la estimulación eléctrica producían patrones variables en la peristalsis gástrica. Aquí se plantea la posible aplicación en humanos y la utilización para el manejo de la anorexia nerviosa y la bulimia.

En otros estudios se ha practicado una vagotomía en ratas obesas inducidas con glutamato monosódico y se produce una pérdida de peso y una disminución de la acumulación de grasa retroperitoneal. También en otros trabajos en perros, una estimulación vagal crónica disminuye el apetito y el peso. También se ha investigado en ratas los efectos a largo plazo de la neuromodulación vagal inducida mediante un microchip implantado en el nervio vago izquierdo a nivel

subdiafragmático. Los resultados fueron una disminución del peso, de la ingesta y los niveles de glucemia, así como un aumento de la velocidad del vaciamiento gástrico. Nuevas opciones se hacen necesarias para determinar el papel de la peristalsis gástrica y su manipulación para perder peso. En este sentido, cabe destacar el trabajo de Guiu en ratas a las que se inyectó toxina botulínica en la pared antral, y en las que la pérdida de peso fue significativamente alta.

V.1 Balón intragástrico.

La idea del uso del balón proviene de las observaciones clínicas con los bezoar gástricos[237]. Fisiológicamente, sus efectos restrictivos aumentan la sensación de plenitud, saciedad temprana y el vaciamiento gástrico lento, sobre todo durante los primeros 3 meses, en parte asociada a una posible disminución en los niveles plasmáticos de grelina.[238,239]

Como pros presenta baja incidencia de morbimortalidad, considerándose una técnica fácil y segura. Sin embargo, sus resultados a largo plazo distan mucho de los procedimientos quirúrgicos, tanto a nivel ponderal como de las complicaciones metabólicas asociadas.

V.2. Inyección de toxina botulínica intragástrica.

Su accion sobre los receptores de acetilcolina provoca una parálisis muscular, por lo que teóricamente se inhibe la peristalsis antral y con ello un enletencimiento en el vaciado gástrico, determinando una saciedad precoz.

VI. 1 TOGa (TransOral Gastroplasty).

Realiza una gastroplastia vertical por vía endoscópica. Presentaba buena tolerancia por el paciente con baja morbimortalidad, aunque sus resultados ponderales a los tres meses no superaban el

25% del exceso de peso perdido[240,241]. Actualmente se encuentra en desuso por el siguiente prodecimiento.

VI.2 Gastroplastia Vertical Endoluminal (Stomaphix).

Se colocan por aspiración plicaturas continuas en ambos lados del cuerpo gástrico creando una gastroplastia vertical.

VI.3 POSE (Primary Obesity Surgery Endolumenal).

Consiste en la introducción de una plataforma endoscópica a través de la cual con una pinza de aproximación de tejidos se pasa una sutura con anclas que crea plicaturas gástricas duraderas de toda la pared, posicionando serosa con serosa produciendo fibrosis permanente, lo que disminuye el volumen gástrico y la elasticidad del fundus. A su vez provoca vaciado fúndico precoz con estimulación antral y sesacion de plenitud.

VI. 4 Endobarrier.

Es una funda de polímero que se fija en el píloro y se extiende unos 60 cm hasta yeyuno impidiendo el contacto del alimento con las enzimas pancreatobiliares y por tanto sin digestión de las grasas, realizando una función mal absortiva pura.

Los resultados que se presentan no son muy buenos, y además se han descrito numerosas complicaciones en su colocación y complicaciones.[242,243]

2.3 ¿Plantear una cirugía de la DMT2?

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[169], 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 DMT2. Es más, si se considera la capacidad de inducir la remisión de la DMT2, 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 DMT2 sin otras alteraciones añadidas (obesidad, hipertensión, hipetrigliceridemia, etc.) y con la finalidad última de corregir esta alteración metabólica.

Pero ¿se puede plantear la cirugía a un paciente diabético no obeso? ¿Deben insistir los endocrinólogos en continuar con las terapias médicas en pacientes jóvenes con una proyección de la enfermedad de muchos años de evolución? ¿Se debe tener en cuenta que la hiperglucemia mantenida continúa ejerciendo su efecto deletéreo sobre las células beta del páncreas, mucho antes de que el diagnóstico clínico de la DMT2 se haya realizado? ¿Podemos 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 DMT2, es evidente que aún hoy se hacen necesarios modelos experimentales que permitan el análisis de los mecanismos fisiopatológicos implicados (centrales, intestinales, endocrinológicos,

etc.), 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.

Así pues, una vez analizados los antecedentes que envuelven a un planteamiento de cirugía para la DMT2, es cuando surge una propuesta del siguiente proyecto. Por tanto, con este estudio se propone desarrollar una nueva técnica quirúrgica que logre restablecer los niveles glucémicos evitando la progresión de las complicaciones propias de la DMT2 sin afectar al peso global del individuo. Una vez validada técnicamente la propuesta quirúrgica, se pretende buscar los factores que están involucrados en el mecanismo que produce la mejoría de la DMT2 no asociada a la obesidad. Con este fin, se utilizará un modelo experimental animal (la rata diabética no obesa) para valorar no sólo los cambios plasmáticos de los responsables metabólicos principales de la DMT2 (insulina, GLP-1, GIP, etc.) sino también los cambios funcionales e histológicos a nivel de las células beta del páncreas, protagonista final del desajuste metabólico, así como la ausencia de progresión de las alteraciones a nivel de los órganos dianas afectos por la hiperglucemia mantenida.

2.4 Propuesta para una técnica quirúrgica para el tratamiento de la DMT2.

2.4.1 Consensos internacionales.

En la reunión de Roma, en el año 2007, medio centenar de expertos en el campo de la cirugía metabólica llegaron a la siguiente afirmación: "*la cirugía gastrointestinal puede ser apropiada para el tratamiento de la DMT2 en pacientes de un IMC de entre 30 y 35, que no tengan un control adecuado mediante el estilo de vida y el tratamiento médico*".

Desde entonces se constituye la Diabetes Surgery Summit (DSS), como árbitro para el reconocimiento de abordajes quirúrgicos para el tratamiento de la diabetes en pacientes debidamente seleccionados.

Con ese fin, la DSS establece las bases para la subespecialidad descrita en las bases de la "cirugía de la diabetes", estimulando a mejorar el acceso a la opciones quirúrgicas respaldadas por estudios, al tiempo que lanza una alerta para prevenir el daño derivado del uso inadecuado de procedimientos nos probados.

Para conseguir este objetivo se pretenden priorizar los ensayos clínicos que permitan investigar el papel de la cirugía en pacientes diabéticos no obesos mórbidos. Todas estas conclusiones vienen reflejadas en un artículo publicado por Rubino[244].

En 2011, la International Diabetes Federation (IDF), acordó que la cirugía de la diabetes es eficaz y más barata que el tratamiento médico, y se debe considerar como una opción terapéutica[245,246].

2.4.2 Consenso español.

En 2013 se reunieron 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), elaborando un documento de posicionamiento de la cirugía metabólica como un procedimiento universal útil en un gran número de pacientes diabéticos[247].

Gracias a ello, se abre un campo muy prometedor a la cirugía como tratamiento de la DMT2, ya que son muchos los pacientes que pueden verse beneficiados de las nuevas indicaciones y de los

descubrimientos a los que se lleguen gracias a las nuevas líneas de investigación.

A continuación se muestran los postulados más relevantes del Consenso Español del 2013:

1- La cirugía metabólica está indicada en pacientes con obesidad (IMC>35 kg/m^2), con especial atención si la DM o sus comorbilidades son difíciles de controlar con cambios en el estilo de vida y tratamiento farmacológico (nivel evidencia B).
2- Aunque no se recomienda de manera indiscriminada la cirugía metabólica en DMT2 con IMC 30-35 kg/m^2, debido a los datos insuficientes a largo plazo sobre reducción de morbimortalidad cardiovascular y/o disminución de complicaciones microvasculares (nivel evidencia E), se puede plantear su aplicación en ciertas situaciones:
   a. IMC 30-35 kg/m^2.
   b. Tras una evaluación interdisciplinar donde se hayan descartado otras formas de diabetes diferentes a la tipo 2.
   c. Muestren deterioro progresivo del control glucémico, HbAc1 > 7,5%, a pesar de un tratamiento convencional optimizado.
3- 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.
4- Conviene señalar que las tasas de remisión son menores cuando el diagnóstico de la DM supera los 10 años, el paciente está siendo tratado con insulina y existe evidencia de escasa reserva pancreática.

2.4.3 ¿Qué lleva a pensar que hay campo para una técnica quirúrgica en esta área?

Para responder a esta cuestión nos basaremos en cinco evidencias:

1. Vista la evolución de la cirugía bariátrica en el tiempo y considerando sus beneficios sólo en términos de la efectividad para inducir la remisión de la DMT2, 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.
2. La sociedad conoce 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, incluso cuando su IMC sea menor a 30 o en inicio no presenten complicaciones derivadas de la DMT2.
3. La resolución de la DMT2, y por tanto la no evolución de sus complicaciones, conllevaría un ahorro a la sanidad de miles de euros al año por paciente además de una disminución de la morbimortalidad asociada a las complicaciones propias de la DMT2.
4. 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 DMT2. Sin embargo, técnicas exclusivamente para el tratamiento de la DMT2 en pacientes no obesos aún están en fase experimental, y cualquier aporte que podamos dar en este sentido, lo consideramos beneficioso.
5. 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 es que pensamos que nuestra técnica propuesta pueda aportar nuevos conocimientos para el tratamiento de la DMT2.

2.4.4 Bases anatomofisiológicas de la nueva técnica propuesta.

Dado que uno de los objetivos del estudio es plantear una nueva técnica quirúrgica para el tratamiento de la DMT2 en paciente no obeso, en primer lugar se explican las bases anatomofisiológicas que fundamentan una nueva técnica.

Así pues tenemos 6 puntos clave para evaluar:

1. Exclusión del duodeno versus la llegada acelerada de los alimentos al íleon.
2. Preservación del estómago.
3. Fundamento para una sola anastomosis.
4. ¿Dónde ubicar la anastomosis?
5. ¿Cuál debe ser las longitudes del asa?
6. ¿Es necesario adicionar una técnica antirreflujo?

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

Primeramente debemos recordar la disyuntiva que existe en relación a cuál de las dos hipótesis predomina en el efecto intestinal que produce el beneficio de la DMT2. Es entonces cuando vuelve a surgir la pugna entre la hipótesis del intestino proximal versus el distal (*foregut vs. hindgut*)[167,180]. Así pues, algunos estudios señalan que el efecto de determinadas operaciones bariátricas sobre la diabetes depende de la exclusión del duodeno (ED) y el yeyuno proximal del tránsito de nutrientes, lo cual puede prevenir la secreción de una señal

de supuestos elementos "anti-incretínicos" que promueve la resistencia a la insulina y la DMT2 (hipótesis foregut).

En este estudio vamos a considerar la hipótesis del "foregut" como válida y la idea principal de la técnica quirúrgica por desarrollar será la exclusión del paso de los alimentos por el duodeno sin resecar tejidos.

2.- Preservación del estómago.

Muchas de las técnicas bariátricas que suponen una restricción en el volumen del estómago tienen como finalidad dos aspectos: la restricción alimentaria e inhibir el efecto que sobre la ingesta genera la ghrelina desde el fundus gástrico. Sin embargo, estos efectos no serían deseados en una cirugía para la DMT2 donde en principio no se requiere reducir el peso corporal inicial. Por tanto, damos por supuesto que los mecanismos de control de la DMT2 desde el punto de vista de la cirugía bariátrica incluyen, más que una restricción a la ingesta, la acción de mecanismos hormonales. Así pues, en principio sería deseable preservar el estómago y evitar efectos indeseados habituales en la GV, en el BPGYR y en la DBP como la anemia, el déficit de micronutrientes, oligoelementos y de vitamina B12.

3.- Fundamento de una sola anastomosis.

Tanto el BPGYR como la BPD 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[230]. Beneficios tales como:

1. Disminuir el riesgo de dehiscencia y fugas.
2. Disminuir el tiempo operatorio.
3. No apertura de los mesos intestinales.

Con lo cual, buscando estos beneficios, en este estudio nos inclinamos por desarrollar una técnica que promueva una sola anastomosis.

Actualmente hay tendencias a tener en cuenta técnicas quirúrgicas menos agresivas, con una anastomosis como el MBG, que pueden ajustarse a las necesidades de cada paciente según su estado metabólico

4.- ¿Dónde ubicar la anastomosis?

Si se preserva el estómago 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. 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 nos llevan a tratar de evitar este procedimiento.

Así pues, se retoma la idea del Billroth II[248] pero realizando la anastomosis gastroyeyunal y a nivel de la zona verticalizada de la curvatura mayor 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[249,250], para reconstruir el tránsito de alimentos.

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[249]. Por lo general, su desarrollo estaba propuesto como un tipo de esófagoplastia cuando por causas congénitas (atresia) o patológicas (fundamentalmente patología

cancerosa) debía 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[249-251]. Se consideró que este procedimiento era mucho más fisiológico que interponer un asa de colon. Así pues, tomando como base el colgajo tubular de curvatura mayor, se propone que en lugar de anastomosar directamente el asa de intestino delgado a la curvatura mayor del estómago se proceda a realizar un tubo gástrico y allí realizar la anastomosis. Las características que nos impulsan a plantear este diseño son que dicho tubo siempre va a disponer de un rico y confiable suministro de sangre, así como esperamos que pueda transportar el alimento de manera eficiente, logrando un buen vaciado del estómago y, sobre todo, evitar el reflujo biliar que se verá dificultado por el efecto que la gravedad ejerce sobre el mismo al situarse la anastomosis en la región caudal del TGR.

5.- ¿Cuál debe ser la longitud del asa?

Dentro de las diferentes técnicas de una sola anastomosis el fundamento técnico se basa en un Bilrroth II[248]. En dicha técnica la distancia a la que se realiza la anastomosis gastroyeyunal es aproximadamente entre 60-100 cm desde el ángulo de Treitz. Nosotros reproduciremos en la rata una distancia equivalente. Así pues, la distancia clave en nuestros animales de experimentación será aproximadamente de unos 10-15 cm, teniendo en cuenta que el intestino de ratas pequeñas es de aproximadamente 100 cm de largo.

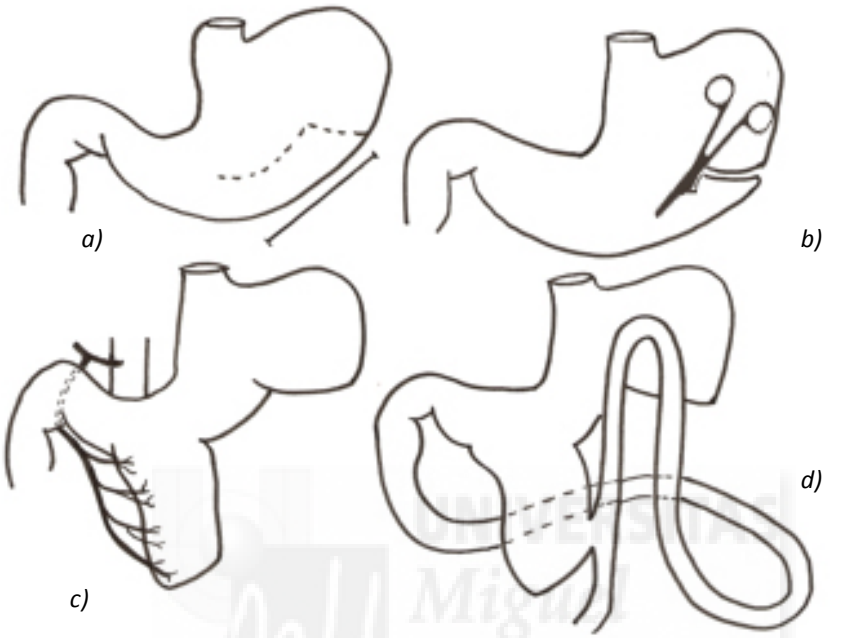
6.- ¿Es necesario adicionar una técnica antirreflujo?

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 de BGUA donde el cambio más importante en comparación con el original del MGB es el tipo de anastomosis. Esta modificación trata de minimizar el contacto y el efecto crónico de las secreciones biliopancreáticas sobre la mucosa gástrica. Para ello el BGUA[252] fija el asa de yeyuno a la nueva bolsa del estómago unos centímetros más arriba de la anastomosis, de manera que la caída de la secreción biliopancreática ocurre algunos centímetros más abajo (aproximadamente a 15-20 cm de la anastomosis gastro-yeyunonal latero-lateral.) 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 nuestra intención de usar el tubo reverso, apoyaría más nuestra idea de evitar el reflujo biliar y un posible efecto dumping.

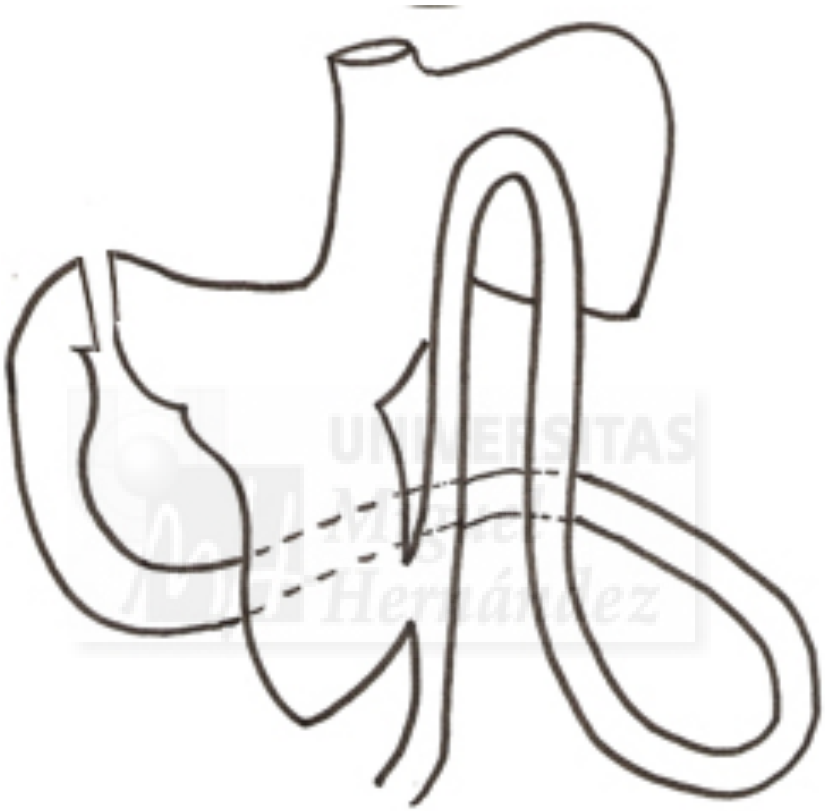
Además, suponiendo un posible problema de reflujo ácido, no se descarta realizar una técnica antirreflujo. De hecho, realizar el tubo reverso gástrico a mitad de la curvatura mayor dejará posibilidad de no manipular el fundus gástrico, en previsión de poder realizar una funduplicatura de Nissen si fuera necesario.

Fig. 6: técnica experimental de exclusión dudenal.



a) *Localización del sitio de grapado.*
b) *Sección para la creación de la plastia.*
c) *Resultado de la plastia, conservando la arteria gastroepiploica.*
d) *Anastomosis lateral en la parte más caudal del TGR.*

Fig. 7: técnica propuesta como resultado de los análisis descritos, así como de la interacción de las técnicas comentadas.



2.5 Justificación del estudio.

Son muchas las evidencias que demuestran que la cirugía barátrica induce cambios hormonales que afectan al metabolismo global[167-190], mejorando el equilibrio glucídico e induciendo remisión de la DM. Debido a este último concepto es por lo que en los últimos años se ha cambiado la denominación de cirugía bariátrica a cirugía metabólica, ya que se ha demostrado la capacidad de mejorar comorbilidades de índole metabólico, como son la hipertensión o la dislipemia.

Las indicaciones para incluir a un paciente en el circuito de una cirugía metabólica están asentadas[247], hecho que no ocurre a la hora de indicar una cirugía de la DMT2 en un paciente normopeso, en donde hay, todavía, gran controversia.

Las bases fisiopatológicas de la DMT2 no son del todo conocidas hoy día, así como su etiopatogenia. Ello hace que muchos de los endocrinólogos sean reticentes a las indicaciones quirúrgicas de la DMT2.

Con el presente estudio pretendemos otorgar de nuevas perspectivas a los actuales conocimientos que existen sobre los mecanismos fisiológicos que acontencen, tras una cirugía gastrointestinal, sobre el equilibrio glucídico, con el propósito de conferir una propuesta adicional a los tratamientos existentes.

UNIVERSITAS
Miguel
Hernández

UNIVERSITAS
Miguel
Hernández

UNIVERSITAS
Miguel
Hernández

III. HIPÓTESIS.

3.1 Hipótesis de trabajo.

La reestructuración del tracto gastrointestinal en donde los alimentos pasan del estómago al yeyuno proximal estimula un eje hormonal que disminuye el estado inflamatorio crónico y la resistencia periférica a la insulina, aumentando la presencia de células beta en el páncreas y mejorando las alteraciones periféricas propias de la DMT2.

UNIVERSITAS Miguel Hernández

UNIVERSITAS
Miguel
Hernández

UNIVERSITAS
Miguel
Hernández

UNIVERSITAS
Miguel
Hernández

IV. OBJETIVOS.

4.2 Objetivo principal del estudio.

Validar una intervención quirúrgica experimental para el control glucémico en la DMT2.

4.3 Objetivos secundarios del estudio.

- Evaluar los cambios en las características de la orina como reflejo del control glucémico y de las lesiones tisulares inducidas por la diabetes.
- Estudiar el efecto de la ED sobre el desarrollo ponderal y el crecimiento.
- Corroborar que la euglucemia mantenida, después de la ED, regenera y mejora la capacidad funcional de las células beta.
- Investigar sobre el efecto de la exclusión duodenal en momentos más iniciales de la DMT2.
- Evaluar los posibles cambios anatomopatológicos tras la ED, si tienen relación con el tiempo de evolución de la enfermedad y demostrar las ventajas de un tratamiento quirúrgico precoz.
- Analizar la relación entre el estado inflamatorio crónico y la resistencia periférica a la insulina.
- Examinar los cambios anatomopatológicos tras la ED en estómago y mucosa duodenal.
- Estudiar la ED como factor protector frente a las complicaciones propias de la DMT2.

UNIVERSITAS
Miguel
Hernández

UNIVERSITAS
Miguel
Hernández

UNIVERSITAS
Miguel
Hernández

V. MATERIAL Y MÉTODOS.

5.1 Diseño del estudio.

Este proyecto de investigación plantea realizar un estudio de naturaleza empírica experimental que avale un esquema para el desarrollo de un protocolo sobre cirugía de la DMT2 en pacientes no obesos, extrapolable además a pacientes con cualquier IMC.

Así pues se puede definir el estudio como de investigación aplicada, ya que su objetivo plantea resolver cuestiones de tipo práctico y su desarrollo va dirigido a la producción y/o mejora de procesos ya existentes. También se considera al estudio de tipo primario, dado que los datos se recogerán de la misma fuente de la que se generan.

Su diseño se presenta como prospectivo, intervencionista y aleatorizado.

UNIVERSITAS Miguel Hernández

5.2 Esquema general de actuación.

FASE I:

Se realizará la nueva técnica quirúrgica sobre un modelo de rata de laboratorio común (la rata Wistar) a fin de evaluar la viabilidad de la técnica desde el punto de vista de la mecánica anatómica, fisiológica y quirúrgica. Esta fase se realiza y evalúa resultados a lo largo de un año.

FASE II:

Si la FASE I es viable, se procederá a la FASE II donde se realizará la nueva técnica quirúrgica sobre un modelo de rata diabética

no obesa, la rata Goto-Kakizaki, a fin de evaluar si genera mejorías en el metabolismo de la glucosa.

5.3 Tipos de animales del estudio.

5.3.1 Rata Wistar; fase I del estudio.

La rata Wistar es actualmente una de las cepas de ratas más populares utilizadas para la investigación de laboratorio. Se caracteriza por su cabeza ancha, orejas largas y con un cuerpo que en longitud supera siempre a la cola. Se trata de una línea albina de la rata parda. Hoy por hoy, más de la mitad de las ratas de laboratorio existentes derivan de la población generada por el fisiólogo HH Donaldson, el cual trabajaba en 1906 en el Wistar Institute.

Este modelo de rata se creó para fines de investigación biomédica, y se trata de la primera rata empleada como organismo modelo para el humano con quien comparte grandes rasgos genómicos (anteriormente se trabajaba con el ratón). Esta cepa es considerada un animal polivalente desde el punto de vista experimental. Tiene una vida media larga, buena reproducción, rápido crecimiento, es dócil y fácil de manipular. Por estas razones escogemos este modelo de animal de experimentación para la primera fase del estudio.

5.3.2 Rata Goto-Kakizaki; fase II del estudio.

La rata Goto Kakizaki (GK) es un modelo de 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 por probable deterioro de la masa de células beta del páncreas. Además, la exposición crónica a la hiperglucemia (glucotoxicidad) también puede deteriorar aún más la función de las células beta. Así pues, la resistencia a la insulina no parece ser primordial en el desarrollo de la hiperglucemia en este modelo de rata diabética y permite estudiar la DMT2 no asociada a la obesidad.

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 cepa original, y obviamente el peso corporal de ratas adultas GK son típicamente un 10-30% inferiores a los de la misma edad[253].

La DMT2 de las ratas GK tiene una base genética por lo que es una enfermedad hereditaria por acción de varios genes, situación similar en los humanos donde la DMT2 tiene una base poligénica.

De manera independiente a la predisposición genética, se han descrito factores epigenéticos como es la exposición del feto a altos niveles glucosa intrauterinos, lo cual puede ser responsable del desarrollo anormal de las primeras células beta en el esbozo pancreático[254].

Este hecho reabre la hipótesis de que la DMT2 puede tener su origen en el desarrollo fetal temprano permaneciendo latente durante décadas en el humano. Una característica que ha puesto en evidencia estos hallazgos es que la pérdida de capacidad regenerativa de las células beta es trasmitida de generación en generación, lo que se conoce como respuestas epigenéticas transgeneracionales[254]. Este daño a nivel pancreático unido a factores extrínsecos (dieta, actividad física, obesidad abdominal) e intrínsecos (glucotoxicidad, alteraciones en los receptores del factor de crecimiento insulínico, daño en la capacidad de regeneración celular) se presentan como catalizadores de la enfermedad.

Los cambios en la histología del páncreas (fundamentalmente aumento del tejido fibrótico no funcional) no están habitualmente presentes en las ratas GK jóvenes, pero aumenta la incidencia con la edad. Desde los estudios de inmunohistoquímica, se observa que la distribución de las células beta se diferencia entre algunas de las colonias de ratas GK. Así mismo, la densidad de volumen de las células beta de las ratas GK de 2-3 meses de edad en la colonia de Estocolmo es semejante al control de ratas Wistar. Resultados similares fueron logrados en un estudio en Dallas con ratas GK obtenidos directamente de Sendai. En cambio, las ratas GK de la colonia de París muestran más de 50% de reducción de la masa de células beta en la fase fetal, que se mantiene durante la vida adulta y al parecer precede al comienzo de la hiperglucemia alrededor de la tercera semana después del nacimiento. Extensos estudios de la cepa parisina de GK han sugerido que la masa defectuosa de células beta y la alteración en la función reflejan una compleja interacción de, al menos, tres factores patógenos:

- Diferentes genes que causan la secreción de insulina alterada.
- Una disminución de las células beta como resultado de la programación metabólica gestacional.

- La pérdida, secundaria o adquirida, de células beta o la diferenciación de las mismas en respuesta a la exposición crónica a la hiperglucemia (glucotoxicidad).

La rata GK reproduce bien las principales características de la DM2 humana: hiperproducción de glucosa, reducción de la tolerancia a la misma, deterioro en la secreción de insulina, aumento de la resistencia periférica a la insulina y alteración en el metabolismo lipídico. Típicamente, la glicemia en ayunas está sólo ligeramente elevada, pero aumenta considerablemente tras la ingesta de glucosa.

Un número creciente de estudios han demostrado que la rata GK es un modelo animal útil para la DMT2 en ausencia de obesidad, en la que el defecto primario más probable reside en la célula beta. Así, en los islotes de ratas GK, hay una serie de defectos aparentemente relacionados con el deterioro de la secreción de insulina, y algunos de estos defectos también se han demostrado en islotes aislados de pacientes diabéticos tipo 2. Además, la naturaleza de la herencia de diabetes en la rata GK, viene a ser la acción aditiva de varios genes, y ello es similar a la base para la enfermedad poligénica en la mayoría de pacientes con DMT2[254-259], siendo la diabetes un modelo más aproximado que el inducido por fármaco.

Tanto en la rata GK joven como en los pacientes diabéticos de corta evolución apenas existe fibrosis en el páncreas, pero ésta aumenta con la edad y la evolución de la DMT2, alterándose tanto la diferenciación como la apoptosis de las células beta. Esta anormalidad se presenta en el humano focalizando 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 de células beta o alteración en su función[260].

Más aún, se considera uno de los mejores modelos para el estudio de la asociación entre la masa de células beta y las complicaciones relacionadas con la diabetes, especialmente la nefropatía[261], neuropatía periférica[262] y retinopatía[263].

Tabla 11: características comparables en la DMT2 del humano y rata GK.[188]

Característica	***DMT2***	***Rata GK***
Propiedades de la célula beta		
Reducción de masa de células beta	✓	✓
Aumento de apoptosis de células beta	✓	✓
Disminución de la regeneración de células beta	✖	✓
Cambios histológicos en el páncreas		
Aumento de la fibrosis	✓	✓
Infiltración de macrófagos	✓	✓
Reacción inflamatoria	✓	✓
Deposito de amiloide	✓	✖
Alteraciones fisiológicas		
Fase de prediabetes con hiperglucemia	✓	✓
Respuesta reducida de la insulina	✓	✓
Síntesis normal de péptido C	Desconocido	✓
Activación del mecanismo de producción de glucosa hepática	✓	✓
Respuesta de la insulina a GLP-1	✓	✓
Alteraciones a nivel celular		
Disminución de la expresión de GLUT2	✓	✖
Reducción de la expresión de la proteinkinasa	Desconocido	✓
Alteración mitocondrial	✓	✓
Oxidación de la glucosa	Disminuida	Variable
Aumento de producción de lactato	Desconocido	✓
Ambiente en el embarazo		
Hiperglucemia materna como factor de riesgo	✓	✓
Efectos de los tratamientos conocidos		
Respuesta de las células beta	✓	✓
Respuesta al cambio dietético	✓	✓
Respuesta a la modificación del TGI	✓	✓

5.4 Selección de los grupos de estudio.

En la primera fase de validación de la técnica, se realizará el procedimiento quirúrgico sobre ratas Wistar. En ellas se aplicarán en principio los cuidados pre y postquirúrgicos del mismo modo que se piensa realizar en las ratas diabéticas no obesas.

En la segunda fase, la intención es trabajar con 36 ratas GK, preferiblemente machos para evitar cualquier implicación del ciclo ovárico en el estudio. Se distribuirán los 36 individuos en 2 grupos: (1) exclusión duodenal, (2) sham-control. Así pues, cada grupo supondrá 18 sujetos asignados al azar.

Las operaciones se llevarán a cabo en 3 períodos, diferenciadas entre sí, en aproximadamente 4 semanas. Así se operará en las semanas: 12, 16 y 20 de vida. La intención de espaciar las intervenciones con esta periodicidad es procurar datos en animales sometidos a cirugía precoz y animales en quienes se retrasará el procedimiento quirúrgico. Por tanto, 12 sujetos (6 de exclusión duodenal ED y 6 control-sham) por 3 sesiones, nos proporcionarán los valores de los 36 animales.

5.5 Condiciones de aclimatación.

Los animales se alojarán 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 del Real Decreto 1201/05, Decreto 13/2007, de la Generalitat Valenciana, Directiva CEE 86/609. El SEA gestiona la normativa que estipula una serie de principios éticos ligados al uso y

cuidado de los animales de experimentación. Para la consulta de esta normativa se remite a la dirección website: http://sea.umh.es.

De forma general se plantea mantener a los animales en condiciones similares con las siguientes características:

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

5.6 Cuidados generales y preoperatorios.

- Se establecerá 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 estables las características de cada grupo.
- Se controlará diariamente el volumen de pienso ingerido.
- 48 horas previas a la cirugía se iniciará dieta líquida con batidos hiperproteicos hipercalóricos (Isosource®) junto con la dieta normal para el habituamiento de los animales. La dieta sólida se retirará de forma progresiva hasta las 8 horas previas a la cirugía.
- En el día de la intervención se dejará en ayuno de 8 horas con agua y batidos *ad libitum* hasta antes de la intervención.
- No se pautará profilaxis antibiótica prequirúrgica.

5.7 Condiciones y características nutricionales.

Para la alimentación de las ratas se optará por el pienso del laboratorio Harlan porque es un alimento completo adaptado a las necesidades nutricionales de las ratas. Su composición nutricional básica comprende:

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

UNIVERSITAS Miguel Hernández

5.8 Protocolo de anestesia.

Se realizará el procedimiento bajo anestesia inhalada para lo cual se contará con:

- Regulador de flujo de gases.
- Oxígeno.
- Cámara de anestesia.
- Mascarilla de anestesia para roedores.
- Vaporizador anestésico.
- Anestésico (isoflurano).
- Analgésicos (meloxicam, buprenorfina y mepivacaína).

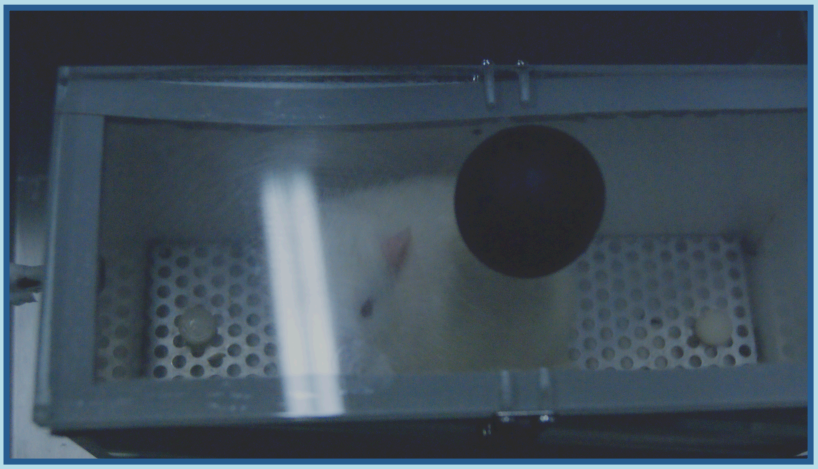
El procedimiento que se seguirá es:

- En la *inducción* 30 minutos previos a la cirugía se inocula vía subcutánea Meloxicam 2mg/kg y buprenorfina 0,1mg/kg y se introduce el animal en la cámara de inducción regulando el vaporizador al 4-5% de isoflurano y oxígeno a 2,5 l/min. Una vez que el animal pierde la conciencia, se le traslada a la mesa de intervención y se le coloca la mascarilla. Previa a la incisión en piel se inocula en la zona vía subcutánea e intramuscular mepivacaina hidrocloruro 1mg/kg
- La fase de *mantenimiento* se realiza durante la intervención regulando el vaporizador al 1,5-2% de isoflurano y 100% de oxígeno, con un flujo de 2,5 l/min.
- Para la *recuperación* se desconecta el vaporizador de isoflurano dejando con oxígeno al 100% a un flujo de 2,5 l/min hasta la completa recuperación del animal.

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

Aparato de anestesia.

Cámara de inducción anestésica.

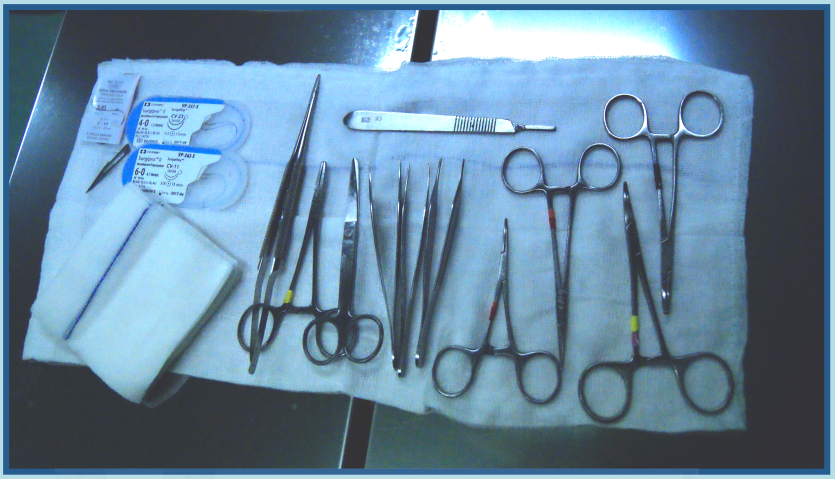


5.9 Material quirúrgico.

Para la realización de las intervenciones quirúrgicas será necesario el siguiente material:

-Tijeras de Mayo.
-Pinzas de disección finas rectas de Adson.
-Pinzas finas curvas.
-Portaagujas fino rectas de microcirugía.
-Pinzas hemostáticas de Halsted-Mosquito curvas y rectas.
-Pinzas de "Bulldogs".
-Hilos de sutura: filamento trenzado reabsorbible e irreabsorbible y monofilamento irreabsorbible para ligadura del duodeno, monofilamento irreabsorbible de 6/0 para la anastomosis gastroyeyunal, sutura de seda 3/0 para cierre de gastrotomía y cierre de laparotomía y monofilamento para piel.

Material quirúrgico



5.10 Técnica quirúrgica propuesta: exclusión duodenal.

- Previa anestesia local y general y en decúbito supino, se realizará una laparotomía media de 3-4 cm en sentido cráneo-caudal desde el apéndice xifoides.

- Una vez en cavidad abdominal se identificarán las estructuras.

- Seguidamente se traccionará suavemente desde la parte mecánica del estómago liberándolo de la fijación al hígado cuyo lóbulo izquierdo lo cubre en gran parte.

- Se identificarán los epiplones, el bazo, los vasos cortos y la región antro pilórica.

- Ligadura triple del duodeno con cierre de la región postpilórica mediante puntos transfixivos con seda 3/0, surgypro 3/0 y polisorb 3/0.

- Medición de la longitud total de la curvatura mayor gástrica y la anchura del cuerpo del estómago.

- Elección del sitio teórico de sección a nivel de la curvatura mayor, abarcando en su mayoría la porción mecánica del estómago.

- Creación del tubo gástrico reverso:

a.-Sección horizontal en el punto elegido de la curvatura mayor en una extensión no superior a un tercio de la anchura gástrica.

b.-Sección vertical paralela a la curvatura mayor hasta la porción química del estómago.

c.-Movilización del tubo gástrico obtenido, comprobando su descenso. Cierre del mismo y de la porción gástrica con seda 3/0 monoplano sutura continua

- Elección del asa anastomótica:

a.-Se subirá de forma antecólica el primer asa yeyunal.

b.-Fijamos el primer asa yeyunal a la cara anterior del cuerpo gástrico y se deja caer el asa paralelo al tubo gástrico.

c.-Realización de la anastomosis latero-lateral en la porción más caudal del tubo gástrico mediante sutura continua de 6/0 monofilamento irreabsorbible.

- Comprobación de buen paso de alimentos por la anastomosis e integridad de la misma.

- Hidratación de la cavidad abdominal con suero salino.

- Cierre de la pared con sutura continua seda trenzada 3/0.

- Inoculación de anestesia local y cierre de piel con sutura intradérmica monofilamento irreabsorbible 4/0.

Fig. 8: anatomía abdominal de la rata

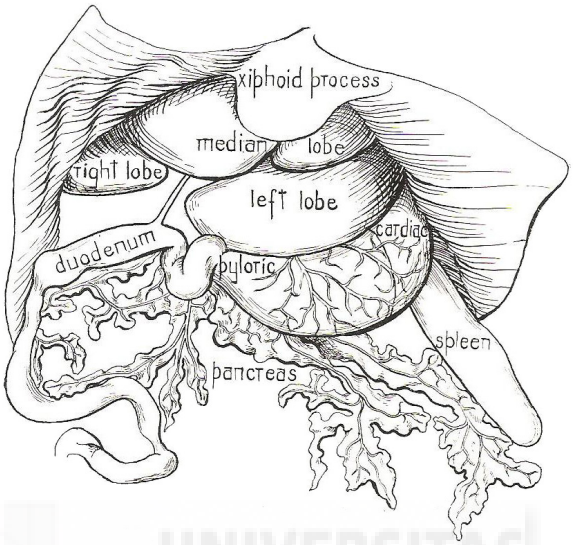


Fig. 9: representación del sitio de sección gástrica.

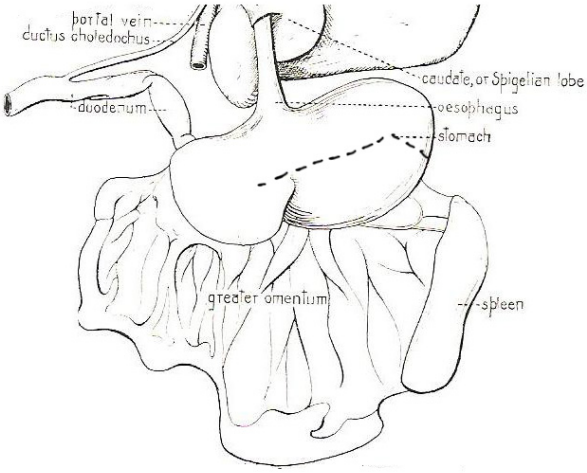


Fig. 10: tracción caudal de la manga gástrica.

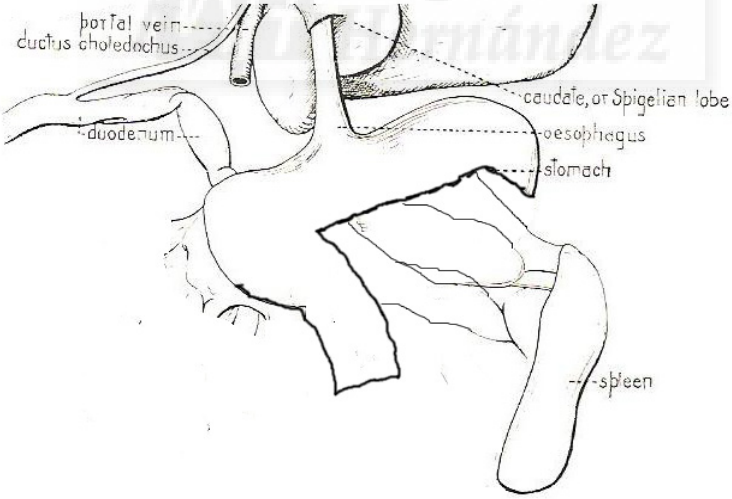
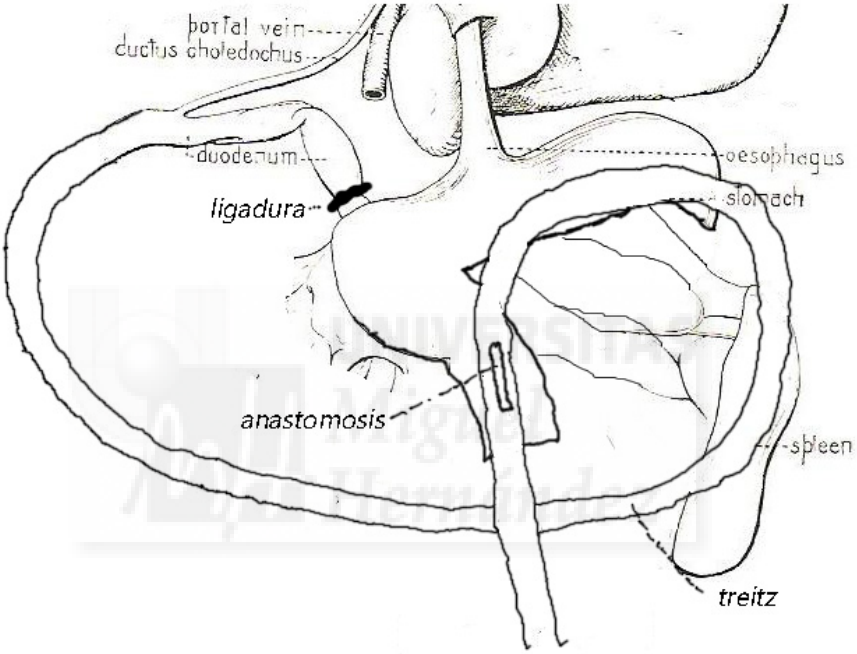
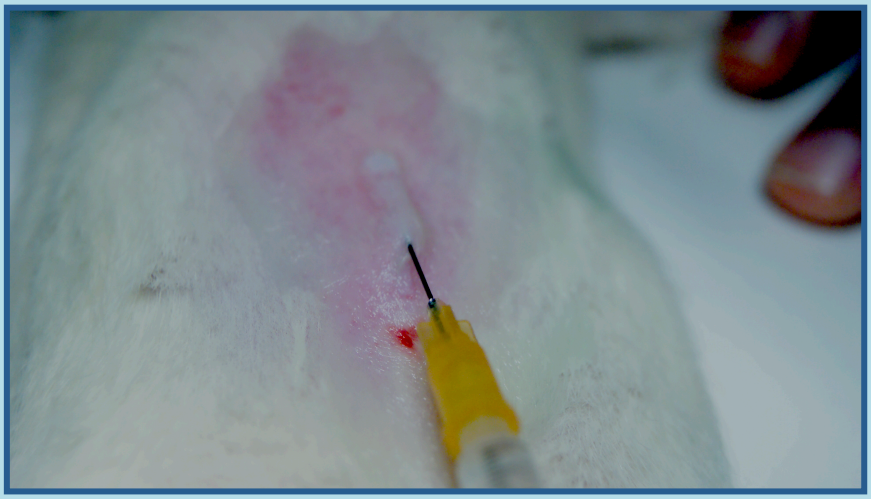


Fig. 11: técnica propuesta final con ligadura a nivel del duodeno y anastomosis del primer tramo yeyunal con la manga gástrica formada.

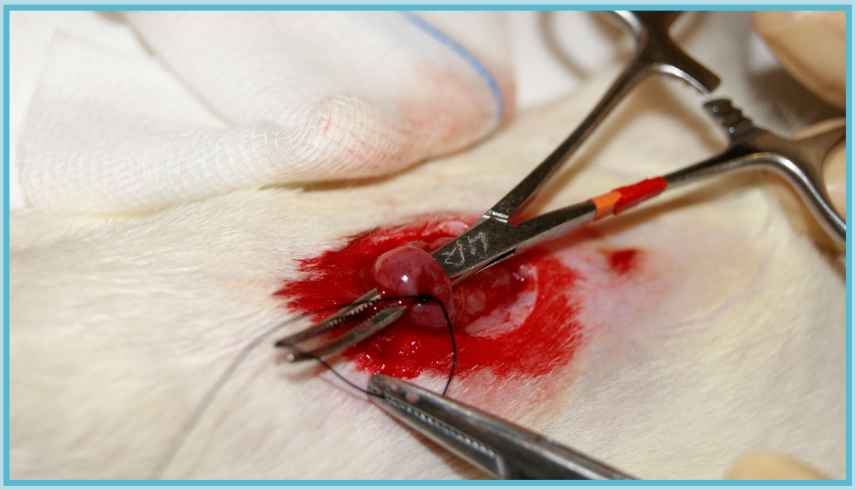


Preparación del campo e inoculación de anestesia local.



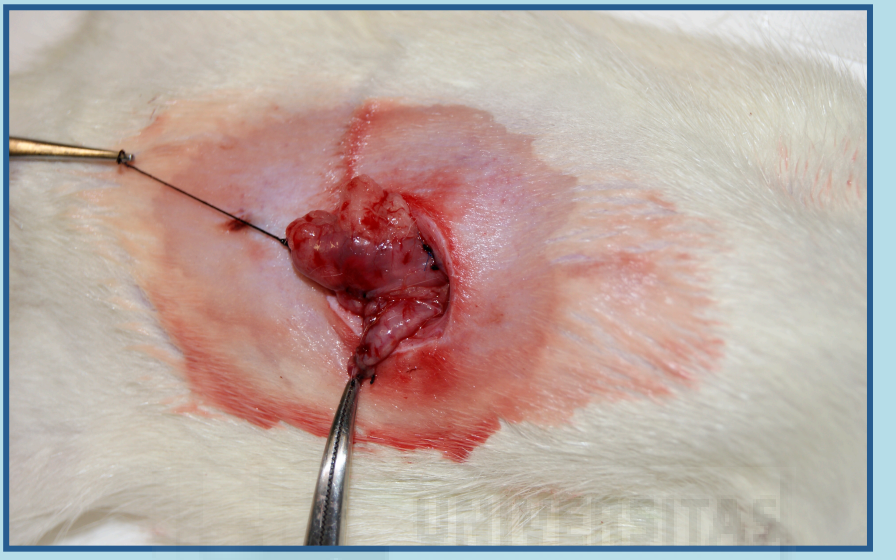
Localización y disección de doudeno

Ligadura mediante punto transfixivo

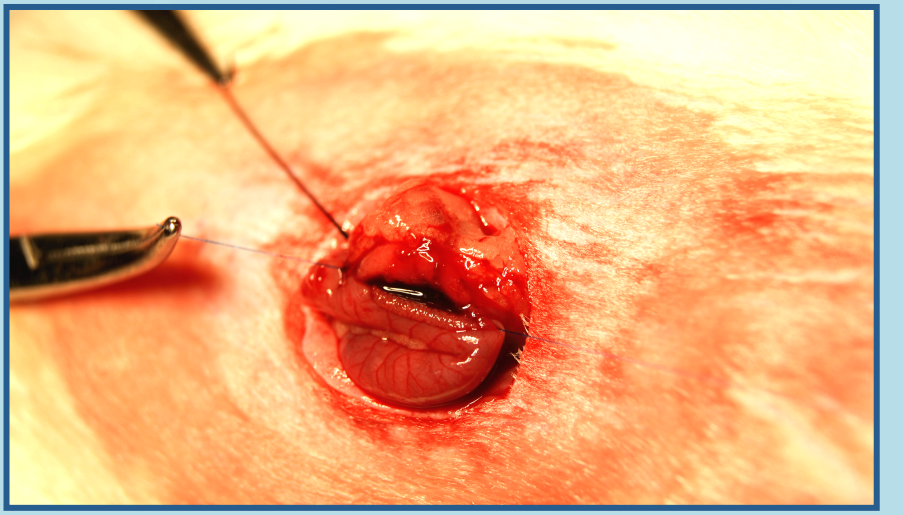


Calibración para la manga gástrica

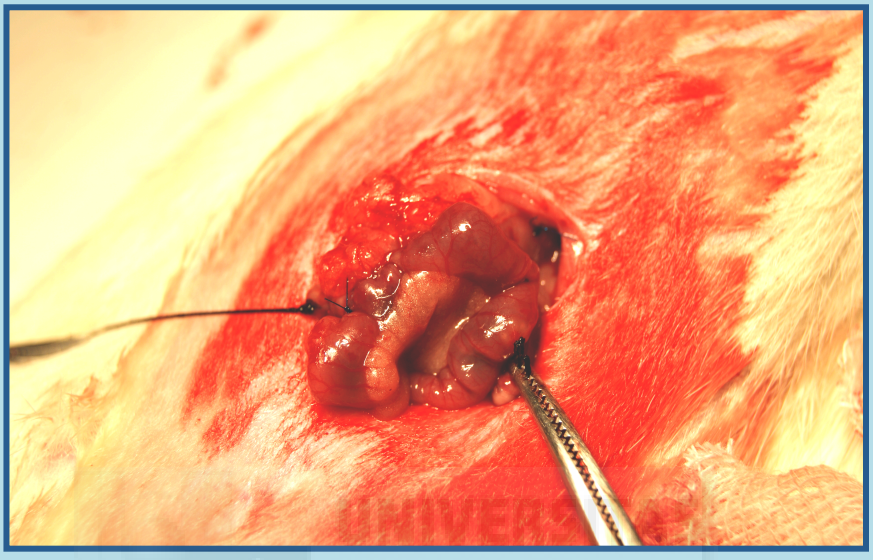
Confección de manga gástrica



Anastomosis gastroyeyunal, cara posterior



Anastomosis completa y fijacion del asa a estómago



Cierre de pared abdominal e inoculación de anestésico local

5.11 Técnica quirúrgica simulada (Sham).

En inicio se repetirán los mismos pasos que en la técnica quirúrgica propuesta, realizándose la creación del tubo gástrico reverso y posteriormente enterotomía y cierre del asa yeyunal en el sitio teórico de la anastomosis. En el píloro se realizarán suturas a nivel seroso que no impedirán el paso normal de los alimentos a través de su luz. De esta manera se realizará la misma manipulación y se usarán los mismos materiales que en la exclusión duodenal.

5.12 Cuidados postoperatorios.

Dieta líquida el día de la intervención. Para facilitar la hidratación del animal durante el postoperatorio no se privará en ningún momento de agua, dando durante los primeros 5 días mínimo solución analgésica con 8,9 ml de meloxicam al 2% y 13 ml de ibuprofeno al 4% por cada 500 cm^3 de agua (según estado general de la rata podrá mantenerse más tiempo). Además, se pondrá un parche transdérmico de fentanilo durante las primeras 48 horas.

Para facilitar la hidratación del animal se inyectará 5 cm^3 de suero glucosalino al 5% cada 24 horas durante los dos primero días.

Durante las primeras 72 horas los animales recibirán dieta líquida con preparados hipercalóricos sin gluten, fibra, ni lactosa, para posteriormente y de forma progresiva reintroducir el pienso estandar.

Serán necesarios controles de la herida de la laparotomía con curas tópicas con povidona yodada y, si ocurriese infección, se procederá a tratamiento tópico.

Así mismo, al menos durante los primeros 5 días, se inoculará buprenorfina subcutánea 0,2 mg/kg cada 12 horas.

Para todos los procedimientos se registrarán el tiempo operatorio, la presencia o ausencia de vómitos (un indicio de obstrucción), temperatura, el momento de la defecación postoperatoria y otras complicaciones. El peso y la ingesta de alimentos serán evaluados diariamente durante las primeras 2 semanas y luego una vez por semana hasta el final del experimento.

En todo momento se siguen las directrices del cuidado de animales de experimentación dictaminadas por:

- Real Decreto 53/2013: Normas aplicables para la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos.
- Ley 32/2007, de 7 de noviembre, para el cuidado de los animales, en su explotación, transporte, experimentación y sacrificio.
- Real Decreto 1201/2005, de 10 de octubre, sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos.
- Decreto 13/2007, de 26 de enero, del Consell, sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos en la Comunitat Valenciana.

5.13 Evaluación del dolor.

Los roedores manifiestan el dolor por cambios físicos y de comportamiento. La observación de signos clínicos según el procedimiento y las características del dolor premite refinar la monitorización analgésica o incluso la finalización precoz del procedimiento.

Tabla 12: signos indicativos de dolor.

Reducción de la ingesta de agua y alimento
Pérdida de peso
Aislamiento
Automutilación
Disnea
Rechinar de dietes
Agresión
Actividad física aumentada o disminuida
Pelaje descuidado
Piloerección
Arqueamiento dorsal
Cromodacriorrea
Porfirinas perioculares
Rigidez muscular
Deshidratación
Temblores
Espasmos
Enrojecimiento en la herida

Tabla 13: signos clínicos que indican revisión de analgesia.

Signos generales	Signos específicos
Postura	Decúbito, arqueamiento con cabeza hacia el abdomen
Apariencia	Piloerección, pérdida de peso, deshidratación
Actividad	Menor ingesta, menor actividad exploratoria, agresividad, automutilación
Comportamiento	Inicialmente agresiva, luego deprimida
Marcha	Inestabilidad
Ojos	Casi cerrados, hundidos, cromodacriorrea
Respiración	Taquipnea, secreción nasal rojiza

Tabla 14: utilización del dolor como criterio de eutanasia.

Categoría	Signos	Valoración
Peso corporal	Normal	0
	<9% pérdida	1
	10-15% pérdida	3
	>16% pérdida	8
Apariencia	Normal	0
	Acicalado pobre	1
	Pelaje descuidado, descarga nasal, diarrea	3
	Pelaje mal estado, postura anormal	6
	Midriasis, cianosis, letargia marcada	7
Constantes vitales	Normal	0
	Modificaciones escasas	1
	Temperatura +/- 2ºC, taquicardia o taquipnea >30%	2
	Temperatura >2ºC, taquicardia o taquipnea >50%	8
Comportamiento Espontáneo	Normal	0
	Cambios leves	1
	Anormal, movilidad reducida	4
	Automutilación, inmovil	8
	Temblor en cabeza, Trémor, espasticidad, ataxia	10
Comportamiento en respuesta a estímulos	Normal	0
	Depresión leve	1
	Respuestas anormales moderadas	3
	Reacciónes violentas, convulsiones	10
Relación peso/tamaño tumor	500 400 300 200 100 gr	
	2,0 1,8 1,8 1,3 1,1 cm	2
	4,0 3,6 3,0 2,6 2,3 cm	5
	6,0 5,5 4,5 4,0 3,5 cm	10

Realizar eutanasia si se suman 10 puntos o más.

Tabla 15: monitorización postoperatoria.

Categoría	Signos	Valoración
Actitud	Normal	0
	Escondido y quieto	1
	No explora, excava, apoyo de cabeza contra la jaula, agresividad al tocarle	4
Manchas de porfirina	Ninguna	0
	Leve en ojos/nariz	1
	Envidente en cara y almohadillas	4
Marcha y postura	Normal	0
	Incordinación leve, piloerección leve	1
	Ataxia, arqueamiento, piloerección grave, arrastra extremidades	4
Pérdida de peso	Hasta el 5% preoperatorio en 3 días	0
	5-10% del peso preoperatorio	1
	>10% del peso preoperatorio	4
Apetito	Normal	0
	No ingiere alimento seco pero sí fruta o gelatina, bebe	1
	Sin interés por la comida, deshidratación	4

0=normal
1-4= monitorización
>4= eutanasia

Tabla 16: signos de irritación intestinal.

Categorías	Valoración
Apariencia	
Normal	0
Falta de acicalamiento	1
Pelaje descuidado	2
Deshidratación, pliegues cutáneos	4
Peso corporal	
Pérdida <5%	0
Pérdida 5-10%	1
Pérdida 10-15%	2
Pérdida >20%	4
Signos clínicos	
Heces normales o algo blandas	0
Diarrea	1
Distensión abdominal sin heces	2
Distensión y defensa abdominal	4
Comportamiento ante estímulos	
Normal	0
Depresión	1
Cambios moderados	2
Reacción violenta	4

0-4 Normal
5-9 Monitorización y valorar analgesia
10-14 Sufrimiento, reevaluación o eutanasia
>15 Dolor grave, eutanasia

5.14 Protocolo de sacrificio.

Durante la etapa final y bajo sedación completa con isoflurano se accederá a cavidad abdominal para realizar muerte por

exanguinación y posterior extracción multiorgánica para los análisis anatomopatológicos necesarios.

5.15 Recogida de datos.

5.15.1 Fase I.

En las ratas Wistar se prevé recoger datos específicos de la técnica quirúrgica, es decir, variables en cuanto a la preparación de las ratas para la cirugía, el tipo de abordaje, las variantes anatómicas, la técnica quirúrgica en sí, la manipulación de tejidos en las ratas, el tipo de material de sutura idóneo, la anestesia, la recuperación inmediata tras la cirugía, las complicaciones quirúrgicas frecuentes como infección, obstrucción u hemorragia y como se plantea solucionar dichas complicaciones. Los errores que en el diseño original puedan ocurrir esperamos detectarlos en esta fase, para lograr un diseño más exitoso en la segunda fase. Si durante el postoperatorio de estas ratas se produjese algún deceso en algunos de los sujetos de la muestra se procederá a la autopsia para estudiar los posibles fallos de la técnica.

5.15.2 Fase II.

Sobre el modelo de ratas diabéticas no obesas:

a) ***Peso***: se determinará a las 8 semanas, preoperatorio, a la semana de la cirugía y previo al sacrificio.

b) ***Bioquímica base:*** de las glucemias basales y con sobrecarga oral.

c) ***Hormonales específicos:*** previo a la cirugía y en el momento del sacrificio se determinarán valores del FNT-α.

d) ***Orina:*** determinando proteinuria, glucosuria, pH, densidad y presencia de cuerpos cetónicos.

e) ***Estudios histológicos:*** se especificará más adelante la metodología.

Los estudios hormonales específicos de analíticas en sangre se obtendrán de todos los animales en tres oportunidades: en la semana 8 tras la aclimatización, antes de la intervención en la semana que corresponda y en la semana 8 postquirúrgica durante el sacrificio. La determinación del FNT- α se realizará mediante ELISA según kit comercial RMHMAG-84K proporcionado por Milliplex®.

Para el test de sobrecarga oral de glucosa, se mantendrán a los animales en ayunas de 12-16 horas con agua ad libitum; mediante sonda orogástrica se introduce solución de glucosa al 40-50% a razón de 3gr/kg de peso y se medirán las glucemias basales y a los 10, 30, 60 y 120 minutos mediante sistema StatStrip™ Xpress.

Para un menor sufrimiento del animal de experimentación se realizará una pequeña incisión a nivel distal de la cola para la obtención de la primera gota de sangre (basal) que se coartará con simple presión con una gasa; para posteriores mediciones de sangre con una leve presión se libera el coágulo obteniendo de nuevo una gota de sangre para la medición de la glucemia, y que igualmente se coartará con presión sobre la misma.

inmovilización e introducción de sonda orogástrica.

Inmovilización y corte distal en la cola.

Obtención de la gota de sangre necesaria.

Obtención de sangre en posteriores ocasiones.

UNIVERSITAS Miguel Hernández

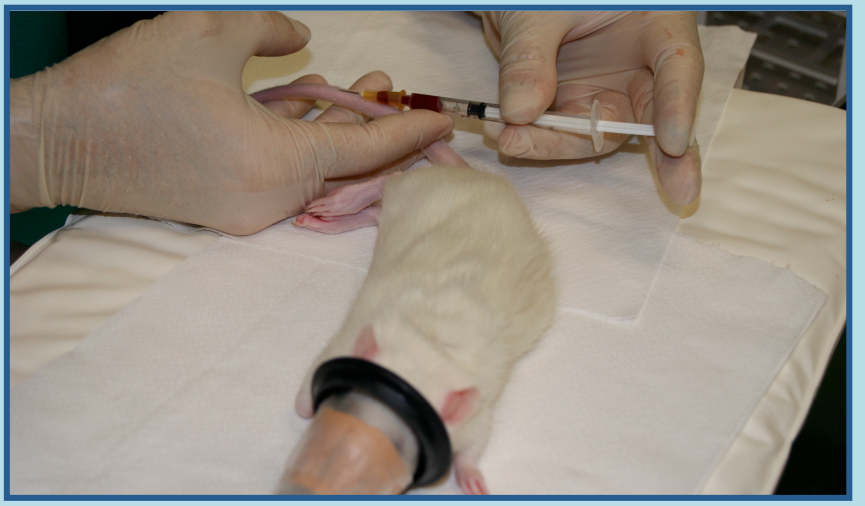
Las determinaciónes de orina se realizarán en el mismo tiempo que las tomas de curvas de glucemias mediante tiras reactivas proporcionadas por Lambra S.L. (Lambra U Test).

Para la toma de muestra sanguínea in vivo inicial se procederá con el protocolo descrito en el punto siguiente.

5.16 Extracción sanguínea de la Vena Coccígea de la cola.

Con el animal dentro de un sistema de inmovilización donde quede la cola fuera para poder manipularla, se realizará un pequeño corte en el extremo de la cola para conseguir la gota necesaria en los tiempos de la curva de sobrecarga oral de glucemia. A los 60 minutos de la sobrecarga se inducirá sedación con isoflurano 2,5l/min para posteriormente, y por punción directa sobre una de las dos venas coxigeas, realizar la extracción de no más de 0,4 cm^3 de sangre con posterior restitución con suero fisiológico subcutáneo por punción directa.

Extracción de sangre bajo sedación.



5.17 Obtención de muestras de orina.

A la hora de realizar la sobrecarga oral de glucosa, se extrae al animal de la jaula colocándolo en una superficie limpia e impermeable. El simple estrés del cambio de medio es suficiente para obtener una micción espontánea del animal, posteriormente se devuelve al animal a la jaula y se coloca una tira reactiva de orina sobre la superficie para que se embeba del orín.

5.18 Análisis de orinas.

La medición se realiza por comparación colorimétrica de almohadillas reactivas de tiras Lambra U Test®.

Los resultados se extrapolan de cualitativos a semi-cuantitativos según el siguiente cuadro:

Tabla 17: semicuantitativos de orina.

Escala cruces	Proteinas	Glucosa	Cuerpos cetónicos
Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Indicios	<30mg/dl	-	<10mg/dl
+	30-100mg/dl	<150mg/dl	10-30mg/dl
++	100-250mg/dl	150-300mg/dl	30-60mg/dl
+++	<250mg/dl	300-1000mg/dl	60-1000mg/dl
++++	-	>1000mg/dl	>100mg/dl

5.18.1 Glucosa.

Se emplea una reacción enzimática en dos etapas usando glucosa oxidasa, peroxidasa y un cromógeno. La glucosa oxidasa cataliza la formación de ácido glucónico y peróxido de hidrógeno. A

su vez la peroxidasa cataliza la reacción del peróxido de hidrógeno con un cromógeno a través de la oxidación del mismo en colores que van del verde al gris-azul.

5.18.2 Cuerpos cetónicos.

Su determinación se basa en el método de Legal, en el que el tampón de prueba contiene nitroprusiato de sodio y glicina en un medio alcalino. De esta manera se general un color violeta directamente proporcional a la cantidad de metilcetona.

5.18.3 pH.

La composición de azul de bromotimol, rojo de cresol y rojo de metilo, garantiza un cambio acusado del color entre los valores de pH de 5 a 9.

5.18.4 Densidad.

Se basa en la liberación de protones del polielectrolito dependiendo de la cantidad de los solutos iónicos presentes en la orina. Conforme los protones son liberados, el pH disminuye y provoca un cambio de color del azul de bromotimol.

5.18.5 Proteínas.

Se basa en el "error de proteina" de los indicadores de pH. Cuando el pH se mantiene constante gracias a un tampón químico, el colorante del indicador libera protones debido a la presencia de proteínas, lo cual provoca cambio de color del azul de tetrabromofenol.

5.19 Estudios histológicos y funcionales.

5.19.1 Riñón.

El estudio de la nefropatía diabética se realizará mediante tinciones de hematoxilina-eosina (HE), ácido peryódico de Schiff (PAS), tricrómicro de Masson y tioflavina T.

Se clasificarán las lesiones histológicas en base a la definición de OMS con los siguientes criterios[264,265]:

- Glomeruloesclerosis difusa: incremento difuso de la matriz mesangial, en ausencia de depósitos de inmunoglobulinas y amiloide. Se asocia engrosamiento de membranas capilares.
- Glomerulosclerosis nodular: nódulos hialinos hipocelulares que ocupan el centro de uno o más lóbulos, en un número variable de glomérulos. Ausencia de depósitos de amiloide, cadenas ligeras e inmunoglobulinas.
- Glomerulonefritis membranosa: depósitos de complejos inmunes epi o intramembranosos con engrosamiento variable de las membranas capilares glomerulares, sin proliferación mesangial.

- Glomerulonefritis mesangial: incremento focal o difuso de matriz y celularidad mesangial con depósitos de Ig.
- Vasculitis: infiltrado inflamatorio de paredes vasculares con necrosis fibrinoide, fenómenos de leucocitoclastia y/o fibrosis cicatricial.

Pueden asociarse también otras lesiones glomerulares como esclerosis focal, necrosis fibrinoide del ovillo y proliferación extracapilar[266]

Se realizarán además mediante tiras reactivas Lambra U Test® mediciones de glucosuria, pH, presencia de cuerpos cetónicos y densidad de orina[267].

5.19.2 Páncreas.

Para el estudio del páncreas las tinciones usadas son: HE, Tricrómicro de Masson y tioflavina T, además de violeta de crescilo e inmuhistoquímica de expresión del factor Nkx6,1.

Para el estudio morfométrico se usarán los cortes histológicos de páncreas. Las imágenes se capturarán del microscopio con cámara digital para su posterior análisis de imagen, determinándose el área total de tejido endocrino con respecto el tejido exocrino. De esta forma, el área total de tejido pancreático por grupo corresponderá a la media del área total del tejido endocrino presente en 5 campos histológicos a 10X seleccionados al azar, a fin de obtener una distribución representativa de los islotes de Langerhans. Las imágenes serán procesadas por el software libre ImageJ versión 1.48[268].

5.19.3 Hígado.

Para identificar el grado de enfermedad del hígado graso no alcohólico (EHGNA), que engloba a la esteatosis hepática no alcohólica (EHNA) nos basaremos en las variables analizadas por Kleiner y Brunt[269] de tipo semicuantitativa y que analiza:

- grado de esteatosis:
  - 0: no esteatosis.
  - I: <33%.
  - II:33-66%.
  - III: >66%.
- inflamación hepática:
  - 0: ausencia de inflamación.
  - 1: Inflamación portal leve.
  - 2: inflamación portal o intraacinar leve a moderado.
  - 3: inflamación portal y lobular mayor.
- fibrosis hepática:
  - 0: ausencia.
  - 1: fibrosis perisinusoidal o pericelular leve.
  - 2: fibrosis perisinusoidal/pericelular con fibrosis periportal.
  - 3: puentes fibrosos.
  - 4: cirrosis.

Para ello las tinciones a usar son HE, PAS y de Masson.

5.19.4 Anastomosis y estómago.

Se estudiarán tanto el estómago como la anatomosis gastroyeyunal en busca de erosiones propias del reflujo biliar, así como posibles metaplasias según los parámetros descritos por Dixon[270] que aún siguen vigentes. Éstos se caracterizan por: presencia

de edema estromal, expansión y tortuosidad de los espacios foveolares, congestión vascular, escaso infiltrado inflamatorio y musculación de la lámina propia. A cada variable se le asigna una gradación de 0 a 5 de forma que, si el resultado final es igual o superior a 11, se considera gastritis por reflujo[270,271]. Para ello la tinción empleada es la HE.

5.19.5 Mucosa duodenal.

Se buscan anormalidades en la vellosidades o en las criptas, además de posibles variaciones en las longitudes de las vellosidades. Para ello se teñirán con HE.

5.19.6 Técnicas histológicas.

5.19.6.1 Hematoxilina eosina.

Las muestras se laminarán y se fijarán en formol al 10% durante 24 horas, para luego ser deshidratadas, aclaradas e impregnadas y posteriormente incluidas en parafina a 60ºC. Serán cortadas con microtomo a 4 µm y se teñirán con hematoxilina-eosina.

5.19.6.2 PAS.

Esta tinción nos va a permitir resaltar el glucógeno. Para ello los cortes serán primeramente desparafinados con xilol y concentraciones decrecientes de alcohol. Posteriormente serán sumergidos en ácido peryódico al 0,5% durante 5 minutos, luego se lavan con agua destilada y se les aplica el reactivo de Schiff durante

15-30 minutos, se aclaran en 3 baños de agua sulfurosa durante 2 minutos y luego en agua corriente, se les añade el colorante de contraste, se lavan con agua corriente y luego se deshidratan.

5.19.6.3 Tioflavina T.

La tioflavina nos permite identificar la sustancia amiloide. Después de desparafinar e hidratar los cortes se tiñen con hematoxilina de Carazzi durante 5 minutos, se lavan con agua y se tiñen con solución de tioflavina durante 3 minutos, se lavan con agua y se sumergen en solucion al 12% de agua acética durante 10 minutos, se lavan durante 2 minutos con agua y se montan en un medio acuoso.

5.19.6.4 Tricrómicro de Masson.

Permite visualizar claramente la fibras de colágeno y las fibras reticulares. Para ello el procedimiento consiste en: desparafinar e hidratar con agua destilada, se tiñe con hematoxilina férrica durante 10 minutos y se lava en agua corriente otros 10 minutos y luego en agua destilada, se tiñe con la solución escarlata-fucsina ácida durante 2-5 minutos y se lava con agua destilada, posteriormente se trata con la solución de ácido fosfomolíbdico-fosfotúngstico 10 minutos, se tiñe con solución de azul de anilina 15 minutos, se lava con agua destilada, se surmergen en solución de ácido acético al 1% durante 3 minutos y por último se deshidrata, aclara y se monta.

5.19.6.5 Tinción de Gallego.

Nos permitirá diferenciar fibras elásticas. Para ello se desparafina la muestra y se realiza la tinción con Ziehl-acético durante 3 minutos para luego un lavado rápido y se pasa a la virofijación durante 15 minutos con agua destialda, formol y ácido acético, se lava y se realiza una tinción rápida con picro-índigo-carmín y por último se lava con agua.

5.19.6.6 Violeta de crescilo.

El violeta de crescilo es un colorante acidófilo, que tiñe el núcleo celular y el retículo endoplasmático rugoso (sustancia de Nissl), por lo que se emplea para las tinciones generales de células de origen ectodérmico. La tinción se realiza con los cortes pegados al portaobjetos y el protocolo básico es el 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.

5.19.6.7 Inmunohistoquímica Nkx6.1.

Para detectar la expresión de proteínas en el tejido se usó la técnica de inmunohistoquímica, que se basa en aplicar un anticuerpo primario al tejido que reconozca la proteína de interés, para después añadir un anticuerpo secundario conjugado con biotina que reconozca

el anticuerpo primario, amplificando así la señal y posibilitando el revelado posterior.

Los cortes de parafina fueron desparafinados en Xilol (disuelve la parafina) 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.

Posteriormente se procedió a una técnica de re-exposición de los epítopos. 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 750w de potencia en 4 tiempos de 4 minutos.

Después del tratamiento, los cortes fueron lavados en PBS con Tritón (PBST) al 0,1% para eliminar los restos de citrato sódico. A continuación, se bloqueó la peroxidasa endógena del tejido con H_2O_2 durante 30 minutos a temperatura ambiente en un copling protegido de la luz. Y para bloquear las uniones inespecíficas del anticuerpo primario a Nkx6.1 aportado por la casa comercial Hybridoma Bank NºF55A10, 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 Nkx6.1 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 portas, la avidina se une al secundario biotinilado y ancla la peroxidasa al lugar de expresión de la proteína. Para el revelado se usó como substrato de la peroxidasa 1 ml de

Diaminobenzidina (DAB) con H_2O_2 al 0,6%. La reacción provoca un precipitado de color marrón. La reacción se paró 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 37ºC.

El recuento de la expresión del factor Nkx6.1 se realiza procesando la imagen con el programa ImageJ version 1.48, se tiene en cuenta para ello el grado de luminosidad. El número de células que expresan el factor y el área total del islote beta.

5.20 Comité de ética y financiación.

La realización de este trabajo se ha atenido a lo dispuesto en la normativa legal vigente sobre experimentación animal, según lo dispuesto en el Real Decreto 1201/2005 de 10 de octubre sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos y la Ley 32/007 de 7 de noviembre para el cuidados de los animales en su explotación, transporte, experimentación y sacrificio. Todos los experimentos han sido aprobados por el comité ético de la UMH siguiendo las directrices de la Comunidad Europea (EUVD 86/609/EEC).

La financiación ha sido a través de la Fundación Navarro-Tripodi.

El presente proyecto recibió la aprobación del CEIE que otorgó la identificación con clave: DHA-LZT-001.

5.21 Análisis estadístico de los datos.

Para el cálculo del número de animales a intervenir se han empleado las fórmulas correspondientes a la comparación de medias para datos apareados y el análisis de la varianza para las principales variables (glucemias, peso, porcentaje de islotes pancreáticos, FNTα) estimando una potencia mínima de un 80% y un alfa de 0,05, no obstante, el número para un correcto análisis del resto de variables se ha debido disminuir por limitaciones de la comisión de ética de la UMH.

Para el análisis estadístico de los resultados dada la baja n se han aplicado test no parámetricos. En caso de variables cuantitativas se usaron las pruebas U de Mann-Whitney y Kruskal-Wallis y para las cualitativas el estadístico exacto de Fisher.

Las variables cuantitativas se analizarán gráficamente mediante diagrama de cajas, donde la caja representa los valores medios +/- 1 desviación típica y la línea dentro de la caja el valor mediano, mientras que ambas líneas fuera de la caja representan el intervalo descrito para media +/- 2 desviaciones estándar. Los valores fuera de estas líneas representan valores extremos.

Se estimarán los riesgos relativos mediante diseños de cohortes mediante los desenlaces interesados que son: ausencia de glucosuria, cuerpos cetónicos y proteinuria, pH mayor a 5,5, densidad inferior 1025 y aumento de los niveles de FNTα.

Todas las variables se someterán a análisis según el programa estadístico IBM SPSS Statistics Versión 20.0.0.

UNIVERSITAS
Miguel
Hernández

UNIVERSITAS
Miguel
Hernández

VI. RESULTADOS.

6.1 Fase I.

Durante esta fase se intervinieron 10 ratas wistar con la exclusión duodenal propuesta para observar la viabilidad anatómica y fisiológica de la técnica propuesta.

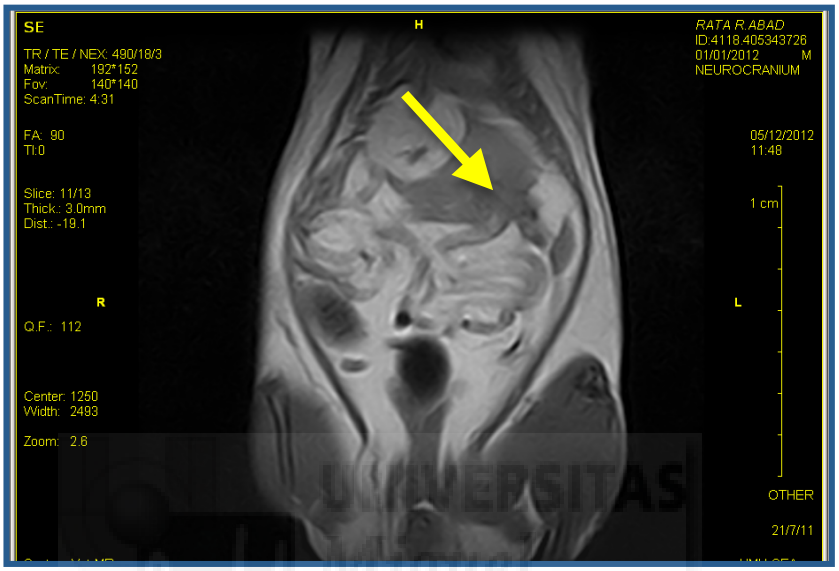
Se obtuvo una supervivencia del 85% en los animales, siendo la mortalidad consecuencia de: obstrucción intestinal por torsión de un asa, lo que llevó a modificación del modelo original de la técnica hasta llegar a la propuesta, hemorragia durante el procedimiento y por dehiscencia de la anastomosis.

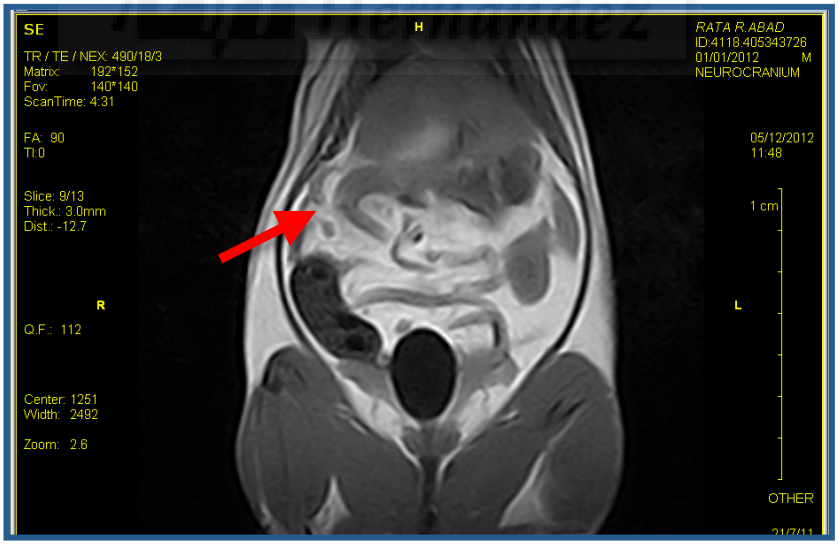
A nivel de la ligadura de duodeno tras análisis postmortem de los animales se observó una reabsorción completa de la ligadura de seda doble realizada a ese nivel, tras lo cual se realizó triple con diferentes materiales (trenzada reabsorbible y no reabsorbible y monofilamento reabsorbible) comprobando estanqueidad en posteriores análisis. La capacidad enzimática de digerir material no reabsorbible es algo no documentado en la literatura.

Tras observar supervivencia plena de los animales con buen control del dolor postoperatorio y sin pérdida de peso, y realizar modificaciones anatómicas en el modelo original, se llega a la exclusión dudodenal mediante una anastomosis de tubo reverso gástrico como elemento antireflujo biliar.

Esta técnica es más sencilla de realizar como opción quirúrgica a la DMT2 respecto a las existentes, ya que con una anastomosis se acorta el tiempo quirúrgico, se minimiza el riesgo de fugas, es fácilmente reproducible y, al no haber resección anatómica, es reversible.

Imágenes 1: secuencias T1 coronales, zona de anastomosis (flecha amarilla) y ligadura de duodeno (flecha roja).





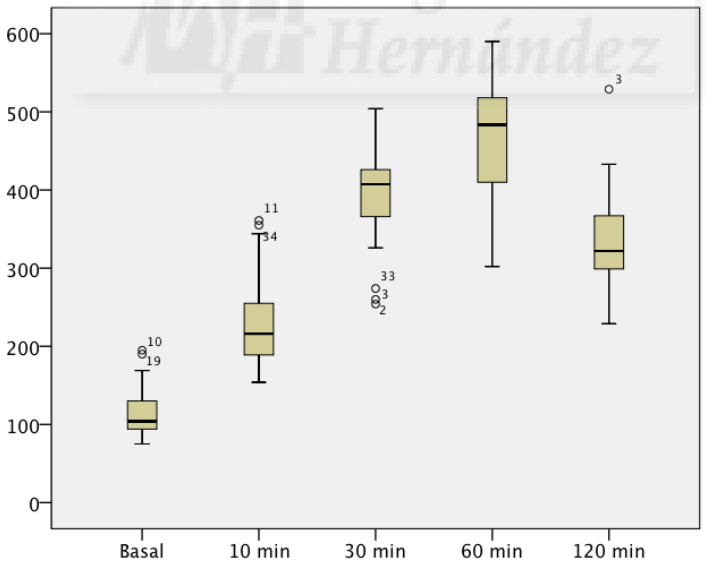
6.2 Fase II.

A continuación se presentan todos los datos obtenidos en la fase II de la investigación.

6.3 Glucemias a las 8 semanas.

Con el fin de demostrar el estado diabetógeno que se les presupone a las ratas GK ya a la edad de 8 semanas, se realizaron a todas las incluidas en el estudio una sobrecarga oral de glucosa con 1mg/kg peso con un ayuno previo de, al menos, 8 horas que se las mantiene con agua ad libitum. Para garantizar la dosis adecuada de glucosa se pesa a los animales con báscula de precisión.

Fig 12: curva de glucemia a las 8 semanas, diagrama de cajas a tiempo basal, 10, 30, 60 y 120 minutos tras la sobrecarga oral de glucosa.



Se pueden apreciar criterios de DMT2.

Tabla 18: estadísticos descriptivos de las mediciones de glucemia a los distintos tiempos de la SOG (glucemias en mg/dl).

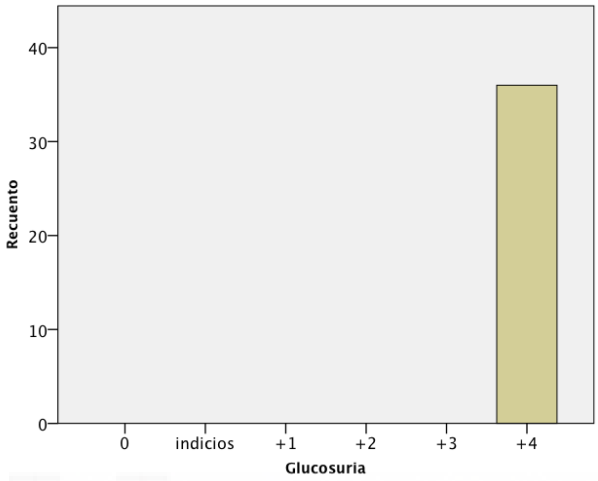
	Glucemia basal	Glucemia minuto 10	Glucemia minuto 30	Glucemia minuto 60	Glucemia minuto 120
Válidos	36	36	36	36	36
Media	114,97	230,17	396,39	465,78	335,78
Mediana	108	217,5	404,5	481,5	324,5
Desv. Tip.	30,497	51,533	59,887	65,364	59,476
Mínimo	75	154	254	302	229
Máximo	195	361	504	590	529
Percentiles					
25	94	189,5	368,25	410	300,25
75	130	254,25	425,75	517,25	366,25

6.4 Orina a las 8 semanas.

Para objetivar posible daño renal por la diabetes, a pesar de un estado muy inicial de la misma, entre la primera y segunda hora tras la SOG se coloca al animal sobre una superficie impermeable previamente limpia con productos neutros; el simple estrés del cambio de ubicación les induce la micción sobre dicha superficie, no siendo necesarias más medidas. Posteriormente se devuelve al animal a su jaula. Se coloca la tira reactiva sobre la orina y se obtienen los siguientes resultados acerca de la glucosuria, presencia de cuerpos cetónicos, proteinuria, pH y densidad.

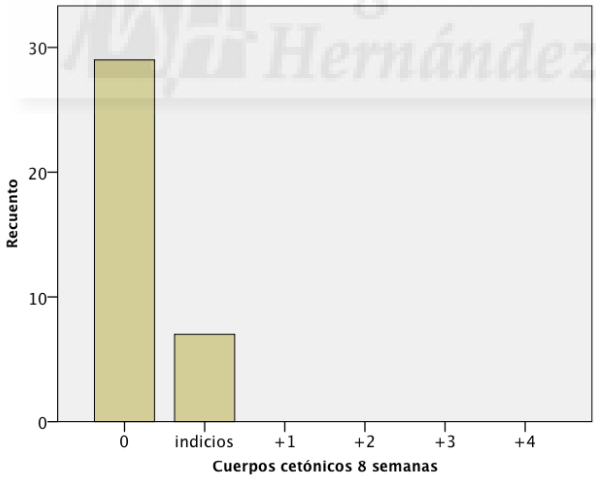
Los resultados obtenidos se muestran en las siguientes gráficas.

Fig. 13: histograma de glucosuria.



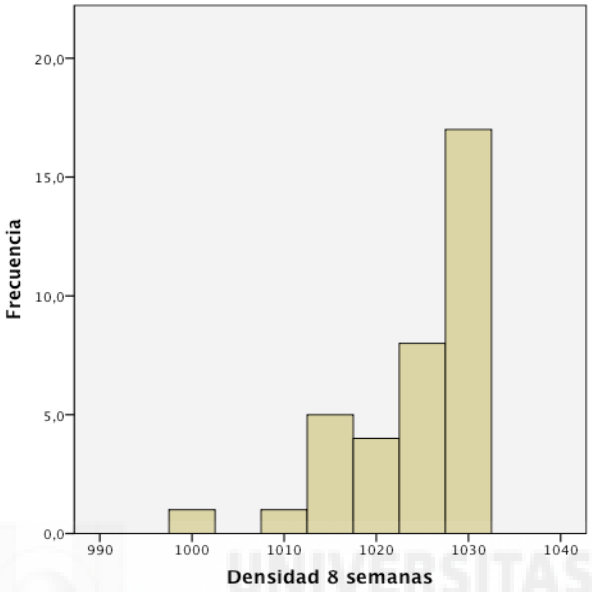
Se aprecia intensa glucosuria a temprana edad.

Fig. 14: histograma de cuerpos cetónicos a las 8 semanas.



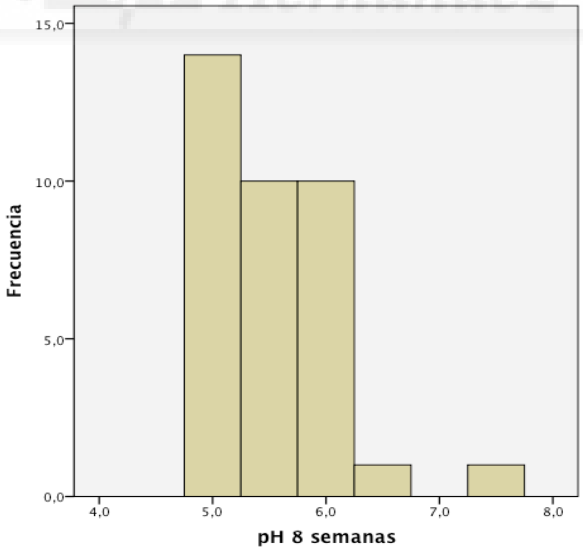
No se aprecian complicaciones significativas a este nivel.

Fig. 15: histograma de densidad a las 8 semanas.



Se aprecia elevada densidad en orina.

Fig. 16: histograma de pH a las 8 semanas.



Se observa tendencia a un pH inferior a 5,5.

Glucosuria 8 semanas

	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
4+	36	100	100
Total	36	100	

Cuerpos cetónicos 8 semanas

	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
0	29	80,6	80,6
Indicios	7	19,4	100

pH 8 semanas

	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
5	14	38,9	38,9
5,5	10	27,8	66,7
6	10	27,8	94,4
6,5	1	2,8	97,2
7,5	1	2,8	100

Densidad 8 semanas

	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
1000	1	2,8	2,8
1010	1	2,8	5,6
1015	5	13,9	19,4
1020	4	11,1	30,6
1025	8	22,2	52,8
1030	17	47,2	100

Proteinuria 8 semanas

	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
0	1	2,8	2,8
Indicios	12	33,3	36,1
1+	21	58,3	94,4
2+	2	5,6	100

6.5 Análisis de glucemias.

6.5.1 Glucemias en animales operados a las 12 semanas.

A las 12 semanas de vida y tras realizar SOG, se obtienen los siguientes resultados.

Tabla 19: descriptivos a las 12 semanas de vida, glucemias en mg/dl.

	Glucemia basal	Glucemia minuto 10	Glucemia minuto 30	Glucemia minuto 60	Glucemia minuto 120
Válidos	12	12	12	12	12
Media	157,08	262,42	425,92	483,75	362,08
Mediana	148	251,5	432,5	479,5	367
Desv Tip	40,406	66,649	57,062	55,675	60,288
Mínimo	110	184	308	414	270
Máximo	244	387	508	563	435
Percentiles					
25	129,75	192,75	384,75	430,5	300
75	166,5	317,75	468	563,75	422,5

Se observan criterios claros de DMT2 con tendencia a glucemias elevadas.

Tras ello, se randomizaron a los animales en dos grupos al azar: un grupo, control “sham”, al que se realizó cirugía simulada, y un segundo grupo, al que se les realizó la ED.

A las 8 semanas, tras la cirugía, con un mantenimiento basal y ambos grupos en las mismas condiciones, se realiza una curva de glucemia con SOG con el mismo protocolo que las ocasiones previas. Se obtienen los siguientes resultados.

Tabla 20: descriptivos de la curva de glucemia tras SOG en animales operados con la intervención simulada Sham, previo al sacrificio.

	Glucemia basal	Glucemia minuto 10	Glucemia minuto 30	Glucemia minuto 60	Glucemia minuto 120
Válidos	6	6	6	6	6
Media	104	187,83	332,5	473,17	413,5
Mediana	106	168,5	320,5	484	431,5
Desv Tip	22,28	39,776	48,128	60,776	50,282
Mínimo	64	159	269	395	346
Máximo	129	263	395	545	470
Percentiles					
25	91	164,25	296,75	404	354,25
75	121,5	217,25	386,75	529,25	451,25

Tabla 21: descriptivos de la curva de glucemia tras SOG en animales operados con exclusión duodenal, previa al sacrificio y significación estadística.

	Glucemia basal	Glucemia minuto 10	Glucemia minuto 30	Glucemia minuto 60	Glucemia minuto 120
Válidos	6	6	6	6	6
Media	106,5	161,83	255	317,67	245,17
Mediana	106	162	256	308	243
Desv Tip	6,716	19,793	33,574	34,944	30,844
Mínimo	98	139	214	283	201
Máximo	116	182	289	375	280
Percentiles					
25	100,25	144,25	223	288,25	219
75	113	180,5	289	350,25	279,25
ED vs Sham	ns	ns	p<0,05	p<0,05	p<0,05
ED vs preop	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001

Fig. 17: diagrama de cajas de la curva de glucemias tras SOG.

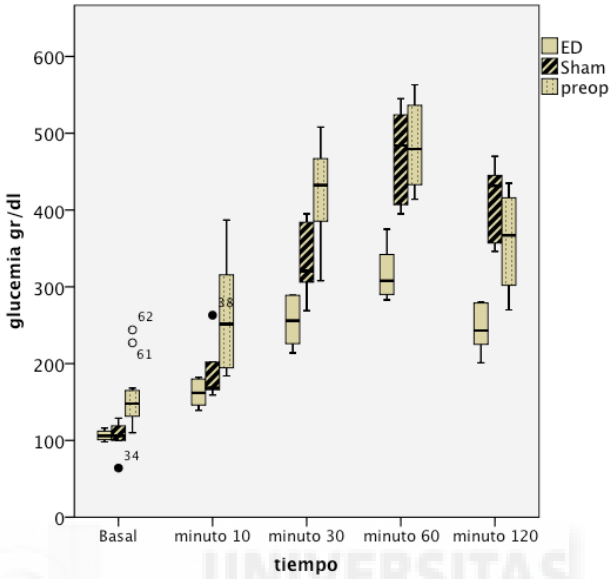
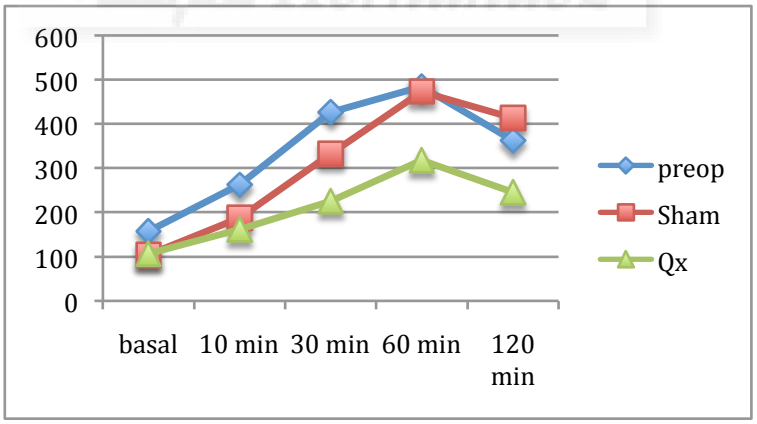


Fig. 18: gráfico de líneas de las curvas de SOG en grupos preoperatorio (preop), exclusión duodenal (Qx) y con intervención simulada (Sham).



Si bien no hay criterios de remisión de la DMT2, se aprecia una mejoría en el perfil glucídico tras ED.

6.5.2 Glucemias en animales operados a las 16 semanas.

A las 16 semanas de vida y tras realizar SOG con el mismo protocolo explicado, se obtienen los siguientes resultados.

Tabla 22: descriptivos a las 16 semanas de vida, glucemias en gr/dl.

	Glucemia basal	Glucemia minuto 10	Glucemia minuto 30	Glucemia minuto 60	Glucemia minuto 120
Válidos	12	12	12	12	12
Media	119	226,58	340,75	443,33	405,5
Mediana	115	224	342	447	404,5
Desv Tip	20,902	36,137	51,86	47,274	68,823
Mínimo	96	159	243	364	314
Máximo	164	272	449	518	540
Percentiles					
25	101,75	198,25	306,25	397	351
75	130,75	263,25	368,75	474,5	423,25

Se observan claros criterios de presencia de DMT2.

Tras ello se randomizaron a los animales en dos grupos al azar, uno control "sham" a los que se realizó cirugía simulada, y un segundo a los que se les realizó la ED.

A las 8 semanas tras la cirugía, con un mantenimiento basal y ambos grupos en las mismas condiciones se realiza, con el mismo protocolo que las ocasiones previas, una curva de glucemia con SOG obteniendo los siguientes resultados:

Tabla 23: descriptivos de la curva de glucemia tras SOG en animales operados con la intervención simulada Sham, previo al sacrificio.

	Glucemia basal	Glucemia minuto 10	Glucemia minuto 30	Glucemia minuto 60	Glucemia minuto 120
Válidos	6	6	6	6	6
Media	113,83	227,83	327,83	554,83	499
Mediana	116,5	248,5	340	557,5	504,5
Desv Tip	10,572	81,197	75,295	87,869	79,81
Mínimo	95	135	190	432	403
Máximo	126	347	414	650	592
Percentiles					
25	106,25	135	286,75	469,5	409,75
75	120,75	276,5	376,5	650	581,5

Tabla 24: descriptivos de la curva de glucemia tras SOG en animales operados con exclusión duodenal, previa al sacrificio y significación estadística.

	Glucemia basal	Glucemia minuto 10	Glucemia minuto 30	Glucemia minuto 60	Glucemia minuto 120
Válidos	6	6	6	6	6
Media	133,67	213,33	327,5	346,67	252
Mediana	134	212	321,5	347	243
Desv Tip	29,514	58,445	72,146	49,794	63,081
Mínimo	101	140	223	290	178
Máximo	174	316	412	408	364
Percentiles					
25	101	170	268	291,5	206,5
75	162	244	406	399	292
ED vs Sham	ns	ns	ns	p<0,05	p<0,05
ED vs preop	ns	ns	ns	p<0,05	p<0,05

ns: no significativo

Fig. 19: diagrama de cajas de las curva de glucemias tras SOG.

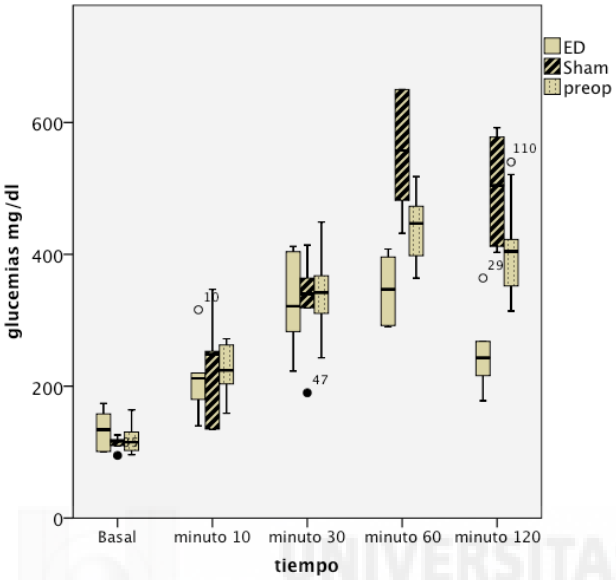
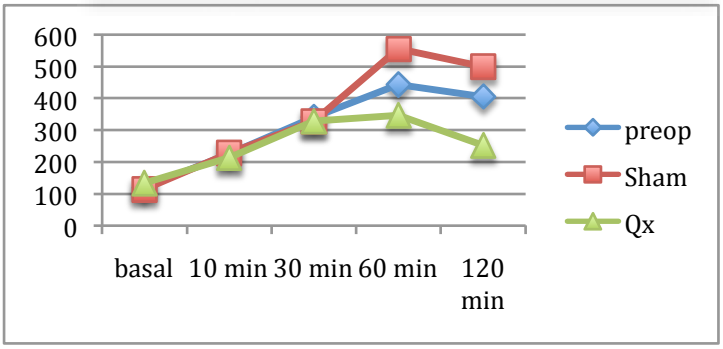


Fig.20: gráfico de líneas de las curvas de SOG en grupos preoperatorio (preop), exclusión duodenal (ED) y con intervención simulada (Sham)



Se aprecia mejoría en la curva a partir de los 30 minutos de la SOG tras la exclusión duodenal con respecto los valores preoperatorios y en la ratas control.

6.5.3 Glucemias en animales operados a las 20 semanas.

A las 20 semanas de vida y tras realizar SOG, se obtienen los siguientes resultados.

Tabla 25: descriptivos a las 20 semanas de vida, glucemias en mg/dl.

	Glucemia basal	Glucemia minuto 10	Glucemia minuto 30	Glucemia minuto 60	Glucemia minuto 120
Válidos	12	12	12	12	12
Media	118,75	256,42	402,25	479,67	423,25
Mediana	115,5	259	397,5	484	427,5
Desv Tip	19,79	50,09	51,723	54,598	45,003
Mínimo	81	181	319	400	330
Máximo	165	362	490	569	492
Percentiles					
25	111,25	213,5	369,5	420	389
75	127	287,5	428	530,25	449,5

Se observan criterios claros de DMT2 con tendencia a glucemias elevadas.

Tras ello se randomizaron a los animales en dos grupos al azar, uno control “sham” a los que se realizó cirugía simulada, y un segundo a los que se les realizó la ED.

A las 8 semanas tras la cirugía, con un mantenimiento basal y ambos grupos en las mismas condiciones, se realiza con el mismo protocolo que las ocasiones previas una curva de glucemia con SOG obteniendo los siguientes resultados.

Tabla 26: descriptivos de la curva de glucemia tras SOG en animales operados con la intervención simulada Sham, previo al sacrificio.

	Glucemia basal	Glucemia minuto 10	Glucemia minuto 30	Glucemia minuto 60	Glucemia minuto 120
Válidos	6	6	6	6	6
Media	124,5	328,33	403,83	528,83	420,5
Mediana	115	317,5	396,5	489,5	412,5
Desv Tip	27,098	42,382	49,499	96,417	77,93
Mínimo	100	290	346	432	312
Máximo	174	411	487	650	521
Percentiles					
25	105,25	303,5	365,5	545,5	354,75
75	145,5	347,25	440,5	650	502,25

Tabla 27: descriptivos de la curva de glucemia tras SOG en animales operados con exclusión duodenal, previa al sacrificio y significación estadística.

	Glucemia basal	Glucemia minuto 10	Glucemia minuto 30	Glucemia minuto 60	Glucemia minuto 120
Válidos	6	6	6	6	6
Media	127,17	255,17	331	338,17	315,5
Mediana	123,5	247	323	334,5	312
Desv Tip	20,183	31,915	28,418	27,462	38,36
Mínimo	106	219	307	303	263
Máximo	160	294	384	381	362
Percentiles					
25	109	228	310,75	315,75	281,75
75	145	293,25	348,75	362,25	357,5
ED vs Sham	ns	p<0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05
ED vs preop	ns	ns	p<0,05	p<0,001	p<0,001

ns: no significativo

Fig. 21: diagrama de cajas de la curva de glucemias tras SOG.

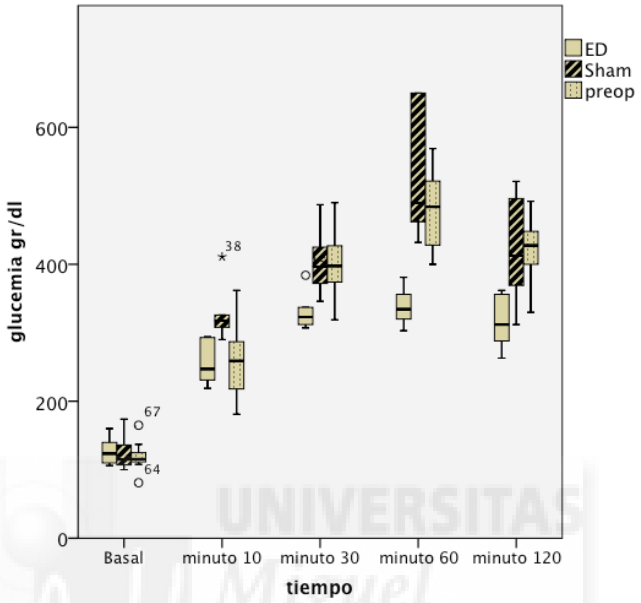
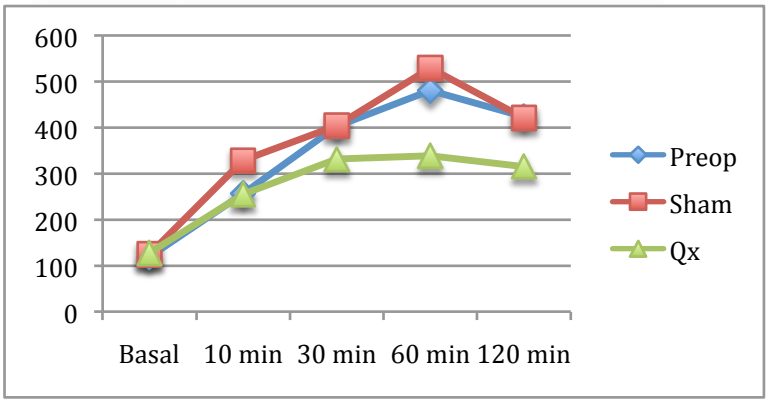


Fig. 22: gráfico de líneas de las curvas de SOG en grupos preoperatorio (preop), exclusión duodenal (Qx) y con intervención simulada (Sham).



Se aprecia mejoría en la curva a partir de los 30 minutos de la SOG tras la exclusión duodenal con respecto los valores preoperatorios y en la ratas control.

6.5.4 Análisis de glucemias entre los grupos previo a la cirugía.

Se pretende comparar la mayor o menor intolerancia oral a la glucosa en virtud del tiempo de evolución de la diabetes y si existen diferencias entre los grupos temporales.

Fig. 23: gráfica de lineas, comparando las curvas de glucemias en los distintos grupos temporales previo a la intervención quirúrgica.

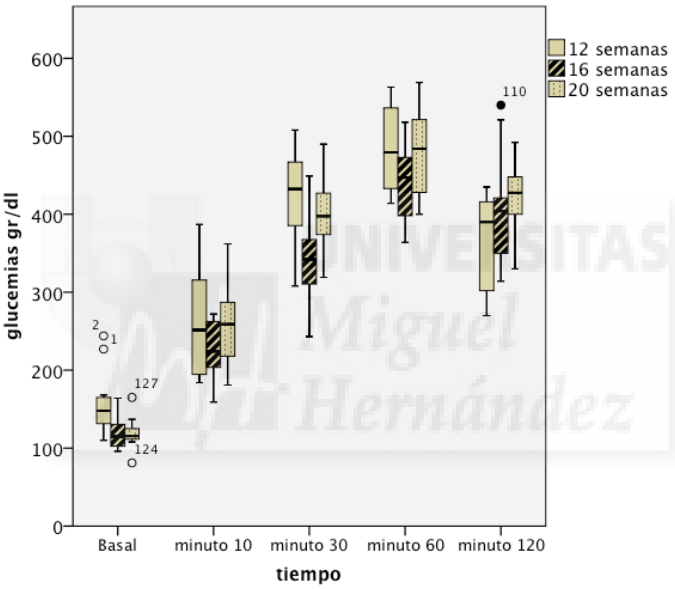


Tabla 28: significación estadística entre los niveles de glucemia.

	Glucemia basal	Glucemia minuto 10	Glucemia minuto 30	Glucemia minuto 60	Glucemia minuto 120
12 vs 16	p<0,05	ns	p<0,05	ns	ns
12 vs 20	p<0,05	ns	ns	ns	p<0,05
16 vs 20	ns	ns	p<0,05	ns	ns

ns: no significativo

6.5.5 Análisis de glucemias entre los grupos tras la exclusión duodenal.

Se pretende comparar las curvas de glucemias de los 3 grupos temporales a los que se les ha sometido a la exclusión duodenal.

Fig. 24: gráfica de cajas comparando las tres curvas de glucemias al momento del sacrificio.

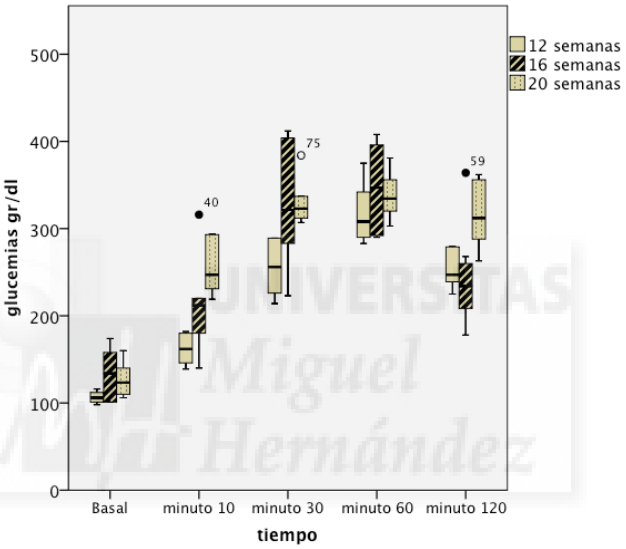


Tabla 29: significación estadística entre los niveles de glucemia tras ED.

	Glucemia basal	Glucemia minuto 10	Glucemia minuto 30	Glucemia minuto 60	Glucemia minuto 120
12 vs 16	ns	ns	ns	ns	ns
12 vs 20	p<0,05	p<0,05	p<0,05	ns	p<0,05
16 vs 20	ns	ns	ns	ns	ns

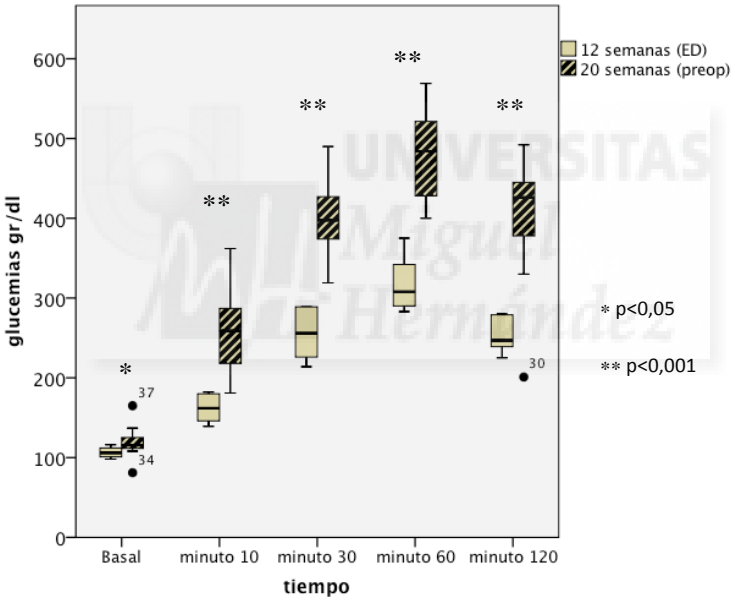
ns: no significativo

Se puede apreciar la tendencia a niveles normales de glucemia cuanto menor es la evolución de la DMT2 antes de la ED.

6.5.6 Análisis de glucemias a las 20 semanas de vida.

Comparamos las curvas de glucemias de los animales intervenidos a las 20 semanas previo a la intervención, que sería la evolución natural de la enfermedad, con las glucemias de los animales intervenidos con la exclusión duodenal a las 12 semanas previo al sacrificio. Esto es con una evolución de 8 semanas supuestamente no diabeticas, por lo que se considera un grupo control. El resultado es el siguiente:

Fig. 25: gráfica de cajas comparando las glucemias tras SOG en ambos grupos.



Hay una clara tendencia a niveles normales de glucemia tras la exclusión duodenal en la curva de SOG con significación estadística.

6.6 Análisis de pesos.

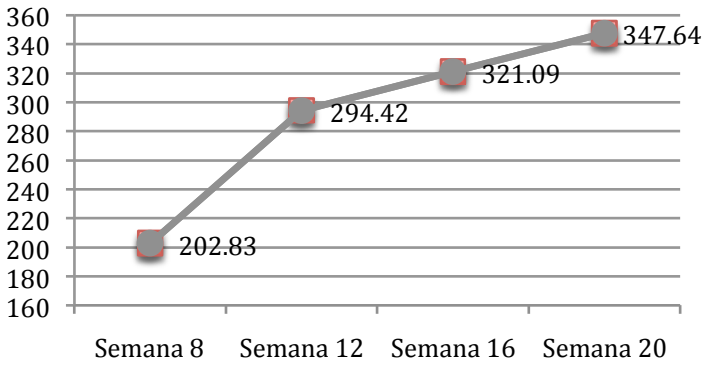
6.6.1 Análisis de pesos en animales previo a la intervención.

Primeramente, realizamos un análisis descriptivo para los pesos previos a la cirugía, obteniendo los siguientes resultados.

Tabla 30: estadísticos descriptivos de los pesos preoperatorios.

	Peso semana 12 (gr)	Peso semana 16 (gr)	Peso semana 20 (gr)
Válidos	12	12	12
Media	294,42	321,08	347,58
Mediana	295,5	322,5	348,5
Desv Tip	16,256	20,514	38,696
Mínimo	265	290	275
Máximo	315	357	401
Percentiles			
25	281	303	334,75
75	310,25	327,5	374,5

Fig. 26: curva de la evolución del peso de los animales con respecto las semanas de vida.



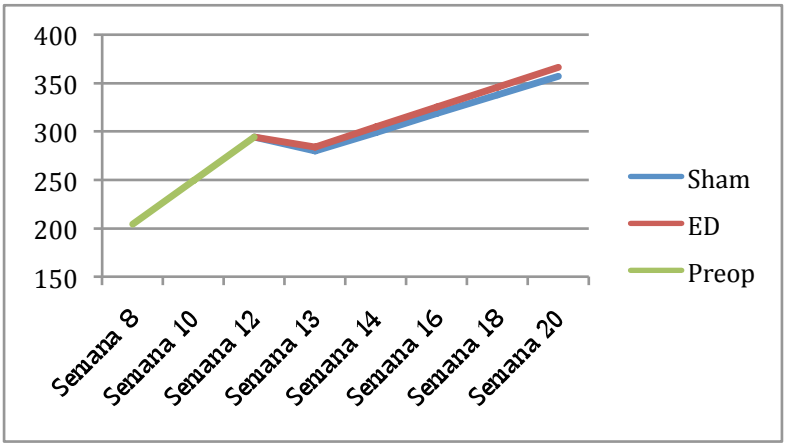
6.6.2 Análisis de pesos en animales intervenidos a las 12 semanas.

Se realizaron mediciones ponderales a los animales a las 8 semanas, 12 semanas (previo a la cirugía), a la semana de la intervención (semana 13) y a las 8 semanas de la intervención (20 semanas de vida) previo al sacrificio. Se obtienen los siguientes resultados:

Tabla 31: descriptivos de evolución del peso (en gr) en animales intervenidos a las 12 semanas.

	Peso semana 12	Peso semana 13 ED	Peso semana 13 sham	Peso semana 20 ED	Peso semana 20 sham
Válidos	12	6	6	6	6
Media	294,42	283,83	279,83	366,17	356,83
Mediana	295,5	284,5	280	369,5	365,5
Desv Tip	16,256	15,039	19,58	15,237	21,189
Mínimo	265	264	252	346	325
Máximo	315	304	301	384	381
Percentiles					
25	281	269,25	263,25	349	334
75	310,25	297,25	299,5	379,5	370,5

Fig. 27: evolutivo de los pesos en animales con preoperatorio (preop), exclusión duodenal (ED) y con cirugía simulada (Sham).



La evolución del peso es lineal con discreta disminución en la primera semana postoperatoria. Además de no existir diferencias estadísticas en los pesos con una p>0,5, la pérdida inmediata por la cirugía no supera el 5% del peso, recuperándose éste a la finalización del experimento.

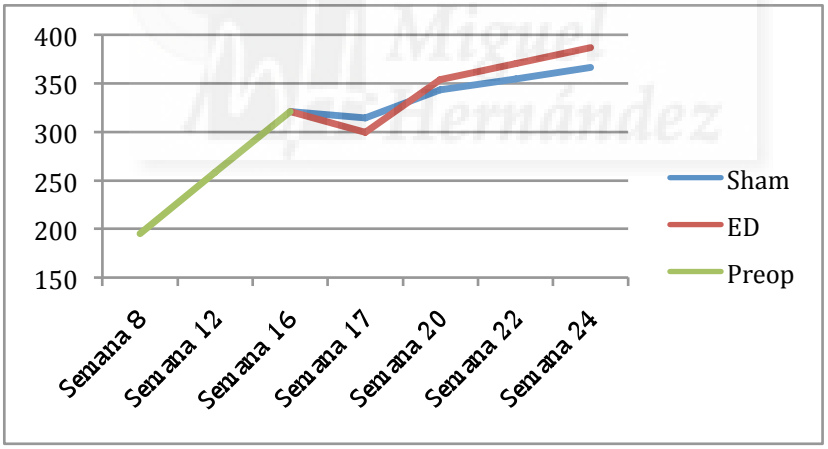
6.6.3 Análisis de pesos en animales intervenidos a las 16 semanas.

Se realizan mediciones ponderales a los animales a las 8 semanas, 16 semanas previo a la cirugía, a la semana de la intervención (semana 17) y a las 8 semanas de la intervención (24 semanas de vida) previo al sacrificio. Se obtienen los siguientes resultados:

Tabla 32: descriptivos de evolución del peso (en gr) en animales intervenidos a las 16 semanas.

	Peso semana 16	Peso semana 17 ED	Peso semana 17 sham	Peso semana 24 ED	Peso semana 24 sham
Válidos	12	6	6	6	6
Media	321,08	299,5	314,33	366	386,83
Mediana	322,5	292,5	309,5	367	383
Desv Tip	20,514	23,08	13,201	30,43	24,547
Mínimo	290	279	307	333	360
Máximo	357	339	341	416	416
Percentiles					
25	303	282	307	336	363
75	327,5	318	319,25	386	415,25

Fig. 28: evolutivo de los pesos en animales preoperatorio (preop), con exclusión duodenal (ED) y con cirugía simulada (Sham).



La evolución del peso es lineal con discreta disminución en la primera semana postoperatoria.

Además de no existir diferencias estadísticas en los pesos con una p>0,5, la pérdida inmediata por la cirugía no supera el 7% del peso, recuperándose éste a la finalización.

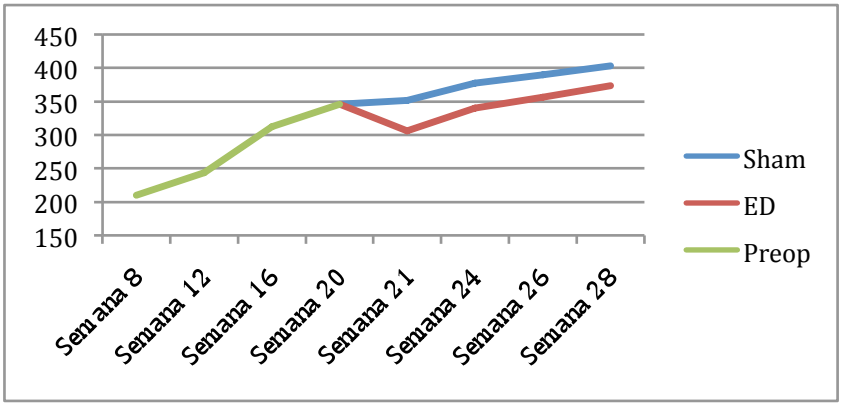
6.6.4 Análisis de pesos en animales intervenidos a las 20 semanas.

Se realizan mediciones ponderales a los animales a las 8 semanas, 20 semanas previo a la cirugía, a la semana de la intervención (semana 21) y a las 8 semanas de la intervención (28 semanas de vida) previo al sacrificio. Se obtienen los siguientes resultados:

Tabla 33: descriptivos de evolución del peso (en gr) en animales intervenidos a las 20 semanas.

	Peso semana 20	Peso semana 21 ED	Peso semana 21 sham	Peso semana 28 ED	Peso semana 28 sham
Válidos	12	6	6	6	6
Media	345,83	306	351,33	373,17	402,67
Mediana	348,5	301	344,5	374	397
Desv Tip	39,196	42,718	26,636	21,339	25,105
Mínimo	275	264	320	341	379
Máximo	401	360	386	401	446
Percentiles					
25	327,5	267,75	329,75	356	380,5
75	374,5	345,75	381,5	391,25	423,5

Fig. 29: evolutivo de los pesos en animales preoperatorio (Preop), con exclusión duodenal (ED) y con cirugía simulada (Sham).



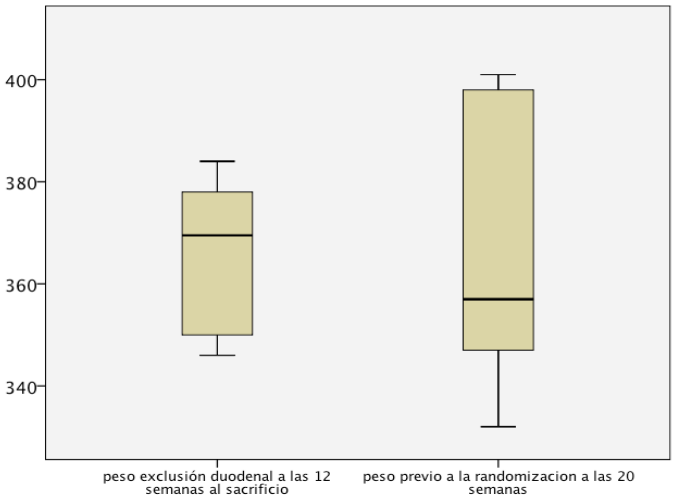
La evolución del peso es lineal con discreta disminución en la primera semana postoperatoria. Además de no existir diferencias estadísticas en los pesos con una p>0,5, la pérdida inmediata por la cirugía no supera el 7% del peso inicial, recuperándose éste a la finalización.

6.6.5 Análisis de pesos en animales a las 20 semanas.

Compararemos los pesos de los animales intervenidos a las 20 semanas previo a la intervención con el grupo de animales intervenidos a las 12 semanas previo al sacrificio.

Es lógico pensar que el crecimiento normal de nuestra serie es el dado por los animales intervenidos a las 20 semanas, que es la serie con evolución temporal más amplia, constituyendo un grupo control. Por ello, compararemos esta serie con los intervenidos a las 12 semanas al momento del sacrificio, buscando posible afectación ponderal por la cirugía.

Fig. 30: diagrama de cajas de los pesos tras exclusión duodenal y su grupo control.



No se aprecian diferencias estadísticas con un p>0,05 en los grupos por lo que puede concluirse que la exclusión duodenal no afecta al crecimiento ponderal ni al desarrollo de los animales.

6.7 Análisis de orinas.

Durante la SOG entre la primera y segunda hora se realiza toma de orina; en el preoperatorio mediante micción espontánea y previo al sacrificio bajo anestesia inhalatoria y en el contexto de la extracción multiorgánica para la obtención de muestras histológicas, punción directa de la vejiga para la aspiración de orina y posterior análisis con tiras reactivas.

Se pretende comparar los resultados entre las ratas control (sham) con las intervenidas con la operación propuesta. Las variables a medir serán: presencia de glucosuria, proteinuria, cuerpos cetónicos, pH y densidad. Todos ellos como variables cualitativas.

6.7.1 Análisis de orinas en el grupo intervenido a las 12 semanas.

6.7.1.1 Glucosuria.

Tablas 34: descriptivos de los niveles de glucosa en orina.

		Glucosuria Preoperatoria		
		Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	4+	12	100	100

		Glucosuria Sham		
		Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos				
	4+	6	100	100

		Glucosuria Exclusión Duodenal		
		Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos				
	0	3	50	50
	Indicios	2	33,3	66,7

Fig. 31: niveles de glucosuria.

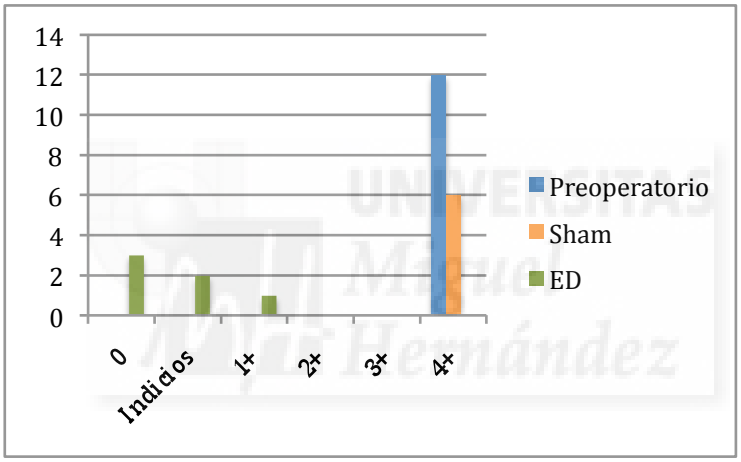


Tabla 35: contingencia de ausencia de glucosuria.

		Momento		Total
		Sham	ED	
Ausencia de glucosuria				
	Si	0	5	5
	No	6	1	7
Total		6	6	12

	valor	Sig. Asintótica (bilateral)	Sig. Exacta (bilateral)	Sig. Exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	2,4	0,121		
Estadístico de Fisher			0,455	0,227

Si bien existe una tendencia a la ausencia completa de cuerpos cetónicos tras la exclusión duodenal, no hay significación estadística.

6.7.1.2 Cuerpos cetónicos.

Tabla 36: descriptivos de los niveles de cuerpos cetónicos en orina.

	Cuerpos Cetónicos Preoperatorio		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
0	5	83,3	83,3
Indicios	1	16,7	100
Total	6	100	

	Cuerpos Cetónicos Sham		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
0	1	16,7	16,7
Indicios	3	50	66,7
1+	2	33,3	100
Total	6	100	

	Cuerpos Cetónicos Exclusión Duodenal		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
0	5	83,3	83,3
Indicios	1	16,7	100
Total	6	100	

Fig. 32: niveles de presencia de cuerpos cetónicos en orina.

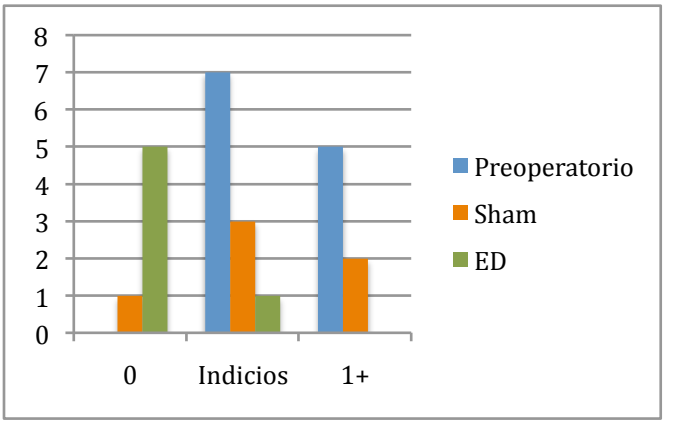


Tabla 37: contingencia de ausencia de cuerpos cetónicos.

		Momento		Total
		Sham	ED	
Ausencia cuerpos cetónicos	Si	4	6	10
	No	2	0	2
	Total	6	6	12

	valor	Sig. Asintótica (bilateral)	Sig. Exacta (bilateral)	Sig. Exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	2,4	0,121		
Estadístico de Fisher			0,455	0,227

Si bien existe una tendencia a la ausencia completa de cuerpos cetónicos tras la exclusión duodenal, no hay significación estadística.

6.7.1.3 pH.

Tablas 38: descriptivos de los niveles de pH en orina.

	pH preoperatorio		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
5	5	41,7	41,7
5,5	2	16,7	58,3
6	5	41,7	100
Total	12	100	

	pH sham		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
5,5	2	33,3	33,3
6	3	50	83,3
6,5	1	16,7	100
Total	6	100	

	pH exclusión duodenal		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
6	2	33,3	33,3
6,5	2	33,3	66,7
7	2	33,3	100
Total	6	100	

UNIVERSITAS Miguel Hernández

Fig. 33: niveles medidos de pH en orina.

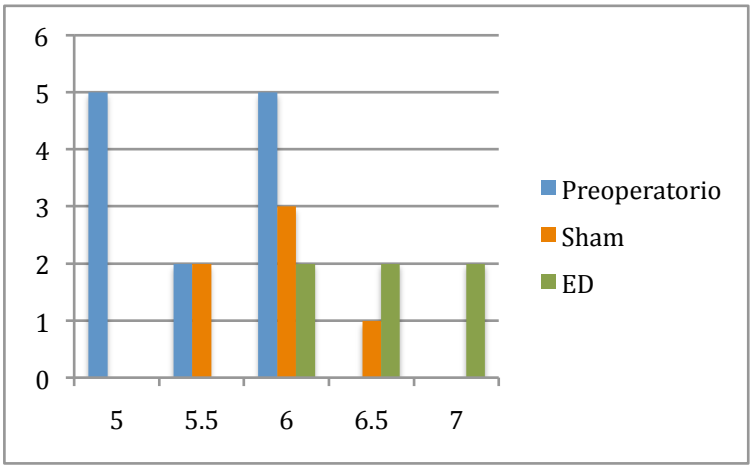


Tabla 39: contingencia pH mayor a 5,5.

	Momento		Total
	Sham	ED	
pH > 5,5			
Si	4	6	10
No	2	0	2
Total	6	6	12

	valor	Sig. Asintótica (bilateral)	Sig. Exacta (bilateral)	Sig. Exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	2,4	0,121		
Estadístico de Fisher			0,455	0,227

Aunque existe una tendencia a un pH más neutro tras la exclusión duodenal, no hay significación estadística.

6.7.1.4 Densidad.

Tablas 40: descriptivos de la densidad en orina.

	Densidad preoperatoria		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
1020	2	16,7	16,7
1025	3	25	41,7
1030	7	58,3	100
Total	12	100	

	Densidad sham		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
1015	1	16,7	16,7
1025	3	50	66,7
1030	2	33,3	100
Total	6	100	

	Densidad exclusión duodenal		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
1000	1	16,7	16,7
1010	2	33,3	50
1015	2	33,3	83,3
1020	1	16,7	100
Total	6	100	

Fig. 34: densidades medidas en orina.

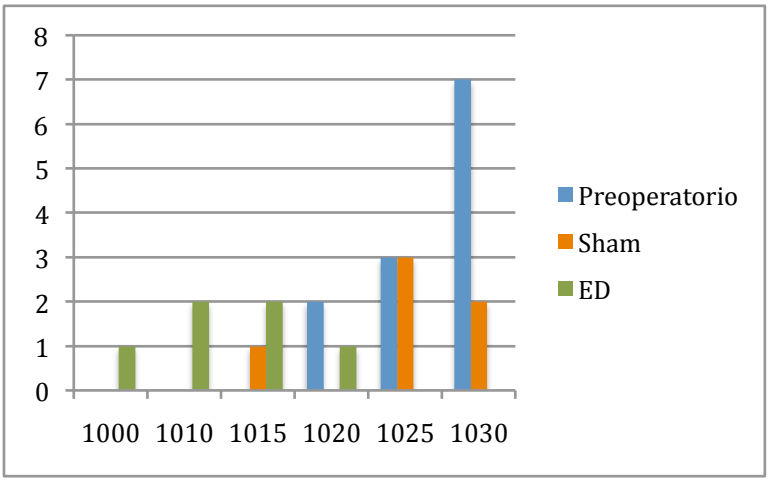


Tabla 41: contingencia densidad inferior a 1025.

		Momento		Total
		Sham	ED	
Densidad < 1025				
	Si	1	6	7
	No	5	0	5
	Total	6	6	12

	valor	Sig. Asintótica (bilateral)	Sig. Exacta (bilateral)	Sig. Exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	8,571	0,003		
Estadístico de Fisher			0,015	0,008

Se observa una densidad más baja (inferior a 1025), con significación estadística tras la realziación de la ED.

6.7.1.5 Proteinuria.

Tablas 42: descriptivos de los niveles de proteinuria.

	Proteinuria preoperatoria		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
Indicios	1	8,3	8,3
1+	6	50	58,3
2+	4	33,3	91,7
3+	1	8,3	100
Total	12	100	

	Proteinuria sham		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
Indicios	1	16,7	16,7
1+	1	16,7	33,3
2+	2	33,3	66,7
3+	2	33,3	100
Total	6	100	

	Proteinuria exclusión duodenal		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
0	2	33,3	33,3
Indicios	4	66,7	100
Total	6	100	

Fig. 35: niveles de proteinuria.

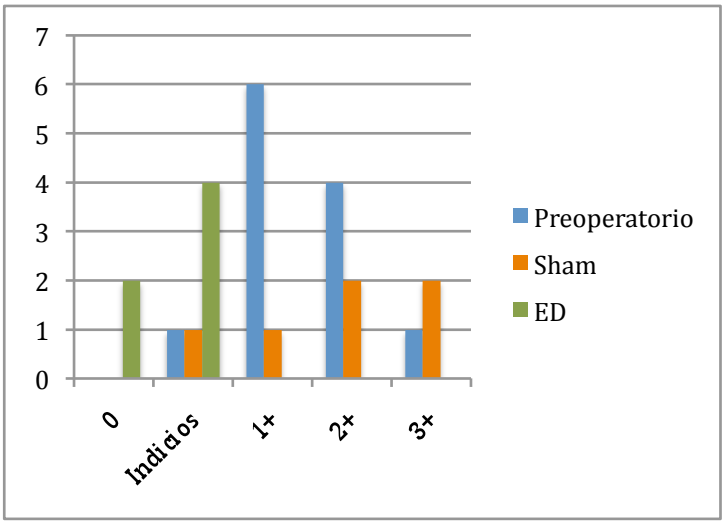


Tabla 43: contingencia proteinuria inferior a +1.

	Momento		Total
	Sham	ED	
Proteinuria <+1			
Si	1	6	7
No	5	0	5
Total	6	6	12

	valor	Sig. Asintótica (bilateral)	Sig. Exacta (bilateral)	Sig. Exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	8,571	0,003		
Estadístico de Fisher			0,015	0,008

Existe una ausencia de proteinuria tras la exclusión duodenal, con significación estadística.

6.7.2 Análisis de orinas en el grupo intervenido a las 16 semanas.

6.7.2.1 Glucosuria.

Tablas 44: descriptivos de los niveles de glucosa en orina.

	Glucosuria preoperatoria		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
4+	12	100	100

	Glucosuria sham		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
4+	6	100	100

	Glucosuria exclusión duodenal		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
0	3	50	50
Indicios	2	33,3	83,3
1+	1	16,7	100
Total	6	100	

Fig. 36: niveles de glucosuria.

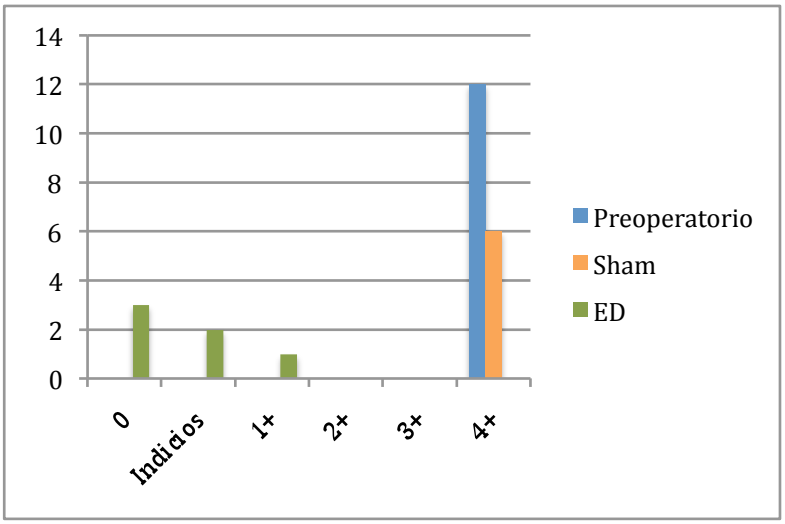


Tabla 45: contingencia ausencia de glucosuria.

		Momento		Total
		Sham	ED	
Ausencia glucosuria	Si	0	5	5
	No	6	1	7
	Total	6	6	12

	valor	Sig. Asintótica (bilateral)	Sig. Exacta (bilateral)	Sig. Exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	8,571	0,003		
Estadístico de Fisher			0,015	0,008

Se observa una ausencia de glucosuria con significación estadística tras la exclusión duodenal.

6.7.2.2 Cuerpos Cetónicos.

Tablas 46: descriptivos de los niveles de cuerpos cetónicos en orina.

	Cuerpos cetónicos preoperatorio		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
0	4	33,3	33,3
Indicios	5	41,7	75
1+	3	25	100
Total	12	100	

	Cuerpos cetónicos sham		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
0	1	16,7	16,7
Indicios	2	33,3	50
1+	1	16,7	66,7
2+	1	16,7	83,3
3+	1	16,7	100
Total	6	100	

	Cuerpos cetónicos exclusión duodenal		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
0	5	83,3	83,3
Indicios	1	16,7	100
Total	6	100	

Fig. 37: niveles de presencia de cuerpos cetónicos en orina.

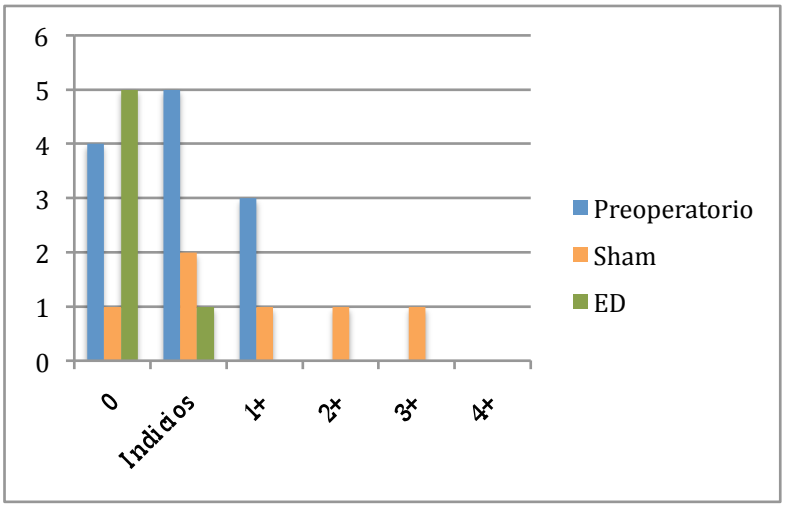


Tabla 47: contingencia ausencia de cuerpos cetónicos.

		Momento		Total
		Sham	ED	
Ausencia cuerpos cetónicos	Si	3	6	9
	No	3	0	3
	Total	6	6	12

	valor	Sig. Asintótica (bilateral)	Sig. Exacta (bilateral)	Sig. Exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	4	0,046		
Estadístico de Fisher			0,182	0,091

Si bien hay una tendencia a la ausencia completa de cuerpos cetónicos tras la exclusión duodenal, no hay significación estadística.

6.7.2.3 pH.

Tablas 48: descriptivos de los niveles de pH en orina.

	pH preoperatorio		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
5	4	33,3	33,3
5,5	4	33,3	66,7
6	4	33,3	100
Total	12	100	

	pH sham		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
5	1	16,7	16,7
6	3	50	66,7
6,5	1	16,7	83,3
7	1	16,7	100
Total	6	100	

	pH exclusión duodenal		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
5	1	16,7	16,7
5,5	1	16,7	33,3
6	1	16,7	50
6,5	3	50	100
Total	6	100	

Fig. 38: niveles medidos de pH en orina.

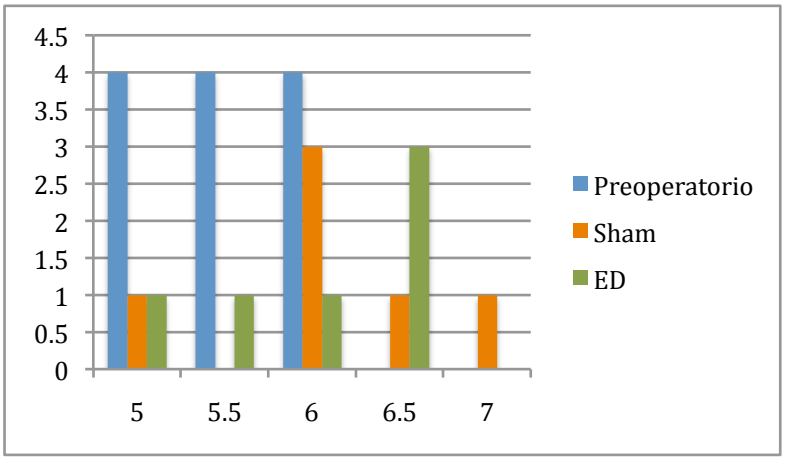


Tabla 49: contingencia pH superior a 5,5.

	Momento		Total
	Sham	ED	
pH >5,5			
Si	5	4	9
No	1	2	3
Total	6	6	12

	valor	Sig. Asintótica (bilateral)	Sig. Exacta (bilateral)	Sig. Exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	0,444	0,505		
Estadístico de Fisher			1	0,5

No existen diferencias entre los pH medidos.

6.7.2.4 Densidad.

Tablas 50: descriptivos de la densidad en orina.

	Densidad preoperatoria		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
1020	1	8,3	8,3
1025	3	25	33,3
1030	8	66,7	100
Total	12	100	

	Densidad sham		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
1015	1	16,7	16,7
1030	5	83,3	100
Total	6	100	

	Densidad exclusión duodenal		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
1015	2	33,3	33,3
1020	2	33,3	66,7
1030	2	33,3	100
Total	6	100	

Fig. 39: densidades medidas en orina.

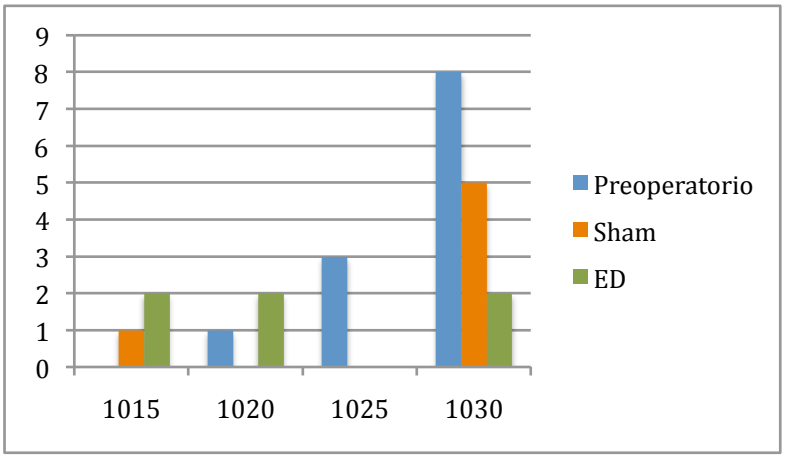


Tabla 51: contingencia densidad inferior a 1025.

	Momento		Total
	Sham	ED	
Densidad <1025			
Si	1	4	5
No	5	2	7
Total	6	6	12

	valor	Sig. Asintótica (bilateral)	Sig. Exacta (bilateral)	Sig. Exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	3,086	0,79		
Estadístico de Fisher			0,242	0,121

No se aprecian diferencias estadísticamente significativas en cuanto los niveles de densidad tras la ED.

6.7.2.5 Proteinuria.

Tablas 52: descriptivos de los niveles de proteinuria.

	Proteinuria preoperatoria		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
Indicios	1	8,3	8,3
1+	5	41,7	50
2+	5	41,7	91,7
4+	1	8,3	100
Total	12	100	

	Proteinuria sham		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
2+	1	16,7	16,7
3+	3	50	66,7
4+	2	33,3	100
Total	6	100	

	Proteinuria exclusión duodenal		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
0	4	66,7	66,7
Indicios	1	16,7	83,3
1+	1	16,7	100
Total	6	100	

Fig. 40: niveles de proteinuria.

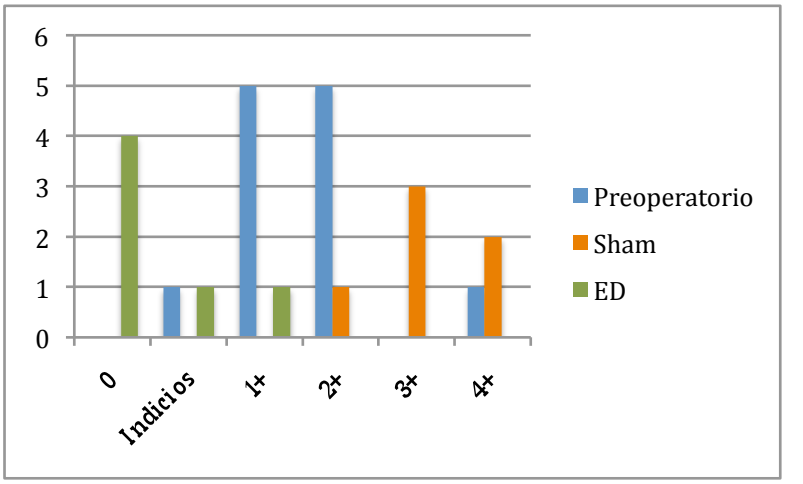


Tabla 53: contingencia proteinuria inferior a +1.

		Momento		Total
		Sham	ED	
Proteinuria <1+	Si	0	5	5
	No	6	1	7
	Total	6	6	12

	valor	Sig. Asintótica (bilateral)	Sig. Exacta (bilateral)	Sig. Exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	8,571	0,003		
Estadístico de Fisher			0,0015	0,008

Existe ausencia de proteinuria en las ratas tras exclusión duodenal, con significación estadística.

6.7.3 Análisis de orinas en el grupo intervenido a las 20 semanas.

6.7.3.1 Glucosuria.

Tablas 54: descriptivos de los niveles de glucosa en orina.

	Glucosuria preoperatoria		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
4+	12	100	100

	Glucosuria sham		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
4+	6	100	100

	Glucosuria exclusión duodenal		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
2+	4	66,7	66,7
3+	2	33,3	100
Total	6	100	

Fig. 41: niveles de glucosuria.

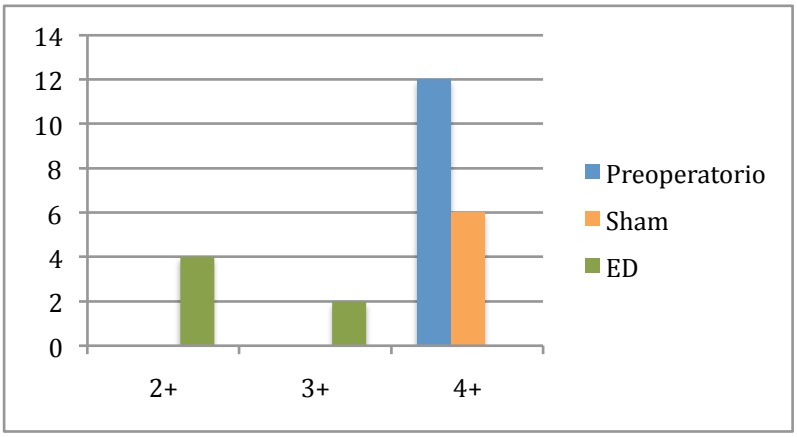


Tabla 55: contingencia ausecia de glucosuria.

	Momento		Total
	Sham	ED	
Ausencia glucosuria			
Si	0	0	0
No	6	6	12
Total	6	6	12

Aunque existe una mejoría clara, persiste la presencia de glucosuria tras la exclusión duodenal.

6.7.3.2 Cuerpos cetónicos.

Tablas 56: descriptivos de los niveles de cuerpos cetónicos en orina.

	Cuerpos cetónicos preoperatorio		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
Indicios	4	33,3	33,3
1+	7	58,3	91,7
2+	1	8,3	100
Total	12	100	

	Cuerpos cetónicos sham		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
Indicios	1	16,7	16,7
1+	2	33,3	50
2+	2	33,3	83,3
3+	1	16,7	100
Total	6	100	

	Cuerpos cetónicos exclusión duodenal		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
0	3	50	50
Indicios	3	50	100
Total	6	100	

Fig. 42: niveles de presencia de cuerpos cetónicos en orina.

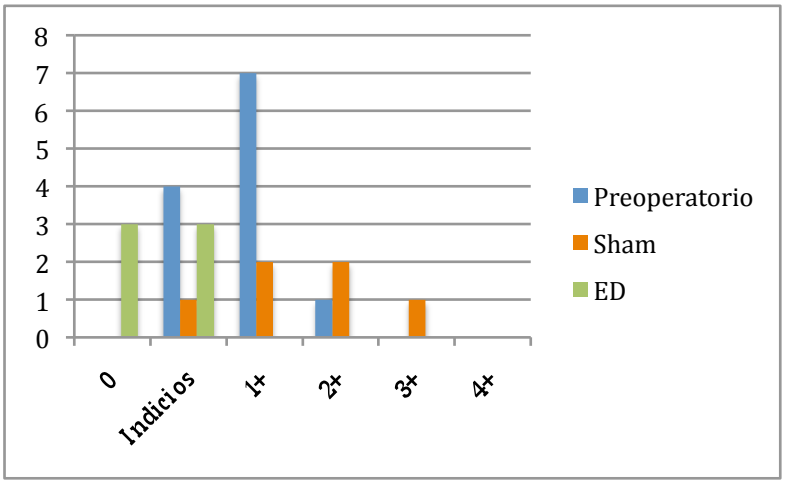


Tabla 57: contingencia ausecia de cuerpos cetónicos.

		Momento		Total
		Sham	ED	
Ausencia cuerpos cetónicos	Si	1	6	7
	No	5	0	5
	Total	6	6	12

	valor	Sig. Asintótica (bilateral)	Sig. Exacta (bilateral)	Sig. Exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	8,571	0,003		
Estadístico de Fisher			0,0015	0,008

Se observa una ausencia completa de cuerpos cetónicos tras la exclusión duodenal, con significación estadística.

6.7.3.3 pH.

Tablas 58: descriptivos de los niveles de pH en orina.

	pH preoperatorio		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
5	4	33,3	33,3
5,5	3	25	58,3
6	3	25	83,3
6,5	1	8,3	91,7
7	1	8,3	100
Total	12	100	

	pH sham		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
5	1	16,7	16,7
5,5	2	33,3	50
6	3	50	100
Total	6	100	

	pH exclusión duodenal		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
5	1	16,7	16,7
6	2	33,3	50
6,5	3	50	100
Total	6	100	

Fig. 43: niveles medidos de pH en orina.

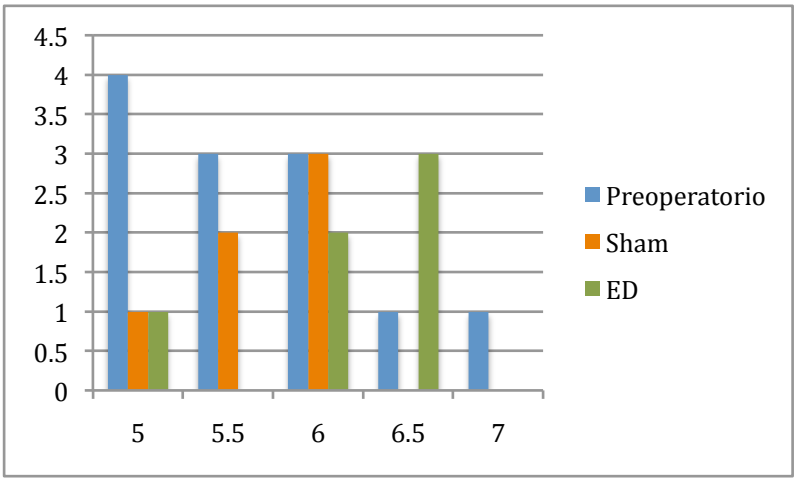


Tabla 59: contingencia pH mayor a 5,5.

	Momento		Total
	Sham	ED	
pH >5,5			
Si	3	5	8
No	3	1	4
Total	6	6	12

	valor	Sig. Asintótica (bilateral)	Sig. Exacta (bilateral)	Sig. Exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	1,5	0,221		
Estadístico de Fisher			0,545	0,273

Si bien hay una tendencia de un pH mayor a 5,5 tras la exclusión duodenal, no existe significación estadística.

6.7.3.4 Densidad.

Tablas 60: descriptivos de la densidad de orina.

	Densidad preoperatoria		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
1025	1	8,3	8,3
1030	11	91,7	100
Total	12	16,7	

	Densidad sham		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
1020	1	16,7	16,7
1025	2	33,3	50
1030	3	50	100
Total	6	100	

	Densidad exclusión duodenal		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
1000	1	16,7	16,7
1010	1	16,7	33,3
1015	2	33,3	66,7
1020	2	33,3	100
Total	6	100	

Fig. 44: densidades medidas en orina.

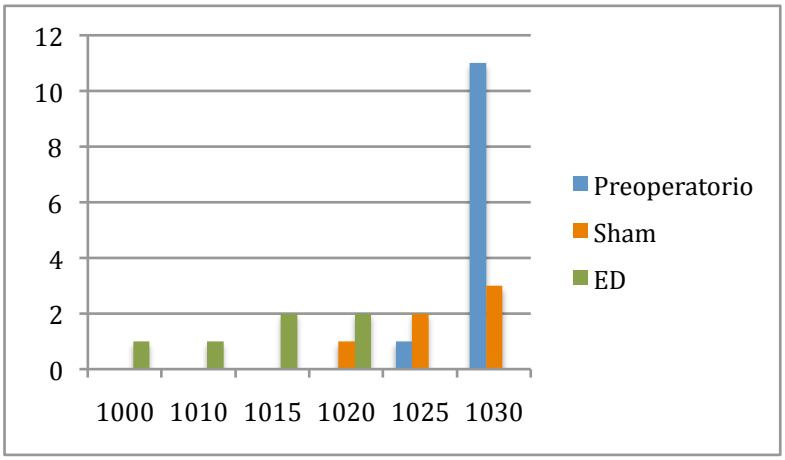


Tabla 61: contingencia densidad inferior a 1025.

		Momento		Total
		Sham	ED	
Densidad <1025	Si	1	6	7
	No	5	0	5
	Total	6	6	12

	valor	Sig. Asintótica (bilateral)	Sig. Exacta (bilateral)	Sig. Exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	8,571	0,003		
Estadístico de Fisher			0,015	0,008

Existe una clara mejoría con significación estadística sobre las ratas con exclusión duodenal.

6.7.3.5 Proteinuria.

Tablas 62: descriptivos de los niveles de proteinuria.

	Proteinuria preoperatorio		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
1+	3	25	25
2+	8	66,7	91,7
3+	1	8,3	100
Total	12	100	

	Proteinuria sham		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
1+	1	16,7	16,7
2+	4	66,7	83,3
3+	1	16,7	100
Total	6	100	

	Proteinuria exclusión duodenal		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
0	3	50	50
Indicios	1	16,7	66,7
1+	2	33,3	100
Total	6	100	

Fig. 45: niveles de proteinuria.

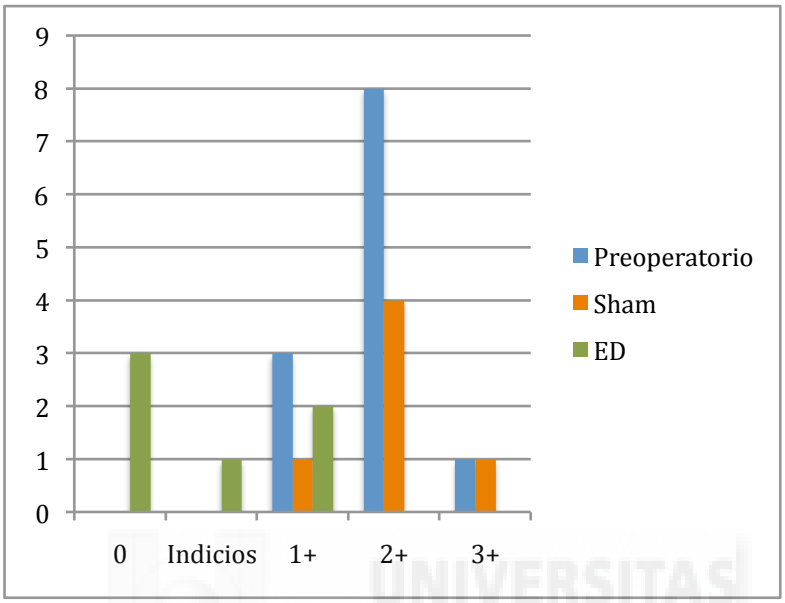


Tabla 63: contingencia proteinuria inferior a +1.

	Momento		Total
	Sham	ED	
Proteinuria <1+			
Si	0	4	4
No	6	2	8
Total	6	6	12

	valor	Sig. Asintótica (bilateral)	Sig. Exacta (bilateral)	Sig. Exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	6	0,014		
Estadístico de Fisher			0,061	0,03

Existe una clara mejoría en el parámetro de las ratas tras exclusión duodenal, con significación estadística.

6.7.4 Análisis de orina a las 20 semanas de vida.

Vamos a comparar los resultados en los diferentes parámetros de los análisis de orina de los animales intervenidos a las 20 semanas previo a la intervención, que sería la evolucion natural de la enfermedad, con los de los animales intervenidos con la exclusión duodenal a las 12 semanas previo al sacrificio. Esto es con una evolución de 8 semanas supuestamente no diabeticas. El resultado es el siguiente:

6.7.4.1 Glucosuria.

Tablas 64: descriptivos de los niveles de glucosa en orina.

	Glucosuria preoperatoria		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
4+	12	100	100

	Glucosuria Exclusión Duodenal		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
0	3	50	50
Indicios	2	33,3	66,7
1+	1	16,7	100
Total	6	100	

Fig. 46: niveles de glucosuria.

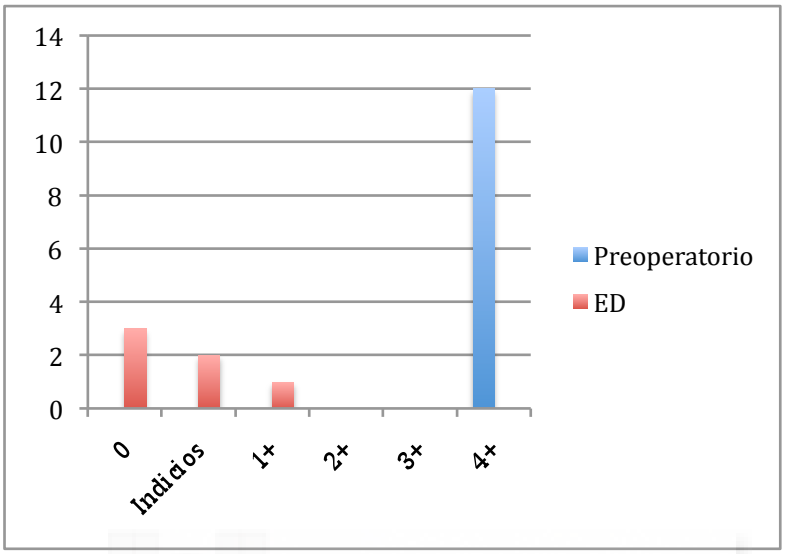


Tabla 65: contingencia ausencia de glucosuria.

		Momento		Total
		Sham	ED	
Ausencia de glucosuria				
	Si	0	5	5
	No	12	1	13
	Total	12	6	18

	valor	Sig. Asintótica (bilateral)	Sig. Exacta (bilateral)	Sig. Exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	13,846	0		
Estadístico de Fisher			0,001	0,001

Existe una significación estadística con ausencia de glucosuria tras la exclusión duodenal.

6.7.4.2. Cuerpos cetónicos.

Tablas 66: descriptivos de los niveles de cuerpos cetónicos en orina.

	Cuerpos cetónicos preoperatorio		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
Indicios	4	33,3	33,3
1+	7	58,3	91,7
2+	1	8,3	100
Total	12	100	

	Cuerpos Cetónicos Exclusión Duodenal		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
0	5	83,3	83,3
Indicios	1	16,7	100
Total	6	100	

Fig. 47: niveles de presencia de cuerpos cetónicos en orina.

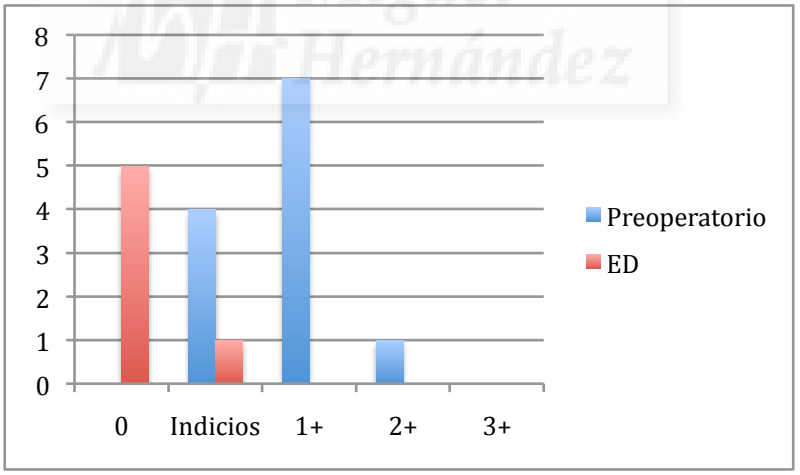


Tabla 67: contingencia ausencia de cuerpos cetónicos.

	Momento		Total
	Sham	ED	
Ausencia cuerpos cetónicos			
Si	4	6	10
No	8	0	8
Total	12	6	18

	valor	Sig. Asintótica (bilateral)	Sig. Exacta (bilateral)	Sig. Exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	7,2	0,007		
Estadístico de Fisher			0,013	0,011

Existe una clara mejoría en ratas con exclusión duodenal, con significación estadística.

6.7.4.3. pH.

Tablas 68: descriptivos de los niveles de pH en orina.

	pH preoperatorio		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
5	4	33,3	33,3
5,5	3	25	58,3
6	3	25	83,3
6,5	1	8,3	91,7
7	1	8,3	100
Total	12	100	

	pH exclusión duodenal		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
6	2	33,3	33,3
6,5	2	33,3	66,7
7	2	33,3	100
Total	6	100	

Fig. 48: niveles medidos de pH en orina.

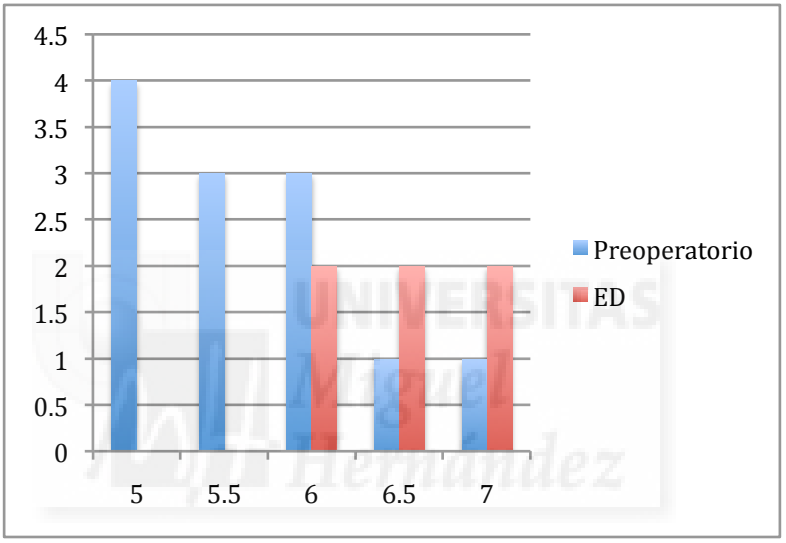


Tabla 69: contingencia pH inferior a 5,5.

	Momento		Total
	Sham	ED	
pH >5,5			
Si	5	6	11
No	7	0	7
Total	12	6	18

	valor	Sig. Asintótica (bilateral)	Sig. Exacta (bilateral)	Sig. Exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	5,727	0,017		
Estadístico de Fisher			0,038	0,025

Existe una clara mejoría en ratas con exclusión duodenal, con significación estadística.

6.7.4.4. Densidad.

Tablas 70: descriptivos de la densidad en orina.

	Densidad preoperatoria		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
1025	1	8,3	8,3
1030	11	91,7	100
Total	12	16,7	

	Densidad exclusión duodenal		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
1000	1	16,7	16,7
1010	2	33,3	50
1015	2	33,3	83,3
1020	1	16,7	100
Total	6	100	

Fig. 49: densidades medidas en orina.

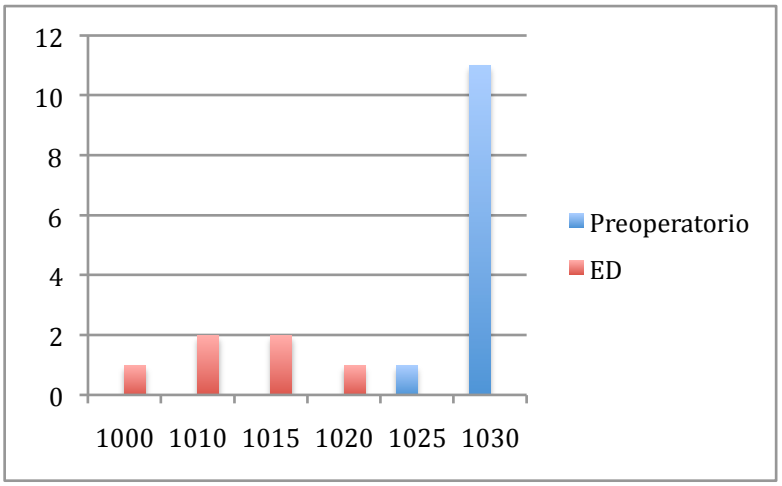


Tabla 71: contingencia densidad inferior a 1025.

		Momento		Total
		Sham	ED	
Densidad <1025				
	Si	0	6	6
	No	12	0	12
	Total	12	6	18

	valor	Sig. Asintótica (bilateral)	Sig. Exacta (bilateral)	Sig. Exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	18	0		
Estadístico de Fisher			0	0

Existe una clara mejoría en ratas con exclusión duodenal, con significación estadística.

6.7.4.5 Proteinuria.

Tablas 72: descriptivos de los niveles de proteinuria.

	Proteinuria preoperatorio		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
1+	3	25	25
2+	8	66,7	91,7
3+	1	8,3	100
Total	12	100	

	Proteinuria exclusión duodenal		
	Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos			
0	2	33,3	33,3
Indicios	4	66,7	100
Total	6	100	

Fig. 50: niveles de proteinuria.

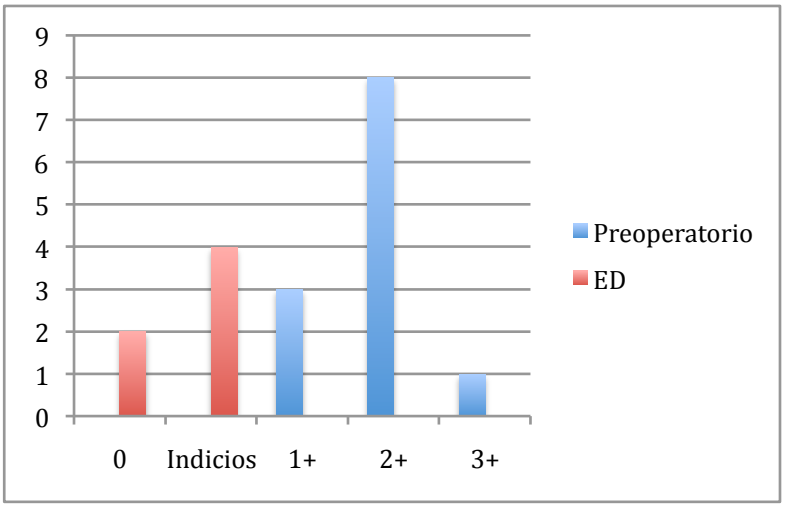


Tabla 73: contingencia proteinuria inferior a +1.

		Momento		Total
		Sham	ED	
Proteinuria <1+	Si	0	6	6
	No	12	0	12
	Total	12	6	18

	valor	Sig. Asintótica (bilateral)	Sig. Exacta (bilateral)	Sig. Exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	18	0		
Estadístico de Fisher			0	0

Existe una clara mejoría en ratas con exclusión duodenal, con significación estadística.

6.8 Factor de Necrosis Tumoral alfa (FNTα).

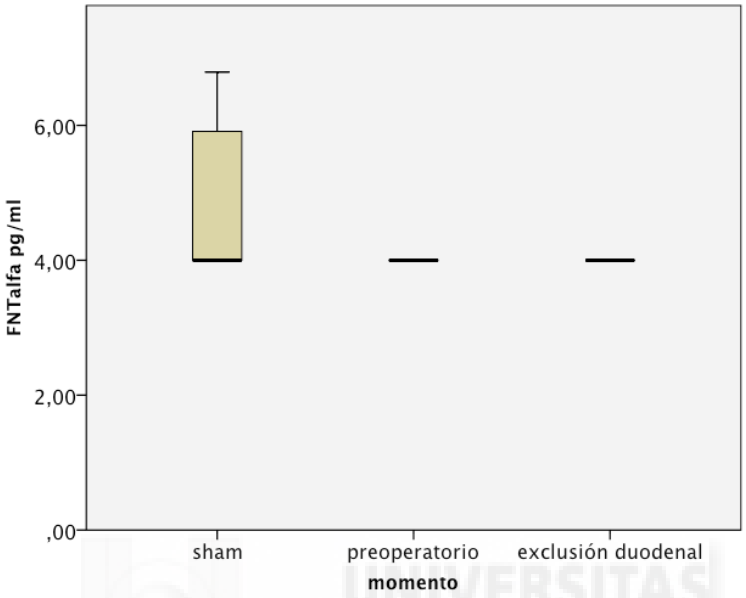
6.8.1 Análisis de niveles de FNTα en animales intervenidos a las 12 semanas.

Durante la realización de la curva de SOG, se lleva a cabo la extracción de sangre bajo sedación para determinación de niveles de FNTα previo a la randomización, semana 12 de vida, y en el contexto del sacrificio pasadas 8 semanas de la intervención. Se obtienen los siguientes resultados:

Tabla 74: descriptivos de los valores de FNTα.

	preoperatorio	ED	Sham
Válidos	12	6	6
Media	4	4	4,7833
Mediana	4	4	4
Desv Tip	0	0	1,245
Mínimo	4	4	4
Máximo	4	4	6,79
Percentiles			
25	4	4	4
75	4	4	6,13

Fig. 51: niveles de FNTα.



Si bien hay una mejoría en los niveles plasmáticos tras exclusión duodenal, no existe una significación estadística.

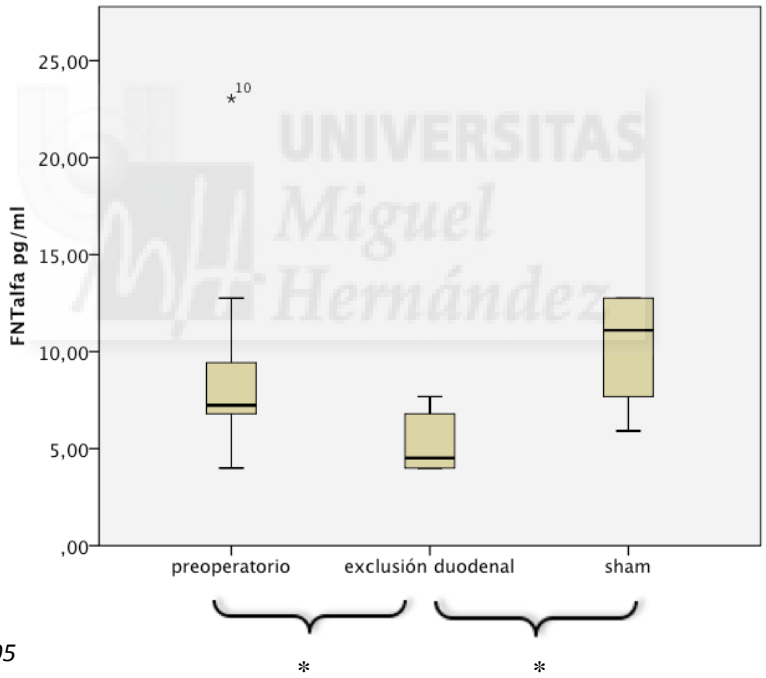
6.8.2 Análisis de niveles de FNTα en animales intervenidos a las 16 semanas.

Durante la realización de la curva de SOG se lleva a cabo la extracción de sangre bajo sedación para determinación de niveles de FNTα previo a la randomización, semana 16 de vida, y en el contexto del sacrificio pasadas 8 semanas de la intervención. Se obtienen los siguientes resultados.

Tabla 75: descriptivos de los niveles de FNTα.

	preoperatorio	ED	Sham
Válidos	12	6	6
Media	8,8342	5,25	10,2167
Mediana	7,235	4,515	11,095
Desv Tip	5,029	1,613	3
Mínimo	4	4	5,91
Máximo	23,04	7,68	12,76
Percentiles			
25	6,79	4	7,2375
75	9,865	7,0125	12,76

Fig. 52: niveles de FNTα.



∗ p<0,05

Existe una diferencia con significación estadística en ratas con exclusión duodenal, presentando todas las ratas con exclusión duodenal ausencia de empeoramiento en los niveles plasmáticos.

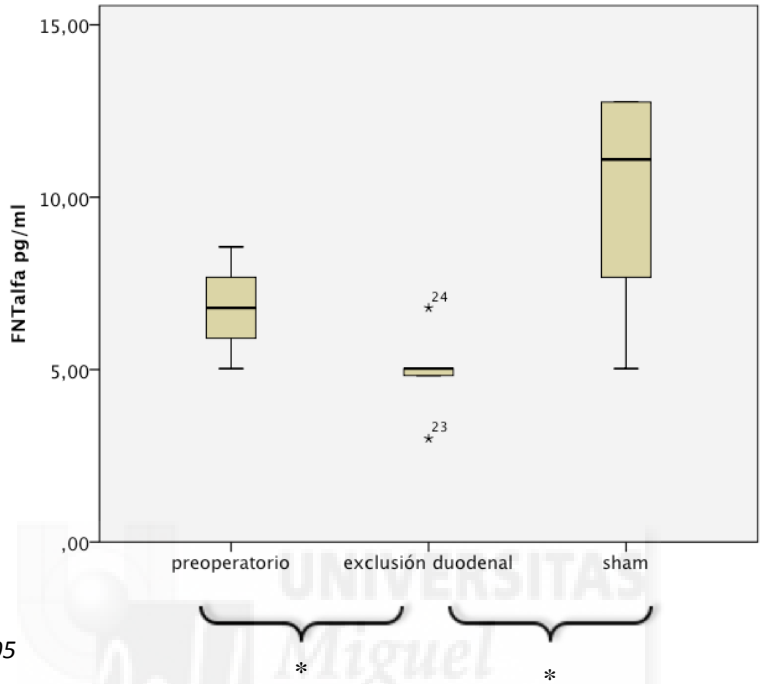
6.8.3 Análisis de niveles de FNTα en animales intervenidos a las 20 semanas.

Durante la realización de la curva de SOG se lleva a cabo la extracción de sangre bajo sedación para determinación de niveles de FNTα previo a la randomización, semana 20 de vida, y en el contexto del sacrificio pasadas 8 semanas de la intervención. Se obtienen los siguientes resultados:

Tabla 76: descriptivos de los niveles de FNTα.

	preoperatorio	ED	Sham
Válidos	12	6	6
Media	6,8383	4,952	10,07
Mediana	6,79	5,03	11,095
Desv Tip	1,085	1,202	3,263
Mínimo	5,03	3	5,03
Máximo	8,56	6,79	12,76
Percentiles			
25	5,91	4,373	7,018
75	7,68	5,47	12,76

Fig. 53: niveles de FNTα.



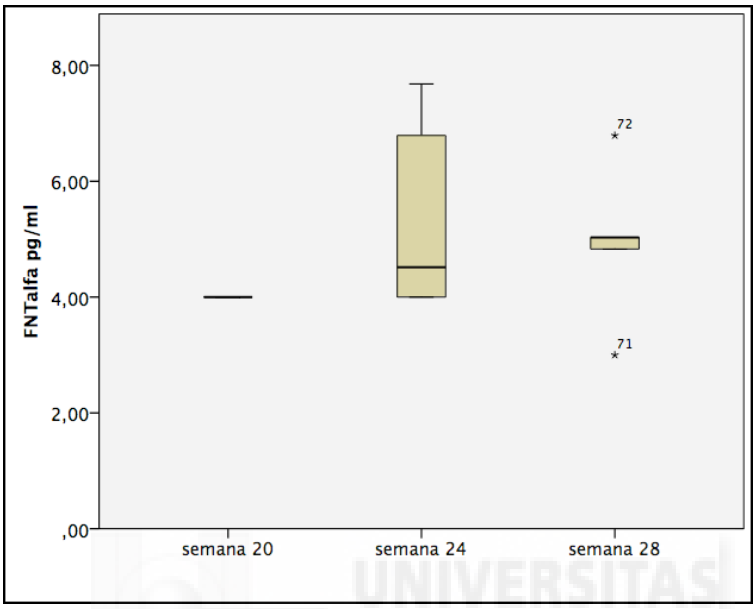
∗ p<0,05

Existe una diferencia con significación estadística en las cifras plasmáticas tras la exclusión duodenal.

6.8.4 Análisis de niveles de FNTα en los animales tras la exclusión duodenal.

Se pretende comparar las curvas de glucemias de los 3 grupos temporales a los que se les ha sometido a la exclusión duodenal.

Fig. 54: gráfica de cajas comparando los niveles de FNTα tras la ED.

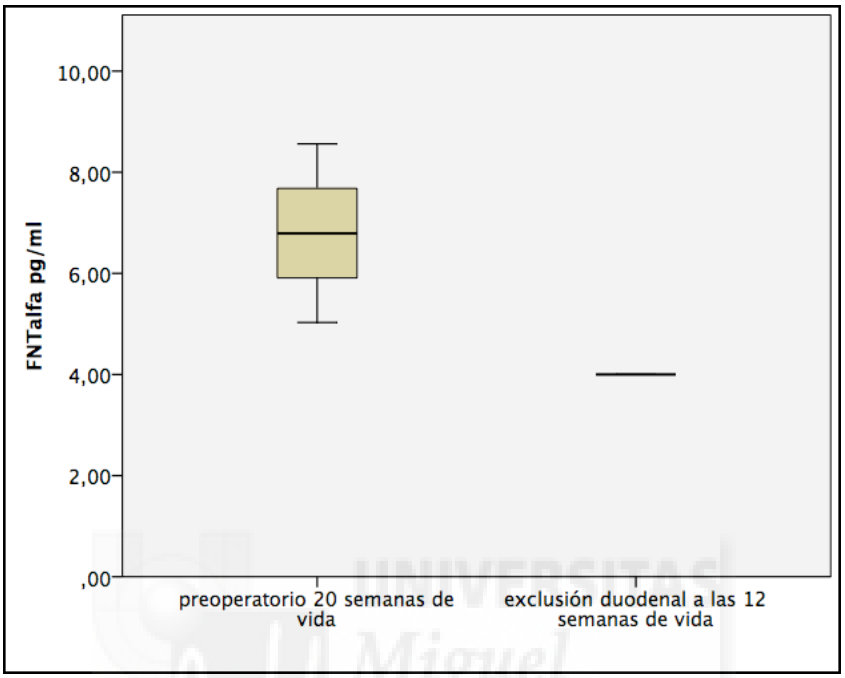


No se aprecian diferencias estadísticamente significativas en los niveles postoperatorios de FNTalfa.

6.8.5 Análisis de niveles de FNTα a las 20 semanas de vida.

Comparamos las curvas de glucemias de los animales intervenidos a las 20 semanas previo a la intervención, que sería la evolucion natural de la enfermedad, con las glucemias de los animales intervenidos con la exclusión duodenal a las 12 semanas previo al sacrificio, esto es con una evolución de 8 semanas supuestamente no diabeticas, por lo que se considera un grupo control. El resultado es el siguiente:

Fig. 55: gráfica de cajas comparando niveles de FNTα en ambos grupos.



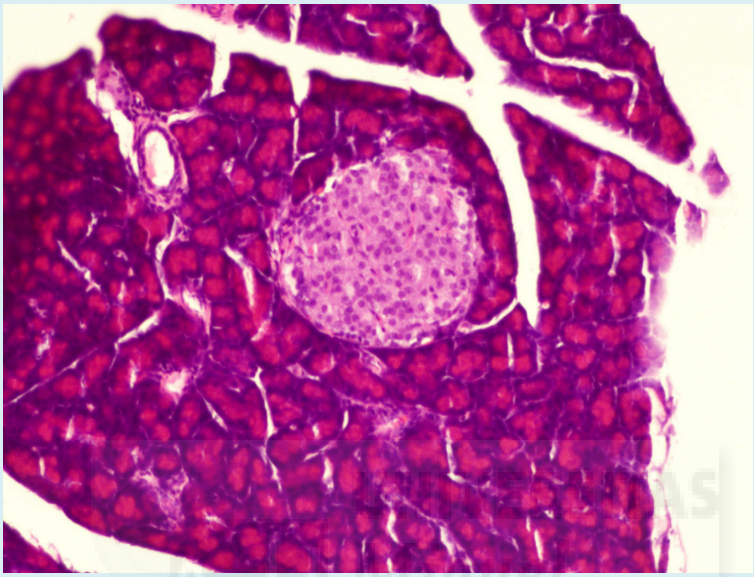
Se aprecia una diferencia en los valores, con significación estadística, p<0,001.

6.9 Páncreas.

6.9.1 Hematoxilina-eosina.

Tal como se explica en el capítulo de métodos, los cortes fueron teñidos con hematoxilina-eosina para su posterior análisis en microscópio óptico donde se indentificaron los islotes pancreáticos y el grado de inflamación. Los resultados se exponen en porcetaje de islotes pancreáticos respecto tejido exocrino y endocrino total.

Imágenes 2: páncreas de rata con exclusión duodenal a las 12 semanas, a 10X. Islotes grandes y redondeados



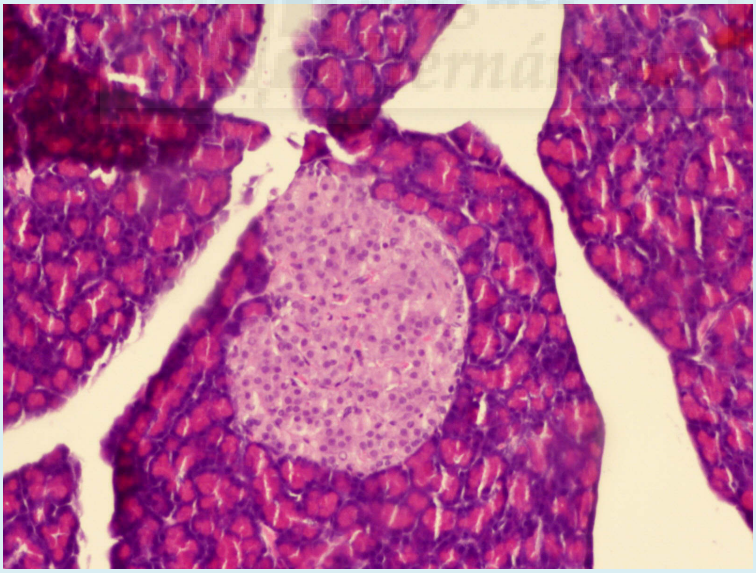


Imagen 3: páncreas de rata sham de 12 semanas a 5X, islote pequeño (flecha). Islote pequeño e irregular.

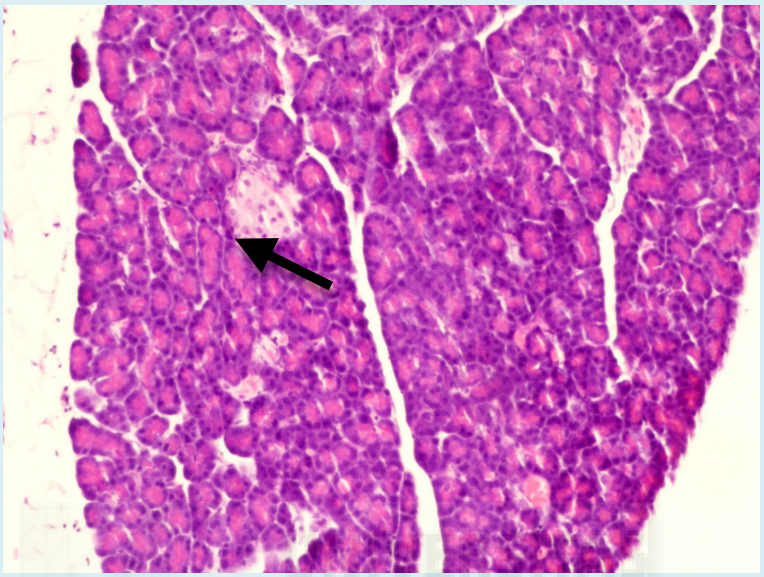
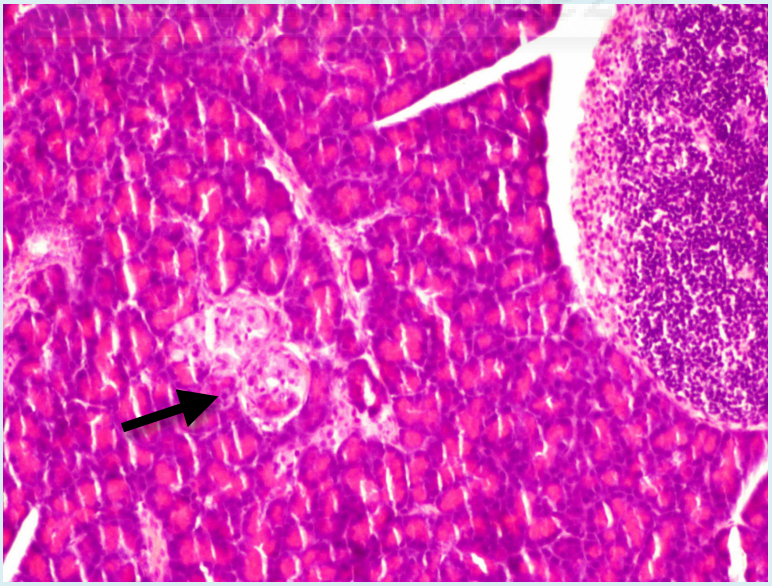


Imagen 4: ausencia casi completa de islotes (flecha) en ratas sham a las 20 semanas, los cuales son pequeños y de bordes irregulares. Imagen a 5X



Imágenes 5: páncreas de ratas sham a las 16 semanas, a 5X. Islotes pequeños e irregulares

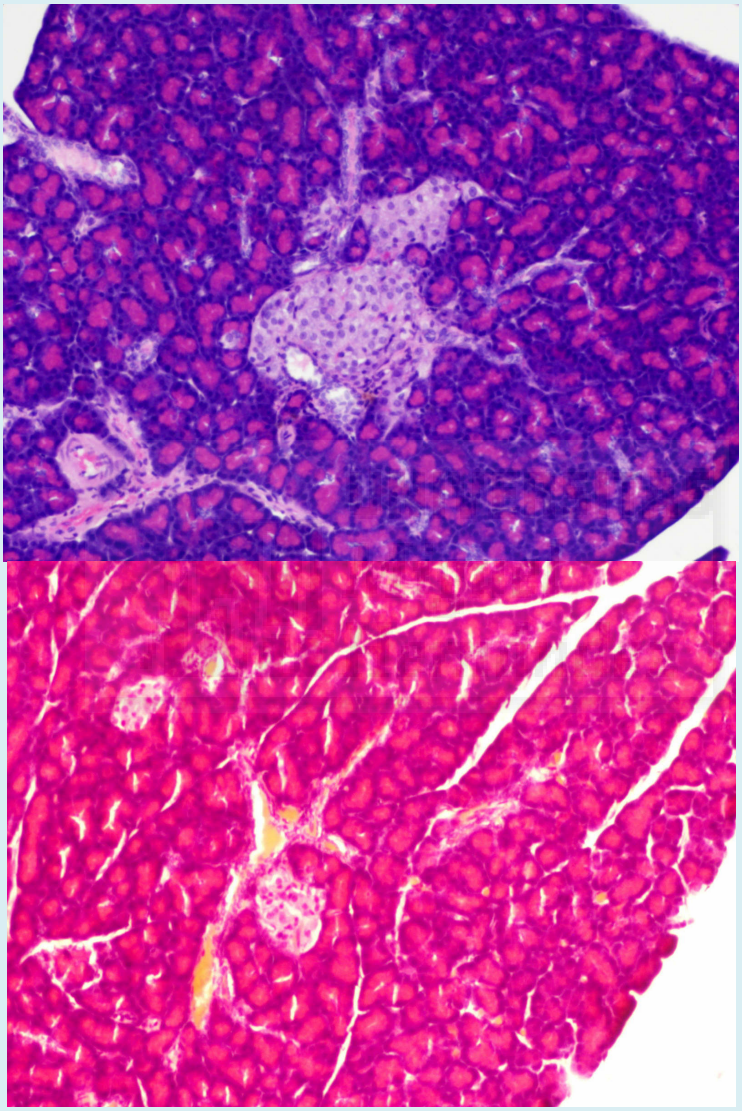
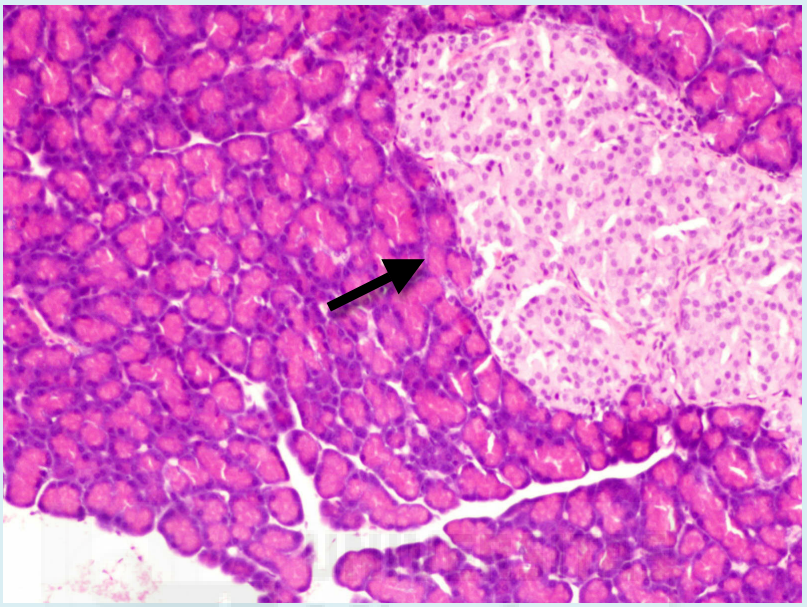
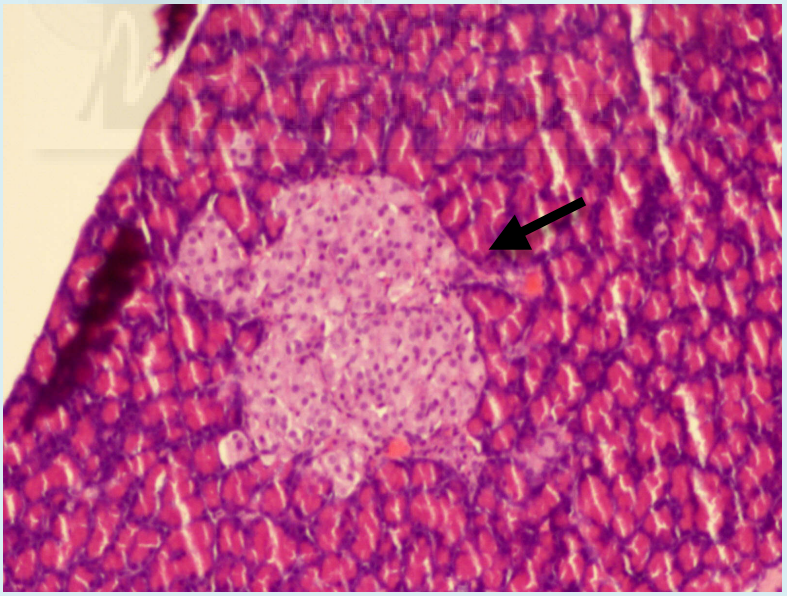
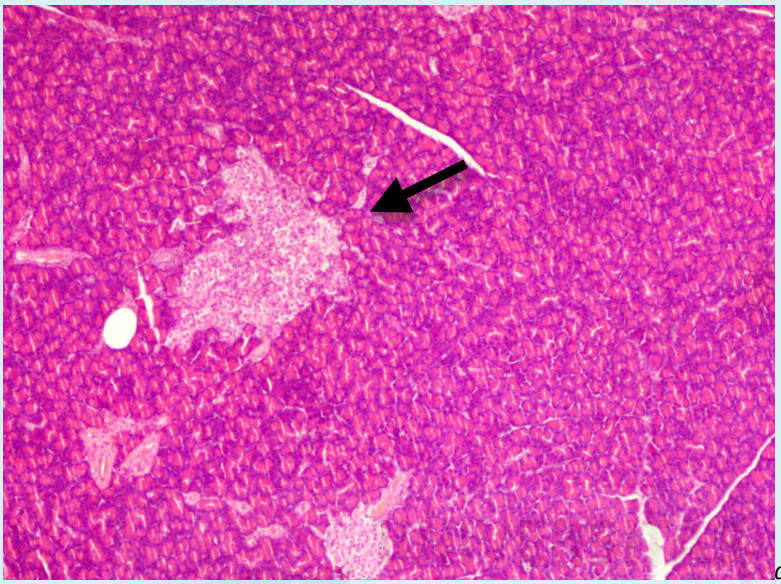


Imagen 6: islotes beta (flecha) en ratas con exclusión duodenal a las 16 semanas, imagen a 10X. Islotes grandes y redondeados.

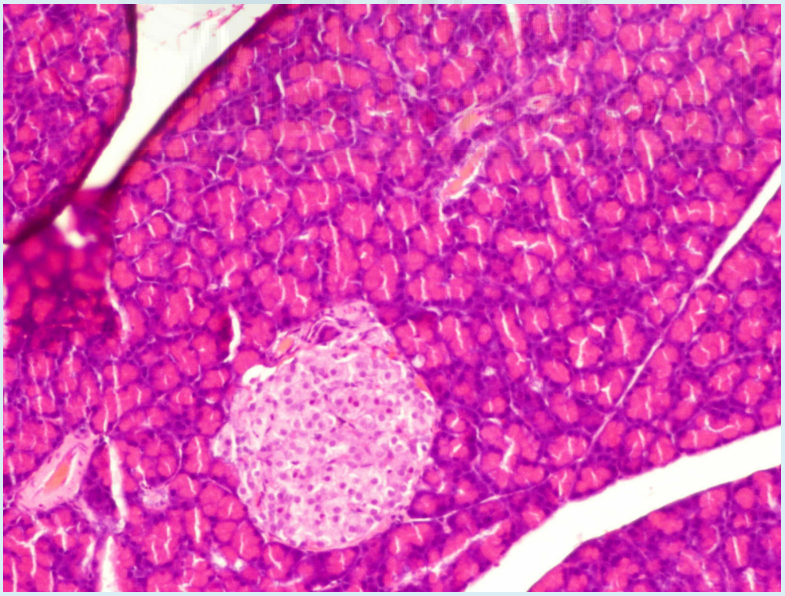




Imágenes 7: islotes (flecha) en ratas con exclusión duodenal a las 20 semanas, imagen a 10X de bordes irregulares(a) y 20X de bordes redondeados (b).



a)

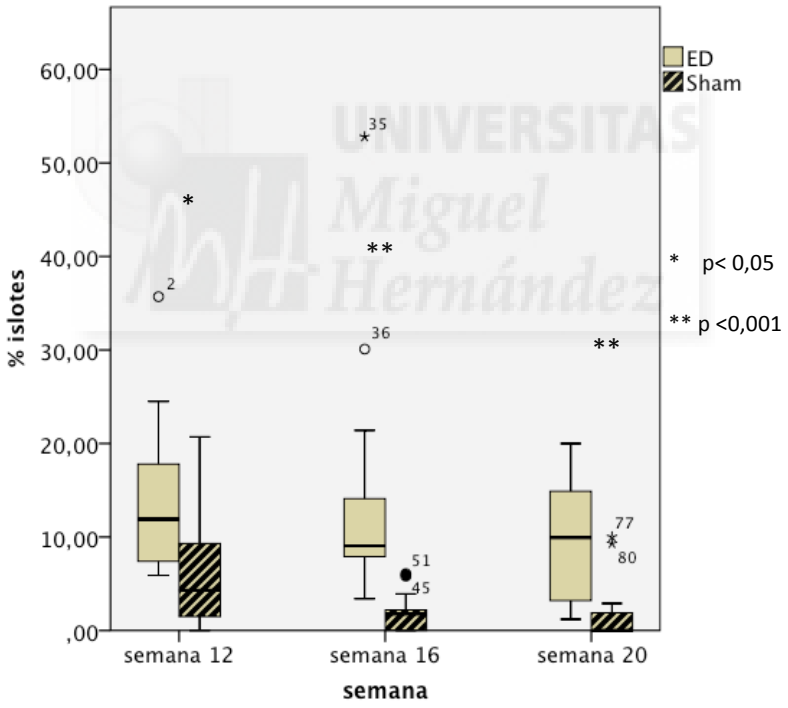


b)

Tabla 77: estadísticos de los porcetajes de islotes pancreáticos respecto el tejido total.

	sham 12 sem	ED 12 sem	sham 16 sem	ED 16 sem	sham 20 sem	ED 20 sem
Media	6,096	14,47	1,79	14,464	1,752	10,2
Mediana	4,3	11,9	1,79	9,05	0	9,95
Desv Tip	5,925	9,439	1,9885	12,9818	3,143	6,6757
Mínimo	0	5,9	0	3,4	0	1,2
Máximo	20,7	35,7	6,08	52,8	10,02	20
Percentiles						
25	1,3	7,25	0	7,85	0	2,825
75	9,8	19,475	2,82	15,925	2,35	15,625

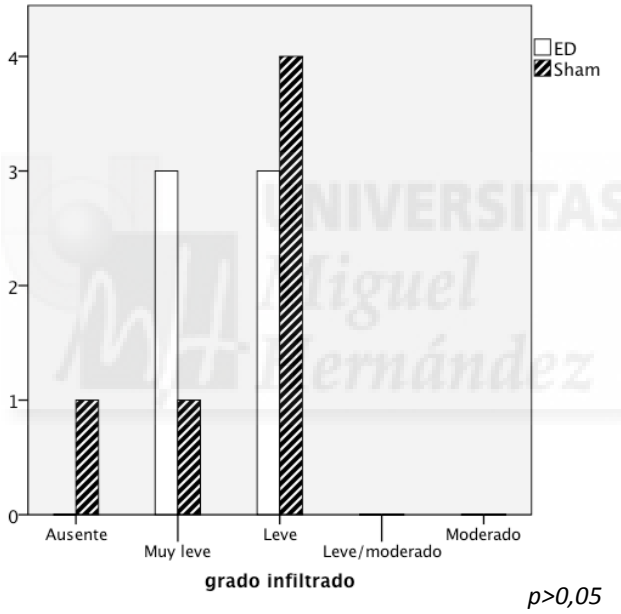
Fig. 56: diagrama de barras del porcentaje de islotes beta.



Se observan diferencias en los porcentajes de islotes beta de las ratas con ED respecto las control, con significación estadística en todos los tiempos. No observamos diferencias de porcentaje de islotes beta según el momento de la exclusión duodenal.

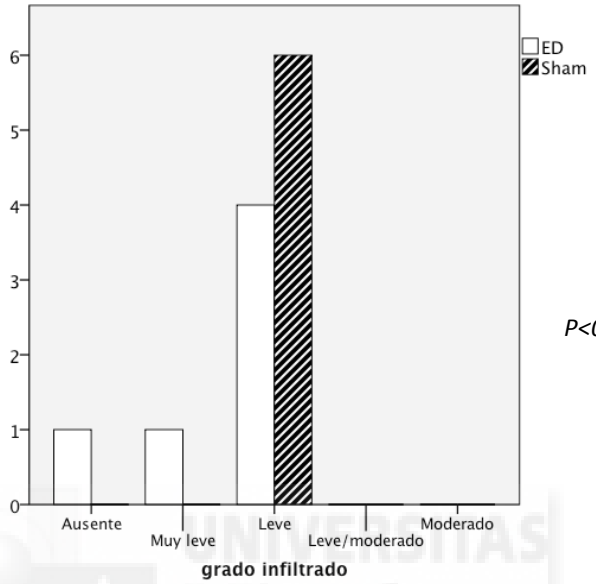
Junto con un aumento en la masa de islotes pancreáticos en los animales con exclusión duodenal, éstos presentan una morfología más similar a los animales euglucémicos, con bordes más redondeados, compactos, y con una localización de las células más central. Por el contrario, en los animales control se observan bordes espiculados e irregulares.

Fig. 57: grado de infiltrado inflamatorio a las 20 semanas de vida en ratas intervenidas a las 12 semanas.



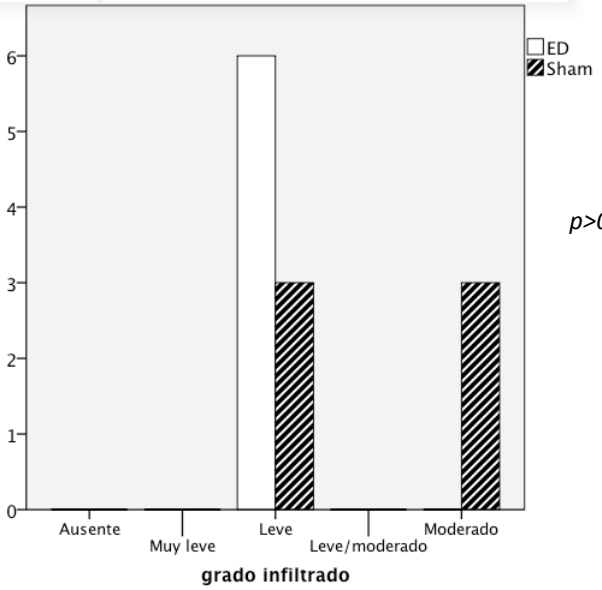
p>0,05

Fig. 58: grado de infiltrado inflamatorio a las 24 semanas de vida en ratas intervenidas a las 16 semanas.



P<0,05

Fig. 59: grado de infiltrado inflamatorio a las 28 semanas de vida en ratas intervenidas a las 20 semanas.



p>0,05

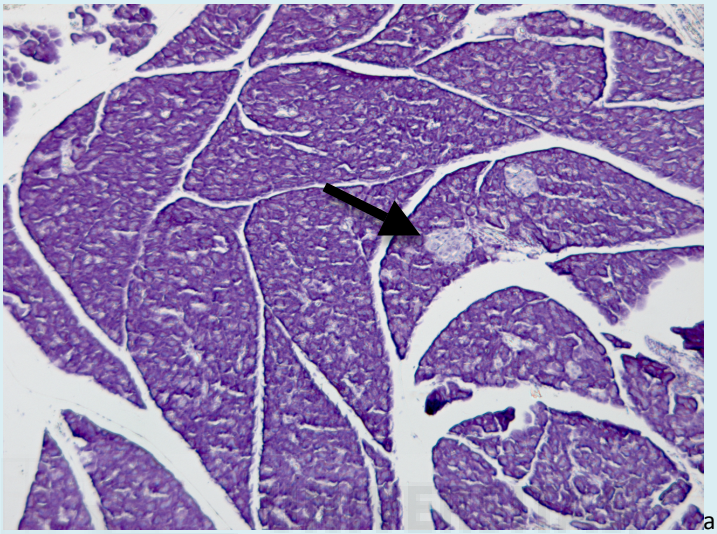
Al igual que con el grado de fibrosis, en las etapas más tempranas de vida no se observan diferencias, no así en ratas con mayor evolución donde sí se evidencia una mayor presencia de infiltrado inflamatorio.

6.9.2 Violeta de cresilo e inmunohistoquimica Nkx6.1.

Se obtuvieron cortes con microtomo de páncreas de tres ratas de cada grupo (temporal e intervención). Se tiñó con violeta de cresilo y al corte inmediatamente posterior se realizó inmunohistoquímica para mostrar la actividad del factor Nkx6.1. A causa de ello, se pueden considerar casi iguales al diferenciarse unas pocas micras, por lo que realizamos comparación.

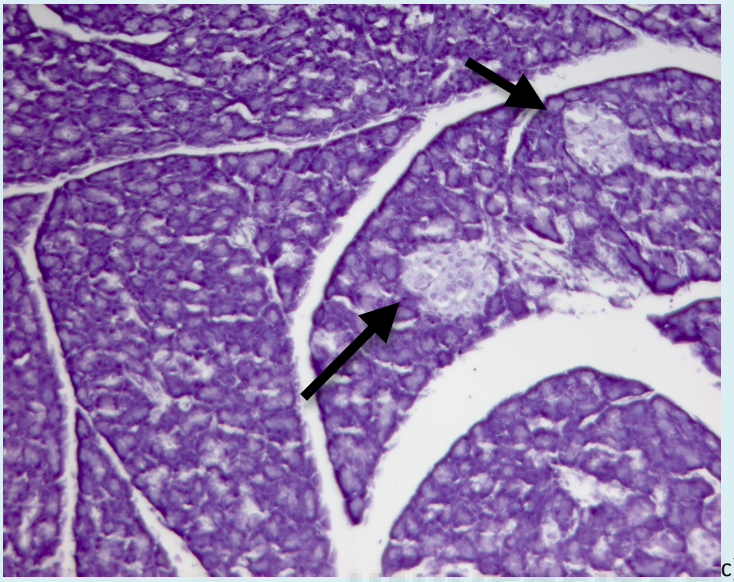
A continuación, se muestran los cortes comparando las ratas sham con las ratas con la intervención propuesta:

Imágenes 8: rata con la intervención sham a las 12 semanas a)violeta mostrando los islotes (flecha negra) a 5X; b) correspondencia en inmunohistoquímica (flecha roja) a las 20 semanas de vida a 20X; c) y d) a 10X; e) y f) a 20X.

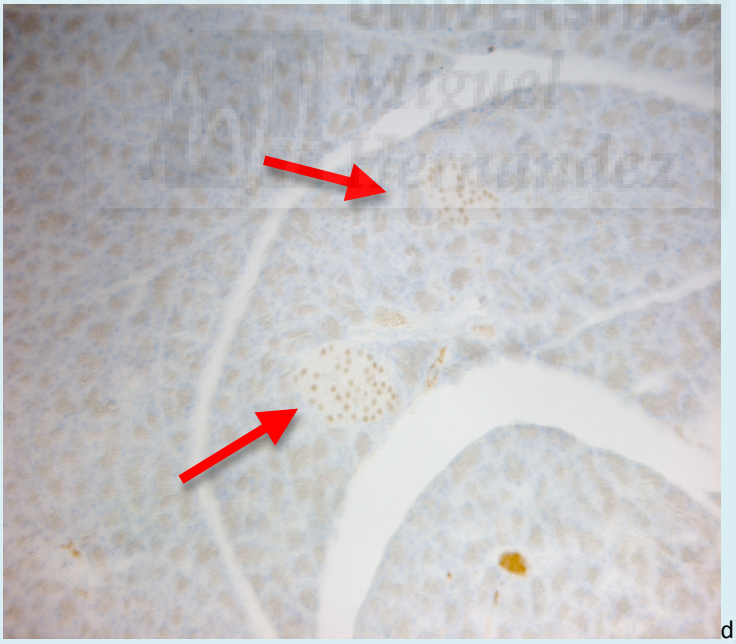


a)

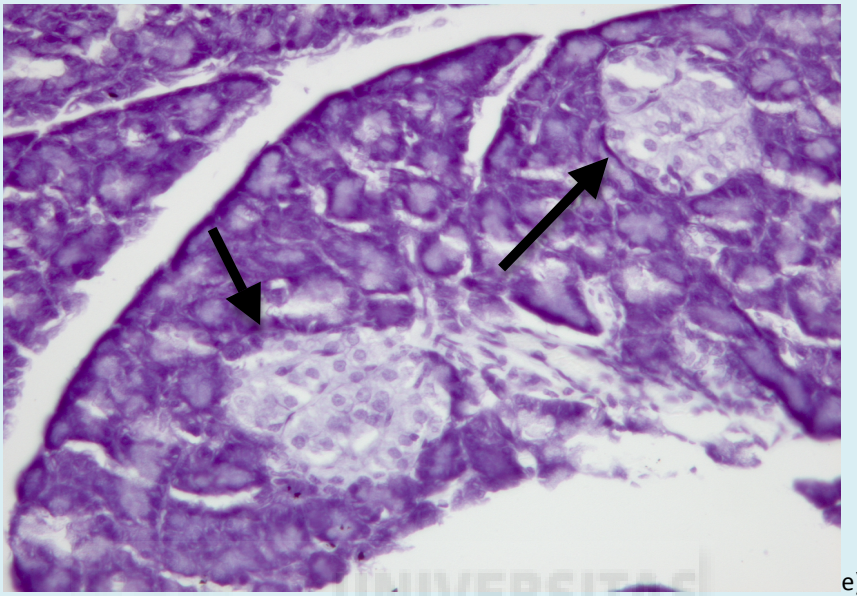
b)



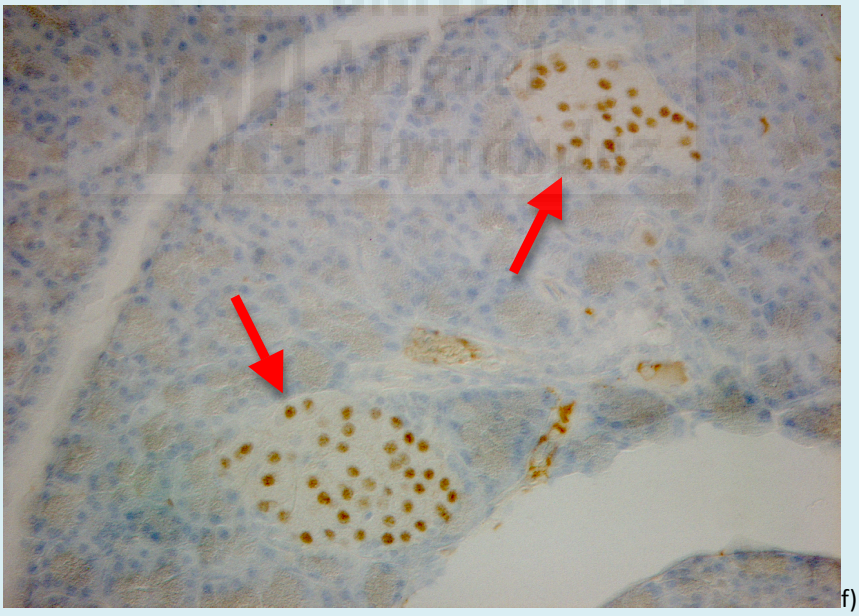
c)



d)

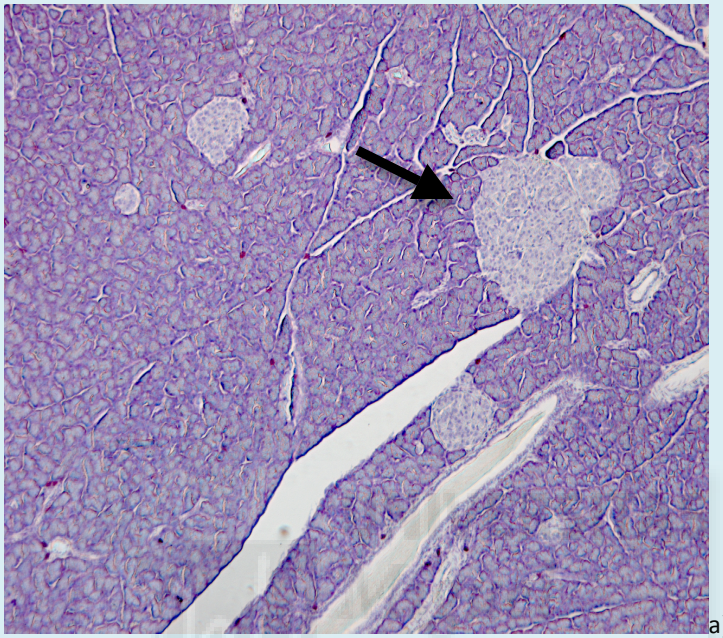


e)

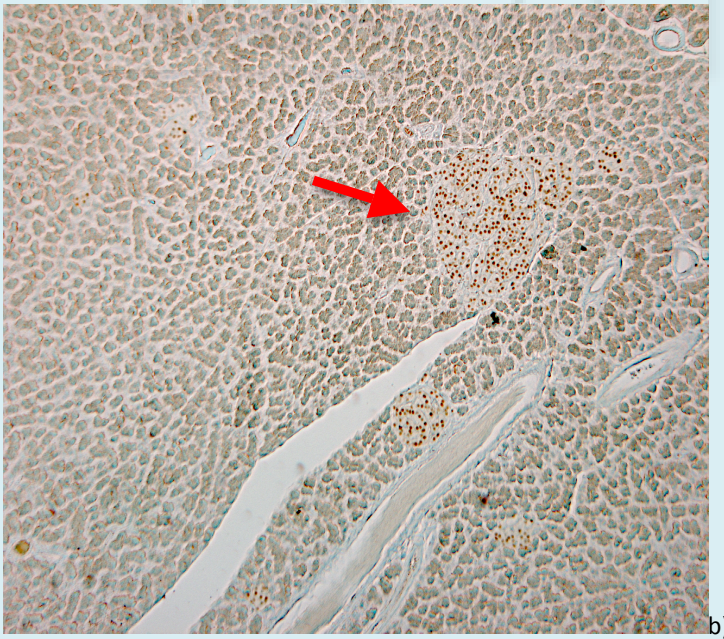


f)

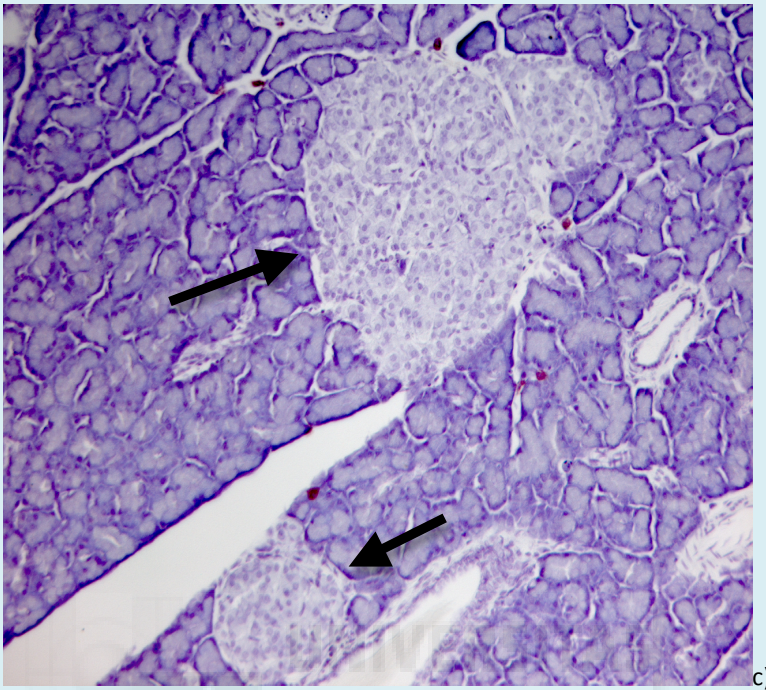
Imágenes 9: rata con la exclusión duodenal a las 12 semanas a) violeta mostrando los islotes (flecha negra); b) correspondencia en inmunohistoquímica (flecha roja) a las 20 semanas de vida a 5X; ; c) y d) a 10X; e) y f) a 20X.



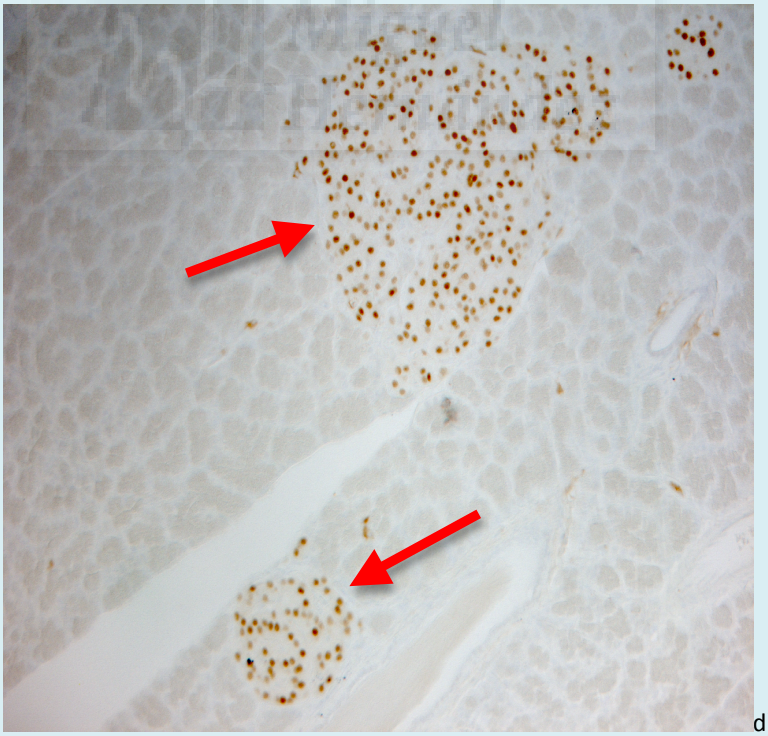
a)



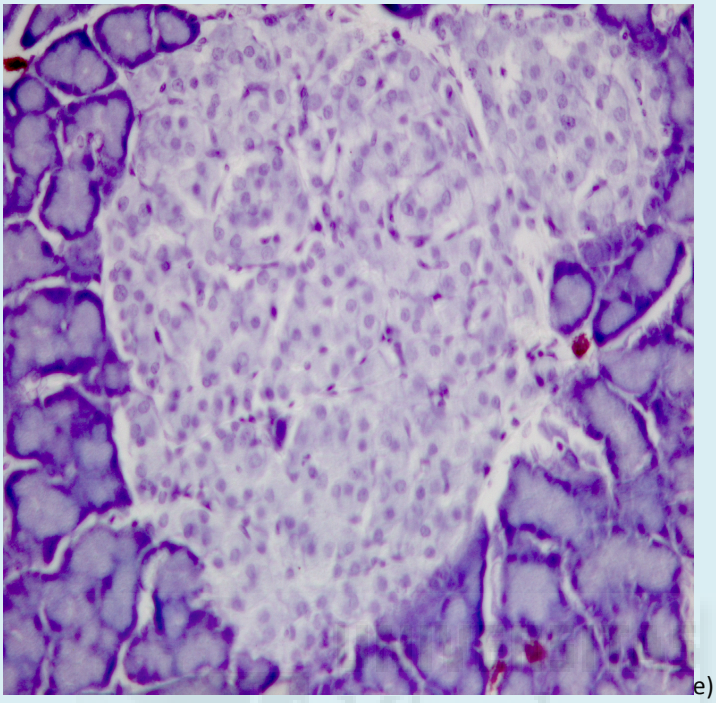
b)



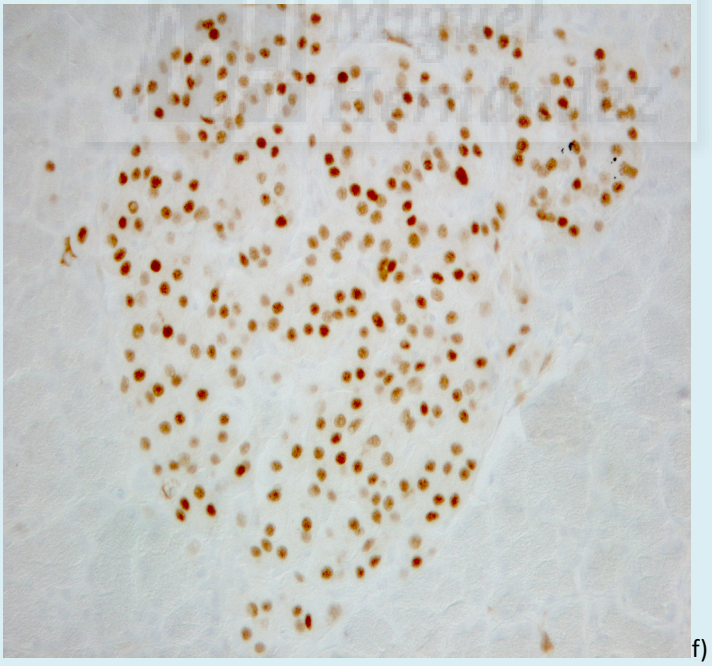
c)



d)

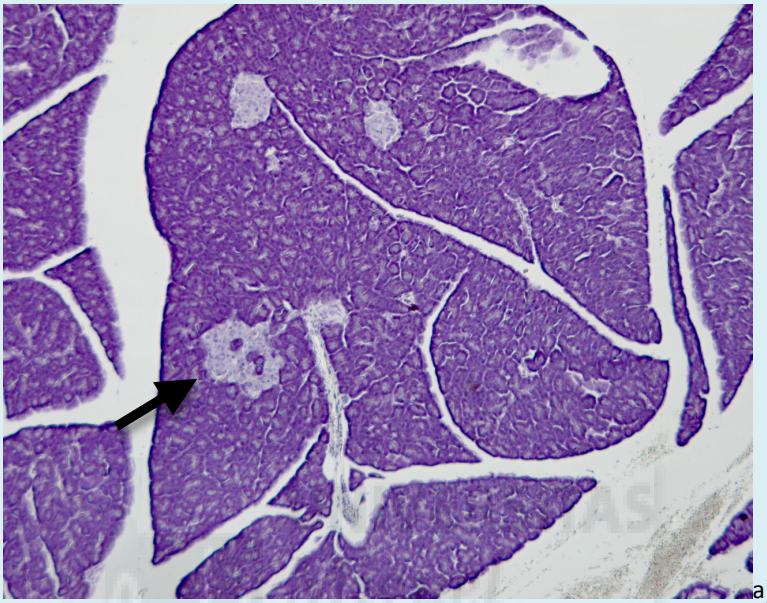


e)

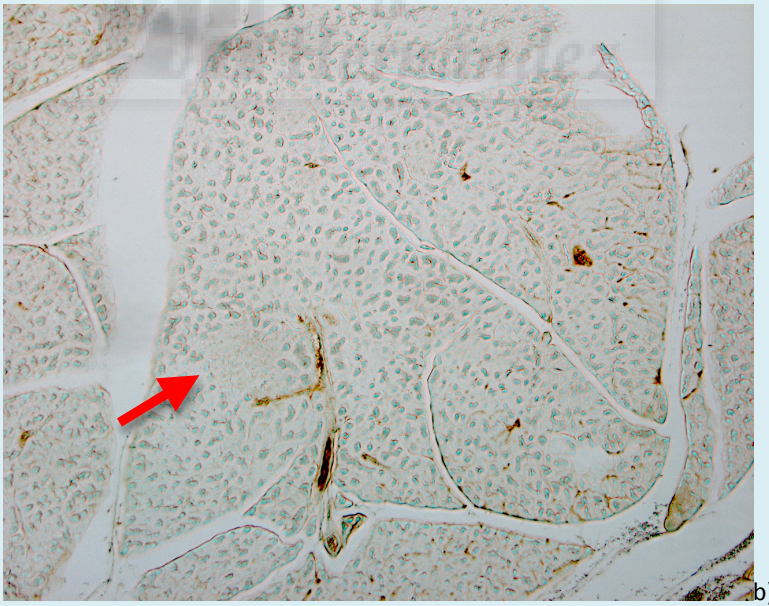


f)

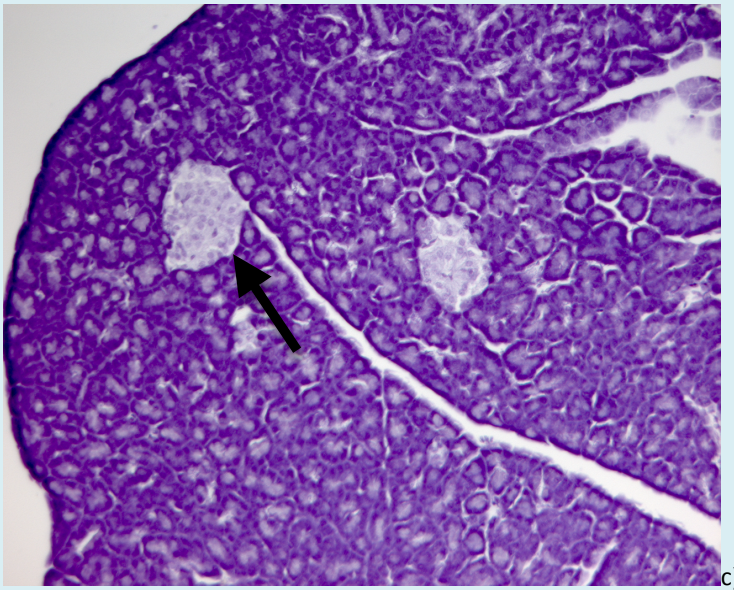
Imágenes 10: rata con la intervención sham a las 16 semanas a) violeta mostrando los islotes (flecha negra); b) correspondencia en inmunohistoquímica (flecha roja) a las 24 semanas de vida a 5X; ; c) y d) a 10X; e) y f) a 20X.



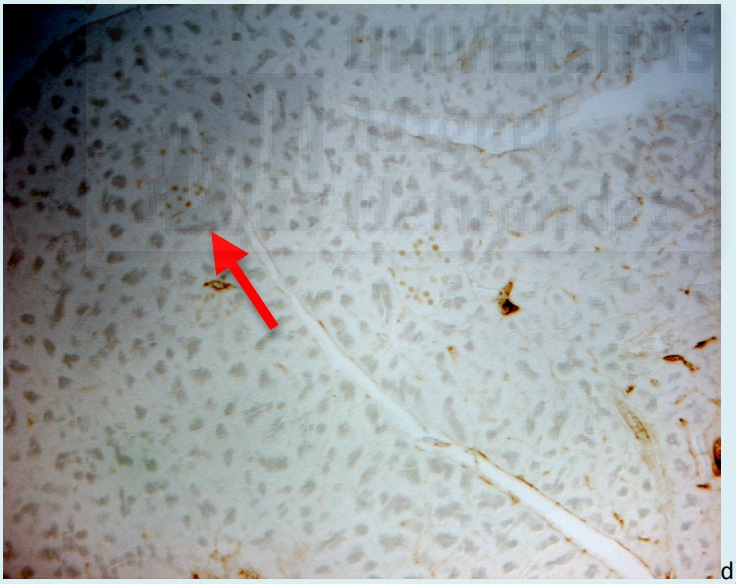
a)



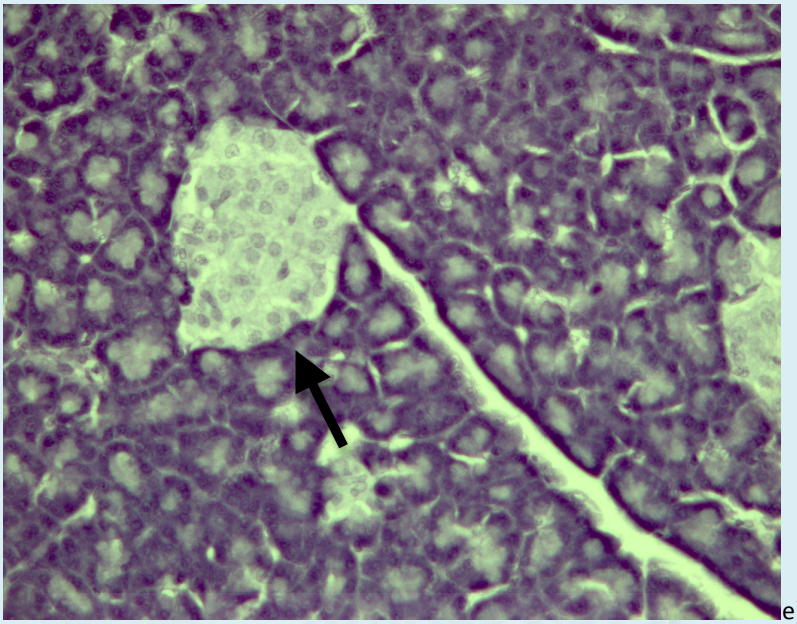
b)



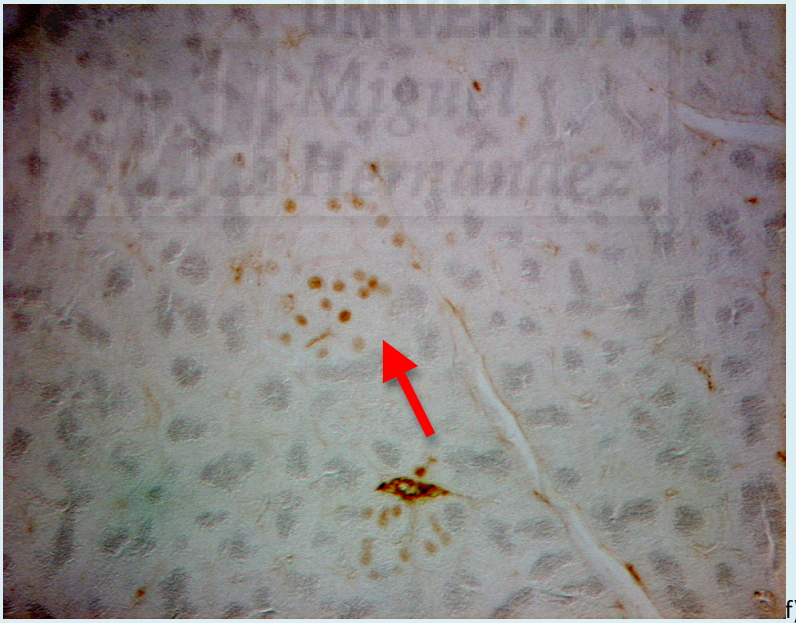
c)



d)



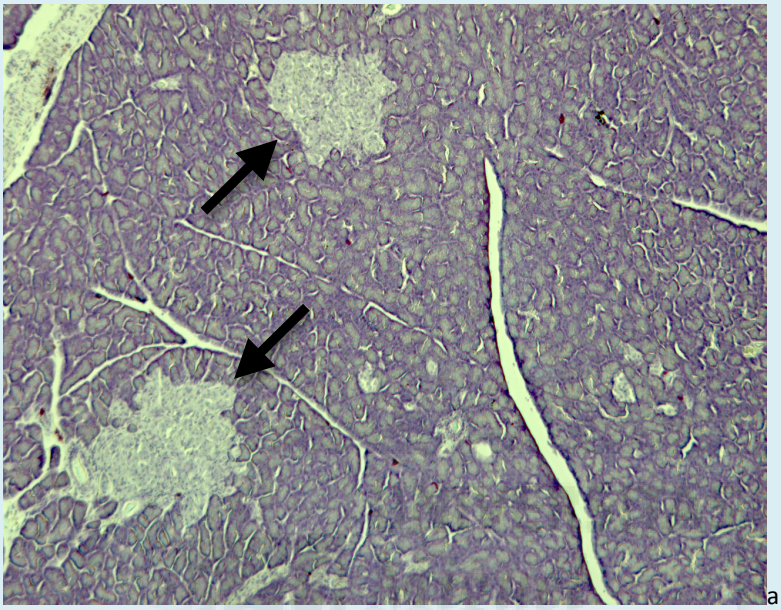
e)



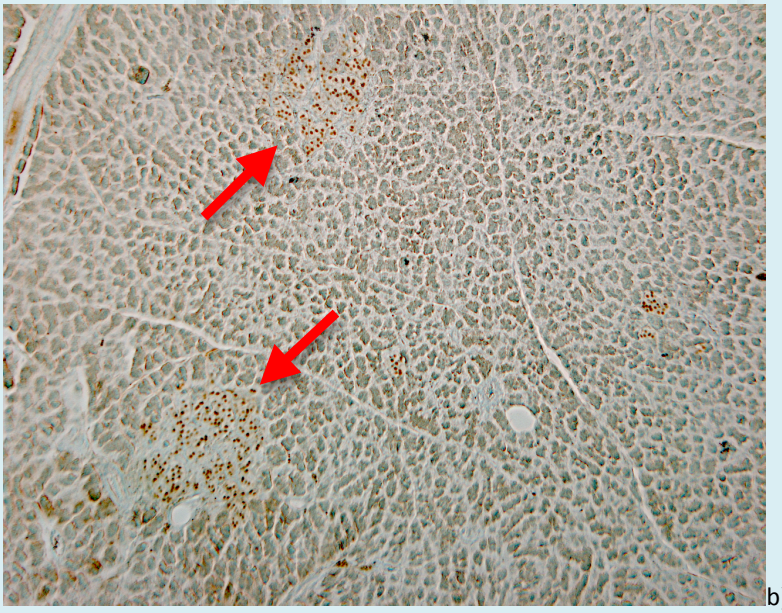
f)

UNIVERSITAS Miguel Hernández

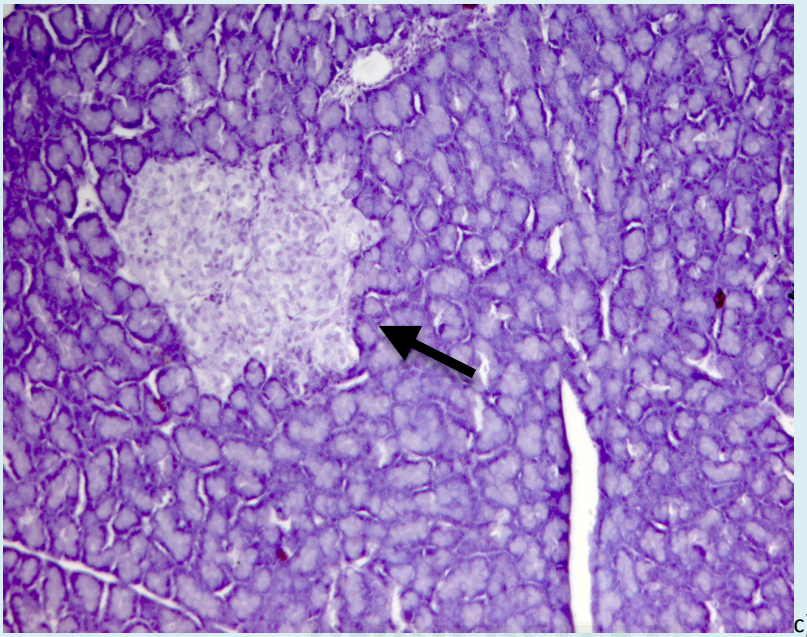
Imágenes 11: rata con la exclusión duodenal a las 16 semanas a) violeta mostrando los islotes (flecha negra); b) correspondencia en inmunohistoquímica (flecha roja) a 5X; c) y d) a 10X; e) y f) a 20X.



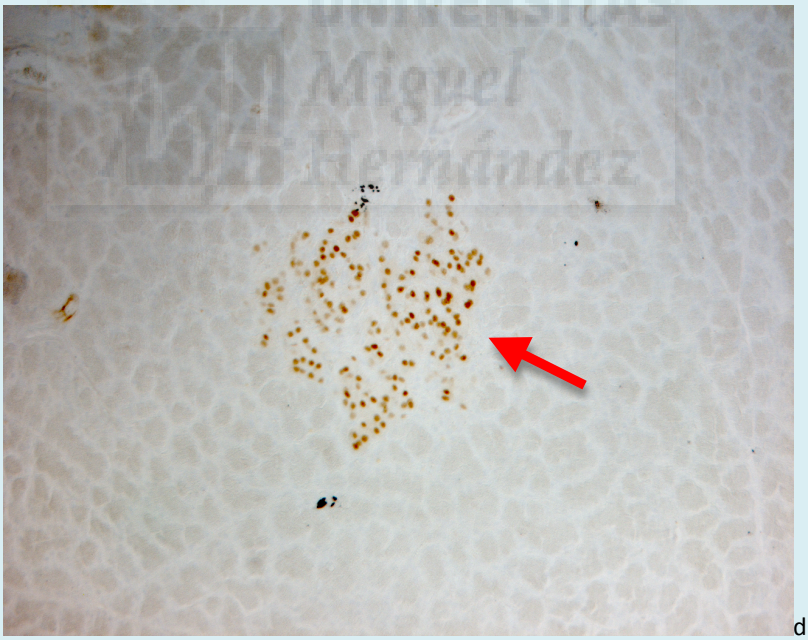
a)



b)

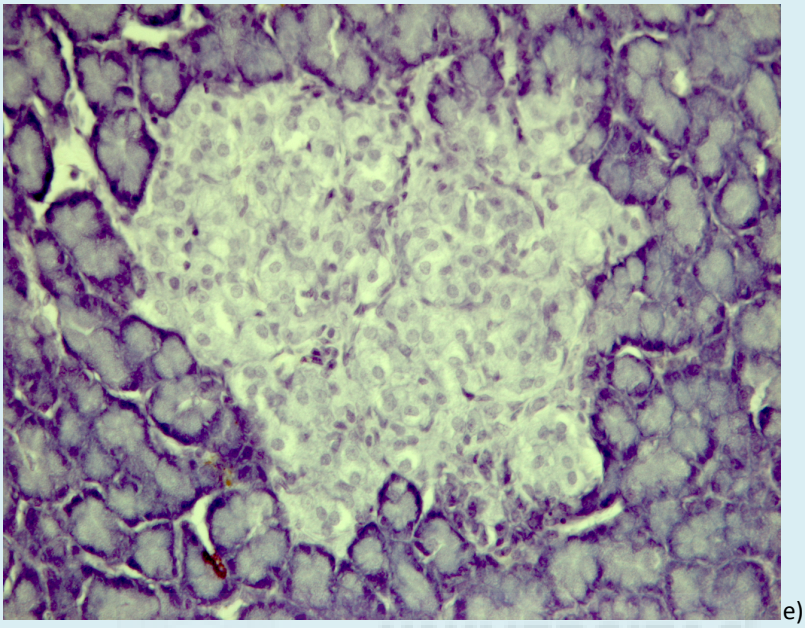


c)

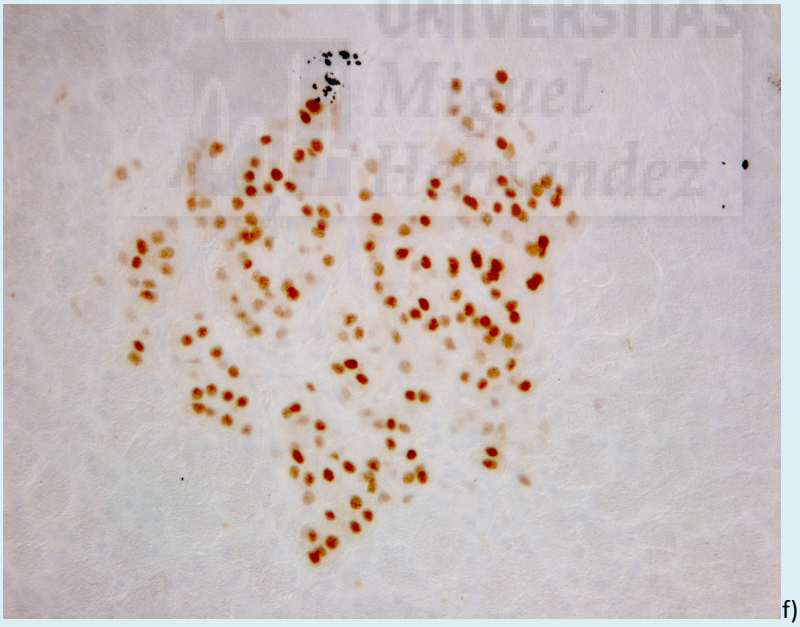


d)

UNIVERSITAS Miguel Hernández



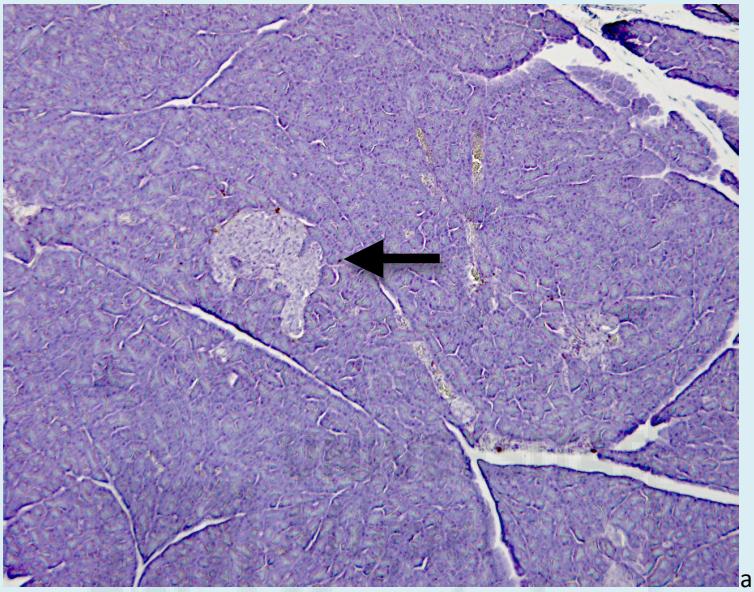
e)



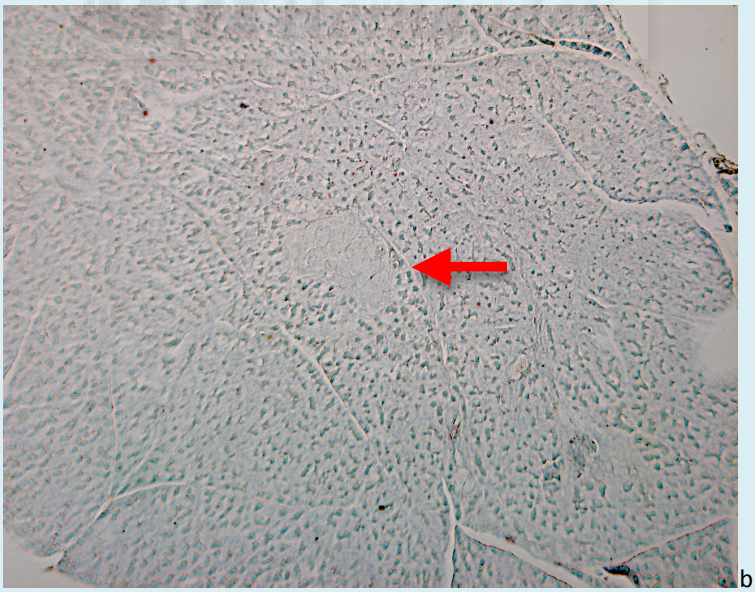
f)

UNIVERSITAS Miguel Hernández

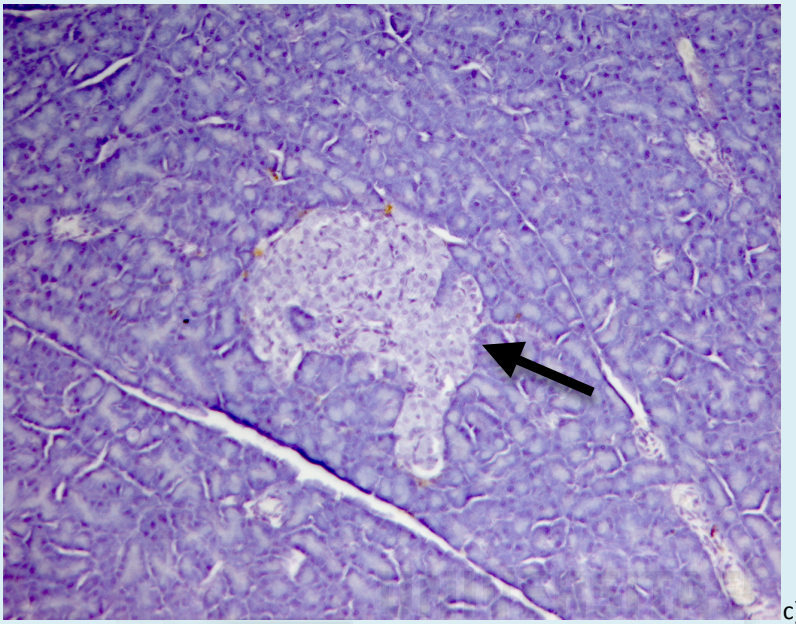
Imágenes 12: rata con la intervención sham a las 20 semanas a) violeta mostrando los islotes (flecha negra); b) correspondencia en inmunohistoquímica (flecha roja) a 5X; c) y d) a 10X.



a)



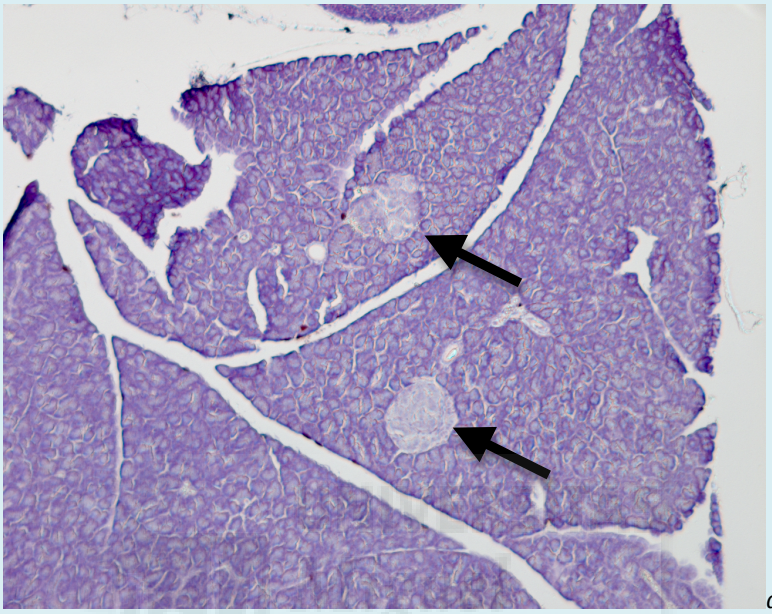
b)



c)

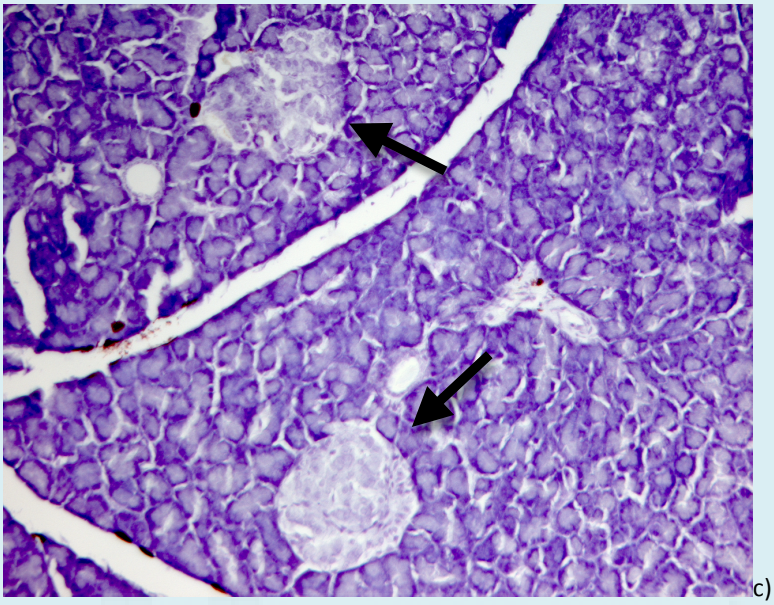
d)

Imágenes 13: rata con exclusión duodenal a las 20 semanas a) violeta mostrando los islotes (flecha negra); b) correspondencia en inmunohistoquímica (flecha roja) a 5X; c) y d) a 10X.

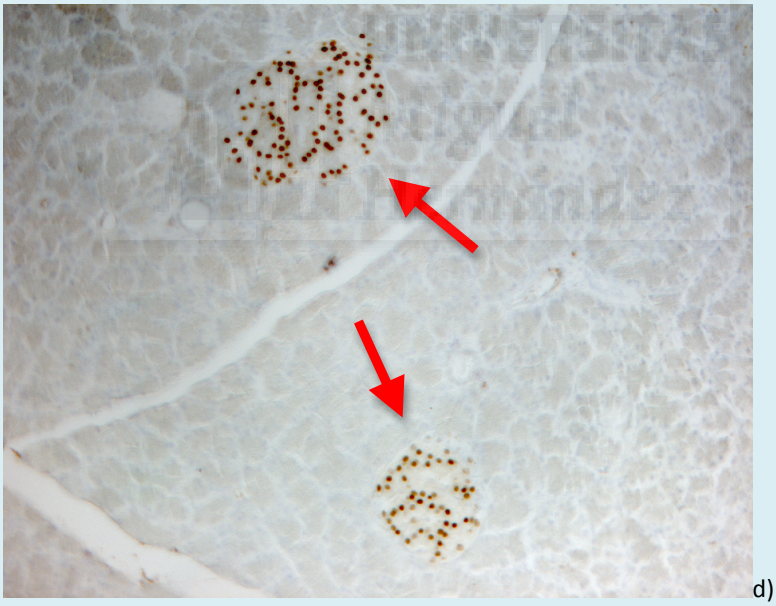


a)

b)



c)



d)

6.9.2.1 Análisis de la expresión Nkx6.1

Tabla 78: descriptivos del análisis de la expresión del factor Nkx6.1 en los distintos cortes.

	Semana 12		Semana 16		Semana 20	
	ED	Sham	ED	Sham	ED	Sham
Area Islotes	635.067	109.163	370.487	75.190	177.199	0
Luminosidad total	35.608	9.118	17.347	1.410	10.196	0
Número células beta	368	76	174	28	57	0
Luminosidad relativa	20,57757	6,34801	4,91632	0,85045	3,2797	0

Fig. 60: luminosidad relativa en relación al número de células beta y el área total del islote pancreático.

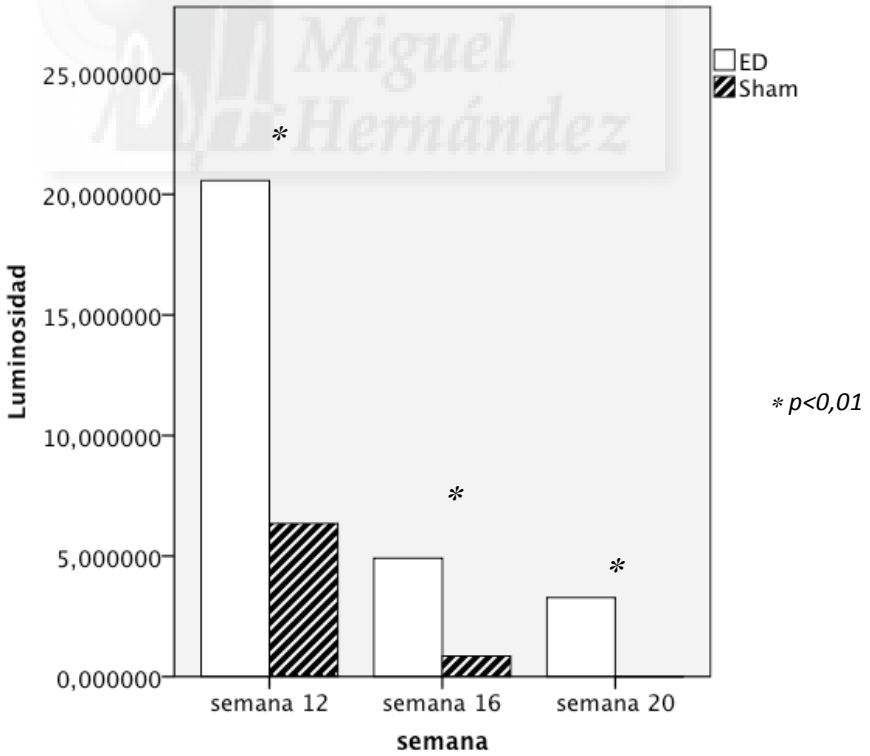


Fig. 61: número de células beta.

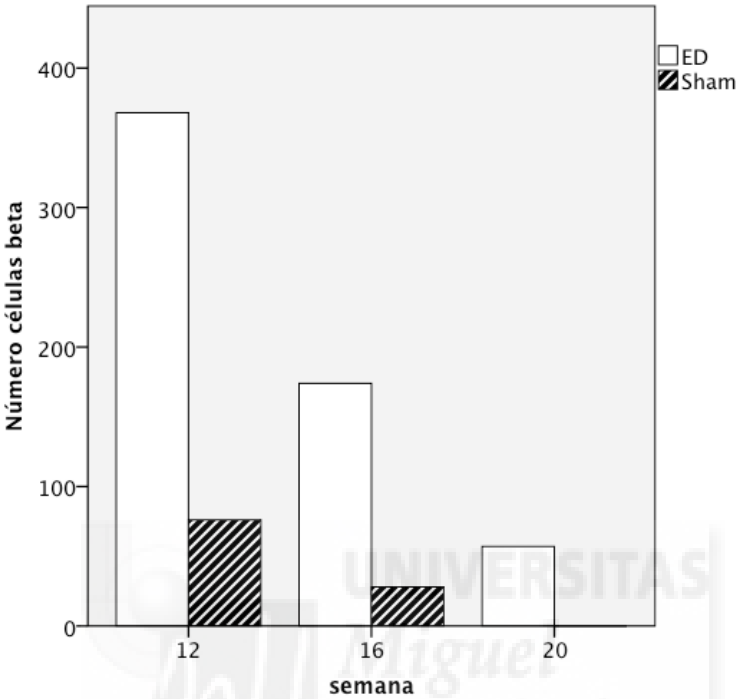
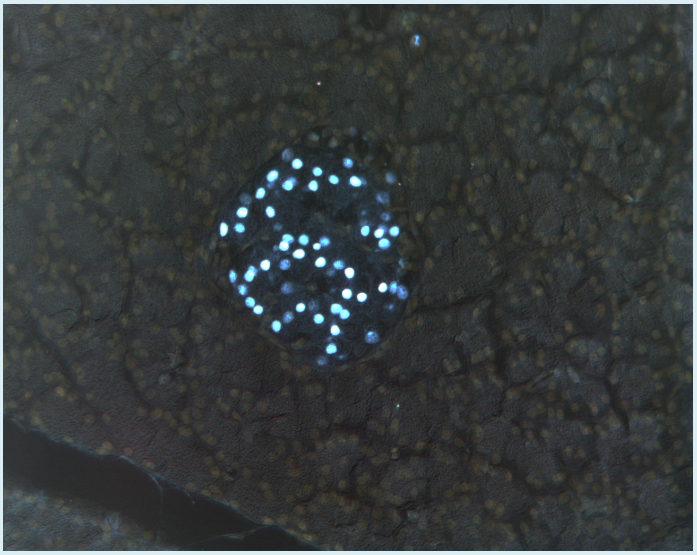
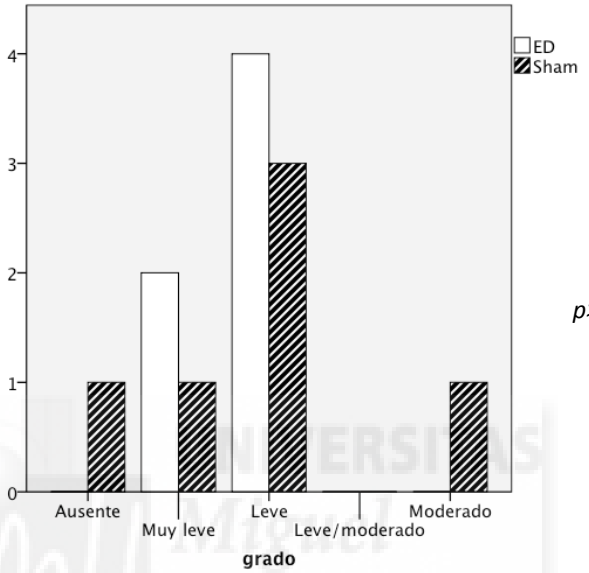


Imagen 14: ejemplo de foto de expresión de Nkx6.1 en negativo para cuantificación de células y grado de luminosidad.



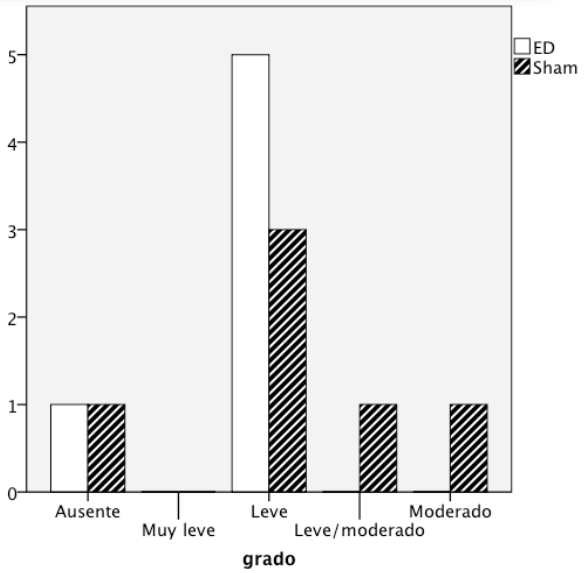
6.9.3 Tinción de Masson.

Fig. 62: grados de fibrosis en tejido pancreático a las 20 semanas de vida.



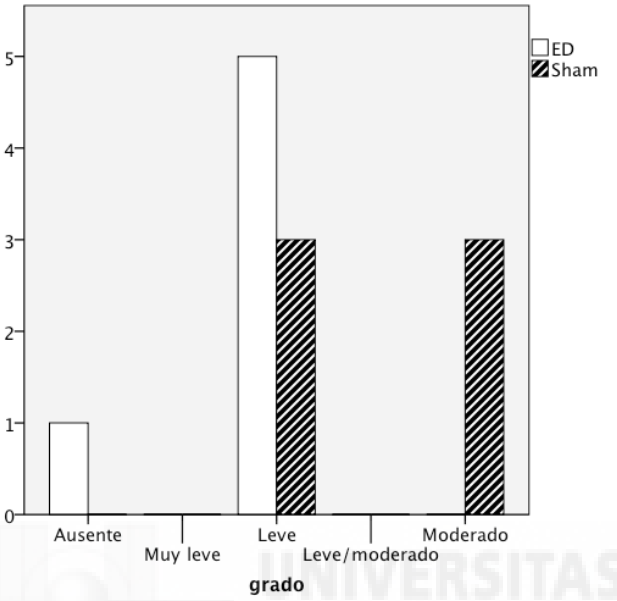
p>0,05

Fig. 63: grados de fibrosis en tejido pancreático a las 24 semanas de vida.



p>0,05

Fig. 64: grados de fibrosis en tejido pancreático a las 28 semanas de vida.



p>0,05

Las mayores diferencias se objetivan en una DMT2 más evolucionada, con ausencia de evolución en los animales con ED. En las etapas más tempranas las diferencias son menores entre las ratas control y con ED. En ningún caso se aprecia significación estadística.

Imágen 15: islote pancreático de rata con cirugía control a las 12 semanas. Se observan islotes de pequeño tamaño y sin fibrosis. Imagen a 40X.

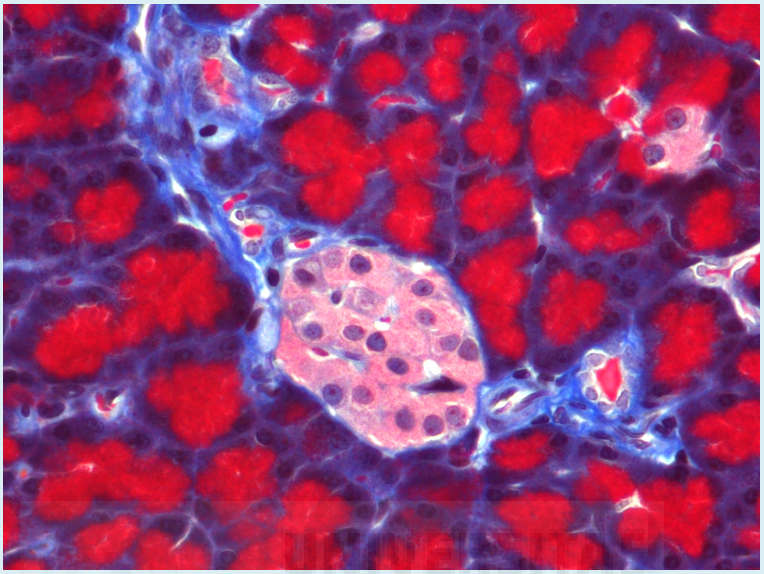
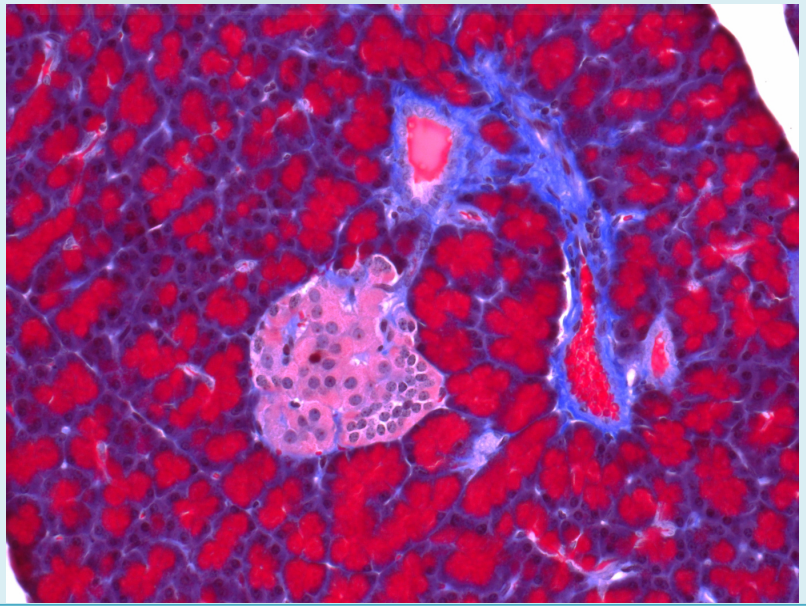
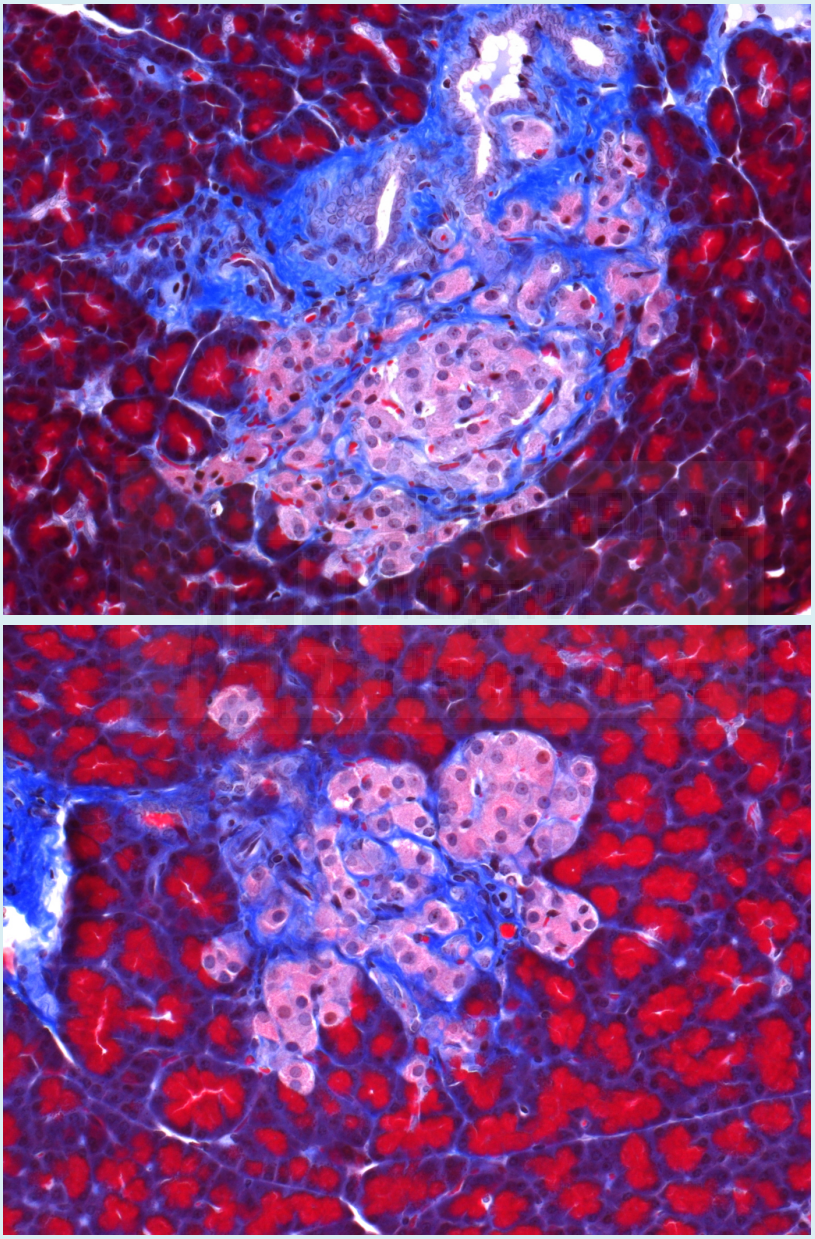


Imagen 16: islote pancreático de rata con cirugía control a las 16 semanas. Los islotes son de pequeño y mediano tamaño, y podemos observar algunos tabiques fibróticos. Imagen a 20X.



Imágenes 17: islote pancreático de rata con cirugía control a las 20 semanas. Los islotes poseen diferentes tamaños y el grado de fibrosis es moderado. Imagen a 20X.



6.9.4 Estimación del porcentaje de islotes.

Con los valores obtenidos de los porcentajes de islotes pancreáticos en cada serie, realizamos correlaciones con los valores analíticos obtenidos, y así darnos una estimación del volumen de reserva pancreática residual.

A continuación mostramos los valores con más significación:

Tabla 79: correlación entre el porcentaje de islotes y diferentes valores séricos:

		% islotes pancreáticos
Glucemia minuto 120 mg/dl	Correlación Pearson	-0,643
	Significación bilateral	0
Glucemia minuto 60 mg/dl	Correlación Pearson	-0,685
	Significación bilateral	0
Glucemia minuto 30 mg/dl	Correlación Pearson	-0,495
	Significación bilateral	0,003
FNTalfa pg/ml	Correlación Pearson	-0,443
	Significación bilateral	0,01

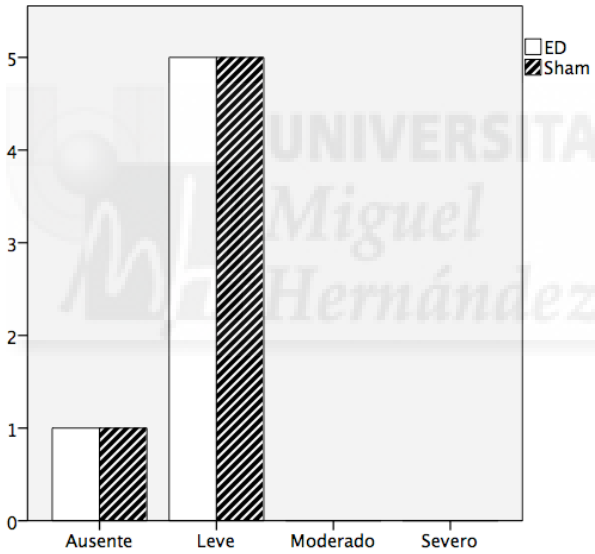
Si bien, de manera independiente ninguno de los valores nos da una estimación completa, el análisis del conjunto podría en un futuro, y con un mayor número de datos y variables, estimar el volumen residual de islotes pancreáticos, para así, poder indicar o no una cirugía de la DMT2.

6.10 Hígado.

Clasificamos los hallazgos según lo descrito por Kleiner y Brunt[243] para la esteatosis no alcohólica, propia de los diabéticos.

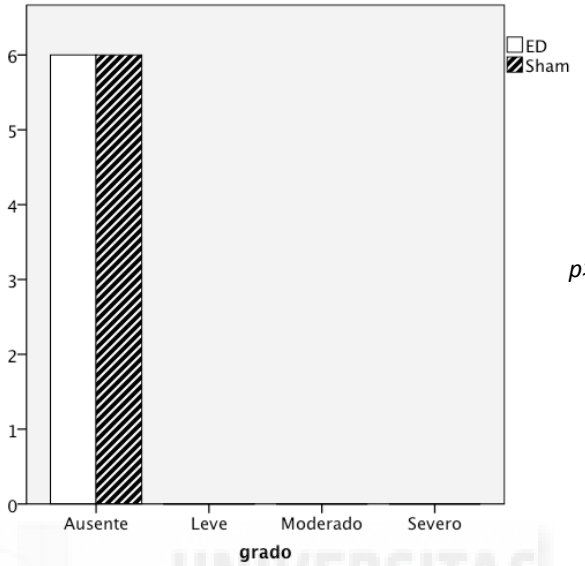
6.10.1 Animales intervenidos a las 12 semanas.

Fig. 65: grados de esteatosis en grupo de 12 semanas.



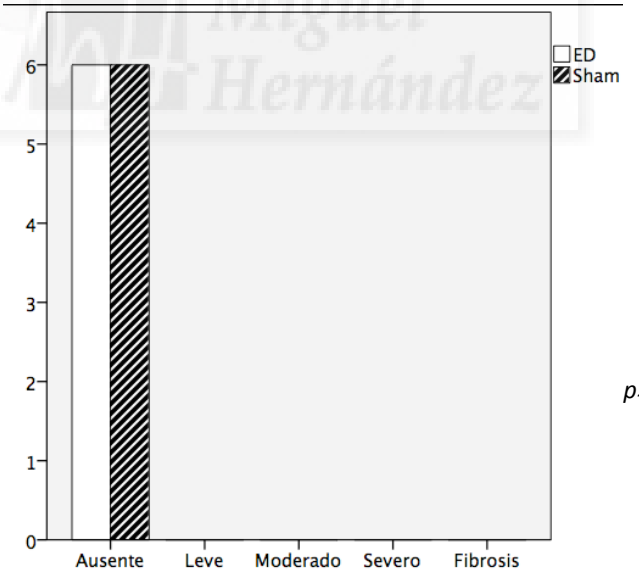
p>0,05

Fig. 66: grados de inflamación en grupo de 12 semanas.



p>0,05

Fig. 67: grados de fibrosis en grupo de 12 semanas.

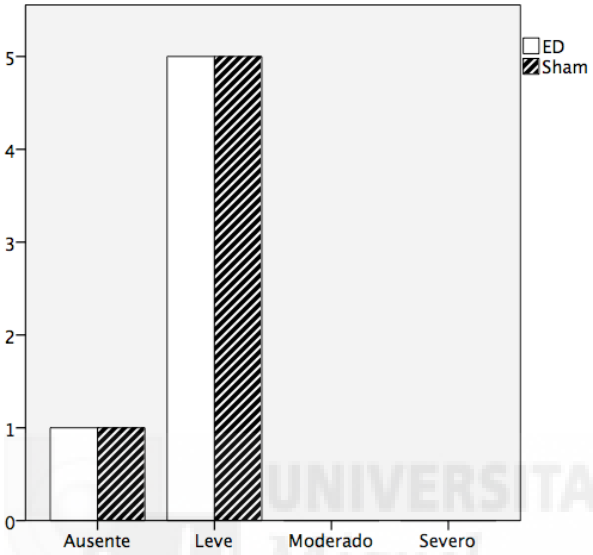


p>0,05

No se aprecian diferencias en las lesiones esteatósicas o inflamatorias entre el grupo con exclusión duodenal y el control.

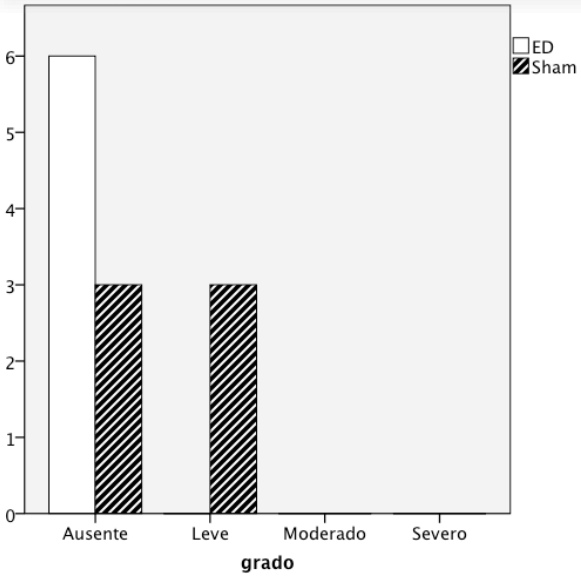
6.10.2 Animales intervenidos a las 16 semanas.

Fig. 68: grados de esteatosis en grupo de 16 semanas.



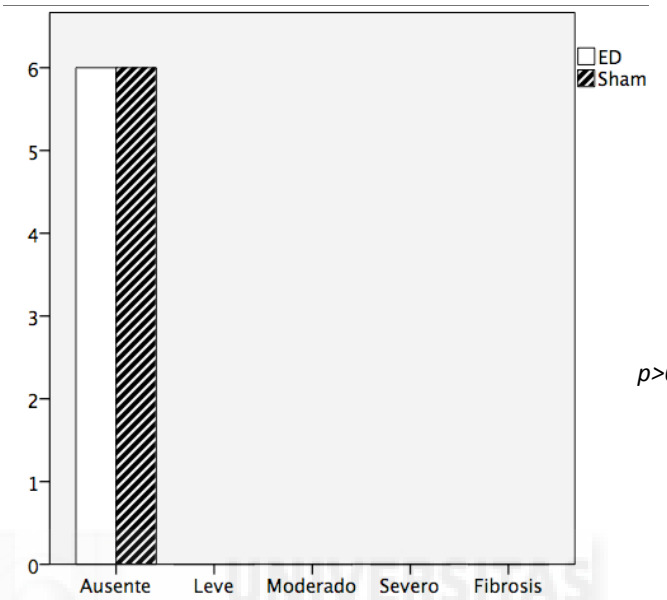
p>0,05

Fig. 69: grados de inflamación en grupo de 16 semanas.



P<0,05

Fig. 70: grados de fibrosis en grupo de 16 semanas.

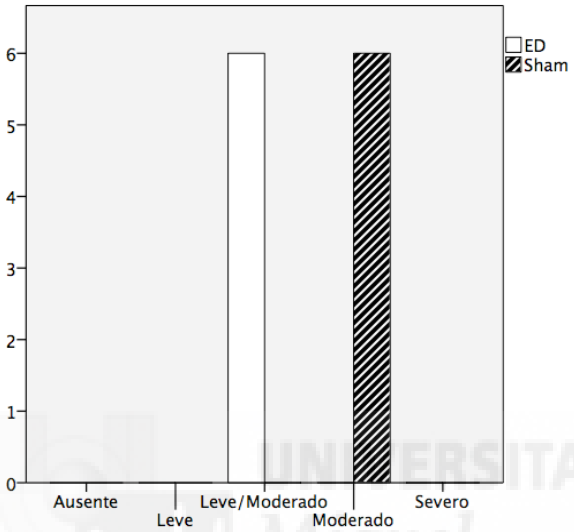


p>0,05

No se encuentran apenas diferencias en los valores medidos, salvo cierta tendencia a una menor inflamación tras la ED frente al grupo control, aunque esta inflamación encontrada no es típica de la DM.

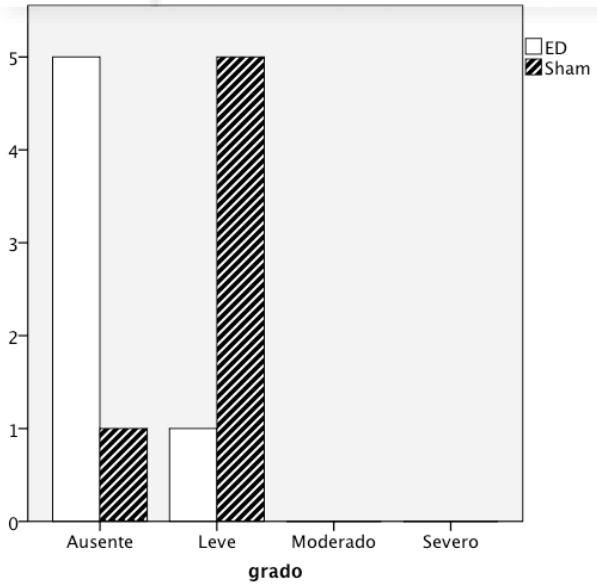
6.10.3 Animales intervenidos a las 20 semanas.

Fig. 71: grados de esteatosis en grupo de 20 semanas.



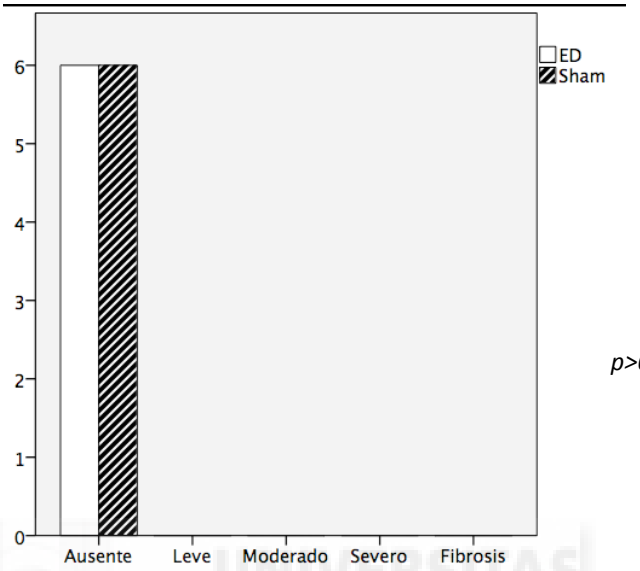
P<0,05

Fig. 72: grados de inflamación en grupo de 20 semanas.



P<0,05

Fig. 73: grados de fibrosis en grupo de 20 semanas.

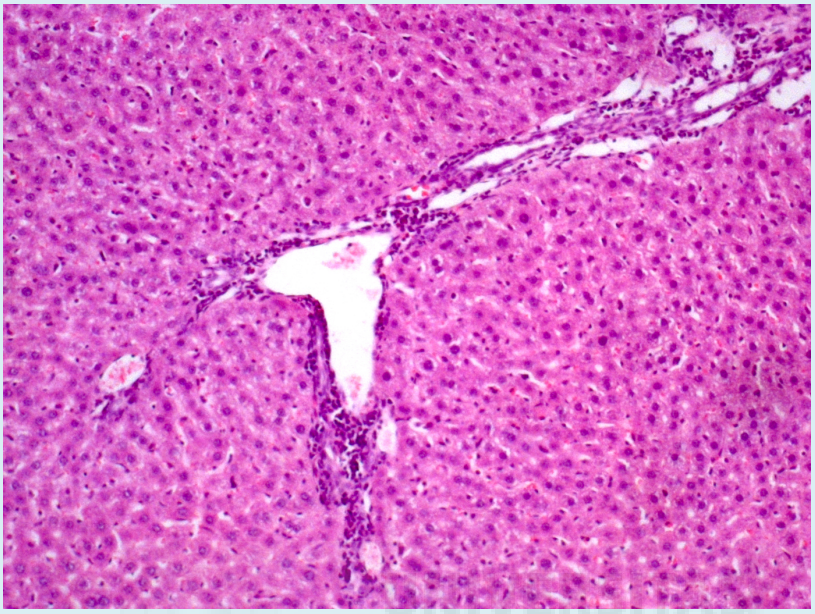


p>0,05

Las lesiones esteatósicas son algo más avanzadas en el grupo control, con menor tendencia a su evolución en el grupo tras ED.

Observamos como la evolución de las complicaciones a este nivel es aún temprana, por lo que la cirugía en momentos iniciales apenas aporta beneficios desde el punto de vista de la hepatopatía diabética. Se deduce que ha de pasar un mayor tiempo para poder presenciar complicaciones típicas.

Imagen 18: leve esteatosis hepática, a 10X.



6.11 Mucosa duodenal.

A continuación se muestran las medias y desviación estardar respectivas de las longitudes de todas las vellosidades medidas en cada animal con exclusión duodenal, así como el grado de inflamación medido en leve(+), moderada (++) y grave (+++).

Tabla 80: medias y desviación estárdar (SD) de cada caso de ED a las 12 semanas de vida.

Media (µm)	*SD*	*Inflamación*
480,802	79,767	+
423,888	125,749	+
330,287	98,592	+
526,762	129,42	+
482,989	80,889	++
508,046	73,093	+

Tabla 81: medias y desviación estárdar (SD) de cada caso de ED a las 16 semanas de vida.

Media (µm)	*SD*	*Inflamación*
574,273	77,361	+
549,678	143,931	+++
655,095	122,062	+
732,155	72,786	++
483,368	137,71	+
599,138	110,77	++

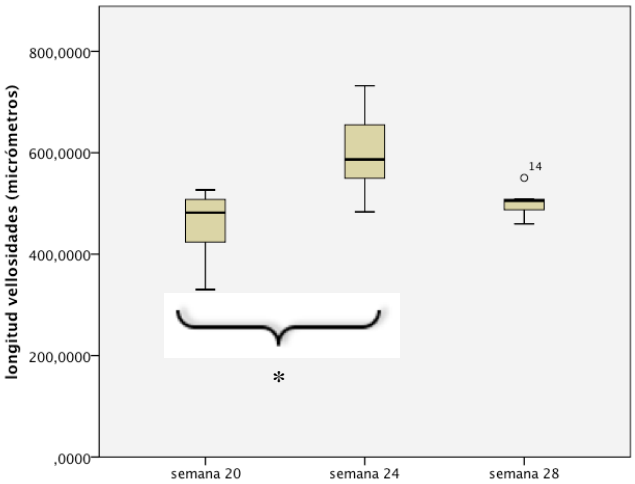
Tabla 82: medias y desviación estárdar (SD) de cada caso de ED a las 20 semanas de vida.

Media (µm)	*SD*	*Inflamación*
487,498	61,172	+++
550,51	100,974	+
508,273	89,463	+++
459,59	178,088	+
508,046	73,093	+++
502,835	101,566	++

Tabla 83: significación estadística entre las longitudes de las vellosidades.

	valor p
12 vs 16	<0,05
12 vs 20	ns
16 vs 20	ns

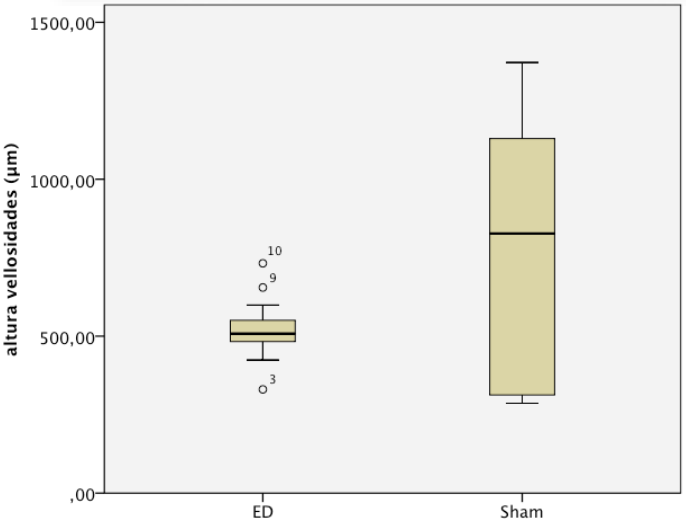
Fig. 74: diagrama de barras de las longitudes de las vellosidades duodenales tras ED.



* *P<0,05*

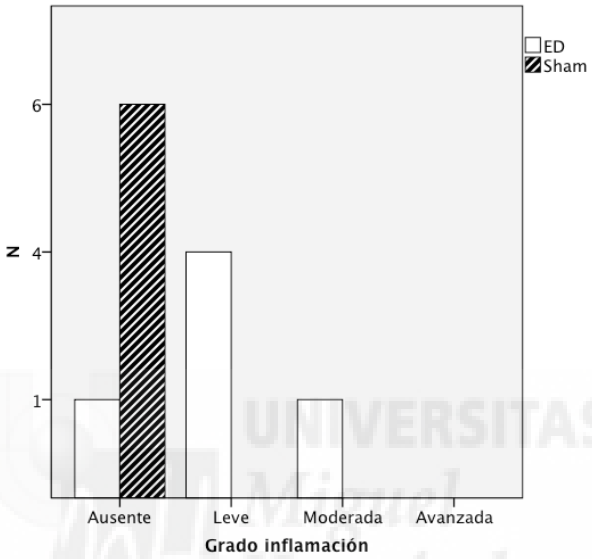
Existen diferencias estadísticas entre las longitudes de las vellosidades de ratas con ED a las 12 y 16 semanas de vida al momento del sacrificio con significación estadística (p<0,05).

Fig. 75: diagrama de barras mostrando las longitudes de las vellosidades de las ratas con ED y las control-sham.



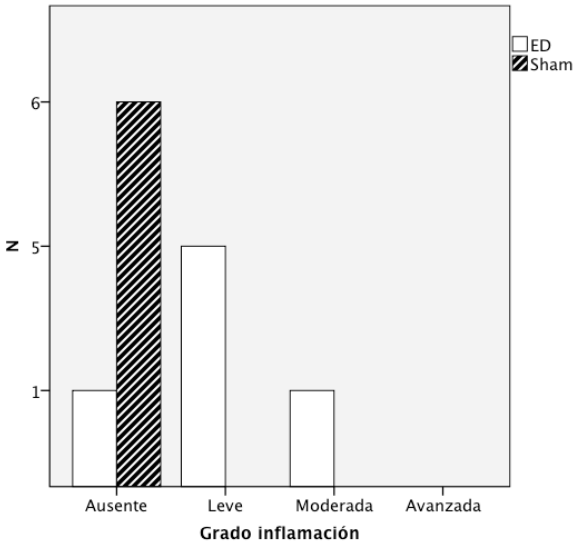
Aunque las longitudes de las vellosidades de las ratas con ED son menores respecto las sham, no hay significación estadística (p>0,05).

Fig. 76: grados de inflamación en ratas con ED a las 12 semanas de vida.



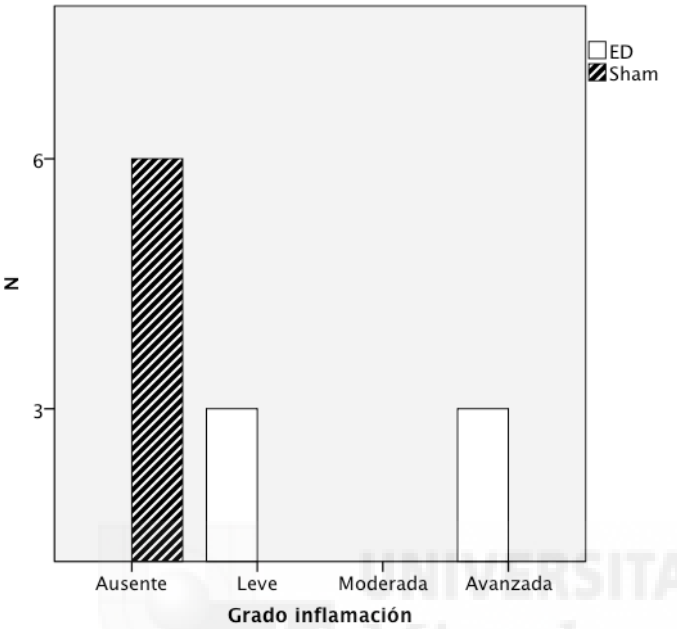
p>0,05

Fig. 77: grados de inflamación en ratas con ED a las 16 semanas de vida.



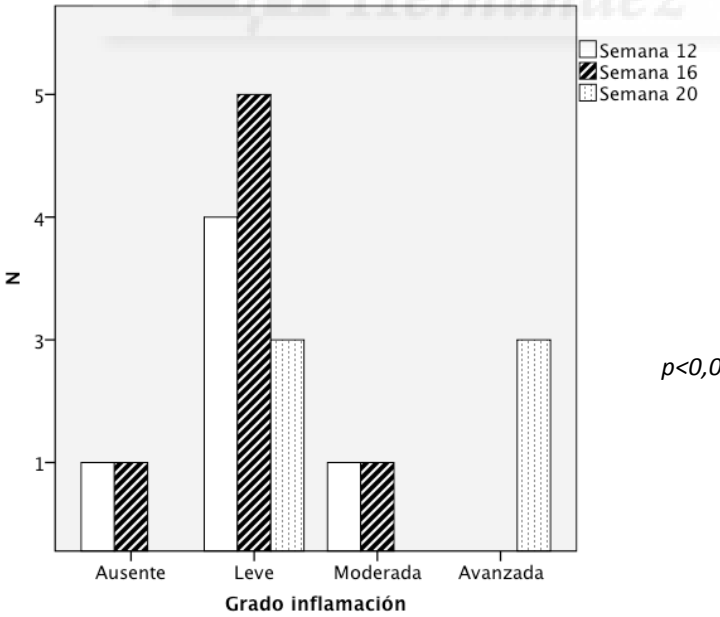
p>0,05

Fig. 78: grados de inflamación en ratas con ED a las 20 semanas de vida.



P<0,05

Fig. 79: grado de inflamación en las ratas con ED.



p<0,05

Se aprecia un infiltrado inflamatorio en la submucosa del duodeno tras la ED, que es mayor cuando más tardía es la intervención. Llama la atención que el infiltrado es inexistente en las ratas control.

Imagen 19: corte transversal de una vellosidad conservando todas las características normales. A 40X.

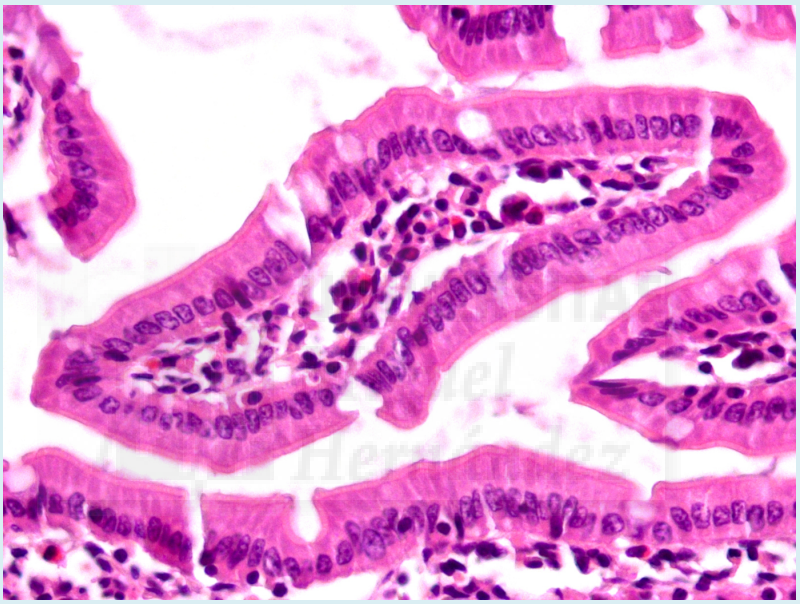
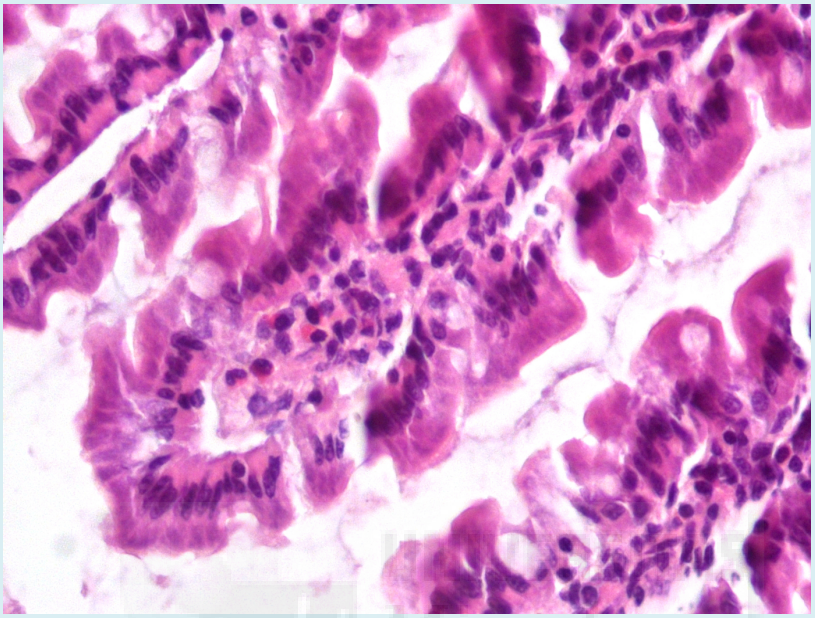


Imagen 20: corte longitudinal de una vellosidad erosionada y con enterocitos bajos, además se observa un infiltrado inflamatorio en el conjuntivo subepitelial. A 40X.



Miguel Hernández

6.12 Estómago.

Se muestran a continuación los hallazgos en cada animal con ED y la suma total. Se considera gastritis por refujo con cifras iguales o superiores a 11.

Tabla 84: hallazgos en el grupo con ED a las 12 semanas de vida.

Hiperplasia fóveas	*Edema lámina propia*	*Congestión vascular*	*Inflamación aguda*	*Inflamación crónica*	*Total*
0	2	0	2	0	4
0	2	0	2	1	5
0	2	2	2	1	5
0	1	0	2	1	4
0	1	0	1	0	2
0	1	0	1	1	2

Tabla 85: hallazgos en el grupo con ED a las 16 semanas de vida.

Hiperplasia fóveas	*Edema lámina propia*	*Congestión vascular*	*Inflamación aguda*	*Inflamación crónica*	*Total*
0	1	0	2	1	4
0	1	0	2	2	5
0	1	2	2	1	4
0	3	0	2	2	7
0	2	0	2	1	5
0	2	0	2	2	6

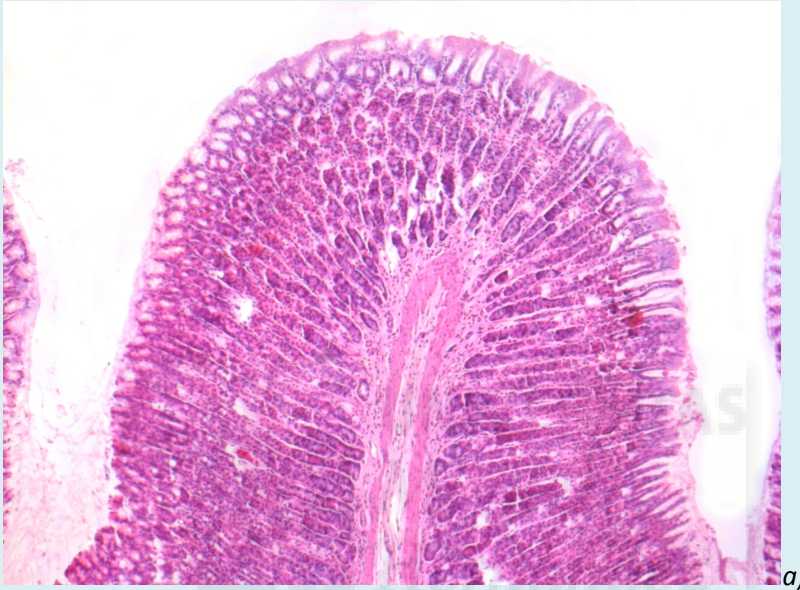
Tabla 86: hallazgos en el grupo con ED a las 20 semanas de vida.

Hiperplasia fóveas	*Edema lámina propia*	*Congestión vascular*	*Inflamación aguda*	*Inflamación crónica*	*Total*
2	3	0	3	1	9
0	2	0	2	1	5
0	2	0	2	1	5
0	1	0	2	1	4
0	2	0	3	1	6
0	2	0	2	2	6

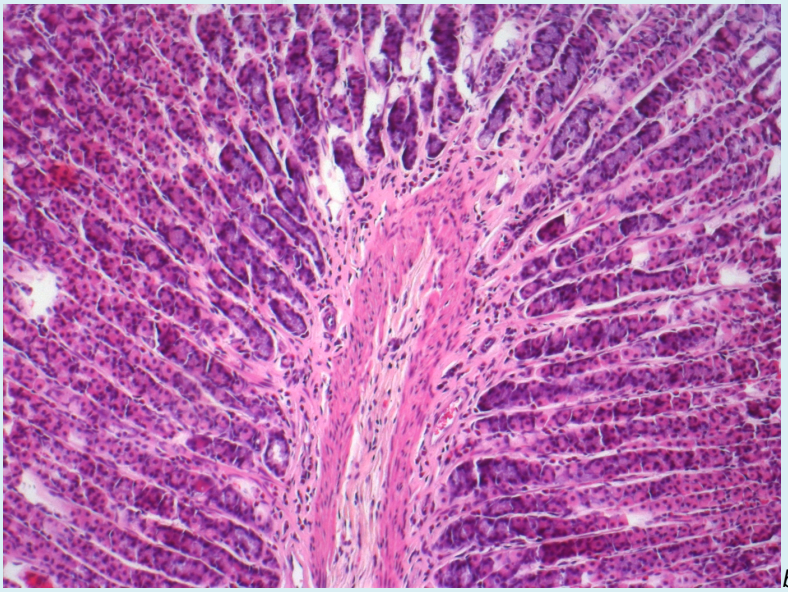
Se observa ausencia de gastritis por reflujo en todos los casos, por lo que podemos considerar a la técnica de ED segura desde este punto de vista. No se ha valorado en profundidad la presencia de metaplasia ni displasia debido al corto espacio de tiempo pasado entre

la cirugía y el sacrificio, aunque en la valoración de la gastritis no se han encontrado hallazgos sugestivos de tal alteración.

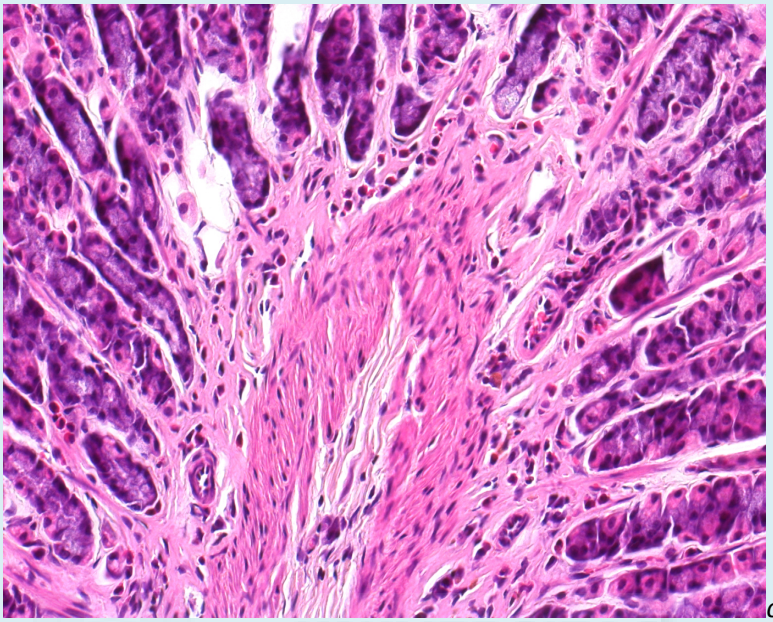
Imágenes 21: estómago donde sólo se observa leve edema en la lámina propia. a)10X; b)20X; c)40X



a)



b)

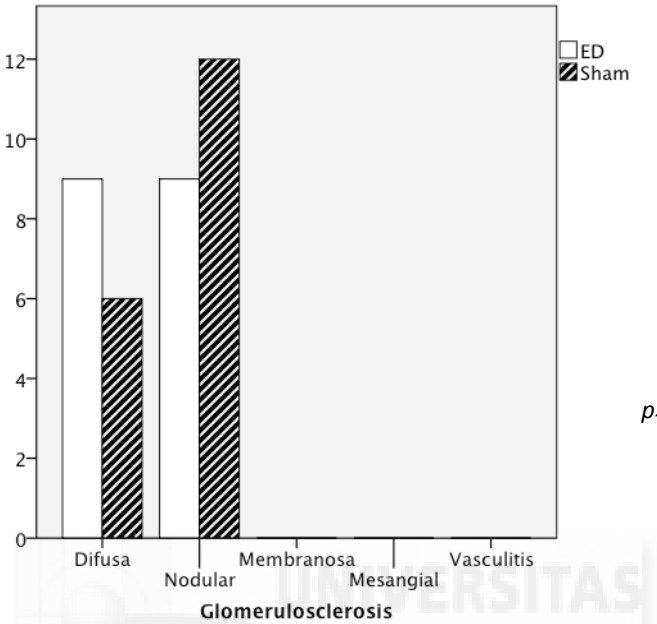


c)

6.13 Riñón.

A continuación se muestran los resultados obtenidos al analizar a nivel histológico los riñones.

Fig. 80: diagrama de barras mostrando la incidencia del tipo de lesión.



p>0,05

Tabla 87: tabla de contingencia mostrando los tipos de lesiones hallados.

	Glomerusclerosis					
	Difusa	Nodular	Membranosa	Mesangial	Vasculitis	Total
ED	9	9	0	0	0	18
Sham	6	12	0	0	0	18
Total	15	21	0	0	0	36

Si bien hay mayor número de lesiones propias de la nefropatía diabética más avanzada en el grupo control frente al grupo tras ED, no existe significación estadística.

Imagen 22: glomérulo con lesiones iniciales de la DM, como son glomerulopatía, dilatación de capilares y proliferación mesangial.

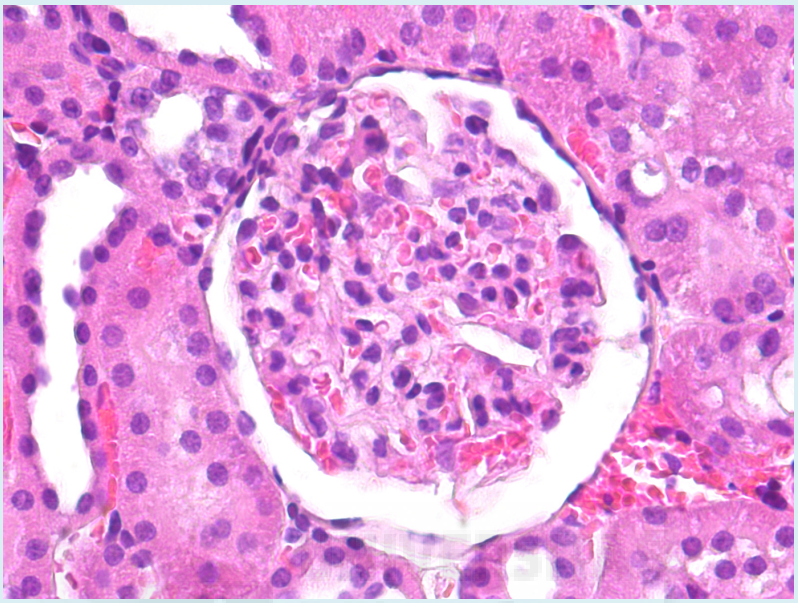


Imagen 23: imagen con lesiones más avanzadas; mayor proloferación mesangial y las sinequias a la cápsula de Bowman son visibles.

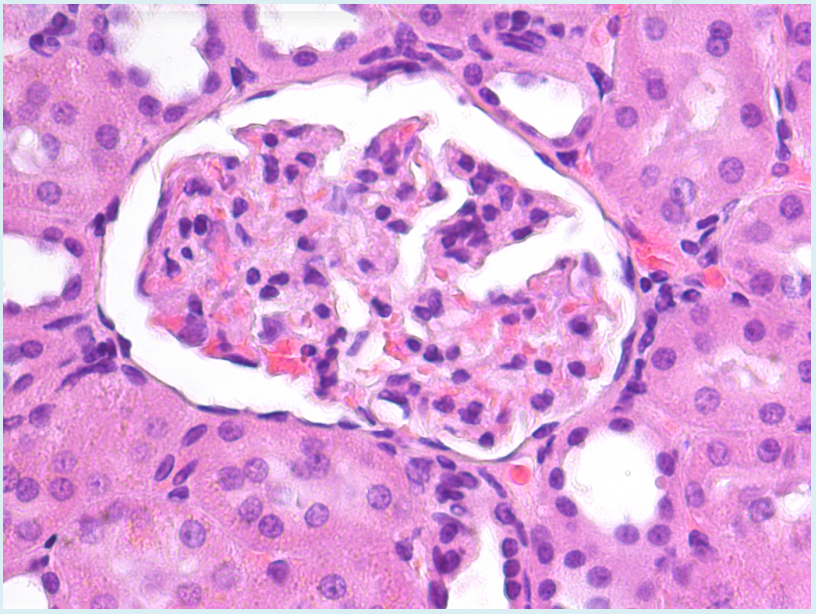
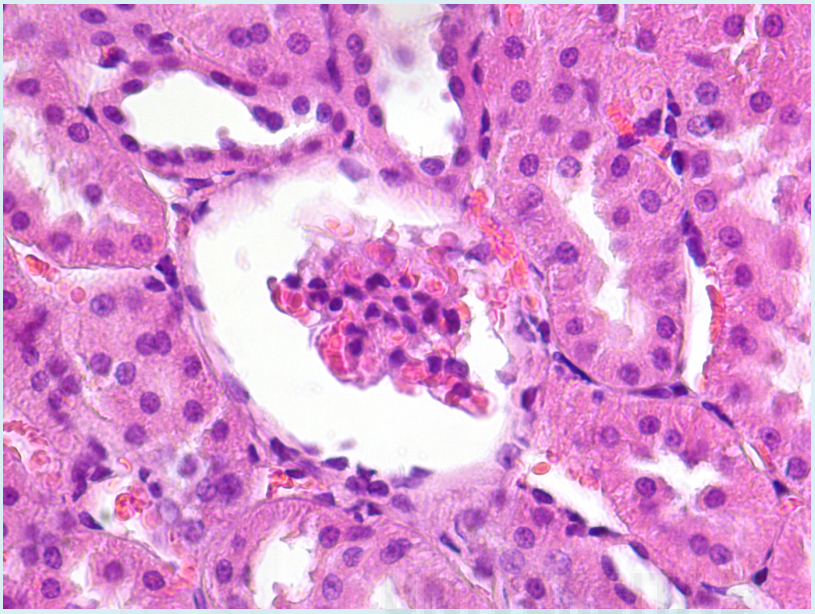


Imagen 24: esclerosis y mayor daño con atrofia.



6.14 Estimación del riesgo.

En relación a la presencia de ED se calculan los riesgos relativos de presentar los distintos factores estudiados.

6.14.1 Glucosuria.

Tabla 88: estimación del riesgo.

	Valor	Intervalo de confianza al 95%	
		Inferior	Superior
Razón de las ventajas para la presencia de ED (sham/ED)	0,047	0,005	0,434
Para la cohorte con ausencia de glucosuria	0,1	0,014	0,702
Para la cohorte sin ausencia de glucosuria	2,25	1,342	3,771
N de casos	36		

Las ratas control con cirugía simulada presentan 2 veces más riesgo de padecer glucosuria frente a las sometidas a ED. Al no incluirse la unidad dentro del intervalo de confianza se considera a la ED como factor protector.

UNIVERSITAS Miguel Hernández

6.13.2 Cuerpos cetónicos en orina.

Tabla 89: estimación del riesgo.

	Valor	Intervalo de confianza al 95%	
		Inferior	Superior
Razón de las ventajas para la presencia de ED (sham/ED)	0,077	0,015	0,386
Para la cohorte con ausencia de cuerpos cetónicos	0,231	0,079	0,674
Para la cohorte sin ausencia de cuerpos cetónicos	3	1,385	6,499
N de casos	36		

Las ratas control con cirugía simulada presentan 3 veces más riesgo de presentar cuerpos cetónicos frente a las sometidas a ED. Al no incluirse la unidad dentro del intervalo de confianza se considera a la ED como factor protector.

6.13.3 pH orina.

Tabla 90: estimación del riesgo.

	Valor	Intervalo de confianza al 95%	
		Inferior	Superior
Razón de las ventajas para la presencia de ED (sham/ED)	0,7	0,132	3,699
Para la cohorte con pH mayor a 5,5	0,933	0,676	1,288
Para la cohorte sin pH mayor a 5,5	1,333	0,347	5,127
N de casos	36		

Las ratas control con cirugía simulada no presentan más riesgo de experimentar un pH mayor a 5,5 frente a las sometidas a ED. Al incluirse la unidad dentro del intervalo de confianza no se considera a la ED como factor protector.

UNIVERSITAS Miguel Hernández

6.13.4 Densidad orina.

Tabla 91: estimación del riesgo.

	Valor	Intervalo de confianza al 95%	
		Inferior	Superior
Razón de las ventajas para la presencia de ED (sham/ED)	0,025	0,004	0,171
Para la cohorte con densidad inferior a 1025	0,188	0,066	0,534
Para la cohorte sin densidad inferior a 1025	7,5	1,998	28,156
N de casos	36		

Las ratas control con cirugía simulada presentan 7 veces más riesgo de mostrar densidades superiores a 1025 frente a las sometidas a ED. Al no incluirse la unidad dentro del intervalo de confianza se considera a la ED como factor protector.

6.13.5 Proteinuria.

Tabla 92: estimación del riesgo.

	Valor	Intervalo de confianza al 95%	
		Inferior	Superior
Razón de las ventajas para la presencia de ED (sham/ED)	0,012	0,001	0,126
Para la cohorte con ausencia de proteinuria	0,067	0,01	0,453
Para la cohorte sin ausencia de proteinuria	5,667	2,005	16,017
N de casos	36		

Las ratas control con cirugía simulada presentan 5 veces más riesgo de manifestar proteinuria frente a las sometidas a ED. Al no incluirse la unidad dentro del intervalo de confianza se considera a la ED como factor protector.

UNIVERSITAS Miguel Hernández

6.13.6 FNTα.

Tabla 93: estimación del riesgo.

	Valor	Intervalo de confianza al 95%	
		Inferior	Superior
Razón de las ventajas para la presencia de ED (sham/ED)	0,047	0,005	0,434
Para la cohorte con aumento del FNTα	0,471	0,277	0,798
Para la cohorte sin aumento del FNTα	10	1,424	70,22
N de casos	36		

Las ratas control con cirugía simulada presentan 10 veces más riesgo de presentar aumento del FNTα frente a las sometidas a ED. Al no incluirse la unidad dentro del intervalo de confianza se considera a la ED como factor protector.

6.13.7 Fibrosis hepática.

Tabla 94: estimación del riesgo.

	Valor	Intervalo de confianza al 95%	
		Inferior	Superior
Razón de las ventajas para la presencia de ED (sham/ED)	0,08	0,014	0,457
Para la cohorte con presencia de fibrosis hepática	0,438	0,24	0,799
Para la cohorte sin presencia de fibrosis hepática	5,5	1,415	21,378
N de casos	36		

Las ratas control con cirugía simulada presentan 5 veces más riesgo de revelar fibrosis hepática frente a las sometidas a ED. Al no incluirse la unidad dentro del intervalo de confianza se considera a la ED como factor protector.

UNIVERSITAS Miguel Hernández

UNIVERSITAS
Miguel
Hernández

UNIVERSITAS
Miguel
Hernández

UNIVERSITAS
Miguel
Hernández

VII. DISCUSIÓN.

7.1 Cambios en el perfil glucídico.

En los estudios donde se realiza en ratas Goto-Kakizaki una exclusión duodenal con paso inmediato de los alimentos a yeyuno proximal con un objetivo metabólico[178,189], se objetiva en fases tempranas de la enfermedad (10 a 14 semanas de vida) una mejoría de los perfiles glucídicos con significación estadística con respecto los controles, sin llegar a niveles normales de euglucemia.

Una cuestión importante es el concepto de remisión y curación. Debido al carácter crónico de la DMT2 y que su definición actual se basa en la hiperglucemia, resulta difícil hablar de curación ya que es un término que se emplea para referirse a la recuperación de un estado de salud tras una enfermedad. Al no ser la DMT2 una enfermedad aguda es arriesgado distinguir entre una situación de buen control con tratamiento y la verdadera curación. Es por ello, que se recomienda hablar de remisión, un término que implica la reducción o incluso la desaparición de los signos y síntomas de la enfermedad, tal y como señala Buse et al[272].

Nos encontramos, no obstante, frente a un modelo animal de diabetes por lo que es más difícil aún definir los conceptos de remisión o curación en base a signos o síntomas.

Tal como se ha comentado, el tratamiento de la DMT2 tiene una actuación escalonada en virtud del grado de afectación, glucemias basales y objetivos a lograr. Así, el primer escalón lo confieren tanto las medidas higiénico-dietéticas como la realización de ejercicio y control dietético, pudiéndose conseguir mejorías en los niveles de hemoglobina glicosidada de entre 0,12 y 0,47%[273]. Una vez superado este umbral de terapia, hemos de pasar a la terapia con ADOs. Y dado que la DMT2 es una enfermedad progresiva, con el tiempo será norma

la necesidad de ir adicionando medicamentos para controlar la glucemia.

Las biguanidas, donde la metformina es su exponente, consiguen una reducción en monoterapia de la HbAc1 de 1,5 puntos porcentuales y son generalmente bien toleradas. Aunque están contraindicadas en presencia de disfunción renal[274].

Las sulfonilureas mejoran los niveles de glucosa mediante la implementación de la secreción de insulina, con unos resultados sumilares a las biguanidas. Sin embargo, entre sus efectos adversos están: la presencia de hipoglucemias, aumento de peso, y su implicación como causa potencial de aumento de mortalidad por enfermedad cardiovascular[20,21,274].

Las glinidas estimulan la secreción de insulina por vías distintas de las sulfonilureas y tienen una vida media más corta lo que exige una administración más frecuente. Tienen una eficacia muy similar a los dos grupos previos en cuanto la reducción de porcetaje de hemoglobina glicosidada y las hipoglucemias son menos frecuentes[274].

Los inhibidores de la alfa glucosidasa, como la acarbosa, reducen la tasa de digestión de los polisacáridos, por lo que reducen las tasas de glucemias postpandriales sin provocar hipoglucemias, aunque su eficacia en la reducción de los porcentajes de HbAc1 son menores, entre 0,5 y 0,8%[274].

Las TZD (pioglitazona y rosiglitazona) aumentan la sensibilidad de los tejidos periféricos a la insulina. Debido a que se utilizan en terapia combinada, los datos sobre la tasa de reducción de porcetaje de la HbAc1 en monoterapia son limitados, oscilando en niveles de mejoría de entre 0,5 y 1,4%[267]. Son numerosos sus efectos secundarios, como por ejemplo, el aumento de peso, la retención hídrica, la posibilidad de producir insuficiencia cardiaca, el aumento de la adiposidad subcutánea, y el aumento del riesgo de presentar edema macular[275,276].

La insulina es la terapia más efectiva para el control glucémico consiguiendo en todos los casos reducir los niveles de HbAc1. Sin embargo, debido a la evolución natural de la DMT2, mientras que inicialmente se puede conseguir un buen control con una única dosis diaria, progresivamente será necesario adicionar terapia pandrial con insulinas de acción rápida. Entre sus efectos adversos se encuentran las crisis de hipoglucemia y el aumento de peso[273].

De entre los medicamentos con acción incretina, nos encotramos con la exenatida, un peptido similar al GLP-1, pero con una vida media más larga y de eliminación más lenta, que se suele utilizar en combinación con sulfonilureas, metformina o TZD, reduciendo los niveles de HbAc1 de entre 0,5 y 1% mediante la reducción de los niveles de glucosa postpandriales. De entre sus efectos adversos están las alteraciones gastrointestinales y, dado que suprime la secreción de glucagón y retrasa la motilidad gástrica, se asocia a pérdida de peso[273,276]. En 2007 la FDA hizo una advertencia tras informes de pancreatitis en algunos pacientes, desde entonces se han comunicado nuevos casos, siendo varios graves de tipo necrotizante y varias muertes asociadas a sus complicaciones. Por ello, se ha instado a una estrecha vigilancia de pacientes con esta medicación ante signos o síntomas de pancreatitis[277]. Además, se ha emitido una advertencia sobre la relación dosis dependiente entre el tratamiento y la aparición de tumores tiroideos, por lo que está contraindicado en pacientes con nódulos tiroideos o con antecedentes personales o familiares de carcinoma medular de tiroides o con neoplasia endocrina múltiple.

Los inhibidores de la DPP-4, o potenciadores de la incretina, prolongan la vida media del GLP-1 y del GIP por lo que aumentan la secreción de insulina mediada por glucosa y la supresión de secreción de glucagón, consiguiendo reducciones en el porcentaje de HbAc1 de entre 0,6 y 0,9% en monoterapia, ya que suelen combinarse con metformina. De entre sus efectos adversos se encuentra la reducción

de la respuesta inmune, aumentando la frecuencia de infecciones[274,277-279].

La amilina es una hormona neuroendocrina cosecretada con la insulina en respuesta a las comidas y entre sus funciones se encuentra la inhibición de secreción postpandrial de glucagón, retardo en el vaciado gástrico y aumento de la saciedad. Actualmente está aprobada en terapia coadyuvante con insulina, administrándose por vía subcutánea previo a las comidas y consiguiendo reducciones en el porcentaje de HbAc1 de entre 0,5 y 0,7%, aunque con una tasa elevada de efectos adversos gastrointestinales y un mayor riesgo de hipoglucemias[274].

Actualmente, se están aprobando agentes existentes como terapia potencial en el manejo de la DMT2, como es el caso del Colesevelam, un secuestrador de ácidos grasos biliares tradicionalmente usado en la terapia de la hiperlipidemia que además retrasa o altera la absorción de glucosa en el intestino. En un ensayo clínico se consiguieron reducciones de HbAc1 de un 0,41%[280]. La bromocriptina, agonista del receptor de dopamina, se usó en un estudio clínico reduciendo el porcentaje de HbAc1 un 0,6% en monoterapia y hasta 1,2 % en combinación con insulina o una sulfonilurea[281].

La dapagliflozina actúa sobre el transportador SGLT2 inhibiéndolo, por lo que conduce a una reducción de glucosa en plasma a expensas de un aumento de la glucosuria, pudiendo reducir la HbAc1 en 0,58 a 0,89% en dos proyectos en fase. Sin embargo, un comité asesor de la FDA votó en contra de su aprobación ante su posible asociación con hepatotoxicidad y cáncer de vejiga y mama[282-284].

Podemos observar una amplia disponibilidad de opciones terapéuticas para lograr una euglucemia, sin embargo, este arsenal farmacológico en rápida expansión también ha complicado la gestión de la enfermedad, por lo que es fundamental una educación continua

en las nuevas y emergentes terapias para la simplificación de los regímenes del tratamiento y la individualización del mismo[285].

Todos estos estudios se basan en los niveles de hemoglobina glicosidada debido a su utilidad clínica, sin embargo, en este estudio nos encontramos frente a glucemias basales y tras sobrecarga oral de glucosa, por lo que es necesaria una correlación entre ambos parámetros, siendo tal como se expresa en la siguiente tabla donde se relacionan el valor medio de la glucosa y los niveles de HbAc1:[286,287]

HbAc1 (%)	Glucemia media (mg/dl)
6	135
7	170
8	205
9	240
10	275
11	310
12	345

Todos los animales con exclusión duodenal presentaron mejoría en los niveles de glucemia con significación estadística. Si bien no se aprecia curación completa de la enfermedad según criterios ADA, sí hay una clara mejoría en todos los tiempos con una disminución en los picos glucemicos.

Esa mejoría es la que se evidencia en estudios donde se realizan otras técnicas bariátricas como el BPGYR, trasposición ileal o la gastrectomía vertical en animales de experimentación[175,176,185,288] o en humanos[231,232,289] con fines metabólicos. En estos estudios se observa una mejoría significativa en los niveles de glucosa postoperatorios sin llegar a una remisión completa.

Siguiendo las correlaciones anteriormente referidas entre niveles medios de glucemias y de HbAc1, realizamos una extrapolación para objetivar lo que sería la mejoría en cuanto

porcentaje de HbAc1 con la exclusión duodenal obteniendo los siguientes resultados:

	HbAc1 (%)	
	ED	Control/Sham
12 semanas	8,34	10,77
16 semanas	9,42	11,99
20 semanas	9,95	12,46

Podemos observar mejorías en los niveles de hemoglobina glicosidada de entre 2,43 y 2,51 puntos porcentuales, cifras que casi duplican los resultados obtenidos con los tratamiento descritos y según las referencias dadas.

La tendencia a niveles bajos de glucemias es mayor cuanto menor es el tiempo de evolución de la enfermedad, pudiendose observar diferencias significativamente estadísticas al comparar las curvas de glucemias de los animales con exclusión duodenal a las 12 y 20 semanas.

La mejoría en los niveles de glucemia sin llegar a la normalidad es un hecho y puede ser multifactorial, debido a la insuficiente estimulación incretínica, progresión excesiva de la enfermedad o imposibilidad por parte del páncreas para su completa restitución funcional.

7.2 Orina.

7.2.1 Glucosuria.

La carga de glucosa filtrada es el producto de la concentración de glucosa en plasma y la tasa de filtración glomerular, por lo que si la concentración de glucosa en plasma aumenta también aumenta de manera lineal la carga de glucosa filtrada. Ésta es así hasta que se supera la tasa de reabsorción del túbulo proximal, momento en el que empieza a aparecer gucosuria. Esta capacidad máxima de reabsorción se denomina como la tasa máxima de transporte, siendo en individuos sanos no diabéticos cuando los niveles de glucosa en sangre supera los 200md/dl. Mientras, en diabéticos y modelos experimentales se ha observado un aumento en la tasa de reabsorción, pudiendo ser un 20% superior en comparación con individuos sanos[290-294].

La presencia de glucosuria indica, por tanto, altos niveles de glucemias, siendo directamente proporcionales en fases iniciales e intermedias de la enfermedad, ya que en fases avanzadas existen alteraciones morfológicas y funcionales en el glomérulo que facilitan la presencia de glucosa en orina.

La mejoría de los niveles de glucosuria no es sólo indicativo de la tendencia a la normalización de las glucemias, también supone la reducción del riesgo de sufrir infecciones del tracto urinario.

7.2.2 Cuerpos cetónicos.

La cetonuria no es sólo un indicativo de un proceso catabólico intenso, es también una patología en donde se pierden por ósmosis

varios electrolitos y agua en orina, agravando así el cuadro metabólico.

Durante un cuadro de cetoacidosis diabética la presencia o no de cuerpos cetónicos en orina nos indica la necesidad de insulina intravenosa, por lo que su ausencia nos informa de un mejor pronóstico del mismo. La mejoría de este parámetro presente en todos los grupos tratados con exclusión duodenal es, por tanto, un factor de buen pronóstico.

7.2.3 pH.

Es patente en varios estudios[77-81] la relación directa entre la resistencia periférica a la insulina, el síndrome metabólico y la presencia de pH acidótico en la orina. Es por ello que la normalización de este parámetro indica una disminución del riesgo de presentar todas estas patologías y por ende sus complicaciones a largo plazo.

La tendencia a un pH más neutro tras exclusión duodenal supone una reducción en el riesgo relativo de presentar síndrome metabólico así como las complicaciones asociadas al mismo.

7.2.4 Densidad.

La densidad elevada en la orina es una manifestación secundaria a la presencia de cuerpos cetónicos en orina y de electrolitos en el contexto de una cetoacidosis. Una disminución de sus niveles indican, por tanto, una recuperación del estado de cetosis diabética.

La tendencia a presentar una densidad menor tras la exclusión duodenal supone una reducción del riesgo de deshidratación en casos de picos hiperglucemicos o cetoacidosis metabólica, lo que se traduce en un mejor pronóstico en caso de complicaciones metabólicas agudas.

7.2.5 Proteinuria.

La proteinuria suele instaurarse en fases avanzadas de la diabetes como consecuencia de una lesión renal avanzada, y que a su vez acelera la insuficiencia renal.

El estado inicial es la microalbuminuria, que se define como una excreción de albumina de 20-200mg/min y es predicitivo del desarrollo de lesión renal diabética. Estas alteraciones se explican por disfunción endotelial, hipertensión, anormalidades del metabolismo de lípidos y fundamentalmente por resistencia a la insulina y glicosilación de proteinas. La proteinuria ayuda más a predecir el desarrollo de nefropatía diabética. Además, se ha correlacionado la microalbuminuria con la disfunción endotelial, la retinopatía, la enfermedad cardiovascular, además de la lesión renal[293,294]. Se ha demostrado que la presencia de euglucemia retarda la tasa de microalbuminuria y proteinuria[295-297].

Los antidiabéticos orales más comunes, como son las biguanidas y las sulfoniureas, muy utilizadas por su seguridad y su conocimiento sobre su mecanismo de acción, están contraindicadas o son de uso restringido, con necesidad de ajustes de dosis en caso de disfunción renal. Únicamente están indicadas en casos avanzados las metiglitinidas y los basados en el efecto incretinas.

En el estudio UKPDS[20] más de un cuarto de los pacientes tratados de forma intensiva con ADOs van a sufrir tras nueve años de

seguimiento microalbuminuria, por lo que, a pesar de un seguimiento estrecho y un tratamiento precoz, la evolución de la nefropatía caracterizada por proteinuria va a ser un hecho irremediable.

En todos lo grupos tratados con exclusión duodenal se aprecia una clara mejoría en cuanto los niveles de proteinuria, con desaparición completa si la intervención es precoz, y con mejoría, aunque persistiendo la presencia de proteínas en orina, si la intervención es intermedia y tardía. Todos los grupos presentan una diferencia con significación estadística.

La mejoría cuantitativa es mayor en el grupo intervenido a las 20 semanas.

Por lo tanto, los resultados finales son satisfactorios en general y especialmente si se realiza la exclusión duodenal en momentos iniciales.

UNIVERSITAS Miguel Hernández

7.3 Pesos.

Al tratarse de una técnica nueva propuesta, no existen antecedentes estrictos en la literatura, si bien en la publicación de Rubino et al. con exclusión duodenal estricta[181] no se describe pérdida de peso final.

La exclusión duodenal induce una pérdida de peso inicial que posteriormente se recupera hasta unos niveles normales que por edad y peso inicial les corresponde. Esto puede ser debido al malestar que la propia intervención provoca en los animales ya que se observa en ambos grupos (ED y control), aunque no se acompaña en ningún momento de signo de estrés o mal nutrición como son las porfirinas, caída de pelo o posición antiálgica. Al final del experimento, todos los animales presentan unos niveles ponderales iguales, sin diferencias

con los controles, tal como relata Rubino et al[181], por lo que la exclusión duodenal no interfiere en el crecimiento ponderal ni sobre el desarrollo del animal.

7.4 FNTα.

El papel clave que representa el FNTα en la génesis de la resistencia periférica a la insulina ha sido comunicado en estudios en humanos y modelos animales, especialmente en relación con la obesidad; así en el tejido adiposo de animales obesos con resistencia a la insulina y DMT2 se encuentran niveles elevados de FNTα[298]. Mishima et al[299] publica que los niveles séricos de FNTα en pacientes con DMT2 y obesidad están directamente relacionados con el grado de insulinoresistencia, independientemente del IMC.

Es conocido que el FNTα es un modulador de la acción de la insulina y que, por tanto, podría jugar un papel clave en los sujetos con alto riesgo de desarrollar DMT2. Algunos estudios realizados a familiares de pacientes con DMT2 muestran que presentan concentraciones elevadas de sTNFR2 (factor soluble del receptor de FNTα) lo que sugiere anomalias en las vías metabólicas del FNTα que podrían predisponer al desarrollo de la enfermedad[300]. Sin embargo, otros estudios no encuentran anomalías en los niveles de FNTα en fases de GBA y sí en fase de diabetes establecida[301].

La resistencia a la insulina y la alteración de la tolerancia oral a la glucosa conllevan una respuesta continua de fase aguda a través de la liberación de citoquinas procedentes del tejido adiposo[302]. Si este estado de inflamación mantenida se sostiene es probable que la mejoría de la resistencia a la insulina por otras vías metabólicas mediante fármacos sea insuficiente para revertir totalmente el fenotipo

proinflamatorio. Es por ello que existe la necesidad creciente de fármacos en la evolución natural de la DMT2[303].

La mejoría generalizada de los niveles de FNTα en nuestra serie va en relación con una disminución de los niveles de glucosa en plasma, así como la ausencia de fenomenos inflamatorios en tejidos periféricos, tal como veremos más adelante. A causa de esto podemos establecer una relación directa entre la DMT2 y un estado crónico de inflamación.

Sólo en un caso de ratas con exclusión duodenal se observa empeoramiento en los niveles de FNTα, presentándose en el grupo con la cirugía de la DMT2 avanzada, por lo que ésta puede ser la causa de la no mejoría. En el resto de los grupos se observa una mejoría generalizada en los niveles plasmáticos con presencia de diferencias estadísticamente significativas con respecto el control.

En la serie de ratas control se objetiva un empeoramiento en los niveles con respecto los preoperatorios, aunque no hay diferencias entre los niveles a las 24 y 28 semanas de vida por lo que la inflamación crónica debe alcanzar su techo entre las 20 y 24 semanas.

Parece ser que una intervención precoz en este caso impide una prolongación y empeoramiento del estado de inflamación crónica, que si bien en todos los casos se observa mejoría, en la exclusión duodenal precoz los niveles se mantienen muy bajos.

7.5 Páncreas.

La preservación de masa y función de células beta pancreáticas es fundamental para un correcto perfil glucídico. En los adultos sanos el peso de las células beta corresponde a aproximadamente el 2% del peso total del páncreas; en el estudio de Butler[304] se mostró que la

masa de células beta en personas diabéticas estaba disminuida un 50% respecto a personas no diabéticas.

Tanto en la DMT1 como en la DMT2 la masa de células beta está marcadamente reducida, permitiendo que los altos niveles de glucosa que bañan los islotes pancreáticos provoquen cambios fenotípicos en las células con una consecuente disfunción que puede ser revertida, en parte, normalizando los niveles de glucosa en plasma.

La complejidad para entender la pérdida de células beta en la DMT2 reside en la gran variedad de factores que convergen en su desarrollo, lo que hace extremadamente difícil el diseño para prevenir, retrasar o tratar esta enfermedad. Por ello actualmente no disponemos de marcadores específicos de la progresión de la enfermedad ni de tratamientos eficientes al cien por cien que eviten la pérdida progresiva de la masa de células beta.

En el trabajo de Speck at al[268] se estudia la morfología y volumen de islotes beta pancreáticos en ratas GK, concluyendo que tras un BDY la presencia de células beta es mayor y que la presencia de infiltrado fibroso es menor. Este aumento de células beta está en consonancia con el hecho de que los conductos pancreáticos de animales adultos conservan células pluripotenciales con capacidad de diferenciarse en células endocrinas del páncreas y generar así nuevos islotes[305]. Estos estudios apoyan nuestros resultados favorables en cuanto masa final tanto de islotes pancreáticos como de células beta tras la exclusión duodenal.

Los resultados que obtenemos en nuestro experimento, en donde a más temprana la intervención mayor es la recuperación de islotes beta pancreáticos, van en consonancia a lo observado en seres humanos diabéticos intervenidos de cirugía bariátrica, donde la probabilidad de remisión de la DMT2 se reduce si hay una diabetes de larga evolución, mal control glucémico preoperatorio o necesidad de plurimedicación o insulina a altas dosis. Todo ello es indicativo de un mayor deterioro de células beta o de su función en el momento de la

cirugía, lo que permite una menor respuesta de las incretinas que estimulan las células beta[306-308].

En todos los grupos con la exclusión duodenal hubo un gran aumento en la presencia de islotes beta pancreáticos siendo en todos los grupos con significación estadística.

En los grupos con exclusión duodenal a las 12 y 16 semanas se observa un porcentaje final de islotes muy similar entre ambos grupos, no obstante sí puede apreciarse que conforme más evoluciona la DMT2, los islotes pierden parte de su morfología, con bordes espiculados e irregulares y un mayor infiltrado inflamatorio y fibrosis intesticial. Este hallazgo es mayor cuanto más evolución se presenta en la DMT2. El mantenimiento de la arquitectura de los islotes con la preservación de una correcta interacción de célula a célula podría representar la base morfológica y fisiológica para comprender la restauración y preservación de la función de las células beta.

La disfunción de las células beta para la correcta secreción de insulina en respuesta a los niveles de glucosa en sangre es uno de los rasgos clínicos más tempranos durante la progresión a DMT2. Esta capacidad para la detección de glucosa y el acoplamiento de esta información para dar una correcta respuesta secretora de insulina se debe a proteínas transportadoras y enzimas propios de las células beta. Se conoce bien el papel que ejerce en esta cadena el factor Nkx6.1, que es un factor regulador maestro de la transcripción que define el estado funcional de las células beta.

Se ha demostrado por varios estudios que la inactivación del Nkx6.1 de las células beta de ratones adultos provoca una diabetes manifiesta a los pocos días de su ablación[160,309], también visible en modelos de DMT2 de estrés metabólico donde sus niveles están reducidos[156]. De forma que Nkx6.1 actúa como un sensor metabólico que modula tanto la secreción de insulina como la capacidad proliferativa de la célula beta ante un estrés metabólico[160].

La pérdida de actividad de Nkx6.1 tiene un impacto inmediato y dramático sobre la expresión de genes que imparten sobre las células beta su capacidad única para sintetizar y liberar la insulina de manera regulada, además actúa de manera indirecta sobre la expresión de numerosos genes importantes para la proliferación de células beta. Ambos hallazgos demuestran un complejo vínculo entre la capacidad de la célula beta para importar glucosa y su capacidad proliferativa que apoya aún más el concepto emergente de que el metabolismo de la glucosa y, sobre todo, el mantenimiento de una euglucemia juegan un papel fundamental en la regulación de la células beta[310-312].

Además, se ha encontrado que la expresión reducida de Nkx6,1 está acompañada de la inhibición de marcadores celulares que provocan la conversión de células beta en no beta[156]. En consonancia con esto, otro estudio[159] observó como un subconjunto de células beta expresó somatostatina ocho semanas después de serles inhibidas el Nkx6.1, demostrando como la supresión del Nkx6.1 en precursores de células beta conduce a un rápido destino de la célula beta a delta. En células adultas la inactivación del Nkx6.1 refleja fielmente la pérdida gradual tanto en número como en función de células beta en modelos DMT2.

La observación de que la expresión de Nkx6.1 está disminuída en las células beta de los humanos con DMT2 sugiere que los hallazgos en modelos de roedores pueden ser relevantes para el estudio de la DMT2[155].

En consonancia con toda la bibliografía constatamos un incremento de expresión de Nkx6.1 tras la exclusión duodenal, siendo mayor cuando menor es la progresión de la enfermedad antes de la intervención quirúrgica. Además, observamos la conservación, aunque en menor tamaño que los animales con exclusión duodenal, de los islotes pancreáticos en animales control pero sin expresión del factor Nkx6.1, por lo que, además de ser menores en masa, poseen menor número de células beta. Aunque puede ser atribuible a un estado más

cercano a la euglucemia, con estos resultados podemos abrir un campo de investigación para buscar un nexo entre las alteraciones hormonales que se producen tras la exclusión duodenal y el incremento en la expresión del factor Nkx6.1.

Jorgensen et al[313] observaron que la reacción inflamatoria que se aprecia en los islotes pancreáticos de las GK, se considera un mecanismo fisiopatológico importante en la DMT2. La presencia de macrófagos y granulocitos alrededor de los islotes es muy similar a la reacción inflamatoria perivascular que ocurre en la microangiopatía diabética. Estas características histológicas se ven reducidas en los casos en los que los animales han sido sometidos a algún tipo de tratamiento para la DMT2, tal y como se observa en nuestro estudio, en donde esta reacción está disminuida en las rata con ED. Este hallazgo puede además estar en relación con el descenso en los niveles de FNTα, indicativo de una restricción del estado crónico de inflamación. La presencia de fibrosis intersticial y de infiltrado inflamatorio en el tejido pacreático en fases más avanzadas de la DMT2 podrían explicar la imposibilidad de la célula beta para su regeneración tras la ED.

Por ello podría decirse que el mayor beneficio se obtiene con la exclusión duodenal en un momento precoz de la DMT2.

7.6 Esteatosis hepática no alcohólica.

Es conocido el vínculo entre la DMT2 y la EHGNA, que engloba a la EHNA, la esteatohepatitis y a los esatadíos finales de fibrosis y cirrosis. La EHNA se caracteriza por el aumento de la acumulación de lípidos en el hígado. Estudios longitudinales sugieren que la EHNA precede y aumenta el riesgo de DMT2 en personas con predisposición, es decir, con GBA o TGB[314,315]. Los pacientes DMT2

tienen un 80% más de grasa en el hígado que los no diabéticos de misma edad y peso[316]. Esto se debe a la relación conocida entre la resistencia a la insulina y la esteatosis hepática[316-318]. Este vínculo entre la homeostasis de la glucosa y la esteatosis hepática ha sido demostrado por varios enfoques. El primero, la esteatosis, aparece en fases muy iniciales de la DMT2, incluso en fase preclínica, y puede sufrir una regresión paralela a la mejoría de la DMT2 como sucede tras una cirugía bariátrica[319] y donde la resistencia a la insulina juega un importante papel. El segundo es que el aumento de grasa en el hígado guarda una relación con la resistencia periférica en el adipocito en pacientes con DMT2[318]. Hay estudios al respecto que vinculan directamente la esteatosis hepática y la resistencia periférica a la insulina, siendo independientes del grado de obesidad intraabdominal y del índice de masa corporal[320-322]. En tercer y último lugar, como la optimización en la resistencia periférica a la insulina ha mejorado la EHNA en estudios experimentales de índole terapéutico[323-325].

Teorías más recientes argumentan a favor de un mecanismo pluripatológico que desde el tejido adiposo e intestinal promueven la inflamación del hígado. De esta manera, la disfunción celular y la resistencia a la insulina actúan de manera simultánea.[326]

A la hora de medir la evolución de la esteatosis hepática nos encontramos con la dificultad de que las ratas GK son hipoinsulinémicas[257,327-330] a partir de la semana 12 de vida, por lo que no tienden a un hígado graso, aunque hasta esa edad sí presentan hiperinsulinismo que va en declive progresivo. Se ha demostrado en modelos animales que la hiperinsulinemia crónica predispone al hepatocito a presentar una resistencia relativa a la insulina, y con ello a un aumento de la lipogénesis y la promoción del hígado graso[331-333]. Esta puede ser una razón por la que este modelo de ratas no presenta una esteatosis evidente y por tanto su nivel de mejoría está muy limitado, aunque sí que se aprecia leve disminución de la esteatosis que podría estar en relación con la mejoría periférica a la insulina.

La presencia de infiltrados inflamatorios, aunque leves y en fases avanzadas de la DMT2, va acorde con el estado inflamatorio crónico ya demostrado por las cifras elevadas de FNTα de nuestro estudio; además está demostrada la mayor expresión de genes relacionados con la inflamación en tejidos periféricos como es el hígado[330,333-335]. La mejoría de los infiltrados inflamatorios tras la exclusión duodenal en tejido hepático es una expresión local de la mejoría generalizada de la inflamación crónica.

7.7 Estómago.

La base para la técnica propuesta de exclusión duodenal de una anastomosis sobre el MBG se asienta sobre los resultados atractivos que adquiere esta técnica; así posee unas cifras alentadoras en cuanto a seguridad y tiempo operatorio corto junto con cifras de morbimortalidad muy pequeñas[226,228,335-340], incluso comparadas con las ya buenas cifras que hay sobre el BPGYR[336].

Cuando se presentó en el 2001, el bypass de una anastomosis planteó dudas debido al potencial reflujo biliar y al cáncer gástrico a largo plazo, atribuibles a la inexistencia de un asa alimentaria, como ocurre con el Billroth II (BII)[337,338], aunque en el trabajo de Carbajo et al[228] rara vez se ha encontrado reflujo biliar, y cuando lo ha habido fue asintomático en una serie de 209 pacientes. En la misma línea trabaja Noun et al[340] sobre 923 MGB o Chevallier et[341] al sobre 1000 pacientes donde publica una mortalidad del 0,2% y morbilidad del 5,5%, destacando un 2% de úlceras marginales y 0,9% de reflujo biliar resistente a tratamiento médico.

No obstante, y pese a las críticas sobre la técnica, cuenta con numerosas ventajas como son: el menor tiempo operatorio y menor tasa de complicaciones[342], menor tiempo de estancia hospitalaria[343], y

una menor curva de aprendizaje[336]. Otra gran ventaja con la que se cuenta es la disminución de posibilidad de fuga anastomótica y especialmente la ausencia de posibilidad de hernia interna. De hecho, hasta la fecha no hay ningúna publicación acerca de una hernia interna o torsión intestinal tras un MBG, hecho que no ocurre tras un BPGY donde existen incidencias de hasta el 25% de hernia internas asintomáticas[344] a pesar de realizar cierres de mesos.

Uno de los grandes temores a la reconstrucción en omega ha sido desde 1980 el peligro potencial de cáncer gástrico asociado a reflujo biliar. Basándose en el poder carginogénico de las sales biliares se observó en esta década una mayor incidencia de cáncer de muñón gástrico durante el plazo en que la cirugía BII era el tratamiento de la úlcera péptica. No obstante varias publicaciones no observaron diferencias entre la tasa de cáncer según la reconstrucción tipo BI o BII[345,346] y actualmente conocemos la asociación entre el H pylori, la ulcera gástrica y el cáncer gástrico[347]. Es por ello que es más probable que la alta incidencia detectada entonces fuera por la ausencia de erradicación del H pylori más que por el reflujo biliar en sí.

Con esta misma perspectiva Tersmette et al[348] publicó en 1990 un metaanálisis evaluando los cánceres de muñón gástrico en pacientes con gastrectomía subtotal como tratamiento de enfermedades benignas, no observando diferencias según la reconstrucción tipo BI o BII, por lo que la vigilancia endoscópica sólo está justificada en casos seleccionados[349].

Actualmente la tasa de úlcera marginal de 2,8% es muy comparable a la observada tras un BPGYR[350-352], aunque ello no excluye la mayor incidencia de concetración de bilis en el estómago en comparación con el BPGYR[353]. Este hecho conlleva que persistan las preocupaciones sobre el riesgo potencial de cáncer gástrico debido a la exposición crónica de sales biliares en el MBG[221,354-356], a pesar

de que hasta la fecha no hay evidencia de ningún cáncer gástrico o esofágico tras un MBG.

No obstante, a pesar de la ausencia de cáncer en la literatura, este hallazgo no es del todo seguro debido a los número pequeños y corto en cuanto a seguimientos de los pacientes sometidos a un MBG, por lo que es necesario un mayor control de la actual cohorte para determinar si una mayor exposición a la sales biliares dará lugar a una mayor incidencia de Barret o de cáncer esófago-gástrico. Carbajo et al[228] siguieron a sus primeros 20 pacientes con manometrías y pHmetrías siendo normales en todos. Noun et al[340] describe sólo 4 pacientes sobre 1000 con reflujo biliar, afirmando que puede corregirse con un grapado del asa aferente.

Basándonos en todo lo anterior describimos una sola anastomosis, ya que es un procedimiento seguro y de baja morbimortalidad, no habiendo en nuestra serie mortalidad alguna. Además la ausencia de gastritis biliar o de úlcera anastomótica corrobora la seguridad de la técnica. No obstante existe una disponibilidad completa a realizar en cualquier momento endoscopias para la comprobación de la integridad de la mucosa gástrica.

7.8 Duodeno.

Los trastornos gastrointestinales (GI) son comunes entre los diabéticos, de forma que hasta un 75% de los pacientes informan de alteraciones GI[357,358] y es que todo el tracto GI puede estar afectado, manifestándose con saciedad temprana, molestias difusas o náuseas entre otros síntomas, estando asociada su gravedad al control glucemico y a la evolución de la enfermedad.

Se ha demostrado en numerosos estudios[359-364] que la diabetes se relaciona con una remodelación morfológica en todo el tracto GI,

como la proliferación de las diferentes capas, especialmente la mucosa de todo el intestino delgado.

Una teoría al respecto es que la polifagia propia de la DM podría explicar la hipertrofia de la mucosa intestinal[365], aunque hay experimentos en donde ratas diabéticas alimentadas de forma idéntica a otras no DM experimentaban un mayor crecimiento en la mucosa intestinal[366,367] por lo que el crecimiento de la mucosa es independiente de la ingesta, siendo algún factor propio de la DM el causante de la hipertrofia.

Se ha observado que el aumento de la altura de las vellosidades se debe a una disminución de la apoptosis celular en ratas diabéticas inducidas por estreptozotocina[368] en donde el GLP-2 juega un papel principal en dicha supresión[369].

El aumento generalizado de todas las capas del duodeno provoca que las contracciones sean más prevalentes y el tránsito de su contenido más rápido que en íleon distal[370,371], lo cual puede estar asociado a las quejas GI más habituales en los pacientes DM[372]. En relación a esta afirmación, hallamos una menor longitud de las vellosidades, aunque sin significación estadística.

La presencia de un mayor infiltrado inflamatorio en el duodeno, mayor cuanto más evolucionada es la DM, puede estar asociada a la alteración de la motilidad informada durante la inflamación del tracto GI[373]. Estudios demuestran la asociación entre la inflamación y los cambios funcionales en el sistema nervioso entérico que aumentan la sensibilidad del reflejo peristáltico[374], lo que corresponde a las molestias que los pacientes con DM presentan a nivel abdominal. Paradójicamente encontramos hallazgos contrarios a estas afirmaciones, de forma que no se observa infiltrado en las ratas control y sí tras la ED, siendo, además, mayor este infiltrado cuanto mayor es la evolución de la DM previa a la ED.

7.9 Nefropatía diabética.

En la DMT2 existe un aumento en el depósito del colágeno tipo IV en deprimento al nivel de laminina y heparán sulfato, afectando al tamaño del poro y su selectividad. El daño renal en la nefropatía diabética se manifiesta histológicamente con el engrosamiento de la membrana glomerular basal, expansión de la matriz mesangial, infiltración de macrófagos, pérdida de podocitos y degeneración tubular epitelial[375].

En la nefropatía diabética las proteinas que deberían ser reabsorbidas, son filtradas a la orina. La albúmina al ser la proteina mayoritaria y que se libera facilmente en la orina se utiliza como marcador precursor. Además el daño renal se refleja por un aumento en el nivel de desechos metabólicos. En nuestra experimentación se observa una disminución con significación en la presencia de los productos de desecho, con ausencia de proteinuria en las ratas con ED.

Otra característica es el engrosamiento de la membrana basal que además depende de la edad del animal, y por ende de la evolución de la DM[376-378].

Cabe destacar que la rata GK desarrolla cambios funcionales y estructurales renales a pesar de la mejora del perfil glucídico, por lo que aunque la hiperglucemia es el factor de riesgo más importante para el desarrollo de las complicaciones microvasculares, hay otros factores implicados[378]. A nivel funcional destacamos en nuestros resultados una gran mejoría especialmente a nivel de la presencia de glucosa y proteinas en orina, así como disminución del factor de riesgo que supone la acidificación de la orina. Resulta interesante como la ED supone un factor protector a la presencia de: glucosuria, proteinuria, densidad elevada y cuerpos cetónicos en orina. Lo que conlleva un menor riesgo de presencia de trastornos funcionales renales.

La ausencia de lesiones glomerulares propias de la DM en nuestra serie, va en la línea de varios estudios que indican que las ratas GK son relativamente resistentes al desarrollo de la nefropatía diabética a menos que se superponga la hipertensión arterial[379,380]; a pesar de no ser una variable medida en el estudio, nuestra cepa no ha sido modificada en ningún momento para presentar hipertensión arterial, y puede suponer la respuesta a la ausencia de hallazgos morfológicos propios de la DM, aunque, como hemos visto, sí se observan trastornos funcionales que mejoran tras la ED.

UNIVERSITAS Miguel Hernández

UNIVERSITAS
Miguel
Hernández

UNIVERSITAS
Miguel
Hernández

UNIVERSITAS
Miguel
Hernández

VIII. CONCLUSIONES.

1. La exclusión duodenal es una técnica reproducible que permite un mejor control de la glucemia en la DMT2 observándose mejorías en todas las series tras ED, si bien ninguna serie llega a criterios de no DM sí se consigue una disminución estadísticamente significativa en las curvas de SOG. Esta mejoría es mayor cuanto menor es la evolución de la DM.

2. Todos los animales tras ED presentan una reducción de la glucosuria, que llega a desaparecer si la ED se realiza en momentos iniciales de la DM, sin embargo conforme avanza la enfermedad el daño renal es irreversible evidenciándose en una mayor excreción de glucosa en orina.

Tras la ED se tiende a una ausencia de cuerpos cetónicos de forma independiente a la evolución de la DM.

Hay una tendencia a pH más básico y a menor densidad de la orina tras ED en DM de corta y larga evolución.

La proteinuria tiende a desaparecer tras una ED en DM de evolución corta e intermedia, en DM evolucionada hay mejoría.

3. La ED no altera el crecimiento ni el desarrollo del animal. La pérdida de peso en la primera semana es atribuible al estrés postquirúrgico, recuperándose el final del experimento.

4. Tras la ED se observa un mayor porcetaje de islotes pancreáticos que además preservan la morfología redondeada normal. Este porcentaje es mayor si se realiza la ED en momentos iniciales de la DM.

La expresión del factor Nkx6.1 propio de las células beta es mayor tras la ED en momentos iniciales de la DM.

5. A nivel hepático si bien las lesiones propias del EHGNA disminuyen tras la ED, la mejoría se evidencia más cuanto mayor es la evolución de la DM.

En el tejido pancreático se observa una ausencia de evolución de la fibrosis, siendo mayor la diferencia en relación al control, cuanto más evolucionada es la DM.

6. Todos los animales tras ED disminuyen o mantienen los niveles séricos de inflamación, hallazgo que se constata en los órganos diana, siendo la diferencia mayor cuanto más evolucionada es la DM.

7. La mucosa gástrica no se ve afectada por reflujo biliar. Las vellosidades gástricas presentan una longitud a priori dispar con la evolución de la DM.

8. Las vellosidades duodenales presentan una menor longitud y presencia de infiltrado inflamatorio que no se observa en las ratas control.

9. La exclusión duodenal se presenta como un factor protector ante las complicaciones estudiadas, propias de la DMT2.

UNIVERSITAS
Miguel
Hernández

IX. BIBLIOGRAFÍA.

1- Zimmet P, Alberti K, Shaw J. Global and societal implications of the diabetes epidemic. Nature. 2001;414:782–787.
2- American Diabetes Association. Standars of medical care in diabetes. Diabetes Care. 2014;37 Suppl 1:S14-80
3- American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes. Diabetes Care. 2010; 33:S11-S61.
4- National Glycohemoglobin Standaritation Program (NGSP). List of NGSP certified methods. [Internet] (Consultado en Septiembre 2011]. Disponible en: http://www.ngsp.org/protcert.asp
5- The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complication in insulin-dependent diabetes mellitus. N Engl J Med. 1993;329:977-986.
6- American Diabetes Association. Standars of Medical Care in Diabetes. (Position Statement). Diabetes Care. 2013; 28:S11-S66
7- World Health Organization: Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes: Mellitus and its Complications. Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus Geneva, Department of Noncommunicable Disease Surveillance; 1999
8- Haffner SM, Letho S, Ronnemaa T. Pyorala K. Laasko M. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardical infarction. N Engl J Med. 1998; 339:229-243.
9- Evans JM. Wang J. Morris AD. Comparison of cardiovascular risk between patiens with type 2 diabetes and those who had had a myocardial infarction: cross sectional and cohort studies. BMJ. 2002; 324:939-942
10- Ho JE. Paultre F et Mosca L. Is diabetes mellitus a cardiovascular disease risk equivalent for fatal stroke in women? Stroke. 2003;34:2812-2816.
11- Vaccaro O. Eberly LE. Neaton JD. Yang L. Impact of diabetes and previous myocardial infarction on long-term survival: 25-year mortality follow up of primary screenees of the multiple risk factor intervention trial. Arch Intern Med. 2004;164:1438-1443.
12- Wannamethee SG. Shaper AG et Lennon L. Cardiovascular disease incidence and mortality in older men with diabetes and in men with coronary heart disease. Heart. 2004;90:1398-1403.
13- Lee CD. Folsom AR. Pankow JS et Brancati FL. Cardiovascular events in diabetic and nondiabetic adults with or without history of myocardical infarction. Circulation. 2004;109:855-860.
14- Gaede P. Vedel P. Larsen N. Jensen GV. Parking HH. Perdensen O. Multifactorial intervention and cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes. N Engl J Med. 2003;348:383-393.
15- Heart Protection Study Collaborative Group. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20536 high-risk individuals: a randomised placebo-controled trial. Lancet. 2002;360:7-22.
16- Colhoun HM. Betteridge DJ. Durrington PN. Hitman GA. Neil HA. Livingstone SJ. Thomason MJ. Mackness MI. Primary prevention of cardiovascular disease with atorvastatin in type 2 diabetes in the

collaborative atorvastatin diabetes study (CARDS): multicentre randomised placebo-cotrolled trial. Lancet. 2004;364:585-696.

17- García Soidán FJ, Novo Rodríguez JM, Vázquez Troitiño F, et al. Diabetes Mellitus tipo 2 [online] [Consultado Marzo 2012];Guías Clínicas. 2005 5(15) URL: http://www.fisterra.com/guias2/diabetes_mellitus.asp.

18- Franch J. Goday A. Mata M. COMBO Actualización 2004. Criterios y pautas de terapia combinada en la diabetes tipo 2. Avances en diabetología. 2004;20:77-112.

19- McIntosh A, Hutchinson A, Home PD, Brown F, Bruce A, Da-merell A, et al. Clinical guidelines and evidence review for type 2 diabetes: management of blood glucose. Sheffield: ScHARR, University of Sheffield. Disponible en: http://www.shef.ac.uk/guidelines/

20- UK Prospective Diabetes Study Group: Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). Lacet 1998; 352:854-865.

21- Turner RC. Cull CA. Frighi V. Hlman RR. Glycemic control with diet, sulfonylurea, metformin, or insulin in patients with type 2 diabetes mellitus: progressive requirement for multiple therapies (UKPDS 49). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. JAMA 1999; 281:2005-2012.

22- Kiayias JA. Vlachou ED. Theodosopoulou EBN, Lakka-Papadodima E. Rosiglitazone in combination with glimepiride plus metformin in type 2 diabetic patients. Diabetes Care. 2002;25:1251-1252.

23- Creutzfeldt W. The incretin concept today. Diabetologia. 1979; 16:75-85

24- Baggio LL, Drucker DJ. Biology of incretins: GLP-1 and GIP. Gastroenterology. 2007;132:2131-2174.

25- Yabe D, Seino Y. Liraglutide in adults with type 2 diabetes: global perspective on safety, efficacy and patient preference. Clin Med Insights Endocrinol Diabetes. 2011;4:47-62

26- Pujante-Alarcón P, Hellín-gil Román LM, Ferrer Gomez M, García Zafra MV, Tevar Masso J. Control metabólico y pérdida de peso en pacientes con obesidad y diabetes mmellitus tipo 2 tratados con exenatida. Med Clin (Barc). 2012;139:572-578.

27- Scott DA, Boye KS, Timlin L, Clark JF, Best JH. A network meta-analysis to compare glycaemic control in patients with type 2 diabetes treated with exenatide once weekly or liraglutide once daily in comparison with insulin glargine, exenatide twice daily or placebo. Diabetes Obes Metab. 2013;15:213-223

28- Buse JB, Bergenstal RM, Glass LC, Heilmann CR, Lewis MS, Kwan AY, Hoogwerf BJ, Rosenstock J. Use of twice-daily exenatide in Basal insulin-treated patients with type 2 diabetes: a randomized, controlled trial. Ann Intern Med. 2011;154:103-112.

29- Noyan-Ashraf MH, Momen MA, Ban K, Sadi AM, Zhou YQ, Riazi AM, Baggio LL, Henkelman RM, Husain M, Drucker DJ. GLP-1R agonist liraglutide activates cytoprotective pathways and improves outcomes after experimental myocardial infarction in mice. Diabetes. 2009;58:975-983.

30- Buse JB, Drucker DJ, Taylor KL, Kim T, Walsh B, Hu H, Wilhelm K, Trautmann M, Shen LZ, Porter LE; DURATION-1 Study Group.

DURATION-1: exenatide once weekly produces sustained glycemic control and weight loss over 52 weeks. Diabetes Care. 2010;33:1255-1261.

31- Gallwitz B, Vaag A, Falahati A, Madsbad S. Adding liraglutide to oral antidiabetic drug therapy: onset of treatment effects over time. nt J Clin Pract. 2010;64:267-276.

32- Chiquette E, Toth PP, Ramirez G, Cobble M, Chilton R. Treatment with exenatide once weekly or twice daily for 30 weeks is associated with changes in several cardiovascular risk markers. Vasc Health Risk Manag. 2012;8:621-629.

33- Richter B, Bandeira-Echtler E, Bergerhoff K, Lerch CL. Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) inhibitors for type 2 diabetes mellitus. Cochrane Database Syst Rev. 2008, 2: CD006739.

34- Ascaso JF. Diabetes mellitus tipo 2: nuevos tratamientos. Med Clin (Barc). 2014;143:117-123.

35- Stratton IM, Adler AI, Neil HA, et al. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. BMJ. 2000;321:405-412.

36- Gerstein HC, Miller ME, Byington RP, et al. Effects of intensive glucose lowering in type 2 diabetes. N Engl J Med 2008; 358: 2545-2559.

37- Patel A, MacMahon S, Chalmers J, et al. Intensive blood glucose control and vascular outcomes in patients with type 2 diabetes. N Engl J Med 2008; 358: 2560-2572.

38- Davis TM, Coleman RL, Holman RR; UKPDS Group. Ethnicity and long-term vascular outcomes in Type 2 diabetes: a prospective observational study (UKPDS 83). Diabet Med. 2014;31:200-207.

39- Jönsson B. Revealing the cost of type 2 diabetes in Europe. Diabetología. 2002;45:S5-S12.

40- Mata M. Antoñanzas F. Tafalla M. Sanz P. El coste de la diabetes tipo 2 en España. El estudio CODE-2. Gac Sanit. 2002;16:511-520.

41- Ballesta M, Pérez AA, Valencia I, Tocino JA, Carral F, Aguilar M. Estimación de los costes económicos ocasionados por los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 en el área sanitaria Cádiz-San Fernando. Actas de Gestión Clínica y Sanitaria: Actualizando la Agenda. XXIII Jornadas de la Asociación de Economía de la Salud; 2003, junio 4-6; Cádiz [consultado Nov 2011]. Disponible en: http://www.cica.es/aliens/jaescadiz/Archivos%20pdf/Archivos%20pdf%20ab/015.pdf#search='ballesta%20diabetes%20coste'

42- Hart W, Espinosa C, Rovira J. A simulation model of the cost of the incidence of IDDM in Spain. Diabetologia. 1997;40:311-318.

43- Carral F, Oliveira G, Salas J, García L, Sillero A, Aguilar M. Care resource utilization and direct costs incurred by people with diabetes in a Spanish hospital. Diabetes Res Clin Pract. 2002;56:27-34.

44- López Bastida J, Serrano P, Duque B. Los costes socioeconómicos de la diabetes mellitus. Aten Primaria. 2002;29:145-150.

45- Hart WM, Espinosa C, Rovira J. El coste de la diabetes mellitus conocida en España. Med Clin (Barc). 1997;109:289-293.

46- Crespo C, Brosa M, Soria-Juan A, Lopez-Alba A, López-Martínez N, Soria B Direct cost of diabetes mellitus and its complications in Spain (SECCAID Study: Spain estimated cost Ciberdem-Cabimer in Diabetes). Av Diabetol. 2013;29:182-189.

47- Martínez-Villaseñor GJ, Rubio Cebrián S. Costes de la diabetes en España (1998). Madrid: Escuela Nacional de Sanidad; 2000.

48- Oliva J, Lobo F, Molina B, Monereo S. Direct health care costs of diabetic patients in Spain. Diabetes Care. 2004; 27:2616-21.

49- Arroyo J, Badía X, De la Calle H, Díez J, Estmatjes E, Fernández I, et al, y grupo por-STAR. Tratamiento de los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 en atención primaria en España. Med Clin (Barc). 2005;125:166-172.

50- González M, Galíndez A. Estudio del coste de hospitalización de las complicaciones de la diabetes. Anales Sis San Navarra. 1997;20:71-76.

51- Monereo S, Pavón I, Vega B, Elviro R. Diabetes mellitus: aproximación al coste por proceso aplicado al paciente diabético ingresado. Endocrinología. 1997;44:319-325.

52- Monereo S, Pavón I, Vega B, Elviro R, Durán M. Complicaciones de la diabetes mellitus: impacto sobre los costes hospitalarios. Endocrinología y Nutrición. 1999;46:55-59.

53- De Solá-Morales O. Análisis de coste-efectividad del tratamiento a largo plazo con bomba de infusión continua de insulina comparado con múltiples dosis diarias. Actas de XXIV Jornadas de Economía de la Salud; 2004, mayo 28; El Escorial [consultado Nov 2004]. Disponible en: http://www.fgcasal.org/aes/docs/TextComunicacioOralBibliografia1.pdf#search='diabetes%20costeefectividad'

54- Gisbert R, Brosa M. Base de Datos de Costes Sanitarios eSalud. Barcelona, 2013 [consultado Jul 2013]. Disponible en: http://www.oblikue.com

55- De Alcalá D, Aguayo JL, Flores B, Morales G, Pérez-Abad JM, Alarte JM. Resultados de la hospitalización en pacientes con pie diabético. Cir Esp.2003;74:92-96.

56- Gonzalez P. Faure E. del Castillo A. Coste de la diabetes mellitus en España. Med Clin (Barc). 2006;127:776-784

57- Ruiz-Ramos, M., Escolar-Pujolar, A., Mayoral-Sánchez, E., Corral-San Laureano, F., & Fernández-Fernández, I. La diabetes mellitus en España: mortalidad, prevalencia, incidencia, costes económicos y desigualdades. Gac Sanit. 2006;20 Suppl 1:15-24.

58- García Benavides F, Godoy C, Pérez S, et al. Multiple codification of the causes of death: from dying «of» to dying «from».Gac Sanit.1992;6:53-57

59- Goldacre MJ. Cause-specific mortality: understanding uncertain tip of the disease. J Epidemiol Community Health. 1993;47:491-496

60- Gu K, Cowie CC, Harris MI. Mortality in adults with and without diabetes in national cohort of th U.S. population, 1997-1993. Diabetes Care. 1998;21:1138-1145

61- O'Sullivan JB, Hahan CM. Mortality related to diabetes mellitus anda blood glucose levels in comunity study. Am J Epidemiol. 1982;116:678-684

62- Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Mortalidad por cáncer, por enfermedad isquémica del corazón, por enfermedades cerebrovasculares y por diabetes mellitus en España. [Consultado Sep 2010]. Disponible en http://www.msssi.gob.es/estadEstudios/estadisticas/docs/MORTALIDAD_POR_ENFERMEDADES_CRONICAS.pdf.
63- Goday A, Delgado E, Díaz Cadórniga F, et al. Epidemiología de la diabetes tipo 2 en España. Endocrinol Nutr. 2002;49:113-126.
64- Servicio Andaluz de Salud. Estudio DRECA: dieta y riesgo de enfermedades cardiovasculares en Andalucía. Sevilla. Consejería de Salud; 1999
65- Franch J, Álvarez F, Diego F, et al. Epidemiología de la diabetes mellitus en la provincia de León. Med Clin (Barc). 1992;98:607-611.
66- Bayo J, Sola C, García F, et al. Prevalencia de la diabetes mellitus no dependiente de la insulina en Lejona (Vizcaya).Med Clin (Barc). 1993;101:609-612.
67- Tamayo B, Faure E, Roche MJ, et al. Prevalence of Diabetes and Impaired Glucose Tolerance in Aragón, Spain. Diabetes Care. 1997;20:534-536.
68- Castell C, Tresseras R, Serra J, et al. Prevalence of diabetes en Catalonia (Spain): an oral glucose tolerance test-based population study. Diabetes Res Clin Pract. 1999;43:33-40
69- Botas P, Delgado E, Castaño G, et al. Prevalencia de Diabetes en Asturias. Avances Diabetología. 2000;8:465-470.
70- De Pablos-Velasco PL, Martínez Martín FJ, Rodríguez Pérez F, et al. Prevalence and determinants of diabetes mellitus and glucose intolerance in a Canarian Caucasian population. Comparison of the 1997 ADA and the 1985 WHO criteria. The Guia Study. Diabet Med. 2001;18: 235-241.
71- Masiá R, Sala J, Rohlfs I, et al, en nombre de los investigadores del estudio REGICOR. Prevalencia de diabetes mellitus en la provincia de Girona, España: el estudio REGICOR. Rev Esp Cardiol. 2004;57:261-264.
72- Ministerio de Sanidad y Consumo. Encuesta nacional de salud. http://www.msc.es/Diseno/sns/sns_sistemas_informacion.htm (accessed Septiembre 2010).
73- Dei Cas A, Khan SS, Butler J, Mentz RJ, Bonow RO, Avogaro A, Tschoepe D, Doehner W, Greene SJ, Senni M, Gheorghiade M, Fonarow GC. Impact of Diabetes on Epidemiology, Treatment, and Outcomes of Patients With Heart Failure. JACC Heart Fail. 2015;3:136-145
74- Malmberg K, Yusuf S, Gerstein HC, Brown J, Zhao F, Hunt D, et al. Impact of diabetes on long-term prognosis in patients with unstable angina and non-Q-wave myocardial infarction: results of the OASIS (Organization to Assess Strategies for Ischemic Syndromes) Registry. Circulation 2000;102:1014-1019.
75- Pereira Delgado E. Nuevas perspectivas en oftalmología. Retinopatía diabética. 1st ed. Barcelona. editorial Glosa; 2005.
76- Pérez García R. Rodríguez Benítez P. Dall`Anesse C. Gómez Campderá F. Valderrábano F. Preocupante incremento de la diabetes como causa de

insuficiencia renal terminal. Evaluacion del tratamiento sustitutivo. An Med Interna 2001;18:175-180.

77- Maalouf NM, Sakhaee K, Parks JH, Coe FL, Adams-Huet B, Pak CY. Association of urinary pH with body weight in nephrolithiasis. Kidney Int. 2004;65:1422–1425

78- Taylor EN, Curhan GC. Body size and 24-hour urine composition. Am J Kidney Dis. 2006;48:905–915.

79- Cameron MA, Maalouf NM, Adams-Huet B, Moe OW, Sakhaee K. Urine composition in type 2 diabetes: Predisposition to uric acid nephrolithiasis. J Am Soc Nephrol. 2006;17:1422–1428.

80- Maalouf NM, Cameron MA, Moe OW, Adams-Huet B, Sakhaee K. Low urine pH: A novel feature of the metabolic syndrome. Clin J Am Soc Nephrol. 2007;2:883–888.

81- Cho YH, Lee SY, Jeong DW, Choi EJ, Nam KJ, Kim YJ, Lee JG, Yi YH, Tak YJ, Cho BM, Lee SB, Lee KY. The association between a low urine pH and the components of metabolic syndrome in the Korean population: Findings based on the 2010 Korea National health and nutrition examination survey. J Res Med Sci. 2014;19:599-604.

82- Hara S, Tsuji H, Ohmoto Y, Amakawa K, Hsieh SD, Arase Y, et al. High serum uric acid level and low urine pH as predictors of metabolic syndrome: A retrospective cohort study in a Japanese urban population. Metabolism. 2012;61:281–288.

83- Brown MJ, Palmer CR, Castaigne A, de Leeuw PW, Mancia G, Rosenthal T, et al. Morbidity and mortality in patients randomised to double-blind treatment with a long-acting calcium-channel blocker or diuretic in the International Nifedipine GITS study: Intervention as a Goal in Hypertension Treatment (INSIGHT). Lancet.2000;356:366-372.

84- Segura J, Campo C, Ruilope LM: Proteinuria: an underappreciated risk factor in cardiovascular disease. Curr Cardiol Rep.2000;4: 458-462.

85- Iseki, K. Proteinuria and the risk of developing end stage renal disease. Kidney Int 2003;63: 1468-1474.

86- Megyesi C, Samols E, Marks V. Glucose tolerance and diabetes in cronic liver disease. Lancet. 1967;2:1051-1056.

87- Conn HO, Schreiber W, Elkintong SG, Johnson TR. Cirrhosis and diabetes. Association of impaired glucose tolerance with portal-systemic shunting in Laenec's cirrhosis. Am J Dig Dis. 1969;14:837-852.

88- Conn HO, Schreiber W, Elkintong SG. Cirrhosis and diabetes. Association of impaired glucose tolerance with portal-systemic shunting in Laenec's cirrhosis. Am J Dig Dis. 1971;16:227-239.

89- Gentile S, Loguercio C, Marmo R, Carbone L, Del Vicchio-Blanco C. Incidence of altered glucose tolerance in liver cirrosis. Diabetes Res Clin Pract. 1993;22:37-44.

90- Creutzfeldt W, Frerichs H, Sickinger K. Liver diseases and diabetes mellitus. Prog Liver Dis. 1970;3:371-407.

91- Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? Gastroenterology 1998; 114:842-845

92- Wasada T, Kasahara T, Wada J, Jimba S, Fujimaki R, Nakagami T, et al. Hepatic steatosis rather than visceral adiposity is more closely associated with insulin resistance in the early stage of obesity. Metabolism. 2008;57:980-985.
93- Mishra P, Younossi ZM. Current Treatment Strategies for Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). Curr Drug Discov Technol. 2007;4:133-140.
94- Ardigo D, Numeroso F, Valtuena S, Franzini L, Piatti PM, Monti L, et al. Hyperinsulinemia predicts hepatic fat content in healthy individuals with normal transaminase concentrations. Metabolism. 2005;54:1566-1570.
95- Méndez-Sánchez N, Chávez-Tapia NC, Zamora-Valdes D, Medina-Santillán R, Uribe M. Hepatobiliary diseases and insulin resistance. Hepatology. 2007;45:1097-1107.
96- Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. Nature. 2006;444:860-867.
97- Calle MC, Fernandez ML. Inflammation and type 2 diabetes. Diabetes Metab. 2012:183-191.
98- Wellen KE, Hotamisligil GS. Inflammation, stress, and diabetes. J Clin Invest. 2005;115:1111-1119.
99- Swaroop JJ, Rajarajeswari D, Naidu JN. Association of TNF-α with insulin resistance in type 2 diabetes mellitas. Indian J Med Res. 2012;135:127-130.
100- Kahn SE, Cooper ME, Del Prato S. Pathophysiology and treatment of type 2 diabetes: perspectives on the past, present, and future. Lancet. 2014;383:1068-1083.
101- Kern PA, Saghizadeh M, Ong JM, Bosch RJ,Deem R, Simsolo RB. The expression of tumor necrosis factor in human adipose tissue.Regulation of obesity, weight loss, and relationship to lipoprotein lipase. J Clin Invest 1995;95:2111-2119.
102- Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor-alpha in human obesity and insulin resistance. J Clin Invest 1995;95:2409-2415.
103- Ramírez Alvarado MM, Sánchez Roitz C. Tumor necrosis factor-α, insulin resistance, the lipoprotein metabolism and obesity in humans. Nutr Hosp. 2012;27:1751-1757.
104- Gifford GE, Flick DA. Natural production and release of tumour necrosis factor. Ciba Found Symp. 1987;131:3-20.
105- Anaya, J. M. Descripción Molecular del TNF-α. Reumatologia. 2003;19:112-120.
106- Saghizadeh M, Ong JM, Garvey WT, Henry RR, Kern PA. The expression of TNF- α by human muscle. Relationship to insulin resistance. J Clin Invest 1996;97:1111-1116.
107- Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, Ellis R, White MF, Spiegelman BM. IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF-alpha- and obesity-induced insulin resistance. Science 1996;271:665-668.
108- Crook MA, Tutt P, Pickup JC. Elevated serum sialic acid concentration in non-insulin-dependent diabetes and its relationship to blood pressure and retinopathy. Diabetes Care 1993;16:57-60.

109- Crook MA, Tutt P, Simpson H, Pickup JC. Serum sialic acid and acute phase proteins in type 1 and 2 diabetes. Clin Chim Acta 1993;219:131-138.
110- Pickup JC, Crook MA. Is type II diabetes mellitus a disease of the innate immune system? Diabetologia 1998;41:1241-1248.
111- Campos SP, Baumann H. Insulin is a prominente modulator of the cytokine-stimulated expresión of acute-plasma protein genes. Mol Cei Biol 1992;12:1789-1797.
112- O'Riordain MG, Ross JA, Fearon KCH y cols. Insulin and counterregulatory hormones influence acute-phase protein production in human hepatocytes. Am J Physiol 1995;269:E323-E330.
113- Tuominen JA, Ebeling P, Bourey R y cols. Post-marathon paradox: insulin resistance in the face of glycogen depletion. Am J Physiol 1996;270:E336-E343.
114- Nieman DC, Nehlsen-Cannarella SL, Fagoaga OR y cols. Influence of mode and carbohydrate on the cytokine response to heavy exertion. Med Sci Sports Exerc 1998;30:671-678.
115- Paolisso G, Rizzo MR, Mazziotti G y cols. Advancing age and insulin resistance: role of plasma tumor necrosis factor-alpha. Am J Physiol 1998;275:E294 E299.
116- Hotamisligil GS, Murray DL, Choy LN, Spiegelman BM. Tumor necrosis factor alpha inhibits signaling from the insulin receptor. Proc Natl Acad Sci U S A. 1994;91:4854-4858.
117- Halse R, Pearson SL, McCormack JG, Yeaman SJ, Taylor R. Effects of tumor necrosis factor-alpha on insulin action in cultured human muscle cells. Diabetes. 2001;50:1102-1109.
118- Kim F, Gallis B, Corson MA. TNF-alpha inhibits flow and insulin signaling leading to NO production in aortic endothelial cells. Am J Physiol Cell Physiol. 2001;280:C1057-1065.
119- Goetze S, Kintscher U, Kawano H, Kawano Y, Wakino S, Fleck E, Hsueh WA, Law RE. Tumor necrosis factor alpha inhibits insulin-induced mitogenic signaling in vascular smooth muscle cells. J Biol Chem. 2000;275:18279-18283.
120- Hotamisligil GS, Budavari A, Murray D, Spiegelman BM. Reduced tyrosine kinase activity of the insulin receptor in obesity-diabetes. Central role of tumor necrosis factor-alpha. J Clin Invest. 1994;94:1543-1549.
121- Stephens JM, Pekala PH. Transcriptional repression of the GLUT4 and C/EBP genes in 3T3-L1 adipocytes by tumor necrosis factor-alpha. J Biol Chem 1991;266:21839-21845.
122- Stephens JM, Lee J, Pilch PF. Tumor necrosis factor-α-induced insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes is accompanied by a loss of insulin receptor-mediated signal transduction. J Bol Chem 1997;272:971-976.
123- Heller RS. The comparative anatomy of islets. Adv Exp Med Biol 2010;654:21-37.
124- Madsen OD. Pancreas phylogeny and ontogeny in relation to a "pancreatic stem cell". C R Biol. 2007;330:534-537.
125- Olvera-Granados Claudia Patricia, Leo-Amador Guillermo Enrique, Hernández-Montiel Hebert Luis. Páncreas y células beta: mecanismos de

diferenciación, morfogénesis y especificación celular endocrina. ¿Regeneración?,Bol Med Hosp Infant Méx. 2008;65: 306-324.
126- Cabezas-Cerrato J. Etiopatogenia de la Diabetes Tipo 2. En: Gomis R, Rovira A, Felíu JE, Oyarzábal M (eds.). Tratado SED de Diabetes Mellitus. Bases moleculares clínicas y Tratamiento. Madrid: Ed. Panamericana; 2007. p.37-45.
127- Lipsett M, Finegood D. β-Cell Neogenesis During Prolonged Hyperglycemia in Rats. Diabetes.2002;51:1834-1841.
128- Cano D, Rulifson I, Heiser P, et al. Regulated β-Cell Regeneration in the Adult Mouse Pancreas. Diabetes.2008;57:958-966.
129- Prentki M, Nolan C. Islet βcell failure in type 2 diabetes. J. Clin. Invest. 2006;116:1802-1812.
130- Levine F, Itkin-Ansari P. B-Cell regeneration: Neogenesis, replication or both? J Mol Med. 2008;86:247-258.
131- Butler A, Janson J, Bonner-Weir S, Ritzel R, Rizza R, Butler P. β-Cell Deficit and Increased β-Cell Apoptosis in Humans With Type 2 Diabetes. Diabetes.2003;52:102-110.
132- Donath M, Halban P. Decreased beta-cell mass in diabetes: significance,mechanisms and therapeutic implications. Diabetologia.2004;47:581-589.
133- Leonardi O, Mints G, Hussain M. Beta-cell apoptosis in the pathogenesis of human type 2 diabetes mellitus. European Journal of Endocrinology.2003;149:99-102.
134- Ji-Hyeon Lee, Junghyo Jo, Anandwardhan A. Hardikar, Vipul Periwal, y Sushi G. Rane. Cdk4 Regulates Recruitment of Quiescent β-Cells and Ductal Epithelial Progenitors to Reconstitutive β-Cell Mass. PLoS ONE. 2010;5:1-11.
135- Rane SG y Reddy EP. Cell cycle control of pancreatic beta cell proliferation. Front Biosci. 2000;5:D1-19.
136- Meier, J.J., Butler AE, Saisho Y, Monchamp T, Galasso R, Bhushan A, Rizza RA, Butler PC. Beta-cell replication is the primary mechanism subserving the postnatal expansion of beta-cell mass in humans. Diabetes. 2008;57:1584-1594.
137- Butler A.E, Janson J, Bonner-Weir S, Ritzel R, Rizza RA, Butler PC. Beta-cell deficit and increased beta-cell apoptosis in humans with type 2 diabetes.Diabetes. 2003; 52:102-110.
138- Bonner-Weir S, Li WC, Ouziel-Yahalom L, Guo L, Weir GC, Sharma A. Beta-cell growth and regeneration: replication is only part of the story. Diabetes. 2010;59:2340-2348.
139- Teta M, Long SY, Wartschow LM, Rankin MM, Kushner JA. Very slow turnover of beta-cells in aged adult mice. Diabetes. 2005;54:2557-2567.
140- Nielsen JH, Galsgaard ED, Møldrup A, Friedrichsen BN, Billestrup N, Hansen JA, Lee YC, Carlsson C. Regulation of beta-cell mass by hormones and growth factors. Diabetes. 2001;50:S25-29.
141- 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;429:41-46.

142- Bonner-Weir S, Weir GC. New sources of pancreatic beta-cells.Nat Biotechnol, 2005.23:857-861.
143- Teta M, Rankin MM, Long SY, Stein GM, Kushner JA. Growth and regeneration of adult beta cells does not involve specialized progenitors. Dev Cell. 2007;12:817-826.
144- Brennand K, Huangfu D, Melton D. All beta cells contribute equally to islet growth and maintenance. PLoS Biol. 2007;5:e163.
145- Butler PC, Meier JJ, Butler AE, Bhushan A. The replication of beta cells in normal physiology, in disease and for therapy. Nat Clin Pract Endocrinol Metab. 2007;3:758-768.
146- Hanley NA, Hanley KP, Miettinen PJ, Otonkoski T. Weighing up beta-cell mass in mice and humans: self-renewal, progenitors or stem cells? Mol Cell Endocrinol. 2008;288:79-85.
147- Xu X, D'Hoker J, Stangé G, Bonné S, De Leu N, Xiao X, Van de Casteele M, Mellitzer G, Ling Z, et al. Beta cells can be generated from endogenous progenitors in injured adult mouse pancreas. Cell. 2008;132:197-207.
148- Meier JJ, Butler AE, Galasso R, Butler PC. Hyperinsulinemic hypoglycemia after gastric bypass surgery is not accompanied by islet hyperplasia or increased beta-cell turnover. Diabetes Care. 2006;29:1554-1559.
149- Meier JJ, Butler AE, Galasso R, Rizza RA, Butler PC. Increased islet beta cell replication adjacent to intrapancreatic gastrinomas in humans. Diabetologia. 2006;49:2689-2696.
150- Martin-Pagola A, Sisino G, Allende G, Dominguez-Bendala J, Gianani R, Reijonen H, Nepom GT, Ricordi C, Ruiz P, Sageshima J, Ciancio G, Burke GW, Pugliese A. Insulin protein and proliferation in ductal cells in the transplanted pancreas of patients with type 1 diabetes and recurrence of autoimmunity. Diabetologia. 2008;5:1803-1813.
151- Drucker DJ. Glucagon-like peptide-1 and the islet beta-cell: augmentation of cell proliferation and inhibition of apoptosis. Endocrinology. 2003;144:5145-5148.
152- Vasavada RC, Gonzalez-Pertusa JA, Fujinaka Y, Fiaschi-Taesch N, Cozar-Castellano I, Garcia-Ocaña A. Growth factors and beta cell replication. Int J Biochem Cell Biol. 2006;38:931-950.
153- Weir G, Weir-Bonner S. Five Stages of Evolving B-Cell Dysfunction During Progression to Diabetes. Diabetes. 2004;53:S16-S21.
154- Yokoi N, Kanamori M, Horikawa Y, Takeda J, Sanke T, Furuta H, Nanjo K, Mori H, Kasuga M, Hara K, et al. Association studies of variants in the genes involved in pancreatic beta-cell function in type 2 diabetes in Japanese subjects. Diabetes. 2006; 55:2379–2386.
155- Guo S, Dai C, Guo M, Taylor B, Harmon JS, Sander M, Robertson RP, Powers AC, Stein R. Inactivation of specific beta cell transcription factors in type 2 diabetes. J Clin Invest. 2013;123:3305-3316
156- Talchai C, Xuan S, Lin HV, Sussel L, Accili D. Pancreatic beta cell dedifferentiation as a mechanism of diabetic beta cell failure. Cell. 2012; 150:1223–1234

157- Schisler JC, Jensen PB, Taylor DG, Becker TC, Knop FK, Takekawa S, German M, Weir GC, Lu D, Mirmira RG, et al. The Nkx6.1 homeodomain transcription factor suppresses glucagon expresión and regulates glucose-stimulated insulin secretion in islet beta cells. Proc Natl Acad Sci U S A.2005; 102:7297–7302.

158- Schisler JC, Fueger PT, Babu DA, Hohmeier HE, Tessem JS, Lu D, Becker TC, Naziruddin B, Levy M, Mirmira RG, et al. Stimulation of human and rat islet beta-cell proliferation with retention of function by the homeodomain transcription factor Nkx6.1. Mol Cell Biol. 2008; 28:3465–3476

159- Schaffer AE, Taylor BL, Benthuysen JR, Liu J, Thorel F, Yuan W, Jiao Y, Kaestner KH, Herrera PL, Magnuson MA, et al. Nkx6.1 controls a gene regulatory network required for establishing and maintaining pancreatic Beta cell identity. PLoS Genet. 2013; 9(1):e1003274

160- Taylor BL, Liu FF, Sander M. Nkx6.1 is essential for maintaining the functional state of pancreatic beta cells. Cell Rep. 2013 Sep 26;4(6):1262-1275.

161- Lillioja S, Mott DM, Spraul M, Ferraro M, Foley JE, Ravussin E, et al. Insulin resistance and insulin secretory disfunction as precursors of noninsulin-dependent diabetes mellitus. Prospective studies of Pima Indians. N England J Med 1993; 329: 1988-1992

162- Weyer C, Bogardus C, Mott DM, Pratley RE. The natural history of insulin secretory disfunction and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. J Clin Invest 1999;104: 787-794.

163- Polonsky KS, Sturis J, Bell J. Noninsulin dependent diabetes mellitus: a genetically programmed failure of the beta cell to compensate for insulin resistance. N Engl J Med 1996; 334: 777-783.

164- Simonson Dc, Rossetti L, Giaccari A, Defronzo RA. Glucose Toxicity. En: Alberti KGMM, Zimmet P, DeFronzo RA, International Textbook of Diabetes Mellitus. Ed. Chichester, England: John Wiley and Sons Ltd. 1997: 713-744.

165- YKI-Jarvinen H. Acute and chronic effects of hiperglycemia on glucose metabolism. Diabetología 1990; 33: 579-585.

166- López G, Calvillan M, Durruty P, Rocha G. Secreción y sensibilidad insulínica en el fracaso secundario a drogas hipoglicemiantes orales. Rev Méd Chile 1992; 120: 967-977.

167- Rubino F. Diabetes Care. Is type 2 diabetes an operable intestinal disease? A provocative yet reasonable hypothesis. 2008;31 Suppl 2:S290-296.

168- Cummings DE, Flum DR. Gastrointestinal surgery as a treatment for diabetes. JAMA. 2008;299:341-343.

169- Rubino F, Gagner M, Gentileschi P, Kini S, Fukuyama S, Feng J, Diamond E. The early effect of the Roux-en-Y gastric bypass on hormones involved in body weight regulation and glucose metabolism. Ann Surg. 2004; 240: 236.

170- Cummings DE, Overduin J, Foster-Schubert KE. Gastric bypass for obesity: mechanisms of weight loss and diabetes resolution. J Clin Endocrinol Metab. 2004;89:2608-2615.

171- Scopinaro N, Papadia F, Camerini G, Marinari G, Civalleri D, Gian Franco A. A comparison of a personal series of biliopancreatic diversion and literature data on gastric bypass help to explain the mechanisms of resolution of type 2 diabetes by the two operations. Obes Surg. 2008;18:1035-1038.
172- Rubino F, Gagner M, Marescaux J. Surgical treatment of type 2 diabetes mellitus. Lancet. 2001; 358: 668-669.
173- Rubino F, Gagner M. Potential of surgery for curing type 2 diabetes mellitus. Ann Surg. 2002; 236: 554-559.
174- Rubino F. Bariatric surgery: effects on glucose homeostasis. Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 2006; 9: 497-507.
175- Wang TT, Hu SY, Gao HD, Zhang GY, Liu CZ, Feng JB, Frezza EE. 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;247:968-975.
176- DePaula AL, Macedo AL, Rassi N, Machado CA, Schraibman V, Silva LQ, Halpern A. Laparoscopic treatment of type 2 diabetes mellitus for patients with a body mass index less than 35. Surg Endosc. 2008;22:706-716.
177- Strader AD, Clausen TR, Goodin SZ, Wendt D. Ileal Interposition Improves Glucose Tolerance in Low Dose Streptozotocin-treated Diabetic and Euglycemic Rats. Obes Surg. 2009;19:96-104.
178- Rubino F, Forgione A, Cummings DE, Vix M, Gnuli D, Mingrone G, Castagneto M, Marescaux J. The mechanism of diabetes control after gastrointestinal bypass surgery reveals a role of the proximal small intestine in the pathophysiology of type 2 diabetes. Ann Surg. 2006;244:741-749.
179- de Campos Martins MV, Peixoto AA, Schanaider A, Esposito CC, Aratanha CB. Glucose tolerance in the proximal versus the distal small bowel in Wistar rats. Obes Surg. 2009;19:202-206.
180- Patriti A, Aisa MC, Annetti C, Sidoni A 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; 142: 74-85.
181- Rubino F, Marescaux J. Effect of duodenal-jejunal exclusion in a non-obese animal model of type 2 diabetes: a new perspective for an old disease. Ann Surg. 2004;239:1-11.
182- Rubino F, R'bibo SL, del Genio F, Mazumdar M, McGraw TE. Metabolic surgery: the role of the gastrointestinal tract in diabetes mellitus. Nat Rev Endocrinol. 2010;6:102-109.
183- 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/m2: a report of 2 cases. Surg Obes Relat Dis. 2007;3:195-197.
184- Moo TA, Rubino F. Gastrointestinal surgery as treatment for type 2 diabetes. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes. 2008; 15: 153-158
185- Li F, Zhang G, Liang J, Ding X, Cheng Z, Hu S. Sleeve gastrectomy provides a better control of diabetes by decreasing ghrelin in the diabetic Goto-Kakizaki rats. J Gastrointest Surg. 2009;13:2302-2308.

186- Maleckas A, Venclauskas L, Wallenius V, Lönroth H, Fändriks L. Surgery in the treatment of type 2 diabetes mellitus. Scand J Surg. 2015;104:40-47
187- Pacheco D, de Luis DA, Romero A, González Sagrado M, Conde R, Izaola O, Aller R, Delgado A. The effects of duodenal-jejunal exclusion on hormonal regulation of glucose metabolism in Goto-Kakizaki rats. Am J Surg. 2007;194:221-224.
188- Stenson G.O. and Efendic S. Islet gene expression and function in type 2 diabetes; studiesin the Goto-Kakizaki rat and humans. J Diabetes, Obesity and Metabolism. 2007; 9: 180–186.
189- Patriti A, Facchiano E, Sanna A, Gullà N, Donini A. The enteroinsular axis and the recovery from type 2 diabetes after bariatric surgery. Obes Surg. 2004;14:840-848.
190- Mingrone G. Role of the incretin system in the remission of type 2 diabetes following bariatric surgery. Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2008;18:574-579.
191- De la Higuera M, Valdés S, Soriguer F. GLP-1. Generalidades e interacción incretinas-nutrientes. Rev Clin Esp 2007;207:501-504.
192- Rubino F, Schauer PR, Kaplan LM, Cummings DE. Metabolic surgery to treat type 2 diabetes: clinical outcomes and mechanisms of action. Annu Rev Med. 2010;61:393-411.
193- Mingrone G, Nolfe G, Gissey GC, Iaconelli A, Leccesi L, Guidone C, Nanni G, Holst JJ. Circadian rhythms of GIP and GLP1 in glucose-tolerant and in type 2 diabetic patients after biliopancreatic diversion. Diabetologia. 2009;52:873-881.
194- Mevorach M, Giacca A, Aharon Y, Hawkins M, Shamoon H, Rossetti L. Regulation of endogenous glucose production by glucose per se is impaired in type 2 diabetes mellitus. J Clin Invest.1998; 102: 744 –753.
195- Hawkins M, Gabriely I, Wozniak R, Mevorach M, Rossetti L, Shamoon H: The effect of glycemic control on hepatic and peripheral glucose effectiveness in type 2 diabetes mellitus. Diabetes.2002; 51:2179 –2189.
196- Nagasaka S, Tokuyama K, Kusaka I, Hayashi H, Rokkaku K, Nakamura T, Kawakami A, Higashiyama M, Ishikawa S, Saito T: Endogenous glucose production and glucose effectiveness in type 2 diabetic subjects derived from stable-labeled minimal model approach. Diabetes. 1990; 48:1054 –1060.
197- Reaven GM, Hollenbeck C, Jeng CY, Wu MS, Chen YD: Measurement of plasma glucose, free fatty acid, lactate, and insulin for 24 h in patients with NIDDM. Diabetes.1988; 37:1020 –1024.
198- Hawkins M, Tonelli J, Kishore P, Stein D, Ragucci E, Gitig A, Reddy K: Contribution of elevated free fatty acid levels to the lack of glucose effectiveness in type 2 diabetes. Diabetes . 2003; 52: 2748 –2758.
199- Williamson JR, Kreisberg RA, Felts PW: Mechanism for the stimulation of gluconeogenesis by fatty acids in perfused rat liver. Proc Natl Acad Sci U S A. 1966; 56: 247–254.
200- Antras-Ferry J, Le Bigot G, Robin P, Robin D, Forest C: Stimulation of phosphoenolpyruvate carboxykinase gene expression by fatty acids. Biochem Biophys Res Commun.1994; 203: 385–391.

201- Buchwald H, Estok R, Fahrbach K, Banel D, Jensen MD, Pories WJ, Bantle JP, Sledge I. Weight and type 2 diabetes after bariatric surgery: systematic review and meta-analysis. Am J Med. 2009; 122: 248-256.
202- Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. Science. 1993; 259: 87-91.
203- Lardy H, Shrago E. Biochemical aspects of obesity. Annu Rev Biochem. 1990; 59: 689-710.
204- Hotamisligil GS. Mechanisms of TNF-alpha-induced insulin resistance. Exp Clin Endocrinol Diabetes. 1999; 107: 119-125.
205- Wang YY, Lin SY, Chuang YH, Chen CJ, Tung KC, Sheu WH. Adipose proinflammatory cytokine expression through sympathetic system is associated with hyperglycemia and insulin resistance in a rat ischemic stroke model. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2011;300:E155-E163.
206- Cupples WA. Peptides that regulate food intake. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2003; 284:R1370-R1374.
207- Sabench F, Hernández M, Blanco S et al. Efectos de la transposición ileal, el bypass gastroyeyunal y la gastroplastia vertical en la regulación de la ingesta en un modelo experimental de obesidad relacionada con diabetes mellitus tipo 2. Cir Española. 2009; 85: 222– 228.
208- Valassi E, Scacchi M, Cavagnini F. Neuroendocrine control of food intake. Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2008;18:158-168.
209- Gracia JA, Martínez M, Elia M, Aguilella V, Royo P, Jiménez A, Bielsa MA, Arribas D. Obesity surgery results depending on technique performed: long-term outcome. Obes Surg. 2009; 19: 432-438.
210- Sabench F. Hernández M. Blanco S. del Castillo D. Cirugía experimental y obesidad mórbida. Cir Esp 2004; 75: 56-63.
211- Ferrannini E, Mingrone G. Impact of different bariatric surgical procedures on insulin action and beta-cell function in type 2 diabetes. Diabetes Care. 2009;32:514-520.
212- 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/m2. Obes Surg. 2007; 17:185-192.
213- Carbajo Caballero MA. Comentario al artículo Obesidad mórbida del bypass yeyuno-cólico a la robotica. Enseñanzas de la primera serie de pacientes operados en el mundo por obesidad de Payne HJ en 1963 en el American Journal of Surgery. Nutr Hosp. 2006; 21:77-95.
214- Buchwald H, Oien DM. Metabolic/bariatric surgery Worldwide 2008. Obes Surg. 2009;19:1605-1611.
215- Scopinaro N, Marinari GM, Camerini GB, Papadia FS, Adami GF. Specific effects of biliopancreatic diversion on the major components of metabolic syndrome: a long-term follow-up study. Diabetes Care. 2005; 28:2406-2411.
216- Luyckx FH, Scheen AJ, Desaive C, Dewe W, Gielen JE, Lefebvre PJ. Effects of gastroplasty on body weight and related biological abnormalities in morbid obesity. Diabetes Metab. 1998; 24:355-361.

217- Chapman AE, Kiroff G, Game P, Foster B, O'Brien P, Ham J, Maddern GJ. Laparoscopic adjustable gastric banding in the treatment of obesity: a systematic literature review. Surgery. 2004;135:326-351.
218- Catheline JM, Cohen R, Khochtali I, Bihan H, Reach G, Benamouzig R, Benichou J. Treatment of super super morbid obesity by sleeve gastrectomy. Presse Med. 2006; 35:383-387.
219- Serra C, Pérez N, Bou R, Bengochea M, Martínez R, Baltasar A. Laparoscopic sleeve gastrectomy. A bariatric procedure with multiple indications. Cir Esp. 2006;79:289-292.
220- Vidal J, Ibarzabal A, Romero F, Delgado S, Momblán D, Flores L, Lacy A. Type 2 diabetes mellitus and the metabolic syndrome following sleeve gastrectomy in severely obese subjects. Obes Surg. 2008; 18:1077-1082.
221- Collins BJ, Miyashita T, Schweitzer M, Magnuson T, Harmon JW. Gastric bypass: why Roux-en-Y? A review of experimental data. Arch Surg. 2007;142:1000-1003.
222- Podnos YD, Jimenez JC, Wilson SE, Stevens CM, Nguyen NT. Complications after laparoscopic gastric bypass: a review of 3464 cases. Arch Surg. 2003;138:957-961.
223- Dolan K, Hatzifotis M, Newbury L, Lowe N, Fielding G. A clinical and nutritional comparison of biliopancreatic diversion with and without duodenal switch. Ann Surg. 2004;240:51-56.
224- Hedberg J, Hedenström H, Karlsson FA, Edén-Engström B, Sundbom M. Gastric Emptying and Postprandial PYY Response After Biliopancreatic Diversion with Duodenal Switch. Obes Surg. 2011; 21:609-615.
225- Strader AD, Vahl TP, Jandacek RJ, Woods SC, D'Alessio DA, Seeley RJ. Weight loss through ileal transposition is accompanied by increased ileal hormone secretion and synthesis in rats. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2005;288:E447-E453.
226- Rutledge R. The mini-gastric bypass: experience with the first 1,274 cases. Obes Surg. 2001;11:276-280.
227- 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/m2. J Gastrointest Surg. 2008;12:945-952.
228- Carbajo M, García-Caballero M, Toledano M, Osorio D, García-Lanza C, Carmona JA. One-anastomosis gastric bypass by laparoscopy: results of the first 209 patients. Obes Surg. 2005;15:398-404.
229- García-Caballero M, Valle M, Martínez-Moreno JM, Miralles F, Toval JA, Mata JM, Osorio D, Mínguez A. Resolution of diabetes mellitus and metabolic syndrome in normal weight 24-29 BMI patients with One Anastomosis Gastric Bypass. Nutr Hosp. 2012;27:623-631.
230- García-Caballero M. Carbajo M. Bypass gástrico de una sola anastomosis: resultados después de la curva de aprendizaje. Nutr Hosp. 2004;19:372-375.
231- Geloneze B, Geloneze SR, Fiori C, Stabe C, Tambascia MA, Chaim EA, Astiarraga BD, Pareja JC. Surgery for nonobese type 2 diabetic patients: an interventional study with duodenal-jejunal exclusion. Obes Surg. 2009;19:1077-1083.

232- Ramos AC, Galvão Neto MP, de Souza YM, Galvão M, Murakami AH, Silva AC, Canseco EG, Santamaría R, Zambrano TA. Laparoscopic duodenal-jejunal exclusion in the treatment of type 2 diabetes mellitus in patients with BMI<30 kg/m2 (LBMI). Obes Surg. 2009;19:307-312.
233- Sánchez-Pernaute A, Rubio Herrera MA, Pérez-Aguirre E, García Pérez JC, Cabrerizo L, Díez Valladares L, Fernández C, Talavera P, Torres A. Proximal duodenal-ileal end-to-side bypass with sleeve gastrectomy: proposed technique. Obes Surg. 2007;17:1614-1618.
234- Sanchez-Pernaute A, Rubio MA, Pérez 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;9:731-735.
235- Sclafani A, Aravich PF, Landman M. Vagotomy blocks hypothalamic hyperphagia in rats on a chow diet and sucrose solution, but not on a palatable mixed diet. J Comp Physiol Psychol. 1981;95:720-734.
236- Sclafani A, Aravich PF. Macronutrient self-selection in three forms of hypothalamic obesity. Am J Physiol. 1983;244:R686-R694.
237- Nieben OG, Harboe H. Intragastric balloon as an artificial bezoar for treatment of obesity. Lancet 1982;1:198-199
238- Bonazzi P, Petrelli MD, Lorenzini I, Peruzzi E, Nicolai A, Galeazzi R. Gastric emptying and intragastric balloon in obeses patients. Eur Rev Pharmacol Sci. 2005;9:15-21.
239- Mion F, Napoleon B, Roman S, Malvoisin E, Trepo F, Pujol B, et al. Effects of intragastric balloon on gastric emptying and plasma ghrelin levels in non-morbid obese patients. Obes Surg 2005;15:510-516
240- Devière J, Ojeda Valdes G, Cuevas Herrera L, Closset J, Le Moine O, Eisendrath P, et al. Safety, feasibility and weight loss after transoral gastroplasty: first human multicenter study. Surg Endosc 2008;22:589-598.
241- Moreno C, Closset J, Dugardeyn S, Baréa M, Medí A, Collignon L, et al. Transoral gastroplasty is safe, feasible, and induces significant weight loss in morbidly obese patients: results of the second human pilot study. Endoscopy 2008;40:406-413
242- Gersin KS et al: Open-label, sham controlled trial o fan endoscopic duodenojejunal bypass liner for preoperative weight loss in bariátrica surgery candidates. Gastrointest Endosc 2010; 71: 976-982
243- Schouten R et al: A multicenter, randomized efficacy study of the endobarrier gastrointestinal liner for presurgical weight loss prior to bariátrica surgery. Ann Surg 2010; 251: 236-243.
244- 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;251:399-405.
245- Zimmet P, Alberti KG, Rubino F, Dixon JB. IDF's view of bariatric surgery in type 2 diabetes. Lancet 2011;378:108-110.
246- Dixon JB, Zimmet P, Alberti KG, Rubino F. Bariatric surgery: an IDF statement for obese Type 2 diabetes. Surg Obes Relat Dis 2011;7:433-47.

247- Rubio MA, Monereo S, Lecube A, Resa J, Masdevall C, de lC, V, et al. Joint Position Statement of the SEEN-SECO-SEEDO-SED Societies on metabolic surgery for type 2 diabetes mellitus. Endocrinol Nutr 2013;60:547-548.
248- Fischer AB: Twenty-five years after Billroth II gastrectomy for duodenal ulcer, World J Surg. 1984;8293-302.
249- Gavriliu D. State of the art of esophageal reconstruction by gastric tube. (138 patients). 1965] Ann Chir. 1997;51:578-580.
250- O'Connor TW. A Historical Review of Reversed Gastric Tube Esophagoplasty. Surgery, Gynecology and Obstetrics. 1983;156: 371-374.
251- Aszodi A., Ponsky JL. Simple Modification of the Gavriliu-Heimlich Gastric Tube. Surgery, Gynecology and Obstetrics. 1989;169:454-456
252- Carbajo MA., Ortiz de Solórzano J., García-Lanza C., Pérez Miranda M., Guadalupe Fonseca O., Castro MJ. Bypass gástrico laparoscópico de una sola anastomosis (BAGUA) asistido con brazo robótico: Técnica y resultados en 1,126 pacientes. Cirugía Endoscópica. 2008;9: 7-13.
253- Goto Y, Kakizaki M, Masaki N. Production of spontaneous diabetic rats by repetition of selective breeding. Tohoku J Exp Med. 1976;119:85-90.
254- 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;9:387-396.
255- J. Arias-Díaz y J. Balibrea. Modelos animales de intolerancia a la glucosa y diabetes tipo 2. Nutr Hosp. 2007;22:160-168.
256- Miralles F, Portha B. Early development of beta-cells is impaired in the GK rat model of type 2 diabetes. Diabetes. 2001;50: S84
257- Portha B, Giroix MH, Tourrel-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;933:125-159.
258- Portha B, Lacraz G, Kergoat M, Homo-Delarche F, Giroix MH, Bailbé D, Gangnerau MN, Dolz M, Tourrel-Cuzin C, Movassat J. The GK rat beta-cell: a prototype for the diseased human beta-cell in type 2 diabetes? Mol Cell Endocrinol. 2009;297:73-85.
259- Mistry SB, Omana JJ y Kini S. Obes Surg. Rat Models for Bariatric Surgery and Surgery for Type 2 Diabetes Mellitus. 2009; 19: 655–660.
260- Rees DA, Alcolado JC. Animal models of diabetes mellitus. Diabet Med. 2005;22:359-370.
261- Sone H, Kawakami Y, Okuda Y, Sekine Y, Honmura S, Matsuo K y cols. Ocular vascular endothelial growth factor levels in diabetic rats are elevated before observable retinal proliferative changes. Diabetología 1997;40: 726-730
262- Weng SG, Zhang B, Feng S, Xu CG, Lin CZ. Effects of modified biliopancreatic diversion on glucose tolerance of GK rats. Obes Surg. 2013;23:522-530.
263- Liu Y, Zhou Y, Wang Y, Geng D, Liu J. Roux-en-Y gastric bypass-induced improvement of glucose tolerance and insulin resistance in type 2 diabetic rats are mediated by glucagon-like peptide-1. Obes Surg. 2011;21:1424-1431.

264- Porter KA. The Kidneys, Symmers Systemic Pathology, vol 8, 3rd ed. Edinburg. Churchill Livingstone; 1992.
265- Zafar M. Naqvi SNH. Kaimkhani ZA.Altered kidney morphology and enzymes in streptozotocin induced diabetic rats. Int. J Morphol.2009; 27:783-790.
266- Cubillos V. López C. Alberdi A. Histopathologic and inmunohistochemical study of páncreas in alloxan-induced diabetic dogs. Arch Med Vet. 2008;40:169-177 (2008)
267- Mervaala EM, Muller D, Park J-K, Schmidt F, Breu V, Dragun D, Ganten D, Haller H, Luft FC. Monocyte infiltration and adhesion molecules in a rat model of high human renin hypertension. Hypertension. 1999;33:389–395.
268- 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;300:E923-E932.
269- Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al. Desing and validation of a histological scoring system for non-alcoholic fatty liver disease. Hepatology. 2005;41:1313-1321.
270- Dixon MF. The components of gastritis: Histology and pathogenesis.In Graham DY, Genta Rm. Dixon MF (eds.) Gastritis. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 1999. p51-66.
271- Correa P. Chronic gastritis: a clinico-pathological classification. Am J Gastroenterol 1988;83:504-509.
272- Buse JB, Caprio S, Cefau WT, Ceriello A, del Prato S, Inzucchi SE, et al. How do we define cure of diabetes? Diabetes care. 2009;32:2133-2135.
273- Ajala O, English P, Pinkney J. Systematic review and meta-analysis of different dietary approaches to the management of type 2 diabetes. Am J Clin Nutr. 2013;97:505-516.
274- Management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy: a consensus statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. Diabetes Care. 2006;29:1963-1972.
275- Nissen SE, Wolski K. Effect of rosiglitazone on the risk of myocardial infarction and death from cardiovascular causes. N Engl J Med. 2007;356:2457-2471.
276- Singh S, Loke YK, Furberg CD. Long-term risk of cardiovascular events with rosiglitazone: a meta-analysis. JAMA. 2007;298: 1189-1195.
277- Lovshin JA, Drucker DJ. Incretin-based therapies for type 2 diabetes mellitus. Nat Rev Endocrinol. 2009;5:262-269.
278- Martin JH, Deacon CF, Correll MD, Prins JB. Incretin-based therapies-review of the physiology, pharmacology and emerging clinical experience. Intern Med J. 2001;41:299-307.
279- Richter B, Bandeira-Echtler E, Bergerhoff K, et al. Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) inhibitors for type 2 diabetes mellitus. Cochrane Database Syst Rev. 2008;(2):CD006739.
280- Goldberg RB, Fonseca VA, Truitt KE, Jones MR. Efficacy and safety of colesevelam in patients with type 2 diabetes mellitus and inadequate

glycemic control receiving insulin-based therapy. Arch Intern Med. 2008;168:1531-1540.

281- Nyenwe BA, Jerkins TW, Umpierrez GE, et al. Management of type 2 diabetes: evolving strategies for the treatment of patients with type 2 diabetes. Metabolism. 2011;60:1-23.

282- DeFronzo RA, Davidson JA, Del Prato S. The role of the kidneys in glucose homeostasis: a new path towards normalizing glycaemia. Diabetes Obes Metab. 2012;14:5-14.

283- Ferrannini E, Ramos SJ, Salsali A, et al. Dapagliflozin monotherapy in type 2 diabetic patients with inadequate glycemic control by diet and exercise: a randomized, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. Diabetes Care. 2010;33: 2217-2224.

284- Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research, Endocrinologic and Metabolic Drugs Advisory Committee. Proceedings from July 19, 2011. [Consultado en Enero 2015]. Disponible en: http://www.fda.gov/downloads/AdvisoryCommittees/CommitteesMeetingMaterials/Drugs/EndocrinologicandMetabolicDrugsAdvisoryCommittee/UCM268727.pdf.

285- Mazzola N. Review of current and emerging therapies in type 2 diabetes mellitus. Am J Manag Care. 2012;18:S17-S26.

286- John WG, Mosca A, Weykamp C, Goodall I. HbA1c Standardisation: History, Science and Politics. Clin Biochem Rev 2007;28:163-168

287- Sacks DB; ADA/EASD/IDF Working Group of the HbA1c Assay. Global Harmonization of Hemoglobin A1c. Clin Chem 2005;51:681-683.

288- 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;249:277-285.

289- 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;33:972-979.

290- Rahmoune H, Thompson PW, Ward JM, Smith CD, Hong G, Brown J. Glucose transporters in human renal proximal tubular cells isolated from the urine of patients with noninsulin-dependent diabetes. Diabetes 2005;54:3427-3434.

291- Kamran M, Peterson RG, Dominguez JH. Overexpression of GLUT2 gene in renal proximal tubules of diabetic Zucker rats. J Am Soc Nephrol 1997;8:943-948.

292- Mogensen CE. Maximum tubular reabsorption capacity for glucose and renal hemodynamcis during rapid hypertonic glucose infusion in normal and diabetic subjects. Scand J Clin Lab Invest 1971;28:101-109

293- Araúz-Pacheco C, Raskin P: Management of hypertension in diabetes. Endocrinol Metabolic Clin N A. 1992;21: 371–394.

294- Stehouwer CDA, Yudking JS, Fioretto P, Nosadini R: How heterogeneous is microalbimuniria in diabetes mellitus ? The case for "benign and

"malignant" microalbuminuria. Nephrol Dial Transplant 1998;13:1751–1754.

295- Cohen MP, Sharma K, Eltayeb BO, Ziyadeh FN: The renal TGF - ß system in the DB / db mouse model of diabetic nephropathy. Exp Nephrol. 1998;6:226-233.

296- Defarrari G, Repetto M, Calvi C, Ciabattoni M, Rossi C, Robaudo C: Diabetic nephropathy: from micro to macroalbuminuria. Nephrol Dial Transplan 1998;13: S11-S15.

297- The Diabetes Control and Complication (DCCT) Research Group: Effect of intensive therapy on the development and progression of diabetic nephropathy in the Diabetes Control and Complications Trial. Kidney Int 1995;47:1703-1720.

298- Gwozdziewiczová S, Lichnovská R, Ben Yahia R, Chlup R, Hrebícek J. TNF-alpha in the development of insulin resistance and other disorders in metabolic syndrome. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2005;149:109-17

299- Mishima Y, Kuyama A, Tada A, Takahashi K, Ishioka T, Kibata M. Relationship between tutmor necrosis factor-α and insulina resistance in obese men with type 2 diabetes mellistus. Diabetes Res Clin Pract. 2001;52:119–123.

300- Costa A, Fernandez-Real JM, Vendrell J, Broch M, Casamitjana R, Ricart W, Conget I. Lower rate of tumor necrosis factor-alpha -863A allele and higher concentration of tumor necrosis factor-alpha receptor 2 in first-degree relatives of subjects with type 2 diabetes. Metabolism 2003; 52: 1068-1071.

301- Muller S, Martin S, Koenig W, Hanifi-Moghaddam P, Rathmann W, Haastert B, Giani G, Illig T, Thorand B, Kolb H. Impaired glucose tolerance is associated with increased serum concentrations of interleukin 6 and co-regulated acute-phase proteins but not TNF-alpha or its receptors. Diabetologia 2002; 45: 805-812.

302- Fernández-Real JM, Ricart W. Insulinresistance and inflammation in an evolutionary perspective: the contribution of cytokinegenotype/ phenotype to thriftiness. Diabetologia 1999; 42: 1367–1374.

303- Fernández-Real JM, Ricart W. Insulin resistance and chronic cardiovascular inflammatory syndrome. Endocrine Reviews 2003; 24: 278-301.

304- Butler, A.E., et al., Beta-cell deficit and increased beta-cell apoptosis in humans with type 2 diabetes.Diabetes, 2003; 52:102-110.

305- Bonner-Weir, S., Smith FE. Islet cell growth and the growth factors involved. Trends Endocrinol Metab. 1994;5:60-64.

306- Dixon JB, O'Brien PE, Playfair J, Chapman L, Schachter LM, Skinner S, Proietto J, Bailey M, Anderson M. Adjustable gastric banding and conventional therapy for type 2 diabetes: a randomized controlled trial. JAMA. 2008;299:316–323.

307- Schauer PR, Burguera B, Ikramuddin S, Cottam D, Gourash W, Hamad G, Eid GM, Mattar S, Ramanathan R, Barinas-Mitchel E, Rao RH, Kuller L,

Kelley D. Effect of laparoscopic Roux-en Y gastric bypass on type 2 diabetes mellitus. Ann Surg 238: 467–484; discusión 484–465, 2003.
308- Sugerman HJ, Wolfe LG, Sica DA, Clore JN. Diabetes and hipertensión in severe obesity and effects of gastric bypass-induced weight loss. Ann Surg. 2003;237:751–756.
309- Ferrannini E. The stunned beta cell: a brief history. Cell Metab. 2010; 11:349–352.
310- Porat S, Weinberg-Corem N, Tornovsky-Babaey S, Schyr-Ben-Haroush R, Hija A, Stolovich-Rain M, Dadon D, Granot Z, Ben-Hur V, White P, et al. Control of pancreatic beta cell regeneration by glucose metabolism. Cell Metab. 2011; 13:440–449.
311- Salpeter SJ, Klochendler A, Weinberg-Corem N, Porat S, Granot Z, Shapiro AM, Magnuson MA, Eden A, Grimsby J, Glaser B, et al. Glucose regulates cyclin D2 expression in quiescent and replicating pancreatic beta-cells through glycolysis and calcium channels. Endocrinology. 2011;152:2589–2598.
312- Salpeter SJ, Klein AM, Huangfu D, Grimsby J, Dor Y. Glucose and aging control the quiescence period that follows pancreatic beta cell replication. Development. 2010;137:3205–3213.
313- 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;303:E515-E523.
314- Shibata M, Kihara Y, Taguchi M, et al. Nonalcoholic fatty liver disease is a risk factor for type 2 diabetes in middle-aged japanese men. Diabetes Care. 2007;30:2940–2944.
315- Bae JC, Rhee EJ, Lee WY, et al. Combined effect of nonalcoholic fatty liver disease and impaired fasting glucose on the development of type 2 diabetes: A 4-year retrospective longitudinal study. Diabetes Care. 2011;34:727–729.
316- Kotronen A, Juurinen L, Hakkarainen A, et al. Liver fat is increased in type 2 diabetic patients and underestimated by serum alanine aminotransferase compared with equally obese nondiabetic subjects. Diabetes Care. 2008;31:165–169.
317- Jacobs M, van Greevenbroek MM, van der Kallen CJ, et al. The association between the metabolic syndrome and alanine amino transferase is mediated by insulin resistance via related metabolic intermediates (the cohort on diabetes and atherosclerosis maastricht [codam] study) Metabolism. 2011;60:969–975.
318- Kotronen A, Juurinen L, Tiikkainen M, et al. Increased liver fat, impaired insulin clearance, and hepatic and adipose tissue insulin resistance in type 2 diabetes. Gastroenterology. 2008;135:122–130.
319- Taylor R. Pathogenesis of type 2 diabetes: Tracing the reverse route from cure to cause. Diabetologia. 2008;51:1781–1789.
320- Seppala-Lindroos A, Vehkavaara S, Hakkinen AM, et al. Fat accumulation in the liver is associated with defects in insulin suppression of glucose

production and serum free fatty acids independent of obesity in normal men. J Clin Endocrinol Metab. 2002;87:3023–3028.

321- Chitturi S, Abeygunasekera S, Farrell GC, et al. Nash and insulin resistance: Insulin hypersecretion and specific association with the insulin resistance syndrome. Hepatology. 2002;35:373–379.

322- Perseghin G, Bonfanti R, Magni S, et al. Insulin resistance and whole body energy homeostasis in obese adolescents with fatty liver disease. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2006;291:E697–E703.

323- Lin HZ, Yang SQ, Chuckaree C, et al. Metformin reverses fatty liver disease in obese, leptin-deficient mice. Nat Med. 2000;6:998–1003.

324- Petersen KF, Dufour S, Befroy D, et al. Reversal of nonalcoholic hepatic steatosis, hepatic insulin resistance, and hyperglycemia by moderate weight reduction in patients with type 2 diabetes. Diabetes. 2005;54:603–608.

325- Tsuchida T, Shiraishi M, Ohta T, et al. Ursodeoxycholic acid improves insulin sensitivity and hepatic steatosis by inducing the excretion of hepatic lipids in high-fat diet-fed kk-ay mice. Metabolism. 2012;61:944–953.

326- Tilg H, Moschen AR. Evolution of infammation in nonalcoholicfatty liver disease: the multiple parallel hits hypothesis. Hepatology. 2010;52:1836–1846

327- Goto Y, Suzuki K, Sasaki M, Ono T, Abe S: GK rat as a model of nonobese, noninsulin-dependent diabetes: selective breeding over 35 generations. Shafrir E Renold AE eds. Frontiers in Diabetes Research: Lessons from Animal Diabetes II. 1988, :pp 301-303 John Libbey London.

328- Goto Y, Suzuki K, Ono T, Sasaki M, Toyota T. Developmentof diabetes in the non-obese NIDDM rat (GK rat) Adv Exp Med Biol. 1988;246:29–31.

329- Srinivasan K, Ramarao P. Animal models in type 2 diabetes research: an overview. Indian J Med Res. 2007;125:451–472.

330- Almon RR, DuBois DC, Lai W, Xue B, Nie J, Jusko WJ. Gene expression analysis of hepatic roles in cause and development of diabetes in Goto-Kakizaki rats. J Endocrinol. 2009;200:331–346.

331- Harris EH. Elevated liver function tests in type 2 diabetes. Clinical Diabetes. 2005;23:115–119.

332- Lewis GF, Carpentier A, Adeli K, Giacca A. Disordered fat storage and mobilization in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. Endocr Rev. 2002;23:201–229.

333- Nie J, Xue B, Sukumaran S, Jusko WJ, DuBois DC, Almon RR. Differential muscle gene expression as a function of disease progression in Goto-Kakizaki diabetic rats. Mol Cell Endocrinol. 2011;338:10–17.

334- Xue B, Sukumaran S, Nie J, Jusko WJ, DuBois DC, Almon RR. Adipose tissue deficiency and chronic inflammation in diabetic Goto-Kakizaki rats. PLoS One. 2011;6.

335- Rutledge R, Walsh TR. Continued excellent results with the mini-gastric bypass: six-year study in 2,410 patients. Obes Surg. 2005;15:1304-1308.

336- Lee WJ, Yu PJ, Wang W, Chen TC, Wei PL, Huang MT. Laparoscopic Roux-en-Y versus mini-gastric bypass for the treatment of morbid obesity. Ann Surg. 2005;242:20-28

337- Chakhtoura G, Zinzindohoue´ F, Ghanem Y, Ruseykin I, Dutranoy JC, Chevallier JM. Primary results of laparoscopic mini-gastric bypass in a French obesity-surgery specialized university hospital. Obes Surg. 2008;18:1130-1133.
338- Peraglie C. Laparoscopic mini-gastric bypass (LMGB) in the super–super obese: outcomes in 16 patients. Obes Surg. 2008;18:1126-1129.
339- Piazza L, Ferrara F, Leanza S, Coco D, Sarva` S, Bellia A, Di Stefano C, Basile F, Biondi A. Laparoscopic mini-gastric bypass: short-term single-institute experience. Updates Surg. 2011;63:239-242.
340- Noun R, Skaff J, Riachi E, Daher R, Antoun NA, Nasr M. One thousand consecutive mini-gastric bypass: short- and long-term outcome. Obes Surg. 2012;22:697-703.
341- Chevallier JM, Arman GA, Guenzi M, Rau C, Bruzzi M, Beaupel N, Zinzindohoué F, Berger A. One Thousand Single Anastomosis (Omega Loop) Gastric Bypasses to Treat Morbid Obesity in a 7-Year Period: Outcomes Show Few Complications and Good Efficacy. Obes Surg. 2015 Jan 14. PMID: 25585612
342- Lee WJ, Ser KH, Lee YC, et al. Laparoscopic Roux-en-Y vs. mini-gastric bypass for the treatment of morbid obesity: a 10-year experience. Obes Surg. 2012;22(12):1827–34
343- Rutledge R. Hospitalization before and after mini-gastric bypass surgery. Int J Surg. 2007;5:35–40.
344- Quezada N, León F, Jones A, Varas J, Funke R, Crovari F, Raddatz A, Pérez G, Escalona A, Boza C. High Frequency of Internal Hernias After Roux-en-Y Gastric Bypass. Obes Surg. 2015 Feb 1. PMID: 25638655
345- Fischer AB, Graem N, Jensen OM. Risk of gastric cancer after Billroth II resection for duodenal ulcer. Br J Surg. 1983;70:552-554.
346- Tokudome S, Kono S, Ikeda M, Kuratsune M, Sano C, Inokuchi K, Kodama Y, Ichimiya H, Nakayama F, Kaibara N, et al. A prospective study on primary gastric stump cancer following partial gastrectomy for benign gastroduodenal diseases. Cancer Res. 1984;44:2208-2212.
347- Ito M, Takata S, Tatsugami M, Wada Y, Imagawa S, Matsumoto Y, Takamura A, Kitamura S, Matsuo T, Tanaka S, Haruma K, Chayama K. Clinical prevention of gastric cancer by Helicobacter pylori eradication therapy: a systematic review. J Gastroenterol. 2009;44:365-371.
348- Tersmette AC, Offerhaus GJ, Tersmette KW, Giardiello FM, Moore GW, Tytgat GN, Vandenbroucke JP. Meta-analysis of the risk of gastric stump cancer: detection of high risk patient subsets for stomach cancer after remote partial gastrectomy for benign conditions. Cancer Res. 1990;50:6486-6489.
349- Offerhaus GJ, Tersmette AC, Giardiello FM, Huibregtse K, Vandenbroucke JP, Tytgat GN. Evaluation of endoscopy for early detection of gastric-stump cancer. Lancet. 1992;340:33-35.
350- Sacks BC, Mattar SG, Qureshi FG, et al. Incidence of marginal ulcers and the use of absorbable anastomotic sutures in laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass. Surg Obes Relat Dis. 2006;2:11–6.

351- Gumbs AA, Duffy AJ, Bell RL. Incidence and management of marginal ulceration after laparoscopic Roux-Y gastric bypass. Surg Obes Relat Dis. 2006;2:460–463.
352- Dallal RM, Bailey LA. Ulcer disease after gastric bypass surgery. Surg Obes Relat Dis. 2006;2:455–459.
353- McCarthy HB, Rucker RD, Chan EK, et al. Gastritis after gastric bypass surgery. Surgery. 1985;98:68–71.
354- Fisher BL, Buchwald H, Clark W, et al. Mini-gastric bypass controversy. Obes Surg. 2001;11:773–777.
355- Olchowski S, Timms MR, O'Brien P, et al. More on mini gastric bypass. Obes Surg. 2001;11:532.
356- Johnson WH, Fernanadez AZ, Farrell TM, et al. Surgical revision of loop ("mini") gastric bypass procedure: multicenter review of complications and conversions to Roux-en-Y gastric bypass. Surg Obes Relat Dis. 2007;3:37–41.
357- Folwaczyny C, Riepl R, Tschop M, Landgraf R. Gastrointestinal involvement in patients with diabetes mellitus: Part I (first of two parts). Epidemiology, pathophysiology, clinical findings. Z Gastroenterol. 1999;37:803-15.
358- Verne GN, Sninsky CA. Diabetes and the gastrointestinal tract. Gastroenterol Clin North Am. 1998;27:861-874.
359- Zoubi SA, Williams MD, Mayhew TM, Sparrow RA. Number and ultrastructure of epithelial cells in crypts and villi along the streptozotocin-diabetic small intestine: a quantitative study on the effects of insulin and aldose reductase inhibition. Virchows Arch. 1995;427:187-193.
360- Mayhew TM, Carson FL, Sharma AK. Small intestinal morphology in experimental diabetic rats: a stereological study on the effects of an aldose reductase inhibitor (ponalrestat) given with or without conventional insulin therapy. Diabetologia. 1989;32:649-654.
361- Zoubi SA, Mayhew TM, Sparrow RA. The small intestine in experimental diabetes: cellular adaptation in crypts and villi at different longitudinal sites. Virchows Arch. 1995;426:501-507.
362- Tahara T, Yamamoto T. Morphological changes of the villous microvascular architecture and intestinal growth in rats with streptozotocin-induced diabetes. Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol. 1988;413:151-158.
363- Charlton M, Ahlman B, Nair KS. The effect of insulin on human small intestinal mucosal protein synthesis. Gastroenterology. 2000;118:299-306.
364- Jørgensen CS, Ahrensberg JM, Gregersen H, Flyvberg A. Tension-strain relation and morphometry of rat small intestine in experimental diabetes. Dig Dis Sci. 2001;46:960-967.
365- Jervis EL, Levin RJ. Anatomic adaptation of the alimentary tract of the rat to the hyperphagia of chronic alloxan-diabetes. Nature 1966;210:391-393.
366- Granneman JG, Stricker EM. Food intake and gastric emptying in rats with streptozotocin-induced diabetes. Am J Physiol. 1984;247:R1054-R1061.

367- Miller DL, Hanson W, Schedl HP, Osborne JW. Proliferation rate and transit time of mucosal cells in small intestine of diabetic rat. Gastroenterology. 1977;73:1326-1332.
368- Noda T, Iwakiri R, Fujimoto K et al. Suppression of apoptosis is responsible for increased thickness of intestinal mocosa in streptozotocin-induced diabetic rats. Metabolism. 2001;50:259-264.
369- Drucker DJ. Biological actions and therapeutic potential of the glucagon-like peptides. Gastroenterology. 2002;122:531-544.
370- Dou Y, Gregersen S, Zhao J, Zhuang F, Gregersen H. Morphometric and biomechanical intestinal remodeling induced by fasting in rats. Dig Dis Sci 2002;47:1158-1168..
371- Monnier VM, Glomb M, Elgawish A, Sell DR. The mechanism of collagen cross-linking in diabetes: a puzzle nearing resolution. Diabetes. 1996;45:S67-S72.
372- Zhao J, Yang J, Gregersen H. Biomechanical and morphometric intestinal remodelling during experimental diabetes in rats. Diabetologia. 2003;46:1688-1697.
373- Cowles VE, Sarna SK. Trichinella spiralis infection alters small bowel motor activity in the fed state. Gastroenterology 1991;101:664-669.
374- Torrents D, Vergara P. In vivo changes in the intestinal reflexes and the response to CCK in the inflamed small intestine of the rat. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2000;279:G543-G551.
375- Viswanathan V. Prevention of Diabetic Nephropathy: A diabetologist's perspective. Indian J Nephrol. 2004;14:157–162.
376- Phillips AO, Baboolal K, Riley S et al. Association of prolonged hyperglycemia with glomerular hypertrophy and renal basement membrane thickening in the Goto Kakizaki model of non-insulin-dependent diabetes mellitus. Am J Kidney Dis 2001; 37: 400–410.
377- Yagihashi S, Goto Y, Kakizaki M, Kaseda N. Thickening of glomerular basement membrane in spontaneously diabetic rats. Diabetologia 1978; 15: 309–312
378- Schrijvers BF, De Vriese AS, Van de Voorde J, Rasch R, Lameire NH, Flyvbjerg A. Long-term renal changes in the Goto-Kakizaki rat, a model of lean type 2 diabetes. Nephrol Dial Transplant. 2004;19:1092-1097.
379- Cheng ZJ, Vaskonen T, Tikkanen I, Nurminen K, Ruskoaho H, et al. Endothelial dysfunction and salt-sensitive hypertension in spontaneously diabetic Goto-Kakizaki rats. Hypertension. 2001;37:433–439.
380- Janssen U, Riley SG, Vassiliadou A, Floege J, Phillips AO. Hypertension superimposed on type II diabetes in Goto Kakizaki rats induces progressive nephropathy. Kidney Int. 2003;63:2162–2170.

ÍNDICE DE TABLAS.

Tabla 1: algoritmo diagnóstico de la DM……..9
Tabla 2: algoritmo diagnóstico de la DM……9
Tabla 3: objetivo del control de la DMT2……14
Tabla 4: principales alteraciones en la DMT2 y su modificación con la infusión de péptido similar al glucagón tipo 1 ……24
Tabla 5: principales diferencias de los fármacos con acción incretina……..25
Tabla 6: distribución del coste sanitario medio anual del paciente diabético tipo 2 en España ……27
Tabla 7: costes indirectos de la DM en España 2005 ……27
Tabla 8: coste de las complicaciones agudas y crónicas de la DM en España……28
Tabla 9: costes medios (desviación estándar) en euros por paciente y año de la DMT2 y de los recursos sanitarios usados en ella, en otros países europeos, según el estudio CODE-2……28
Tabla 10: principales estudios nacionales de costes en pacientes con DMT2 en España. Costes en € por paciente y año……29
Tabla 11: características comprables en la DMT2 del humano y rata GK……117
Tabla 12: signos indicativos de dolor……134
Tabla 13: signos clínicos que indican revisión de analgesia……134
Tabla 14: utilización del dolor como criterio de eutanasia……135
Tabla 15: monitorización postoperatoria……136
Tabla 16: signos de irritación intestinal……137
Tabla 17: semicuantitativos de orina……143
Tabla 18: estadísticos descriptivos de las mediciones de glucemia a los distintos tiempos de la SOG (glucemias en mg/dl)……159
Tabla 19: descriptivos a las 12 semanas de vida, glucemias en mg/dl……163
Tabla 20: descriptivos de la curva de glucemia tras SOG en animales operados con la intervención simulada Sham, previo al sacrificio……164
Tabla 21: descriptivos de la curva de glucemia tras SOG en animales operados con exclusión duodenal, previa al sacrificio y significación estadística……164
Tabla 22: descriptivos a las 16 semanas de vida, glucemias en gr/dl……166
Tabla 23: descriptivos de la curva de glucemia tras SOG en animales operados con la intervención simulada Sham, previo al sacrificio……167

Tabla 24: descriptivos de la curva de glucemia tras SOG en animales operados con exclusión duodenal, previa al sacrificio y significación estadística……..…..167
Tabla 25: descriptivos a las 20 semanas de vida, glucemias en mg/dl……..…169
Tabla 26: descriptivos de la curva de glucemia tras SOG en animales operados con la intervención simulada Sham, previo al sacrificio. ……..170
Tabla 27: descriptivos de la curva de glucemia tras SOG en animales operados con exclusión duodenal, previa al sacrificio y significación estadística……170
Tabla 28: significación estadística entre los niveles de glucemia…….……..172
Tabla 29: significación estadística entre los niveles de glucemia tras ED……..…173
Tabla 30: estadísticos descriptivos de los pesos preoperatorios……..175
Tabla 31: descriptivos de evolución del peso (en gr) en animales intervenidos a las 12 semanas……..176
Tabla 32: descriptivos de evolución del peso (en gr) en animales intervenidos a las 16 semanas……178
Tabla 33: descriptivos de evolución del peso (en gr) en animales intervenidos a las 20 semanas……..179
Tablas 34: descriptivos de los niveles de glucosa en orina en el grupo intervenido a las 12 semanas……..…181-182
Tabla 35: contingencia de ausencia de glucosuria en el grupo intervenido a las 12 semanas……..182
Tabla 36: descriptivos de los niveles de cuerpos cetónicos en orina en el grupo intervenido las 12 semanas……..……183
Tabla 37: contingencia de ausencia de cuerpos cetónicos en orina en el grupo intervenido a las 12 semanas……..……184
Tablas 38: descriptivos de los niveles de pH en orina en el grupo intervenido a las 12 semanas……185
Tabla 39: contingencia pH mayor a 5,5 en el grupo intervenido a las 12 semanas……..186
Tablas 40: descriptivos de la densidad en orina en el grupo intervenido as las 12 semanas……187
Tabla 41: contingencia densidad inferior a 1025 en el grupo intervenido a las 12 semanas……188
Tablas 42: descriptivos de los niveles de proteinuria en el grupo intervenido a las 12 semanas……..189

Tabla 43: contingencia proteinuria inferior a +1 en el grupo intervenido a las 12 semanas……190
Tablas 44: descriptivos de los niveles de glucosa en orina en el grupo intervenido a las 16 semanas……191
Tabla 45: contingencia ausencia de glucosuria en el grupo intervenido a las 16 semanas……192
Tablas 46: descriptivos de los niveles de cuerpos cetónicos en orina en el grupo intervenido a las 16 semanas……193
Tabla 47: contingencia ausencia de cuerpos cetónicos en el grupo intervenido a las 16 semanas……194
Tablas 48: descriptivos de los niveles de pH en orina en el grupo intervenido a las 16 semanas……195
Tabla 49: contingencia pH superior a 5,5 en el grupo intervenido a las 16 semanas……196
Tablas 50: descriptivos de la densidad en orina en el grupo intervenido a las 16 semanas ……197
Tabla 51: contingencia densidad inferior a 1025 en el grupo intervenido a las 16 semanas……198
Tablas 52: descriptivos de los niveles de proteinuria en el grupo intervenido a las 16 semanas……199
Tabla 53: contingencia proteinuria inferior a +1 en el grupo intervenido a las 16 semanas……200
Tablas 54: descriptivos de los niveles de glucosa en orina en el grupo intervenido a las 20 semanas……201
Tabla 55: contingencia ausecia de glucosuria en el grupo intervenido a las 20 semanas ……202
Tablas 56: descriptivos de los niveles de cuerpos cetónicos en orina en el grupo intervenido a las 20 semanas……203
Tabla 57: contingencia ausecia de cuerpos cetónicos en orina en el grupo intervenido a las 20 semanas……204
Tablas 58: descriptivos de los niveles de pH en orina en el grupo intervenido a las 20 semanas……205
Tabla 59: contingencia pH urinario mayor a 5,5 en el grupo intervenido a las 20 semanas……206
Tablas 60: descriptivos de la densidad de orina en el grupo intervenido a las 20 semanas……207
Tabla 61: contingencia densidad urinaria inferior a 1025 en el grupo intervenido a las 20 semanas……208
Tablas 62: descriptivos de los niveles de proteinuria en el grupo intervenido a las 20 semanas……209

Tabla 63: contingencia proteinuria inferior a +1 en el grupo intervenido a las 20 semanas…….210
Tablas 64: descriptivos de los niveles de glucosuria a las 20 semanas de vida……..211
Tabla 65: contingencia ausencia de glucosuria a las 20 semanas de vida……..212
Tablas 66: descriptivos de los niveles de cuerpos cetónicos en orina a las 20 semanas de vida…….213
Tabla 67: contingencia ausencia de cuerpos cetónicos en orina a las 20 semanas de vida……..210
Tablas 68: descriptivos de los niveles de pH en orina a las 20 semanas de vida……214-215
Tabla 69: contingencia pH urinario inferior a 5,5 a las 20 semanas de vida……215
Tablas 70: descriptivos de la densidad en orina a las 20 semanas de vida……216
Tabla 71: contingencia densidad urinaria inferior a 1025 a las 20 semanas de vida……..217
Tablas 72: descriptivos de los niveles de proteinuria a las 20 semanas de vida……..217
Tabla 73: contingencia proteinuria inferior a +1 a las 20 semanas de vida……..218
Tabla 74: descriptivos de los valores de FNTα en animales intervenidos a las 12 semanas……219
Tabla 75: descriptivos de los niveles de FNTα en animales intervenidos a las 16 semanas……221
Tabla 76: descriptivos de los niveles de FNTα en animales intervenidos a las 20 semanas……222
Tabla 77: estadísticos de los porcetajes de islotes pancreáticos respecto el tejido total……..231
Tabla 78: descriptivos del análisis de la expresión del factor Nkx6.1 en los distintos cortes……...251
Tabla 79: correlación entre el porcentaje de islotes y diferentes valores séricos……257
Tabla 80: medias y desviación estardar de las longitudes de vellosidades de cada caso de ED a las 12 semanas de vida……265
Tabla 81: medias y desviación estardar de las longitudes de vellosidades de cada caso de ED a las 16 semanas de vida……..265
Tabla 82: medias y desviación estardar de las longitudes de vellosidades de cada caso de ED a las 20 semanas de vida……265

Tabla 83: significación estadística entre las longitudes de las vellosidades……...265
Tabla 84: hallazgos gástricosen el grupo con ED a las 12 semanas de vida…….....271
Tabla 85: hallazgos gástricosen el grupo con ED a las 16 semanas de vida…….....271
Tabla 86: hallazgos gástricosen el grupo con ED a las 20 semanas de vida…….....271
Tabla 87: tabla de contingencia mostrando los tipos de lesiones hallados a nivel renal…….274
Tabla 88: estimación del riesgo de aparición de glucosuria……..277
Tabla 89: estimación del riesgode aparición de cuerpos cetónicos en orina……..277
Tabla 90: estimación del riesgo de aparición de pH urinario inferior a 5,5……..278
Tabla 91: estimación del riesgo de aparición de densidad urinaria superior a 1025……278
Tabla 92: estimación del riesgo de aparición de proteinuria……279
Tabla 93: estimación del riesgo de aparición de aumento de FNTα……279
Tabla 94: estimación del riesgo de aparición de fibrosis hepática……280

ÍNDICE DE FIGURAS.

Fig. 1: metabolismo del GLP1 y mecanismo de acción de los fármacos con acción incretina……..24
Fig. 2. esquema representativo de la masa de células beta en diferentes estados fisiopatológicos……..41
Fig. 3:función del factor Nkx6.1 en la célula beta adulta……..47
Fig. 4. evolución natural de la diabetes mellitus tipo…. ……48
Fig. 5: acciones de la incretina GLP-1……..60
Fig. 6: técnica esperimental de exclusión dudenal……98
Fig. 7: técnica propuesta como resultado de los análisis descritos así como de la interacción de las técnicas comentadas……..……99
Fig. 8: anatomía abdominal de la rata……..125
Fig. 9: representación del sitio de sección gástrica……...126
Fig. 10: tracción caudal de la manga gástrica……...126
Fig. 11: Técnica propuesta final con ligadura a nivel del duodeno y anastomosis del primer tramo yeyunal con la manga gástrica formada……127
Fig. 12: curva de glucemia a las 8 semanas, diagrama de cajas a tiempo basal, 10, 30, 60 y 120 minutos tras la sobrecarga oral de glucosa……158
Fig. 13: histograma de glucosuria……160
Fig. 14: histograma de cuerpos cetónicos a las 8 semanas……..160
Fig. 15: histograma de densidad a las 8 semanas……..161
Fig. 16: histograma de pH a las 8 semanas……..161
Fig. 17: diagrama de cajas de la curva de glucemias tras SOG……..165
Fig. 18: gráfico de líneas de las curvas de SOG en grupos preoperatorio (preop), exclusión duodenal (Qx) y con intervención simulada (Sham)…… ……..165
Fig. 19: diagrama de cajas de las curva de glucemias tras SOG……..168
Fig. 20: gráfico de líneas de las curvas de SOG en grupos preoperatorio (preop), exclusión duodenal (ED) y con intervención simulada (Sham)……...168
Fig. 21: diagrama de cajas de la curva de glucemias tras SOG……..……171
Fig. 22: gráfico de líneas de las curvas de SOG en grupos preoperatorio (preop), exclusión duodenal (Qx) y con intervención simulada (Sham)……..171
Fig. 23: gráfica de lineas comparando las curvas de glucemias en los distintos grupos temporales previo a la intervención quirurgica……..172

Fig. 24: gráfica de cajas comparando las tres curvas de glucemias al momento del sacrificio……...173
Fig. 25: gráfica de cajas comparando las glucemias tras SOG en ambos grupos……174
Fig. 26: curva de la evolución del peso de los animales con respecto las semanas de vida…….……175
Fig. 27: evolutivo de los pesos en animales con preoperatorio (preop), exclusión duodenal (ED) y con cirugía simulada (Sham)……177
Fig. 28: evolutivo de los pesos en animales preoperatorio (preop), con exclusión duodenal (ED) y con cirugía simulada (Sham)……..…..178
Fig. 29: evolutivo de los pesos en animales preoperatorio (Preop), con exlcusión duodenal (ED) y con cirugía simulada (Sham)……179
Fig. 30: diagrama de cajas de los pesos tras exclusión duodenal y su grupo control……180
Fig. 31: niveles de glucosuria en el grupo intervenido a las 12 semanas……..182
Fig. 32: niveles de presencia de cuerpos cetónicos en orina en el grupo intervenido a las 12 semanas. ……..184
Fig. 33: niveles medidos de pH en orina en el grupo intervenido a las 12 semanas……..186
Fig. 34: desidades medidas en orina en el grupo intervenido a las 12 semanas……..188
Fig. 35: niveles de proteinuria en el grupo intervenido a las 12 semanas……..190
Fig. 36: niveles de glucosuria en el grupo intervenido a las 16 semanas……192
Fig. 37: niveles de presencia de cuerpos cetónicos en orina en el grupo intervenido a las 16 semanas……194
Fig. 38: niveles medidos de pH en orina en el grupo intervenido a las 16 semanas……196
Fig. 39: densidades medidas en orina en el grupo intervenido a las 16 semanas……198
Fig. 40: niveles de proteinuria en el grupo intervenido a las 16 semanas……..200
Fig. 41: niveles de glucosuria en el grupo intervenido a las 20 semanas……202
Fig. 42: niveles de presencia de cuerpos cetónicos en orina en el grupo intervenido a las 20 semanas……204
Fig. 43: niveles medidos de pH en orina en el grupo intervenido a las 20 semanas……..206

Fig. 44: densidades medidas en orina en el grupo intervenido a las 20 semanas…….208
Fig. 45: niveles de proteinuria en el grupo intervenido a las 20 semanas……...210
Fig. 46: niveles de glucosuria a las 20 semanas de vida……212
Fig. 47: niveles de presencia de cuerpos cetónicos en orina a las 20 semanas de vida……213
Fig. 48: niveles medidos de pH en orina a las 20 semanas de vida……215
Fig. 49: densidades medidas en orina a las 20 semanas de vida……216
Fig. 50: niveles de proteinuria a las 20 semanas de vida……218
Fig. 51: niveles de FNTα en animales intervenidos a las 12 semanas……..220
Fig. 52: niveles de FNTα en animales intervenidos a las 16 semanas……..221
Fig. 53: niveles de FNTα en animales intervenidos a las 20 semanas……..223
Fig. 54: gráfica de cajas comparando los niveles postoperatorios de FNTα tras la ED……224
Fig. 55: gráfica de cajas comparando niveles de FNTα a las 20 semanas de vida……225
Fig. 56: diagrama de barras del porcentaje de islotes beta……..231
Fig. 57: grado de infiltrado inflamatorio a las 20 semanas de vida en ratas intervenidas a las 12 semanas……232
Fig. 58: grado de infiltrado inflamatorio a las 24 semanas de vida en ratas intervenidas a las 16 semanas……233
Fig. 59: grado de infiltrado inflamatorio a las 28 semanas de vida en ratas intervenidas a las 20 semanas……233
Fig. 60: luminosidad relativa en relación al número de células beta y el área total del islote pancreático……251
Fig. 61: número de células beta……252
Fig. 62: grados de fibrosis en tejido pancreático a las 20 semanas de vida……253
Fig. 63: grados de fibrosis en tejido pancreático a las 24 semanas de vida……253
Fig. 64: grados de fibrosis en tejido pancreático a las 28 semanas de vida……254
Fig. 65: grados de esteatosis en el grupo intervenido a las 12 semanas……254
Fig. 66: grados de inflamación hepática en el grupo intervenido a las 12 semanas……259
Fig. 67: grados de fibrosis hepática el el grupo intervenido a las 12 semanas……259

Fig. 68: grados de esteatosis en el grupo intervenido a las 16 semanas……..260
Fig. 69: grados de inflamación hepática en el grupo intervenido a las 16 semanas……..260
Fig. 70: grados de fibrosis hepática en el grupo intervenido a las 16 semanas……..261
Fig. 71: grados de esteatosis en el grupo intervenido a las 20 semanas…….262
Fig. 72: grados de inflamación hepática en el grupo intervenido a las 20 semanas……..262
Fig. 73: grados de fibrosis en el grupo intervenido a las 20 semanas……263
Fig. 74: diagrama de barras de las longitudes de las vellosidades duodenales tras ED…….266
Fig. 75: diagrama de barras mostrando las longitudes de las vellosidades de las ratas con ED y las control-sham…….266
Fig. 76: grados de inflamación en ratas con ED a las 12 semanas de vida……267
Fig. 77: grados de inflamación en ratas con ED a las 16 semanas de vida……267
Fig. 78: grados de inflamación en ratas con ED a las 20 semanas de vida……268
Fig. 79: grado de inflamación en las ratas con ED……268
Fig. 80: diagrama de barras mostrando la incidencia del tipo de lesión a nivel renal……..274

ÍNDICE DE IMÁGENES.

Imágenes 1: secuencias T1 coronales, zona de anastomosis y ligadura de duodeno…….157
Imagenes 2: páncreas de rata con exclusión duodenal a las 12 semanas, a 10X……226
Imagen 3: páncreas de rata sham de 12 semanas a 5X……..227
Imagen 4: ausencia casi completa de islotes en ratas sham a las 20 semanas, los cuales son pequeños y de bordes irregulares. Imagen a 5X……..227
Imagenes 5: páncreas de ratas sham a las 16 semanas, a 5X……228
Imagen 6: islotes beta (flecha) en ratas con exclusión duodenal a las 16 semanas, imagen a 10X……229
Imágenes 7: islotes en ratas con exclusión duodenal a las 20 semanas, imagen a 10X de bordes irregulares(a) y 20X de bordes redondeados(b)…230
Imágenes 8: rata con la intervención sham a las 12 semanas a)violeta mostrando los islotes (flecha negra) a 5X; b) correspondencia en inmunohistoquímica (flecha roja) a las 20 semanas de vida a 20X; c) y d) a 10X; e) y f) a 20X……..235-237
Imágenes 9: rata con la exclusión duodenal a las 12 semanas a)violeta mostrando los islotes (flecha negra); b) correspondencia en inmunohistoquímica (flecha roja) a las 20 semanas de vida a 5X; ; c) y d) a 10X; e) y f) a 20X……238-240
Imágenes 10: rata con la intervención sham a las 16 semanas a)violeta mostrando los islotes (flecha negra); b) correspondencia en inmunohistoquímica (flecha roja) a las 24 semanas de vida a 5X; ; c) y d) a 10X; e) y f) a 20X……..241-243
Imágenes 11: rata con la exclusión duodenal a las 16 semanas a)violeta mostrando los islotes (flecha negra); b) correspondencia en inmunohistoquímica (flecha roja) a 5X; c) y d) a 10X; e) y f) a 20X……..244-246
Imágenes 12: rata con la intervención sham a las 20 semanas a)violeta mostrando los islotes (flecha negra); b) correspondencia en inmunohistoquímica (flecha roja) a 5X; c) y d) a 10X……..……247-248
Imágenes 13: rata con exclusión duodenal a las 20 semanas a)violeta mostrando los islotes (flecha negra); b) correspondencia en inmunohistoquímica (flecha roja) a 5X; c) y d) a 10X……..249-250
Imagen 14: ejemplo de foto de expresión de Nkx6.1 en negativo para cuantificación de células y grado de luminosidad……252

Imágen 15: islote pancreático de rata con cirugía control a las 12 semanas. Se observan islotes de pequeño tamaño y sin fibrosis. Imagen a 40X…….255
Imagen 16: islote pancreático de rata con cirugía control a las 16 semanas. Los islotes son de pequeño y mediano tamaño, y podemos observar algunos tabiques fibróticos. Imagen a 20X…….……255
Imagenes 17: islote pancreático de rata con cirugía control a las 10 semanas. Los islotes poseen diferentes tamaños y el grado de fibrosis es moderado. Imagen a 20X……..256
Imagen 18: leve esteatosis hepática, a 10X…….……..264
Imagen 19: corte transversal de una vellosidad conservando todas las características normales. A 40X……..269
Imagen 20: corte longitudinal de una vellosidad erosionada y con enterocitos bajos, además se observa un infiltrado inflamatorio en el conjuntivo subepitelial. A 40X…….……270
Imágenes 21: estómago donde solo se observa leve edema en la lámina própia. a)10X; b)20X; c)40X……..272-273
Imagen 22: glomerulo con lesiones iniciales de la DM, como son glomerulopatía, dilatación de capilares y proliferación mesangial……275
Imagen 23: imagen con lesiones más avanzadas; mayor proloferación mesangial y las sinequias a la capsula de Bowman son visibles…….……275
Imagen 24: esclerosis mesangial y mayor daño con atrofia……276