



ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE GRELINA GÁSTRICA POR INMUNOHISTOQUÍMICA EN PACIENTES CON OBESIDAD MÓRBIDA INTERVENIDAS MEDIANTE GASTRECTOMÍA VERTICAL LAPAROSCÓPICA, Y SU RELACIÓN CON LAS VARIACIONES PLASMÁTICAS DE AMBAS ISOFORMAS DE GRELINA

David Parada Domínguez

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi doctoral i la seva utilització ha de respectar els drets de la persona autora. Pot ser utilitzada per a consulta o estudi personal, així com en activitats o materials d'investigació i docència en els termes establerts a l'art. 32 del Text Refós de la Llei de Propietat Intel·lectual (RDL 1/1996). Per altres utilitzacions es requereix l'autorització prèvia i expressa de la persona autora. En qualsevol cas, en la utilització dels seus continguts caldrà indicar de forma clara el nom i cognoms de la persona autora i el títol de la tesi doctoral. No s'autoritza la seva reproducció o altres formes d'explotació efectuades amb finalitats de lucre ni la seva comunicació pública des d'un lloc aliè al servei TDX. Tampoc s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant als continguts de la tesi com als seus resums i índexs.

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis doctoral y su utilización debe respetar los derechos de la persona autora. Puede ser utilizada para consulta o estudio personal, así como en actividades o materiales de investigación y docencia en los términos establecidos en el art. 32 del Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual (RDL 1/1996). Para otros usos se requiere la autorización previa y expresa de la persona autora. En cualquier caso, en la utilización de sus contenidos se deberá indicar de forma clara el nombre y apellidos de la persona autora y el título de la tesis doctoral. No se autoriza su reproducción u otras formas de explotación efectuadas con fines lucrativos ni su comunicación pública desde un sitio ajeno al servicio TDR. Tampoco se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al contenido de la tesis como a sus resúmenes e índices.

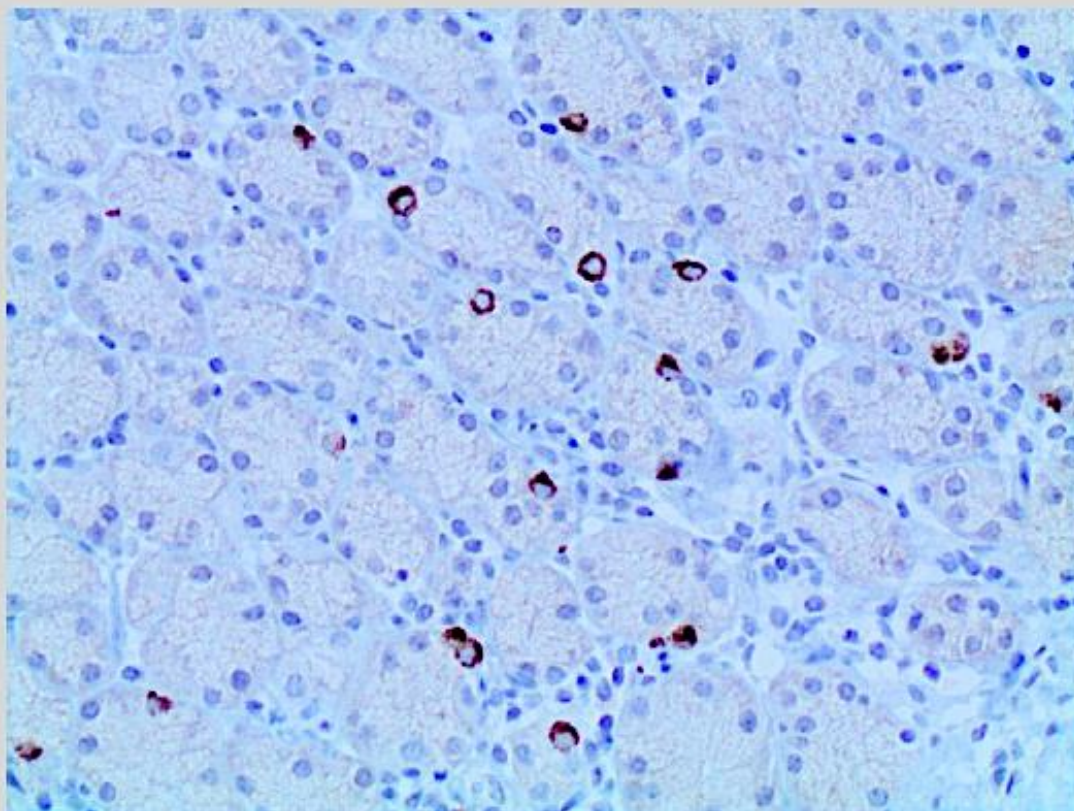
WARNING. Access to the contents of this doctoral thesis and its use must respect the rights of the author. It can be used for reference or private study, as well as research and learning activities or materials in the terms established by the 32nd article of the Spanish Consolidated Copyright Act (RDL 1/1996). Express and previous authorization of the author is required for any other uses. In any case, when using its content, full name of the author and title of the thesis must be clearly indicated. Reproduction or other forms of for profit use or public communication from outside TDX service is not allowed. Presentation of its content in a window or frame external to TDX (framing) is not authorized either. These rights affect both the content of the thesis and its abstracts and indexes.



**UNIVERSITAT
ROVIRA I VIRGILI**

**ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE GRELINA GÁSTRICA POR
INMUNOHISTOQUÍMICA EN PACIENTES CON OBESIDAD MORBIDA
INTERVENIDAS MEDIANTE GASTRECTOMÍA VERTICAL LAPAROSCÓPICA, Y SU
RELACIÓN CON LAS VARIACIONES PLASMÁTICAS DE AMBAS ISOFORMAS DE
GRELINA**

DAVID PARADA DOMINGUEZ



**TESIS DOCTORAL
2018**

ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE GRELINA GÁSTRICA
POR INMUNOHISTOQUÍMICA EN PACIENTES CON
OBESIDAD MORBIDA INTERVENIDAS MEDIANTE
GASTRECTOMÍA VERTICAL LAPAROSCÓPICA, Y SU
RELACIÓN CON LAS VARIACIONES PLASMÁTICAS DE
AMBAS ISOFORMAS DE GRELINA.

DAVID PARADA DOMINGUEZ

Tesis doctoral para optar al grado de Doctor en Biomedicina



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

Departaments de Medicina i Cirurgia, i de Ciències Mèdiques Bàsiques

Facultat de Medicina i Ciències de la Salut

Universitat Rovira i Virgili

2018

“Estudio de la expresión de grelina gástrica por
inmunohistoquímica en pacientes con obesidad mórbida
intervenidos mediante Gastrectomía Vertical Laparoscópica, y su
relación con las variaciones plasmáticas de ambas isoformas
de grelina”

David Parada Domínguez

Tesis doctoral para optar al grado de Doctor en Biomedicina

Dirigida por:

Prof. Daniel del Castillo Déjardin

Prof. Fàtima Sabench Pereferrer

Prof. Emilio Mayayo Artal



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

Departaments de Medicina i Cirurgia, i de Ciències Mèdiques Bàsiques

Facultat de Medicina i Ciències de la Salut

Universitat Rovira i Virgili

Reus, Tarragona

2018

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE GRELINA GÁSTRICA POR INMUNOHISTOQUÍMICA EN PACIENTES CON OBESIDAD MÓRBIDA INTERVENIDAS MEDIANTE GASTRECTOMÍA VERTICAL LAPAROSCÓPICA, Y SU RELACIÓN CON LAS VARIACIONES PLASMÁTICAS DE AMBAS ISOFORMAS DE GRELINA

David Parada Domínguez



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

FAIG CONSTAR que aquest treball, titulat **“Estudi de l'expressió de grelina gàstrica per immunohistoquímica en pacients amb obesitat mòrbida intervingut-dues mitjançant Gastrectomia Vertical Laparoscòpica, i la seva relació amb les variacions plasmàtiques de les dues isoformesde grelina”**, que presenta David Parada Domínguez per a l'obtenció del títol de Doctor, ha estat realitzat sota la meva direcció al Departament de Medicina i Cirurgia, i de Ciències Mèdiques Bàsiques d'aquesta universitat.

HAGO CONSTAR que el presentetrabajo, titulado **“Estudio de la expresión de grelina gástrica por inmunohistoquímica en pacientes con obesidad mórbida intervenidos mediante Gastrectomía Vertical Laparoscópica, y su relación con las variaciones plasmáticas de ambas isoformas de grelina”**, que presenta David Parada Domínguez para la obtención del título de Doctor, ha sido realizado bajo mi dirección en el Departamento de Medicina y Cirugía, y de Ciencias Médicas Básicasde esta universidad.

I STATE that the present study, entitled **“Study of gastric ghrelin expression by immunohistochemistry in patients with morbid obesity undergoing laparoscopic Vertical Gastrectomy, and its relationship with the plasma variations of both isoformsof ghrelin”**, presented by David Parada Domínguez for the award of the degree of Doctor, has been carried out under my supervision at the Department of Medicine and Surgery, and Basic Medical Sciences of this university.

Reus, 01 de julio de 2018

Els directors de la tesi doctoral
Los directores de la tesis doctoral
Doctoral Thesis Supervisors

Daniel del Castillo Déjardin

Fátima SabenchPereferrer

Emilio MayayoArtal

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE GRELINA GÁSTRICA POR INMUNOHISTOQUÍMICA EN PACIENTES CON OBESIDAD MÓRBIDA INTERVENIDAS MEDIANTE GASTRECTOMÍA VERTICAL LAPAROSCÓPICA, Y SU RELACIÓN CON LAS VARIACIONES PLASMÁTICAS DE AMBAS ISOFORMAS DE GRELINA

David Parada Domínguez

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE GRELINA GÁSTRICA POR INMUNOHISTOQUÍMICA EN PACIENTES CON OBESIDAD MÓRBIDA INTERVENIDAS MEDIANTE GASTRECTOMÍA VERTICAL LAPAROSCÓPICA, Y SU RELACIÓN CON LAS VARIACIONES PLASMÁTICAS DE AMBAS ISOFORMAS DE GRELINA

David Parada Domínguez

“ Camino despacio, pero nunca camino hacia atrás ”

Abraham Lincoln

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE GRELINA GÁSTRICA POR INMUNOHISTOQUÍMICA EN PACIENTES CON OBESIDAD MÓRBIDA INTERVENIDAS MEDIANTE GASTRECTOMÍA VERTICAL LAPAROSCÓPICA, Y SU RELACIÓN CON LAS VARIACIONES PLASMÁTICAS DE AMBAS ISOFORMAS DE GRELINA

David Parada Domínguez

Agradecimientos

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE GRELINA GÁSTRICA POR INMUNOHISTOQUÍMICA EN PACIENTES CON OBESIDAD MÓRBIDA INTERVENIDAS MEDIANTE GASTRECTOMÍA VERTICAL LAPAROSCÓPICA, Y SU RELACIÓN CON LAS VARIACIONES PLASMÁTICAS DE AMBAS ISOFORMAS DE GRELINA

David Parada Domínguez

Agradecimientos

El presente trabajo representa la colaboración de diferentes profesionales y servicios de nuestro centro, sin las que no habría sido posible desarrollar este estudio. A todos ellos mi más sincero agradecimiento.

Al Prof. Daniel del Castillo Déjardin, mi gratitud por darme la oportunidad de formar parte de su grupo de investigación y poder integrar conocimientos de la anatomía patológica en el campo de la cirugía bariátrica, configurando un puente fundamental en el estudio de los pacientes con obesidad.

A la Dra. Fàtima Sabench Pereferer, por su optimismo y pro-actividad constante que me ha transmitido. Gracias a ella la consecución y planteamientos de la investigación fueron claros y directos. Además, por ser apoyo y referente en las situaciones difíciles. Muchas gracias.

Al Prof. Emilio Mayayo Artal, por su apoyo incondicional y orientación para la elaboración del proyecto de investigación. Por su valor crítico, que ha sido fundamental para llevar a cabo un trabajo de esta magnitud.

Al Dr. Francesc Riu, jefe de servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitari Sant Joan de Reus, por su confianza en mí persona y permitirme desarrollar mi actividad profesional, además, de darme la oportunidad de extender un pilar fundamental de la anatomía patología como lo es la investigación.

A la Dra. Karla Peña, por ser y estar. Muchas gracias.

A los técnicos del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitari Sant Joan de Reus, en especial a Carmentxu, Carol, Mónica, etc., ya que sin ellos no se hubiera podido lograr este trabajo.

A la Dra. Alicia Molina López, por ser compañera inesperada en este viaje, y demostrar su desinteresada colaboración y orientación.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE GRELINA GÁSTRICA POR INMUNOHISTOQUÍMICA EN PACIENTES CON OBESIDAD MÓRBIDA INTERVENIDAS MEDIANTE GASTRECTOMÍA VERTICAL LAPAROSCÓPICA, Y SU RELACIÓN CON LAS VARIACIONES PLASMÁTICAS DE AMBAS ISOFORMAS DE GRELINA

David Parada Domínguez

Resumen

RESUMEN

ANTECEDENTES:

En los últimos 50 años la obesidad es la patología crónica con mayor repercusión en la calidad de vida. Esta patología produce incremento en el riesgo de complicaciones y en los costos de salud en a nivel mundial. En la actualidad, dicho transtorno es considerado como una pandemia, fundamentalmente debido al incremento de casos diagnosticados tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo. En años recientes, el interés en la homeostasis entre el apetito y el peso corporal se ha incrementado. La regulación del apetito y la ingesta de alimentos es altamente compleja y la participación de diferentes hormonas es clave para entender el origen de la obesidad y sus complicaciones. Una de estas hormonas es la grelina, descubierta en 1999 como un ligando de la hormona del crecimiento. Esta hormona gástrica ha sido fuente de numerosos estudios que han intentado explicar su papel en el desarrollo de la obesidad, así como en sus complicaciones. El principal productor de grelina es la mucosa gástrica y la misma participa en numerosos eventos fisiológicos como por ejemplo: la regulación de la ingesta, el peso corporal, la adiposidad, el metabolismo de la glucosa, también modula el metabolismo sistémico a través de circuitos neuronales orexigénicos y posee funciones cardiovasculares como vasodilatación y contractilidad miocárdica.

El tratamiento de la obesidad es multidisciplinario, pero es indudable que la cirugía bariátrica es la piedra angular para conseguir una pérdida de peso sostenida y minimizar las complicaciones derivadas de la misma. Dentro de esta cirugía la Gastrectomía Vertical Laparoscópica es una de las técnicas más utilizadas para llevar a cabo el tratamiento de la obesidad mórbida, ya que posee mínimas complicaciones y excelentes resultados. Sin embargo, quedan por conocer diferentes aspectos metabólicos y fisiológicos de esta técnica quirúrgica.

OBJETIVO: Cuantificar el número de células de grelina gástrica en pacientes con obesidad mórbida intervenidos por Gastrectomía Vertical Laparoscópica, en diferentes regiones del estómago y correlacionar este hallazgo en cuanto a género, morbilidades y hallazgos histopatológicos. Determinar la evolución de los niveles plasmáticos de grelina después de la cirugía y su correlación con los hallazgos patológicos.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Se trata de un estudio de cohorte prospectivo, descriptivo y ciego, realizado en pacientes con obesidad mórbida, intervenidos por técnica quirúrgica de Gastrectomía Vertical por vía Laparoscópica entre 2012 y 2014. De cada paciente se obtuvieron muestras del antro, cuerpo y fundus, a partir de las piezas quirúrgicas y se procesaron para estudio histológico convencional e inmunohistoquímico para la determinación de células productoras de grelina. Histopatológicamente, se analizó la presencia de gastritis y su severidad, la metaplasia intestinal y la presencia de atrofia. Se cuantificó la presencia de células productoras de grelina tanto total como por su topografía gástrica. Tanto las características histopatológicas como inmunohistoquímicas se correlacionaron con las características clínicas. Adicionalmente, se obtuvieron los niveles plasmáticos de las isoformas de grelina en el momento de la cirugía, así como a los seis y doce meses posteriores a la intervención.

RESULTADOS:

El estudio incluyó 61 pacientes de los cuales el 73.8% fueron femeninos y 26.2% masculinos, con edades comprendidas entre 27 y 73 años. El índice de masa corporal (IMC) media fue de 51.11 kg/m². De los pacientes estudiados, 36.1% presentaron diabetes, 59% tenían hipertensión arterial sistémica y 18% tuvieron ambas patologías. Histopatológicamente la gastritis estuvo presente en 88.5% de los pacientes. El número de células productoras de grelina mostró variaciones significativas dependiendo de la

localización gástrica. El número de células de grelina en los pacientes masculinos fue mayor en comparación a las pacientes femeninas. Otro hallazgo significativo fue la diferencia en pacientes normotensos e hipertensos y el número de células de grelina antrales. Desde el punto de vista topográfico, el subgrupo de los pacientes hipertensos mostró diferencias significativas en el número de células de grelina.

CONCLUSIÓN:

Nuestros resultados evidencian que el antro es una potencial fuente de grelina y que la topografía de las células productoras de grelina, en nuestros pacientes, muestra diferencias en cuanto al género y a las comorbilidades.

PALABRAS CLAVE:

Grelina, Células, Obesidad, Estómago, Cirugía Laparoscópica, Cirugía Bariátrica, Gastrectomía.

SUMMARY

BACKGROUND:

In the last 50 years, obesity is the chronic pathology with the greatest impact on the quality of life. This pathology produces an increase in the risk of complications and health costs worldwide. Currently, this disorder is considered a pandemic, mainly due to the increase in cases diagnosed in both developed and developing countries. In recent years, interest in homeostasis between appetite and body weight has increased. The regulation of appetite and food intake is highly complex and the participation of different hormones is key to understanding the origin of obesity and its complications. One of these hormones is ghrelin, discovered in 1999 as a ligand for growth hormone. This gastric hormone has been the source of numerous studies that have tried to explain its role in the development of obesity, as well as its complications. The main producer of ghrelin is the gastric mucosa and it participates in numerous physiological events such as: the regulation of intake, body weight, adiposity, glucose metabolism, also modulates the systemic metabolism through neuronal circuits orexigenic and possesses cardiovascular functions such as vasodilation and myocardial contractility.

The treatment of obesity is multidisciplinary, but it is unquestionable that bariatric or metabolic surgery is the cornerstone to achieve a sustained weight loss and minimizing the complications derived from it. Within this surgery, laparoscopic vertical gastrectomy is the most used technique to carry out the treatment of obesity, since it has minimal complications. However, different metabolic and physiological aspects of this surgical technique remain to be known.

OBJECTIVE:

Quantify the number of gastric ghrelin cells in patients with morbid obesity operated by Laparoscopic Vertical Gastrectomy, in different regions of the stomach-go and correlate this finding in terms of gender, morbidities and histopathological findings. To determine

the evolution of plasma ghrelin levels after surgery and its correlation with pathological findings.

MATERIALS AND METHODS:

It was a prospective, descriptive and blind cohort study, performed in patients with morbid obesity, operated by Vertical Laparoscopic Gastrectomy surgical technique between 2012 and 2014. From each patient samples were obtained from the antrum, body and fundus, from of the surgical pieces and were processed for conventional histological and immunohistochemical studies for the determination of ghrelin-producing cells. Histopathologically, the presence of gastritis and its severity, intestinal metaplasia and the presence of atrophy were analyzed. The presence of total ghrelin producing cells and their gastric topography was quantified. Both the histopathological and immunohistochemical characteristics were correlated with the clinical characteristics. Additionally, plasma levels of the ghrelin isoforms were obtained at the time of surgery, as well as six and twelve months after the intervention.

RESULTS:

The study included 61 patients of which 73.8% were female and 26.2% male, aged between 27 and 73 years. The average body mass index (BMI) was 51.11 kg / m². Of the patients studied, 36.1% had diabetes, 59% had systemic arterial hypertension and 18% had both pathologies. Histopathologically, gastritis was present in 88.5% of patients. The number of ghrelin pro-duct cells showed significant variations depending on the gastric location. The number of ghrelin cells in male patients was higher in comparison to female patients. Another significant finding was the difference in normotensive and hypertensive patients and the number of antral ghrelin cells. From the topographic point of view, the subgroup of hypertensive patients showed significant differences in the number of ghrelin cells.

CONCLUSION:

Our results show that the antrum is a potential source of ghrelin and that the topography of the ghrelin-producing cells in our patients shows differences in terms of gender and comorbidities.

KEYWORDS:

Ghrelin, Cells, Obesity, Stomach, Laparoscopic Surgery, Bariatric Surgery, Gastrectomy.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE GRELINA GÁSTRICA POR INMUNOHISTOQUÍMICA EN PACIENTES CON OBESIDAD MÓRBIDA INTERVENIDAS MEDIANTE GASTRECTOMÍA VERTICAL LAPAROSCÓPICA, Y SU RELACIÓN CON LAS VARIACIONES PLASMÁTICAS DE AMBAS ISOFORMAS DE GRELINA

David Parada Domínguez

Índice de contenidos

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE GRELINA GÁSTRICA POR INMUNOHISTOQUÍMICA EN PACIENTES CON OBESIDAD MÓRBIDA INTERVENIDAS MEDIANTE GASTRECTOMÍA VERTICAL LAPAROSCÓPICA, Y SU RELACIÓN CON LAS VARIACIONES PLASMÁTICAS DE AMBAS ISOFORMAS DE GRELINA

David Parada Domínguez

Índice de contenidos

1. ABREVIATURAS	9
2. INTRODUCCIÓN	13
2.1 Evolución del Análisis de la Obesidad.....	15
2.2 Definición de la Obesidad.....	17
2.3 Aspectos epidemiológicos de la obesidad.....	17
2.4 Teoría evolutiva de la Obesidad.....	22
2.4.1 Hipótesis del Genotipo Ahorrador.....	22
2.4.2 Hipótesis del Fenotipo Ahorrador.....	24
2.4.3 Hipótesis Epigenética Ahorradora.....	25
2.5 Etiología de la obesidad.....	28
2.5.1 Factores ambientales.....	29
2.5.2 Factores hormonales.....	30
2.5.3 Factores genéticos.....	30
2.5.3.1 Mutaciones genética en POMC y PC1.....	31
2.5.3.2 Mutaciones en la leptina y su gen receptor.....	32
2.5.3.3 Mutaciones en el gen del Neuropéptido Y.....	32
2.5.3.4 Mutaciones en el gen receptor de grelina.....	33
2.5.3.5 Mutación en el gen receptor de melanocortina 3 (MC3R).....	33
2.5.3.6 Mutación en el gen receptor de melanocortina 4 (MC4R).....	34
2.5.3.7 Mutación en el gen FTO.....	34
2.5.3.8 Mutación en el gen de la familia de los receptores β-adrenérgicos.....	35
2.5.3.9 Mutación en la familia del gen de proteína no acopladora.....	35
2.5.3.10 Mutación en el gen SLC6A14.....	35
2.5.3.11 Formas sindromáticas de obesidad.....	36

2.5.3.12 Debidas a re-arreglo cromosómico.....	36
2.5.3.12.1 Síndrome de Prader-Willi.....	36
2.5.3.12.2 Síndrome WAGR.....	37
2.5.3.12.3 Síndrome Sim-1.....	37
2.5.3.13 Por alteraciones pleiotrópicas.....	37
2.5.3.13.1 Síndrome de Bardet-Biedl.....	37
2.5.3.13.2 Síndrome de cromosoma X frágil.....	37
2.5.3.13.3 Síndrome de Cohen.....	38
2.6 Balance energético.....	38
2.6.1 Leptina.....	40
2.6.2 Insulina.....	40
2.6.3 Neuropeptido Y (NPY).....	41
2.6.4 Proteína relacionada Agouti (AgRP).....	41
2.6.5 Proopiomelanocortina (POMC).....	41
2.6.6 Vías de melanocortina y homeostasis energética.....	41
2.6.7 Vía de señalización asociada a leptina.....	42
2.6.8 Vía de señalización asociada a proteínas receptoras de proteína G.....	42
2.6.9 Homeostasis energética mediada por receptores de melanocortina.....	43
2.7 El estómago y su papel en la obesidad.....	44
2.7.1 Grelina.....	45
2.7.1.1 Mecanismos fisiológicos de acción de la grelina.....	47
2.7.1.2 Grelina y el efecto sobre el eje GH.....	49
2.7.1.3 Grelina y el metabolismo de la glucosa.....	49
2.7.1.4 Grelina y la motilidad gastrointestinal.....	50
2.7.1.5 Grelina y la ingesta de alimento.....	50

2.7.1.6 Grelina y la adiposidad.....	51
2.8 Complicaciones relacionadas con la obesidad (comorbilidades).....	51
2.8.1 Enfermedad cardiovascular (ECV).....	52
2.8.2 Hipertensión Arterial Sistémica.....	52
2.8.3 Diabetes Mellitus tipo 2.....	52
2.8.4 Enfermedad de Alzheimer.....	53
2.8.5 Cáncer.....	53
2.9 Tratamiento de la obesidad.....	54
2.9.1 Cambio en el estilo de vida de los pacientes obesos.....	55
2.9.2 Farmacoterapia en la obesidad.....	55
2.9.3 Tratamiento quirúrgico de la obesidad.....	59
2.9.3.1 Criterios de selección del paciente candidato a cirugía bariátrica.....	62
3. JUSTIFICACIÓN	65
4. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	69
4.1 HIPÓTESIS.....	71
4.2 OBJETIVOS.....	72
4.2.1 Objetivo principal.....	72
4.2.2 Objetivos específicos.....	72
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	73
5.1 Tipo de estudio.....	75
5.2 Selección de la muestra.....	75
5.3 Criterios de inclusión.....	75
5.4 Criterios de exclusión.....	76
5.5 Sujetos del estudio.....	77
5.6 Técnica quirúrgica.....	77

5.6.1 Preparación preoperatoria.....	77
5.6.2 Intervención quirúrgica.....	78
5.6.3 Postoperatorio inmediato.....	80
5.7 PARÁMETROS ANALIZADOS.....	80
5.7.1 Parámetros clínicos.....	80
5.7.2 Determinaciones hormonales de Grelina.....	81
5.7.2.1 Obtención y almacenamiento de la muestra.....	81
5.7.2.2 Preparación de los reactivos.....	82
5.7.2.3 Preparación del Control de Calidad 1 y 2.....	82
5.7.2.4 Preparación de la mezcla de anticuerpos de captura y detección.....	83
5.7.2.5 Procedimiento para la detección de Grelina total y acilada humana por método de ELISA.....	83
5.7.2.6 Cálculos.....	83
5.7.2.7 Interpretación.....	84
5.8 Estudio Morfológico.....	84
5.8.1 Características histopatológicas.....	84
5.8.2 Análisis histopatológico.....	84
5.8.3 Estudio inmunohistoquímico para la determinación de Grelina gástrica.....	85
5.8.4 Análisis de la expresión cualitativa de Grelina gástrica.....	86
5.8.5 Estudio cuantitativo de células gástricas con expresión de Grelina.....	87
5.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	88
6. RESULTADOS.....	89
6.1 Características clínicas de los pacientes.....	91
6.2 Hallazgos histopatológicos de los pacientes con obesidad mórbida.....	92

6.2.1 Hallazgos de la topografía gástrica y la severidad de la gastritis.....	93
6.2.1.1 Antro.....	93
6.2.1.2 Cuerpo.....	93
6.2.1.3 Fundus.....	93
6.3 Análisis comparativo entre los hallazgos clínicos y los histopatológicos.....	95
6.3.1 Género y presencia de gastritis.....	95
6.3.2 Complicaciones de la obesidad mórbida y presencia de gastritis.....	95
6.3.2.1 Diabetes tipo 2 y gastritis.....	95
6.3.2.2 Hipertensión arterial sistémica y gastritis.....	96
6.4 Presencia de la grelina gástrica en pacientes con obesidad mórbida.....	97
6.4.1 Cuantificación de células gástricas de grelina.....	97
6.4.2 Células gástricas de grelina y características clínicas.....	98
6.4.2.1 Células de grelina y género.....	98
6.4.2.2 Células de grelina y complicaciones.....	99
6.4.3 Células de Grelina y su distribución topográfica gástrica.....	100
6.4.4 Estudio cuantitativo de Grelina de acuerdo a la topografía gástrica.....	101
6.4.4.1 Características clínicas, expresión de Grelina y topografía gástrica.....	102
6.4.4.1.1 Análisis en cuanto al género.....	102
6.4.4.1.2 Análisis de las complicaciones, topografía gástrica y células de grelina...104	
6.4.4.1.2.1 Diabetes.....	104
6.4.4.1.2.2 Hipertensión Arterial Sistémica.....	105
6.4.5 Características morfológicas y expresión de grelina en células gástricas.....	107
6.4.6 Estudio de las características clínicas, morfológicas y grelina gástrica.....	108
6.4.6.1 Análisis del género, gastritis y células de grelina.....	108
6.4.6.2 Análisis de las complicaciones, gastritis y células de grelina.....	112

6.4.6.2.1 Diabetes, gastritis y células de grelina.....	112
6.4.6.2.2 Hipertensión arterial sistémica, gastritis y grelina.....	114
6.4.7 Presencia de <i>Helicobacter pylori</i> previo a la cirugía y células de grelina.....	115
6.4.8 Presencia de metaplasia intestinal y grelina.....	116
6.5 Concentraciones plasmáticas de grelina en el grupo control y los pacientes con obesidad mórbida.....	118
6.5.1 Evolución posquirúrgica de los valores plasmáticos de grelina.....	119
6.5.2 Correlación entre la grelina plasmática y células de grelina gástrica.....	120
7. DISCUSIÓN.....	125
8. CONCLUSIONES.....	139
9. ÍNDICE DE TABLAS.....	143
10. ÍNDICE DE FIGURAS.....	147
11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	153

1. Abreviaturas

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE GRELINA GÁSTRICA POR INMUNOHISTOQUÍMICA EN PACIENTES CON OBESIDAD MÓRBIDA INTERVENIDAS MEDIANTE GASTRECTOMÍA VERTICAL LAPAROSCÓPICA, Y SU RELACIÓN CON LAS VARIACIONES PLASMÁTICAS DE AMBAS ISOFORMAS DE GRELINA

David Parada Domínguez

1. ABREVIATURAS

AA: Aminoácido.

ACTH: Hormona adrenocorticotropa.

ADN: Acido Desoxirribonucleico.

AEBSF: 4-(2-Aminoetil) – bencenosulfonilfluoreido.

AgRP: Proteína relacionada Agouti.

AMP: Adenosina monofosfato.

AMPC: Adenosina monofosfato cíclico.

ARNm: Acido ribonucleico mensajero.

CART: Transcripción regulada de cocaína y anfetamina.

ECV: Enfermedad cardiovascular.

ERK: Quinasa regulada extracelular.

FDA: Administración americana de drogas y alimentos.

FTO: Gene asociado a obesidad y masa grasa.

GH: Hormona del crecimiento.

GHRP: Péptidos liberadores de hormona del crecimiento.

GHSR: Receptor secretagogo de la hormona del crecimiento.

GLP: Péptido similar al glucagón.

GPCR: Receptores de proteína G.

GVL: Gastrectomía vertical laparoscópica.

HDL: Lipoproteína de alta densidad.

IMC: Índice de masa corporal.

JAK: Tirosina-quinasa Janus.

MCC: Migración del complejo motor.

MCR: Receptores de melanocortina.

MSH: Hormona estimulante de los melanocitos.

NPY: Neuropeptido Y.

PC1: Proteína convertasa 1.

PKA: Proteína-quinasa A.

PMN: Polimorfonucleares neutrófilos.

POMC: Proopiomelanocortina.

Sim: Single-minded homolog.

SNPs: Polimorfismos de nucleótido simple.

STAT: Señal de transducción y activación de la transcripción.

UCI: Unidad de cuidados intensivos.

WAGR: Tumor de Wilms, Anorexia, Ambigüedad genital, Retardo mental.

2. INTRODUCCIÓN

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE GRELINA GÁSTRICA POR INMUNOHISTOQUÍMICA EN PACIENTES CON OBESIDAD MÓRBIDA INTERVENIDAS MEDIANTE GASTRECTOMÍA VERTICAL LAPAROSCÓPICA, Y SU RELACIÓN CON LAS VARIACIONES PLASMÁTICAS DE AMBAS ISOFORMAS DE GRELINA

David Parada Domínguez

2. INTRODUCCIÓN

En los últimos 50 años, la incidencia de la obesidad humana se ha incrementado en todo el mundo. En los países industrializados, la obesidad afecta a más del 30% de la población adulta. Es interesante destacar que los países con altos ingresos económicos no son los únicos afectados por esta patología, ya que la condición está aumentando de forma importante en los países en vías de desarrollo. Se ha calculado que al menos mil millones de adultos tienen sobrepeso y 300 millones son obesos con elevada incidencia de obesidad mórbida, y se espera que estos números aumenten en los próximos años (1,2). Es importante destacar que la obesidad también afecta a los niños, ya que la prevalencia en la población infantil se ha triplicado en los últimos 30 años, lo que ha llevado a serios problemas de salud en este grupo etario.

Curiosamente, ser portador de un gran porcentaje de grasa corporal no es necesariamente perjudicial para la salud animal. Aunque la obesidad es rara en la naturaleza, hay animales obesos por naturaleza, como por ejemplo el reno de Svalbard, las focas y los osos polares. En estos casos, la alta cantidad de tejido adiposo no impide, sino que, por el contrario, contribuye a su adaptabilidad para sobrevivir en ambientes a menudo extremos. Sin embargo, la obesidad natural contrasta con la obesidad que se desarrolla en los seres humanos modernos. Esta última generalmente se acompaña de enfermedades concomitantes y de discapacidad. Aunque no hay una clara e identificable ventaja de ser obeso en los humanos modernos, vale la pena señalar que la obesidad humana no siempre da lugar a enfermedad, por lo tanto, el umbral de grasa tolerable difiere entre los individuos y puede ser determinado por variables ambientales y genéticas.

2.1 Evolución del Análisis de la Obesidad

Quizás una de las primeras definiciones de la obesidad fue descrita por Hipócrates (460 AC - 370 AC) (3). Hipócrates definía a la salud como el balance de cuatro humores (fluidos), a saber: la sangre, la bilis negra, la bilis amarilla y la flema. Así cualquier exceso o deficiencia en estos humores era considerado una causa de enfermedad. La obesidad era entonces definida como la abundancia de los cuatro humores (3). En gran parte de la historia de la humanidad, el peso excesivo era considerado como indicación de buena salud, así como de riqueza y de prosperidad. Sin embargo, Hipócrates fue el primero en reconocer que la obesidad conducía a la infertilidad y a la mortalidad precoz. Han transcurrido más de dos mil años para comprobar científicamente las hipótesis hipocráticas y corroborar cómo la "abundancia de humores" se relaciona con diferentes trastornos de salud y de muerte en edades más tempranas.

No fue hasta el siglo XIX cuando los investigadores introdujeron la medición del peso como uno de los criterios necesarios para determinar el sobrepeso y la obesidad. En 1885 se utilizó una escala, primero en Alemania y luego en los Estados Unidos, la cual permitió medir el peso corporal a la libra más cercana (4). Desde entonces comenzó una nueva era para las evaluaciones del peso y la búsqueda del peso "saludable". A principios del siglo XX, un bajo peso corporal era una considerado una amenaza especialmente en los adultos jóvenes, ya que eran susceptibles al desarrollo de neumonía y tuberculosis.

El peso saludable se utilizó como criterio para la inscripción de los individuos en las pólizas de seguro (5–7). La cuestión del peso "ideal" y el nivel aceptable de desviación de "ideal" se convirtió en las preguntas más importantes para las compañías de seguros (6,7). Para entonces el sobrepeso fue definido como el peso que superaba el

valor de referencia, siendo el valor de referencia el obtenido a partir de la distribución de la población. Basándose en la asociación observada del peso corporal con la mortalidad, la Compañía de Seguros de Vida Metropolitana con sede en los Estados Unidos de América (MLIC) pudo desarrollar las tablas estándar para el peso "ideal", "deseable" y finalmente las tablas con las relaciones de altura y peso (7). Esas tablas estándar se convirtieron en la plataforma para el desarrollo de la actual definición de bajo peso, normal, con sobrepeso, y los individuos obesos.

2.2 Definición de la Obesidad

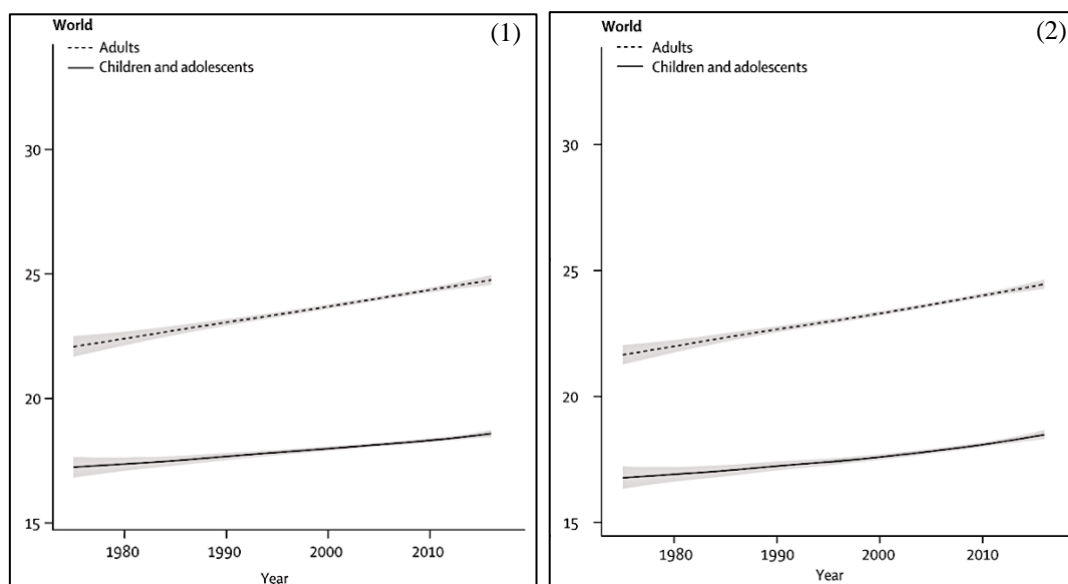
Actualmente, el sobrepeso y la obesidad se definen como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede poner en peligro la salud (8–10). Para clasificar objetivamente el sobrepeso y la obesidad en adultos, se utiliza el índice de masa corporal (IMC) el cual toma el peso de una persona en kilogramos dividido por el cuadrado de su altura en metros (kg/m^2). Para los adultos, se toman en consideración los siguientes valores para el sobrepeso y la obesidad, así como su sub-clasificación (11–13):

Valores límites del IMC	
< 18,5	Peso insuficiente
18,5 - 24,9	Normopeso
25 - 26,9	Sobrepeso grado I
27 - 29,9	Sobrepeso grado II (preobesidad)
30 - 34,9	Obesidad de tipo I
35 - 39,9	Obesidad de tipo II
40 - 49,9	Obesidad de tipo III (mórbida)
> 50	Obesidad de tipo IV (extrema)

IMC = $\text{Peso (kg)} / \text{Altura}^2 \text{ (m)}$

2.3 Aspectos epidemiológicos de la obesidad

La prevalencia de la obesidad se ha incrementado de forma importante en las últimas décadas (1,14–20) y debido a éste aumento en el número de casos informados ha sido descrita como una pandemia global (1,14–22). La obesidad comienza su ascenso en los países con mayores ingresos entre 1970 y 1980 (1,14–22). Así mismo, desde entonces los países con ingresos medios y bajos también se han unido al incremento mundial de la obesidad tanto en adultos como en niños (16). Para el año 2008, se estimó que 1.46 billones de adultos en todo el mundo tenían sobrepeso ($IMC > 25 \text{ kg/m}^2$) y 502 millones adultos eran obesos ($IMC > 30 \text{ kg/m}^2$) (17). Por otra parte, se calculó que 170 millones de niños (< 18 años) a nivel mundial fueron clasificados como con sobrepeso u obesos (23).



Esta estimación incluye más del 25% de todos los niños en algunos países (14,16). En 2014, más de 1900 millones de adultos tenían sobrepeso, de los cuales, más de 600 millones eran obesos (10).

Figura 1. Tendencia del IMC por edad y sexo a nivel mundial. (1) Masculino; (2) Femenino. (Wirén S, et al. 2014 (24)).

Debido a lo antes señalado, tanto el sobrepeso como la obesidad representan un serio problema de salud mundial. Así en el año 2010, se estimó que ambas alteraciones causaron 3.4 millones de muertes, una pérdida de la expectativa de vida de un 4% y el

aumento de la discapacidad por año de vida del 4% en todo el mundo (25). Datos a partir de estudios en los EE.UU. han sugerido que el aumento de la obesidad podría conducir a futura disminución en la expectativa de vida (26). En la actualidad, se considera que tanto el sobrepeso como la obesidad conducen a efectos metabólicos adversos sobre la presión arterial, el colesterol, los triglicéridos y la resistencia a la insulina (27). Los riesgos de enfermedad coronaria, accidente cerebrovascular isquémico y diabetes mellitus tipo 2 aumentan constantemente con el aumento del IMC (27). El incremento del IMC también se ha asociado con un mayor riesgo de cáncer de mama, colon, próstata, endometrio, riñón y vesícula biliar (27–29). Las tasas de mortalidad aumentan con el aumento de los grados de sobrepeso. Es importante señalar que existe un mayor riesgo de comorbilidades para el índice de masa corporal de 25.0 a 29.9 y un riesgo moderado a grave de comorbilidades para el índice de masa corporal 30 o mayor.

En Europa, la prevalencia de la obesidad varía considerablemente de acuerdo a los países y las regiones. En general la prevalencia de esta patología en pacientes adultos para el año 2010 fue de 12.8 %, siendo en hombres de 14.0 % y de 11.5 % en mujeres (30). Sin embargo, la proporción de adultos con $IMC \geq 25$ kg/m² para el mismo período fue de 47.6%, afectando a los hombres en un 54.5% y 40.8% a las mujeres (30–32). Es interesante señalar que cuando se comparan estos datos de obesidad con los obtenidos de EE.UU., los valores estimados fueron aproximadamente menos de la mitad en Europa (14.0 vs. 35.5 % en hombres y 11.5 vs. 35.8 % en mujeres, respectivamente) (30–32).

De acuerdo a las regiones europeas, los países de Europa del norte muestran las tasas más elevadas de obesidad, en comparación con los países del este y sur europeos, los cuales presentan las tasas más bajas (30).

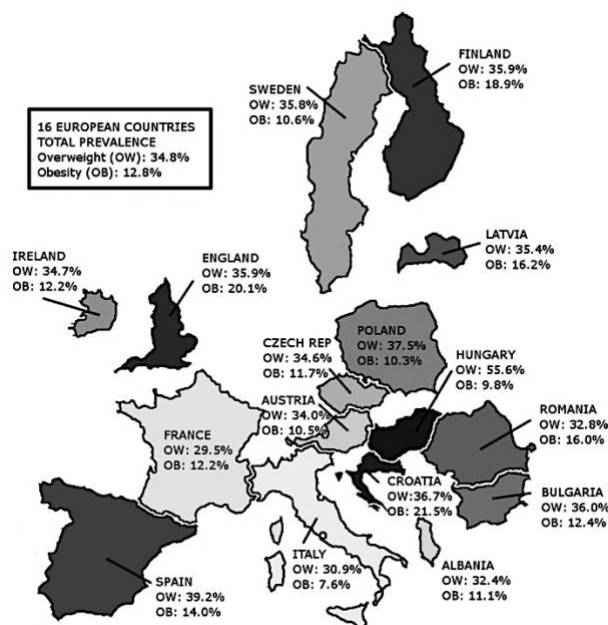


Figura 2. Prevalencia de sobrepeso y obesidad en 16 países europeos (Gallus S, et al. 2015 (30)).

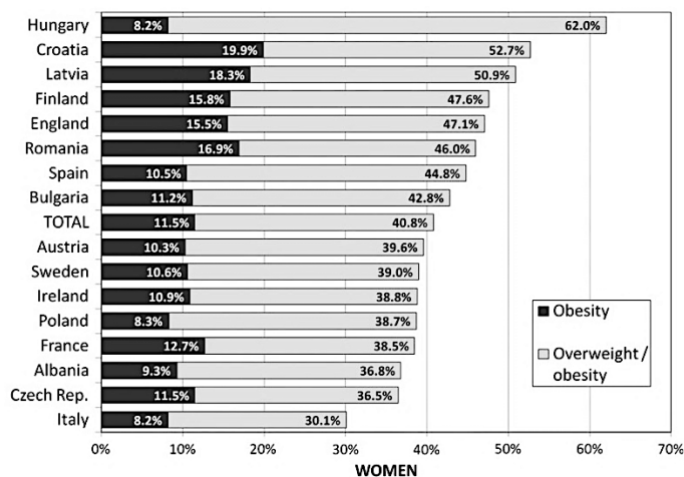
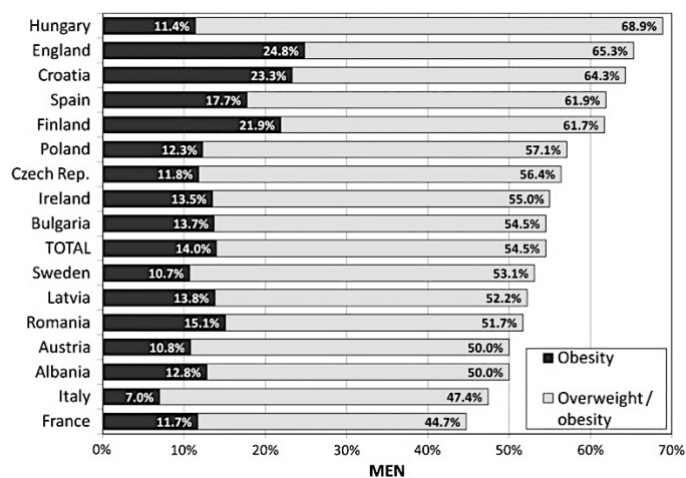


Figura 3. Prevalencia de sobrepeso y obesidad por sexo en 16 países europeos (Gallus S, et al. 2015 (30)).

En España, al igual que en otros países europeos se mantiene la tendencia del incremento en la prevalencia de la obesidad, con un cálculo estimado de afectación al 23% de los adultos, en tanto que el 39% de la población presenta sobrepeso (33,34). En cuanto al género, se ha informado que en la población con sobrepeso el 46.4% corresponde a hombre y el 32.5% a mujeres, mientras que los valores para la obesidad son de 24.4% en los hombres y de 21.4% para las mujeres (33). siendo este incremento debido principalmente a la obesidad mórbida. Es indudable que existe variabilidad entre las diferentes comunidades españolas, con rangos de prevalencia para la obesidad entre hombres de 22-38% y en mujeres oscilan entre 20-36%, siendo las Islas Canarias y el sur de España las regiones con mayor tasa de obesidad (33). En Cataluña, según los datos de la encuesta de salud de Cataluña (2012), casi la mitad de la población de más 18 años tiene exceso de peso, de los cuales el 57.7% corresponde a hombres y el 40.1% a mujeres (35). La tasa calculada de obesidad en la población catalana fue de un 13.8% para el año 2012 (35).

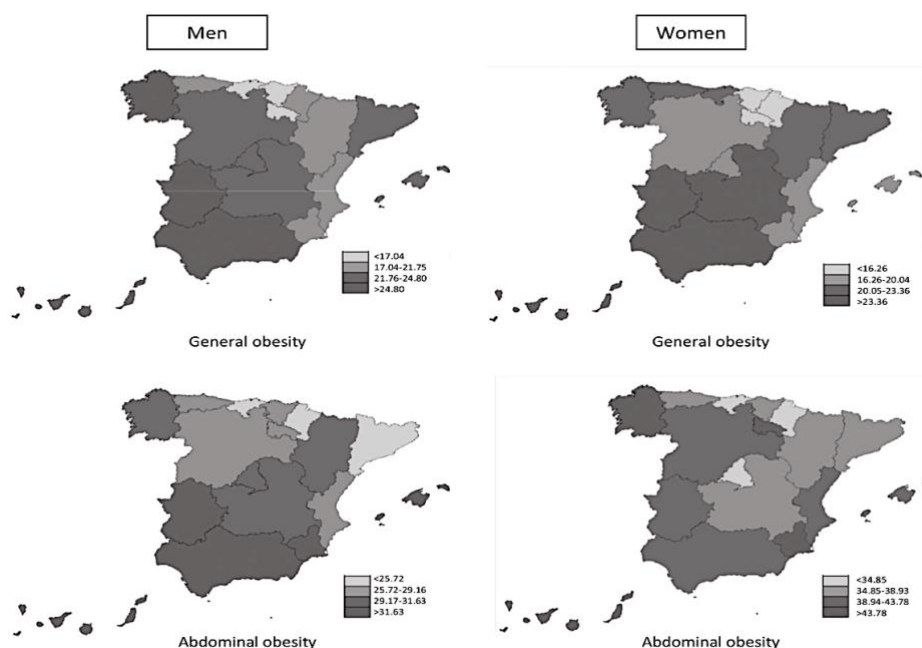


Figura 4. Variación regional de la prevalencia de obesidad general y obesidad abdominal ajustada por edad en España (Gutiérrez-Fisac J, et al. 2015 (33)).

2.4 Teoría evolutiva de la Obesidad

Es indudable que la obesidad es una patología con diferentes aspectos y cada día conocemos estudios novedosos que intentan explicar los componentes que ayudan a entender de manera integral al paciente obeso. El incremento rápido de cualquier condición médica podría ser atribuida a factores ambientales. Sin embargo, en el caso de la obesidad se pudiera relacionar a la interacción de factores ambientales y genéticos. Para entender la etiología y la fisiopatología moderna de la obesidad es necesario estudiar las teorías evolutivas de la obesidad, siendo las principales las que se detallan a continuación:

2.4.1 Hipótesis del Genotipo Ahorrador

La primera explicación de la evolución de la obesidad moderna fue desarrollada por el genetista James Neel en 1962 (36). En su estudio argumentó que la tendencia a desarrollar obesidad o diabetes es un rasgo de adaptación que se ha vuelto incompatible con el estilo de vida moderno. Su "hipótesis de los genes ahorradores" descansa en la suposición de que, durante el curso de la evolución humana, los humanos fueron constantemente sometidos a períodos de banquetes y de hambruna. Durante las hambrunas, las personas que tenían más reservas energéticas presentaban más probabilidades de sobrevivir. Por consecuencia, la evolución actuó seleccionando los genes altamente eficientes en el almacenamiento de grasa en tiempos de abundancia. En las sociedades industrializadas modernas, donde los tiempos de banquetes son comunes y las hambrunas raras, este cambio evolutivo se vuelve un mecanismo en contra de la

adaptación. Por lo tanto, existe un desajuste entre el entorno en el que viven los seres humanos y el entorno en el que evolucionan. Los genes ahorradores actúan para almacenar eficientemente la energía para prepararse para una hambruna, que nunca llega (36).

La teoría descrita proporciona una explicación simple y elegante para la epidemia moderna de la obesidad, y fue aceptada rápidamente por los científicos. Algunas pruebas apoyan esta hipótesis y una implicación importante es que los polimorfismos genéticos que confieren un fenotipo "ahorrativo" deberían existir. En relación a lo anterior, tanto la obesidad como la diabetes tienen un componente genético (37–40), identificándose en la actualidad varios polimorfismos, los cuales predisponen a los individuos a la obesidad (41,42), lo que sugiere potenciales componentes del "Genotipo Ahorrador". Es interesante resaltar que varios polimorfismos de nucleótido simple (SNPs) asociados con un mayor riesgo de obesidad han sido identificados a través de estudios de asociación genómica, aunque cada uno de ellos tiene un efecto relativamente pequeño (43).

Quizás la principal crítica a la hipótesis del gen ahorrador es que parece incapaz de explicar la heterogeneidad entre y dentro de las poblaciones (44). Si el ciclo de banquete y hambre fue una fuerza motriz importante a lo largo de toda la evolución humana, surge entonces la interrogante: ¿por qué no todos los seres humanos son obesos?. Diferentes estudios han demostrado diferencias importantes en cuanto a la susceptibilidad a la obesidad y la diabetes en las poblaciones humanas (45,46). Además, incluso dentro de las poblaciones que viven en los mismos entornos hay muchas personas que parecen ser resistentes a la obesidad (47). Para intentar corregir este problema, Andrew Prentice (48,49) propuso que el hambre es una presión selectiva presente en la evolución humana y que sólo después del advenimiento de la agricultura, hace aproximadamente unos 10.000 años, la hambruna se ha convertido en una importante

presión selectiva, y como tal, es posible que no haya habido suficiente tiempo para que los genes ahorradores logren su impacto en la fijación a nivel genético (48). En las sociedades cazadoras-recolectoras, el principal estilo de vida de los seres humanos arcaicos, no experimentaron de forma habitual hambrunas, ya que su movilidad y flexibilidad les permitieron movilizarse o utilizar fuentes alternativas de alimento cuando encontraban dificultades ambientales. En contraste con este modo de vida, las sociedades agricultoras explotaban relativamente pocos cultivos básicos y tenían menos flexibilidad para manejar las sequías y otras calamidades. Por lo tanto, el ciclo de banquete / hambre puede haber seleccionado los genes ahorradores sólo en las sociedades agrícolas (49). Esto podría explicar por qué no todos los humanos se vuelven obesos y por qué hay variación entre las poblaciones. Algunas poblaciones pudieron haber experimentado más hambruna o períodos de escasez de alimentos a lo largo de su historia y, por lo tanto, han tenido más presión para desarrollar un genotipo ahorrador.

2.4.2 Hipótesis del Fenotipo Ahorrador

La hipótesis del genotipo ahorrador tenía sus detractores, debido a que no explicaba de manera satisfactoria la etiología de la obesidad ni del síndrome metabólico. En 1992, Charles Hales y David Barker propusieron su "hipótesis del fenotipo ahorrador" (también llamada Hipótesis de Barker) (50,51), en parte para intentar explicar las deficiencias de las hipótesis de obesidad basadas en genes, así como para intentar explicar un fenómeno observado, como lo es: porqué los bebés con bajo peso al nacer parecen ser particularmente propensos a la diabetes, obesidad, enfermedades del corazón y otros trastornos metabólicos a lo largo de su vida (50,51).

La hipótesis de Barker se centra en el concepto de "ahorro", pero de una manera diferente a la hipótesis de Neel. Baker en su planteamiento propone que es el feto en desarrollo el que debe ser ahorrativo. Un feto en un entorno con carencias nutricionales, por ende, energéticas, debe obtener y mantener cuidadosamente los aportes nutritivos para poder sobrevivir hasta el momento del nacimiento y por consiguiente en la vida adulta. Esta teoría sostiene que el feto en desarrollo, cuando se enfrenta a una escasez de nutrientes, debería dirigir los pocos elementos obtenidos hacia otros tejidos extra pancreáticos, como por ejemplo el cerebro. Esta compensación pudiera ser razonable, sobre todo si el mismo ambiente de escasez nutricional, en el que se desarrolló el feto, persiste tanto en la infancia como en la vida adulta. Debido a este mecanismo compensatorio ante la escasez, parece lógico suponer que los sistemas pancreáticos especializados en la respuesta a la glucosa podrían estar poco desarrollados. Si la nutrición mejora a lo largo de la vida, el individuo que una vez fue un feto ahorrador podría tener dispositivos pancreáticos mal equipados para hacer frente a la sobrecarga de la glucosa, y pudiera ser propenso a desarrollar diabetes y otras enfermedades metabólicas. Esto podría ser una explicación a la interrogante de que por qué los bebés con bajo peso al nacer parecen particularmente propensos a los trastornos metabólicos a lo largo de la vida adulta (50,51).

Las implicaciones de las hipótesis del fenotipo ahorrador, para el manejo clínico del síndrome metabólico son claras: una nutrición materna y gestacional adecuada son mucho más importantes que las intervenciones en la vida adulta. Si la hipótesis del fenotipo económico es correcta, concentrar los recursos preventivos de salud pública en la mujer embarazada hará mucho más para combatir la epidemia de obesidad que centrarse en tratar la enfermedad en adultos o incluso en niños.

2.4.3 Hipótesis Epigenética Ahorradora

Una de las principales críticas de la teoría genética es que si el hambre es una variable que incide de manera definitiva a lo largo de la evolución humana, entonces ¿por qué no todos los humanos se vuelven obesos?. Los defensores de la hipótesis genética argumentan que tal vez el hambre sólo se convirtió en una importante presión selectiva desde el surgimiento de la agricultura y, por lo tanto, sólo ciertas poblaciones han estado sujetas a este tipo de presión selectiva. La hipótesis del "epigenoma ahorrador" expuesta por Richard Stöger (52) plantea un aspecto contrario y afirma que todos los seres humanos poseen un genoma ahorrador. De hecho, interpreta que la escasez de alimentos probablemente ha sido una de las fuerzas evolutivas clave a lo largo de toda la historia de la humanidad, y el ahorro metabólico es probablemente una característica de todos los organismos. La hipótesis de Stöger intenta explicar algunas de las inconsistencias en la hipótesis de los genotipos ahorradores y al mismo tiempo se intenta integrar con las hipótesis del fenotipo ahorrativo (52).

Stöger basa sus ideas en el concepto de la canalización genética. La canalización genética es un proceso mediante el cual un fenotipo poligénico se "amortigua" contra el polimorfismo genético y la variación ambiental. Este proceso puede considerarse adaptativo ya que las variaciones de las presiones ambientales pudieran dejar a las generaciones posteriores como no aptas para su nuevo entorno. Por lo tanto, la historia evolutiva a largo plazo de la especie seleccionará a un sistema multigenético en el que pequeñas mutaciones hacen poca diferencia en la expresión fenotípica general (53). Una potencial forma por medio de la cual las especies son capaces de mantener este tipo de robustez fenotípica es a través de la regulación epigenética (52).

Stöger sostiene que el ahorro metabólico ha estado sujeto a la canalización genética y es un rasgo fenotípico que es capaz de ajustarse a diferentes presiones ambientales a través de la modificación epigenética. Todos los seres humanos tienen un genoma económico, pero la expresión fenotípica puede variar en función del aporte ambiental debido a modificaciones epigenéticas heredadas a través de varias generaciones. Así, una generación nacida durante un tiempo de hambre puede tener modificaciones genéticas-epigenéticas que permitan un almacenamiento de energía más eficiente, y estas modificaciones pueden ser transmitidas a través de la línea germinal. La evidencia del estudio "Dutch Hunger Winter" apoya esto. Este estudio analizó la salud de una cohorte de varones nacidos antes, durante y después de una hambruna severa que ocurrió en los Países Bajos durante la Segunda Guerra Mundial (54). La investigación encontró que los varones cuyas madres habían experimentado hambruna durante los dos primeros trimestres del embarazo tenían una tasa de obesidad y diabetes mucho más alta que los varones nacidos antes o después del hambre (55). Es importante destacar que muchos de los rasgos de la cohorte holandesa de hambre han pasado a las generaciones posteriores, lo que lleva a la hipótesis de que esta cohorte estaba sujeta a algún tipo de modificación epigenética que afecta el peso corporal y por lo tanto puede decirse que tiene un "epigenotipo ahorrador" (52). Para probar esta hipótesis, Tobi y cols. (56) examinaron los patrones de metilación en individuos concebidos durante o poco antes de la hambruna de 1944 y los compararon con sus hermanos del mismo sexo no expuestos (56). Los resultados demostraron cambios en el patrón de metilación del ADN de varios locis asociados al metabolismo y el metabolismo en individuos expuestos al hambre, lo que apoyaría la hipótesis de que el medio ambiente nutricional in útero puede inducir modificaciones epigenéticas (56).

Una implicación importante de esta hipótesis es que los polimorfismos genéticos probablemente tienen muy poco efecto sobre la fisiopatología de la obesidad. Esto podría ser una explicación de por qué, a pesar de décadas de investigación y de innumerables estudios de polimorfismo genético, se han encontrado relativamente pocas variantes genéticas asociadas con el desarrollo de obesidad o diabetes tipo 2. En cambio, la hipótesis del epigenoma ahorrativo implica que los estudios basados en la asociación genómica de marcadores epigenéticos para la obesidad serían más fructíferos.

Adicionalmente, implícita en esta hipótesis está la idea de que la epidemia de obesidad eventualmente se resolverá si las dietas occidentales permanecen constantes. Las poblaciones que actualmente experimentan un problema de obesidad cambiarán eventualmente de un epigenoma económico a un epigenoma de banquete. La evidencia reciente demuestra que esta transición ya ha comenzado. La tasa de obesidad de los Estados Unidos parece haberse estabilizado en los últimos años (47), y los datos mundiales muestran que la tasa de obesidad infantil también se ha estabilizado (57).

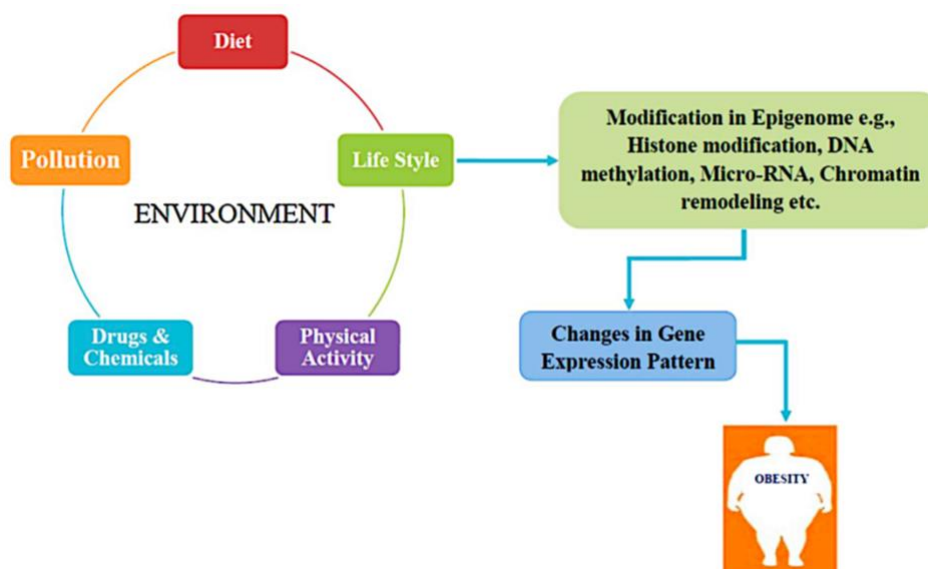
2.5 Etiología de la obesidad

Es indudable que los mecanismos genéticos, fenotípicos y epigenéticos son claves para entender algunos aspectos básicos de la obesidad. A pesar de ello, desde el punto de vista funcional se puede decir que la atención en la etiología del sobrepeso y la obesidad se basa fundamentalmente en el desequilibrio entre la ingesta de alimentos y el gasto energético. Sin embargo, la obesidad puede considerarse como una enfermedad endocrina compleja causada por trastornos de diferentes sistemas de control hormonal que unen al aparato gastrointestinal, el páncreas, el músculo, el tejido adiposo, el hígado y el cerebro, e implica una interacción entre factores ambientales. Además, la función

del eje pituitario y/o gonadal hipotalámico afecta a su vez el balance energético y la función metabólica. Por lo tanto, parece clave comprender, cuales son los mecanismos implicados en la homeostasis energética, como se lleva a cabo la regulación del apetito y del equilibrio energético. Si se pueden identificar cuáles son las sustancias en este complicado sistema de regulación de la homeostasis, se pudieran desarrollar mejores herramientas para controlar a esta patología.

2.5.1 Factores ambientales

Es evidente que el entorno de los pacientes con sobrepeso u obesidad juega un papel clave en el desarrollo y mantenimiento de esta patología. Analizar un solo factor como el causante de esta aparición es muy complicado, y por el contrario en la actualidad existen múltiples elementos que se conjugan e interaccionan con los factores genéticos para el desarrollo de la obesidad común. Dentro de los múltiples componentes ambientales estudiados en relación con esta patología se encuentran: la abundancia de comida, la cual está en relación con el estilo de vida como por ejemplo en los países desarrollados, el progreso en la tecnología, el estatus social, la falta de ejercicio, la



polución, la microbiota intestinal, los hábitos alimenticios, presión social, trastornos psicológicos, tratamientos médicos y ciertas infecciones virales (58).

Figura 5. Representación esquemática entre la relación de factores ambientales, epigenéticos y obesidad (Singh R, et al. 2017 (59)).

2.5.2 Factores hormonales

La incidencia secundaria de sobrepeso u obesidad asociada a patologías endocrinológicas o con ciertos síndromes genéticos, como el síndrome de Prader-Willi es muy baja, sin embargo, el estudio de estos trastornos sirve para entender diversos mecanismos implicados en el desarrollo de estas condiciones. Dentro de las principales alteraciones endocrinas tenemos:

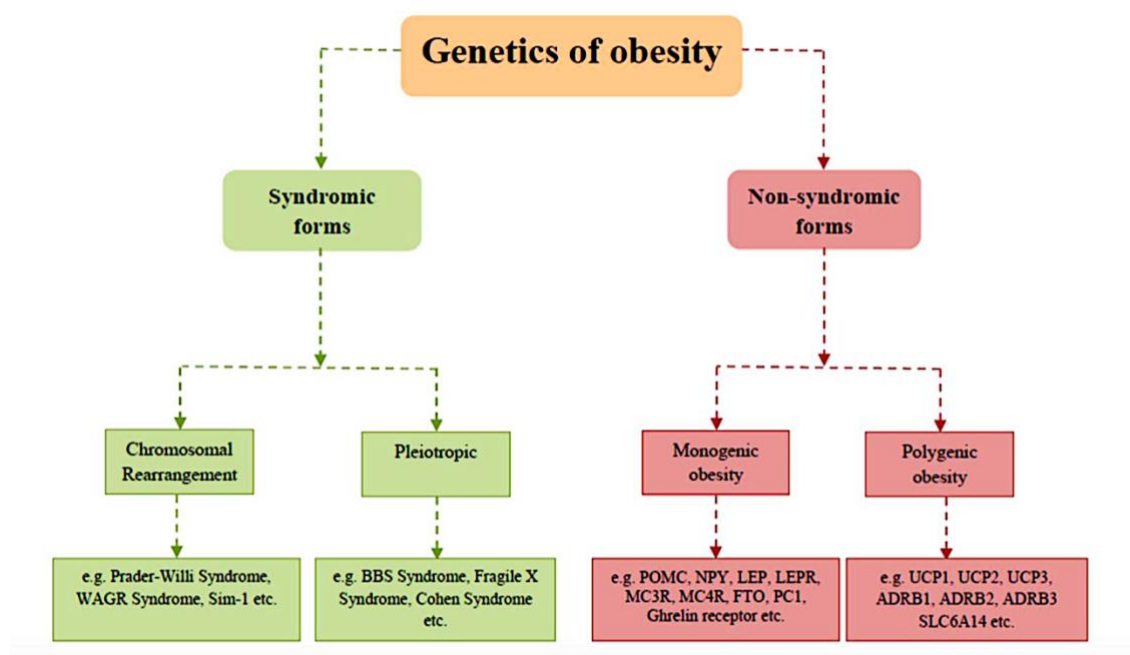
Hipotiroidismo: la causa más frecuente de este cuadro son los trastornos en el eje hipotálamo-hipófisis-tiroides, lo cual en la mayoría de los casos produce disminución marcada de los niveles de tiroxina, lo cual produce disminución del metabolismo, aunque la aparición de obesidad en este cuadro es infrecuente (60,61).

Disminución de hormona del crecimiento: las alteraciones en la disminución de los valores plasmáticos de hormona de crecimiento conllevan a incremento en la grasa y composición corporal anormal. La causa con mayor relación es la alteración del eje

hipotálamo-hipofisario, generalmente con valores séricos normales de factor de crecimiento similar a insulina 1 (IGF-1) (60,61).

2.5.3 Factores genéticos

Existe una clara asociación entre genes y obesidad, pero no se corresponden con leyes mendelianas de herencia, lo cual significa que múltiples genes están involucrados



en el desarrollo de esta, con complejas interacciones que determinan las manifestaciones de esta enfermedad. Los diversos estudios dentro de este campo han centrado las investigaciones en pocos genes, y en aproximadamente 50 locis. Tomando en cuenta los genes implicados en el desarrollo de la obesidad, la misma se clasifica como monogénica y poligénica.

Figura 6. Aspectos genéticos de la obesidad (Singh R, et al. 2017 (59)).

La obesidad monogénica es infrecuente, representando alrededor de un 5% de todos los casos de obesidad diagnosticados y es producida por mutación genética puntual (59,62,63). En estos casos de obesidad se afecta la regulación del peso corporal, la

estabilidad de la ingesta energética, del gasto energético y la adipogénesis (59,62,63).

Dentro de las mutaciones genéticas que producen obesidad monogénica tenemos:

2.5.3.1 Mutaciones genética en POMC y PC1

La proopiomelanocortina es una molécula inhibidora del apetito, que produce hormona estimulante de los melanocitos y ACTH, y opera principalmente a través de la familia similar a rodopsina, la cual es la más amplia familia de receptores de proteína G, que contiene a los receptores de melanocortina (subtipo 1-5). Los defectos en POMC y ACTH en niños obesos desde el nacimiento pueden estar asociados a una insuficiente adrenal cortical aguda (59,62,63). Por el contrario, las alteraciones en la proteína convertasa 1 (PC1), interfiere en el control post-translacional de POMC, lo cual conlleva a la aparición temprana y severa de obesidad, con hipoglicemia, hipogonadismo, hipocortisolemia y trastornos del intestino delgado (59,62,63).

2.5.3.2 Mutaciones en la leptina y su gen receptor

La leptina y su gen receptor se localizan normalmente en el tejido adiposo y su papel en este tejido es el metabolismo graso y la ingesta de energía. La función característica de la leptina es incrementar el apetito, por lo que se denomina orexigénica (59,64,65). Esta acción, se lleva a cabo a través de la unión de la leptina con su receptor específico localizado en el núcleo arcuato del hipotálamo e inhibe las señalizaciones de vías NPY/AgRP. Además, tanto la leptina como su receptor poseen la capacidad de activar el complejo POMC/CART, lo cual disminuye el apetito, recibiendo el nombre de anorexigénica (59,62,63). Se ha demostrado que individuos con obesidad severa de

aparición precoz presentan bajos niveles plasmáticos de leptina, debido a mutaciones homocigotas en el gen de la obesidad, delección de G133 (59,62,63). También se han podido identificar mutaciones en el gen receptor de la leptina, lo que ha permitido demostrar diferentes polimorfismos (59,62,63). Sin embargo, el papel único de la leptina y su receptor en el desarrollo de la obesidad en humanos todavía no ha sido definido.

2.5.3.3 Mutaciones en el gen del Neuropeptido Y

Este neuropeptido juega un papel clave en el control hipotalámico del balance energético. Se han descrito diferentes variantes genéticas del gen productor de NPY, y que el polimorfismo nucleótido único de rs16139 (Leu7Pro) se ha relacionado con obesidad y sus complicaciones, como hipertensión arterial, elevados niveles plasmáticos de LDL, enfermedad coronariana, etc. (59,62,63).

2.5.3.4 Mutaciones en el gen receptor de grelina

El receptor de grelina es un péptido lipofílico ubicado en la mucosa gástrica. La estimulación de este receptor regula diversos procesos fisiológicos incluyendo la ingesta de comida, gasto energético, metabolismo de la glucosa, funciones cardiovasculares, motilidad y secreción gástrica, y función sobre el sistema inmune (66–68). Algunos estudios han demostrado polimorfismos y mutaciones en este gen que pudieran estar asociados a obesidad y estatura baja (59,62,63). Durante la aparición de obesidad en la pubertad acompañada de estatura baja se han identificado polimorfismo nucleótido único en Ala204 Glu y Phe279Leu (59,62,63).

2.5.3.5 Mutación en el gen receptor de melanocortina 3 (MC3R)

El gen del receptor MC3R posee un exón y se localiza en el brazo largo del cromosoma 20 (Cr20q13.2-q13.3), encontrándose en diferentes regiones como el hipotálamo, cerebro, placenta, estómago, duodeno, páncreas, riñón y macrófagos (59,62,63). Este receptor posee un papel crucial en la homeóstasis energética y se han descrito diferentes mutaciones como Ile183Asn, Leu299Val, Asn128Ser y Val121Ile, en pacientes obesos (59,62,63). Otra mutación Thr280Ser produce disminución en la superficie celular y afecta drásticamente la funcionalidad tanto del ligando como en la generación de AMPc (59,62,63).

2.5.3.6 Mutación en el gen receptor de melanocortina 4 (MC4R)

Este receptor es fundamental en la vía de la melanocortina. Al igual que el MC3R pertenece a la familia de receptores de proteína G y se puede encontrar en el hipotálamo, cerebro, músculo, adipocitos, astrocitos (59,62,63). Su principal acción es la homeóstasis de la energía, ingesta de alimentos, efecto anti-inflamatorio, tolerancia a las drogas e interviene en la conducta sexual (59,62,63). En 1998 se describió la primera mutación en este gen y se demostró que es responsable de la aparición de obesidad, desde entonces alrededor de 118 mutaciones han sido descritas, muchas de las cuales tienen implicaciones en cuanto a poblaciones específicas (59,62,63)

2.5.3.7 Mutación en el gen FTO

Esta región genética denominada masa grasa asociada a obesidad, contiene 9 exones con más de 400 kb. Su función se ha descrito en estudio con ratones, donde se ha

demostrado que interviene en el control de la ingesta de alimentos, homeostasis energética, así como en el gasto energético (59,62,63,69). Este gen se localiza en diferentes tejidos tanto fetales como de adultos en humanos, con una mayor concentración a nivel cerebral, en particular en la región hipotalámica (59,62,63,69), donde se cree interviene en el control de los mecanismos energéticos. Las alteraciones genéticas de FTO se han relacionado con obesidad y diabetes tipo 2, tanto en poblaciones europeas como en asiáticas (59,62,63,69).

La obesidad poligénica también es denominada obesidad común. Hipotéticamente, esta forma de obesidad es mucho más compleja ya que difiere específicamente de un individuo a otro. Gracias al descubrimiento de nuevas tecnologías se han podido identificar algunos candidatos genéticos dentro de este grupo, cuyas alteraciones se han asociado al desarrollo de obesidad, dentro de los cuales tenemos:

2.5.3.8 Mutación en el gen de la familia de los receptores β -adrenérgicos

Esta familia de receptores pertenece a la familia de receptores de proteína G e intervienen en los mecanismos de control de la actividad física-inflamación entre los individuos obesos a través de la regulación de los niveles de citoquinas inflamatorias y de su ligando específico, especialmente epinefrina (adrenalina) (56–58). Dentro de este grupo de receptores se conocen tres clases, cuyas mutaciones son fundamentales para el desarrollo de obesidad a diferentes niveles como alteración de la lipólisis en el tejido adiposo, elevación de los niveles de leptina y metabolismo alterado de los adipocitos (56–58).

2.5.3.9 Mutación en la familia del gen de proteína no acopladora

Este gen posee diferentes miembros, con expresión principalmente en la grasa parda y el músculo esquelético (56–58). Sus funciones son variadas, e intervienen en la termogénesis y contribuyen al metabolismo energético. Se han asociado mutaciones en las clase 2 y 3 de este grupo como los principalmente relacionados con el desarrollo de obesidad (56–58).

2.5.3.10 Mutación en el gen SLC6A14

Este gen es un descubrimiento reciente en el desarrollo de la obesidad, ya que es capaz de codificar un aminoácido transportador que regula la accesibilidad del triptófano para la síntesis de serotonina y puede afectar el control del apetito así como el balance energético (56–58). Se expresa fundamentalmente en el hipotálamo, en relación con las regiones que se relacionan con la conducta alimenticia, a través de la modulación de las cantidades de triptófano disponibles en la generación de serotonina (56–58).

2.5.3.11 Formas sindromáticas de obesidad

Dentro de este grupo de patologías tenemos aquellas en las cuales la obesidad forma parte de un conjunto de manifestaciones clínicas y que puede deberse a alteraciones cromosómicas específicas. Dentro de estas causas tenemos:

2.5.3.12 Debidas a re-arreglo cromosómico

2.5.3.12.1 Síndrome de Prader-Willi

Este síndrome es causado por la pérdida de un segmento paternal 15q11.2-q12 (60,61,70,71). Esta pérdida puede ser por deleción o por pérdida cromosómica. Su prevalencia es de un paciente por cada 25000 nacimientos. Las principales manifestaciones son obesidad, leve retardo mental, estatura corta y una apariencia facial característica (60,61,70,71). La causa de estas manifestaciones tienen que ver con incremento en la grelina, con interacción en las vías de señalización hipotalámica relacionadas con el metabolismo energético (60,61,70,71).

2.5.3.12.2 Síndrome WAGR

Este síndrome proviene de las siglas de tumor de Wilms, anorexia, ambigüedad genital y retardo mental, siendo producto de la deleción en el cromosoma 11p13. Otro factor genético asociado a la aparición de este cuadro es la deleción del gen del factor neurotrópico derivado cerebral, el cual produce un fenotipo obeso (72).

2.5.3.12.3 Síndrome Sim-1

Clínicamente este cuadro se caracteriza por aparición precoz de obesidad, hiperfagia, retraso del desarrollo e hipotonía. La causa es la deleción del cromosoma 6 (73).

2.5.3.13 Por alteraciones pleiotrópicas

2.5.3.13.1 Síndrome de Bardet-Biedl

Está relacionado con aparición temprana de obesidad, polidactilia, trastornos de aprendizaje, dislexia, hipogonadismo y alteraciones renales progresivas. Se han descrito alrededor e 14 locis, denominados genes SBB, los cuales pueden mutar y producir este característico síndrome (74,75).

2.5.3.13.2 Síndrome de cromosoma X frágil

El cuadro clínico de caracteriza por retardo mental severo, pabellones auriculares grandes, macrocefalia, mandíbula prominente, tono de voz alto y moderada obesidad. Los análisis moleculares han evidenciado que la clonación del locus del cromosoma X frágil muestra un crecimiento no balanceado del trinucleótido CGG polimórfico, el cual está también presente en el gen de retardo mental del cromosoma X frágil (76–78).

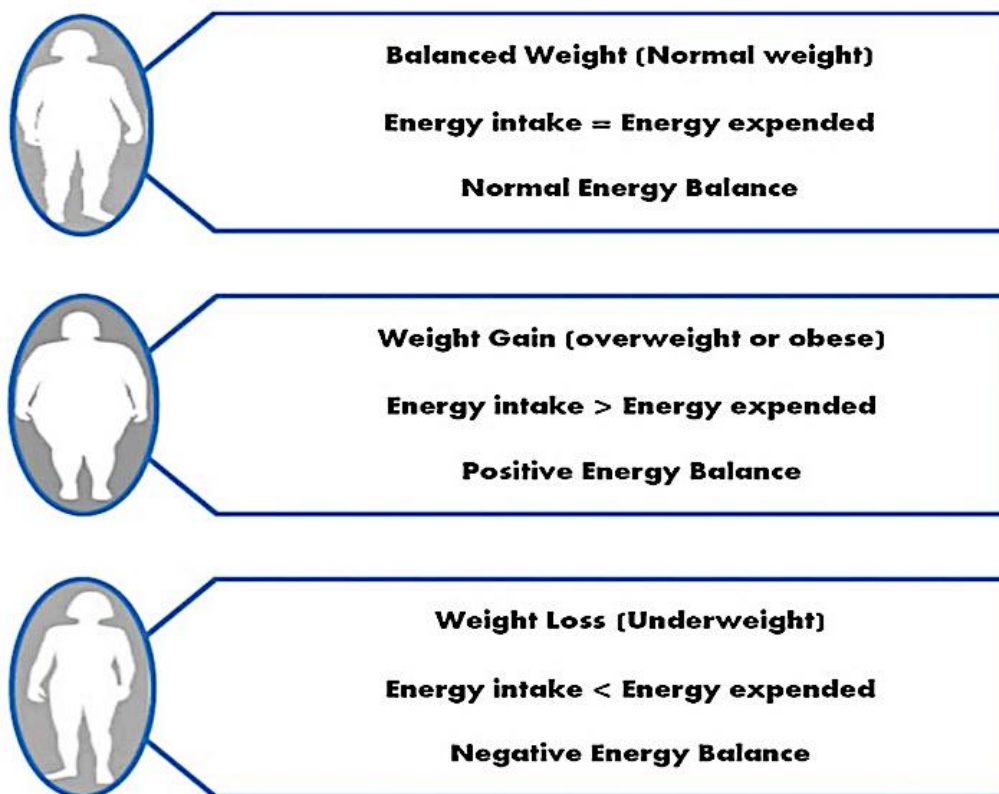
2.5.3.13.3 Síndrome de Cohen

Es un desorden genético autosómico recesivo homogéneo, caracterizado por obesidad, retardo mental, estatura baja y microcefalia. El responsable de este síndrome es la mutación del gen COH1, el cual está localizado en el cromosoma 8q22. (79,80).

2.6 Balance energético

Es indudable que para lograr entender los mecanismos implicados en el desarrollo de la obesidad es necesario comprender como el organismo regula la energía.

El balance energético se define como la cantidad total de energía adquirida de la comida y la nutrición, y la cantidad total utilizada por el cuerpo (81). El organismo asumirá un estado de balance energético positivo cuando la cantidad total de ingesta energética



excede el gasto total de energía. Por el contrario, el organismo que posee un estado de energía negativo tendrá por consiguiente un exceso de energía utilizada ante una ingesta determinada. De lo descrito anteriormente, se puede señalar que un balance energético positivo es clave en el desarrollo del sobrepeso y de la obesidad, ya que favorece el almacenamiento de energía en forma de ácidos grasos (81). Estos ácidos grasos se almacenan en el tejido adiposo y pueden ser utilizados si el organismo es privado de energía. Sin embargo, en condiciones de sobrepeso y obesidad se advierte una alteración en este mecanismo, ya que siempre existe un estado de balance positivo que produce un incremento del almacenaje de energía en lugar de utilizar la energía almacenada.

Figura 7. Balance energético. Variaciones entre ingesta y gasto de energía (Singh R, et al. 2017 (59)).

Debido a que el balance energético depende en parte de la conducta alimenticia es necesario entender los mecanismos implicados en el sistema nervioso central y las moléculas que intervienen en su regulación. A continuación, se resumen estos mecanismos:

La región fundamental en el sistema nervioso central encargada de la regulación del metabolismo energético es el hipotálamo. En los años cincuenta se creía que los mecanismos regulatorios implicaban la acumulación de grasa por el organismo (59). Sin embargo, posteriormente se comienzan a conocer una serie de señales que intervienen en los mecanismos de saciedad como el glucagón, la bombesina y la colecistoquinina, relacionadas con la presencia de comida (59). En la actualidad, se conocen diferentes moléculas que intervienen en los mecanismos de señalización de la conducta alimenticia regulada por el hipotálamo, como son:

2.6.1 Leptina

Esta sustancia es producida por el tejido adiposo y media directamente su actividad en el sistema nervioso central, produciendo inhibición de la ingesta de alimentos. La leptina transmite información al hipotálamo acerca de la cantidad de energía almacenada en el tejido adiposo y contribuye a la supresión del apetito, así como al gasto de energía (62,64,82). Su actividad sobre el proceso metabólico es, posiblemente, a través de la activación de AMP proteína-quinasa lo que promueve la oxidación lipídica (62,64,82). Las acciones de la leptina son mediadas y reguladas por cuatro isoformas diferentes de receptores específicos, cuya activación conlleva a la señalización intracelular de JAK-STAT (62,64,82).

2.6.2 Insulina

Secretada por las células beta pancreáticas posee funciones similares a la de leptina, en cuanto a las señales procesadoras de adiposidad. Como es bien conocido, la insulina estimula el consumo de glucosa y depósito de glucógeno en el hígado, además de disminuir la liberación de glucosa hepática (62,83). Es interesante señalar que a nivel del núcleo arcuato existen receptores específicos para la insulina, los cuales reducen la ingesta de alimentos y favorecen la regulación del peso corporal (62,83).

2.6.3 Neuropéptido Y

Esta molécula ejerce su acción en el núcleo para ventricular, produciendo un incremento en la conducta alimenticia, peso corporal y en la adiposidad (84,85). Debido a estas características es considerado un estimulador del apetito.

2.6.4 Proteína relacionada Agouti

Es un neurotransmisor estimulador del apetito en la región hipotalámica antagonista del receptor de melanocortina 3 y 4. Su regulación a través de estas vías, contribuye al control de la alimentación y en la regulación del peso (62,86–88).

2.6.5 Proopiomelanocortina

Esta molécula es considerada un inhibidor del apetito que produce hormona estimulante de los melanocitos, operando a través de los receptores de melanocortina 3 y 4, para producir inhibición del apetito (62,89,90)

2.6.6 Vías de melanocortina y homeostasis energética

El sistema de la melanocortina en el sistema nervioso central forma una red crucial para la sensación nutricional neuronal, direccionando la respuesta del apetito y del metabolismo (59). El sistema de melanocortina es clave en la regulación de diferentes funciones habituales como la homeóstasis energética y del metabolismo, respuesta a las situaciones de estrés, actividad sexual e inflamación (41,87,89,91). Este sistema posee diferentes tipos de señalización y moléculas biológicas, dentro de las cuales se pueden mencionar a los agonistas representados por la hormona adrenocorticotropa, cocaína, anfetaminas y la hormona estimulante de los melanocitos, estas sustancias producen escisión post-translacional de polipéptidos de proopiomelanocortina (89,90). Las sustancias con propiedades antagonistas como el neuropéptido Y y la proteína Agouti (89,90). Por último cabe señalar a los receptores de melanocortina y a las proteínas accesorias como parte de este complejo entramado implicado en la regulación de los mecanismos de conducta alimenticia y control energético (41,87,89,91).

Las vías de señalización de la melanocortina, como ya fue mencionado, es compleja, pero se puede resumir en las siguientes rutas principales, a saber:

2.6.7 Vía de señalización asociada a leptina

En esta vía la leptina plasmática, producida por el tejido adiposo, después de atravesar la barrera hematoencefálica se une a receptores específicos en el núcleo arcuato hipotalámico (87,89). La leptina actúa a través de dos grupos de neuronas, las POMC/CART, incrementando la actividad post-traslacional de la hormona estimulante de los melanocitos, lo que conlleva a un efecto inhibitorio de la acción del complejo NPY/AgRP con la consecuente regulación de la conducta alimenticia (87,89).

2.6.8 Vía de señalización asociada a proteínas receptoras de proteína G

En esta ruta involucra al péptido POMC el cual ejerce su efecto a través de un mecanismo dependiente de AMPc, cuando se une a las GPCR tipo receptores de melanocortina. Una vez activado este receptor de membrana celular se desencadenan diferentes señalizaciones intracelulares que estimulan las vías AMPc/PKA/ERK1/2 (59). El incremento de los niveles intracitoplasmáticos de AMPc actúa como segundo mensajero para activar a la PKA, la cual se transloca al núcleo donde produce fosforilación los factores transcritores de la familia de CREB, lo que conlleva a un efecto de inhibición en la expresión de los genes de elementos de expresión de AMPc. Todo este mecanismo facilita, en última instancia, las funciones biológica de los receptores de melanocortina (62,89).

2.6.9 Homeostasis energética mediada por receptores de melanocortina

La homeostasis energética implica el uso de señales químicas y neuronales en el cuerpo humano, para mantener la cantidad de energía y regular la ingesta de ésta por la sensación de hambre. Los MCR principalmente el subtipo 3 y 4 están íntimamente relacionados en la regulación de la conducta de la ingesta y la homeostasis de la energía. El mecanismo implicado en este control implican en primer lugar a la leptina y a dos grupos de neuronas constituidas por NPY/AGRP y POMC/CART, cuyo efecto final es producir disminución del apetito, por lo que se denominan anorexigénicas (62,89).

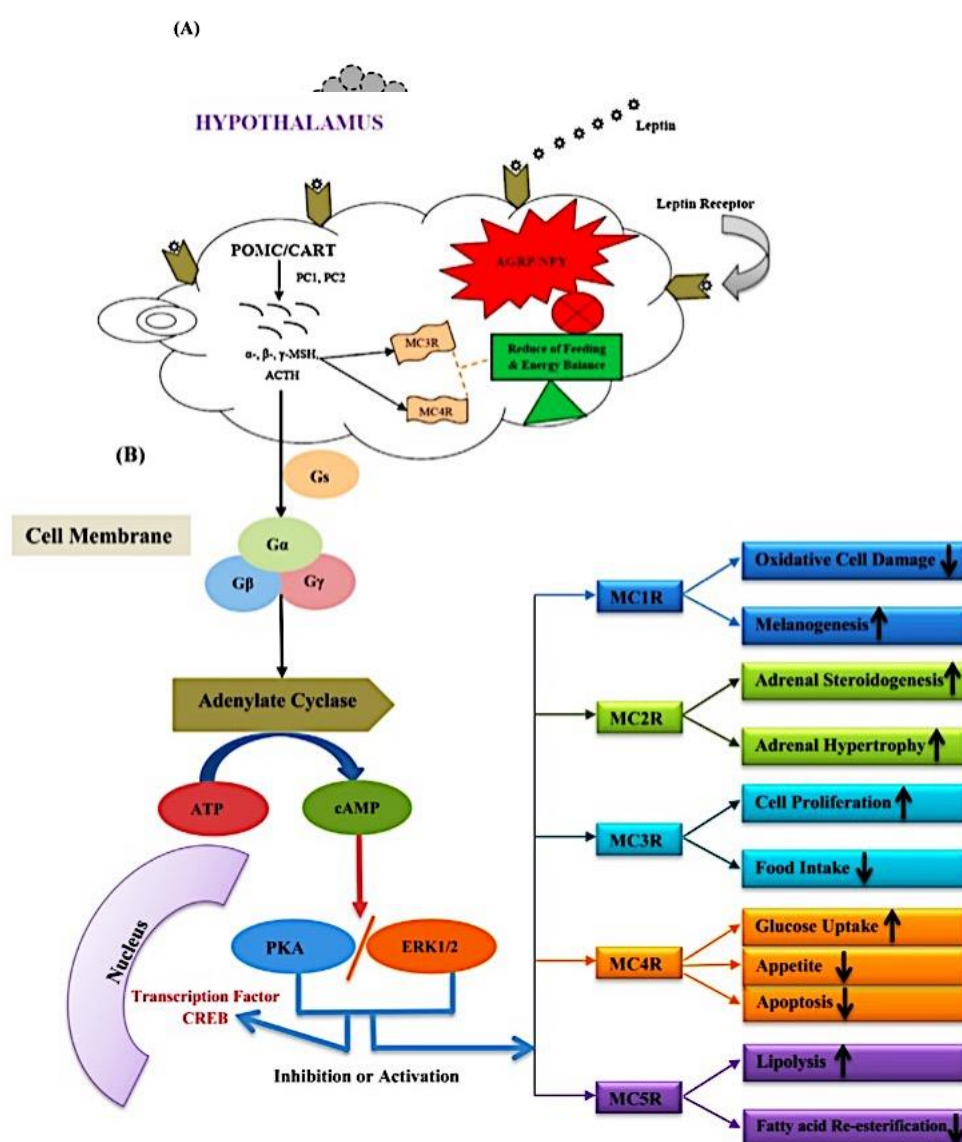


Figura 8. Vías de señalización de melancortina. (A) Asociada a Leptina. (B) Asociada a GPCR. (Singh R, et al. 2017 (59)).

2.7 El estómago y su papel en la obesidad

Uno de los órganos implicados en la regulación del apetito y de la digestión es el estómago. En el estómago de los mamíferos se han podido describir distintos tipos de células endocrinas, incluyendo aquellas encargadas de la producción de histamina (células ECL), células D productoras de somatostatina, las células G de gastrina y las CE de serotonina (92). Sin embargo, otra sustancia descrita originalmente como un potente secretagogo de la hormona del crecimiento, y posteriormente implicada en el mecanismo del apetito y del almacenamiento adiposo, ha hecho que su estudio en el campo del balance energético sea fundamental, dicha sustancia es la grelina (93).

2.7.1 Grelina

El gen encargado de la transcripción de la grelina se localiza en el brazo corto del cromosoma 3 (Cr3p25-26) (93–95). Este gen, tanto en humanos como en ratones, está constituido por seis exones, dos de los cuales son no codificantes y cuatro intrones, que codifican 511 bp de ARNm (94–96). Los exones 1 y 2 son los encargados de codificar la grelina funcional (97). El resultado de la transcripción genética es la preprorelina, la cual posee 117 AA, 23 de los cuales corresponden a péptidos de señal y los restantes (94 AA) a prorelina (98–102). La prorelina está constituida por dos regiones, una denominada grelina de 28 AA y la otra designada como C-grelina, la cual presenta 66 AA con una región carboxiterminal (99,101,102). Una vez que la C-grelina se transforma se convierte en obestatina (103). Estructuralmente, la grelina posee una masa molecular total de 3,370 Kd y su fórmula química es C₁₄₉ H₂₄₉ N₄₇ O₄₂ (67,104). Dentro de sus

características bioquímicas más relevantes se puede mencionar que es la primera y única hormona peptídica conocida en la que el hidroxilo de uno de sus residuos de serina es acilado por un grupo graso ácido n-octanoico, siendo este evento fundamental para su actividad funcional (67,105). La grelina tiene un resto hidrofóbico, octanoilada y la cadena alquílica que une el enlace éster a la cadena lateral de la serina (67,105). Estructural y funcionalmente, grelina se asemeja a la hormona motilina y puede haber evolucionado de un gen ancestral común (67,105). Por lo tanto, en la actualidad se consideran a ambas hormonas como miembros de la nueva superfamilia de péptidos motilina-grelina (67,105).

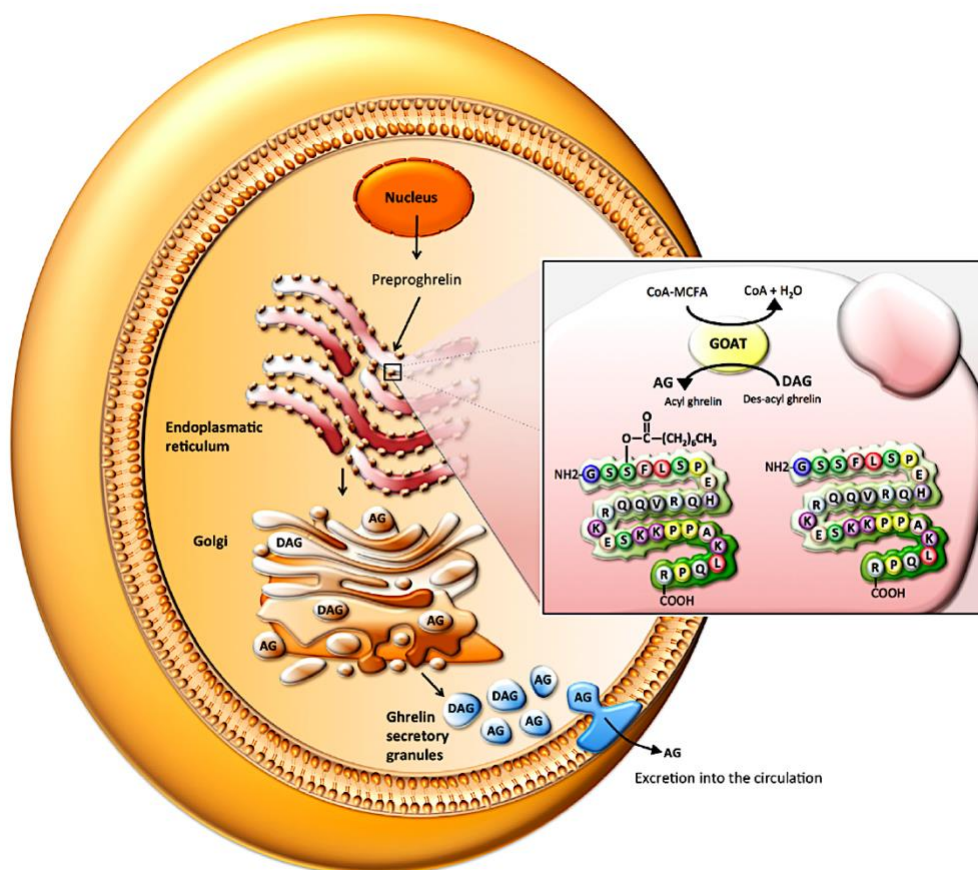


Figura 9. Esquema del control post-traslacional de la grelina. (Müller T, et al 2015 (67)).

La grelina ha sido identificada en diferentes especies, incluyendo humanos, ratas, ratones, monos, ovejas, cabras, etc. (94,106–113). También, diferentes órganos han

demostrado expresión tisular de grelina, como son: estómago, duodeno, yeyuno, íleon, colon, pulmón, corazón, páncreas, riñón, testículo, pituitaria e hipotálamo (97,114,115). Sin embargo, la principal fuente de grelina endógena parece ser la mucosa oxíntica del estómago (116). En esta localización las células encargadas de la producción de grelina son las células P y D (P/D), ambas consideradas como un solo tipo funcional (116). En estudios llevados a cabo en estómagos humanos dichos elementos celulares representan un 20 a 30 % de las células neuroendocrinas, lo cual representa una población neuroendocrina gástrica relevante (115,116). Ultraestructuralmente, las células grelina humanas se caracterizan por gránulos sólidos, redondos o con pequeños halos peri granulares con un diámetro medio de 147 ± 30 nm, microfilamentos abundantes y cuerpos densos lisosomales frecuentes (115,116). La abundancia de microfilamentos citoplasmáticos pudiera estar en relación con la distensión de la mucosa gástrica, la cual a su vez regularía la secreción de grelina (115,116).

Una vez que la grelina es liberada por las células gástricas P/D, sus principales funciones biológicas incluyen la secreción de la hormona del crecimiento (GH), regula la ingesta de alimentos, el peso corporal, la adiposidad y el metabolismo de la glucosa (1,67,117,118), entre otras. Así mismo, se ha demostrado que interviene en la modulación sistémica del metabolismo a través de circuitos neuronales orexigénicos (119,120).

2.7.1.1 Mecanismos fisiológicos de acción de la grelina

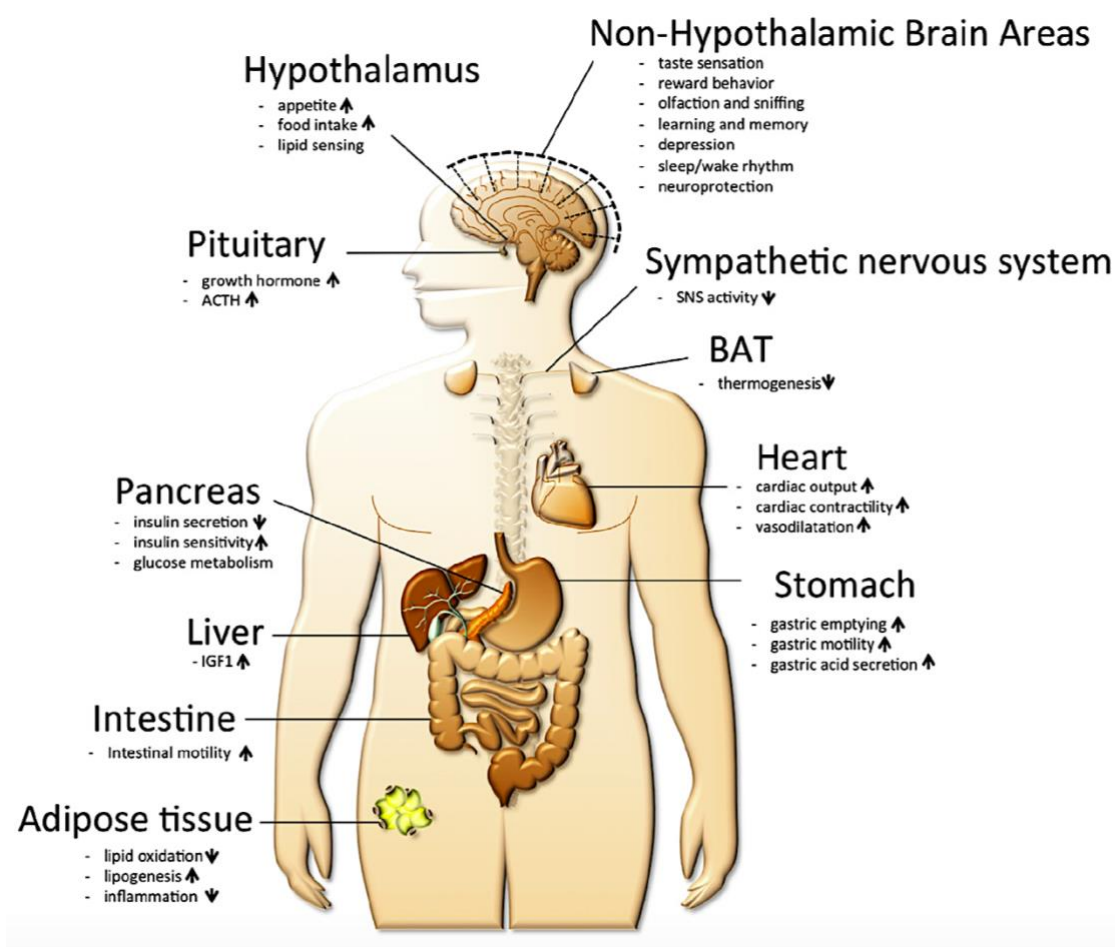
El estudio de la grelina como promotor de la liberación de hormona del crecimiento (GH), se remonta a los años 70 (117,118,121,122) con el desarrollo de derivados de los opioides sintéticos, los cuales producían la liberación de GH a partir de

la glándula pituitaria anterior (121,122). Desde entonces, el conocimiento de las vías de liberación de GH ha permitido conocer que existen péptidos liberadores de GH, conocidos como GHRP (del inglés Growth Hormone Released Peptide), los cuales actúan en la pituitaria y en la región hipotalámica del núcleo arcuato, por medio de las neuronas específicas encargadas de la liberación de GH (123,124). En 1996, se clona por primera vez un receptor secretagogo de la GH, denominado GHSR1a (del inglés Growth Hormone Secretagogue Receptor) (124,125). Este receptor tiene una amplia distribución tisular y se localiza predominantemente en la glándula pituitaria anterior, islotes pancreáticos, glándula suprarrenal, tiroides, miocardio, núcleo arcuato, hipocampo, la sustancia nigra de la pars compacta, área ventral tegmentaria y los núcleos del rafe (126,127). Finalmente, en 1999 Kojima y cols. (96) describieron el ligando endógeno para GHSR, purificado a partir de extractos gástricos purificados de ratas, este ligando

se denominó grelina, cuya raíz - *Gre* - se origina de la raíz Proto-Indo-Europea de la palabra crecimiento (96).

Figura 10. Resumen de las propiedades fisiológicas de la grelina. (Müller T, et al 2015 (67)).

2.7.1.2 Grelina y el efecto sobre el eje GH



En humanos, la inyección intravenosa de grelina induce la liberación de GH, tanto de forma aguda como durante 24 horas (128–130). Así mismo, la administración de grelina, a altas dosis, es capaz de producir incremento en los niveles plasmáticos de la ACTH, prolactina y de cortisol (128), mientras que inhibe la liberación de hormona

luteinizante (131). Una de las aplicaciones diagnósticas de sustancias sintéticas similares a la grelina es establecer la deficiencia de GH (132), así como una opción terapéutica para la disminución de GH dependiente de la edad (133).

2.7.1.3 Grelina y el metabolismo de la glucosa

Tanto la glucosa como la insulina presentan variaciones al suministrar grelina en humanos. Los efectos posterior a su administración consisten en un incremento de los niveles plasmáticos de glucosa, con disminución de los de insulina (134–138). Es interesante resaltar que en los islotes pancreáticos las células α expresan GHSRs y su presencia probablemente sirva para regular la secreción de glucagón por la estimulación directa de la grelina (138). Diferentes estudios han sugerido que se produce la inhibición en la secreción de insulina posterior a la administración de grelina tanto en sujetos delgados como en obesos, con o sin síndrome de ovarios poliquísticos (139). Un posible mecanismo implicado en la inhibición de la secreción de insulina por las células pancreáticas alfa mediada por la grelina, sería a través de una vía de señalización no canónica del GHSR1 en la que la subunidad de la proteína G heterotrimérica $G\alpha 1$ en lugar de $G\alpha q$ se acopla al receptor (140,141). Esta modificación en la señalización depende de agonistas los cuales son capaces de mediar las interacciones moleculares entre GHSR1 y el receptor de somatostatina subtipo-5 (SST5) con la formación de heterodímeros GHSR1a: SST5 (141).

2.7.1.4 Grelina y la motilidad gastrointestinal

Como se mencionó anteriormente, la grelina se asemeja a la hormona motilina y en la actualidad se consideran a ambas hormonas como miembros de la superfamilia de péptidos motilina-grelina (142–144), las cuales están involucradas en la regulación de la migración del complejo motor (MCC) con efectos sobre el vaciamiento gástrico (142–144). Además, cuando se administra a individuos sanos la grelina se ha visto que se induce la MCC en ayunas, se inhibe la acomodación gástrica y se acelera el vaciamiento gástrico en el estado postprandial (145,146).

2.7.1.5 Grelina y la ingesta de alimento

Hoy se sabe que la grelina es la única hormona circulante, administrada a nivel central y sistémico, la cual incrementa la adiposidad y la ingesta de alimentos (147). El efecto de la grelina sobre la adiposidad es independiente de GH e implica circuitos neuronales que controlan la ingesta de alimentos, el gasto energético, la partición de nutrientes y recompensa (119). En el AR, un centro hipotalámico clave regulador de la ingesta de alimentos y la saciedad (148), la grelina aumenta la actividad de los NPY y de la Agrp en las neuronas, mientras que produce inhibición de la actividad de proopiomelanocortina (119). La presencia de NPY y Agrp son cruciales para conseguir el efecto de la grelina en el comportamiento de la alimentación. En este sentido, se ha demostrado que en ratones modificados genéticamente carentes de como grelina, no logran aumentar la ingesta de alimentos debido a la falta de actividad a través de Npy y Agrp (149).

2.7.1.6 Grelina y la adiposidad

El incremento en la adiposidad inducida por la administración, a nivel central, de grelina conlleva a la estimulación de enzimas clave que promueven efectos en el almacenamiento de ácidos grasos, mientras que los genes que controlan la velocidad en la oxidación de la grasa, se encuentran disminuidos (149). Estas acciones del sistema de grelina cerebral en el tejido adiposo están mediadas por el sistema nervioso simpático, y son independientes de la ingesta de alimentos o del gasto de energía (91). Además de sus acciones sobre el metabolismo de los lípidos en el tejido adiposo, la administración central crónica de grelina también incrementa los niveles de plasmáticos de colesterol, en especial de HDL. En ratones carentes de grelina y de GHSR1 se ha demostrado incremento del HDL, lo cual apoya el papel de la grelina en el metabolismo lipídico y los mecanismos implicados en la lipogénesis (5,150).

2.8 Complicaciones relacionadas con la obesidad (comorbilidades)

Es bien conocido que parece existir una relación entre obesidad y diferentes condiciones, las cuales se pueden desarrollar como consecuencia de mecanismos presentes en la obesidad como el trastorno metabólico subyacente, el estrés mecánico e inflamatorio o bien debido al trastorno hormonal que padecen estos pacientes. A continuación, se señalan las principales complicaciones presentes en la obesidad:

2.8.1 Enfermedad cardiovascular (ECV)

Diferentes estudios han señalado que la obesidad es un riesgo mayor para el desarrollo de ECV (34,151–153). Debido a la obesidad, hay aumento del volumen total sanguíneo y del gasto cardíaco, los cuales son consecuencia de un incremento de la

demanda metabólica del organismo, debido al exceso de peso corporal (151,152,154,155). En la obesidad hay una mayor presión de llenado en el ventrículo derecho, gasto cardíaco, presión sistólica y un mayor índice resistencia vascular pulmonar (151,152,154,155). Varios estudios han demostrado que el incremento en el IMC se asocia significativamente con síntomas de ECV como infarto miocárdico, angina, fallo cardíaco y muerte súbita (71,156,157).

2.8.2 Hipertensión Arterial Sistémica

La hipertensión es otra de las complicaciones asociadas con la obesidad. Su aparición está relacionada con cambios en la función y la estructura renal, producen la activación de mecanismos a nivel del sistema nervioso central, mediados por el sistema renina-angiotensina y retención de sodio (158–162). La hipertensión en la obesidad, así como en la asociada a otras condiciones, produce otras complicaciones asociadas como hipertrofia ventricular izquierda, fibrilación auricular, fallo cardíaco congestivo, enfermedad arterial coronaria, enfermedad cerebrovascular e insuficiencia renal (158–162). Se ha calculado que la obesidad es la causante de hipertensión esencial en el 78% de los hombres y en el 65% de las mujeres.

2.8.3 Diabetes Mellitus tipo 2

La obesidad también juega un papel importante en la diabetes. Se calcula que alrededor de 360 millones de personas a nivel mundial presentan diabetes tipo 2, y de continuarse con esta tendencia, se calcula que el 10% serán diagnosticados con esta enfermedad en el 2030 (153,163–166). Entre un 60 al 90% de los pacientes obesos muestran asociación con este tipo de diabetes. Los mecanismos implicados en su

desarrollo son múltiples, pero se ha demostrado un incremento en la resistencia a la insulina en relación al incremento del peso corporal (153,163–166).

2.8.4 Enfermedad de Alzheimer

Los mecanismos ligados entre enfermedad de Alzheimer y la obesidad todavía no son del todo conocidos. La obesidad central en edades tempranas se ha asociado a un incremento en el riesgo de aparición de demencia, incluyendo Alzheimer (167–171). La principal relación entre estas dos entidades puede deberse a la disfunción metabólica y vascular producto de la obesidad (167–171). Sin embargo, recientemente se ha indicado que la obesidad periférica podría modular la alteración neuronal a través de la producción de ciertas citoquinas como la leptina, adipocina, así como otros mediadores inflamatorios presentes en los pacientes obesos (167–171).

2.8.5 Cáncer

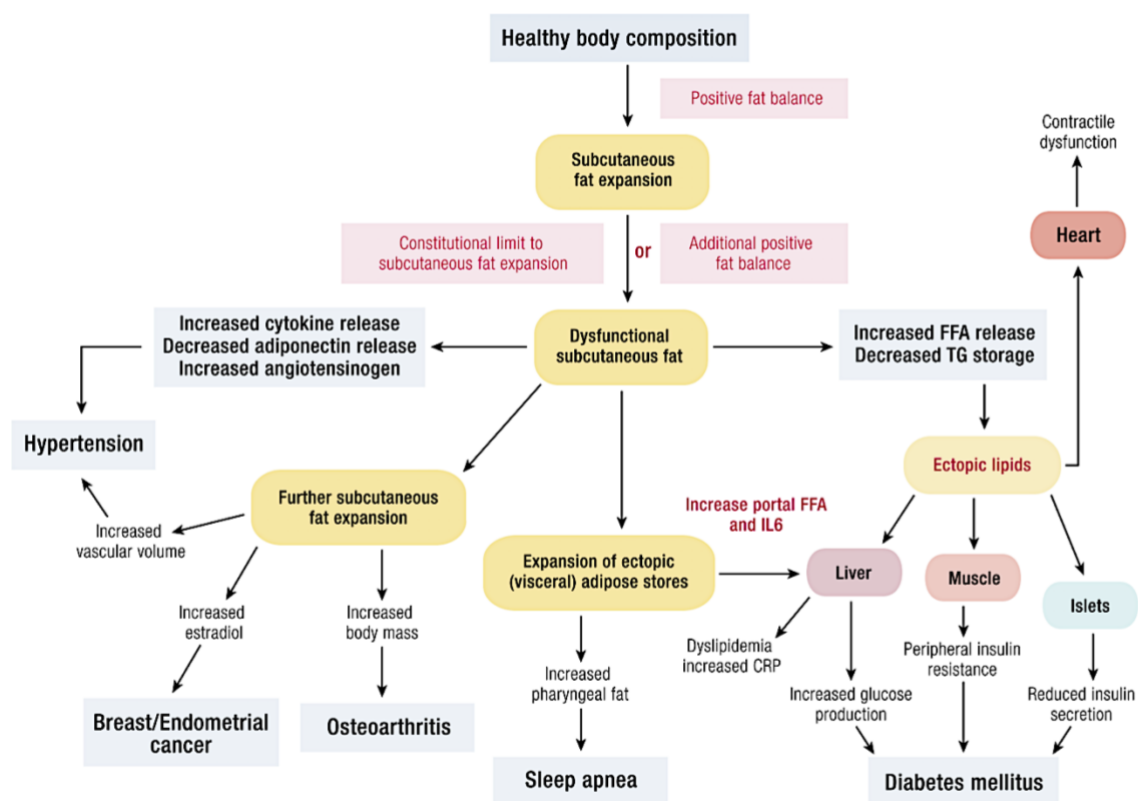
Hoy en día la obesidad se considera una patología clave en su relación con el cáncer, no solamente como factor asociado, sino con implicaciones pronósticas y predictivas. Muchos cánceres se asocian con obesidad, como por ejemplo tiroides, próstata, glándula mamaria, endometrio, ovario y cérvix (172–175). La alteración en el balance energético encontrado en la obesidad induce una serie de cambios sistémicos, los cuales incluyen alteración en los niveles de insulina, IGF-1, leptina, adiponectina, hormonas esteroideas y citoquinas (174–179). Cada uno de estos factores posee la capacidad de alterar el medio nutricional y posee el potencial de crear un entorno que favorece la iniciación y progresión de los tumores. Aunque los mecanismos exactos entre

obesidad y cáncer no se conocen , existen pruebas de que la reducción de la magnitud de los cambios hormonales e inflamatorios sistémicos poseen beneficios clínicos significativos (174–179). Es indudable que comprender los cambios metabólicos que ocurren en las personas obesas también pudiera a ayudar a dilucidar las opciones de tratamiento más efectivas para estos pacientes en caso de desarrollar cáncer.

Figura 11. Resumen de las complicaciones de la obesidad y sus mecanismos fisiopatológicos. (Bray G, et al 2018 (180)).

2.9 Tratamiento de la obesidad

Es innegable que debido al aumento de la prevalencia de la obesidad en todo el mundo es fundamental el desarrollo de estrategias preventivas para disminuir los futuros



costos sanitarios y económicos de este problema. Sin embargo, cuando los planes preventivos fallan es necesario aplicar tratamientos adecuados. Es clave comprender que la aproximación terapéutica de la obesidad es multidisciplinaria y engloba el cambio en el estilo de vida, la modificación en los hábitos alimentarios, el incremento en la actividad

física, la utilización de medicamentos y, en determinadas circunstancias, la intervención quirúrgica (180,181).

2.9.1 Cambio en el estilo de vida de los pacientes obesos

Quizás la piedra angular en el tratamiento de la obesidad lo constituye el cambio en el estilo de vida (150,181). Dentro de este término se engloba, a su vez, el entrenamiento conductual, modificaciones en la dieta para reducir la ingesta de energía y el aumento en la actividad física (150,181). En una revisión sistemática sobre el manejo de la obesidad se ha podido demostrar que las personas que acuden a visitas conductuales, de forma individual o en grupo, durante un período no menor a 14 sesiones durante un año, son capaces de conseguir una reducción del peso corporal de al menos 8 Kg (182). Aunque esta reducción parecería significar poco, la traducción clínica sería significativa, con mejoras importantes en los valores de la presión arterial, los niveles séricos de los triglicéridos, HDL, medidas en el control glucémico y la reducción del riesgo de progresión a la diabetes tipo 2 (150,181,182).

2.9.2 Farmacoterapia en la obesidad

Aunque la pieza principal del tratamiento de la obesidad la constituye la modificación de la conducta del paciente obeso, se necesitan de medidas adicionales, como el tratamiento farmacológico o la cirugía, en determinadas circunstancias para obtener un mejores resultados terapéuticos (180). El tratamiento farmacológico ha evolucionado en los últimos cincuenta años. La administración americana de drogas y alimentos (FDA de sus siglas en inglés) ha aprobado drogas para el tratamiento de la

obesidad desde 1995, con la implementación de esquemas de tratamiento corto (≤ 12 de semanas) (15,183–186). Sin embargo, debido al dramático incremento en la prevalencia de la obesidad se necesitó de la implementación de esquemas terapéuticos a largo plazo con la finalidad de intentar obtener un mejor control de la enfermedad. Entre los años de 1994 a 1997 se prescribían medicamentos como la fentermina, fenfluramina y el dexfenfuramina, con combinaciones entre ellos, como la fentermina-fenfluramina, que lograban una disminución del peso en diferentes estudios llevados a cabo en esa época (183–187). Desafortunadamente, se demostró posteriormente que muchos pacientes obesos desarrollaron enfermedad cardíaca valvular, debido al tratamiento combinado o de monoterapia, con lo cual se suspendió su utilización de estas drogas en el tratamiento de la obesidad (183–187).

En años recientes, se han realizado nuevas investigaciones terapéuticas dentro de este ámbito, basándose en estudios que cumplan con estrictos criterios de seguridad y eficacia. Además, estas medicaciones aprobadas para la pérdida de peso son utilizadas a largo plazo, con lo cual se comprende que la obesidad es una patología crónica compleja. Así mismo, la variabilidad de drogas permite aplicar esquemas terapéuticos diferentes a los obesos. A pesar de ello, el tratamiento farmacológico de los pacientes que pudieran beneficiarse de los mismos representa solo alrededor de un 2% de los mismos (183–187). Este hecho puede deberse a múltiples factores como son la falta de conocimientos suministrados en las escuelas de medicina o en los programas de post-grado lo cual produce una pérdida de confianza en su prescripción (183–187). Otro factor implicado en la falta de indicaciones medicamentosas para la obesidad tiene que ver con el hecho de que la obesidad es una enfermedad altamente estigmatizante y conlleva a mal interpretar que pudiera ser debida una falta de fuerza de voluntad y por lo tanto no es una

enfermedad que requiere tratamiento farmacológico o quirúrgico, incluso cuando está completamente indicado (183–187).

En el año 2015 se señala en las guías prácticas sobre el manejo de la obesidad que todos los pacientes con $IMC \geq 25 \text{ kg/m}^2$ deben ser tratados con dieta, ejercicio y modificación de la conducta (180,188,189). El tratamiento farmacológico debería utilizarse como adyuvante en aquellos casos con $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$ o en pacientes con $IMC \geq 27 \text{ kg/m}^2$ y que presenten al menos una condición patológica concomitante como diabetes tipo 2, dislipidemia, y/o hipertensión arterial sistémica (180,190). El objetivo fundamental de utilizar el tratamiento farmacológico es facilitar la adherencia a los cambios en el estilo de vida, así como superar las adaptaciones biológicas que se llevan a cabo durante la pérdida de peso. Inclusive, la utilidad de la farmacología en la obesidad puede servir en diferentes etapas del tratamiento global, como en la fase prequirúrgica para que los pacientes lleguen en mejores condiciones médicas globales lo cual reduciría las posibles complicaciones de la cirugía. También, en los estados post-quirúrgicos para potenciar el efecto de la cirugía y mantener una disminución sostenida de peso.

Gracias a los avances en el entendimiento de los mecanismos fisiopatológicos de la obesidad, los medicamentos utilizados en la obesidad actualmente actúan a diferentes niveles, como aquellas drogas que intervienen a nivel central a través de los receptores de la melanocortina, los cuales regulan la ingesta de alimentos, la saciedad y afectan independientemente la sensibilidad a la insulina (183,184,186,187,191). Algunas de estos nuevos medicamentos son la setmelanotide, los antagonistas del neuropéptido Y y los bloqueadores de los receptores de cannabinoides tipo 1 (183,184,186,187,191). Otro grupo de sustancias las que poseen efecto de incretinas y de hormonas intestinales, las cuales actúan a nivel cerebral central por circuitos neuronales diversos a través de señales periféricas como el péptido similar a glucagón tipo 1 (GLP-1) (183,184,186,187,191–

193). Dentro de este grupo de medicaciones tenemos al semaglutide, sustancias miméticas de amilina, el polipéptido insulínico dependiente de glucosa, los receptores agonistas con acción dual GLP-1/Glucagón, el péptido YY y los análogos de leptina (183,184,186,187,191–193). Otros tratamientos novedosos, incluyen modificaciones metabólicas como los inhibidores de moléculas de ácidos grasos, los inhibidores de lipasa, los inhibidores de la re-utilización de monoaminas y el factor de crecimiento de fibroblastos (el cual actúa de manera paracrina a nivel periférico) (183,184,186,187,191–193). Finalmente, se están llevando a cabo estudios para prevenir la obesidad a través de vacunas, cuyo concepto clave es la posibilidad de suprimir las hormonas estimuladoras del apetito y o el bloqueo de la absorción de determinados nutrientes. Las sustancias sobre las cuales se ha enfocado este procedimiento es la grelina y la somatostatina (183,184,186,187,191–193).

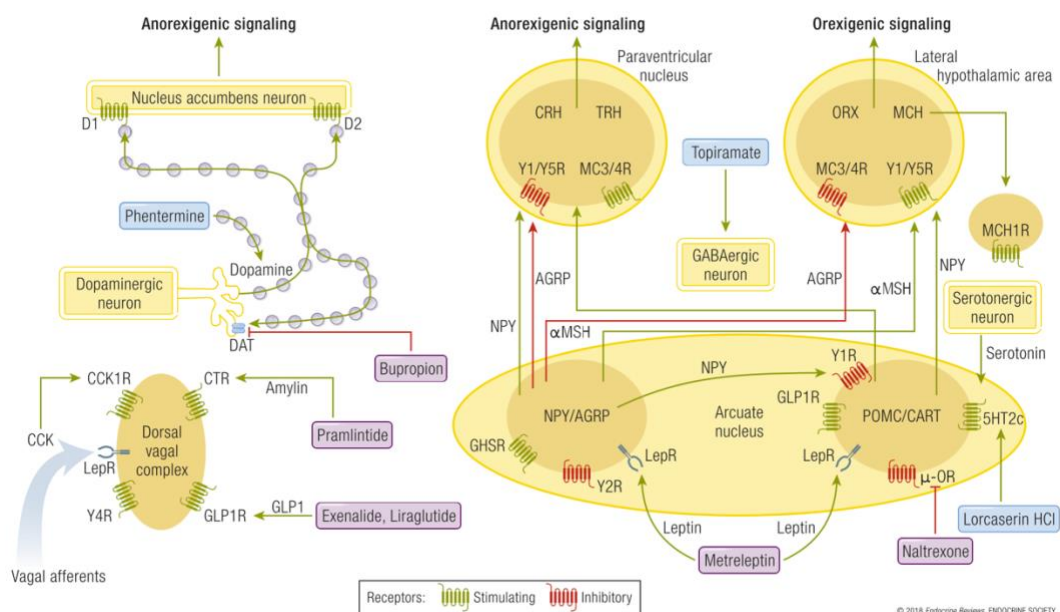


Figura 12. Representación esquemática de diferentes mecanismos farmacológicos utilizados en el tratamiento de la obesidad. (Bray G, et al 2018 (180)).

2.9.3 Tratamiento quirúrgico de la obesidad

La cirugía bariátrica se define como la manipulación quirúrgica de un órgano o sistema de órganos normales con la finalidad de lograr un resultado biológico para obtener una potencial ganancia en la salud (194). En el caso de la obesidad mórbida busca la disminución del peso corporal, mejorar las patologías asociadas, comorbilidades y es considerada como el único tratamiento eficaz a largo plazo. Es por ello, que la cirugía bariátrica se ha convertido rápidamente en una opción terapéutica para la obesidad severa, sobre todo desde la aparición de procedimientos laparoscópicos con menor índice de complicaciones para los pacientes (26,150,181,182,195–199).

Los procedimientos quirúrgicos bariátricos han evolucionado dramáticamente en los últimos cincuenta años. Las técnicas modernas son descritas con mayor frecuencia en términos anatómicos de acuerdo con su presunto efecto mecánico, utilizando frases como restrictiva gástrica o puente intestinal (intestinal bypass) para que sean fácilmente entendidas, sin embargo los recientes avances en investigaciones básicas pueden cambiar esta terminología por una basada en los aspectos fisiológicos implicados en las cirugías (200).

El primer procedimiento quirúrgico bariátrico introducido por Linner en 1954 fue ampliamente utilizado y se conoció como derivación yeyuno-ileal o “jejunoileal bypass” e involucraba un puente intestinal en el cual el yeyuno proximal era derivado al íleon distal (200–202). Esta técnica malabsortiva, provocaba pérdida de peso extrema por medio de una severa malabsorción y fue finalmente abandonada algunos años después ya que muchos pacientes desarrollaron cuadros severos de malnutrición proteico-energética e insuficiencia hepática (200–202).

El siguiente grupo de procedimientos bariátricos que fueron introducidos son los denominados restrictivos, y se refiere a la gastroplastia horizontal y a la gastroplastia vertical en banda de Mason (194,196,200). Estas técnicas pudieron llevarse a cabo

gracias al desarrollo de instrumentos de engrapado. En el procedimiento de la gastroplastia horizontal, se creaba una bolsa en la región gástrica superior introduciendo una línea de sutura horizontal con la remoción de varias grapas (estoma) para permitir el paso de la comida (194,196,200). En el caso de la gastroplastia vertical en banda, una línea de grapas en forma vertical era creada paralelamente a la curvatura menor y la salida o estoma se reforzaba para prevenir su agrandamiento (194,196,200). Estos procedimientos han sido abandonados en la actualidad debido a la introducción de nuevas técnicas laparoscópicas más efectivas y también porque la línea de sutura con grapas gástricas se separaba o el estoma tendía a agrandarse, produciendo ganancia de peso o reflujo gastroesofágico severo (194,196,200,203,204).

La derivación gástrica fue introducida originalmente en 1969 por Mason e Ito, y fue modificada posteriormente a la derivación gástrica en Y de Roux (194,196,200). Con el tiempo la Y de Roux ha sido redefinida a su forma laparoscópica. Esta incluye una pequeña porción gástrica proximal de unos 15 a 20 ml de capacidad, un estoma gástrico a intestinal más pequeño, con o sin corte de restricción y una línea completa de grapas de transresección para evitar la separación o el fallo (194,200). Estas técnicas podrían considerarse como mixtas ya que incluyen mecanismos malabsortivos y restrictivos.

El siguiente procedimiento restrictivo en ser aplicado fue la banda gástrica ajustable (194,200,205,206), la cual ha sido modificada a la técnica laparoscópica y consiste en la creación de un pequeña bolsa sacular gástrica superior con una salida ajustable (194,200). La banda gástrica ajustable es un anillo de silicona con un globo inflable en el forro que está unido a un anillo alrededor de la región gástrica superior (194,200). Un puerto de reserva es colocado bajo la piel para la regulación del tamaño del estoma (194,200).

Dos procedimientos que utilizan una forma más extrema de derivación intestinal con modesta reducción del volumen gástrico son la derivación bilio-pancreática y las intervenciones de cruce duodenal con derivación bilio-pancreática (194,200,207). Estas técnicas se reservan para pacientes con IMC superior a 50 (194,200,207) y son considerados mixtos, con mayor componente malabsortivo y menor componente restrictivo. La derivación bilio-pancreática combina la gastrectomía subtotal distal y una anastomosis de Y de Roux con un corto canal intestinal común para la absorción de nutrientes (194,200,207). El cambio duodenal con la técnica antes señalada combina una gastrectomía de aproximadamente el 70% del estómago con la derivación intestinal, donde el muñón duodenal no es funcional o se deriva a una anastomosis gastroileal (194,200,207).

Por último, el procedimiento restrictivo más recientemente introducido es la gastrectomía vertical en manga (conocido como Sleeve Gastrectomy) (208–213). Esta técnica consiste en la resección de un 80-90% del estómago de forma vertical, lo cual conlleva a gastroplastia tubular sin que intervenga ningún componente de derivación intestinal. Los objetivos fundamentales de la cirugía bariátrica es descender el IMC por debajo de 35 kg/m², disminuir las comorbilidades de la obesidad y por último, mejorar la calidad de vida del paciente sin alterar la calidad alimentaria (208–213).

Independientemente del tipo de intervención utilizada se ha podido demostrar, en pacientes seguidos por un período de al menos 20 años, una reducción del 24% en la mortalidad, principalmente debido a la reducción del riesgo de infarto de miocardio y de cáncer (en mujeres), en comparación con un grupo control (199,214). También se mejoraron muchas otras comorbilidades, como la diabetes tipo 2 y la apnea del sueño, con mejoras en la calidad de vida (215–217). Tal ha sido el impacto de la cirugía en el manejo de la obesidad que se ha introducido el concepto de cirugía metabólica debido a

los cambios que se producen posterior a la intervención. Ejemplos de estos cambios metabólicos incluyen el control de la glucosa en pacientes obesos con diabetes tipo 2, especialmente después de una derivación gástrica, lo que además plantea que parte de la mejora metabólica es independiente de la pérdida de peso (218,219). En estudios comparativos controlados aleatorios entre al tratamiento médico y quirúrgico, se ha podido demostrar un mejor control de la glucosa y de otros factores de riesgo en el grupo quirúrgico (208,218,220–222).

El estudio de la cirugía metabólica también ha permitido conocer otros aspectos prácticos del efecto quirúrgico sobre hormonas producidas en el estómago. Es interesante resaltar que se ha demostrado disminución en los niveles plasmáticos de grelina postquirúrgica, independientemente del tipo de intervención practicada, lo cual ha planteado diferentes interrogantes sobre los mecanismos de la grelina en el aparato gastrointestinal en pacientes intervenidos (223–229). Inicialmente, se creía que la grelina desempeñaba un importante papel en la disminución del apetito y del peso observado después del bypass gástrico de Y de Roux, siendo este efecto correlacionado con la disminución de sus niveles plasmáticos observados en los pacientes intervenidos por este método (229,230). Sin embargo, datos posteriores, muestran que los niveles de grelina pueden aumentar durante el primer año después de esta cirugía en humanos y dentro de las primeras seis semanas después de la cirugía en ratones (231,232). Estos hallazgos pudieran indicar que la grelina es un factor independiente en este tipo de cirugía bariátrica.

2.9.3.1 Criterios de selección del paciente candidato a cirugía bariátrica

Es necesario reunir una serie de requisitos con el objetivo de asegurar las mayores garantías posibles de eficacia y seguridad (morbilidad <10% y mortalidad <1%, anuales) (150,180,233). Existen algunas situaciones que deben valorarse de forma multidisciplinar, como la indicación de la cirugía fuera de los criterios de edad propuestos, haciendo una cuidadosa evaluación riesgo-beneficio. Los criterios establecidos para la selección de los pacientes son (189,197,198,234,235):

- 1) Edad entre 18-65 años (pacientes de edad superior a la recomendada se valorarán de forma individualizada).
- 2) Obesidad mórbida de al menos 5 años de evolución.
- 3) Fracaso en la pérdida de peso mediante tratamientos convencionales (dieta, ejercicio, fármacos) llevados a cabo bajo supervisión endocrinológica.
- 4) Ausencia de trastornos endocrinos específicos que motiven la obesidad.
- 5) Ausencia de trastornos psiquiátricos graves, enolismo crónico o drogodependencias.
- 6) Comprensión adecuada de la cirugía y adhesión a las normas de seguimiento.

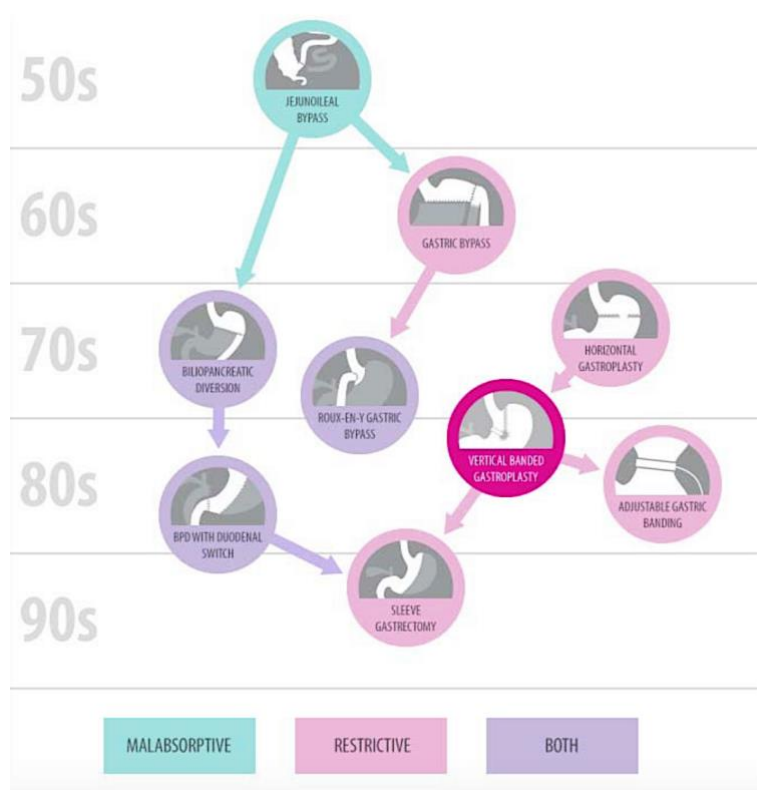


Figura 13. Evolución histórica de los procedimientos quirúrgicos en cirugía bariátrica (Arterburn D, et al 2014 (200))

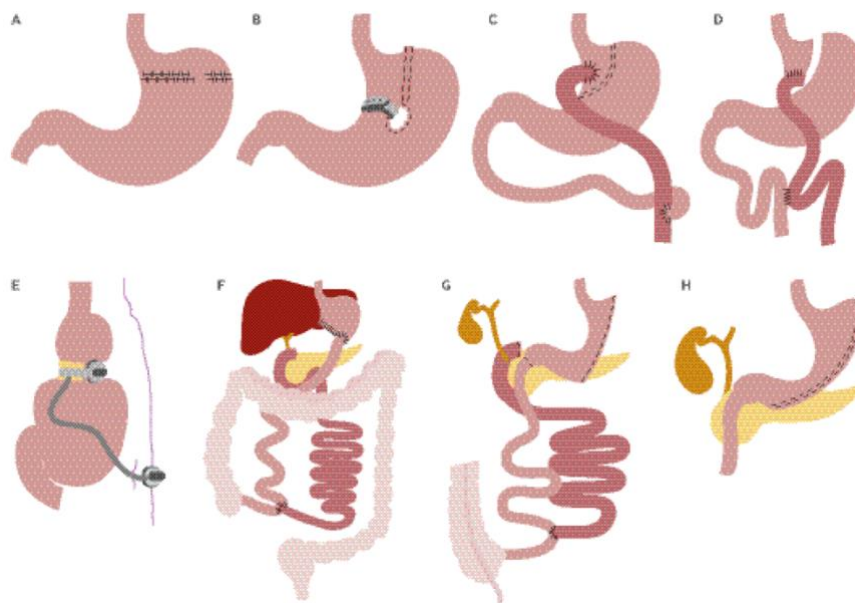


Figura 14. Representación esquemática de los diferentes procedimientos quirúrgicos utilizados en cirugía bariátrica. (A) Gastroplastia horizontal; (B) Gastroplastia vertical en banda; (C) Derivación gástrica en Y de Roux; (D) Derivación gástrica en Y de Roux seccionada; (E) Banda gástrica laparoscópica ajustable; (F) Derivación biliopancreática; (G) Derivación biliopancreática con cambio duodenal; (H) Gastrectomía vertical en banda (Arterburn D, et al 2014 (200)).

3. JUSTIFICACIÓN

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE GRELINA GÁSTRICA POR INMUNOHISTOQUÍMICA EN PACIENTES CON OBESIDAD MÓRBIDA INTERVENIDAS MEDIANTE GASTRECTOMÍA VERTICAL LAPAROSCÓPICA, Y SU RELACIÓN CON LAS VARIACIONES PLASMÁTICAS DE AMBAS ISOFORMAS DE GRELINA

David Parada Domínguez

3. JUSTIFICACIÓN

En salud pública, la pandemia de la obesidad representa un serio problema global, afectando tanto a sociedades en vías de desarrollo como a desarrolladas (10,14,20,21). La influencia del exceso ponderal sobre enfermedades metabólicas, cardiovasculares y en el desarrollo de neoplasias de diferente índole, está bien demostrado (1,17,20,26,44,158,174,179,236–241). Según datos recientes, se estima que más de 2.5 millones de las personas fallecidas a nivel mundial se asocian con obesidad (1,17,20,26,44,158,174,179,236–241). Así mismo, un número cada vez mayor de pacientes con cardiopatías isquémicas, diabetes y algunas neoplasias muestran relación con la obesidad como factor de riesgo de mortalidad dentro de estos grupos (1,17,20,26,44,158,174,179,236–241). Es indiscutible que el incremento anormal ponderal se ha asociado con una peor calidad de vida y con mayor propensión al desarrollo de diferentes enfermedades, siendo estos factores los que parecen que influirán de forma negativa en la esperanza de vida, inclusive en personas a edades más tempranas como niños y adolescentes (25,155,237,242).

Tomando en consideración la magnitud el problema de la obesidad, tanto a nivel socioeconómico como individual, es fundamental establecer mecanismos de control adecuados para intentar contrarlar esta situación. En cuanto al individuo, las medidas terapéuticas basadas en cambio en el estilo de vida, tratamiento farmacológico y adecuadas intervenciones quirúrgicas, parecen ser las vías para abordar al paciente obeso (150,181,182,218,243). Cabe destacar, que, en la mayoría de los casos, se han informado fallos en los tratamientos en cuanto al estilo de vida y al farmacológico. Así pues, las opciones quirúrgicas mínimamente invasivas y por lo tanto con menor riesgo de morbi-mortalidad, son las más aceptadas para estos pacientes.

Muchos han sido los avances en la utilización de diferentes métodos quirúrgicos para el control de la obesidad y del síndrome metabólico. Uno de los aspectos más relevantes implícitos en el abordaje quirúrgico de la obesidad ha sido el intentar entender el mapeo fisiológico y endocrino del estómago (209,244). Una de las hormonas a la cual se ha prestado atención desde su descubrimiento es la grelina (245,246). Esta hormona gástrica tiene la capacidad de producir la liberación de la hormona del crecimiento y por ende de controlar diferentes aspectos del balance entre la ingesta y la utilización energética, por lo que el estudio de la grelina pudiera ser un elemento fundamental para entender la fisiopatología de la obesidad.

Debido a los argumentos anteriormente expresados, el presente trabajo ha aspirado investigar la presencia de la grelina en células de la mucosa gástrica en diferentes topografías, así como intentar relacionar estos hallazgos con factores conocidos en los pacientes con obesidad mórbida. La utilización de esta información, en cuanto a la topografía gástrica de la grelina pudiera ser útil en la planificación del abordaje quirúrgico con la finalidad de obtener mejores resultados prácticos en este grupo de pacientes.

4. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE GRELINA GÁSTRICA POR INMUNOHISTOQUÍMICA EN PACIENTES CON OBESIDAD MÓRBIDA INTERVENIDAS MEDIANTE GASTRECTOMÍA VERTICAL LAPAROSCÓPICA, Y SU RELACIÓN CON LAS VARIACIONES PLASMÁTICAS DE AMBAS ISOFORMAS DE GRELINA

David Parada Domínguez

4. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

4.1 Hipótesis

La grelina gástrica se considera una hormona fundamental en el desarrollo de la obesidad mórbida.

El aporte gástrico de la grelina es bien conocido y las regiones gástricas pueden desempeñar un papel clave en el mantenimiento de los niveles plasmáticos de grelina. En los pacientes intervenidos por Gastrectomía Vertical Laparoscópica el conocimiento de estas variaciones regionales puede representar un aspecto importante en la evolución del paciente después de la intervención quirúrgica.

En los pacientes obesos mórbidos intervenidos mediante Gastrectomía Vertical Laparoscópica, la grelina gástrica puede correlacionarse con las morbilidades e implicar mejoras en su tratamiento.

4.2 OBJETIVOS

4.2.1 Objetivo principal

Demostrar la presencia de grelina en el estómago de pacientes con obesidad mórbida intervenidos por Gastrectomía Vertical Laparoscópica.

4.2.2 Objetivos específicos

Cuantificar el número total de células de grelina gástrica en pacientes con obesidad mórbida y correlacionar este hallazgo en cuanto a:

1. Género.
2. Complicaciones de la obesidad (morbilidades).
3. Hallazgos histopatológicos.

Cuantificar el número total de células de grelina gástrica en relación a su topografía en pacientes con obesidad mórbida y correlacionar este hallazgo en cuanto a:

1. Género.
2. Complicaciones de la obesidad (morbilidades).
3. Hallazgos histopatológicos.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE GRELINA GÁSTRICA POR INMUNOHISTOQUÍMICA EN PACIENTES CON OBESIDAD MÓRBIDA INTERVENIDAS MEDIANTE GASTRECTOMÍA VERTICAL LAPAROSCÓPICA, Y SU RELACIÓN CON LAS VARIACIONES PLASMÁTICAS DE AMBAS ISOFORMAS DE GRELINA

David Parada Domínguez

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Tipo de estudio

Se trató de un estudio de cohorte prospectivo, descriptivo y ciego, realizado en pacientes con obesidad mórbida, intervenidos por técnica quirúrgica de gastrectomía vertical por vía laparoscópica. Además, para el estudio se incluyeron como grupo control a participantes sin obesidad para determinar diferencias al inicio del estudio (antes de la cirugía) en los parámetros bioquímicos estudiados (grupo control sin intervenir).

El estudio fue revisado y aprobado por el Comité de Ética del Hospital Universitario Sant Joan de Reus, y financiado por el Instituto de Investigación Sanitaria Carlos III (nº de proyecto: PI11/02332).

5.2 Selección de la muestra

Los pacientes del estudio fueron incluidos entre mayo de 2012 y noviembre de 2014 de las consultas externas de Cirugía Bariátrica y Metabólica del Hospital Universitario Sant Joan de Reus. Todos los pacientes fueron informados y firmaron el consentimiento informado antes de formar parte del estudio.

5.3 Criterios de inclusión

Los criterios quirúrgicos de inclusión para la selección de los pacientes fueron:

1) Edad entre 18-65 años (pacientes de edad superior se valoraron de forma individualizada).

2) Obesidad mórbida de al menos 5 años de evolución.

3) Fracaso en la pérdida de peso mediante tratamientos convencionales (dieta, ejercicio, fármacos) llevados a cabo bajo supervisión médica.

4) Ausencia de trastornos endocrinos específicos que motiven la obesidad.

5) Ausencia de trastornos psiquiátricos graves, enolismo crónico o drogodependencias.

6) Comprensión adecuada de la cirugía y adhesión a las normas de seguimiento.

Una vez comprobado que los pacientes reunían los criterios de inclusión, se realizaron las siguientes visitas dentro del protocolo establecido:

+ Nutrición y dietética

Preparación previa a la cirugía y explicación de las implicaciones nutricionales según la técnica. Descarte de posible obesidad secundaria o enfermedad que contraindique la cirugía.

+ Psiquiatría

Una vez descartadas las posibles contraindicaciones psiquiátricas, se evaluó la posible necesidad de tratamiento psiquiátrico antes o después de la cirugía.

+ Anestesia

Valoración del riesgo anestésico por la posible dificultad de intubación.

+ Cirugía

Realización de pruebas diagnósticas para evaluar la presencia de hernia de hiato, reflujo gastroesofágico (RGE), detección de *Helicobacter pylori* para su erradicación en caso de existir (fibrogastroscoopia) y ecografía abdominal para descartar patología hepaticobiliar-renal.

5.4 Criterios de exclusión

Todos aquellos pacientes que presentaban adicción a las drogas o al alcohol, aquellos con enfermedades crónicas graves, cáncer en los años previos a la intervención quirúrgica, hepatopatía avanzada, reflujo gastroesofágico con esofagitis e insuficiencia renal crónica, fueron excluidos del estudio.

5.5 Sujetos del estudio

El estudio incluyó pacientes con obesidad mórbida ($IMC \geq 40 \text{ Kg/m}^2$) candidatos a cirugía bariátrica en los que estaba indicada la realización de una gastrectomía vertical por vía laparoscópica con preservación del antro gástrico a 3 cm y un grupo de sujetos sin obesidad, que formaron el grupo control. El criterio del IMC anteriormente expresado cumple con los criterios del protocolo de intervención de gastrectomía vertical laparoscópica.

5.6 Técnica quirúrgica

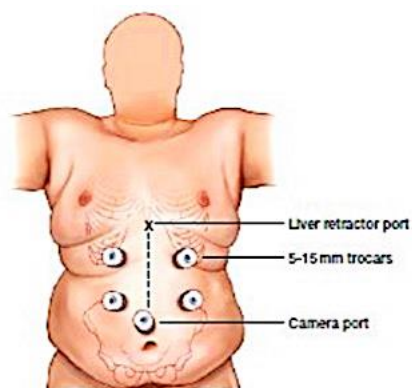
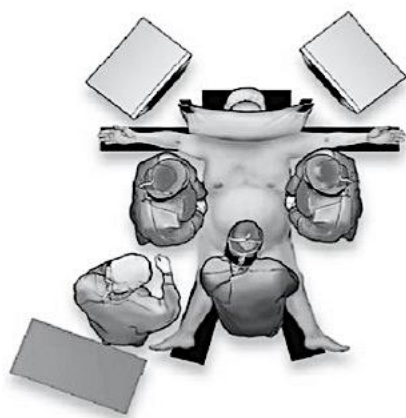
Todos los pacientes fueron intervenidos por un equipo formado por un cirujano principal y dos cirujanos ayudantes del Servicio de Cirugía General del Hospital Universitario Sant Joan de Reus, con suficiencia comprobada en técnicas de cirugía bariátrica.

5.6.1 Preparación preoperatoria

Las intervenciones se realizaron bajo anestesia general y por vía laparoscópica en todos. Se colocó al paciente en posición Lloyd-Davis, con el cirujano situado entre las piernas, en anti-Trendelenburg y con un doble monitor a izquierda y derecha de la cabeza del paciente. Se colocó otro monitor en el lado contrario para que los tres cirujanos pudieran visualizar los campos quirúrgicos correctamente y pudieran trabajar

con comodidad. Se realizó sistemáticamente profilaxis antibiótica y toma de todas las medidas para la profilaxis tromboembólica, como la utilización de heparina de bajo peso molecular, medias de compresión elástica decreciente y manguitos de compresión neumática secuencial. Se colocó una manta calefactora mediante circulación de aire caliente para prevenir la hipotermia durante el postoperatorio inicial.

Se utilizaron 5 trocares; dos de 5 mm, uno de 10 mm, uno de 12 mm y uno de 15 mm. La óptica de 30° se colocó en la línea media del abdomen, a 15 cm aproximadamente del xifoideo. Un trocar auxiliar subcostal izquierdo y dos trocares de trabajo pararrectales, siendo el del flanco derecho de 15 mm de diámetro y el resto de 10-12 mm. El último trocar para la retracción hepática fue subxifoideo. También se utilizó una sonda de Faucher de 38F.



Ubicación del equipo quirúrgico y lugares de acceso abdominal para la GVL

5.6.2 Intervención quirúrgica

La GVL transforma el estómago en una manga estrecha desde el ángulo de His hasta una cierta distancia del duodeno a lo largo de toda la curvatura menor. Los aspectos técnicos más importantes son: el tamaño de la sonda tutor utilizada, el refuerzo de la línea

de grapas para prevenir fugas y hemorragias y, por último, la distancia desde el píloro hasta la primera línea de grapas, de 3 cm.



Gastrectomía Vertical.

El primer trocar de 10 mm se introdujo en la línea media bajo control óptico directo (Visiport (Covidien, Norwalk, CT, USA)). El trocar de 15 mm colocado en el hipocondrio derecho se utilizó para pasar la endograpadora de cartucho verde (grapa de 4,8 mm) necesaria para las primeras transecciones del antro gástrico, y además para la extracción del estómago resecado. Los cirujanos iniciaban la disección en la curvatura mayor gástrica, separándola de la arcada gastroepiploica del epiplón mayor, siendo de gran utilidad los instrumentos de sellado bi-tripolar (Ligasure®, Covidien), que confieren una mayor seguridad y una mejor hemostasia. Para poder realizar un tubo más estrecho se aproximaban hasta el píloro (3cm) en dirección caudal. En el sentido craneal, se completaba la sección de los vasos cortos hasta el ángulo de His, con la visualización del pilar izquierdo del hiato. En el caso de hernia hiatal, se realizó reducción de esta y el cierre de los pilares según el protocolo establecido en nuestro centro.

Se utilizó una sonda de Faucher de 38F como guía, que se introdujo hasta la primera porción duodenal. Para empezar la sección longitudinal gástrica, el anestesista movilizaba la sonda cada vez que se colocaba la endograpadora, para prevenir un atrapamiento de esta. Los dos primeros disparos de la endograpadora se hicieron generalmente con las cargas de 45 mm de longitud, grapa de 4,8 mm (verde) y roticuladas, lo que permitió ajustar mejor la línea de sección y sutura paralelamente a la

curvatura menor. La transección se continuó con cargas de 60 mm y grapa de 3,5 mm (azul), y también roticuladas para una óptima disposición de la línea de grapas y obtener una manga homogénea y estrecha a la vez. Se utilizó refuerzo de la línea de sutura mediante derivados policarbonatados del ácido poliglicólico (Seamguard; WL Gore & Associates, Flagstaff, AZ, USA) para evitar la hemorragia intra y extraluminal, y las fugas por disrupción de la línea de grapas. La pieza de la gastrectomía se extrajo directamente por el trocar de 15 mm. Posteriormente se comprobó de forma sistemática la ausencia de fugas con azul de metileno de forma intraoperatoria. Finalmente se colocó un drenaje tipo Jackson-Pratt a lo largo de la sutura.

5.6.3 Postoperatorio inmediato

Una vez finalizada la intervención quirúrgica, los pacientes pasaron del quirófano a la sala de reanimación postquirúrgica. Posteriormente fueron trasladados a cuidados semi-críticos, donde permanecieron menos de 24h. A las 24 horas de la intervención se realizó un tránsito esófago-gastro-duodenal con Gastrografin para detectar posibles disrupciones de la línea de grapas. Una vez realizada esta prueba el paciente se trasladó a la planta hospitalaria, donde recibió los cuidados necesarios hasta el alta hospitalaria. Una vez recibieron el alta hospitalaria, a los pacientes se les realizó un seguimiento en las Consultas externas de cirugía del aparato digestivo, nutrición y dietética, estudios de cirugía de la obesidad. El seguimiento realizado se detalla en el cronograma del estudio.

5.7 PARÁMETROS ANALIZADOS

5.7.1 Parámetros clínicos

De cada paciente se obtuvo los siguientes datos al momento de entrar al estudio:

- Edad y sexo
- Peso y IMC (kg/m²): Control periódico mensual.
- Bioquímica: Bioquímica general que incluyó glucosa, Insulina y Hemoglobina glicosilada. De forma preoperatoria, a los 6 meses y a los 12 meses de la intervención quirúrgica.
- Complicaciones relacionadas con la obesidad.
- Diagnóstico de *Helicobacter pylori* previo a cirugía

5.7.2 Determinaciones hormonales de Grelina

Se llevaron a cabo las determinaciones hormonales plasmáticas en ayunas para Grelina total y Grelina acilada (Human Ghrelin total ELISA Kit y Human Ghrelin acylated ELISA Kit, Linco®). De forma preoperatoria, a los 6 meses y al año de la intervención.

Para la determinación se utilizó el siguiente protocolo:

5.7.2.1 Obtención y almacenamiento de la muestra

Una consideración importante para la determinación de la grelina total y acilada es que dichas moléculas son muy inestables, tanto en suero como en plasma, por lo que debe ser rigurosamente protegidas durante el proceso de la recolección de las muestras de sangre. Idealmente, todas las muestras deben ser procesadas lo más rápidamente posible y debe asegurarse que la grelina no sufra fragmentación. Para una protección máxima, se utilizó la adición de Pefabloc o AEBSF, así como la acidificación de todas las muestras. Las muestras puras, sin este tipo de pre-tratamiento, podían exhibir una

disminución promedio de 30% (rango 20% ~ 60%) del contenido total de grelina. La acidificación de la muestra puede producir precipitación proteica, pero la misma no interfiere con la determinación.

En cada paciente se obtuvieron 6 ml de sangre y se procesaron de acuerdo al siguiente protocolo:

- Para preparar la muestra de plasma, se recogió la sangre con tubos Vacutainer® que contenían EDTA.

- Inmediatamente se agregó AEBSF a una concentración final de 1 mg / ml. La sangre se dejó coagular a temperatura ambiente durante 30 minutos.

- Posteriormente, se centrifugó la sangre coagulada a 2.000 a 3.000 x g durante 15 minutos a $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

- Luego se transfirieron las muestras del plasma en tubos separados y se acidificaron con HCl con una concentración de 0,05N.

- En caso de no realizarse la determinación de manera inmediata las muestras de plasma se almacenaron a $-20 \pm 5^{\circ}\text{C}$ para su determinación posterior. Se evitaron múltiples ciclos de congelación / descongelación (no > 5).

- Se evitó el uso de muestras con hemólisis o lipemia.

5.7.2.2 Preparación de los reactivos

Tanto la grelina total como la activa liofilizadas se reconstituyeron con 2 ml de agua destilada y deionizada. El material se mezcló suavemente hasta su homogenización completa. Se realizaron diluciones 1/2 hasta 1/64, en seis tubos diferentes.

5.7.2.3 Preparación del Control de Calidad 1 y 2

Los controles de calidad liofilizados se reconstituyeron con 0,5 ml de agua destilada y deionizada. El material se mezcló suavemente hasta su homogenización completa.

5.7.2.4 Preparación de la mezcla de anticuerpos de captura y detección

Se combinó el contenido de los anticuerpos grelina humana de captura (3 ml) con el anticuerpo de detección para grelina (3 ml), en una proporción de 1: 1. El material se mezcló suavemente hasta su homogenización completa. Dicho procedimiento se llevó a cabo por separado para la grelina total y la acilada.

5.7.2.5 Procedimiento para la detección de Grelina total y acilada humana por método de ELISA

Todos los reactivos se precalentaron a temperatura ambiente antes de comenzar la detección y se procedió a realizar los pasos de acuerdo a la información técnica suministrada por el fabricante del producto.

5.7.2.6 Cálculos

Se representó gráficamente una curva de referencia trazando la unidad de absorbancia de 450nm, menos la unidad en 590nm, en el eje Y. Las concentraciones de

grelina se ubicaron en el eje X. La curva dosis-respuesta de este ensayo se ajusta mejor a un parámetro sigmoïdal de 4 o 5 parámetros.

Los resultados de las muestras desconocidas se calcularon por medio de un programa de ordenador con función logística de 4 o 5 parámetros.

5.7.2.7 Interpretación

El estudio se consideró válido cuando todos los valores de control de calidad se encontraron dentro del rango de los controles de calidad calculados. Si cualquier valor del control de calidad se encontraba fuera de rango o si la diferencia entre los resultados duplicados de una muestra era mayor al 15 %, se procedió a repetir el análisis. El valor de detección mínimo de concentración de grelina fue de 50 pg / ml. Los valores óptimos para el estudio oscilaron entre 50 pg / ml a 5.000 pg / ml de grelina total.

5.8 Estudio Morfológico

5.8.1 Características histopatológicas

Para llevar a cabo el estudio microscópico, las muestras gástricas del fundus, el cuerpo y el antro, obtenidas de cada paciente durante la intervención quirúrgica por gastrectomía vertical laparoscópica, fueron fijadas, en formalina tamponada al 10%, por al menos un período de 24 horas. Posteriormente, se procesaron para análisis histológico convencional, deshidratando el material con alcoholes a concentraciones crecientes y aclaradas con xilol, para finalmente ser incluidas en parafina. Posteriormente, se obtuvieron secciones de 2 μ m los cuales fueron teñidas con Hematoxilina y Eosina (H-E).

5.8.2 Análisis histopatológico

En cada uno de los pacientes estudiados se valoró, para cada región gástrica, la presencia de inflamación, la cual se clasificó de acuerdo a la clasificación revisada de Sídney (247–250). Las variables histológicas como: infiltrado mononuclear linfoide, infiltrado de neutrófilos, presencia de *Helicobacter pylori*, metaplasia intestinal y atrofia gástrica, fueron valoradas según la escala analógica visual de la Actualización del Sistema de Sídney (247–251) para generar una puntuación (0 = ausente, 1 = leve, 2 = moderado y 3 = marcado). Se estudió, adicionalmente, la presencia de los agregados linfoides y folículos linfoides. Se estudiaron las siguientes características histológicas:

1. Localización (antro, cuerpo, fundus).
2. Presencia de *Helicobacter pylori*: ausente y presente (bacterias en las fosas gástricas o en la superficie de la mucosa).
3. Inflamación crónica: normal (números normales de linfocitos e histiocitos en la lámina propia), leve (10 células más de lo normal en una 40 × campo), moderada (11 a 20 células más de lo normal), y marcado (> 21 células más normal).
4. Inflamación aguda: ausente (sin presencia de PMN en la lámina propia en un campo de 40 ×), leve (menos de 5 PMN), moderada (de 5 a 10 PMN), y marcado (mayor de 11 PMN, incluyendo la presencia de abscesos en las criptas gástricas).
5. Presencia de atrofia gástrica: ausente, o clasificadas como leves, moderadas, y marcado (de acuerdo con la escala visual analógica).
6. Metaplasia intestinal: se evaluó como la presencia de células caliciformes, células con borde en cepillo, y células de Paneth. Se clasificó como ausente y presente,

en caso de presencia de metaplasia intestinal esta se sub-clasificó como completa o incompleta.

5.8.3 Estudio inmunohistoquímico para la determinación de Grelina gástrica

De las muestras incluidas en parafina se obtuvieron secciones adicionales de 2 μm las cuales se colocaron en un procesador automático para inmunohistoquímica VENTANA® Benchmark ULTRA/LT, Ventana Medical Systems, USA., utilizando el protocolo, previamente estandarizado, para grelina que incluyó solución recuperadora de antígenos pH9 y el Kit de detección para inmunohistoquímica Optiview® DAB (VENTANA®). Para la incubación con el anticuerpo primario anti-Grelina (Phoenix Pharmaceutical, Inc®) se utilizó, previa reconstitución con 100 μl de agua destilada, una dilución 1:600, dicha incubación se llevó a cabo durante 32 min. a 36 °C. Finalmente los cortes de inmunohistoquímica fueron revelados con Diaminobencidina, contrastados con hematoxilina de Meyer, deshidratados con alcoholes a concentraciones crecientes y aclarados con xilol, para finalmente ser examinados en un microscopio de luz Olympus BX41, con aumentos directos que oscilaron entre 3.5 X y 60 X.

5.8.4 Análisis de la expresión cualitativa de Grelina gástrica

Se consideró la presencia de positividad para la grelina cuando se obtuvo marcaje citoplasmático en las células gástricas. En cada una de las secciones analizadas se valoró a aumentos entre 2x y 4x la región en la mucosa con mayor expresión para la grelina. Los patrones subjetivos de distribución de positividad celular para la grelina fueron catalogados de la siguiente manera:

- a) Distribución irregular: células con positividad para la grelina se presentaban al azar en cualquier región de la mucosa.
- b) Distribución predominante en dos tercios de la mucosa: células con positividad para la grelina ubicadas en los dos tercios inferiores de la mucosa.
- c) Distribución predominante en el tercio inferior de la mucosa: células con positividad para la grelina ubicadas en el tercio inferior de la mucosa.

Esta distribución permitió establecer las regiones con mayor expresión de células para grelina y llevar a cabo el estudio cuantitativo.

5.8.5 Estudio cuantitativo de células gástricas con expresión de Grelina

Las preparaciones inmunohistoquímicas de tejido gástrico con presencia de células positivas para grelina, fueron examinadas en un microscopio de luz Olympus BX41, con aumentos directos que oscilaron entre 3.5x y 40x. Una vez escogidos las áreas de interés, se procedió a la cuantificación.

La cuantificación morfológica se llevó a cabo utilizando una computadora personal compatible Hewlett-Packard Company HP Compaq 6000 Pro Mt PC Intel® Core(TM)2 Duo CPU E7500 @ 2.936GHz, 1.93 GB de RAM, sistema Microsoft Windows XP Profesional Versión 2002, con un monitor HP Compaq LA1951 LCD en Intell® Q45/Q43 Express Chipset, Microscopio Olympus BX41, cámara de vídeo Olympus modelo SC30 adaptada al microscopio y un disco duro de 4Gbyte de memoria. El aumento utilizado para la cuantificación de las células grelina fue de 20x con un diámetro de campo de 0.40 mm, previo ensayo con aumentos de 10x y 40x, los cuales no fueron utilizados debido a la poca resolución al momento del estudio de las diferentes imágenes. Se utilizó el programa Cell B 3.3, Olympus Soft Imaging Solutions GmbH

para la cuantificación directa. En las imágenes obtenidas se contaron las células positivas con expresión citoplasmática para la grelina en diez campos consecutivos al aumento antes señalado, lo que representó un área total de 1.25 mm². Todas las células estudiadas fueron obtenidas por el método de interacción con el observador. Como criterio de inclusión se tomó a todas las células que no presentaron sobre posición en las diferentes secciones. Este criterio fue aplicado para evitar problemas en la cuantificación. Todos los datos obtenidos de las mismas secciones se procesaron en al menos tres oportunidades para evitar problemas innatos con las técnicas inmunohistoquímicas.

5.9 ANÁLISIS DE LOS DATOS

Para el análisis de los resultados del estudio se utilizaron las herramientas estadísticas del programa SPSS versión 23, para todas las variables registradas para el estudio. Para las variables categóricas, se utilizó la proporción, y cuando fueron cuantitativas se utilizó la media como estadístico de centralización y la desviación estándar como estadístico de dispersión. Se realizó un análisis bivalente para analizar asociaciones entre las variables que se consideraron de interés utilizando diferentes pruebas estadísticas dependiendo de las variables estudiadas, a saber:

Para las asociaciones entre variables cualitativas, se utilizó la t-de Student o U de Mann-Whitney dependiendo de si la distribución de la variable es o no normal, según la prueba de Shapiro-Wilk. Y para cotejar más de 2 grupos se utilizó la ANOVA o la Kruskal-Wallis dependiendo de si la distribución de la variable es o no normal según la prueba de Shapiro-Wilk.

6. RESULTADOS

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE GRELINA GÁSTRICA POR INMUNOHISTOQUÍMICA EN PACIENTES CON OBESIDAD MÓRBIDA INTERVENIDAS MEDIANTE GASTRECTOMÍA VERTICAL LAPAROSCÓPICA, Y SU RELACIÓN CON LAS VARIACIONES PLASMÁTICAS DE AMBAS ISOFORMAS DE GRELINA

David Parada Domínguez

6. RESULTADOS

6.1 Características clínicas de los pacientes

El presente estudio incluyó un total de 61 pacientes intervenidos con obesidad mórbida, de los cuales 26.2% (16) correspondieron a masculinos y 73.8% (45) a femeninos. Las edades estuvieron comprendidas entre los 27 y 73 años (X: 51.08). En cuanto a las complicaciones de la obesidad el 36.1% (39) presentaron diabetes tipo 2, mientras que el 63.9% (22) fueron no diabéticos. En el caso de la hipertensión arterial sistémica el 59% (36) fueron hipertensos, mientras que 41% (25) no presentaron hipertensión arterial. El 29.5% (18) de nuestros casos presentaron combinación de complicaciones, es decir hipertensión arterial sistémica y diabetes, mientras que en el restante 70.5% (43) de los pacientes, no se evidenció esta combinación. En 18.03% (11) pacientes se diagnosticó la presencia de *Helicobacter pylori* en las biopsias gástricas previo a la intervención quirúrgica, en los restantes 81.97% (50) casos no se comprobó la presencia de este microorganismo. El índice de masa corporal para el momento de la intervención quirúrgica estuvo comprendido entre 38.13 kg/m² y 65.01 kg/m², con una media de 51,11 kg/m². No se demostró diferencias significativas para cada uno de los grupos estudiados. La tabla 1 resume las características clínicas de los pacientes estudiados.

Tabla 1. Características clínicas de los pacientes con obesidad mórbida (N=61).

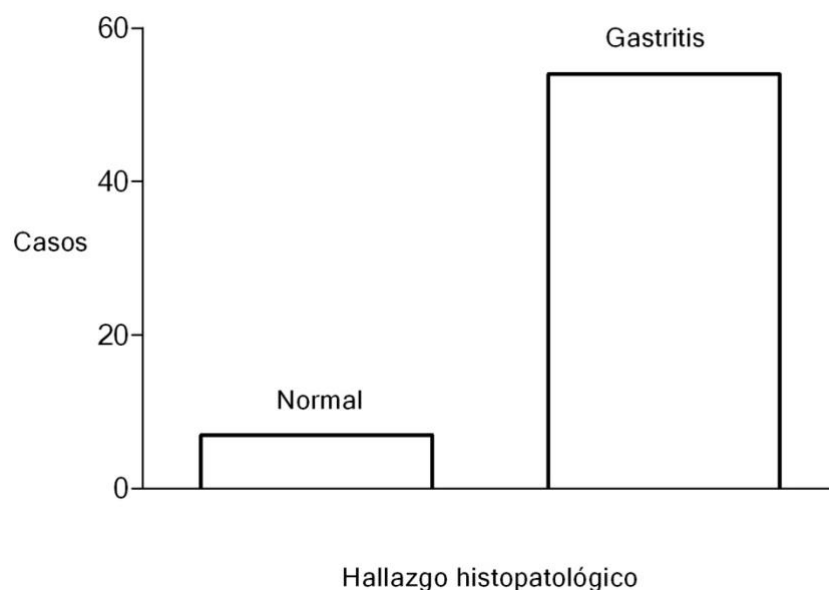
Variable	N	%
Masculino	16	26,2
Femenino	45	73,8
HTA	36	59
DM2	22	36,1
DM2 e HTA	18	29,5
<i>Helicobacter pylori</i>	11	18.03

DM2: Diabetes Mellitus tipo 2. HTA: Hipertensión arterial sistémica.

6.2 Hallazgos histopatológicos de los pacientes con obesidad mórbida

Se analizaron un total de 183 preparaciones histológicas teñidas con hematoxilina-eosina. Sesenta y una muestras (61) correspondieron a antro, con igual número para el cuerpo y el fundus. El hallazgo histopatológico más preponderante fue la presencia de inflamación crónica, sin signos de actividad, la cual estuvo presente el 88.5% (54) de los pacientes, mientras que 11.5% (7), no la presentaron. Estos hallazgos demuestran diferencia significativa entre ambos grupos (Gráfica 1). El proceso inflamatorio se caracterizó por la presencia de cúmulos linfoides, normalmente localizados en la región basal de la mucosa gástrica.

Gráfica 1. Hallazgos histopatológicos de las piezas quirúrgicas de gastrectomía en pacientes con obesidad mórbida (N=61).



En los casos con gastritis se pudieron observar diferentes patrones de afectación topográfica. Así la presencia de gastritis en el antro, cuerpo y antro (pan-gastritis), estuvo presente en 81.48% (44) de los casos con inflamación. La combinación cuerpo-fundus estuvo presente en 12.96% (7) pacientes, mientras que antro-cuerpo y antro-fundus se observó en 1.85% (1) de los casos. Sólo un paciente (1.87%) mostró afectación de una región gástrica y fue del fundus. La tabla 2 muestra el resumen de los hallazgos de gastritis de acuerdo a su localización.

Tabla 2. Hallazgos histopatológicos. Topografía de la gastritis en pacientes con obesidad mórbida (N=54).

Localización de la gastritis	N (54)	%
Antro, cuerpo y fundus	44	81,48
Cuerpo y fundus	7	12,96
Fundus	1	1,85
Antro y fundus	1	1,85

Antro y cuerpo	1	1,85
----------------	---	------

6.2.1 Hallazgos de la topografía gástrica y la severidad de la gastritis

6.2.1.1 Antro

En esta región se pudo evidenciar que 49.2% de los casos presentaron un grado leve de afectación, seguido por el moderado con 24.6%. Solo en un caso lo que representó el 1.6% presentó inflamación severa. La ausencia de inflamación a este nivel estuvo presente en 24.6% (15) pacientes.

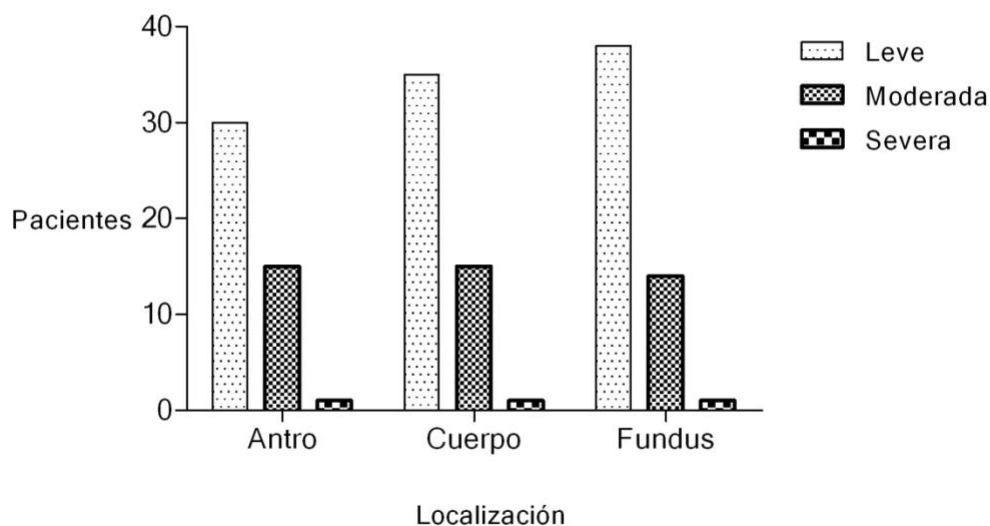
6.2.1.2 Cuerpo

El patrón de severidad predominante en el cuerpo fue el leve con 59%, seguido por el moderado con 24.6%. Al igual que en la región antral, solo un paciente (1.6%) mostró inflamación severa en esta región. Así mismo, la falta de inflamación fue corroborada en 14.8% (9) pacientes.

6.2.1.3 Fundus

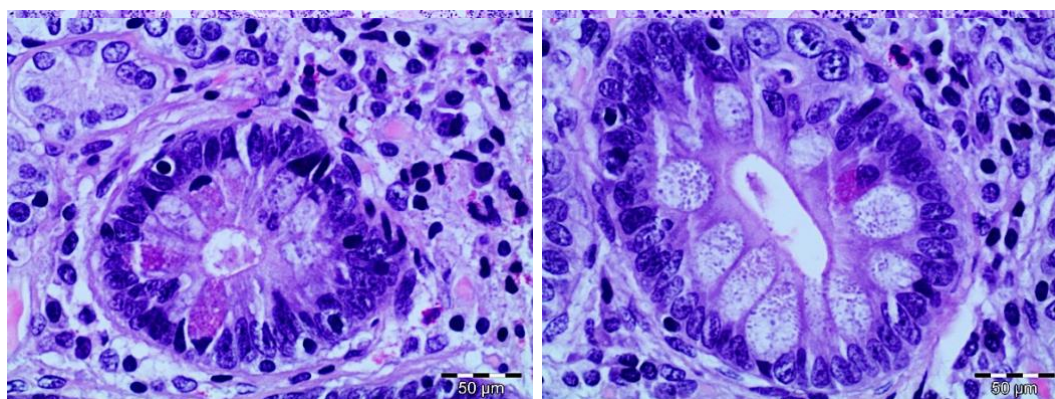
Finalmente, en el caso del fundus se obtuvo que el grado leve estuvo presente en el 62% de los pacientes, seguido por el moderado (23%). También un caso el (1.6%) mostró inflamación severa. La ausencia de inflamación a nivel del fundus se evidenció en 13.1% (8) pacientes. La gráfica 2 resume las características de la topografía y la severidad de la gastritis.

Gráfica 2. Hallazgos histopatológicos de acuerdo con la localización gástrica y severidad de la gastritis en pacientes con obesidad mórbida (N=61).



En cada una de las regiones evaluadas se estudió la presencia estructuras baciliformes compatibles con *Helicobacter pylori* y de atrofia gástrica. En ningún paciente se demostró la presencia de estructuras baciliformes ni de atrofia. Finalmente, la presencia de células caliciformes, de Paneth y con borde en cepillo, compatibles con el diagnóstico de metaplasia intestinal completa e incompleta estuvo presente en 5 pacientes (8.20%). En la figura 15 se muestran los hallazgos de metaplasia intestinal.

Figura 15. Metaplasia intestinal gástrica completa e incompleta. Se observa la presencia de células caliciformes (A,B) con citoplasma anfofílico, así como células con

**A****B**

granulaciones intracitoplasmáticas densas, células de Paneth (C,D). (HE aumento directo 10X a 40X).

6.3 Análisis comparativo entre los hallazgos clínicos y los histopatológicos

6.3.1 Género y presencia de gastritis

En cuanto al género y su relación con la gastritis se obtuvo que en 3 pacientes masculinos y en 4 femeninas, no se evidenciaron cambios morfológicos de gastritis. El análisis de la presencia de gastritis mostró que la misma estuvo presente en 13 casos masculinos y 41 femeninos. En estos grupos no se observó diferencia significativa (p : 0.288). La tabla 3 muestra las características evaluadas.

6.3.2 Complicaciones de la obesidad mórbida y presencia de gastritis

6.3.2.1 Diabetes tipo 2 y gastritis

Dentro de este grupo análisis se observó que en 3 pacientes diabéticos y 4 no diabéticos, no se observaron cambios histomorfológicos de gastritis. Al relacionar la presencia de gastritis y de diabetes, se observó que en 35 casos estuvo presente esta combinación (gastritis/diabetes), mientras que 19 no presentaron esta asociación. No se observó diferencia estadística en este grupo de estudio (p : 0.691).

6.3.2.2 Hipertensión arterial sistémica y gastritis

Otro grupo evaluado en el que tampoco se demostró diferencia significativa (p : 0.127), fue el correspondiente a hipertensión arterial sistémica y la presencia de gastritis, estando presente en 30 casos, mientras que en 24 pacientes no se evidenció esta asociación. En 6 pacientes hipertensos no se observó inflamación y en el restante la asociación hipertensión/gastritis no estuvo presente. Se observó que 15 pacientes mostraron gastritis en combinación con diabetes más hipertensión arterial, sin diferencia (p : 0.410) cuando se comparó con el grupo sin gastritis y con la presencia de las dos

morbilidades, correspondiendo a 30 casos. La tabla 3 resume los aspectos clínicos y los hallazgos patológicos.

Tabla 3. Relación entre hallazgo histopatológico y características clínicas en pacientes con obesidad mórbida (N=61).

Variable	Normal		Gastritis		Valor de <i>p</i>
	N	%	N	%	
Genero					
Masculino	3	4,92	13	21,31	0.288
Femenino	4	6,56	41	67,21	
HTA					
Si	6	9,84	30	49,18	0.127
No	1	1,64	24	39,34	
DM2					
Si	3	4,92	19	31,15	0.691
No	4	6,56	35	57,38	

6.4 Presencia de la grelina gástrica en pacientes con obesidad mórbida

6.4.1 Cuantificación de células gástricas de grelina

El estudio inmunohistoquímico para la determinación de células de grelina gástrica mostró un total de $786,30 \pm 465,28$ células con positividad citoplasmática para la grelina. En todos los casos evaluados la inmunoreacción fue granular, con localización opuesta a la región luminal (en relación a la membrana basal) y las células mostraron morfología variable desde cúbica a ligeramente alargada. Su distribución en la región de las glándulas gástricas estuvo localizada hacia región basal y en contacto con la membrana basal. En ocasiones, se evidenció proyecciones citoplasmáticas que parecían insinuarse entre dos o más células gástricas mucosas. Las células grelina positivas se encontraban aisladas o en parejas, aunque en ocasiones podían observarse grupos mayores de células (más de 4 células) (figura 16).

Figura 16. Células de grelina gástricas (A-F). Diferentes patrones de expresión de acuerdo a su localización en la mucosa gástrica (A,B). Se observa la presencia de células aisladas (C, F) i en grupos (D,E). Dichos hallazgos fueron independientes de la topografía. (DAB aumento directo 10X a 60X).

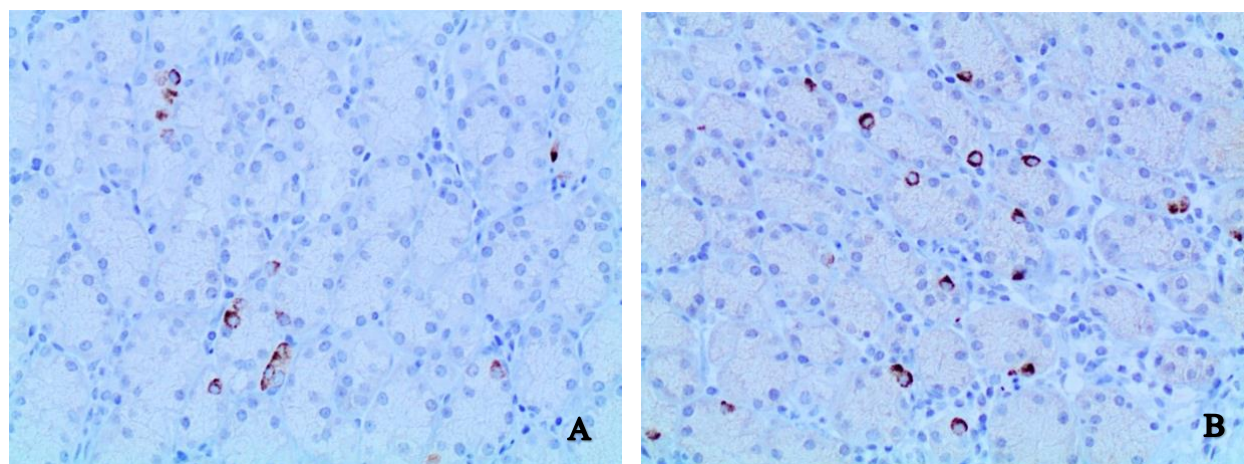
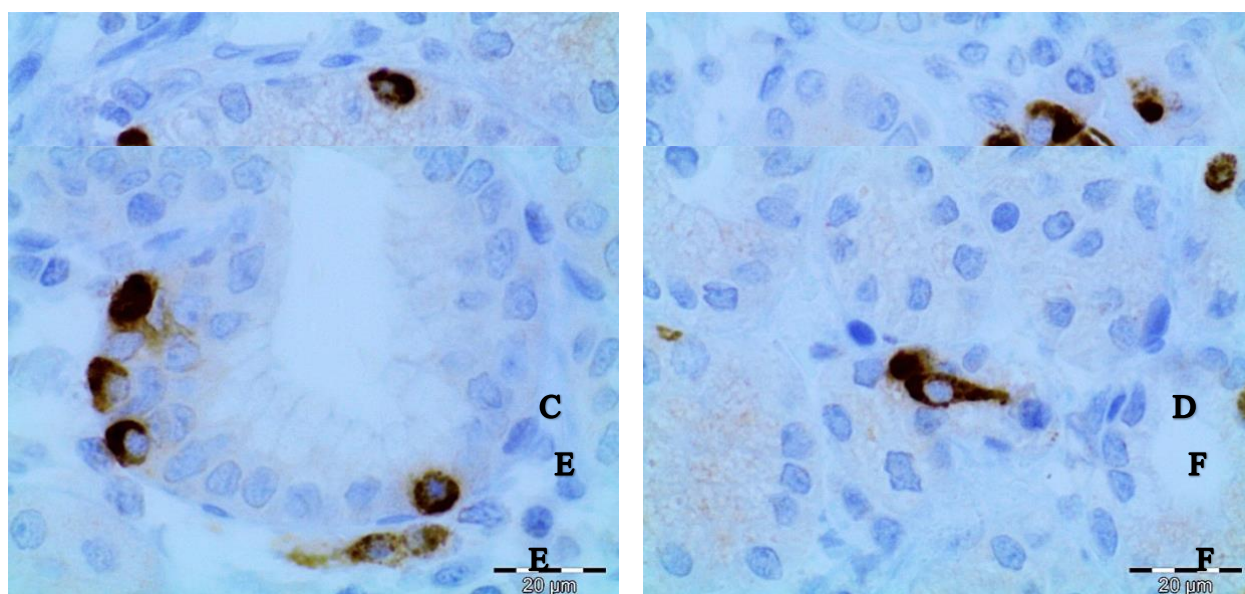


Figura 16. Células de grelina gástricas (A-F) (continuación). Diferentes patrones de expresión de acuerdo a su localización en la mucosa gástrica (A,B). Se observa la presencia de células aisladas (C, F) i en grupos (D,E). Dichos hallazgos fueron independientes de la topografía. (DAB aumento directo 10X a 60X).



6.4.2 Células gástricas de grelina y características clínicas

6.4.2.1 Células de grelina y género

En cuanto a la relación entre el sexo en los pacientes obesos y la presencia total de células de grelina se pudo evidenciar que los pacientes masculinos tuvieron un total de $647,94 \pm 264,13$ células y en las femeninas los valores totales fueron de $835,49 \pm 511,815$ células, sin encontrarse diferencia significativa entre los grupos (p : 0.251).

6.4.2.2 Células de grelina y complicaciones

El análisis de las complicaciones y la presencia de células de grelina gástrica demostró que en los pacientes sin diabetes la cantidad total de células fue de $772,08 \pm 403,753$, y de $811,50 \pm 567,897$ en los diabéticos (p : 0.810). En los casos sin diagnóstico de hipertensión arterial el valor fue de $896,75 \pm 485,694$ células, en tanto que aquellos casos con hipertensión arterial el valor alcanzó $706,19 \pm 446,751$ células, encontrándose diferencia significativa en los pacientes correspondientes a este grupo (p : 0.040). Finalmente, el estudio de la presencia de gastritis y su relación con la cantidad de células de grelina gástrica, demostró que en los pacientes sin gastritis la cantidad total de células cuantificadas fue de $720,14 \pm 391,697$ células. En aquellos casos con gastritis las células de grelina fueron de $794,87 \pm 476,504$ células, sin que se pudiera demostrar diferencia significativa en este grupo (p : 0.557). La tabla 4 muestra los hallazgos y las correlaciones para las células totales de grelina y las características clínicas.

Tabla 4. Correlación entre los hallazgos clínicos y el número total de células gástricas de grelina en pacientes con obesidad mórbida (N=61).

Variable	Células gástricas de grelina totales	Valor de <i>p</i>
Genero		
Masculino	679,94 ± 264,13	0.251
Femenino	835,49±511,815	
HTA		
Si	706,19±446,751	0.040
No	896,75±485,694	
DM2		
Si	811,50±567,897	0.810
No	772,08±403,753	
Gastritis		
Si	794,87±476,504	0.557
No	720,14±391,697	

6.4.3

Células de

Grelina y su distribución topográfica gástrica

El patrón de distribución de la grelina fue estudiado en cada una de las regiones gástricas. En el antro, la expresión de grelina mostró patrón irregular en 90.16% (55) de las muestras, seguida por la presencia en el tercio inferior con 6.56% (4) y finalmente se observó la localización en dos tercios del epitelio en 3.28% (2) de los casos. La localización en la región del cuerpo evidenció un patrón similar al evidenciado en el antro, siendo el patrón irregular el más frecuente con 68.85% (42) de los casos, seguido por el tercio inferior con 21.31% (13) y el de dos tercios inferiores en 9.84% (6) pacientes. Finalmente, en el fundus la distribución irregular se presentó en 70.49% (43) de los pacientes, seguida por la del tercio inferior con 26.23% (16) y en dos tercios con 3.28% (2). La figura 17 muestra diferentes patrones observados de las células en la mucosa gástrica. La gráfica 3 presenta el resumen de los hallazgos.

Gráfica 3. Hallazgos de acuerdo a la distribución en la mucosa gástrica de las células de grelina en pacientes con obesidad mórbida (N=61).

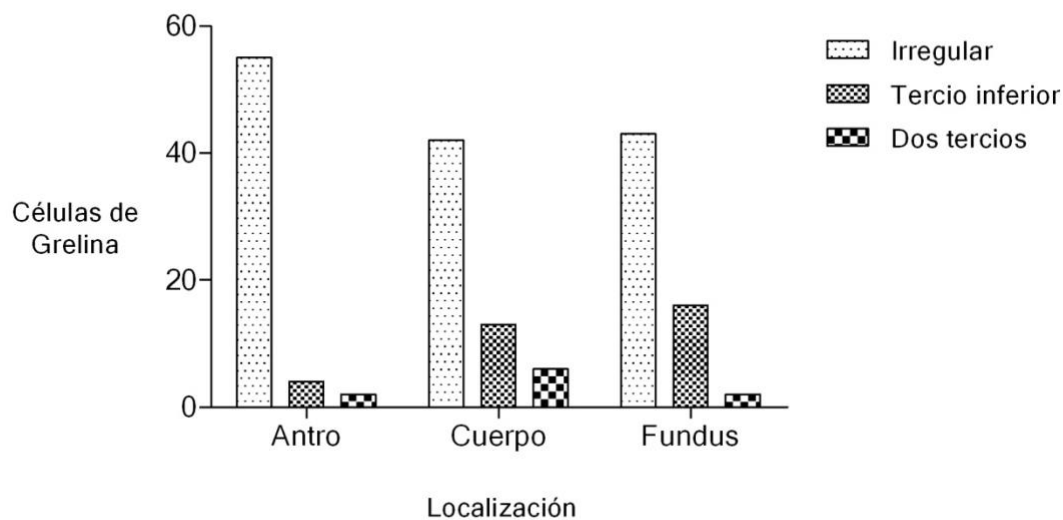
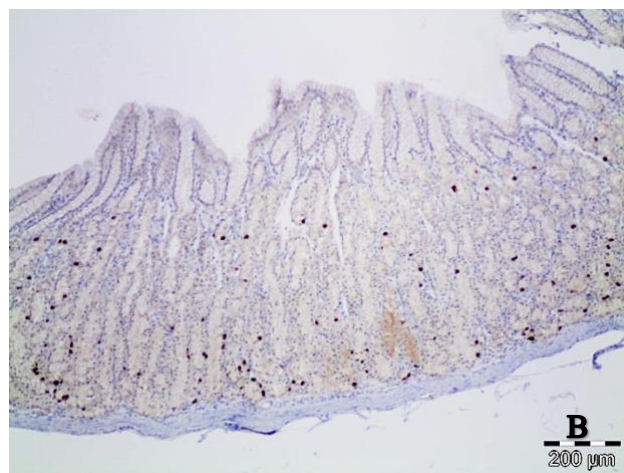
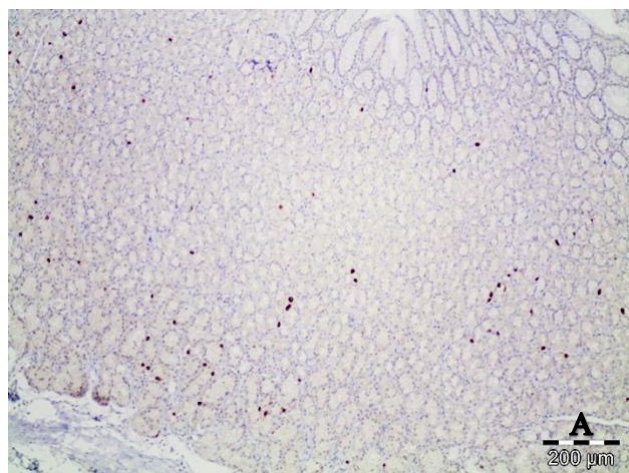


Figura 17. Estudio inmunohistoquímico para las células gástricas con positividad para la grelina (A-D). Diferentes patrones de distribución mucosa observados. A. Patrón irregular. B,C. Patrón de predominio a dos tercios de la mucosa. D. Patrón con predominio a dos tercios de la mucosa. (DAB aumento directo 10X).

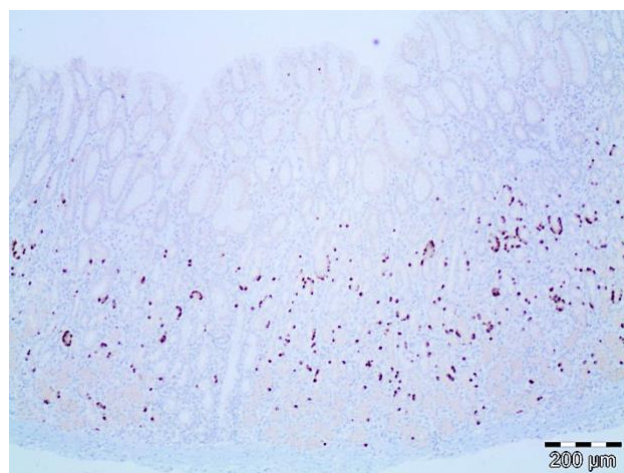
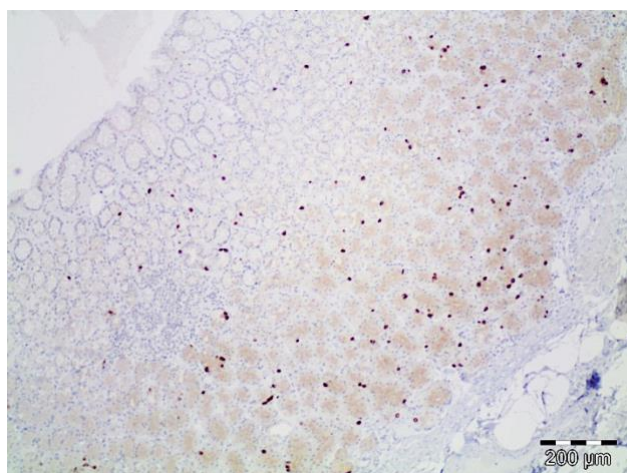


C

D

6.4.4 Estudio de la expresión de Grelina de acuerdo a la topografía gástrica

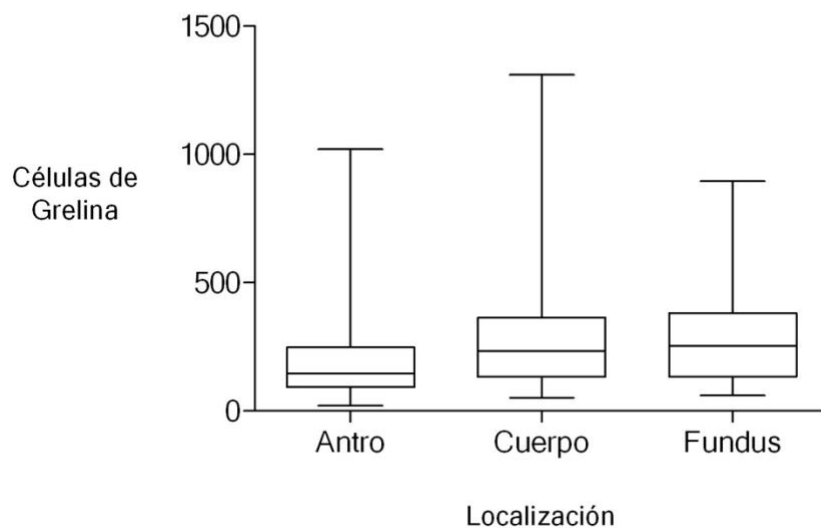
El estudio cuantitativo de las células con expresión para la grelina fue analizado en cada una de las regiones gástricas estudiadas. Para el antro, se obtuvieron $217,28 \pm 196,643$ células positivas; en el cuerpo el total de células fue de $292,18 \pm 231,551$ y en el fundus de $276,84 \pm 166,296$. El estudio estadístico demostró diferencia significativa entre las células con expresión de grelina y su localización, en los grupos estudiados ($p: 0.004$).



Cuando se comparó las localizaciones y la

expresión de grelina se obtuvo diferencia significativa entre antro versus cuerpo y antro versus fundus ($p: 0.006$ $p: 0.004$, respectivamente). El análisis entre cuerpo y fundus no mostró diferencia significativa ($p: 0.732$). La gráfica 4 muestra el hallazgo topográfico gástrico y las células de grelina.

Gráfica 4. Células de grelina en relación a la topografía gástrica en pacientes con obesidad mórbida (N=61).



6.4.4.1 Características clínicas, expresión de Grelina y topografía gástrica

6.4.4.1.1 Análisis en cuanto al género

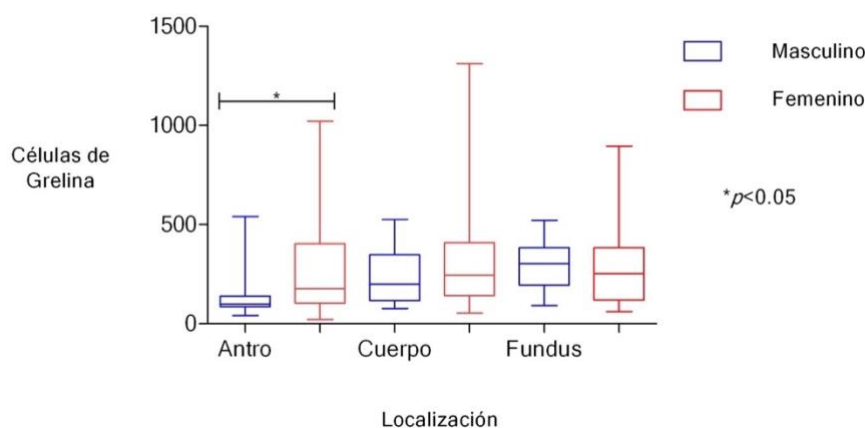
El estudio cuantitativo de la expresión de grelina en los pacientes masculinos mostró que el número de células de grelina en el antro fue de $132,94 \pm 116,340$; en el cuerpo se obtuvieron $230,19 \pm 130,395$ y en el fundus fue de $284,81 \pm 121,144$ células, con diferencia significativa entre las células grelina y la localización ($p: 0.001$). Cuando se comparó si existía discrepancia entre las diferentes regiones gástricas y la expresión de grelina, se pudo observar que, entre antro y cuerpo, así como entre antro y fundus, existió diferencia significativa en estas regiones ($p: 0.007$ $p: 0.000$, respectivamente). Así mismo, no se estableció esta diferencia entre cuerpo y fundus ($p: 0.210$). En cuanto al sexo femenino, el estudio demostró un total de $247,27 \pm 211,208$ células de grelina en antro, $314,22 \pm 255,777$ en el cuerpo y $274,00 \pm 180,765$ células en el fundus. Dentro de este grupo no se observó diferencias significativas entre la presencia de células de grelina

y su localización. Este hallazgo contrasta con lo encontrado para el sexo masculino y la comparación con respecto al grupo de estudio total. Se encontró diferencia significativa a nivel del antro entre los pacientes masculinos y femeninos, con respecto al número absoluto de células de grelina ($p: 0.018$), mientras que en el resto de las localizaciones no se evidenciaron discrepancias. La tabla y la gráfica 5, resumen los hallazgos para estas variables estudiadas.

Tabla 5. Hallazgos en relación a la topografía gástrica de las células de grelina y el género en pacientes con obesidad mórbida (N=61).

Localización	Masculino (N=16)	Femenino (N=45)	Valor p
Antro	132,94±116,340	230,19±130,95	0,018
Cuerpo	247,27±211,208	314,22±255,777	0,350
Fundus	284,81±121,144	274+180,765	0,512

Gráfica 5. Hallazgos de acuerdo a la topografía gástrica de las células de grelina y al género en pacientes con obesidad mórbida (N=61).



6.4.4.1.2 Análisis de las complicaciones, topografía gástrica y células de grelina

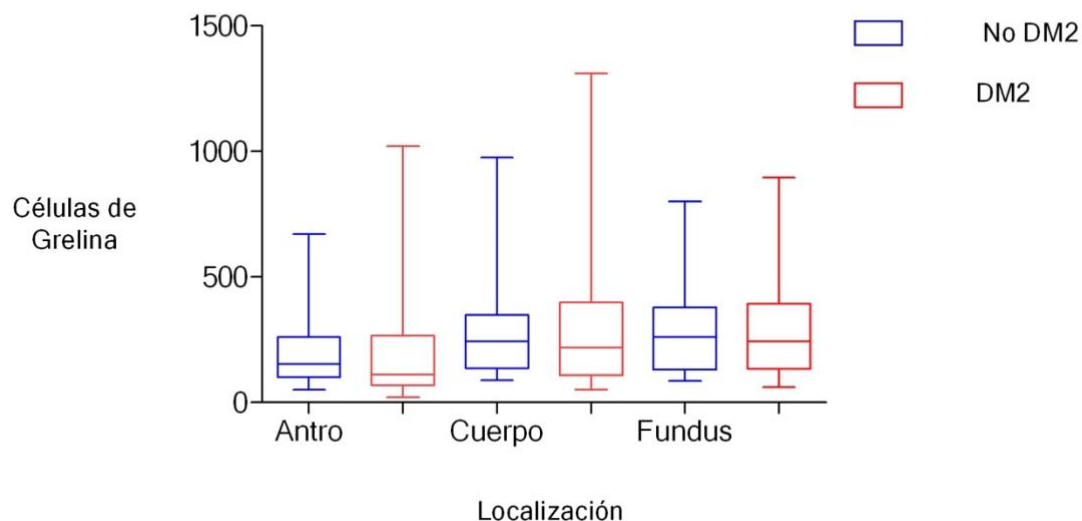
6.4.4.1.2.1 Diabetes

En los 22 pacientes con diagnóstico de diabetes tipo 2 se observó que el número de células positivas para grelina fue de $223,64 \pm 252,709$ en antro, de $310,82 \pm 293,019$ para el cuerpo y de $277,05 \pm 187,980$ para el fundus. No hubo diferencias entre la presencia de células de grelina y su localización. En el análisis de los pacientes que no presentaron diabetes (39), las células de grelina para el antro fueron de $213,69 \pm 160$, en cuerpo de $281,67 \pm 192,077$ y en fundus de $276,72 \pm 155,360$. Dentro de este grupo se pudo demostrar diferencia significativa para la presencia de grelina y su localización ($p: 0,038$). En cuanto a la variación en cuanto a la localización se demostró que la misma estuvo presente de manera significativa entre antro / cuerpo y antro / fundus ($p: 0,023$ y $p: 0,031$, respectivamente). Esta discrepancia estuvo ausente para la comparación cuerpo / fundus. No se demostró diferencia entre los grupos diabético y no diabético en cuanto a la presencia de células positivas para la grelina y su distribución gástrica. La tabla y gráfica 6 resumen los hallazgos encontrados dentro de este grupo.

Tabla 6. Hallazgos en relación a la presencia de diabetes y la topografía gástrica de las células de grelina en pacientes con obesidad mórbida (N=61).

Localización	No DM2 (N=39)	DM2 (N=22)	Valor <i>p</i>
Antro	$213,69 \pm 160,395$	$223,64 \pm 252,709$	0,254
Cuerpo	$281,67 \pm 192,077$	$310,82 \pm 293,019$	0,804
Fundus	$276,72 \pm 155,360$	$277,05 \pm 187,980$	0,775

Gráfica 6. Hallazgos de acuerdo a la diabetes, topografía gástrica y células de grelina en pacientes con obesidad mórbida (N=61).



6.4.4.1.2.2 Hipertensión Arterial Sistémica

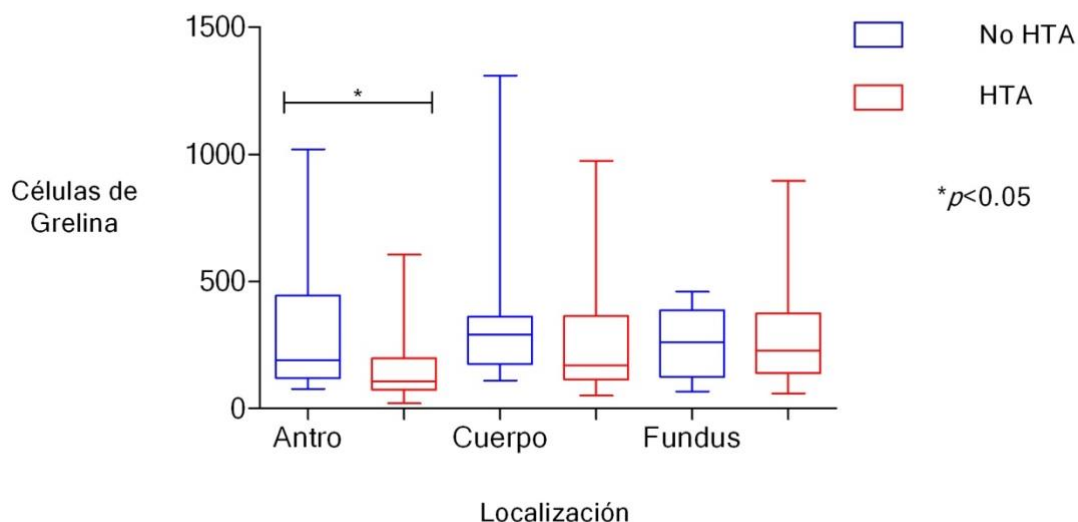
En los 36 pacientes con diagnóstico de hipertensión arterial se observó que el número de células positivas para grelina fue de $160,47 \pm 143,305$ en antro, de $264,28 \pm 215,518$ para el cuerpo y de $281,44 \pm 190,324$ para el fundus. Hubo diferencia entre la presencia de células de grelina y su localización ($p: 0,000$). La localización comparativa entre antro / cuerpo y antro / fundus mostraron cambios significativos para cada una de ellas ($p: 0,005$ y $p: 0,000$, respectivamente), no observándose esta diferencia entre las regiones cuerpo / fundus. En el análisis de los pacientes que no presentaron hipertensión arterial (25), las células de grelina para el antro fueron de $299,08 \pm 234,332$, en cuerpo de $332,36 \pm 251,901$ y en fundus de $270,20 \pm 127,407$. Dentro de este grupo no se pudo demostrar diferencia significativa para la presencia de grelina y su localización. Se demostró diferencia entre los grupos hipertenso y no hipertenso diabético en cuanto a la

presencia de células positivas para la grelina y su distribución gástrica en el antro (p : 0.002). La tabla y gráfica 7 resumen los hallazgos encontrados dentro de este grupo.

Tabla 7. Hallazgos en relación con la presencia de hipertensión arterial sistémica y la topografía gástrica de las células de grelina en pacientes con obesidad mórbida (N=61).

Localización	No HTA (N=25)	HTA (N=36)	Valor p
Antro	299,08±234,332	160,47±143,305	0,002
Cuerpo	332,36±251,901	264,28±215,518	0,067
Fundus	270,20±127,407	281,44±190,324	0,714

Gráfica 7. Hallazgos de acuerdo a la hipertensión arterial, topografía gástrica y células de grelina en pacientes con obesidad mórbida (N=61).



6.4.5 Características morfológicas y expresión de grelina en células gástricas

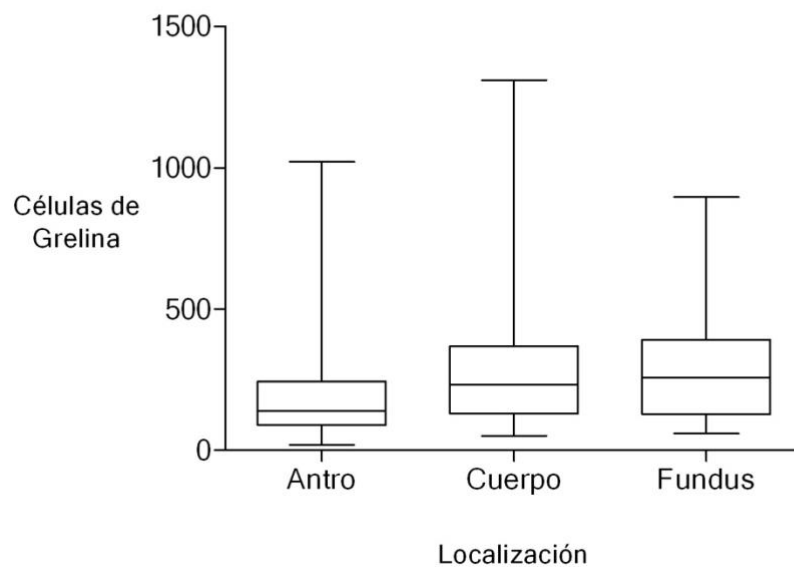
El resultado histopatológico estudiado fue la presencia de gastritis en correlación con la expresión de grelina. Dentro de este grupo con 54 pacientes se pudo evidenciar que el número de células positivas para grelina en antro fue de $220,65 \pm 196,126$, en la región del cuerpo se obtuvieron $301,59 \pm 239,279$ y de $277,80 \pm 169,396$ para el fundus. Dentro de estos casos se demostró diferencia significativa cuando se comparó la presencia de células de grelina y su localización ($p: 0.009$). Las localizaciones comparativas entre antro / cuerpo y antro / fundus mostraron variaciones para cada una de ellas ($p: 0,007$ y $p: 0,008$, respectivamente), no pudiéndose demostrar esta diferencia entre las regiones correspondientes a cuerpo / fundus ($p: 0.927$). En el análisis de los pacientes que no presentaron gastritis (7), las células de grelina para el antro fueron de $253,71 \pm 221,009$, en cuerpo de $251,43 \pm 136,462$ y en fundus de $215,00 \pm 64,104$. Dentro de este grupo no se pudo demostrar diferencia significativa para la presencia de grelina

y su localización. La tabla y gráfica 8 resumen los hallazgos encontrados para este grupo de estudio.

Tabla 8. Hallazgos en relación a la presencia de gastritis y la topografía gástrica de las células de grelina en pacientes con obesidad mórbida (N=61).

Localización	Normal (N=7)	Gastritis (N=54)	Valor <i>p</i>
Antro	253,71±221,009	212,56±195,059	0,557
Cuerpo	251,43±136,462	297,46±241,540	0,903
Fundus	215,00±64,104	284,85±173,986	0,457

Gráfica 8. Hallazgos de acuerdo a la topografía gástrica, células de grelina y gastritis en pacientes con obesidad mórbida (N=54).



6.4.6 Estudio de las características clínicas, morfológicas y grelina gástrica

6.4.6.1 Análisis del género, gastritis y células de grelina

El estudio de los pacientes masculinos sin presencia de gastritis (3) evidenció que el número de células grelina en antro fue de $243,00 \pm 257,292$, en cuerpo de $197,33 \pm 148,109$ y de $209,67 \pm 63,011$ para el cuerpo. Cuando se valoró la presencia de gastritis (13) se obtuvieron los siguientes valores de grelina $107,54 \pm 46,457$, $237,77 \pm 131,398$ y de $302,15 \pm 126,275$, para el antro, cuerpo y fundus respectivamente. A pesar de que el número absoluto de células de grelina en antro disminuye cuantitativamente cuando se comparan las condiciones de gastritis vs. no gastritis, no se pudo demostrar diferencia entre las localizaciones, sexo ni la presencia de células positivas para la grelina. Sin embargo, en los pacientes masculinos con gastritis mostraron diferencia significativa en cuanto a su topografía ($p:0.004$).

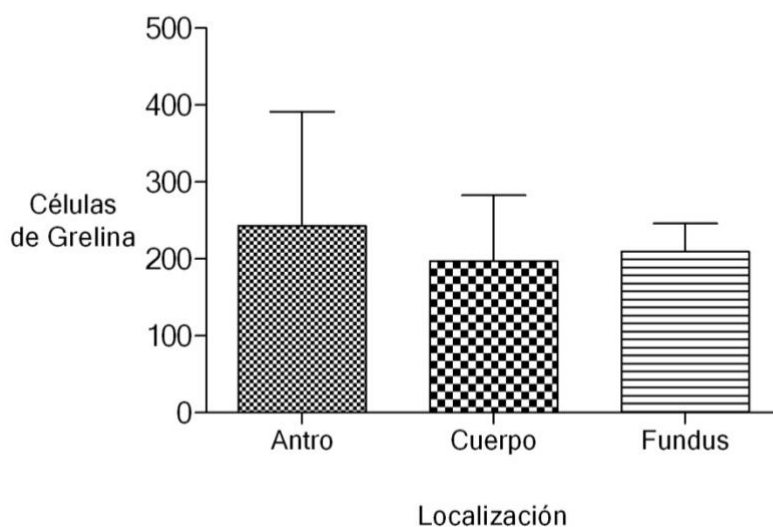
En cuanto a las pacientes femeninas sin presencia de gastritis (4) evidenció que el número de células grelina en antro fue de $261,75 \pm 230,990$, cuerpo con una cantidad de $292,00 \pm 132,283$ y de $219,00 \pm 74,310$ para fundus. Cuando se estimó la presencia de gastritis (41) se obtuvieron que los valores de grelina fueron de $245,85 \pm 212,238$, $316,39 \pm 265,702$ y de $279,37 \pm 187,610$, para el antro, cuerpo y fundus respectivamente. En este grupo no se pudo evidenciar disminución del número absoluto de células de grelina en ninguna de las localizaciones, ni valores significativos comparativos.

La tabla 9 y las gráficas 9-12 resumen los hallazgos encontrados para este grupo de estudio.

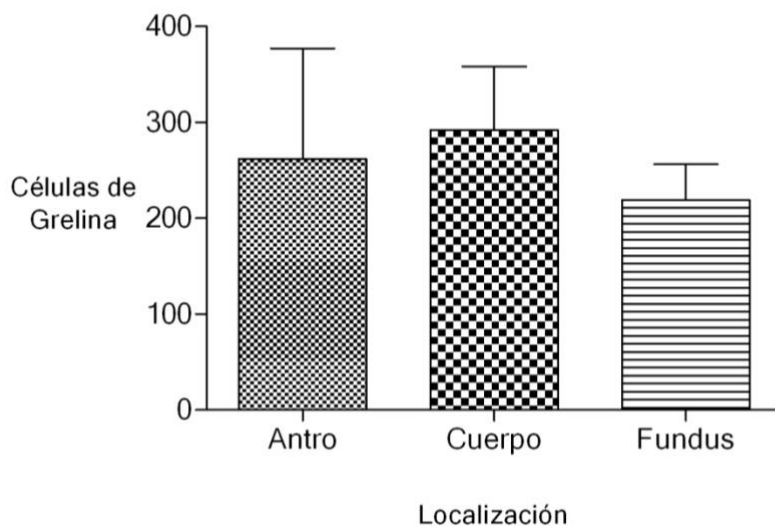
Tabla 9. Hallazgos en relación a género, la presencia de gastritis y la topografía gástrica de las células de grelina en pacientes con obesidad mórbida (N=61).

Localización	Masculino		Femenino	
	Normal	Gastritis	Normal	Gastritis
Antro	243,00±257,292	107,54±46,457	261,75±230,990	245,85±212,238
Cuerpo	197,33±148,109	237,77±131,398	292,00±132,283	316,39±265,702
Fundus	209,67±63,011	302,15±126,275	219,00±74,310	279,37±187,610
Valor <i>p</i>	0,439	0,004	0,299	0,296

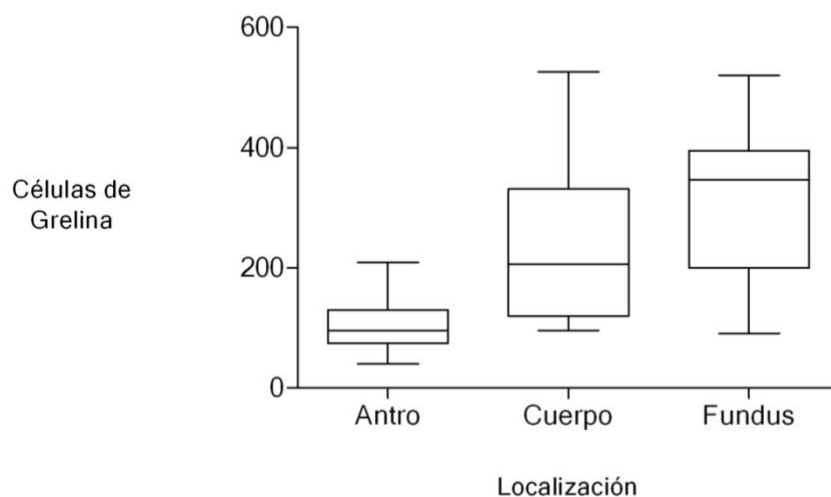
Gráfica 9. Hallazgos en pacientes masculinos, sin gastritis y la topografía gástrica de las células de grelina en pacientes con obesidad mórbida (N=3).



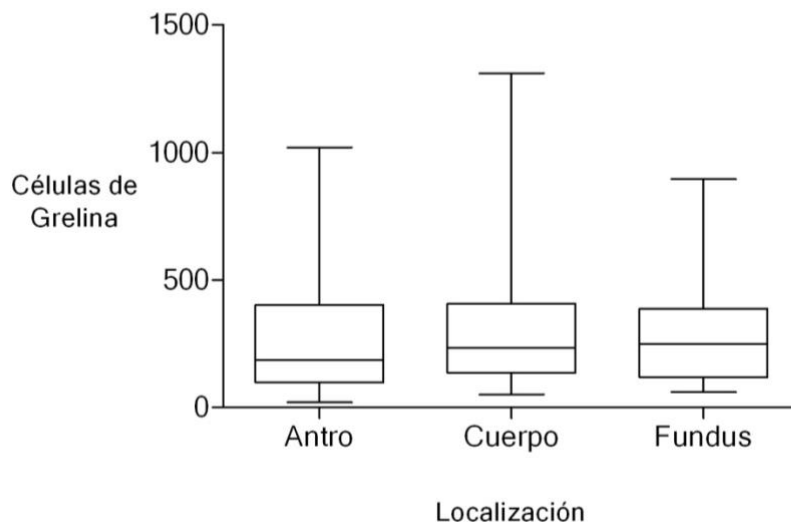
Gráfica 10. Hallazgos en pacientes femeninos, sin gastritis y la topografía gástrica de las células de grelina en pacientes con obesidad mórbida (N=4).



Gráfica 11. Hallazgos en pacientes masculinos, con gastritis y la topografía gástrica de las células de grelina en pacientes con obesidad mórbida (N=13).



Gráfica 12. Hallazgos en pacientes femeninos, con gastritis y la topografía gástrica de las células de grelina en pacientes con obesidad mórbida (N=41).



6.4.6.2 Anàlisi de les complicacions, gastritis y cèl·lules de grelina

6.4.6.2.1 Diabetes, gastritis y cèl·lules de grelina

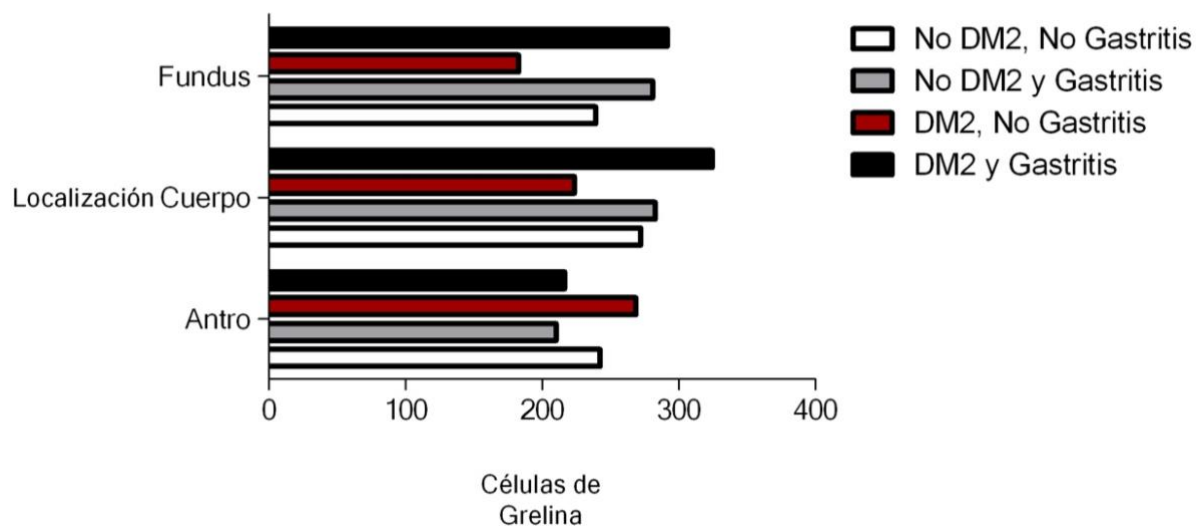
En cuanto a los pacientes sin diagnóstico clínico de diabetes ni presencia de gastritis (4) evidenció que el número de cèl·lules grelina en antro fue de $242,50 \pm 200,763$, en cuerpo de $272,25 \pm 88,191$ y $239,25 \pm 23,712$ para el fundus. Cuando se combinó la presencia de gastritis sin diabetes (35) se obtuvieron que los valores de grelina para cada localización de $210,40 \pm 158,392$, $282,74 \pm 201,336$ y de $281,00 \pm 163,532$ para el antro, cuerpo y fundus, respectivamente. En este grupo no se pudo evidenciar disminución del número absoluto de cèl·lules de grelina en ninguna de las localizaciones, ni valores significativos comparativos. En el grupo de pacientes con diagnóstico de diabetes sin gastritis (3) se demostró $268,67 \pm 292,386$, $223,67 \pm 205,369$ y de $182,67 \pm 93,490$ cèl·lules de grelina, para cada una de las regiones gástricas. Finalmente, para los pacientes con diagnóstico de diabetes y gastritis (19) en antro se demostraron $216,53 \pm 254,196$, en cuerpo la cantidad fue de $324,58 \pm 306,623$ y en el

fundus de $291,95 \pm 196,305$ células de grelina. El análisis comparativo no permitió encontrar diferencias significativas para los grupos valorados. La tabla 10 y la gráfica 13 resumen los hallazgos encontrados para este grupo de estudio.

Tabla 10. Hallazgos en relación a diabetes mellitus, la presencia de gastritis y la topografía gástrica de las células de grelina en pacientes con obesidad mórbida (N=61).

Localización	No DM2		DM2	
	Normal	Gastritis	Normal	Gastritis
Antro	242,50 \pm 200,763	210,40 \pm 158,392	268,67 \pm 292,386	216,53 \pm 254,196
Cuerpo	272,25 \pm 88,191	282,74 \pm 201,336	223,67 \pm 205,369	324,58 \pm 306,623
Fundus	239,67 \pm 23,712	281,00 \pm 163,532	182,67 \pm 93,490	291,95 \pm 196,305
Valor <i>p</i>	0,733	0,046	0,900	0,291

Gráfica 13. Hallazgos de acuerdo a la topografía gástrica de las células de grelina, diabetes mellitus y gastritis en pacientes con obesidad mórbida (N=61).



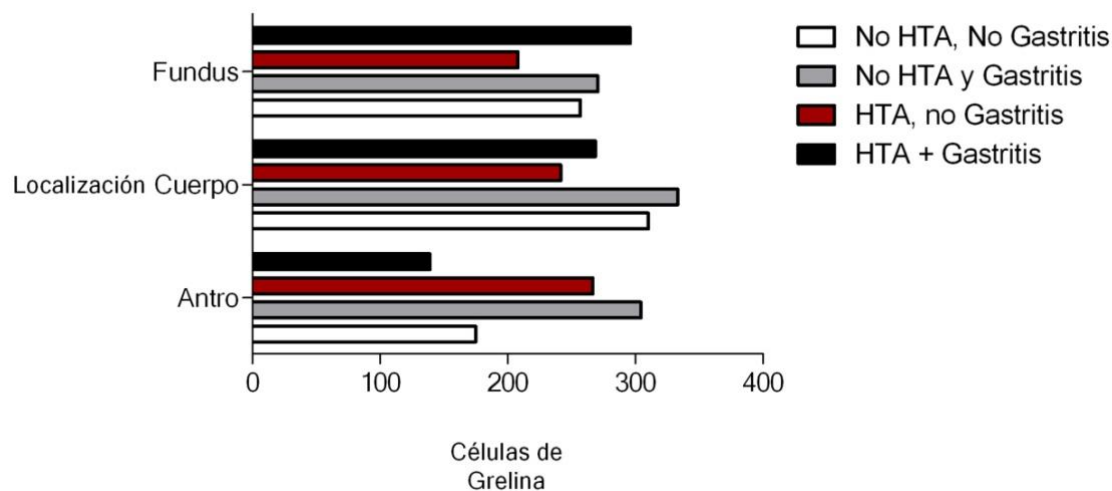
6.4.6.2.2 Hipertensión arterial sistémica, gastritis y grelina

En los pacientes sin hipertensión arterial ni gastritis, la muestra correspondió a un caso con células grelina en antro de 175, en cuerpo de 310 y 257 para el fundus. Cuando se combinó la gastritis con hipertensión (24) se obtuvieron que los valores de grelina para cada localización fue de $304,25 \pm 237,911$ en antro, de $333,29 \pm 257,275$ para el cuerpo y en fundus fue de $270,75 \pm 130,117$. Debido a lo limitado de la muestra, posiblemente no se observaron diferencias entre los grupos. En el grupo de pacientes con hipertensión, pero sin hallazgos de gastritis (6) hubo $266,83 \pm 239,099$ en antro, $241,67 \pm 146,785$ para el cuerpo y $208,00 \pm 67,228$ células con expresión para la grelina en el fundus. Para los casos en que ambos hallazgos, hipertensión arterial y gastritis (30), se contaron $139,201 \pm 10,091$ células en antro, $268,80 \pm 228,509$ para el cuerpo y $296,13 \pm 203,959$ en el fundus. No se pudo demostrar diferencias entre e intra-grupos estudiados. La tabla 11 y la gráfica 13 muestran los hallazgos relevantes en el grupo de estudio.

Tabla 11. Hallazgos en relación a hipertensión arterial sistémica, la presencia de gastritis y la topografía gástrica de las células de grelina en pacientes con obesidad mórbida (N=61).

Localización	No HTA		HTA	
	Normal	Gastritis	Normal	Gastritis
Antro	175	$304,25 \pm 237,911$	$266,83 \pm 239,099$	$139,20 \pm 110,091$
Cuerpo	310	$333,29 \pm 257,275$	$241,67 \pm 146,785$	$268,80 \pm 228,509$
Fundus	257	$270,75 \pm 130,117$	$208,00 \pm 67,228$	$296,13 \pm 203,959$
Valor <i>p</i>	n.a	0,688	0,049	0,002

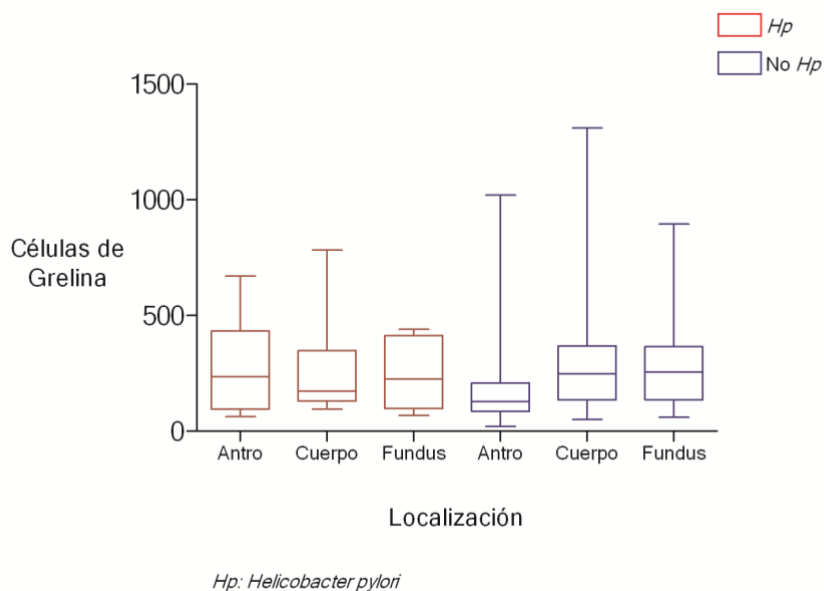
Gráfica 14. Hallazgos de acuerdo a la topografía gástrica de las células de grelina, hipertensión arterial sistémica y gastritis en pacientes con obesidad mórbida (N=61).



6.4.7 Presencia de *Helicobacter pylori* previo a la cirugía y células de grelina

El análisis de los pacientes con diagnóstico prequirúrgico de *Helicobacter pylori* (11 pacientes) mostró que en la región del antro el número de células positivas para la grelina fue de $224 \pm 203,56$ células, en el cuerpo se obtuvieron $298,22 \pm 242,555$ células y para el fundus el valor fue de $277,24 \pm 156,040$ (Gráfica 15). En cuanto al parámetro valorado no se evidenció diferencia significativa en el grupo ($p:0,981$). Así mismo el estudio por regiones y la presencia de células de grelina no se demostró diferencia significativa entre las diferentes regiones evaluadas. Este resultado contrasta con lo encontrado en el grupo sin presencia de *Helicobacter pylori* previo a la intervención quirúrgica. En este grupo si se pudo demostrar diferencias en cuanto a la topografía y la presencia de células de grelina ($p:0,008$), siendo las diferencias significativas en las comparaciones para antro/cuerpo y antro/fundus ($p:0,002$ y $p:0,005$, respectivamente). Cuando se analizaron los grupos con y sin presencia de *Helicobacter*, no se observó variación significativa para cada grupo.

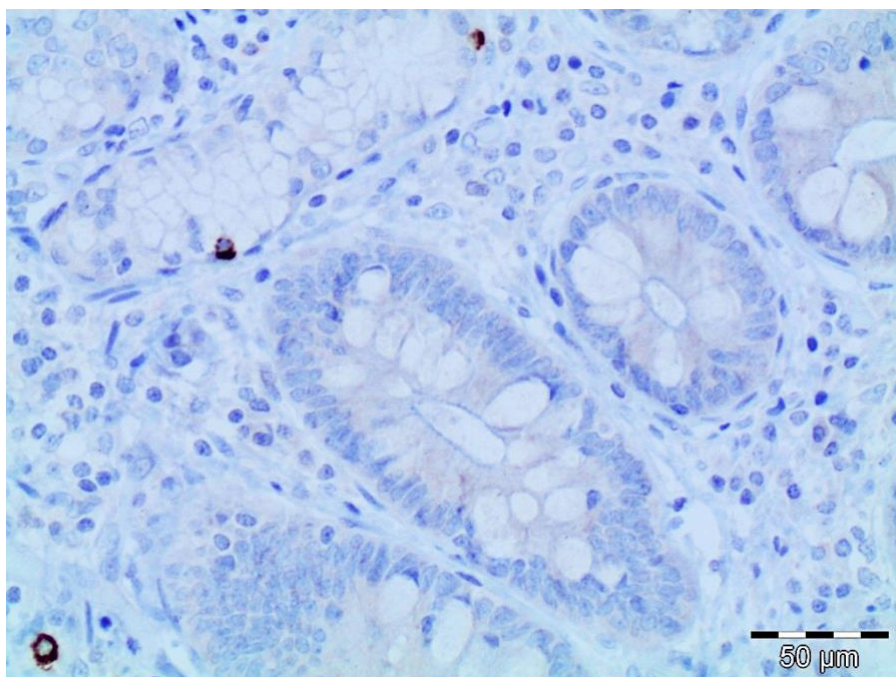
Gráfica 15. Hallazgos de acuerdo a la topografía gástrica de las células de grelina, y *Helicobacter pylori* previa a la intervención quirúrgica gastritis en pacientes con obesidad mórbida (N=61).



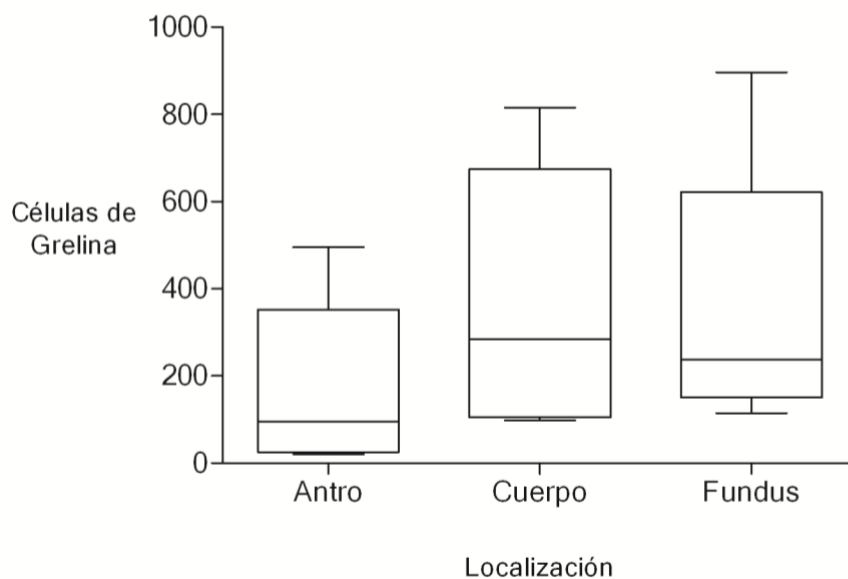
6.4.8 Presencia de metaplasia intestinal y grelina

El estudio de los pacientes que presentaron metaplasia intestinal en el estudio histopatológico (N=5), evidenció que en las estructuras glandulares con estos cambios no se observaron células positivas para la grelina (figura 4). Desde el punto de vista cuantitativo, se observó que el número total de células en el antro fue de $221,07 \pm 198,886$ células, en cuerpo se encontraron $296,24 \pm 234,401$ y en fundus de $275,08 \pm 168,377$ células. La topografía en general no demostró diferencia significativa en cuanto a la presencia de células de grelina ($p:0.2279$). Así mismo, no se observó diferencia significativa para cada una de las regiones evaluadas y la cantidad de células de grelina. En la gráfica 16 se muestran los hallazgos en este grupo de estudio.

Figura 18. Metaplasia intestinal gástrica y células de grelina. Estudio inmunohistoquímico para la grelina donde se observa la ausencia de células positivas en los cambios de metaplasia. (DAB aumento directo 20X).



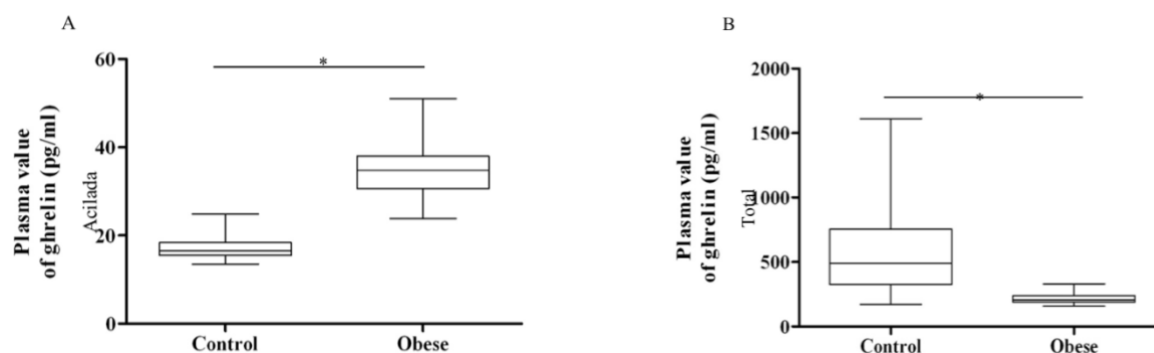
Gráfica 16. Hallazgos de acuerdo a la topografía gástrica de las células de grelina, y metaplasia intestinal (N=5).



6.5 Concentraciones plasmáticas de grelina en el grupo control y los pacientes con obesidad mórbida

El análisis de los valores plasmáticos de la grelina mostró que los mismos oscilaron entre 130 y 1200 pg/mL, con una media de 500 para el grupo control (N=30). Por el contrario, los valores en los pacientes con obesidad mórbida (N=61) estuvieron comprendidos entre 123 y 450 pg/mL, con una media de 250. Estos resultados muestran diferencias significativas para ambos grupos ($p < 0.001$). Es interesante resaltar la variabilidad plasmática en el grupo control, comparado con los pacientes obesos y en general unos niveles comparativamente menores en este grupo (Gráfica 17). Los valores de grelina acilada en el grupo control fueron significativamente menores que en los pacientes obesos. Por otro lado, los valores de grelina total fueron mayores en el grupo control comparados con los valores obtenidos en los pacientes con obesidad.

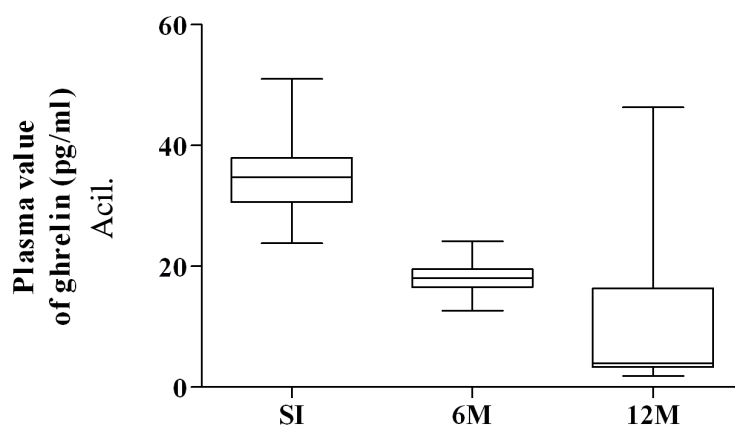
Gráfica 17. Valores plasmáticos de grelina acilada (A) y total (B) en el grupo control (N=30) y en los pacientes con obesidad mórbida al momento de la intervención quirúrgica (N=61). Los niveles de grelina acilada y total fueron medidos por ELISA. (*: diferencia significativa ($p < 0.005$)).



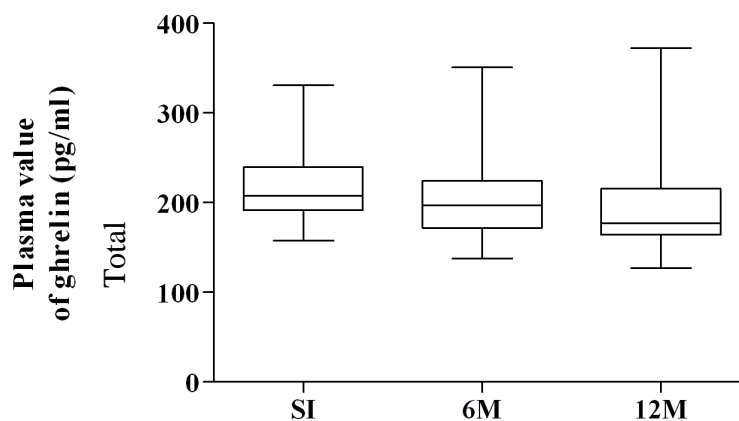
6.5.1 Evolución post-quirúrgica de los valores plasmáticos de grelina

Como se señaló en la sección anterior, los niveles plasmáticos de grelina al momento de la cirugía en pacientes con obesidad mórbida fueron 32.83 ± 5.65 pg/ml para la grelina acilada y de 207.44 ± 39.36 pg/ml para la grelina total. Los niveles plasmáticos de grelina también se obtuvieron a los seis y doce meses posteriores de la cirugía. Los valores para la grelina acilada fueron de 17.93 ± 2.55 pg/ml y 10.09 ± 11.85 pg/ml, respectivamente, y los valores de grelina total de 197.45 ± 41.87 pg/ml y 188.84 ± 52.38 pg/ml, respectivamente. El estudio estadístico mostró diferencia significativa entre los valores de grelina acilada en el momento de la cirugía, y a los seis y doce meses ($p < 0,05$). Hubo una disminución sostenida en los niveles plasmáticos de grelina acilada en pacientes con obesidad mórbida desde el momento de la cirugía hasta 12 meses posteriores (Gráfica 18). En el mismo período de estudio, los valores plasmáticos de grelina total disminuyeron con diferencias significativas en el período entre la cirugía y los seis meses ($p < 0,05$). Sin embargo, en el período entre seis y doce meses, no se observó variación significativa en los niveles plasmáticos de grelina total ($p: 0.079$) (Gráfica 19).

Gráfica 18. Niveles plasmáticos de grelina acilada en pacientes con obesidad mórbida (N=61). Los niveles de grelina acilada fueron obtenidos por ELISA. (SI: Intervención quirúrgica; 6M: Seis Meses; 12M: Doce Meses).



Gráfica 19. Niveles plasmáticos de grelina total en pacientes con obesidad mórbida (N=61). Los niveles de grelina total fueron obtenidos por ELISA. (SI: Intervención quirúrgica; 6M: Seis Meses; 12M: Doce Meses).



6.5.2 Correlación entre la grelina plasmática y células de grelina gástrica

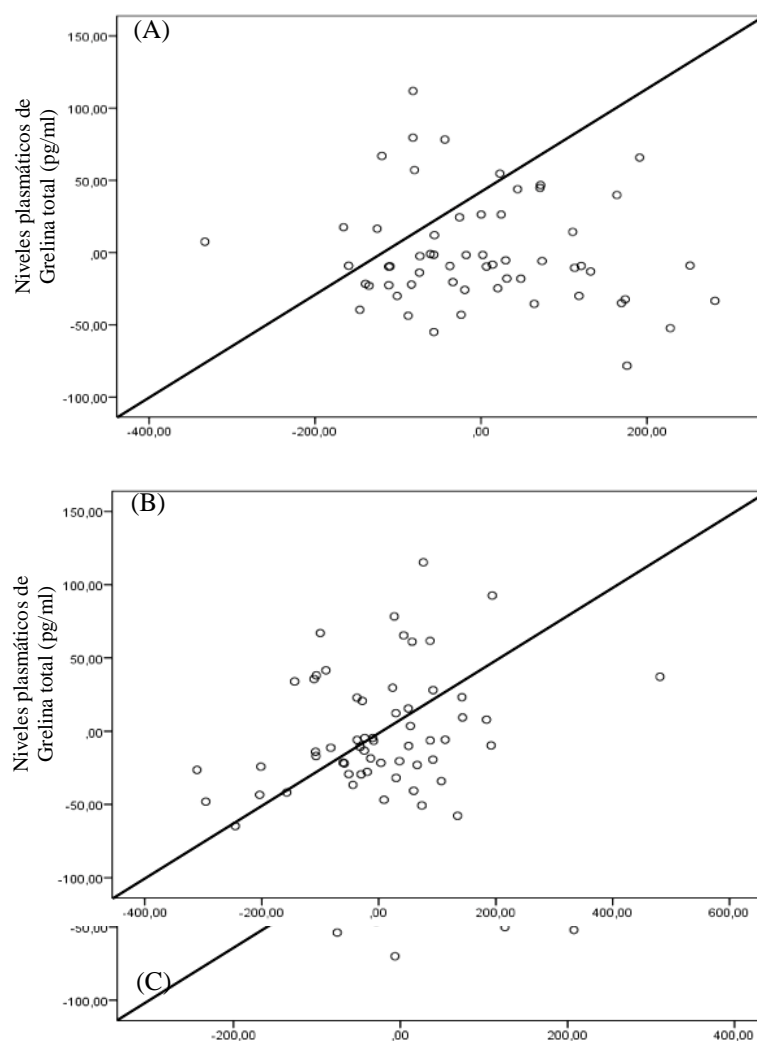
El estudio de correlación entre los valores plasmáticos de grelina acilada y total con respecto a las células gástricas de grelina se analizaron al momento de la intervención. Se pudo demostrar que el cuerpo mostró diferencia significativa en el

número de células de grelina comparado con el antro y el fundus ($p < 0.001$). Así mismo la topografía de las células de grelina demostró que para el momento de la cirugía los valores de grelina plasmática total mostraron diferencia significativa ($p: 0.030$) y se correlacionaron positivamente con la región del cuerpo (Grafica 20).

Cuando los niveles total y acilada de grelina plasmática se correlacionaron seis y doce meses después de la cirugía con células de grelina gástrica total, observamos que los niveles de grelina plasmática acilada tendieron a disminuir a los seis meses ($r^2 = -0.120$) y aumenta a los doce meses ($r^2 = 0.089$). Sin embargo, los niveles totales de grelina en plasma tendieron a aumentar a los seis meses ($r^2 = 0.022$) y disminuyeron a los 12 meses ($r^2 = -0.007$). No hubo diferencias significativas para las variables estudiadas ($p > 0.005$).

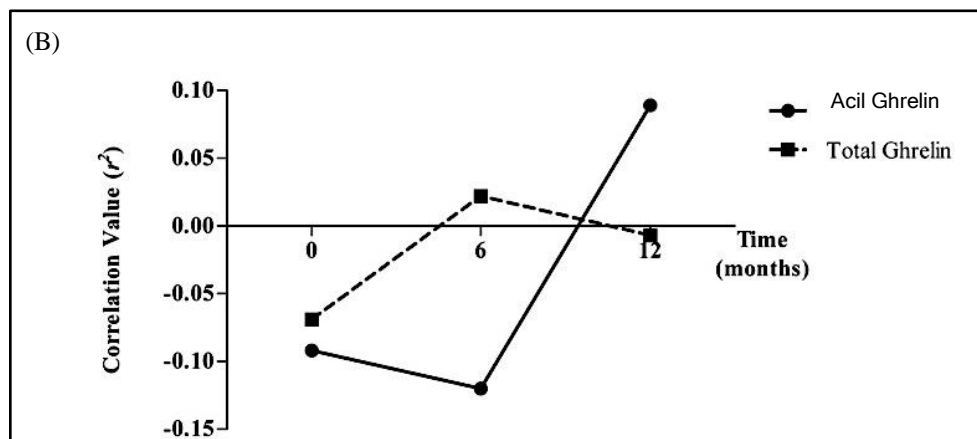
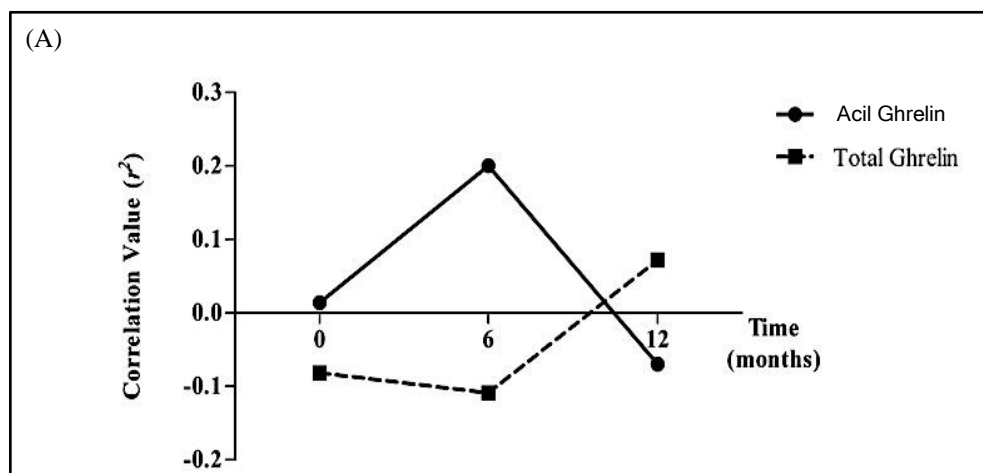
El estudio topográfico mostró que las células de grelina para el cuerpo y la región del fondo y los niveles plasmáticos de grelina acilada tendieron a aumentar a los seis meses ($r^2 = 0.200$ y $r^2: 0.143$) pero disminuyeron a los 12 meses ($r^2 = -0.070$ y $r^2: -0.060$). Por otro lado, los niveles plasmáticos totales de grelina tendieron a disminuir a los seis meses ($r^2 = -0.109$ y $r^2: -0.151$) y aumentaron a los doce meses después de la cirugía ($r^2 = 0.072$ y $r^2: 0.032$). En el antro, las células de grelina y la correlación con los niveles plasmáticos de grelina total y acilada fueron similares a los observados para las células totales de grelina. Los niveles plasmáticos de grelina acilada tendieron a disminuir a los seis meses ($r^2 = -0.134$) y aumentaron a los doce meses ($r^2 = 0.131$). Por otro lado, los niveles plasmáticos totales de grelina tendieron a aumentar a los seis meses y disminuir a los doce meses ($r^2 = -0.119$ y $r^2: 0.034$). No hubo diferencias significativas para las variables estudiadas ($p > 0.005$). La gráfica 21 muestra los hallazgos de la evolución y su relación con la topografía de las células de grelina.

Gráfica 20. Correlación entre los niveles plasmáticos de grelina total y las células gástricas de grelina en pacientes con obesidad mórbida al momento de la intervención quirúrgica. (A) Fundus. (B) Cuerpo. (C) Antro. Los niveles plasmáticos de grelina total fueron obtenidos por ELISA.



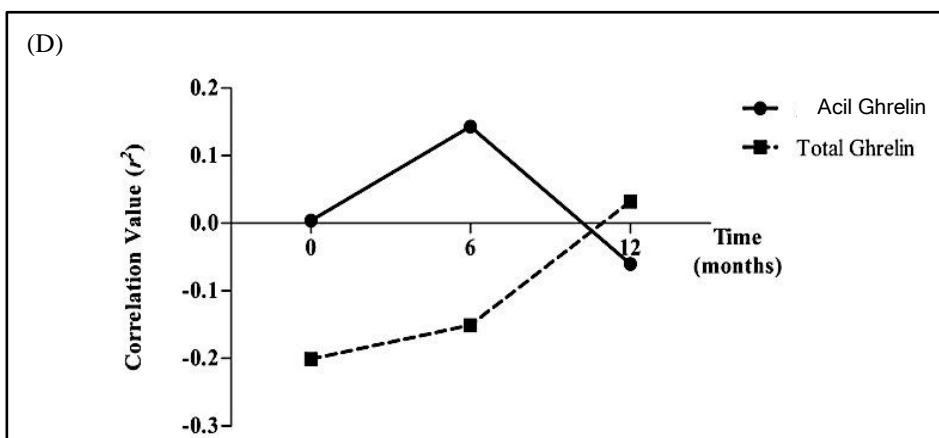
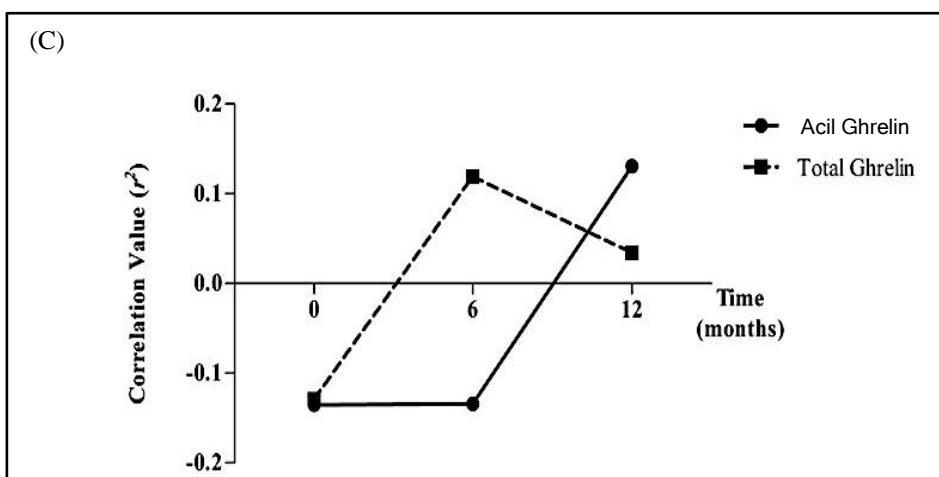
Niveles plasmáticos de
Grelina total (pg/ml)

Gráfica 21. Correlación entre los niveles plasmáticos de grelina y las células gástricas de grelina en pacientes con obesidad mórbida (N=61). (A) Células gástricas totales. (B) Células de grelina del antro. (C) Células de grelina del cuerpo. (D) Células de grelina del fundus. Los niveles plasmáticos de grelina acilada y total fueron obtenidos por ELISA. (0: Intervención quirúrgica).



Gráfica 21. Correlación entre los niveles plasmáticos de grelina y las células gástricas de grelina en pacientes con obesidad mórbida (N=61). Continuación.

Acil Ghrelin



7. DISCUSIÓN

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE GRELINA GÁSTRICA POR INMUNOHISTOQUÍMICA EN PACIENTES CON OBESIDAD MÓRBIDA INTERVENIDAS MEDIANTE GASTRECTOMÍA VERTICAL LAPAROSCÓPICA, Y SU RELACIÓN CON LAS VARIACIONES PLASMÁTICAS DE AMBAS ISOFORMAS DE GRELINA

David Parada Domínguez

7. DISCUSIÓN

Lo que fue una epidemia global de obesidad sea convertido en la actualidad en una pandemia (45,252). En general, el exceso de aumento de peso se produce debido al desequilibrio energético. El consumo excesivo de energía, particularmente de alimentos densos en energía, por ejemplo bebidas endulzadas con azúcar, el aumento del tamaño de las porciones, y la actividad sedentaria se atribuyen a menudo como las principales causas que han llevado a esta pandemia (252). Las tendencias mundiales son, en todo caso, incluso más graves (253). Muestra de estas tendencias, es que, en algunos países, defendidos contra la obesidad y sus secuelas por los hábitos alimentarios tradicionales y los patrones de actividad, especialmente en el Medio Oriente, muestran una rápida conversión a los denominados patrones occidentales, debido al cambio del ambiente y al estilo de vida obesogénico en una población ingenua y no preparada. Los aumentos en la prevalencia de la obesidad en tales circunstancias ocurren a tasas sin precedentes (253). Además, las transiciones culturales en India y China están exponiendo a las zonas demográficas más grandes del mundo a tales influencias (2,16,43,195,253). El alcance global de la epidemia de obesidad es en cierta medida un producto del gran número de personas involucradas. Además, existe la cuestión de la vulnerabilidad genética única tanto a la obesidad como a sus complicaciones metabólicas. Hay poblaciones bien

estudiadas en México, islas del Pacífico e India, que son alarmantemente propensas a la obesidad manifiesta o a los efectos metabólicos de la obesidad, incluso con IMC normal (254).

Es importante resaltar, que, debido al alcance global de la pandemia de la obesidad, la misma puede ser considerada una amenaza importante a la condición humana. La obesidad se ha relacionado con las principales enfermedades crónicas, siendo inclusive considerada un factor causal para el desarrollo de dichas patologías. Como se mencionó anteriormente, las causas de la obesidad son tanto biológicas como sociales y pueden variar considerablemente según el sexo o el género (252). En este sentido, el presente estudio pudo demostrar un predominio para el sexo femenino sobre el masculino, con una relación 3:1 femenino/masculino. Diferentes estudios han documentado resultados similares en cuanto al predominio de la obesidad para el sexo femenino (255–259). Una posible explicación para esta observación puede ser por las diferencias socioeconómicas de los países estudiados. Sin embargo, algunos estudios sugieren que no sólo las diferencias globales en la prevalencia de la obesidad varían según el sexo, sino también que los determinantes sociales de la obesidad varían según el género (253,257–259). En una revisión llevada a cabo por Power y Schulkin (260) se estudió las diferencias sexuales en el almacenamiento y metabolismo del tejido adiposo, y se especuló sobre el origen evolutivo de estas disparidades. Las implicaciones del exceso de peso en la salud también pueden variar según el sexo (261–265). En las mujeres, el factor biológico de la menopausia afecta la distribución de la grasa, la cual puede aumentar el riesgo o exacerbar los efectos negativos de la obesidad sobre la salud (266,267). Sin embargo, a pesar de estas diferencias biológicas relacionadas con las diferencias específicas entre sexos en el aumento de peso excesivo y los factores

socioculturales relacionados están en gran medida ausentes en la de salud pública de la obesidad y, por tanto, de políticas y soluciones potenciales.

Aunado al incremento en la prevalencia mundial de la obesidad, se ha acumulado evidencia de que a la par de este aumento, el riesgo de padecer sus complicaciones patológicas, como por ejemplo resistencia a la insulina, diabetes mellitus tipo 2, dislipidemia, hígado graso e hipertensión, también han aumentado (26,139,153,154,158,163,268–270). El presente estudio incluyó pacientes obesos y se pudo evidenciar que las complicaciones asociadas fueron diabetes mellitus tipo 2 e hipertensión arterial sistémica, lo cual se correlaciona con los datos de diferentes estudios (26,139,153,154,158,163,268–270). Existen diferentes publicaciones que intentan explicar los mecanismos fisiopatológicos subyacentes en la obesidad para explicar cómo se desarrollarán sus complicaciones patológicas. Una de las principales líneas de investigación consiste en entender a la obesidad como un proceso inflamatorio en la cual se liberan una serie de citoquinas, quimiocinas y hormonas a partir del tejido adiposo (26,71,153,268,269,271–276). Algunas de las sustancias encontradas, son por ejemplo la proteína quimiotáctica de monocitos, el factor de necrosis tumoral alfa y varias interleucinas, principalmente seis y ocho, las cuales se han informado que favorecen la resistencia a la insulina (268,274,276). Es interesante señalar que el factor de necrosis tumoral es una citoquina pro-inflamatoria producida por diferentes elementos celulares, siendo su principal fuente los macrófagos y los linfocitos (274). Se ha podido demostrar que este factor podría desempeñar un papel clave en la resistencia a la insulina, a través de la fosforilación del receptor de insulina en la región de la serina (274). El desarrollo de esta alteración causaría alteraciones en la interacción entre el complejo insulina/receptor, impidiendo de esta forma la traducción de señales intracitoplasmáticas (274). Sin embargo, los factores causales que producen el incremento del factor de necrosis tumoral

permanecen desconocidos. Una hipótesis plantea que el incremento en los niveles de factor de necrosis tumoral pudiera estar mediado por la estimulación de los macrófagos que involucran a la leptina u otras adipocinas (269,272,274). Sin embargo, se requieren llevar a cabo nuevas investigaciones para determinar el papel del factor de necrosis tumoral en la obesidad.

Desde el punto de vista de la anatomía patológica, la obesidad representa un reto diagnóstico. Cada vez estamos ante la presencia de que el término obeso no significa exclusivamente mayor tamaño, si no que por el contrario la obesidad es una condición que tiene efectos fisiopatológicos específicos. El tejido adiposo posee un papel endocrino y posee la capacidad de secretar adipocitoquinas que favorecen un estado pro-inflamatorio, el cual tiene implicaciones en el desarrollo de diversas condiciones, incluyendo el cáncer, la aterosclerosis y la trombosis, entre muchas otras. El hallazgo histopatológico más importante en nuestros pacientes fue la presencia de pangastritis. Este resultado también ha sido informado por Safatle-Ribeiro et al. (277) quien usó enteroscopia para examinar el estómago excluido en 40 pacientes después de la cirugía. En este estudio, se diagnosticó un proceso inflamatorio en la mucosa gástrica en el 100% de los casos, atrofia en el 14%, metaplasia intestinal en el 11,4% e infección por *Helicobacter pylori* en el 20%. Otros estudios han demostrado una alta prevalencia de gastritis crónica con valores entre 57.9% y 90% en pacientes con procesos gástricos inflamatorios (278–281). La causa de este hallazgo aún se desconoce y no siempre está relacionada con otros factores, como la infección por *Helicobacter pylori*. Algunos estudios han demostrado resultados similares en cuanto a la presencia de gastritis en pacientes con obesidad. Además de las alteraciones en la mucosa gástrica producto de la inflamación, la acumulación de moléculas relacionadas con este proceso, tales como interleucinas y quimiocinas en la mucosa se ha correlacionado con diferentes efectos

adicionales, como por ejemplo la influencia en la severidad del hígado graso, así como el grado de inflamación parenquimatosa hepática y de fibrosis (282). Sin embargo, el impacto de la obesidad en la enfermedad gástrica inflamatoria es difícil de cuantificar, ya que puede estar relacionado con el sexo, factores étnicos e inclusive tratamientos médicos recibidos en estos casos y que sin duda pudieran influir en la aparición y mantenimiento de la gastritis. Otros factores menos estudiados pudieran ser los relacionados con los patrones de acumulación adiposa en vez del índice de masa corporal y el desarrollo de diferentes afecciones gástricas.

Otro aspecto evaluado en el trabajo fue determinar la presencia de *Helicobacter pylori* tanto en las biopsias pre-quirúrgicas como en el estudio post-quirúrgico. Como se ha descrito, esta bacteria es gram negativa, microaerofílica, con forma de espiral y posee entre dos a seis flagelos, los cuales le proporcionan movilidad y posee la capacidad de colonizar la mucosa gástrica (283–285). El principal reservorio de la infección por *Helicobacter pylori* parece ser el estómago humano, en particular la región del antro (283–285). Una de sus características bioquímicas la constituye una enzima ureasa que tiene la capacidad de producir urea, la cual permite al microorganismo subsistir en el medio ácido gástrico, debido a la creación de un medio ambiente alcalino (283–286). Una vez que este microorganismo coloniza la mucosa gástrica, pudiera persistir durante toda la vida del huésped y puede desarrollar gastritis crónica, gastritis atrófica, úlcera péptica, e inclusive se ha relacionado como factor cancerígeno en el cáncer gástrico (283–286). Desde su aislamiento por Warren y Marshall en 1982, muchos han sido los estudios sobre efectos fisiopatológicos, respuesta al tratamiento, resistencia, re-infección, etc. (283–286). Sin embargo, la prevalencia global y regional de *Helicobacter pylori*, no ha sido sistemáticamente informada. En un reciente estudio basado en la recolección de datos poblacionales de diferentes países, mostró datos interesantes (287).

Dentro de los países con mayor prevalencia de *Helicobacter pylori* tenemos Nigeria, Portugal, Estonia, entre otros, con porcentajes de 87.7%, 86.4%, 82.5%, respectivamente (287). Por el contrario los países con la menor prevalencia para el microorganismo fueron Suiza, Dinamarca, Nueva Zelandia, con valores de 18.9%, 22.1%, 24%, respectivamente (287). Un dato relevante del estudio fue que dentro un mismo país se pueden observar diferencias significativas poblacionales. Así, por ejemplo, la prevalencia global en Australia fue de 24.6%, pero dentro de la población indígena del oeste australiano la prevalencia fue de 76%. Similares variaciones se observaron en los Estados Unidos, donde la prevalencia global fue de 35.6%, pero en la población indígena de Alaska alcanzó un 74.8%. Estas variaciones pudieran reflejar diferencias socioeconómicas o de higiene (287). En la región europea la prevalencia global se estima alrededor de 47% (287). Si se divide a la zona de Europa, de acuerdo a las regiones de las naciones unidas, se pueden observar diferencias significativas entre estas regiones. Así pues, la región de Europa del este es la que presenta la mayor prevalencia con 62.8%, seguido por las regiones del sur con 55%, del norte con 41.6% y finalmente la región del oeste con 34.3% de prevalencia (287). En España, la prevalencia descrita fue de 54.9% (287).

En los pacientes con obesidad la prevalencia de *Helicobacter pylori* no ha sido estudiada de manera global, la mayoría de los estudios son series de pacientes a los cuales se les realiza estudio de determinación de este microorganismo por diferentes métodos y se valora el impacto de su presencia en la cirugía bariátrica (288–292). Sin embargo, dentro de estos grupos de estudio la prevalencia de *Helicobacter pylori* es muy variable con valores que oscilan entre el 3.7% al 65% (288–292). En nuestra muestra, a todos los pacientes se le realizó estudio gastroscópico con obtención de biopsia gástrica y se pudo demostrar que en aproximadamente un 20% de los pacientes presentaron *Helicobacter pylori*. Sin embargo, el motivo para explicar estas diferencias en la incidencia de

Helicobacter pylori permanece desconocido. Es necesario desarrollar estudios sobre la incidencia y la prevalencia del *Helicobacter pylori* en la población obesa y comparar estos resultados con los obtenidos a nivel global, para entender el papel de esta bacteria dentro del contexto del paciente obeso.

La grelina es una hormona gástrica pleiotrópica. Dentro de las múltiples acciones que posee, además de ser un potente factor de liberación de la hormona del crecimiento, se han descrito su efecto lactotrópico, corticotropo, sobre el eje pituitario-gonadal, estimulación del apetito, control en el balance energético, influencia sobre el sueño y la conducta, regulación de la motilidad gástrica y la secreción de ácido, posee influencia en el páncreas exocrino y endocrino, así como en el metabolismo de la glucosa (66). Sin embargo, para alcanzar los conocimientos que poseemos en la actualidad, es importante señalar tres puntos clave en la evolución del conocimiento de la grelina, los cuales se llevaron a cabo entre 1976 y 1999. El primero fue el desarrollo de péptidos liberadores de la hormona del crecimiento, no naturales; el segundo elemento fue el conocimiento de los receptores que interactúan con los péptidos y finalmente, el aislamiento y la síntesis de la grelina. Las sustancias que poseen la capacidad de estimular la secreción de hormona del crecimiento a partir de la pituitaria, se denominan secretagogos (66,99,104,107,293,294). La primera sustancia descrita con esta capacidad fue informada por Bowers (67,120), y fue un análogo de la MET-enkefalina, la cual poseía una débil actividad en la capacidad de liberación de la hormona del crecimiento. La capacidad de los secretagogos para producir liberación de la hormona, depende de su interacción con receptores específicos G-protéicos dobles, denominados receptor de secretagogos de la hormona del crecimiento, los cuales son distintos de los receptores liberadores de hormona del crecimiento. Desde su descripción, los receptores de secretagogos fueron incluidos dentro una superfamilia, que incluye siete receptores

transmembrana. Es interesante resaltar que gracias a métodos como la farmacología inversa se pudo demostrar la existencia de la grelina. El proceso de farmacología inversa consiste en identificar primero el receptor, luego comprender su estructura y cómo es capaz de activarse por la interacción hormonal, para finalmente demostrar el efecto hormonal del sistema. Este método contrasta con los métodos clásicos en los cuales el descubrimiento de una hormona conllevaba a la determinación de su receptor (64,97,102,105,280,281).

La purificación de la grelina se llevó a cabo a partir de tejidos frescos gástricos de ratas (96,109,295). La grelina obtenida está constituida por un péptido de 28 aminoácidos (96,109,295). Una de las características de la grelina es que se puede encontrar en dos formas, la acilada y la desacilada (96,109,295). La primera de ellas es la que posee la capacidad de unirse al receptor secretagogo y producir la liberación de hormona del crecimiento (96,109,295). Sin embargo, la forma desacilada también posee actividades fisiológicas como son sobre la muerte celular, la conducta alimenticia, la energía y la homeostasis de la glucosa (96,109,295). El mecanismo de cómo actúa esta forma permanece desconocido. En los roedores las células productoras de grelina se localizan en diferentes regiones del aparato gastrointestinal, con una mayor densidad en la región fúndica de la mucosa gástrica (96,109,295). En los humanos se ha demostrado que la mayor cantidad de células productoras de grelina se localizan en la región gástrica (96,109,115,295) y son conocidas como células P/D1. Varios estudios han cuantificado la presencia de estas células utilizando diferentes metodologías como inmunofluorescencia, inmunohistoquímica e inclusive por biología molecular (96,109,115,295).

En el presente estudio hemos mapeado y analizado las células de grelina y su distribución en la mucosa de las regiones gástricas de gastrectomías verticales

laparoscópicas resecadas de pacientes con obesidad mórbida. Nuestros resultados muestran un patrón predominantemente irregular de células de grelina en la mucosa gástrica. Los estudios previos (296–301) se basan exclusivamente en la presencia y cuantificación de células de grelina, y no consideran su distribución dentro de la mucosa gástrica. Desde el punto de vista morfológico, creemos que es importante considerar la distribución porque puede verse afectada por condiciones patológicas (por ejemplo, infección por *Helicobacter pylori*, metaplasia intestinal, etc.).

Otro hallazgo de este estudio fue que las células de grelina estaban presentes en todas las regiones de la mucosa gástrica, con el mayor número en el cuerpo y el fondo. Hallazgos similares han sido demostrados por Goitein et al. (302). En su estudio, se analizaron un total de veinte muestras de estómago resecado mediante la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real del ARNm de grelina y por inmunotinción. En ese estudio se demostró que la grelina se expresa en tres regiones gástricas. Nuestros resultados confirmaron que no hubo diferencias significativas entre el cuerpo y el fondo. El cuerpo y el fondo parecen ser las principales regiones con células de grelina en el estómago de pacientes con obesidad mórbida (297,302). Nuestro estudio también mostró células de grelina en el antro. La presencia de células de grelina en esta región es un tema interesante y se requieren más estudios para comprender el papel del antro en la obesidad.

También encontramos una relación entre las células de grelina y las pacientes femeninas. Pocos informes previos han mostrado resultados similares (303,304). El mecanismo para este hallazgo aún se desconoce. Una posible explicación para la relación entre las células de grelina y las mujeres podría ser que la velocidad de maduración celular es diferente y las hormonas sexuales, especialmente los estrógenos, pueden modificar la secreción de grelina gástrica. Algunos estudios han demostrado resultados similares en cuanto a la presencia de gastritis en pacientes con obesidad (305,306). Otro hallazgo

importante de este estudio fue una correlación significativa entre la densidad de células de grelina y la hipertensión arterial sistémica, tanto en células de grelina total como en la región antral. Hasta donde sabemos, este hallazgo no se ha informado anteriormente. Un gran estudio de pacientes hipertensas de mediana edad mostró una asociación negativa entre la grelina plasmática y la presión arterial, lo que sugiere que la grelina podría desempeñar un papel en la regulación de la presión arterial (158,162,307–310). En nuestros pacientes hipertensos había significativamente menos células de grelina que en pacientes no hipertensos. Esto puede explicar en parte el papel de las células productoras de grelina en la obesidad y su asociación con sus complicaciones tales como la hipertensión arterial sistémica.

Otro de los aspectos relevantes del trabajo fue el análisis de los valores plasmáticos de grelina en nuestro grupo de estudio y su evolución post-quirúrgica. En los 61 pacientes con obesidad mórbida, encontramos niveles significativamente altos de grelina acilada en comparación con el grupo de control. Por el contrario, los valores plasmáticos de grelina total fueron significativamente menores en los pacientes con obesidad mórbida. La literatura se ha centrado principalmente en los niveles plasmáticos de grelina globales, tanto de la grelina acilada como la desacilada y la total (66,92,104,294,311,312). Sin embargo, hay dos formas de grelina: desacil grelina y la acil grelina. Esta última se produce a partir de la desacil grelina a través de un proceso único en el que la grelina O-acil-transferasa intracitoplásmica (GOAT) acila su residuo de serina 3 (66,67,104,133,246). Diversos estudios han demostrado que la grelina acilada puede aumentar el consumo de alimentos y así es como se cree que la grelina juega un papel en la patogénesis de la obesidad (67,119). Por otro lado, la grelina desacilada, a cual forma parte de la grelina plasmática total, tiene diferentes funciones: por ejemplo, promueve la diferenciación de las células del músculo esquelético, previene la atrofia

muscular y ejerce un efecto cardioprotector sobre las células endoteliales y los cardiomiocitos (67,117). Nuestros resultados se correlacionan con los publicados anteriormente, en los que los valores totales de grelina en pacientes con obesidad mórbida son más bajos que los del grupo de control (67,92,244,313,314).

Otro tema de fundamental interés estudiado en pacientes con obesidad mórbida es intentar conocer si la cirugía bariátrica puede reducir los niveles plasmáticos de ciertas sustancias involucradas en el desarrollo de la obesidad como, por ejemplo, la grelina. En el presente estudio, los pacientes se sometieron a GVL, y pudimos demostrar una disminución significativa y sostenida en los valores de la grelina acilada durante doce meses después de la cirugía. Los valores totales de grelina también mostraron una disminución significativa seis meses después de la cirugía. Sin embargo, después de seis meses, los valores plasmáticos no mostraron una disminución significativa en la cantidad total de grelina. Los principales problemas para intentar comparar diferentes estudios son la variabilidad de los datos evaluados en cada estudio, los diferentes métodos para determinar la grelina y el tiempo de recolección en relación con las comidas, etc. A pesar de lo que se ha señalado en este trabajo, los análisis sistemáticos de la bibliografía muestra que la cirugía reduce considerablemente los niveles circulantes de grelina (223,225,232,315–319). Diversos estudios han demostrado que la principal fuente de grelina es la mucosa gástrica. En este estudio se ha demostrado que los valores totales de grelina no presentan diferencias significativas con respecto a las células de grelina gástrica. Sin embargo, los niveles plasmáticos de grelina acilada evidenciaron diferencias significativas. Además, la topografía gástrica de las células de grelina mostró diferencias entre los niveles plasmáticos de grelina total y las células del antro, aunque estas diferencias no pudieron ser corroboradas en el cuerpo y el fondo. Estas variaciones en la cantidad y la topografía gástrica de las células de grelina pudieran sugerir que hay dos

poblaciones de células gástricas productoras de grelina. Esto ha sido respaldado por estudios en roedores, que indican la existencia de dos poblaciones celulares las cuales tienen la capacidad de producir diferentes tipos de grelina (320,321). Otro aspecto interesante revelado en este estudio es que los valores de grelina acilada son más bajos que los valores de grelina desacilada, cuya suma es la grelina total. Sin embargo, existe cierta controversia en torno a estas diferencias en las diferentes formas plasmáticas de grelina. El uso de espectrometría de masas para el análisis de grelina en plasma parece indicar que todos los valores plasmáticos de la grelina corresponden a la forma acilada, y que la forma desacilada de grelina aparece como consecuencia de un artefacto después de que las muestras han sido manipuladas (322).

Es indudable que los datos del presente estudio proporcionan conocimientos sobre la distribución de las células de grelina en la mucosa gástrica de los pacientes con obesidad mórbida. La evidencia de que el antro muestra expresión considerable de estas células puede influenciar en la planificación de cirugías que incluyan esta región de manera rutinaria, para intentar controlar los efectos fisiológicos de esta región, en conjunto con el cuerpo. Así mismo, los pacientes evaluados muestran un estado inflamatorio gástrico elevado y deben realizarse estudios adicionales para entender este evento patológico y las implicaciones en el paciente obeso.

8. CONCLUSIONES

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE GRELINA GÁSTRICA POR INMUNOHISTOQUÍMICA EN PACIENTES CON OBESIDAD MÓRBIDA INTERVENIDAS MEDIANTE GASTRECTOMÍA VERTICAL LAPAROSCÓPICA, Y SU RELACIÓN CON LAS VARIACIONES PLASMÁTICAS DE AMBAS ISOFORMAS DE GRELINA

David Parada Domínguez

8. CONCLUSIONES

1) La mucosa gástrica de los pacientes con obesidad mórbida, posee células con expresión inmunohistoquímica para la grelina. Topográficamente, el cuerpo y el fundus muestran una proporción similar de estas células. El antro es una región que tiene presencia de estas células, en una magnitud importante.

2) La GVL tiene un efecto significativo sobre los niveles de grelina acilada y total, con una reducción de los niveles plasmáticos y el mantenimiento de estos después de la cirugía. Esta reducción está en relación con el hecho de que las células productoras de grelina gástrica del antro, cuerpo y fundus, disminuyen después de la cirugía.

3) La reducción primaria en los niveles plasmáticos de grelina acilada mostrada en nuestro estudio proporciona detalles sobre la topografía gástrica de las células de grelina en cuanto a su disminución posterior a la cirugía.

4) En los pacientes con obesidad mórbida e hipertensión arterial existe un mecanismo adaptativo o un factor individual en la patogenia de la hipertensión arterial inducida por la obesidad, en donde las células de grelina están implicadas.

5) En nuestro grupo de estudio la obesidad mórbida afecta más a mujeres que a hombre. El estudio histopatológico evidenció gastritis crónica con afectación de todas las zonas estudiadas (pangastritis).

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE GRELINA GÁSTRICA POR INMUNOHISTOQUÍMICA EN PACIENTES CON OBESIDAD MÓRBIDA INTERVENIDAS MEDIANTE GASTRECTOMÍA VERTICAL LAPAROSCÓPICA, Y SU RELACIÓN CON LAS VARIACIONES PLASMÁTICAS DE AMBAS ISOFORMAS DE GRELINA

David Parada Domínguez

9. ÍNDICE DE TABLAS

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE GRELINA GÁSTRICA POR INMUNOHISTOQUÍMICA EN PACIENTES CON OBESIDAD MÓRBIDA INTERVENIDAS MEDIANTE GASTRECTOMÍA VERTICAL LAPAROSCÓPICA, Y SU RELACIÓN CON LAS VARIACIONES PLASMÁTICAS DE AMBAS ISOFORMAS DE GRELINA

David Parada Domínguez

9. ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características clínicas de los pacientes con obesidad mórbida (N=61).

Tabla 2. Hallazgos histopatológicos. Topografía de la gastritis en pacientes con obesidad mórbida (N=54).

Tabla 3. Relación entre hallazgo histopatológico y características clínicas en pacientes con obesidad mórbida (N=61).

Tabla 4. Correlación entre los hallazgos clínicos y el número total de células gástricas de grelina en pacientes con obesidad mórbida (N=61).

Tabla 5. Hallazgos en relación a la topografía gástrica de las células de grelina y el género en pacientes con obesidad mórbida (N=61).

Tabla 6. Hallazgos en relación a la presencia de diabetes y la topografía gástrica de las células de grelina en pacientes con obesidad mórbida (N=61).

Tabla 7. Hallazgos en relación con la presencia de hipertensión arterial sistémica y la topografía gástrica de las células de grelina en pacientes con obesidad mórbida (N=61).

Tabla 8. Hallazgos en relación a la presencia de gastritis y la topografía gástrica de las células de grelina en pacientes con obesidad mórbida (N=61).

Tabla 9. Hallazgos en relación a género, la presencia de gastritis y la topografía gástrica de las células de grelina en pacientes con obesidad mórbida (N=61).

Tabla 10. Hallazgos en relación a diabetes mellitus, la presencia de gastritis y la topografía gástrica de las células de grelina en pacientes con obesidad mórbida (N=61).

Tabla 11. Hallazgos en relación a hipertensión arterial sistémica, la presencia de gastritis y la topografía gástrica de las células de grelina en pacientes con obesidad mórbida (N=61).

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE GRELINA GÁSTRICA POR INMUNOHISTOQUÍMICA EN PACIENTES CON OBESIDAD MÓRBIDA INTERVENIDAS MEDIANTE GASTRECTOMÍA VERTICAL LAPAROSCÓPICA, Y SU RELACIÓN CON LAS VARIACIONES PLASMÁTICAS DE AMBAS ISOFORMAS DE GRELINA

David Parada Domínguez

10. ÍNDICE DE FIGURAS Y GRÁFICAS

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE GRELINA GÁSTRICA POR INMUNOHISTOQUÍMICA EN PACIENTES CON OBESIDAD MÓRBIDA INTERVENIDAS MEDIANTE GASTRECTOMÍA VERTICAL LAPAROSCÓPICA, Y SU RELACIÓN CON LAS VARIACIONES PLASMÁTICAS DE AMBAS ISOFORMAS DE GRELINA

David Parada Domínguez

10. ÍNDICE DE FIGURAS Y GRÁFICAS

Figura 1. Tendencia del IMC por edad y sexo a nivel mundial. (1) Masculino; (2) Femenino. (Wirén S, et al. 2014 (24)).

Figura 2. Prevalencia de sobrepeso y obesidad en 16 países europeos (Gallus S, et al. 2015 (30)).

Figura 3. Prevalencia de sobrepeso y obesidad por sexo en 16 países europeos (Gallus S, et al. 2015 (30)).

Figura 4. Variación regional de la prevalencia de obesidad general y obesidad abdominal ajustada por edad en España (Gutiérrez-Fisac J, et al. 2015 (33)).

Figura 5. Representación esquemática entre la relación de factores ambientales, epigenéticos y obesidad (Singh R, et al. 2017 (59)).

Figura 6. Aspectos genéticos de la obesidad (Singh R, et al. 2017 (59)).

Figura 7. Balance energético. Variaciones entre ingesta y gasto de energía (Singh R, et al. 2017 (59)).

Figura 8. Vías de señalización de melancortina. (A) Asociada a Leptina. (B) Asociada a GPCR. (Singh R, et al. 2017 (59)).

Figura 9. Esquema del control post-traslacional de la grelina. (Müller T, et al 2015 (67)).

Figura 10. Resumen de las propiedades fisiológicas de la grelina. (Müller T, et al 2015 (67)).

Figura 11. Resumen de las complicaciones de la obesidad y sus mecanismos fisiopatológicos. (Bray G, et al 2018 (180)).

Figura 12. Representación esquemática de diferentes mecanismos farmacológicos utilizados en el tratamiento de la obesidad. (Bray G, et al 2018 (180)).

Figura 13. Evolución histórica de los procedimientos quirúrgicos en cirugía bariátrica (Arterburn D, et al 2014 (200)).

Figura 14. Representación esquemática de los diferentes procedimientos quirúrgicos utilizados en cirugía bariátrica. (A) Gastroplastia horizontal; (B) Gastroplastia vertical en banda; (C) Derivación gástrica en Y de Roux; (D) Derivación gástrica en Y de Roux seccionada; (E) Banda gástrica laparoscópica ajustable; (F) Derivación biliopancreática; (G) Derivación bilio-pancreática con cambio duodenal; (H) Gastrectomía vertical en banda (Arterburn D, et al 2014 (200)).

Figura 15. Metaplasia intestinal gástrica completa e incompleta. Se observa la presencia de células caliciformes (A,B) con citoplasma anfofílico, así como células con granulaciones intracitoplasmáticas densas, células de Paneth (C,D). (HE aumento directo 10X a 40X).

Figura 16. Células de grelina gástricas (A-F). Diferentes patrones de expresión de acuerdo a su localización en la mucosa gástrica (A,B). Se observa la presencia de células aisladas (C, F) i en grupos (D,E). Dichos hallazgos fueron independientes de la topografía. (DAB aumento directo 10X a 60X).

Figura 17. Estudio inmunohistoquímico para las células gástricas con positividad para la grelina (A-D). Diferentes patrones de distribución mucosa observados. A. Patrón irregular. B,C. Patrón de predominio a dos tercios de la mucosa. D. Patrón con predominio a dos tercios de la mucosa. (DAB aumento directo 10X).

Figura 18. Metaplasia intestinal gástrica y células de grelina. Estudio inmunohistoquímico para la grelina donde se observa la ausencia de células positivas en los cambios de metaplasia. (DAB aumento directo 20X).

Gráfica 1. Hallazgos histopatológicos de las piezas quirúrgicas de gastrectomía en pacientes con obesidad mórbida (N=61).

Gráfica 2. Hallazgos histopatológicos de acuerdo con la localización gástrica y severidad de la gastritis en pacientes con obesidad mórbida (N=61).

Gráfica 3. Hallazgos de acuerdo a la distribución en la mucosa gástrica de las células de grelina en pacientes con obesidad mórbida (N=61).

Gráfica 4. Células de grelina en relación a la topografía gástrica en pacientes con obesidad mórbida (N=61).

Gráfica 5. Hallazgos de acuerdo a la topografía gástrica de las células de grelina y al género en pacientes con obesidad mórbida (N=61).

Gráfica 6. Hallazgos de acuerdo a la diabetes, topografía gástrica y células de grelina en pacientes con obesidad mórbida (N=61).

Gráfica 7. Hallazgos de acuerdo a la hipertensión arterial, topografía gástrica y células de grelina en pacientes con obesidad mórbida (N=61).

Gráfica 8. Hallazgos de acuerdo a la topografía gástrica, células de grelina y gastritis en pacientes con obesidad mórbida (N=54).

Gráfica 9. Hallazgos en pacientes masculinos, sin gastritis y la topografía gástrica de las células de grelina en pacientes con obesidad mórbida (N=3).

Gráfica 10. Hallazgos en pacientes femeninos, sin gastritis y la topografía gástrica de las células de grelina en pacientes con obesidad mórbida (N=4).

Gráfica 11. Hallazgos en pacientes masculinos, con gastritis y la topografía gástrica de las células de grelina en pacientes con obesidad mórbida (N=13).

Gráfica 12. Hallazgos en pacientes femeninos, con gastritis y la topografía gástrica de las células de grelina en pacientes con obesidad mórbida (N=41).

Gráfica 13. Hallazgos de acuerdo a la topografía gástrica de las células de grelina, diabetes mellitus y gastritis en pacientes con obesidad mórbida (N=61).

Gráfica 14. Hallazgos de acuerdo a la topografía gástrica de las células de grelina, hipertensión arterial sistémica y gastritis en pacientes con obesidad mórbida (N=61).

Gráfica 15. Hallazgos de acuerdo a la topografía gástrica de las células de grelina, y *Helicobacter pylori* previa a la intervención quirúrgica gastritis en pacientes con obesidad mórbida (N=61).

Gráfica 16. Hallazgos de acuerdo a la topografía gástrica de las células de grelina, y metaplasia intestinal (N=5).

Gráfica 17. Valores plasmáticos de grelina acilada (A) y total (B) en el grupo control (N=30) y en los pacientes con obesidad mórbida al momento de la intervención quirúrgica (N=61). Los niveles de grelina acilada y total fueron medidos por ELISA. (*: diferencia significativa ($p < 0.005$)).

Gráfica 18. Niveles plasmáticos de grelina acilada en pacientes con obesidad mórbida (N=61). Los niveles de grelina acilada fueron obtenidos por ELISA. (SI: Intervención quirúrgica; 6M: Seis Meses; 12M: Doce Meses).

Gráfica 19. Niveles plasmáticos de grelina total en pacientes con obesidad mórbida (N=61). Los niveles de grelina total fueron obtenidos por ELISA. (SI: Intervención quirúrgica; 6M: Seis Meses; 12M: Doce Meses).

Gráfica 20. Correlación entre los niveles plasmáticos de grelina total y las células gástricas de grelina en pacientes con obesidad mórbida al momento de la intervención quirúrgica. (A) Fundus. (B) Cuerpo. (C) Antro. Los niveles plasmáticos de grelina total fueron obtenidos por ELISA.

Gráfica 21. Correlación entre los niveles plasmáticos de grelina y las células gástricas de grelina en pacientes con obesidad mórbida (N=61). (A) Células gástricas totales. (B) Células de grelina del antro. (C) Células de grelina del cuerpo. (D) Células de grelina del fundus. Los niveles plasmáticos de grelina acilada y total fueron obtenidos por ELISA. (0: Intervención quirúrgica).

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE GRELINA GÁSTRICA POR INMUNOHISTOQUÍMICA EN PACIENTES CON OBESIDAD MÓRBIDA INTERVENIDAS MEDIANTE GASTRECTOMÍA VERTICAL LAPAROSCÓPICA, Y SU RELACIÓN CON LAS VARIACIONES PLASMÁTICAS DE AMBAS ISOFORMAS DE GRELINA

David Parada Domínguez

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Finucane MM, Stevens GA, Cowan MJ, Danaei G, Lin JK, Paciorek CJ, et al. National, regional, and global trends in body-mass index since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960 country-years and 9·1 million participants. *Lancet*. 2011 Feb 12;377(9765):557–67.
2. Arroyo-Johnson C, Mincey KD. Obesity Epidemiology Worldwide. Vol. 45, *Gastroenterology Clinics of North America*. 2016. p. 571–9.
3. Christopoulou-Aletra H, Papavramidou N. Methods Used by the Hippocratic Physicians for Weight Reduction. *World J Surg*. 2004 May 1;28(5):513–7.
4. Schwartz H. *Never Satisfied: A Cultural History of Diets, Fantasies, and Fat*. 1986th ed. USA: The Free Press, New York, NY; 1986.
5. Bray GA. Life Insurance and Overweight. *Obes Res*. 1995 Jan;3(1):97–9.
6. Medico-actuarial mortality investigation. The Association of Life Insurance Medical Directors and the Actuarial Society of America. 1913. *Obes Res*. 1995 Jan;3(1):100–6.
7. Komaroff M. For Researchers on Obesity: Historical Review of Extra Body Weight Definitions. *J Obes*. 2016;2016:1–9.
8. WHO. Obesity and Overweight. *Glob Strateg Diet, Phys Act Heal*. 2003;(September 2006):1–2.
9. WHO | Obesity. WHO. 2015.
10. WHO | Obesity and overweight. WHO. 2016.
11. WHO : Global Database on Body Mass Index. [Internet]. [cited 2017 Mar 17]. Available from: http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html

12. Barbany M, Foz M. Obesidad: Concepto, Clasificación y Diagnóstico. *An Sist Sanit Navarra*. 2002;1(Supl. 1):7–16.
13. Buchwald H, Consensus Conference Panel. Consensus conference statement bariatric surgery for morbid obesity: health implications for patients, health professionals, and third-party payers. *Surg Obes Relat Dis*. 2005;1(3):371–81.
14. Swinburn BA, Sacks G, Hall KD, McPherson K, Finegood DT, Moodie ML, et al. The global obesity pandemic: Shaped by global drivers and local environments. *Lancet*. 2011 Aug 27;378(9793):804–14.
15. Ng M, Fleming T, Robinson M, Thomson B, Graetz N, Margono C, et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980-2013: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet*. 2014;384(9945):766–81.
16. Stevens GA, Singh GM, Lu Y, Danaei G, Lin JK, Finucane MM, et al. National, regional, and global trends in adult overweight and obesity prevalences. *Popul Health Metr*. 2012 Dec 20;10(1):22.
17. de Onis M, Blossner M, Borghi E. Global prevalence and trends of overweight and obesity among preschool children. *Am J Clin Nutr*. 2010 Nov 1;92(5):1257–64.
18. Wang Y, Beydoun MA. The Obesity Epidemic in the United States Gender, Age, Socioeconomic, Racial/Ethnic, and Geographic Characteristics: A Systematic Review and Meta-Regression Analysis. *Epidemiol Rev*. 2007 May 2;29(1):6–28.
19. Rennie KL, Jebb SA. Prevalence of obesity in Great Britain. *Obes Rev*. 2005 Feb;6(1):11–2.
20. Roth J, Qiang X, Marbán SL, Redelt H, Lowell BC. The obesity pandemic: where have we been and where are we going?. *Obes Res*. 2004 Nov;12 Suppl 2(S11):88S–101S.

21. Popkin BM, Adair LS, Ng SW. Global nutrition transition and the pandemic of obesity in developing countries. *Nutr Rev.* 2012 Jan;70(1):3–21.
22. Lobstein T, Baur L, Uauy R, IASO International Obesity TaskForce. Obesity in children and young people: a crisis in public health. *Obes Rev.* 2004 May;5 Suppl 1(s1):4–104.
23. Lim SS, Vos T, Flaxman AD, Danaei G, Shibuya K, Adair-Rohani H, et al. A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990–2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet.* 2012 Dec 15;380(9859):2224–60.
24. Abarca-Gómez L, Abdeen ZA, Hamid ZA, Abu-Rmeileh NM, Acosta-Cazares B, Acuin C, et al. Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128·9 million children, adolescents, and adults. *Lancet.* 2017 Dec;390(10113):2627–42.
25. Olshansky SJ, Passaro DJ, Hershow RC, Layden J, Carnes BA, Brody J, et al. A Potential Decline in Life Expectancy in the United States in the 21st Century. *N Engl J Med.* 2005 Mar 17;352(11):1138–45.
26. Lam DW, LeRoith D. Metabolic Syndrome. *Endotext.* 2000.
27. Vucenik I, Stains JP. Obesity and cancer risk: Evidence, mechanisms, and recommendations. *Ann N Y Acad Sci.* 2012 Oct;1271(1):37–43.
28. Wirén S, Häggström C, Ulmer H, Manjer J, Bjørge T, Nagel G, et al. Pooled cohort study on height and risk of cancer and cancer death. *Cancer Causes Control.* 2014 Feb;25(2):151–9.
29. Park Y-MM, White AJ, Nichols HB, O'Brien KM, Weinberg CR, Sandler DP. The

- association between metabolic health, obesity phenotype and the risk of breast cancer. *Int J Cancer*. 2017 Mar;140(12):2657–66.
30. Gallus S, Lugo A, Murisic B, Bosetti C, Boffetta P, La Vecchia C. Overweight and obesity in 16 European countries. *Eur J Nutr*. 2015 Aug 5;54(5):679–89.
 31. Marques A, Peralta M, Naia A, Loureiro N, de Matos MG. Prevalence of adult overweight and obesity in 20 European countries, 2014. *Eur J Public Health*. 2017 Sep 23;11:E116.
 32. Abarca-Gómez L, Abdeen ZA, Hamid ZA, Abu-Rmeileh NM, Acosta-Cazares B, Acuin C, et al. Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128.9 million children, adolescents, and adults. *Lancet*. 2017;390(10113):2627–42.
 33. Gutiérrez-Fisac JL, Guallar-Castillón P, León-Muñoz LM, Graciani A, Banegas JR, Rodríguez-Artalejo F. Prevalence of general and abdominal obesity in the adult population of Spain, 2008-2010: the ENRICA study. *Obes Rev*. 2012 Apr;13(4):388–92.
 34. Grau M, Elosua R, Cabrera de León A, Guembe MJ, Baena-Díez JM, Vega Alonso T, et al. Factores de riesgo cardiovascular en España en la primera década del siglo XXI: análisis agrupado con datos individuales de 11 estudios de base poblacional, estudio DARIOS. *Rev Española Cardiol*. 2011 Apr;64(4):295–304.
 35. Sobrepès i obesitat - Entorn Urbà i Salut - Diputació de Barcelona [Internet]. [cited 2018 Mar 11]. Available from: <https://www.diba.cat/es/web/entorn-urba-i-salut/sobrepes-i-obesitat>
 36. Neel J V. Diabetes mellitus: a thrifty genotype rendered detrimental by progress?. *Am J Hum Genet*. 1962 Dec;14:353–62.

37. Stunkard AJ, Sørensen TI, Hanis C, Teasdale TW, Chakraborty R, Schull WJ, et al. An adoption study of human obesity. *N Engl J Med*. 1986 Jan 23;314(4):193–8.
38. Sørensen TI, Price RA, Stunkard AJ, Schulsinger F. Genetics of obesity in adult adoptees and their biological siblings. *BMJ*. 1989 Jan 14;298(6666):87–90.
39. Newman B, Selby J V, King MC, Slemenda C, Fabsitz R, Friedman GD. Concordance for type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus in male twins. *Diabetologia*. 1987 Oct;30(10):763–8.
40. Poulsen P, Kyvik KO, Vaag A, Beck-Nielsen H. Heritability of type II (non-insulin-dependent) diabetes mellitus and abnormal glucose tolerance—a population-based twin study. *Diabetologia*. 1999 Feb;42(2):139–45.
41. Razquin C, Marti A, Martinez JA. Evidences on three relevant obesogenes: MC4R, FTO and PPAR γ . Approaches for personalized nutrition. *Mol Nutr Food Res*. 2011 Jan;55(1):136–49.
42. Loos RJF. Recent progress in the genetics of common obesity. *Br J Clin Pharmacol*. 2009 Dec;68(6):811–29.
43. Speakman JR. Evolutionary perspectives on the obesity epidemic: adaptive, maladaptive, and neutral viewpoints. *Annu Rev Nutr*. 2013 Jul 17;33(1):289–317.
44. Speakman JR. Thrifty genes for obesity, an attractive but flawed idea, and an alternative perspective: the “drifty gene” hypothesis. *Int J Obes (Lond)*. 2008 Nov 14;32(11):1611–7.
45. Caballero B. The global epidemic of obesity: an overview. *Epidemiol Rev*. 2007 May 2;29(1):1–5.
46. Diamond J. The double puzzle of diabetes. *Nature*. 2003 Jun 5;423(6940):599–602.

47. Flegal KM, Carroll MD, Kit BK, Ogden CL. Prevalence of Obesity and Trends in the Distribution of Body Mass Index Among US Adults, 1999-2010. *JAMA*. 2012 Feb 1;307(5):491–7.
48. Prentice AM, Hennig BJ, Fulford AJ. Evolutionary origins of the obesity epidemic: natural selection of thrifty genes or genetic drift following predation release?. *Int J Obes*. 2008 Nov 14;32(11):1607–10.
49. Prentice AM. Early influences on human energy regulation: thrifty genotypes and thrifty phenotypes. *Physiol Behav*. 2005 Dec 15;86(5):640–5.
50. Hales CN, Barker DJ. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Diabetologia*. 1992 Jul;35(7):595–601.
51. Hales CN, Barker DJ. The thrifty phenotype hypothesis. *Br Med Bull*. 2001;60:5–20.
52. Stöger R. The thrifty epigenotype: an acquired and heritable predisposition for obesity and diabetes?. *Bioessays*. 2008 Feb;30(2):156–66.
53. Kawecki TJ. The evolution of genetic canalization under fluctuating selection. *Evolution*. 2000 Feb;54(1):1–12.
54. Stein Z, Susser M, Saenger G MF. Famine and human development: The Dutch hunger winter of 1944-1945. Oxford: Oxford University Press.; 1975.
55. Ravelli GP, Stein ZA, Susser MW. Obesity in young men after famine exposure in utero and early infancy. *N Engl J Med*. 1976 Aug 12;295(7):349–53.
56. Tobi EW, Lumey LH, Talens RP, Kremer D, Putter H, Stein AD, et al. DNA methylation differences after exposure to prenatal famine are common and timing- and sex-specific. *Hum Mol Genet*. 2009 Nov 1;18(21):4046–53.
57. Olds T, Maher C, Zumin S, Péneau S, Lioret S, Castetbon K, et al. Evidence that the prevalence of childhood overweight is plateauing: data from nine countries. *Int*

- J Pediatr Obes. 2011 Oct;6(5–6):342–60.
58. Mutch DM, Clément K. Unraveling the genetics of human obesity. *PLoS Genet.* 2006 Dec 29;2(12):e188.
 59. Singh RK, Kumar P, Mahalingam K. Molecular genetics of human obesity: A comprehensive review. *C R Biol.* 2017 Feb;340(2):87–108.
 60. Heksch R, Kamboj M, Anglin K, Obrynba K. Review of Prader-Willi syndrome: the endocrine approach. *Transl Pediatr.* 2017 Oct;6(4):274–85.
 61. Emerick JE, Vogt KS. Endocrine manifestations and management of Prader-Willi syndrome. *Int J Pediatr Endocrinol.* 2013 Dec 21;2013(1):14.
 62. Sheikh AB, Nasrullah A, Haq S, Akhtar A, Ghazanfar H, Nasir A, et al. The Interplay of Genetics and Environmental Factors in the Development of Obesity. *Cureus.* 2017 Jul 6;9(7):e1435.
 63. Xia Q, Grant SFA. The genetics of human obesity. *Ann N Y Acad Sci.* 2013 Apr;1281(1):178–90.
 64. Klok MD, Jakobsdottir S, Drent ML. The role of leptin and ghrelin in the regulation of food intake and body weight in humans: A review. *Obes Rev.* 2007;8(1):21–34.
 65. Cummings DE, Schwartz MW. Genetics and pathophysiology of human obesity. *Annu Rev Med.* 2003;54(August):453–71.
 66. Ghigo E, Benso A, Broglio F. Ghrelin. Boston : Kluwer; 2004.
 67. Müller TD, Nogueiras R, Andermann ML, Andrews ZB, Anker SD, Argente J, et al. Ghrelin. *Mol Metab.* 2015;4(6):437–60.
 68. Korbonts M, Goldstone AP, Gueorguiev M, Grossman AB. Ghrelin—a hormone with multiple functions. *Front Neuroendocrinol.* 2004;25(1):27–68.
 69. Fawcett KA, Barroso I. The genetics of obesity: FTO leads the way. *Trends Genet.*

- 2010 Jun;26(6):266–74.
70. Angulo MA, Butler MG, Cataletto ME. Prader-Willi syndrome: a review of clinical, genetic, and endocrine findings. *J Endocrinol Invest*. 2015 Dec 11;38(12):1249–63.
 71. Skrypnik K, Suliburska J, Skrypnik D, Pilarski Ł, Reguła J, Bogdański P. The genetic basis of obesity complications. *Acta Sci Pol Technol Aliment*. 16(1):83–91.
 72. Han JC. Rare Syndromes and Common Variants of the Brain-Derived Neurotrophic Factor Gene in Human Obesity. In: *Progress in molecular biology and translational science*. 2016. p. 75–95.
 73. Stanikova D, Buzga M, Krumpolec P, Skopkova M, Surova M, Ukropcova B, et al. Genetic analysis of single-minded 1 gene in early-onset severely obese children and adolescents. Böttcher Y, editor. *PLoS One*. 2017 May 4;12(5):e0177222.
 74. Forsythe E, Kenny J, Bacchelli C, Beales PL. Managing Bardet–Biedl Syndrome—Now and in the Future. *Front Pediatr*. 2018 Feb 13;6:23.
 75. Mujahid S, Hunt KF, Cheah YS, Forsythe E, Hazlehurst JM, Sparks K, et al. The Endocrine and Metabolic Characteristics of a Large Bardet-Biedl Syndrome Clinic Population. *J Clin Endocrinol Metab*. 2018 May 1;103(5):1834–41.
 76. McLennan Y, Polussa J, Tassone F, Hagerman R. Fragile X Syndrome. *Curr Genomics*. 2011 May 1;12(3):216–24.
 77. Lozano R, Rosero CA, Hagerman RJ. Fragile X spectrum disorders. *Intractable Rare Dis Res*. 2014 Nov;3(4):134–46.
 78. Rajaratnam A, Shergill J, Salcedo-Arellano M, Saldarriaga W, Duan X, Hagerman R. Fragile X syndrome and fragile X-associated disorders. *F1000Research*. 2017 Dec 8;6:2112.

79. Kivitie-Kallio S, Norio R. Cohen syndrome: essential features, natural history, and heterogeneity. *Am J Med Genet.* 2001 Aug 1;102(2):125–35.
80. Wang H, Falk MJ, Wensel C, Traboulsi EI. Cohen Syndrome. *GeneReviews®.* 1993.
81. Sheikh AB, Nasrullah A, Haq S, Akhtar A, Ghazanfar H, Nasir A, et al. The Interplay of Genetics and Environmental Factors in the Development of Obesity. *Cureus.* 2017 Jul 6;9(7):e1435.
82. Park CW, Torquati A. Physiology of weight loss surgery. *Surg Clin North Am.* 2011;91(6):1149–61, vii.
83. Qiu J, Wagner EJ, Rønnekleiv OK, Kelly MJ. Insulin and leptin excite anorexigenic pro-opiomelanocortin neurones via activation of TRPC5 channels. *J Neuroendocrinol.* 2018 Feb;30(2):e12501.
84. Reichmann F, Holzer P. Neuropeptide Y: A stressful review. *Neuropeptides.* 2016 Feb;55:99–109.
85. Sainsbury A, Zhang L. Role of the hypothalamus in the neuroendocrine regulation of body weight and composition during energy deficit. *Obes Rev.* 2012;13(3):234–57.
86. Cassidy RM, Tong Q. Hunger and satiety gauge reward sensitivity. Vol. 8, *Frontiers in Endocrinology.* 2017. p. 104.
87. Lanfray D, Richard D. Emerging Signaling Pathway in Arcuate Feeding-Related Neurons: Role of the *Acbd7*. *Front Neurosci.* 2017 Jun 23;11:328.
88. Thomas MA, Xue B. Mechanisms for AgRP neuron-mediated regulation of appetitive behaviors in rodents. *Physiol Behav.* 2018 Jun 1;190:34–42.
89. Shen W, Yao T, Kong X, Williams KW, Liu T. Melanocortin neurons: Multiple routes to regulation of metabolism. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis.* 2017

- Oct;1863(10):2477–85.
90. Rubinstein M, Low MJ. Molecular and functional genetics of the proopiomelanocortin gene, food intake regulation and obesity. *FEBS Lett.* 2017 Sep;591(17):2593–606.
 91. Perez-Tilve D, Hofmann SM, Basford J, Nogueiras R, Pfluger PT, Patterson JT, et al. Melanocortin signaling in the CNS directly regulates circulating cholesterol. *Nat Neurosci.* 2010 Jul 6;13(7):877–82.
 92. Sato T, Ida T, Nakamura Y, Shiimura Y, Kangawa K, Kojima M. Physiological roles of ghrelin on obesity. *Obes Res Clin Pract.* 2014 Sep;8(5):e405–13.
 93. Kanamoto N, Akamizu T, Tagami T, Hataya Y, Moriyama K, Takaya K, et al. Genomic Structure and Characterization of the 5'-Flanking Region of the Human Ghrelin Gene. *Endocrinology.* 2004 Sep;145(9):4144–53.
 94. Smith RG, Van der Ploeg LHT, Howard AD, Feighner SD, Cheng K, Hickey GJ, et al. Peptidomimetic Regulation of Growth Hormone Secretion. *Endocr Rev.* 1997 Oct;18(5):621–45.
 95. Tanaka M, Hayashida Y, Iguchi T, Nakao N, Nakai N, Nakashima K. Organization of the Mouse Ghrelin Gene and Promoter: Occurrence of a Short Noncoding First Exon. *Endocrinology.* 2001 Aug;142(8):3697–700.
 96. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature.* 1999;402(6762):656–60.
 97. Nakai N, Kaneko M, Nakao N, Fujikawa T, Nakashima K, Ogata M, et al. Identification of promoter region of ghrelin gene in human medullary thyroid carcinoma cell line. *Life Sci.* 2004 Sep 17;75(18):2193–201.
 98. Seim I, Collet C, Herington AC, Chopin LK. Revised genomic structure of the

- human ghrelin gene and identification of novel exons, alternative splice variants and natural antisense transcripts. *BMC Genomics*. 2007 Aug 30;8(1):298.
99. Korbonits M, Goldstone AP, Gueorguiev M, Grossman AB. Ghrelin-a hormone with multiple functions. *Front Neuroendocrinol*. 2004 Apr;25(1):27–68.
100. Pemberton C, Wimalasena P, Yandle T, Soule S, Richards M. C-terminal proghrelin peptides are present in the human circulation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003 Oct 17;310(2):567–73.
101. Bang AS, Soule SG, Yandle TG, Richards AM, Pemberton CJ. Characterisation of proghrelin peptides in mammalian tissue and plasma. *J Endocrinol*. 2007 Feb 1;192(2):313–23.
102. Zhang J V, Ren P-G, Avsian-Kretchmer O, Luo C-W, Rauch R, Klein C, et al. Obestatin, a peptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake. *Science*. 2005 Nov 11;310(5750):996–9.
103. Khatib N, Gaidhane S, Gaidhane AM, Khatib M, Simkhada P, Gode D, et al. Ghrelin: Ghrelin as a regulatory peptide in growth hormone secretion. *J Clin Diagnostic Res*. 2014 Aug;8(8):13–7.
104. Kojima M, Kangawa K. Ghrelin: Structure and Function. *Physiol Rev*. 2005 Apr 1;85(2):495–522.
105. Angeloni S V, Glynn N, Ambrosini G, Garant MJ, Higley JD, Suomi S, et al. Characterization of the rhesus monkey ghrelin gene and factors influencing ghrelin gene expression and fasting plasma levels. *Endocrinology*. 2004 May;145(5):2197–205.
106. Kaiya H, Kojima M, Hosoda H, Koda A, Yamamoto K, Kitajima Y, et al. Bullfrog Ghrelin Is Modified by n-Octanoic Acid at Its Third Threonine Residue. *J Biol Chem*. 2001 Nov 2;276(44):40441–8.

107. Kaiya H, Kojima M, Hosoda H, Moriyama S, Takahashi A, Kawauchi H, et al. Peptide Purification, Complementary Deoxyribonucleic Acid (DNA) and Genomic DNA Cloning, and Functional Characterization of Ghrelin in Rainbow Trout. *Endocrinology*. 2003 Dec;144(12):5215–26.
108. Kaiya H, Kojima M, Hosoda H, Riley LG, Hirano T, Grau EG, et al. Amidated fish ghrelin: purification, cDNA cloning in the Japanese eel and its biological activity. *J Endocrinol*. 2003 Mar;176(3):415–23.
109. Kaiya H, Kojima M, Hosoda H, Riley LG, Hirano T, Grau EG, et al. Identification of tilapia ghrelin and its effects on growth hormone and prolactin release in the tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*. 2003 Jul;135(3):421–9.
110. Kaiya H, van der Geyten S, Kojima M, Hosoda H, Kitajima Y, Matsumoto M, et al. Chicken Ghrelin: Purification, cDNA Cloning, and Biological Activity. *Endocrinology*. 2002 Sep;143(9):3454–63.
111. Tomasetto C, Wendling C, Rio MC, Poitras P. Identification of cDNA encoding motilin related peptide/ghrelin precursor from dog fundus. *Peptides*. 2001 Dec;22(12):2055–9.
112. Ida T, Miyazato M, Lin X-Z, Kaiya H, Sato T, Nakahara K, et al. Purification and Characterization of Caprine Ghrelin and Its Effect on Growth Hormone Release. *J Mol Neurosci*. 2010 Sep 2;42(1):99–105.
113. Kojima M, Hosoda H, Kangawa K. Purification and distribution of ghrelin: the natural endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor. *Horm Res*. 2001;56 Suppl 1:93–7.
114. Date Y, Kojima M, Hosoda H, Sawaguchi A, Mondal MS, Suganuma T, et al. Ghrelin, a Novel Growth Hormone-Releasing Acylated Peptide, Is Synthesized in

- a Distinct Endocrine Cell Type in the Gastrointestinal Tracts of Rats and Humans. *Endocrinology*. 2000 Nov;141(11):4255–61.
115. Rindi G, Necchi V, Savio A, Torsello A, Zoli M, Locatelli V, et al. Characterisation of gastric ghrelin cells in man and other mammals: Studies in adult and fetal tissues. *Histochem Cell Biol*. 2002;117(6):511–9.
116. Solcia E, Rindi G, Buffa R, Fiocca R, Capella C. Gastric endocrine cells: types, function and growth. *Regul Pept*. 2000 Sep 25;93(1–3):31–5.
117. Delporte C. Structure and physiological actions of ghrelin. *Scientifica (Cairo)*. 2013;2013:1–25.
118. Cowley MA, Smith RG, Diano S, Tschöp M, Pronchuk N, Grove KL, et al. The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron*. 2003 Feb 20;37(4):649–61.
119. Nakazato M, Murakami N, Date Y, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K, et al. A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature*. 2001 Jan 11;409(6817):194–8.
120. Bowers CY, Momany F, Reynolds GA, Chang D, Hong A, Chang K. Structure-Activity Relationships of a Synthetic Pentapeptide that Specifically Releases Growth Hormone in Vitro. *Endocrinology*. 1980 Mar;106(3):663–7.
121. Momany FA, Bowers CY, Reynolds GA, Chang D, Hong A, Newlander K. Design, Synthesis, and Biological Activity of Peptides which Release Growth Hormone in Vitro. *Endocrinology*. 1981 Jan;108(1):31–9.
122. Dickson SL, Leng G, Robinson IC. Systemic administration of growth hormone-releasing peptide activates hypothalamic arcuate neurons. *Neuroscience*. 1993 Mar;53(2):303–6.

123. Dickson SL, Luckman SM. Induction of c-fos Messenger Ribonucleic Acid in Neuropeptide Y and Growth Hormone (GH)-Releasing Factor Neurons in the Rat Arcuate Nucleus Following Systemic Injection of the GH Secretagogue, GH-Releasing Peptide-6. *Endocrinology*. 1997 Feb;138(2):771–7.
124. Howard AD, Feighner SD, Cully DF, Arena JP, Liberatore PA, Rosenblum CI, et al. A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science*. 1996 Aug 16;273(5277):974–7.
125. Guan XM, Yu H, Palyha OC, McKee KK, Feighner SD, Sirinathsinghji DJ, et al. Distribution of mRNA encoding the growth hormone secretagogue receptor in brain and peripheral tissues. *Brain Res Mol Brain Res*. 1997 Aug;48(1):23–9.
126. Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, Morris DG, McGee P, Fairclough P, et al. The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002 Jun;87(6):2988.
127. Arvat E, Di Vito L, Broglio F, Papotti M, Muccioli G, Dieguez C, et al. Preliminary evidence that Ghrelin, the natural GH secretagogue (GHS)-receptor ligand, strongly stimulates GH secretion in humans. *J Endocrinol Invest*. 2000 Sep 11;23(8):493–5.
128. Peino R, Baldelli R, Rodriguez-Garcia J, Rodriguez-Segade S, Kojima M, Kangawa K, et al. Ghrelin-induced growth hormone secretion in humans. *Eur J Endocrinol*. 2000 Dec;143(6):R11-4.
129. Veldhuis JD, Reynolds GA, Iranmanesh A, Bowers CY. Twenty-four hour continuous ghrelin infusion augments physiologically pulsatile, nycthemeral, and entropic (feedback-regulated) modes of growth hormone secretion. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008 Sep;93(9):3597–603.
130. Lanfranco F, Bonelli L, Baldi M, Me E, Broglio F, Ghigo E. Acylated Ghrelin

- Inhibits Spontaneous Luteinizing Hormone Pulsatility and Responsiveness to Naloxone But Not That to Gonadotropin-Releasing Hormone in Young Men: Evidence for a Central Inhibitory Action of Ghrelin on the Gonadal Axis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008 Sep;93(9):3633–9.
131. Popovic V, Leal A, Micic D, Koppeschaar HP, Torres E, Paramo C, et al. GH-releasing hormone and GH-releasing peptide-6 for diagnostic testing in GH-deficient adults. *Lancet.* 2000 Sep 30;356(9236):1137–42.
132. Nagaya N, Kojima M, Uematsu M, Yamagishi M, Hosoda H, Oya H, et al. Hemodynamic and hormonal effects of human ghrelin in healthy volunteers. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2001 May;280(5):R1483-7.
133. Broglio F, Arvat E, Benso A, Gottero C, Muccioli G, Papotti M, et al. Ghrelin, a Natural GH Secretagogue Produced by the Stomach, Induces Hyperglycemia and Reduces Insulin Secretion in Humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001 Oct;86(10):5083–5083.
134. Broglio F, Gottero C, Benso A, Prodham F, Destefanis S, Gauna C, et al. Effects of Ghrelin on the Insulin and Glycemic Responses to Glucose, Arginine, or Free Fatty Acids Load in Humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003 Sep;88(9):4268–72.
135. Egido EM, Rodriguez-Gallardo J, Silvestre RA, Marco J. Inhibitory effect of ghrelin on insulin and pancreatic somatostatin secretion. *Eur J Endocrinol.* 2002 Feb;146(2):241–4.
136. Guido M, Romualdi D, De Marinis L, Porcelli T, Giuliani M, Costantini B, et al. Administration of exogenous ghrelin in obese patients with polycystic ovary syndrome: effects on plasma levels of growth hormone, glucose, and insulin. *Fertil Steril.* 2007 Jul;88(1):125–30.
137. Tassone F, Broglio F, Destefanis S, Rovere S, Benso A, Gottero C, et al.

- Neuroendocrine and metabolic effects of acute ghrelin administration in human obesity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003 Nov;88(11):5478–83.
138. Chuang J-C, Sakata I, Kohno D, Perello M, Osborne-Lawrence S, Repa JJ, et al. Ghrelin directly stimulates glucagon secretion from pancreatic alpha-cells. *Mol Endocrinol.* 2011 Sep;25(9):1600–11.
139. Fusco A, Bianchi A, Mancini A, Milardi D, Giampietro A, Cimino V, et al. Effects of ghrelin administration on endocrine and metabolic parameters in obese women with polycystic ovary syndrome. *J Endocrinol Invest.* 2007 Dec 9;30(11):948–56.
140. Dezaki K, Kakei M, Yada T. Ghrelin Uses G_{i2} and Activates Voltage-Dependent K⁺ Channels to Attenuate Glucose-Induced Ca²⁺ Signaling and Insulin Release in Islet β -Cells: Novel Signal Transduction of Ghrelin. *Diabetes.* 2007 Sep 1;56(9):2319–27.
141. Park S, Jiang H, Zhang H, Smith RG. Modification of ghrelin receptor signaling by somatostatin receptor-5 regulates insulin release. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012 Nov 13;109(46):19003–8.
142. De Smet B, Mitselos A, Depoortere I. Motilin and ghrelin as prokinetic drug targets. *Pharmacol Ther.* 2009 Aug;123(2):207–23.
143. Tomasetto C, Karam SM, Ribieras S, Masson R, Lefèbvre O, Staub A, et al. Identification and characterization of a novel gastric peptide hormone: the motilin-related peptide. *Gastroenterology.* 2000 Aug;119(2):395–405.
144. Ang D, Nicolai H, Vos R, Mimidis K, Akyuz F, Kindt S, et al. Influence of ghrelin on the gastric accommodation reflex and on meal-induced satiety in man. *Neurogastroenterol Motil.* 2009 May;21(5):528–33, e8-9.
145. Levin F, Edholm T, Schmidt PT, Grybäck P, Jacobsson H, Degerblad M, et al. Ghrelin Stimulates Gastric Emptying and Hunger in Normal-Weight Humans. *J*

- Clin Endocrinol Metab. 2006 Sep;91(9):3296–302.
146. Tschöp M, Smiley DL, Heiman ML. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature*. 2000 Oct 19;407(6806):908–13.
 147. Willesen MG, Kristensen P, Rømer J. Co-localization of growth hormone secretagogue receptor and NPY mRNA in the arcuate nucleus of the rat. *Neuroendocrinology*. 1999 Nov;70(5):306–16.
 148. Chen HY, Trumbauer ME, Chen AS, Weingarth DT, Adams JR, Frazier EG, et al. Orexigenic Action of Peripheral Ghrelin Is Mediated by Neuropeptide Y and Agouti-Related Protein. *Endocrinology*. 2004 Jun;145(6):2607–12.
 149. Theander-Carrillo C, Wiedmer P, Cettour-Rose P, Nogueiras R, Perez-Tilve D, Pfluger P, et al. Ghrelin action in the brain controls adipocyte metabolism. *J Clin Invest*. 2006 Jul 3;116(7):1983–93.
 150. Bray GA, Frühbeck G, Ryan DH, Wilding JP. Management of obesity. *Lancet*. 2016 May 7;387(10031):1947–56.
 151. Poirier P, Eckel RH. Obesity and Cardiovascular Disease. *Curr Atheroscler Rep*. 2002;4(6):448–53.
 152. Poirier P, Giles TD, Bray GA, Hong Y, Stern JS, Pi-Sunyer FX, et al. Obesity and cardiovascular disease: Pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006;26(5):968–76.
 153. Hajer GR, van Haeften TW, Visseren FLJ. Adipose tissue dysfunction in obesity, diabetes, and vascular diseases. *Eur Heart J*. 2008 Dec 2;29(24):2959–71.
 154. Tune JD, Goodwill AG, Sassoon DJ, Mather KJ. Cardiovascular consequences of metabolic syndrome. *Transl Res*. 2017;183:57–70.
 155. MacMahon S, Baigent C, Duffy S, Rodgers A, Tominaga S, Chambless L, et al. Body-mass index and cause-specific mortality in 900 000 adults: Collaborative

- analyses of 57 prospective studies. *Lancet*. 2009;373(9669):1083–96.
156. Labounty TM, Gomez MJ, Achenbach S, Al-Mallah M, Berman DS, Budoff MJ, et al. Body mass index and the prevalence, severity, and risk of coronary artery disease: an international multicentre study of 13 874 patients. *Eur Hear J - Cardiovasc Imaging*. 2013 May 1;14(5):456–63.
157. Cepeda-Valery B, Chaudhry K, Slipczuk L, Pressman GS, Figueredo VM, Lavie CJ, et al. Association between obesity and severity of coronary artery disease at the time of acute myocardial infarction: Another piece of the puzzle in the “obesity paradox.” *Int J Cardiol*. 2014 Sep;176(1):247–9.
158. Lee DA, Blackshaw S, Dorresteijn JAN, Visseren FLJ, Spiering W, Debnath M, et al. Mechanisms linking obesity to hypertension. *Obes Res Clin Pract*. 2012;10(1):55–92.
159. Littlejohn NK, Grobe JL. Opposing tissue-specific roles of angiotensin in the pathogenesis of obesity, and implications for obesity-related hypertension. *Am J Physiol Integr Comp Physiol*. 2015 Dec 15;309(12):R1463–73.
160. Byrd JB, Brook RD. A critical review of the evidence supporting aldosterone in the etiology and its blockade in the treatment of obesity-associated hypertension. *J Hum Hypertens*. 2014 Jan 23;28(1):3–9.
161. Varughese AG, Nimkevych O, Uwaifo GI. Hypercortisolism in Obesity-Associated Hypertension. *Curr Hypertens Rep*. 2014 Jul 7;16(7):443.
162. DeMarco VG, Aroor AR, Sowers JR. The pathophysiology of hypertension in patients with obesity. *Nat Rev Endocrinol*. 2014 Jun 15;10(6):364–76.
163. Crawford AG, Cote C, Couto J, Daskiran M, Gunnarsson C, Haas K, et al. Prevalence of Obesity, Type II Diabetes Mellitus, Hyperlipidemia, and Hypertension in the United States: Findings from the GE Centricity Electronic

- Medical Record Database. *Popul Health Manag.* 2010 Jun;13(3):151–61.
164. Barazzoni R, Gortan Cappellari G, Ragni M, Nisoli E. Insulin resistance in obesity: an overview of fundamental alterations. *Eat Weight Disord.* 2018 Apr 3;23(2):149–57.
 165. Garber AJ. Obesity and type 2 diabetes: which patients are at risk? *Diabetes, Obes Metab.* 2012 May;14(5):399–408.
 166. Mensah GA, Mokdad AH, Ford E, Narayan KMV, Giles WH, Vinicor F, et al. Obesity, metabolic syndrome, and type 2 diabetes: emerging epidemics and their cardiovascular implications. *Cardiol Clin.* 2004 Nov;22(4):485–504.
 167. Lee EB. Obesity, leptin, and Alzheimer's disease. *Ann N Y Acad Sci.* 2011 Dec;1243(1):15–29.
 168. Letra L, Santana I, Seiça R. Obesity as a risk factor for Alzheimer's disease: the role of adipocytokines. *Metab Brain Dis.* 2014 Sep 20;29(3):563–8.
 169. Verdile G, Keane KN, Cruzat VF, Medic S, Sabale M, Rowles J, et al. Inflammation and Oxidative Stress: The Molecular Connectivity between Insulin Resistance, Obesity, and Alzheimer's Disease. *Mediators Inflamm.* 2015;2015:1–17.
 170. Walker J, Harrison F. Shared Neuropathological Characteristics of Obesity, Type 2 Diabetes and Alzheimer's Disease: Impacts on Cognitive Decline. *Nutrients.* 2015 Sep 1;7(12):7332–57.
 171. Naseer MI, Bibi F, Alqahtani MH, Chaudhary AG, Azhar EI, Kamal MA, et al. Role of gut microbiota in obesity, type 2 diabetes and Alzheimer's disease. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* 2014 Mar;13(2):305–11.
 172. Arnold M, Pandeya N, Byrnes G, Renehan AG, Stevens GA, Ezzati M, et al. Global burden of cancer attributable to high body-mass index in 2012: a

- population-based study. *Lancet Oncol.* 2015 Jan;16(1):36–46.
173. Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, Thun MJ. Overweight, Obesity, and Mortality from Cancer in a Prospectively Studied Cohort of U.S. Adults. *N Engl J Med.* 2003 Apr 24;348(17):1625–38.
174. Goodwin PJ, Chlebowski RT. Obesity and Cancer: Insights for Clinicians. *J Clin Oncol.* 2016 Dec 10;34(35):4197–202.
175. Ackerman SE, Blackburn OA, Marchildon F, Cohen P. Insights into the Link Between Obesity and Cancer. *Curr Obes Rep.* 2017 Jun 22;6(2):195–203.
176. Iyengar NM, Gucalp A, Dannenberg AJ, Hudis CA. Obesity and Cancer Mechanisms: Tumor Microenvironment and Inflammation. *J Clin Oncol.* 2016 Dec 10;34(35):4270–6.
177. Kopelman PG. Obesity as a medical problem. *Nature.* 2000 Apr 6;404(6778):635–43.
178. Orrù S, Nigro E, Mandola A, Alfieri A, Buono P, Daniele A, et al. A Functional Interplay between IGF-1 and Adiponectin. *Int J Mol Sci.* 2017 Oct 14;18(12):2145.
179. Iyengar NM, Hudis C a, Dannenberg AJ. Obesity and cancer: local and systemic mechanisms. *Annu Rev Med.* 2015;66:297–309.
180. Bray GA, Heisel WE, Afshin A, Jensen MD, Dietz WH, Long M, et al. The Science of Obesity Management: An Endocrine Society Scientific Statement. *Endocr Rev.* 2018 Apr 1;39(2):79–132.
181. Ryan D, Heaner M. Guidelines (2013) for managing overweight and obesity in adults. Preface to the full report. *Obesity.* 2014 Jul;22(S2):S1–3.
182. Apovian CM, Aronne LJ, Bessesen DH, McDonnell ME, Murad MH, Pagotto U, et al. Pharmacological management of obesity: An endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015 Feb;100(2):342–62.

183. Apovian CM, Aronne LJ, Bessesen DH, McDonnell ME, Murad MH, Pagotto U, et al. Pharmacological Management of Obesity: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015 Feb;100(2):342–62.
184. Srivastava G, Apovian C. Future Pharmacotherapy for Obesity: New Anti-obesity Drugs on the Horizon. *Curr Obes Rep.* 2018 Jun 5;7(2):147–61.
185. Bhat SP, Sharma A. Current Drug Targets in Obesity Pharmacotherapy – A Review. *Curr Drug Targets.* 2017 May 4;18(8):983–93.
186. Bessesen DH, Van Gaal LF. Progress and challenges in anti-obesity pharmacotherapy. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2018 Mar;6(3):237–48.
187. Velazquez A, Apovian CM. Updates on obesity pharmacotherapy. *Ann N Y Acad Sci.* 2018;1411(1):106–19.
188. Jensen MD, Ryan DH, Apovian CM, Ard JD, Comuzzie AG, Donato KA, et al. 2013 AHA/ACC/TOS Guideline for the Management of Overweight and Obesity in Adults. *Circulation.* 2014 Jun 24;129(25 suppl 2):S102–38.
189. Apovian CM, Aronne LJ. The 2013 American Heart Association/American College of Cardiology/the obesity society guideline for the management of overweight and obesity in adults: What is new about diet, drugs, and surgery for obesity? *Circulation.* 2015 Oct 20;132(16):1586–91.
190. Jensen MD, Ryan DH, Apovian CM, Ard JD, Comuzzie AG, Donato KA, et al. 2013 AHA/ACC/TOS Guideline for the Management of Overweight and Obesity in Adults. *J Am Coll Cardiol.* 2014 Jul 1;63(25):2985–3023.
191. Valsamakis G, Konstantakou P, Mastorakos G. New Targets for Drug Treatment of Obesity. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2017 Jan 6;57(1):585–605.
192. Soni H. Peptide-based GLP-1/glucagon co-agonists: A double-edged sword to combat diabetes. *Med Hypotheses.* 2016 Oct;95:5–9.

193. João AL, Reis F, Fernandes R. The incretin system ABCs in obesity and diabetes - novel therapeutic strategies for weight loss and beyond. *Obes Rev.* 2016 Jul;17(7):553–72.
194. Buchwald H. The Evolution of Metabolic/Bariatric Surgery. *Obes Surg.* 2014 Aug 10;24(8):1126–35.
195. Hofbauer KG, Nicholson JR, Boss O. The Obesity Epidemic: Current and Future Pharmacological Treatments. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2007;47:565–92.
196. Angrisani L, Santonicola A, Iovino P, Formisano G, Buchwald H, Scopinaro N. Bariatric Surgery Worldwide 2013. *Obes Surg.* 2015 Oct 4;25(10):1822–32.
197. Mechanick JI, Youdim A, Jones DB, Garvey WT, Hurley DL, McMahon MM, et al. Clinical practice guidelines for the perioperative nutritional, metabolic, and nonsurgical support of the bariatric surgery patient-2013 update: Cosponsored by american association of clinical endocrinologists, The obesity society, and american society fo. *Obesity.* 2013 Mar;21(S1):S1–27.
198. Sjöström L, Narbro K, Sjöström CD, Karason K, Larsson B, Wedel H, et al. Effects of Bariatric Surgery on Mortality in Swedish Obese Subjects. *N Engl J Med.* 2007 Aug 23;357(8):741–52.
199. Sjöström L. Review of the key results from the Swedish Obese Subjects (SOS) trial - a prospective controlled intervention study of bariatric surgery. *J Intern Med.* 2013 Mar;273(3):219–34.
200. Arterburn DE, Courcoulas AP. Bariatric surgery for obesity and metabolic conditions in adults. *Bmj.* 2014;349(aug27 9):g3961–g3961.
201. Kamiński JP, Maker VK, Maker AV. Jejunoileal Bypass. *Metab Pathophysiol Bariatr Surg.* 2017;147–52.
202. Linner JH. Early history of bariatric surgery. *Surgery for Obesity and Related*

- Diseases. 2007;3(5):569–70.
203. Kelles SMB. Mortality Rate and Long-Term Outcomes After Bariatric Surgery. *Metabolism and Pathophysiology of Bariatric Surgery*. Elsevier Inc.; 2017. 171-179 p.
 204. Preedy VR, Rajendram R, Martin CR, Johner A, Swanstrom LL. Chapter 29 – Leaks and Fistulas After Bariatric Surgery. *Metabolism and Pathophysiology of Bariatric Surgery*. Elsevier Inc.; 2017. 255-264 p.
 205. Coppa GF, McMullen H, Geiss A. Laparoscopic Adjustable Gastric Banding. *Metabolism and Pathophysiology of Bariatric Surgery*. Elsevier Inc.; 2014. 367-372 p.
 206. Bekheit M, Elward AS. Comparing Weight Loss in Three Bariatric Procedures. *Metabolism and Pathophysiology of Bariatric Surgery*. Elsevier Inc.; 2017. 217-224 p.
 207. Scopinaro N, Adami GF, MG et. al. Biliopancreatic Diversion. Vol. 22, *World Journal of Surgery*. Elsevier Inc.; 1998. 936-946 p.
 208. Bohdjalian A, Langer FB, Shakeri-Leidenmühler S, Gfrerer L, Ludvik B, Zacherl J, et al. Sleeve Gastrectomy as Sole and Definitive Bariatric Procedure: 5-Year Results for Weight Loss and Ghrelin. *Obes Surg*. 2010 May 22;20(5):535–40.
 209. Chelikani PK, Sekhar D. Sleeve Gastrectomy. *Metabolism and Pathophysiology of Bariatric Surgery*. Elsevier Inc.; 2017. 295-303 p.
 210. Brethauer S, Schauer P. Laparoscopic Sleeve Gastrectomy. *Metabolism and Pathophysiology of Bariatric Surgery*. Elsevier Inc.; 2015. 103-112 p.
 211. Preedy VR, Rajendram R, Martin CR, Apostolou KG. Chapter 27 – Long-Term Weight Loss Results After Laparoscopic Sleeve Gastrectomy. *Metabolism and Pathophysiology of Bariatric Surgery*. Elsevier Inc.; 2017. 235-248 p.

212. del Castillo Déjardin D, Sabench Pereferrer F. Gastrectomía vertical: globalización y sus controversias. *Cirugía Española*. 2018 Feb 20;739(18):300356–6.
213. Sanchez Santos R, Corcelles R, Vilallonga Puy R, Delgado Rivilla S, Ferrer JV, Foncillas Corvinos J, et al. Prognostic factors of weight loss after sleeve gastrectomy: Multi centre study in Spain and Portugal. *Cir española*. 2017 Mar;95(3):135–42.
214. Sjöström L, Peltonen M, Jacobson P, Sjöström CD, Karason K, Wedel H, et al. Bariatric Surgery and Long-term Cardiovascular Events. *JAMA*. 2012 Jan 4;307(1):56.
215. Kashyap SR, Bhatt DL, Wolski K, Watanabe RM, Abdul-Ghani M, Abood B, et al. Metabolic Effects of Bariatric Surgery in Patients With Moderate Obesity and Type 2 Diabetes: Analysis of a randomized control trial comparing surgery with intensive medical treatment. *Diabetes Care*. 2013 Aug 1;36(8):2175–82.
216. Cabrera A, Vives M, Molina A, París M, Raga E, Sánchez A, et al. Gastric Plication and Sleeve Gastrectomy in an Experimental Model of Obesity: New Insights into Weight Loss, Intake and Metabolic Results. *Obes Surg*. 2018 Jun 30;
217. Vives M, Molina A, Danús M, Rebenaque E, Blanco S, París M, et al. Analysis of Gastric Physiology After Laparoscopic Sleeve Gastrectomy (LSG) With or Without Antral Preservation in Relation to Metabolic Response: a Randomised Study. *Obes Surg*. 2017 Nov 7;27(11):2836–44.
218. Ikramuddin S, Korner J, Lee W-J, Connett JE, Inabnet WB, Billington CJ, et al. Roux-en-Y Gastric Bypass vs Intensive Medical Management for the Control of Type 2 Diabetes, Hypertension, and Hyperlipidemia. *JAMA*. 2013 Jun 5;309(21):2240.
219. Sabench Pereferrer F, Molina López A, Vives Espelta M, Raga Carceller E, Blanco

- Blasco S, Buils Vilalta F, et al. Weight Loss Analysis According to Different Formulas after Sleeve Gastrectomy With or Without Antral Preservation: a Randomised Study. *Obes Surg.* 2017 May 19;27(5):1254–60.
220. Schauer PR, Bhatt DL, Kirwan JP, Wolski K, Brethauer SA, Navaneethan SD, et al. Bariatric Surgery versus Intensive Medical Therapy for Diabetes — 3-Year Outcomes. *N Engl J Med.* 2014 May 22;370(21):2002–13.
221. Mingrone G, Panunzi S, De Gaetano A, Guidone C, Iaiconelli A, Nanni G, et al. Bariatric–metabolic surgery versus conventional medical treatment in obese patients with type 2 diabetes: 5 year follow-up of an open-label, single-centre, randomised controlled trial. *Lancet.* 2015 Sep 5;386(9997):964–73.
222. Sabench Pereferer F, Gonzàlez MH, Rovira AF, Blasco SB, Rivas AM, del Castillo Déjardin D. Influence of sleeve gastrectomy on several experimental models of obesity: metabolic and hormonal implications. *Obes Surg.* 2008 Jan 8;18(1):97–108.
223. Dimitriadis E, Daskalakis M, Kampa M, Peppe A, Papadakis JA, Melissas J. Alterations in gut hormones after laparoscopic sleeve gastrectomy: a prospective clinical and laboratory investigational study. *Ann Surg.* 2013 Apr;257(4):647–54.
224. Kotidis E V, Koliakos GG, Baltzopoulos VG, Ioannidis KN, Yovos JG, Papavramidis ST. Serum ghrelin, leptin and adiponectin levels before and after weight loss: comparison of three methods of treatment--a prospective study. *Obes Surg.* 2006 Nov 1;16(11):1425–32.
225. Langer FB, Reza Hoda MA, Bohdjalian A, Felberbauer FX, Zacherl J, Wenzl E, et al. Sleeve Gastrectomy and Gastric Banding: Effects on Plasma Ghrelin Levels. *Obes Surg.* 2005 Aug 1;15(7):1024–9.
226. Peterli R, Steinert RE, Woelnerhanssen B, Peters T, Christoffel-Courtin C, Gass

- M, et al. Metabolic and Hormonal Changes After Laparoscopic Roux-en-Y Gastric Bypass and Sleeve Gastrectomy: a Randomized, Prospective Trial. *Obes Surg.* 2012 May 22;22(5):740–8.
227. Stefater MA, Wilson-Pérez HE, Chambers AP, Sandoval DA, Seeley RJ. All Bariatric Surgeries Are Not Created Equal: Insights from Mechanistic Comparisons. *Endocr Rev.* 2012 Aug;33(4):595–622.
228. Cummings DE, Weigle DS, Frayo RS, Breen PA, Ma MK, Dellinger EP, et al. Plasma Ghrelin Levels after Diet-Induced Weight Loss or Gastric Bypass Surgery. *N Engl J Med.* 2002 May 23;346(21):1623–30.
229. Terra X, Auguet T, Guiu-Jurado E, Berlanga A, Orellana-Gavaldà JM, Hernández M, et al. Long-term Changes in Leptin, Chemerin and Ghrelin Levels Following Different Bariatric Surgery Procedures: Roux-en-Y Gastric Bypass and Sleeve Gastrectomy. *Obes Surg.* 2013 Nov 7;23(11):1790–8.
230. Bose M, Machineni S, Oliván B, Teixeira J, McGinty JJ, Bawa B, et al. Superior Appetite Hormone Profile After Equivalent Weight Loss by Gastric Bypass Compared to Gastric Banding. *Obesity.* 2010 Jun;18(6):1085–91.
231. Uchida A, Zechner JF, Mani BK, Park W-M, Aguirre V, Zigman JM. Altered ghrelin secretion in mice in response to diet-induced obesity and Roux-en-Y gastric bypass. *Mol Metab.* 2014 Oct;3(7):717–30.
232. Chambers AP, Kirchner H, Wilson-Perez HE, Willency JA, Hale JE, Gaylinn BD, et al. The effects of vertical sleeve gastrectomy in rodents are ghrelin independent. *Gastroenterology.* 2013 Jan;144(1):50–52.e5.
233. Sabench Pereferrer F, Domínguez-Adame Lanuza E, Ibarzabal A, Socas Macias M, Valentí Azcárate V, García Ruiz de Gordejuela A, et al. Criterios de calidad en cirugía bariátrica: revisión de conjunto y recomendaciones de la Asociación

- Española de Cirujanos y de la Sociedad Española de Cirugía de la Obesidad. *Cirugía Española*. 2017 Jan;95(1):4–16.
234. Sauerland S, Angrisani L, Belachew M, Chevallier JM, Favretti F, Finer N, et al. Obesity surgery: Evidence-based guidelines of the European Association for Endoscopic Surgery (EAES). *Surg Endosc*. 2005 Feb 2;19(2):200–21.
235. Scopinaro N. Bariatric metabolic surgery. *Rozhl Chir*. 2014 Aug;93(8):404–15.
236. Chew S, Lin F, Staveren W van, Deurenberg P, Sakamoto Y. Appropriate body-mass index for Asian populations and its implications for policy and intervention strategies. *Lancet (London, England)*. 2004 Jan 10;363(9403):157–63.
237. Peeters A. Obesity in Adulthood and Its Consequences for Life Expectancy: A Life-Table Analysis. *Ann Intern Med*. 2003;138(1):24.
238. Janssen I. The Public Health Burden of Obesity in Canada. *Can J Diabetes*. 2013;37(2):90–6.
239. Dandona P, Ghanim H, Monte S, Caruana J. Asthma in Obesity and Diabetes. *Metabolism and Pathophysiology of Bariatric Surgery*. Elsevier Inc.; 2017. 33-38 p.
240. Fryer E, Roberts ISD, Sheppard MN, Verrill C. Postmortem examination in the morbidly obese. *Histopathology*. 2014 Jan;64(2):200–10.
241. Lecube A, Valladares S, López-Cano C, Gutiérrez L, Ciudin A, Fort JM, et al. The Role of Morbid Obesity in the Promotion of Metabolic Disruptions and Non-Alcoholic Steatohepatitis by *Helicobacter Pylori*. Petta S, editor. *PLoS One*. 2016 Nov 28;11(11):e0166741.
242. Sandon F. Twenty-five years of health progress: a study of the mortality experience among the industrial policyholders of the metropolitan life insurance company, 1911 to 1935. *Eugen Rev*. 1938;30(2):141.

243. Camilleri M, Abu Dayyeh B, Acosta A. The Management of Obesity. *Metabolism and Pathophysiology of Bariatric Surgery*. Elsevier Inc.; 2017. 47-57 p.
244. Adamska E, Ostrowska L, Górska M, Krętowski A. The role of gastrointestinal hormones in the pathogenesis of obesity and type 2 diabetes. *Przeegląd Gastroenterol*. 2014;9(2):69–76.
245. Takiguchi S, Murakami K, Yanagimoto Y, Takata A, Miyazaki Y, Mori M, et al. Clinical application of ghrelin in the field of surgery. *Surg Today*. 2015;45(7):801–7.
246. Van Der Lely AJ, Tschöp M, Heiman ML, Ghigo E. Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin. *Endocr Rev*. 2004;25(3):426–57.
247. Rugge M, Genta RM. Staging and grading of chronic gastritis. *Hum Pathol*. 2005;36(3):228–33.
248. Sipponen P, Price AB. The Sydney System for classification of gastritis 20 years ago. *J Gastroenterol Hepatol*. 2011;26(SUPPL. 1):31–4.
249. Guarner J, Herrera-Goepfert R, Mohar a, Sanchez L, Halperin D, Ley C, et al. Interobserver variability in application of the revised Sydney classification for gastritis. *Hum Pathol*. 1999;30(12):1431–4.
250. Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, Correa P. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994. *Am J Surg Pathol*. 1996 Oct;20(10):1161–81.
251. Rugge M, Pennelli G, Pillozzi E, Fassan M, Ingravallo G, Russo VM, et al. Gastritis: The histology report. *Dig Liver Dis*. 2011 Mar;43:S373–84.
252. Kanter R, Caballero B. Global gender disparities in obesity: a review. *Adv Nutr*.

- 2012 Jul 1;3(4):491–8.
253. Katz DL. The Mass of Humanity and the Weight of the World: Obesity and the Environment at a Confluence of Causes. *Curr Obes Rep.* 2016 Dec 13;5(4):386–8.
254. Wells JCK, Pomeroy E, Walimbe SR, Popkin BM, Yajnik CS. The Elevated Susceptibility to Diabetes in India: An Evolutionary Perspective. *Front Public Heal.* 2016 Jul 7;4:145.
255. Kumanyika S, Jeffery RW, Morabia A, Ritenbaugh C, Antipatis VJ, Public Health Approaches to the Prevention of Obesity (PHAPO) Working Group of the International Obesity Task Force (IOTF). Obesity prevention: the case for action. *Int J Obes.* 2002 Mar 11;26(3):425–36.
256. Jones-Smith JC, Gordon-Larsen P, Siddiqi A, Popkin BM. Cross-National Comparisons of Time Trends in Overweight Inequality by Socioeconomic Status Among Women Using Repeated Cross-Sectional Surveys From 37 Developing Countries, 1989-2007. *Am J Epidemiol.* 2011 Mar 15;173(6):667–75.
257. McLaren L. Socioeconomic Status and Obesity. *Epidemiol Rev.* 2007 May 2;29(1):29–48.
258. Monteiro CA, Moura EC, Conde WL, Popkin BM. Socioeconomic status and obesity in adult populations of developing countries: a review. *Bull World Health Organ.* 2004 Dec;82(12):940–6.
259. Howe LD, Patel R, Galobardes B. Commentary: Tipping the balance: wider waistlines in men but wider inequalities in women. *Int J Epidemiol.* 2010 Apr 1;39(2):404–5.
260. Power ML, Schulkin J. Sex differences in fat storage, fat metabolism, and the health risks from obesity: possible evolutionary origins. *Br J Nutr.* 2008

- May;99(5):931–40.
261. Mittendorfer B, Magkos F, Fabbrini E, Mohammed BS, Klein S. Relationship Between Body Fat Mass and Free Fatty Acid Kinetics in Men and Women. *Obesity*. 2009 Oct;17(10):1872–7.
262. Menegoni F, Galli M, Tacchini E, Vismara L, Caviglioli M, Capodaglio P. Gender-specific effect of obesity on balance. *Obesity (Silver Spring)*. 2009 Oct;17(10):1951–6.
263. Knopp RH, Paramsothy P, Retzlaff BM, Fish B, Walden C, Dowdy A, et al. Gender differences in lipoprotein metabolism and dietary response: basis in hormonal differences and implications for cardiovascular disease. *Curr Atheroscler Rep*. 2005 Nov;7(6):472–9.
264. Knopp RH, Paramsothy P, Retzlaff BM, Fish B, Walden C, Dowdy A, et al. Sex differences in lipoprotein metabolism and dietary response: basis in hormonal differences and implications for cardiovascular disease. *Curr Cardiol Rep*. 2006 Nov;8(6):452–9.
265. Couillard C, Bergeron N, Prud'homme D, Bergeron J, Tremblay A, Bouchard C, et al. Gender difference in postprandial lipemia : importance of visceral adipose tissue accumulation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999 Oct;19(10):2448–55.
266. Morita Y, Iwamoto I, Mizuma N, Kuwahata T, Matsuo T, Yoshinaga M, et al. Precedence of the shift of body-fat distribution over the change in body composition after menopause. *J Obstet Gynaecol Res*. 2006 Oct;32(5):513–6.
267. Regitz-Zagrosek V, Lehmkuhl E, Mahmoodzadeh S. Gender Aspects of the Role of the Metabolic Syndrome as a Risk Factor for Cardiovascular Disease. *Gend Med*. 2007 Jan;4:S162–77.
268. Jung U, Choi M-S. Obesity and Its Metabolic Complications: The Role of

- Adipokines and the Relationship between Obesity, Inflammation, Insulin Resistance, Dyslipidemia and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Int J Mol Sci.* 2014 Apr 11;15(4):6184–223.
269. Scarpellini E, Tack J. Obesity and metabolic syndrome: an inflammatory condition. *Dig Dis.* 2012;30(2):148–53.
270. Slagter SN, van Waateringe RP, van Beek AP, van der Klauw MM, Wolffenbuttel BHR, van Vliet-Ostaptchouk J V. Sex, BMI and age differences in metabolic syndrome: The Dutch Lifelines Cohort Study. *Endocr Connect.* 2017 Apr 18;EC-17-0011.
271. Preedy VR, Rajendram R, Martin CR, Farb MG, Gokce N. Chapter 2 – Obesity and Adipose Tissue Microvascular Dysfunction. *Metabolism and Pathophysiology of Bariatric Surgery.* Elsevier Inc.; 2017. 13-23 p.
272. Peluso I, Palmery M. The relationship between body weight and inflammation: Lesson from anti-TNF-alpha antibody therapy. *Hum Immunol.* 2016;77(1):47–53.
273. Rossi EL, de Angel RE, Bowers LW, Khatib SA, Smith LA, Van Buren E, et al. Obesity-Associated Alterations in Inflammation, Epigenetics, and Mammary Tumor Growth Persist in Formerly Obese Mice. *Cancer Prev Res.* 2016 May 1;9(5):339–48.
274. Bastard J-P, Maachi M, Lagathu C, Kim MJ, Caron M, Vidal H, et al. Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. *Eur Cytokine Netw.* 2006;17(1):4–12.
275. Henao-Mejia J, Elinav E, Thaiss CA, Flavell RA. Inflammasomes and Metabolic Disease. *Annu Rev Physiol.* 2014;76(1):57–78.
276. Gregor MF, Hotamisligil GS. Inflammatory mechanisms in obesity. *Annu Rev Immunol.* 2011;29:415–45.

277. Safatle-Ribeiro AV, Kuga R, Iriya K, Ribeiro U, Faintuch J, Ishida RK, et al. What to Expect in the Excluded Stomach Mucosa after Vertical Banded Roux-en-Y Gastric Bypass for Morbid Obesity. *J Gastrointest Surg.* 2007 Mar 23;11(2):133–7.
278. Dietz J, Ulbrich-Kulczynski JM, Souto KEP, Meinhardt NG. Prevalence of upper digestive endoscopy and gastric histopathology findings in morbidly obese patients. *Arq Gastroenterol.* 2012;49(1):52–5.
279. Wolter S, Duprée A, Miro J, Schroeder C, Jansen M-I, Schulze-zur-Wiesch C, et al. Upper Gastrointestinal Endoscopy prior to Bariatric Surgery-Mandatory or Expendable? An Analysis of 801 Cases. *Obes Surg.* 2017 Feb 27;1–6.
280. Onzi TR, d'Acampora AJ, de Araújo FM, Baratieri R, Kremer G, Lyra HF, et al. Gastric histopathology in laparoscopic sleeve gastrectomy: pre- and post-operative comparison. *Obes Surg.* 2014 Mar 25;24(3):371–6.
281. Liew P-L, Lee W-J, Lee Y-C, Chen W-Y. Gastric ghrelin expression associated with *Helicobacter pylori* infection and chronic gastritis in obese patients. *Obes Surg.* 2006 May;16(5):612–9.
282. Mehta R, Birerdinc A, Younossi ZM. Host Genetic Variants in Obesity-Related Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clin Liver Dis.* 2014 Feb;18(1):249–67.
283. Atherton JC. The pathogenesis of *Helicobacter pylori*-induced gastro-duodenal disease. *Annu Rev Pathol Mech Dis.* 2006;1(1):63–96.
284. Cover TL, Blaser MJ. *Helicobacter pylori* in Health and Disease. *Gastroenterology.* 2009;136(6):1863–73.
285. Testerman TL, Morris J. Beyond the stomach: An updated view of *Helicobacter pylori* pathogenesis, diagnosis, and treatment. *World J Gastroenterol.* 2014;20(36):12781–808.

286. Brown LM. *Helicobacter pylori*: epidemiology and routes of transmission. *Epidemiol Rev.* 2000;22(2):283–97.
287. Hooi JKY, Lai WY, Ng WK, Suen MMY, Underwood FE, Tanyingoh D, et al. Global Prevalence of *Helicobacter pylori* Infection: Systematic Review and Meta-Analysis. *Gastroenterology.* 2017 Apr 26;153(2):420–9.
288. Lender N, Talley NJ, Enck P, Haag S, Zipfel S, Morrison M, et al. Review article: Associations between *Helicobacter pylori* and obesity - An ecological study. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014;40(1):24–31.
289. Renshaw AA, Rabaza JR, Gonzalez AM, Verdeja J-C. *Helicobacter pylori* Infection in Patients Undergoing Gastric Bypass Surgery for Morbid Obesity. *Obes Surg.* 2001 Jun 1;11(3):281–3.
290. Papasavas PK, Gagné DJ, Donnelly PE, Salgado J, Urbandt JE, Burton KK, et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection and value of preoperative testing and treatment in patients undergoing laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass. *Surg Obes Relat Dis.* 2008 May;4(3):383–8.
291. Loewen M, Giovanni J, Barba C, al. et, Kessissoglou II, Aidonopoulos AP, et al. Screening endoscopy before bariatric surgery: a series of 448 patients. *Surg Obes Relat Dis.* 2006;4(6):709–12.
292. Boltin D, Niv Y. Ghrelin, *Helicobacter pylori* and body mass: Is there an association?. *Isr Med Assoc J.* 2012;14(2):130–2.
293. Korbonits M, Goldstone AP, Gueorguiev M, Grossman AB. Ghrelin - a hormone with multiple functions. *Front Neuroendocrinol.* 2004 Apr;25(1):27–68.
294. Pradhan G, Samson SL, Sun Y. Ghrelin: much more than a hunger hormone. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2013;16(6):619–24.
295. Ariyasu H, Takaya K, Tagami T, Ogawa Y, Hosoda K, Akamizu T, et al. Stomach

- is a major source of circulating ghrelin, and feeding state determines plasma ghrelin-like immunoreactivity levels in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001 Oct;86(10):4753–8.
296. Choi E, Roland JT, Barlow BJ, O’Neal R, Rich AE, Nam KT, et al. Cell lineage distribution atlas of the human stomach reveals heterogeneous gland populations in the gastric antrum. *Gut.* 2014;1–10.
297. Abdemur A, Slone J, Berho M, Gianos M, Szomstein S, Rosenthal RJ. Morphology, Localization, and Patterns of Ghrelin-producing Cells in Stomachs of a Morbidly Obese Population. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech.* 2014 Apr;24(2):122–6.
298. Maksud FAN, Alves JS, Diniz MTC, Barbosa AJA. Density of ghrelin-producing cells is higher in the gastric mucosa of morbidly obese patients. *Eur J Endocrinol.* 2011;165(1):57–62.
299. Tanaka-Shintani M, Watanabe M. Distribution of ghrelin-immunoreactive cells in human gastric mucosa: comparison with that of parietal cells. *J Gastroenterol.* 2005 May 2;40(4):345–9.
300. Dadan J, Hady HR, Zbucki RŁ, Iwacewicz P, Bossowski A, Kasacka I. The activity of gastric ghrelin positive cells in obese patients treated surgically. *Folia Histochem Cytobiol.* 2009;47(2):307–13.
301. Kasacka I, Arciszewski M, Łebkowski W. Extraordinary level of hormone and number of ghrelin cells in the stomach and duodenum of an obese woman. *Acta Histochem.* 2014 Jan;116(1):230–4.
302. Goitein D, Lederfein D, Tzioni R, Berkenstadt H, Venturero M, Rubin M. Mapping of ghrelin gene expression and cell distribution in the stomach of morbidly obese patients - A possible guide for efficient sleeve gastrectomy

- construction. *Obes Surg.* 2012;22(4):617–22.
303. Gündoğan M, Çalli Demirkan N, Tekin K, Aybek H. Gastric histopathological findings and ghrelin expression in morbid obesity. *Turk Patoloji Derg.* 2013;29(1):19–26.
304. Kasacka I, Arciszewski M, Janiuk I, Lebkowski W. Comparative evaluation of gastric ghrelin cells and levels of hormone in the serum of healthy women and men. *J Biol Regul Homeost Agents.* 27(1):69–78.
305. Feakins RM. Obesity and metabolic syndrome: pathological effects on the gastrointestinal tract. *Histopathology.* 2016 Apr;68(5):630–40.
306. Onzi TR, d'Acampora AJ, De Araújo FM, Baratieri R, Kremer G, Lyra HF, et al. Gastric histopathology in laparoscopic sleeve gastrectomy: Pre- and post-operative comparison. *Obes Surg.* 2014 Mar 25;24(3):371–6.
307. Landsberg L, Aronne LJ, Beilin LJ, Burke V, Igel LI, Lloyd-Jones D, et al. Obesity-Related Hypertension: Pathogenesis, Cardiovascular Risk, and Treatment. *J Clin Hypertens.* 2013 Jan;15(1):14–33.
308. Li ZF, Guo ZF, Cao J, Hu JQ, Zhao XX, Xu RL, et al. Plasma ghrelin and obestatin levels are increased in spontaneously hypertensive rats. *Peptides.* 2010;31(2):297–300.
309. Go O, Liu K, Villarreal D, Spear R, Freeman RH, Reams GP, et al. Obesity Hypertension: Pathophysiological Role of Leptin in Neuroendocrine Dysregulation. *Am J Med Sci.* 2014 Jun;347(6):485–9.
310. Leinonen T, Antero Kesäniemi Y, Hedberg P, Ukkola O. Serum ghrelin and prediction of metabolic parameters in over 20-year follow-up. *Peptides.* 2016;76:51–6.
311. Barazzoni R, Gortan Cappellari G, Semolic A, Ius M, Mamolo L, Dore F, et al.

- Plasma total and unacylated ghrelin predict 5-year changes in insulin resistance. *Clin Nutr.* 2016;35(5):1168–73.
312. Osawa H, Kita H, Ohnishi H, Nakazato M, Date Y, Bowlus CL, et al. Changes in plasma ghrelin levels, gastric ghrelin production, and body weight after *Helicobacter pylori* cure. *J Gastroenterol.* 2006 Nov 9;41(10):954–61.
313. Fak F, Friis-Hansen L, Weström B, Wierup N. Gastric ghrelin cell development is hampered and plasma ghrelin is reduced by delayed weaning in rats. *J Endocrinol.* 2007;192(2):345–52.
314. Williams, Rebecca L; Wood, Lisa G; Collins, Clare E; Morgan, Philip J; Prof RC. Energy homeostasis and appetite regulating hormones as predictors of weight loss in men and women. *Appetite.* 2016;101(1–7).
315. Anderson B, Switzer NJ, Almamar A, Shi X, Birch DW, Karmali S. The impact of laparoscopic sleeve gastrectomy on plasma ghrelin levels: A systematic review. Vol. 23, *Obesity Surgery.* Springer US; 2013. p. 1476–80.
316. Kim SH, Kim JW, Byun J, Jeong JB, Kim BG, Lee KL. Plasma ghrelin level and plasma ghrelin/ obestatin ratio are related to intestinal metaplasia in elderly patients with functional dyspepsia. *PLoS One.* 2017;12(4):e0175231.
317. Preedy VR, Rajenm R, Martin CR. *Metabolism and pathophysiology of bariatric surgery: nutrition, procedures, outcomes and adverse effects.* London, United Kingdom : Academic Press is an imprint of Elsevier; 2016. 1 recurs en línia.
318. Lee W-J, Chen C-Y, Chong K, Lee Y-C, Chen S-C, Lee S-D. Changes in postprandial gut hormones after metabolic surgery: a comparison of gastric bypass and sleeve gastrectomy. *Surg Obes Relat Dis.* 2011 Nov;7(6):683–90.
319. Wang Y, Liu J. Plasma Ghrelin Modulation in Gastric Band Operation and Sleeve Gastrectomy. *Obes Surg.* 2009 Mar 8;19(3):357–62.

320. Janssen S, Laermans J, Verhulst P-J, Thijs T, Tack J, Depoortere I. Bitter taste receptors and α -gustducin regulate the secretion of ghrelin with functional effects on food intake and gastric emptying. *Proc Natl Acad Sci*. 2011 Feb 1;108(5):2094–9.
321. Mizutani M, Atsuchi K, Asakawa A, Matsuda N, Fujimura M, Inui A, et al. Localization of acyl ghrelin- and des-acyl ghrelin-immunoreactive cells in the rat stomach and their responses to intragastric pH. *Am J Physiol Liver Physiol*. 2009;297(5):G974–80.
322. Blatnik M, Soderstrom CI, Dysinger M, Fraser SA. Prandial ghrelin attenuation provides evidence that des-acyl ghrelin may be an artifact of sample handling in human plasma. *Bioanalysis*. 2012 Oct 16;4(20):2447–55.