



VNIVERSITAT DE VALÈNCIA

FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGIA

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular

3102 Programa de Biomedicina y Biotecnología

TESIS DOCTORAL

Antonio Vázquez Tarragón

Dirigida por:

Dr. Guillermo Sáez Tormo

□ Dr. Antonio Vázquez Prado

Valencia 2016

D. GUILLERMO SÁEZ TORMO, Doctor en Medicina y Cirugía y Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad de Valencia

D. ANTONIO VÁZQUEZ PRADO, Doctor en Medicina y Cirugía y Profesor Asociado Asistencial del Departamento de Cirugía de la Facultad de Medicina y Odontología de la Universidad de Valencia

CERTIFICAN que:

D. Antonio Vázquez Tarragón, licenciado en Medicina y Cirugía, ha realizado bajo nuestra dirección el trabajo titulado: “Perfil metabólico y de estrés oxidativo en la obesidad mórbida y su modulación tras cirugía bariátrica. Identificación de nuevos marcadores clínicos” y reúne, según nuestro criterio, las condiciones para presentarlo y ser defendido ante la Comisión correspondiente para optar al grado de Doctor por la Universitat de València.

Y para que así conste firmamos la presente en Valencia, 20 de Junio de 2016.

Fdo: Dr. Guillermo Sáez Tormo

Fdo: Dr. Antonio Vázquez Prado

Este trabajo ha sido financiado en parte por el proyecto PI13/01848, integrado en el Plan Estatal de I+D+I 2013-2016 y cofinanciado por el ISCIII-Subdirección General de Evaluación y el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER).

“Somos como enanos a los hombros de gigantes. Podemos ver más, y más lejos que ellos, no por la agudeza de nuestra vista ni por la altura de nuestro cuerpo, sino porque somos levantados por su gran altura.”

Bernardo de Chartres

A mi padre, el gigante que me ha llevado a hombros toda la vida.

Quisiera expresar mi agradecimiento en primer lugar a mis directores de tesis, al Doctor Guillermo Sáez Tormo por abrirme las puertas de su equipo de trabajo y permitirme formar parte de él y al Doctor Antonio Vázquez Prado por su total entrega en el proyecto, su constancia y su meticulosidad.

Quisiera también agradecer a Concha Cerdá y a Lidia Monzó por su ayuda fundamental durante todo este trabajo

También me gustaría agradecer a los miembros de la Sección de Cirugía Esofagástrica y de Obesidad Mórbida del Hospital General Universitario de Valencia por su ayuda en el seguimiento de los pacientes y en especial al Dr. José Puche por su ayuda con los datos y por estar siempre disponible para echar una mano.

Y por supuesto agradecer a mi familia; a mis padres y a mi hermano, a Pilar y mis hijos por su apoyo incondicional y su cariño diario.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN.

I.1. ESTRÉS OXIDATIVO	1
I.1.1. Radicales libres.	2
I.1.2. Intermediarios Reactivos de Oxígeno y Nitrógeno.	2
I.1.3. Sistemas y mecanismos antioxidantes.	7
I.1.4. Acciones y consecuencias biológicas y moleculares de los RL.	15
I.1.5. Biomarcadores de estrés oxidativo.	19
I.1.6. Efectos del EO en la salud humana.	25
I.1.7. EO, obesidad y síndrome metabólico.	31
I.1.8. EO, obesidad y diabetes tipo 2 (DM2).	35
I.1.9. EO, obesidad y dislipidemias.	36
I.2. OBESIDAD MÓRBIDA	36
I.2.1. Concepto, clasificación en importancia social.	36
I.2.2. Etiopatogenia e implicaciones fisiopatológicas.	41
I.2.3. Tratamiento.	55
I.3. OBESIDAD, INFLAMACIÓN Y ESTRÉS OXIDATIVO	67
II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	76
II.1. HIPÓTESIS	76
II.2. OBJETIVOS	78
III. MATERIAL Y MÉTODO.	80
III.1. DISEÑO DEL ESTUDIO.	80
III.2. POBLACIÓN A ESTUDIO.	80
III.3. TAMAÑO DE LA MUESTRA.	81
III.4. CONSIDERACIONES ÉTICAS.	82
III.5. GRUPO CONTROL DE EO.	82
III.6. MÉTODO.	82
III.6.1. Circuito preoperatorio.	83

III.6.2. Exploraciones preoperatorias.	85
III.6.3. Técnica quirúrgica.	86
III.6.4. Controles postoperatorios inmediatos.	88
III.6.5. Seguimiento ambulatorio.	89
III.6.6. Determinación de metabolitos marcadores de EO.	94
III.6.6.1. Recogida y procesamiento de las muestras.	94
III.6.6.2. Determinación de 8-oxo-dG mediante HPLC-EC.	96
III.6.6.3. Determinación de MDA mediante HPLC-UV.	99
III.6.6.4. Determinación de 8-isoprostanos.	100
III.6.6.5. Determinación de la actividad enzimática de SOD.	101
III.6.6.6. Determinación de la actividad enzimática de Catalasa.	103
III.6.6.7. Determinación de la actividad de GSH y GSSG.	104
III.6.6.8. Determinación de la actividad de la GPx.	107
III.7. METODOLOGÍA ESTADÍSTICA Y SOPORTE INFORMÁTICO.	109
IV. RESULTADOS.	111
IV.1. CARACTERÍSTICAS BASALES DE LOS PACIENTES.	111
IV.2. MORBILIDAD QUIRÚRGICA.	112
IV.2.1. Morbilidad precoz (postoperatoria).	112
IV.2.2. Morbilidad tardía.	113
IV.3. EVOLUCIÓN PONDERAL.	114
IV.3.1. Peso e IMC.	114
IV.3.2. Valor del PSP y del PPEIMC.	117
IV.4. EVOLUCIÓN DE LAS COMORBILIDADES.	120
IV.4.1. Evolución de parámetros bioquímicos y metabólicos.	120
IV.4.2. Evolución de las comorbilidades.	123
IV.4.3. Control de calidad: sistema BAROS.	124
IV.5. VALORES BASALES DE LOS METABOLITOS DE EO.	125
IV.6. CAMBIOS EVOLUTIVOS EN LOS METABOLITOS DEL EO.	126
IV.6.1. Valores de la 8-oxo-dG en suero.	127
IV.6.2. Valores de la 8-oxo-dG en orina.	128

IV.6.3. Valores del Malondialdehído (MDA) en sangre.	129
IV.6.4. Valores del Glutati3n oxidado (GSSG) en sangre.	130
IV.6.5. Valores del cociente glutati3n oxidado/glutati3n reducido (GSSG/GSH) en sangre.	131
IV.6.6. Valores de los Isoprostanos.	132
IV.6.7. Valores del Glutati3n reducido (GSH) en sangre.	133
IV.6.8. Valores de la super3xido-dismutasa (SOD) en sangre.	134
IV.6.9. Valores de la Catalasa (CAT) en sangre.	135
IV.6.10. Valores de la Glutati3n peroxidasa (GPx) en sangre.	136
IV.6.11. Correlaciones entre marcadores de EO y marcadores cl3nicos.	137
IV.6.12. Correlaciones entre la evoluci3n de los diferentes biomarcadores analizados.	145
V.DISCUSI3N.	151
V.1. TECNICA QUIR3RGICA.	151
V.2. COMPLICACIONES DE LA CIRUGIA.	154
V.3. EVOLUCI3N PONDERAL.	156
V.4. EVOLUCI3N DE LAS PATOLOGIAS ASOCIADAS A LA OBESIDAD.	159
V.5. ALTERACIONES METABOLICAS.	163
V.6. RELACI3N ENTRE ESTR3S OXIDATIVO Y OBESIDAD.	163
V.7. EO y COMORBILIDADES.	172
V.7.1. S3ndrome de apnea-hipoventilaci3n (SAOS-SAHS).	172
V.7.2. DM.	174
V.7.3. HTA.	177
V.7.4. Dislipidemia.	180
V.8. EVOLUCI3N DE LOS METABOLITOS DE EO.	181
V.9. COMENTARIO FINAL.	189
VI. CONCLUSIONES.	193
VII. BIBLIOGRAFIA.	194

ABREVIATURAS.

AA: Ácido araquidónico

ACTH: Hormona adrenocorticotropa

ADN: Ácido desoxirribonucleico

ARN: Ácido ribonucleico

ASA: American Society of Anesthesiologists

BAROS: *Bariatric Analysis and Reporting Outcome System*

CAT: Catalasa

CHGUV: Consorcio Hospital General Universitario de Valencia

COX: Ciclo-oxigenasa

CPAP: Presión positiva continua en la vía aérea.

DM2: Diabetes Mellitus tipo 2

DTNB: *Ellman's Reagent* (ácido 5,5'-dithio-bis-[2-nitrobenzoico])

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético

EO: Estrés Oxidativo

G6PD: Glucosa 6 fosfato

GSH: Glutación reducido

GSSG: Glutación oxidado

GPx: Glutación peroxidasa

GR: Glutación reductasa

GV: Gastrectomía Vertical

GVL: Gastrectomía Vertical Laparoscópica

H⁺: Hidrógeno (protón)

HDL: Lipoproteínas de alta densidad

HIF: Factor inducible por hipoxia

HOMA: *Homeostatic Model Assessment*

HPLC: Cromatografía líquida de alta resolución

HPLC-EC: Cromatografía líquida de alta resolución con detección electroquímica

HPLC-UV: Cromatografía líquida de alta resolución con detección ultravioleta

HTA: Hipertensión arterial
H₂O₂: Peróxido de hidrógeno
IFSO: Federación Internacional de Cirugía de la Obesidad
IGF-1: *Insuline growth factor*
IL: Interleuquina
IMC: Índice de masa corporal
LDL: Lipoproteínas de bajo densidad
LEP: Leptina
LRYGB: *Laparoscopic Roux en Y gastric by-pass*
MDA: Malondialdehido
MES: Ácido 2-(*N* morfolino) etanosulfónico
NADPH-oxidasa: Nicotinamida-Adenin-Dinucleótido-Fosfato-Oxidasa
NF-κB: Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas
NO: Óxido nítrico
NPY: Neuropeptido Y
O₂: Oxígeno
O₂^{·-}: Anión superóxido
OM: Obesidad Mórbida
OMS: Organización Mundial de la Salud
ONOO⁻: Peroxinitrito
PAS: Presión Arterial Sistólica
PAD: Presión Arterial Diastólica
PAI-1: Plasminógeno tipo 1
PBS. *Phosphate buffered saline*. Tampón fosfato salino
PCR: Proteína C Reactiva
PGI: Prostaciclina
PIA: presión intra-abdominal
PKC: Protein-quinasa C
PPEIMC: Porcentaje Perdido del Exceso de IMC

PSP: Porcentaje de Sobrepeso Perdido
RGE: Reflujo gastroesofágico
RI: Resistencia Insulínica
RL: Radicales Libres
ROS: Especies Reactivas de Oxígeno
RNS: Especies Reactivas del Nitrógeno
RONS: Especies Reactivas del Oxígeno y Nitrógeno
SAOS: Síndrome de Apnea Obstructiva del Sueño
SECO: Sociedad Española de Cirugía de la Obesidad
SEEDO: Sociedad Española para el Estudio De la Obesidad
SM: Síndrome Metabólico
SNC: Sistema Nervioso Central
SOD: Super Óxido Dismutasa
TBA: Ácido Tiobarbitúrico
TEGD: Tránsito Esófago-Gastro-Duodenal
TNF- α : Factor Tumoral de Necrosis alfa
VLDL: Lipoproteínas de muy baja densidad
8-oxo-dG: 8-oxo-desoxiguanosina

FIGURAS.

- Figura 1. Vías de producción de los RL según las diferentes rutas.
- Figura 2. Esquema del ciclo de reducción y oxidación del glutatión.
- Figura 3. Estrategia antioxidante.
- Figura 4. Productos de ROS y su actividad en el organismo.
- Figura 5. Fórmula del MDA: $C_3H_4O_2$.
- Figura 6. Vía de producción de los isoprostanos.
- Figura 7. Fórmula de la molécula de 8-oxo-dG ($C_{10}H_{13}N_5O_5$).
- Figura 8. Alteraciones/patologías más frecuentes relacionadas con la obesidad.
- Figura 9. Esquema de la banda gástrica ajustable.
- Figura 10. Esquema de la GV.
- Figura 11. Esquema del *by-pass* gástrico.
- Figura 12. Esquema de la derivación biliopancreática estándar.
- Figura 13. Esquema de la derivación biliopancreática con cruce duodenal.
- Figura 14. Esquema de la gastrectomía vertical laparoscópica.
- Figura 15. Esquema del ensayo de la SOD.
- Figura 16. Reacción de reciclaje del GSH.

GRÁFICAS.

- Gráfica 1. Representación del peso al inicio y final del estudio en cada uno de los pacientes.
- Gráfica 2. Evolución del IMC, PSP y PPIMC a lo largo de los periodos estudiados.
- Gráfica 3. Representación lineal de los valores del 8-oxo-dG en suero, del GSSG y MDA a lo largo del estudio.
- Gráfica 4. Representación lineal de los valores de la GPx, SOD y GSH a lo largo del estudio.
- Gráfica 5. Diagramas de los valores de 8-oxo-dG en suero a lo largo del periodo estudiado.
- Gráfica 6. Diagramas de los valores de 8-oxo-dG en orina a lo largo del periodo estudiado.
- Gráfica 7. Diagrama de la evolución de los valores de la MDA.
- Gráfica 8. Diagrama de la evolución de los valores del GSSG.
- Gráfica 9. Diagrama de la evolución del cociente GSSG/GSH.
- Gráfica 10. Diagrama de la evolución de isoprostanos a lo largo del periodo.
- Gráfica 11. Diagrama de la evolución del GSH.
- Gráfica 12. Diagrama de la evolución de la SOD a lo largo del periodo de estudio.
- Gráfica 13. Diagrama de la evolución de la Catalasa a lo largo del periodo.
- Gráfica 14. Diagrama de la evolución de la GPx durante el estudio.
- Gráfica 15. Correlación entre los valores del peso y PSP y la 8-oxo-dG en orina.
- Gráfica 16. Correlación entre la glucosa, insulina e índice HOMA con la 8-oxo-dG en orina.
- Gráfica 17. Relación de la 8-oxo-dG en orina con la 8-oxo-dG en plasma, con la GSH, Isoprostanos, SOD, Catalasa y MDA.

TABLAS.

- | | |
|--------------|--|
| Tabla I. | Especies reactivas del oxígeno y nitrógeno. |
| Tabla II. | Otros componentes del SM. |
| Tabla III. | Clasificación de los distintos grados de peso/obesidad según la SEEDO. |
| Tabla IV. | Controles periódicos durante el seguimiento ambulatorio de los pacientes. |
| Tabla V. | Criterios de mejoría y remisión de las comorbilidades mayores. |
| Tabla VI. | Determinaciones analíticas sanguíneas de control evolutivo. |
| Tabla VII. | Comorbilidades presentes en los 21 pacientes de la serie previamente a la cirugía. |
| Tabla VIII. | Evolución del peso a lo largo de los periodos estudiados. |
| Tabla IX. | Evolución del IMC a lo largo de los periodos estudiados. En negrita, en la última fila se muestran los valores medios de cada periodo. |
| Tabla X. | Evolución del PSP en los pacientes en cada uno de los periodos del estudio. |
| Tabla XI. | Valores del PPEIMC a lo largo del estudio. |
| Tabla XII. | Valores medios de los parámetros ponderales estudiados a lo largo de los distintos periodos. |
| Tabla XIII. | Resultados finales del peso según la clasificación de Reinhold. |
| Tabla XIV. | Valores medios de los parámetros bioquímico/metabólicos de riesgo cardiovascular. |
| Tabla XV. | Valores de los metabolitos de EO en el grupo casos y en el grupo control. |
| Tabla XVI. | Valores medios de los distintos metabolitos de EO. |
| Tabla XVII. | Valores de correlación entre el peso e IMC y los diferentes metabolitos. |
| Tabla XVIII. | Relaciones entre el PSP y PPEIMC con los diferentes metabolitos. |
| Tabla XIX. | Relación de la glucosa e insulina con los metabolitos estudiados. |

- Tabla XX. Relación del índice HOMA y triglicéridos con los metabolitos estudiados.
- Tabla XXI. Relaciones de la SOD y GPx con el resto de metabolitos.
- Tabla XXII. Relaciones de los Isoprostanos y MDA con el resto de metabolitos.
- Tabla XXIII. Relaciones de la Catalasa y 8-oxo-dG en orina con el resto de metabolitos.
- Tabla XXIV. Relaciones de la 8-oxo-dG y GSH en plasma con el resto de metabolitos.
- Tabla XXV. Relaciones de la GSSG y fracción GSSG/GSH con el resto de metabolitos.

I. INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

I.1. ESTRÉS OXIDATIVO.

El estrés oxidativo (EO) es la alteración del equilibrio existente en el organismo entre la acción de los agentes oxidantes, principalmente los derivados del oxígeno (O_2) y los agentes antioxidantes, a favor de los primeros y la repercusión que ello tiene en las diferentes estructuras celulares del organismo ⁽¹⁾. Se puede definir como una “oxidación de moléculas vitales con modificación de su estructura y función, responsable con el paso del tiempo, del deterioro y claudicación de los distintos aparatos y sistemas de los seres vivos”.

Los agentes oxidantes pueden tener origen exógeno, como por ejemplo las radiaciones ionizantes, pesticidas, combustibles, etc, y endógeno, siendo las especies reactivas de oxígeno (ROS) los más nocivos, pues son muy reactivos y pueden reaccionar con cualquier molécula del organismo, entre otras con los ácidos grasos libres poli-insaturados, dando lugar a reacciones en cadena de lipoperoxidación con las proteínas, oxidando sus aminoácidos y también con los ácidos nucleicos ocasionando mutaciones.

Los procesos metabólicos endógenos pueden ser enzimáticos y no enzimáticos. Entre los primeros se encuentra la cadena respiratoria mitocondrial, la fagocitosis, la síntesis de prostaglandinas y el sistema del citocromo P-450. Entre los no enzimáticos se encuentra la reacción del oxígeno con compuestos orgánicos y las iniciadas por reacciones ionizantes ⁽²⁾.

El oxígeno, elemento del que depende la vida de las células aeróbicas, es también responsable de su degeneración progresiva y

por tanto, de las alteraciones orgánicas y funcionales que acontecen en los seres vivos desde las etapas más tempranas de su desarrollo hasta su vejez.

I.1.1. Radicales libres.

Los radicales libres (RL) son moléculas que presentan uno o más electrones no apareados en los orbitales de su estructura atómica. Esta característica los convierte en moléculas muy inestables y sumamente reactivas. Presentan una tendencia a donar o aceptar un electrón de otras moléculas comportándose así como oxidantes o reductores ⁽³⁾.

Cuando un radical libre logra reaccionar con otra molécula más estable adquiere un electrón de esta, logrando estabilizarse e induciendo la formación de un radical libre en la otra molécula, que será capaz a su vez de accionar con otras moléculas generando una larga cadena de sucesivas reacciones de propagación hasta la fase de terminación, bien por acción de un antioxidante o bien porque dos radicales libres reaccionan entre sí apareando sus electrones, finalizando así el proceso. Todo ello conlleva cambios estructurales y/o funcionales con importante repercusión tanto a nivel celular como tisular y orgánico.

I.1.2. Intermediarios Reactivos de Oxígeno y Nitrógeno.

Son moléculas altamente reactivas que se forman de manera natural como subproducto del metabolismo del oxígeno (ROS) y del nitrógeno (RNS) y que tienen importantes funciones de señalización celular ⁽⁴⁾.

Los RONS engloban a radicales libres como el superóxido y a moléculas que no son radicales libres pero que también tienen una alta capacidad reactiva y que participan en las reacciones de radicales libres como son el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el ácido hipocloroso (HOCl).

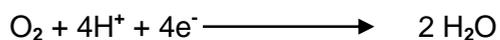
La formación de ROS se produce de manera continuada en la célula como intermediarios y/o subproductos en el ciclo de producción de la energía, principalmente a través de la cadena de respiración mitocondrial y en el retículo endoplasmático ⁽⁵⁾. También se producen en los neutrófilos y macrófagos durante procesos inflamatorios y otros procesos de la actividad metabólica normal de la célula ⁽⁶⁾.

A pesar de la alta capacidad que poseen los agentes oxidantes para ocasionar lesiones en la célula, en condiciones normales el daño que producen es mínimo o nulo ya que su formación está regulada y controlada por reacciones que en su mayoría están catalizadas por enzimas (estrategia antioxidante).

En la siguiente tabla (Tabla I) se muestran las diferentes especies reactivas derivadas del oxígeno y del nitrógeno.

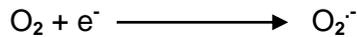
Tabla I. Especies reactivas del oxígeno y nitrógeno.		
	ROS	RNS
RL	Superoxido ($O_2^{\cdot-}$)	Óxido nítrico (NO)
	Hidroxilo OH^{\cdot}	Dióxido de nitrógeno NO_2^{\cdot}
	Peroxilo RO_2^{\cdot}	
	Alcoxilo RO^{\cdot}	
	Hidroperoxilo HO_2^{\cdot}	
No RL	Peróxido de hidrógeno H_2O_2	Ácido nitroso HNO_2
	Ácido hipocloroso $HOCl$	Catión nitroso NO^+
	Ácido hipobromoso $HOBr$	Anión nitroxilo NO^-
	Ozono O_3	Tetróxido de dinitrógeno N_2O_4
	Oxígeno singlete	Trióxido de dinitrógeno N_2O_3
		Peroxinitrito $ONOO^{\cdot}$
		Ácido peroxinitroso $ONOOH$
		Catión nitrilo NO_2^+
	Alkyl peroxinitritos $ROONO$	

El 95% del oxígeno que consumimos se transforma en agua, sin formación de intermediarios tóxicos, por acción de la citocromo-oxidasa mediante la vía de la reducción tetravalente, según la fórmula:



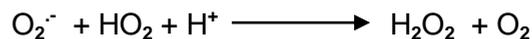
Solamente entre el 1 y 5% escapa de esta vía y sufre una reducción univalente dando lugar a la formación de ROS.

En un primer paso el O_2 es reducido a un radical superóxido según la reacción:



Cuando esta reacción se genera en los fagocitos, depende de la nicotinamida-adenin-dinucleótido-fosfato-oxidasa (NADPH-oxidasa), y cuando se genera en la mitocondria depende de la nicotinamida-adenin-dinucleótido-fosfato-deshidrogenasa (NADH-deshidrogenasa) (complejo I) y del coenzima Q (complejo III).

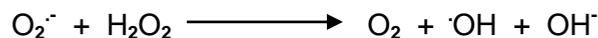
El anión superóxido ($O_2^{\cdot -}$) es transformado en peróxido de hidrógeno (H_2O_2) por la acción de la superoxidodismutasa (SOD), según las siguientes reacciones:



Si bien la molécula resultante es mucho menos reactiva que el anión superóxido, tiene capacidad para reaccionar con metales bivalentes libres o unidos a proteínas, como el cobre (Cu) y el hierro (Fe), dando lugar a la formación de radicales hidróxilos ($\cdot OH$) mediante la reacción de Fenton:

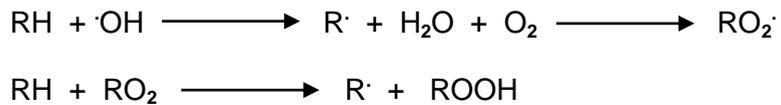


También puede reaccionar con el radical superóxido dando lugar igualmente a la formación de radicales hidróxilos mediante la reacción de Haber-Weiss:



El radical hidroxilo producido es una molécula de vida media muy corta y muy reactiva, de hecho es el oxidante más potente de

los sistemas biológicos, debido a lo cual su difusión es mínima ya que reacciona allí donde se produce. Es capaz de reaccionar con los ácidos grasos libres (RH) de la membrana celular induciendo toda una serie de reacciones en cadena conocidas como lipoperoxidación, con formación de radicales intermedios tal como el radical peroxilo ($\text{RO}_2\cdot$) y el radical alcoxilo ($\text{RO}\cdot$), que tienen una mayor capacidad de difusión que el radical hidróxilo:

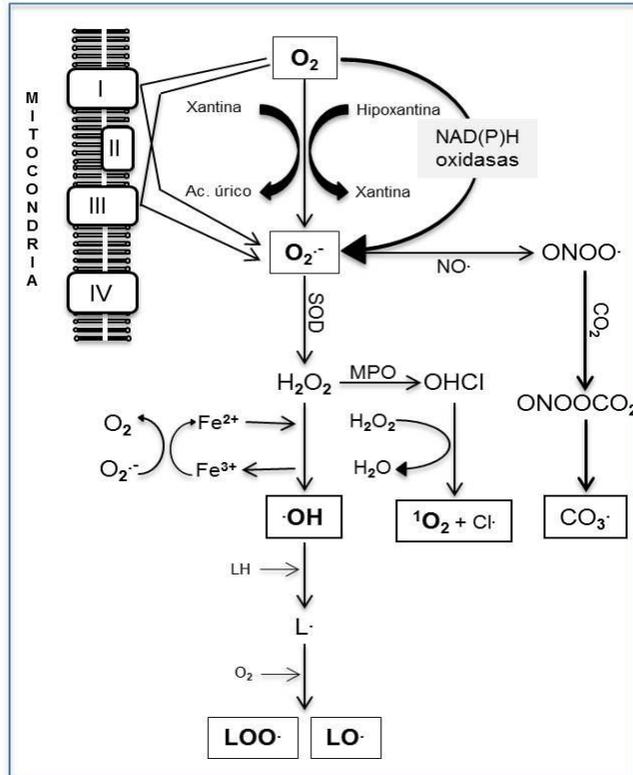


Estas reacciones pueden llevar a la muerte celular al alterar la integridad de la estructura y permeabilidad de su membrana. Asimismo puede reaccionar con bases nitrogenadas a nivel nucleico ocasionando mutaciones en la célula ⁽⁷⁾.

El anión superóxido puede reaccionar con el óxido nítrico (NO) dando lugar a peroxinitrito (ONOO^-) disminuyendo su disponibilidad e inactivando la superóxido dismutasa (SOD) y activando la lipoperoxidación lipídica y la S-nitrosilación de residuos específicos de cisteína, con la consiguiente alteración de las proteínas.

En la figura siguiente (Figura 1) se muestran las diferentes vías de producción endógena de ROS/RNS.

Figura 1. Vías de producción de los RL según las diferentes rutas.



I.1.3. Sistemas y mecanismos antioxidantes.

Un antioxidante es una molécula lo suficientemente estable para donar un electrón a un radical libre, neutralizándolo y disminuyendo así su potencial nocivo.

Los antioxidantes reaccionan de manera segura con los radicales libres y terminan las reacciones en cadena antes de que se produzca daño celular por lo que tienen una importante función homeostática.

Muchos de ellos se producen en nuestro organismo durante el metabolismo normal, como por ejemplo el ácido úrico, el glutatión y otros enzimas, mientras que otros necesitamos obtenerlos de la dieta, como por ejemplo el tocoferol o el ácido ascórbico.

Los antioxidantes pueden ser enzimáticos, de estructura compleja y elevada masa molecular, y no enzimáticos, de menor tamaño y peso molecular. Ambos tipos están presentes en el medio intra y extracelular para depurar los ROS. Los antioxidantes actúan eliminando radicales libres, donando hidrógeno y electrones, descomponiendo peróxidos, desactivando anión oxígeno, como inhibidores de enzimas, agentes sinérgicos y agentes quelantes de metales, así como reguladores de la expresión génica.

Se han formulado dos mecanismos de acción principales para los antioxidantes, el primero de ellos es un mecanismo de ruptura de cadena por el cual el antioxidante dona un electrón a un radical libre presente en nuestro organismo. El segundo mecanismo conlleva la eliminación de iniciadores de la formación de ROS/RNS, neutralizando el catalizador de la cadena de inicio.

La acción antioxidante tiene lugar en diversos niveles. En un primer nivel actúan los antioxidantes preventivos, los cuales suprimen la formación de radicales libres, en cuya producción la descomposición de hidroperóxidos y de peróxido de hidrógeno parece ser una de las fuentes principales.

Para contrarrestar dichas reacciones algunos antioxidantes reducen hidroperóxidos y peróxido de hidrógeno a alcoholes y agua respectivamente sin generar radicales libres.

La glutatión-peroxidasa, glutatión-s-transferasa, fosfolípido-hidroxiperóxido-glutatión-peroxidasa y la peroxidasa, descomponen los lipohidroperóxidos a sus correspondientes alcoholes, mientras que la glutatión-peroxidasa y la catalasa reducen el peróxido de hidrógeno a agua. Asimismo, algunas proteínas actúan secuestrando iones metálicos, disminuyendo su disponibilidad para formar radicales libres.

En un segundo nivel actúan los antioxidantes que neutralizan radicales libres activos para inhibir o suprimir la cadena de iniciación o romper la cadena de reacciones de propagación. Aquí actúan antioxidantes hidrofílicos como la vitamina C, el ácido úrico, bilirrubina, albúmina y los tioles y lipofílicos como la vitamina E y el ubiquinol.

La tercera línea de defensa es la reparación y los antioxidantes *de novo*: las enzimas proteolíticas, proteinasas, proteasas y peptidasas que están presentes en el citosol, y que en la mitocondria reconocen, degradan y eliminan proteínas oxidadas para prevenir su acumulación. Aun así, las defensas antioxidantes no evitan por completo los ataques de las especies reactivas.

Los mecanismos de reparación del ADN juegan un papel muy importante en la defensa del organismo frente al estrés oxidativo. Se conocen diversas enzimas como las glicosilasas y nucleasas que reparan el ADN dañado y que se encargan, como lo hace la 8-oxoguanina-glicosilasa¹, de evitar la acumulación de 8-oxo-desoxiguanosina (8-oxo-dG), que es la base derivada del daño oxidativo del ADN la cual es mutagénica.

La adaptación es un mecanismo mediante el cual la señal de producción y reacciones de radicales libres induce la formación y el transporte del antioxidante adecuado al sitio correcto.

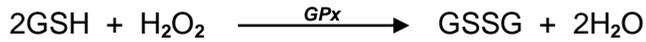
Entre los antioxidantes enzimáticos, debemos destacar:

- Superóxido dismutasa (SOD). Son un grupo de enzimas relacionadas entre sí que catalizan la ruptura y transformación del anión superóxido en anión oxígeno y peróxido de hidrógeno. Se encuentran presentes en casi todas las células aeróbicas y fluidos extracelulares, aumentando su concentración con la exposición a gradientes superiores de presión de oxígeno.

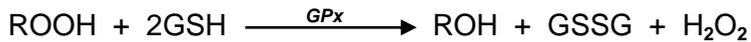
Existen tres familias de SOD en función del metal que utilicen como co-factor: la SOD1, que es un dímero localizado en el citoplasma y que contiene Cu y Zn, la SOD2 que es un tetrámero localizado en la mitocondria y que contiene Mn en su centro reactivo y la SOD3 que es otro tetrámero presente en los fluidos extracelulares y que contiene Cu y Zn.

- Catalasa. Se encuentra presente en todo el organismo, principalmente en el hígado, donde la hallamos en altas concentraciones y cataliza la descomposición del peróxido de hidrógeno en anión oxígeno y agua, evitando de esta forma la unión del peróxido de hidrógeno con metales de transición para la formación de radicales hidroxilo, mucho más reactivos y dañinos.

- Sistemas glutatión. Incluye el glutatión, la glutatión-reductasa y la glutatión-peroxidasa. La glutatión peroxidasa es un enzima que contiene cuatro co-factores de Selenio y que cataliza la descomposición de peróxido de hidrógeno a agua:



Así mismo cataliza la descomposición de los hidroxiperóxidos orgánicos a alcoholes estables y agua, mediante la oxidación del glutatión-reducido (GSH) a glutatión oxidado (GSSG):



Se encuentra presente en todos los órganos y tejidos y para su función utiliza el glutatión oxidado (GSSG) obtenido de la acción de la glutatión-reductasa como donante de electrones, es decir que se encarga de regenerar el GSH consumido, lo cual resulta clave en la acción antioxidante:



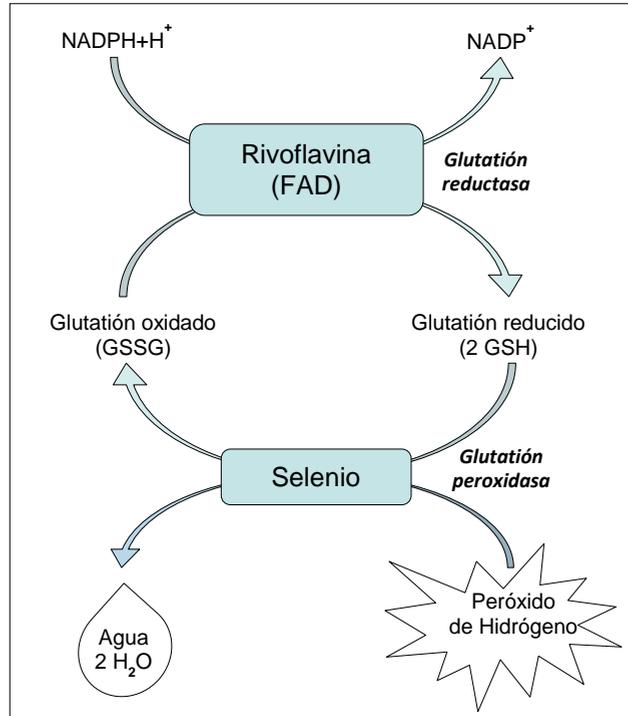
La regeneración de la nicotinamida-adenina-dinucleótido-fosfato (NADP^+), que es necesaria para mantener el glutatión en estado reducido (GSH), está catalizado por la glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa:



En la figura 2 se muestra el esquema del ciclo de reducción y oxidación del glutatión, en el cual una molécula de peróxido de hidrógeno se reduce en dos moléculas de agua, mientras que dos moléculas de glutatión (GSH) se oxidan en una reacción catalizada por la seleno-enzima glutatión-peroxidasa.

El glutatión oxidado (GSSG) puede ser reducido por la enzima glutatión-reductasa, dependiente de flavina-adenina-dinucleótido (FAD). Todos estos enzimas se encuentran en elevadas concentraciones en el hígado donde participan en los procesos de detoxificación.

Figura 2. Esquema del ciclo de reducción y oxidación del glutatión.



Los antioxidantes no enzimáticos más importantes son:

- **Ácido ascórbico (Vitamina C).** Es un monosacárido antioxidante. No puede ser sintetizado en humanos por lo que se ha de obtener de la dieta. En la célula se encuentra en su forma reducida por reacción con el glutatión, reacción catalizada por la proteína-disulfido-isomerasa y por las glutaredoxinas. Presenta una configuración en la que los grupos hidróxilos funcionan como agentes con elevado poder reductor, lo que le permite participar en la

reducción directa del oxígeno, funcionando así como sustrato donante en las reacciones de las peroxidasa.

- Glutación. Es un tripéptido compuesto por cisteína, ácido glutámico y lisina que participa como donante de grupos γ -glutamilos en las reacciones del metabolismo de los aminoácidos. Funciona como un potente antioxidante al ceder electrones desde su grupo sulfidrilo a una especie oxidada.

En las células se mantiene en un 98% en su forma reducida (GSH) por acción de la glutatión-reductasa y a su vez reduce otros metabolitos y sistemas enzimáticos además de reaccionar directamente con agentes oxidantes. Es uno de los más importantes antioxidantes celulares por su alta concentración y su papel central en el mantenimiento del estado de óxido-reducción celular.

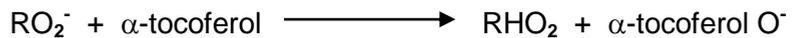
El GSH tiene diversas funciones fisiológicas, destacando las funciones protectoras, tales como la detoxificación de xenobióticos, frente a las radiaciones, a la formación de cataratas y frente al estrés oxidativo. También participa en procesos metabólicos como la síntesis del ADN, regulación de la síntesis de proteínas y de la proteólisis, de la gluconeogénesis y de la vía de las pentosas-fosfato, homeostasis del calcio, síntesis de leucotrienos, mantenimiento del *estatus* tiólico en la membrana celular, reservorio de cisteína y modificación de la estructura de la hemoglobina.

El glutatión también tiene un papel importante en diferentes procesos de transporte, tal como la liberación de neurotransmisores y secreción de hormonas polipeptídicas, función de la insulina y de la hormona paratiroidea.

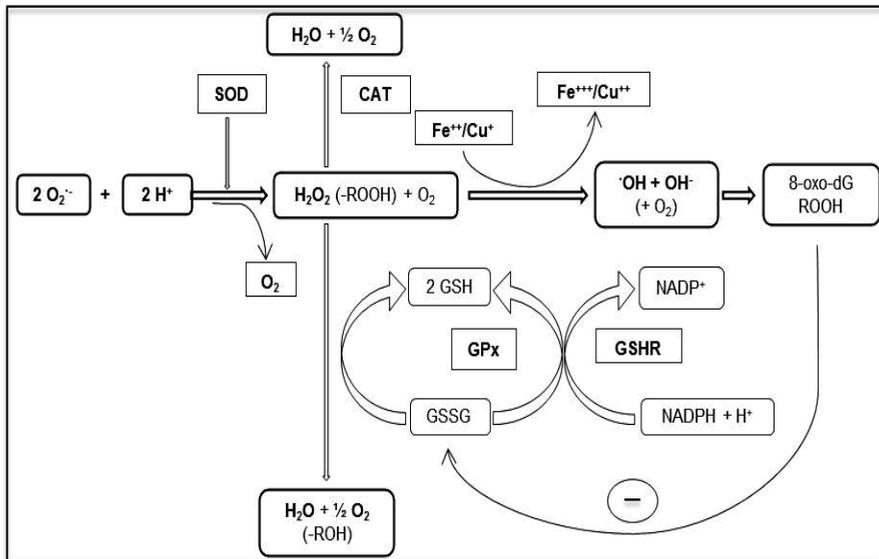
- Vitamina E. Es el nombre colectivo utilizado para un grupo de ocho tocoferoles y tocotrienoles relacionados entre sí y que son vitaminas liposolubles con poder antioxidante.

De todos ellos, el α -tocoferol es el que posee una mayor biodisponibilidad debido a que el cuerpo humano lo absorbe preferiblemente esta forma, siendo el antioxidante liposoluble más importante.

Protege la membrana celular reaccionando con los radicales lipídicos derivados de las reacciones en cadena de la lipoperoxidación ⁽⁸⁾, es decir elimina radicales intermediarios y evita que continúe la reacción de propagación.



Esta reacción produce radicales α -tocoferoxilos oxidados, que vuelven después a su forma reducida por la acción de otros antioxidantes como el GSSG, ascorbato, ácido úrico o el retinol ⁽⁹⁾. En la figura 3 se muestra el conjunto de reacciones que podemos denominar como estrategia antioxidante.

Figura 3. Estrategia antioxidante.

I.1.4. Acciones y consecuencias biológicas y moleculares de los RL.

En condiciones normales los radicales libres desempeñan funciones de regulación en gran cantidad de procesos metabólicos, de expresión génica y de defensa, pero alteraciones en su concentración, localización o de los mecanismos antioxidantes que los controlan, pueden redundar en graves efectos adversos para los sistemas biológicos.

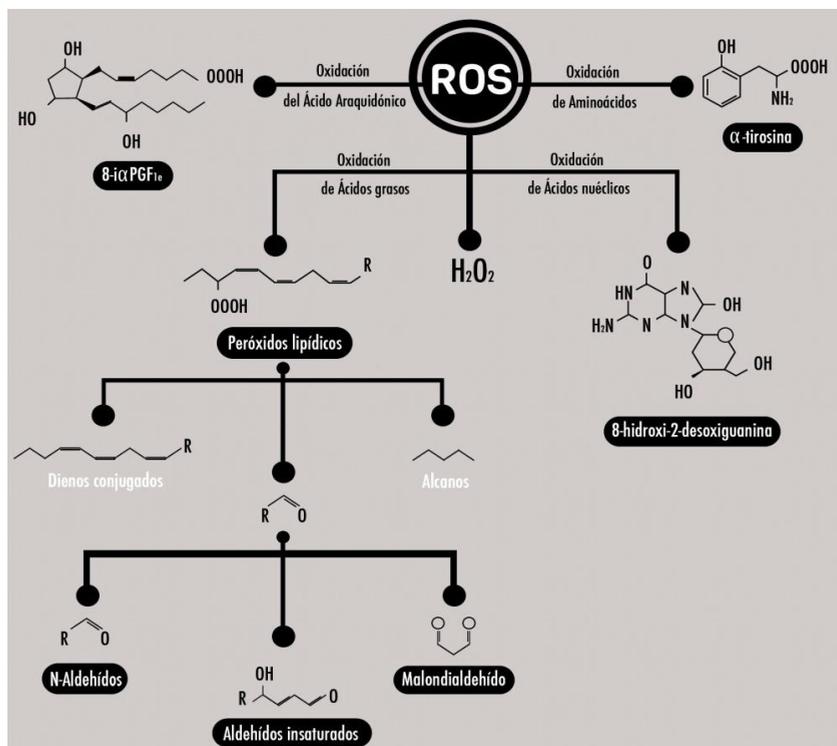
La producción intracelular de ROS/RNS es un elemento muy importante dentro de las cascadas de señalización celular que regulan diversos procesos fisiológicos tal como la regulación del tono vascular, la regulación positiva y negativa la síntesis de insulina, la

proliferación, diferenciación y migración celular o la activación del factor inducible por hipoxia (HIF).

El O_2^- mitocondrial ha sido relacionado con la regulación de diversas vías inflamatorias como la activación del inflamasoma ⁽¹⁰⁾, la regulación de citoquinas inflamatorias como la interleucina 6 (IL-6) y mecanismos de inmunidad innata. Algunos estudios sugieren que los ROS mitocondriales y sobretodo el O_2^- son capaces de activar la NADPH-oxidasa vía activación de la protein-quinasa C (PKC).

EL H_2O_2 ha sido relacionado con la regulación de la transcripción de genes dependiente del factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NF-kB) así como con el desarrollo de las células beta. Otros estudios ponen en evidencia el impacto del peroxinitrito en las vías fisiológicas reguladas por la tirosin-fosforilación y defosforilación ⁽¹¹⁾.

La capacidad de los ROS/RNS para reaccionar con casi cualquier molécula de nuestro organismo induce cambios en ellas y por tanto en la función biológica que desempeñan, de hecho, en situaciones de estrés, moléculas vitales como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos ven alterada su integridad estructural y su función biológica, lo cual puede conducir a la apoptosis celular. En la figura 4 se muestra los productos de especies reactivas de oxígeno (ROS) y su actividad en el organismo.

Figura 4. Productos de ROS y su actividad en el organismo.

1. Peroxidación lipídica. Ocurre por la acción de radicales libres sobre los ácidos grasos poli-insaturados presentes en la membrana plasmática. El radical hidroxilo inicia esta cadena reaccionando con el ácido graso captando un átomo de hidrógeno y dando lugar así a la formación de un radical lipídico, el cual, al reaccionar con el oxígeno, da lugar al radical peroxilo altamente reactivo y capaz de atacar a otro ácido graso poli-insaturado, dando lugar a la formación de hidroperóxidos lipídicos y un nuevo radical, propagando así la cadena.

Esta serie de reacciones en cadena provocan una alteración de la estructura, fluidez y permeabilidad de las membranas celulares y por tanto de la homeostasis necesaria para su correcta funcionalidad. La membrana plasmática es la estructura celular que primero se ve afectada en una situación de estrés oxidativo.

Debido a la lipoperoxidación se formarán gran cantidad de compuestos como alkanos, isoprostanos, malondialdehído, 4-hidroxi-nonenal, que son utilizados como marcadores de la peroxidación lipídica y por tanto de estrés oxidativo. Dichos compuestos son citotóxicos y algunos de ellos poseen capacidad mutagénica.

2. Daño oxidativo en proteínas. Todos los aminoácidos presentes en las proteínas tienen residuos susceptibles de ser atacados por los radicales libres, si bien aquellas que contienen los aminoácidos metionina, arginina, histidina y cisteína parecen ser las más vulnerables ⁽¹²⁾.

Las proteínas pueden ser oxidadas de varias maneras: por modificación oxidativa de aminoácidos específicos, por eliminación de péptidos mediada por radicales libres o por entrecruzamiento de proteínas debido a su reacción con derivados de la peroxidación lipídica. El radical peroxilo es el principal responsable de la oxidación de proteínas.

Los ROS pueden dañar las proteínas dando lugar a la producción de radicales carbonilos y otras modificaciones de aminoácidos incluyendo la formación de sulfóxido de metionina.

La modificación oxidativa de las proteínas produce un aumento en su susceptibilidad ante enzimas proteolíticas, pudiendo

afectar la actividad de diversos enzimas, receptores y de canales de transporte, lo cual se traduce en graves alteraciones de la función biológica de dichas proteínas, tal como las actividades enzimáticas, la transmisión de señales, regulación metabólica, regulación genética, etc.

3. Daño oxidativo en los ácidos nucleicos. Tanto el ácido desoxirribonucleico (ADN) como el ácido ribonucleico (ARN) son susceptibles al daño oxidativo. El ADN mitocondrial parece ser más susceptible que el nuclear. En el ADN puede producir alteración de bases, cortes de hebra y entrecruzamientos que justifican su relación con la carcinogénesis.

De todas las bases nitrogenadas la más proclive a la oxidación es la guanina. Bajo oxidación, un grupo hidroxilo se une a la posición C8 de la guanina, dando lugar a la formación de los subproductos 8-oxoguanina y 8-oxo-7,8-dihidro-2'-desoxiguanosina, considerado este último uno de los biomarcadores más útiles de estrés oxidativo celular generalizado.

La 8-oxo-dG induce errores en la replicación del ADN por parte de la ADN polimerasa y es capaz de originar mutaciones estables. Por dicho motivo existen mecanismos de reparación y protección de dicho daño oxidativo, entre los que se encuentran una serie de baterías enzimáticas que se van a encargar de corregir y eliminar la incorporación de bases erróneas o de rellenar de bases complementarias los espacios dejados por las lesiones.

I.1.5. Biomarcadores de estrés oxidativo.

Un biomarcador es una sustancia que puede ser medida y evaluada de manera objetiva como indicador de procesos biológicos

normales, de procesos patogénicos o de respuesta farmacológica a una intervención terapéutica.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha definido como un biomarcador a cualquier sustancia, estructura o proceso que se puede medir en el cuerpo y con influencia para predecir la incidencia de un resultado o una enfermedad. Los biomarcadores pueden ser utilizados como puntos intermedios o como predictores de respuesta a corto plazo del desarrollo de una enfermedad con propósitos de prevención ⁽¹³⁾.

Los biomarcadores de estrés oxidativo pueden dividirse en moléculas modificadas por su interacción con ROS/RNS y en moléculas del sistema antioxidante que cambian en respuesta a un aumento del estrés óxido-reductor.

Dado que los ROS/RNS son extremadamente reactivos, su vida media es muy corta y por tanto su medición en tejidos o fluidos corporales humanos es generalmente impracticable. Por este motivo se espera que la medición y el estudio de DNA, proteínas, lípidos y azúcares modificados por acción oxidativa sea capaz de detectar biomarcadores adecuados para aquellas enfermedades en las que los ROS/RNS están implicados.

- Biomarcadores de oxidación proteica:

Carbonilos proteicos. Se generan por la oxidación directa de residuos aminoácidos (sobretudo lisina, arginina, treonina y prolina) o por reacción secundaria con derivados de la oxidación de lípidos y azúcares. Son biomarcadores químicamente estables y utilizados ampliamente ya que circulan en sangre durante largos periodos de tiempo en comparación con otros productos oxidados ⁽¹⁴⁾.

La detección de niveles elevados de grupos carbonilo proteicos ha sido propuesta como signo de una disfunción asociada a enfermedad. Pacientes con enfermedades neurodegenerativas, hipercolesterolemia, diabetes y artritis crónica infantil y juvenil presentan niveles elevados de grupos carbonilos proteicos.

Nitrosilación de tirosina. La 3-nitrotirosina se genera por la nitrosilación del aminoácido tirosina mediada por RNS como el radical peroxinitrito (ONOO^\cdot) y el dióxido de nitrógeno (NO_2) y es otro marcador que nos permite estudiar la oxidación de proteínas.

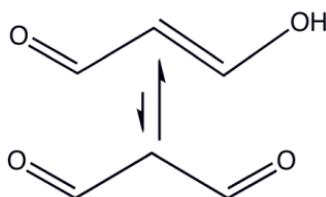
Hay suficiente evidencia en la literatura de que diversas enfermedades relacionadas con ROS/RNS cursan con niveles elevados de 3-nitrotirosina, así, los niveles plasmáticos medios de nitrotirosina son significativamente mayores en pacientes diabéticos con ingesta reducida de vitaminas antioxidantes (A,C) y está directamente relacionado con la glucemia en ayunas ⁽¹⁵⁾. También se encuentra elevada en pacientes con cardiopatía isquémica y sus niveles modulados por la terapia con estatinas.

- Biomarcadores de oxidación lipídica:

Malondialdehído (MDA). Es uno de los productos derivados de la peroxidación de ácidos grasos poliinsaturados en las membranas celulares o en las lipoproteínas de bajo densidad (LDL). Su cálculo resulta sencillo mediante la medición colorimétrica de su reacción frente al ácido tiobarbitúrico (TBARS), debido a lo cual ha sido el más ampliamente utilizado para valorar el estrés oxidativo. Sin embargo, el uso de este marcador ha sido cuestionado ya que existen otros aldehídos que son generados como consecuencia de la preordinación lipídica que presentan el mismo rango de absorción

que el MDA y que la medición del MDA puede ser errónea. Esto puede ser evitado utilizando la cromatografía líquida a alta presión (HPLC), ya que es capaz de separar el MDA de otros aldehídos. A continuación mostramos en la figura 5 la fórmula del MDA.

Figura 5. Fórmula del MDA: $C_3H_4O_2$



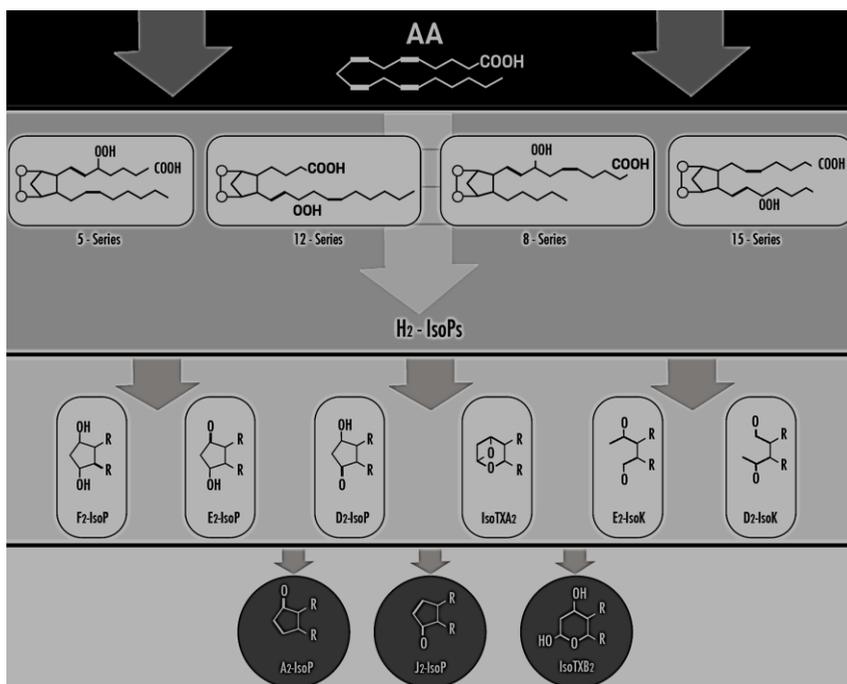
F2-Isoprostanos. Son moléculas prostaglandin-like (PG-like) derivadas principalmente de la peroxidación del ácido araquidónico inducida por radicales-libres y considerados actualmente los mejores biomarcadores disponibles de estrés oxidativo y de peroxidación lipídica *in vivo* ⁽¹⁶⁾.

Pueden aislarse en la mayoría de fluidos biológicos, siendo en plasma y sobretodo en orina las muestras más habitualmente utilizadas ya que su corta vida media en el plasma limita su uso clínico ⁽¹⁷⁾.

Los precursores prostanoideos son ácidos grasos esenciales que provienen de la dieta y son incorporados a los fosfolípidos, normalmente en la posición dos. También son producidos por el ácido araquidónico, al cual se puede incorporar por dos vías: la vía cíclica, por la que se sintetizan las prostaglandinas y los tromboxanos, y la vía lineal, productora de hidroxiácidos y

leucotrienos. En la figura 6 mostramos la vía de producción de los isoprostanos.

Figura 6. Vía de producción de los isoprostanos.



La medición de los F₂-isoprostanos presenta diversas ventajas sobre otros marcadores cuantitativos de estrés oxidativo ya que son químicamente estables, son productos específicos de peroxidación, se forman *in vivo* y se encuentran presentes en cantidades detectables en todos los tejidos y fluidos biológicos normales, lo cual permite la definición de un rango normal.

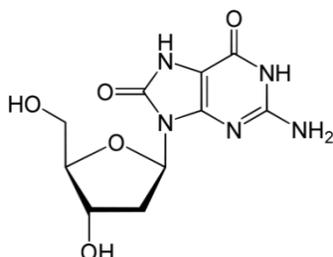
Sus niveles aumentan sustancialmente en modelos animales con daño oxidativo y no se ven afectados por el contenido lipídico de la dieta ⁽¹⁸⁾. Su medición en orina resulta altamente útil por ser un método no invasivo, no estar artefactada, no hay variabilidad significativa en su concentración diaria en sujetos sanos y su variabilidad en estados patológicos es relativamente limitada ⁽¹⁹⁾.

- Biomarcadores de oxidación de ADN.

8-oxo-2-desoxiguanosina. Es un derivado de la oxidación de bases de guanina y es el producto más representativo del daño oxidativo en los ácidos nucleicos. Niveles elevados de este biomarcador se han observado en muestras de plasma, suero y orina en pacientes con diversas patologías como diabetes, cáncer y obesidad.

La 8-oxo-dG tiene por sí misma potencial mutagénico; induce la transversión guanina-timidina que se observa en oncogenes mutados y genes supresores de tumores, dando lugar a inestabilidad genética en la estructura del ADN ⁽²⁰⁾. A continuación, en la figura 7 se muestra la fórmula de la molécula de 8-oxo-dG.

Figura 7. Fórmula de la molécula de 8-oxo-dG (C₁₀H₁₃N₅O₅).



Glutación. Una de sus características más importantes es la presencia de un grupo tiol (SH), lo que le permite participar en reacciones de óxido-reducción. En condiciones fisiológicas la glutatión-reductasa (GR) cataliza la reducción del glutatión oxidado (GSSG) a glutatión reducido (GSH), el cual será utilizado por la glutatión peroxidasa (GPx) para la reducción del peróxido de hidrógeno y de los lipoperóxidos. En condiciones normales, el 90% del glutatión celular se encuentra en forma reducida y tan solo el 10% restante interacciona con proteínas o se utiliza para la transformación de GSSG.

En situaciones en las que hay un aumento de la producción de peróxidos u otras especies reactivas, la capacidad de la célula de reducir GSSG se ve comprometida y éste se acumula en el citosol activándose los canales de transporte hacia el exterior celular en un intento de recuperar el equilibrio óxido-reductor. Como consecuencia de ello se produce un aumento del cociente GSSG/GSH, siendo este el aspecto más interesante del glutatión como biomarcador de EO, reflejando el daño producido en otros tejidos ⁽²¹⁾.

I.1.6. Efectos del EO en la salud humana.

Hoy en día resulta evidente que el EO afecta virtualmente a todos los aspectos de la salud humana. Los ROS ejercen múltiples efectos biológicos que abarcan un amplio espectro que va desde funciones reguladoras fisiológicas hasta alteraciones por daño oxidativo, participando en la patogénesis y en la progresión de un gran número de enfermedades, que afectan a todos los órganos y sistemas.

- Estrés oxidativo y enfermedades neurodegenerativas.

Los ROS generados en las neuronas pueden causar graves daños a las mismas originando pérdida de memoria y deterioro cognitivo. Se ha comprobado in vitro que los astrocitos son más sensibles al H_2O_2 que las neuronas, así pues en un estado de estrés oxidativo se verán afectados en mayor medida ⁽²²⁾.

Dadas las importantes funciones de los astrocitos, entre las que se encuentran aportar a la neurona glucosa, nutrientes y neurotransmisores, absorber el exceso de potasio excretado por la neurona al espacio extracelular, modular la transmisión sináptica y de regeneración de neuronas dañadas, su pérdida deteriora las funciones cerebrales y su capacidad para regenerar neuronas dañadas.

Las mutaciones secundarias a la oxidación de ADN nuclear que conllevarán modificaciones en la estructura y función de determinadas proteínas enzimáticas juegan un papel importante en las enfermedades neurodegenerativas.

-Enfermedad de Parkinson. La degradación de proteínas por estrés oxidativo resulta clave en la muerte de células dopaminérgicas en la Enfermedad de Parkinson, como el observado en la alfa-synucleína, una proteína del área sináptica que interactúa con lípidos y controla la liberación de dopamina. Dicha alteración conlleva la formación de los cuerpos de Levy tan característicos de esta enfermedad, que son acúmulos de proteínas compuestos principalmente por alfa-synucleína.

-Enfermedad de Alzheimer. La formación de placas en esta enfermedad es causada por proteínas tau y beta-amiloide alteradas y

se ha comprobado que estos sujetos presentan un deterioro en la eliminación de péptido beta-amiloide a nivel de la barrera hematoencefálica así como una expresión anormalmente elevada de factor precursor amiloide en las plaquetas ⁽²³⁾. La fragmentación anómala de dicho factor precursor de amiloide inducida por el peróxido de hidrógeno, juega un papel fundamental en el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer.

-Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA). Se observan mutaciones en el gen que codifica la SOD1 hasta en un 20% de pacientes con ELA, aunque el mecanismo por el cual esta SOD1 mutada origina la degradación de las neuronas motoras no ha sido todavía aclarado. Diversas mutaciones en el gen sequestosoma 1 han sido observadas en pacientes con ELA ⁽²⁴⁾.

Dicho gen codifica la proteína p62, la cual está involucrada en la autofagia selectiva, respuesta al EO y cascadas de señalización celular.

-Esclerosis múltiple. En su etiopatogenia están involucrados procesos inflamatorios con infiltrados leucocitarios y exceso de producción de ROS, lo cual conduce a EO. Los ROS generados en exceso por macrófagos y por la microglia pueden inducir daño a todos los componentes celulares (proteínas, lípidos, ácidos nucleicos) debilitando además el sistema de defensas antioxidante, afectando a la barrera hematoencefálica y causando muerte celular y daño tisular en los procesos subyacentes de la Esclerosis Múltiple.

-Espectro autista. En el plasma de pacientes con espectro autista se han encontrado derivados de peroxidación lipídica como el MDA y el f2-isoprostano ⁽²⁵⁾, así como concentraciones reducidas de

antioxidantes endógenos no enzimáticos como el glutatión y del ratio GSH/GSSG ⁽²⁶⁾.

- Estrés Oxidativo en patología cardiovascular.

Actualmente es ampliamente conocida la participación del EO en la fisiopatología de distintas enfermedades cardiovasculares. Los mayores factores de riesgo cardiovascular como la hipertensión, la dislipidemia, la diabetes y el humo del tabaco se asocian con un incremento en la producción de ROS en el tejido vascular ⁽²⁷⁾. Además el EO juega un papel central en la aterosclerosis a través de múltiples eventos que incluyen el daño del ADN mitocondrial, estrés endoplasmático y efecto pro-inflamatorio, que conducen a la activación de las células endoteliales, proliferación de células vasculares de músculo liso y activación de células del sistema inmune.

Un incremento en la producción de ROS y una disminución en la biodisponibilidad de NO conduce a la disfunción endotelial en la aterogénesis ⁽²⁷⁾. Los ROS/RNS producidos en el endotelio promueven la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (LDL) en la fase que precede a su depósito en la zona subendotelial de la pared arterial donde inicia la arterioesclerosis ⁽²⁸⁾. Las lipoproteínas de baja densidad oxidadas (oxLDL) son también aterogénicas y tienen propiedades pro-inflamatorias e inmunogénicas.

Se ha establecido también una clara relación entre el EO y el infarto agudo de miocardio (IAM), sobretodo en la fase de reperfusión, durante la cual se restablece el aporte de oxígeno y otros sustratos a las células miocárdicas pero a su vez promueve la

formación de superóxido, peróxido de hidrógeno y radicales hidróxilos, responsables del conocido como daño por reperfusión.

También es conocida la relación entre los ROS y la hipertensión arterial, en la que los ROS pueden por una parte inactivar el NO en reacción con el superóxido dando lugar a la formación de peroxinitritos y metabolitos derivados del sistema renina-angiotensina-aldosterona, ocasionando vasoconstricción arteriolar y un aumento de las resistencias periféricas. Por otro lado, su producción aumentada puede servir de inicio a toda una serie de daños oxidativos a numerosas macromoléculas como por ejemplo las LDL.

- Estrés oxidativo en patología digestiva.

En condiciones normales, el tracto digestivo está protegido de los ROS por su capa mucosa, sin embargo los alimentos ingeridos y microorganismos patógenos pueden causar daño oxidativo y una consiguiente inflamación.

A pesar de que existe evidencia de que el EO juega un papel fundamental en la patogénesis de enfermedades del tracto digestivo tales como úlcera péptica, enfermedad inflamatoria intestinal crónica y cánceres gastrointestinales ⁽²⁹⁾, los mecanismos responsables no son bien conocidos.

Existe también relación entre el EO y la patología hepática. El hígado facilita la detoxificación de múltiples tóxicos induciendo la formación de ROS. Una producción incontrolada de ROS es a menudo responsable de daño hepático. Así pues el EO en el hígado tiene que ver con la digestión de venenos o sustancias tóxicas como por ejemplo el alcohol, tabaco, arsénico, quimioterápicos, etc.

Se han encontrado productos de peroxidación lipídica como los F2 -isoprostanos en pacientes tanto con fallo hepático como en caso de otras enfermedades con afectación hepática.

- Estrés oxidativo en la carcinogénesis

La carcinogénesis es un proceso con múltiples pasos que implica la mutación celular y la consiguiente expansión clonal de la célula mutada. Agentes físicos o químicos incluyendo aquellos que promueven la formación de ROS pueden inducir o modular este proceso.

Los ROS son capaces de dañar el ADN. A pesar de la falta de una descripción clara de las vías por las que se forman los ROS en las células cancerígenas, se cree que diversos mecanismos intrínsecos y extrínsecos causan EO durante el desarrollo y la progresión cancerígena. Un ejemplo de ello son los procesos inflamatorios crónicos en los cuales los neutrófilos y macrófagos liberan grandes cantidades de superóxido, peróxido de hidrógeno y radicales hidroxilo.

Diversas líneas celulares cultivadas con neutrófilos activados tienen una elevada tasa de ruptura de hebras, cambio de cromátides hermanas y mutaciones ⁽³⁰⁾. Estas alteraciones genéticas pueden ocasionar la activación de oncogenes o la inactivación de genes supresores de tumores así como alterar los mecanismos de reparación del ADN, derivándose de todo ello la generación de células cancerígenas. Esto explicaría la asociación encontrada entre ciertas patologías que cursan con estado de inflamación crónica y elevado EO como son la obesidad, el tabaquismo o el alcoholismo ⁽³¹⁾.

En el carcinoma colorrectal, así como en los cánceres de pulmón, estómago, próstata y mama se ha observado una elevada concentración de 8-oxo-dG con respecto a la existente en tejidos normales. También se han evidenciado niveles elevados de productos de peroxidación lipídica en la leucemia linfática crónica, donde además aumentan con la evolución de la enfermedad en el tiempo, o en el carcinoma de ovario donde encontramos niveles elevados de MDA y de 8-oxo-dG, los cuales aumentan proporcionalmente al grado de malignización tumoral.

I.1.7. EO, obesidad y síndrome metabólico.

El síndrome metabólico es un conjunto de factores de riesgo asociados a la obesidad abdominal, que incluye desde la dificultad en la utilización de glucosa (RI), dislipemia aterogénica e hipertensión arterial, que conlleva un alto riesgo de enfermedad cardiovascular y/o diabetes. Existen diferentes definiciones de síndrome metabólico.

La OMS, en 1998 y en 2000 la National Cholesterol Education Program Expert, concretaron definiciones que se han ido actualizando a fin de simplificarlas y hacerlas más útiles en el manejo clínico.

Recientemente están tomando fuerza los criterios establecidos por la International Diabetes Federation (IDF) ⁽³²⁾, donde se especifican puntos de corte para el perímetro de la cintura propios de la población europea. Estos criterios, junto a la última revisión de la clasificación conocida como ATP-III (Adult Treatment Panel III del National Cholesterol Education Program) ⁽³³⁾, son los más utilizados y se muestran a continuación:

-Criterios diagnósticos de síndrome metabólico según la International Diabetes Federation (2005).

Adiposidad central (perímetro de la cintura para europeos: varones > 94; mujeres, > 80 cm) y dos o más de:

- Triglicéridos > 150 mg/dl o tratamiento específico
- HDL < 40 (varones) o < 50 mg/dl (mujeres) o tratamiento
- Presión arterial > 130/85 mmHg o tratamiento por HTA
- Glucemia basal > 100 mg/dl o diagnóstico previo de diabetes

-Criterios diagnósticos de síndrome metabólico según la National Cholesterol Education Program (ATP-III) (2002).

Los detalles entre corchetes [] corresponden a los añadidos en 2005 para adecuarse a la definición IDF.

Tres o más de los siguientes criterios:

- Glucemia en ayunas > 110 mg/dl [100]
- Presión arterial > 130/85 mmHg [o tratamiento]
- Triglicéridos > 150 mg/dl [o tratamiento]
- Colesterol de las HDL [o tratamiento]
 - < 40 mg/dl en varones
 - < 50 mg/dl en mujeres
- Adiposidad abdominal
 - Cintura > 102 cm (varones)
 - Cintura > 88 cm (mujeres)

Aunque los mecanismos etiopatogénicos del SM no están aun claramente establecidos, la obesidad es considerada un pilar central

del mismo. Se cree que la producción descontrolada de adipocinas y citoquinas que se produce en el tejido adiposo acumulado en los obesos es fundamental en el desarrollo del SM.

Niveles elevados de PAI-1 contribuyen a generar un estado pro-trombótico y niveles elevados de TNF- α y de IL-6 a generar resistencia a la insulina debido a que afecta a la fosforilación del substrato receptor de insulina 1 (IRS-1), al transportador de glucosa 4 y otros factores de transcripción ⁽³⁴⁾.

La leptina induce RI y favorece la acumulación de lípidos. Los efectos metabólicos del exceso de grasa se caracterizan por una resistencia periférica a la insulina y asociado a ella aparecen alteraciones del perfil lipídico, con alteraciones del colesterol, triglicéridos y del ratio entre las lipoproteínas HDL/LDL, lo que unido a la HTA y al aumento en la circunferencia abdominal caracterizan el síndrome metabólico que, tras varios años de enfermedad, aparece en el 50% de los obesos.

Todas estas alteraciones metabólicas muestran una relación directa con el riesgo aumentado de accidente cardiovascular ⁽³⁵⁾ y su agrupación de añade más riesgo cardiovascular del que aporta cada una de ellas por separado ⁽³⁶⁾. Los factores de riesgo que componen el SM son pues, la dislipemia aterógena, la HTA, las disglucosis, la exacerbación de la inflamación y la trombosis.

La dislipemia aterógena incluye el aumento de las lipoproteínas que contienen apolipoproteína B y de los triglicéridos, mayor número de partículas lipoproteínicas de baja densidad (LDL), con mayor contenido de colesterol aterogénico y bajas concentraciones de HDL.

Se puede decir pues, que los mecanismos subyacentes al SM son, fundamentalmente, la adiposidad abdominal y la resistencia a la insulina ⁽³⁷⁾. Una teoría reciente sobre la relación entre la obesidad y el SM considera que éste no sería sino una disfunción del tejido adiposo y que la RI aparecería tras el agotamiento de los mecanismos de respuesta compensadora ⁽³⁸⁾.

La visfatina también parece jugar un papel importante en el desarrollo del SM. Una elevación en sus niveles serios empeora la función de las células beta pancreáticas.

El EO juega un papel importante en la patogénesis del SM puesto que afecta negativamente a la función de las células beta pancreáticas y altera el transporte de glucosa en el tejido muscular y adiposo ⁽³⁹⁾. En el tejido vascular se relaciona con la hipertensión, la aterosclerosis y la esteatosis hepática y está implicado en la patogénesis de cada una de las entidades que conducen al SM.

Además de los factores citados, hay otros muchos que también vienen siendo incluidos dentro del SM, tales como la microalbuminuria, los depósitos elevados de hierro, la alterada capacidad antioxidante de las subfracciones pequeñas y densas del HDL y la inflamación del tejido adiposo y su capacidad de inducir EO sistémico en los obesos ⁽⁴⁰⁾.

Del mismo modo, también son utilizados otros marcadores biológicos como son los relacionados con el tejido adiposo (porcentaje de grasa abdominal en los estudios de tomografía digital, cociente leptina/adiponectina), marcadores de dislipemia (apolipoproteína B o tamaño de las LDL), disfunción endotelial (medida por la respuesta vasodilatadora en la arteria humeral),

marcadores de inflamación (PCR) o marcadores de trombosis (fibrinógeno e inhibidor del activador del plasminógeno 1) ⁽³⁶⁾.

En la Tabla II se muestran otros componentes que actualmente se incluyen dentro del SM.

Tabla II. Otros componentes del SM ⁽³⁵⁾.	
Componente	Marcador
Adiposidad	Adiposidad visceral Esteatohepatitis no alcohólica
Marcadores de tejido adiposo Dislipidemia	Leptina, adiponectina Apolipoproteína B Tamaño de las partículas de las LDL
Resistencia Insulínica	Cálculo directo Test de tolerancia oral a la glucosa
Disfunción endotelial	Respuesta vasodilatadora humeral Albuminuria
Inflamación o trombosis	PCR, TNF- α , IL-6, PAI-1, fibrinógeno

I.1.8. EO, obesidad y diabetes tipo 2 (DM2).

La obesidad es un factor de riesgo principal para el desarrollo de DM2, la cual se caracteriza por niveles elevados de glucosa en sangre debido a mecanismos de resistencia a la insulina.

En el desarrollo de la DM2 tienen lugar diversos mecanismos celulares, tal como la disfunción de las células beta pancreáticas, alteración en el transporte de la glucosa, cambios en las señales celulares de la insulina así como EO e inflamación ^(41,42).

La hiperglucemia induce la sobreproducción de ROS y la ruptura de hebras de ADN y su coexistencia con la obesidad,

contribuye a la excesiva producción de RL y ROS que se relacionan con las complicaciones relacionadas con la diabetes ⁽⁴³⁾.

En la diabetes tipo 2 existen múltiples vías de formación de ROS, como son la vía de los polioles, la activación de la proteína quinasa C (PKC), la acumulación de productos de gluciación avanzada y la vía de las hexosaminas. La principal fuente de ROS es la hiperproducción a nivel mitocondrial.

El EO puede empeorar la disfunción de las células beta pancreáticas, involucradas en la patogénesis de la DM2 promoviendo la lipotoxicidad que se da en los fenómenos relacionados con la diabetes. Las células beta pancreáticas presentan una expresión bastante baja de antioxidantes, lo que les hace especialmente sensibles al daño inducido por ROS ⁽⁴⁴⁾.

I.1.9. EO, obesidad y dislipidemias.

La relación entre obesidad y dislipidemia está fuertemente ligada al EO. Niveles bajos de HDL o un aclaramiento aumentado de las mismas, niveles post-prandiales elevados de triglicéridos y unos niveles elevados de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) en plasma, originan la producción de ROS en el endotelio y se relaciona con la aterogénesis y el desarrollo de enfermedades cardiovasculares.

I.2. OBESIDAD MÓRBIDA

I.2.1. Concepto, clasificación en importancia social.

Concepto. La obesidad es una enfermedad crónica que se caracteriza por un exceso de grasa corporal que origina un aumento del peso con respecto a lo que debería corresponder según

estándares de sexo, edad y talla, y con un origen multifactorial fruto de la interacción entre genotipo y ambiente. El desequilibrio entre el aporte energético proporcionado por los alimentos y el gasto calórico es el principal desencadenante del sobrepeso y de la obesidad, ya que ocasiona un excedente energético que se acumula en el organismo en forma de grasa corporal.

La necesidad de establecer un criterio aplicable en todos los ámbitos que permita realizar estudios comparativos entre diferentes poblaciones, ha llevado a adoptar como concepto diagnóstico el índice de masa corporal (IMC), que valora la proporción entre peso y talla según la fórmula: $IMC = \text{peso (kg)} / \text{talla}^2 \text{ (m)}$, siendo utilizado en la gran mayoría de estudios epidemiológicos y recomendado por diferentes sociedades médicas y organizaciones internacionales tal como la OMS, y en España la Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad (SEEDO) ⁽⁴⁵⁾, dada su reproductibilidad, facilidad de uso y capacidad de reflejar la adiposidad en la mayoría de la población adulta, ya que mide y compara fácilmente la obesidad entre diferentes individuos, no variando su cálculo en función del sexo y la edad. No obstante, el IMC debe considerarse como un dato aproximativo, pues en ocasiones puede no corresponder al mismo grado de adiposidad en diferentes individuos.

En función del porcentaje graso corporal, se puede definir como sujetos obesos aquellos que presentan porcentajes de grasa por encima de los valores considerados normales (12-20% en varones y 20-30% en mujeres adultas), habiéndose establecido como punto de corte para definir la obesidad valores de $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$. Siguiendo los criterios de la Sociedad Americana de Cirugía Bariátrica ⁽⁴⁶⁾ se cataloga como obesidad mórbida (OM) un $IMC \geq 40$.

Clasificación. La SEEDO, en un documento elaborado por expertos en el año 2000 ⁽⁴⁷⁾, recomienda utilizar el IMC para poder clasificar a las personas dentro de los diferentes grupos de obesidad.

En el documento de consenso que la SEEDO publicó en 1996 se aceptaba como normopeso valores de IMC hasta 27, en el nuevo consenso del año 2000, el límite inferior del peso normal bajó de IMC 20 a 18,5, por debajo del cual el peso es insuficiente.

El IMC comprendido entre 25 y 29,9 se cataloga como sobrepeso, con dos subgrupos dentro del mismo, y aparece un nuevo grado de obesidad (grado IV), correspondiente a personas con IMC > 50, que se denomina obesidad extrema. En la tabla siguiente (Tabla III) se muestran los criterios SEEDO ⁽⁴⁸⁾ para definir la obesidad en grados según el IMC en adultos.

Tabla III. Clasificación de los distintos grados de peso/obesidad según la SEEDO.	
Categoría	Valores del IMC
Peso insuficiente	< 18,5
Normopeso	18,5 – 24,9
Sobrepeso grado I	25 – 26,9
Sobrepeso grado II (preobesidad)	27 – 29,9
Obesidad tipo I	30 – 34,9
Obesidad tipo II	35 – 39,9
Obesidad tipo III (mórbida)	40 – 49,9
Obesidad tipo IV (extrema)	≥ 50

Actualmente se añaden más grados a la obesidad, así la obesidad con IMC entre 50 y 59,9 se cataloga como obesidad supermórbida, la de IMC entre 60 y 64,9 se cataloga de supersuperobesidad y de obesidad triple si el IMC es mayor de 65.

Importancia social. La obesidad afecta a una gran parte de la población de los países desarrollados sin distinción de edad, sexo y estrato social, habiendo aumentado su incidencia de manera alarmante, de forma que en 1988 la OMS la catalogó como pandemia ⁽⁴⁹⁾, para más tarde considerarla como la epidemia del siglo XXI.

Su elevada prevalencia, comorbilidad y trascendencia de sus complicaciones la ha convertido en un grave problema de salud pública, tanto desde el punto de vista socio-sanitario como del económico.

En nuestro país, según una Encuesta Nacional de Salud ⁽⁵⁰⁾, en los últimos años se ha observado una tendencia creciente de su prevalencia, habiendo pasado del 9% en 1993 al 15% en 2006, lo que supuso un incremento del 65%, siendo el subgrupo de pacientes obesos mórbidos el que más aumentó en este periodo, con un incremento relativo de más de un 200%, pasando de 1,8 a 6,1/1.000 habitantes.

Por otro lado, en 1993 el 7,7% de los adultos españoles presentaban un IMC entre 30 y 35, mientras que en 2006 eran el 11,9%, lo que supuso un incremento del 54% ⁽⁵¹⁾, siendo el estilo de vida (sedentarismo, escaso consumo de frutas y verduras, mayor consumo de grasas y alcohol), la multiparidad y el bajo nivel

socioeconómico y cultural, factores asociados a la mayor prevalencia de la obesidad en mujeres y adultos ⁽⁵²⁾.

Además de por el gran aumento de su frecuencia, la importancia social que presenta la obesidad viene dada por los peligros y la gravedad que conlleva, pues acrecienta el riesgo de padecer diabetes, enfermedad cardiovascular, cierto tipo de cáncer y otras enfermedades ^(53,54), lo que la ha convertido en la segunda causa de mortalidad prematura y evitable después del tabaco ⁽⁵⁵⁾.

En España, son atribuibles al exceso de peso unas 28.000 muertes de adultos cada año, lo que supone el 8,5% de todos los fallecimientos ⁽⁵⁶⁾.

El aumento de la prevalencia, especialmente de la OM, y su asociación a una mayor morbimortalidad, supone una sobrecarga económica para el sistema sanitario, tanto por los costes vinculados directamente al sobrepeso como los ocasionados por los problemas de salud que comporta la propia obesidad.

El país donde se ha estimado que mayores recursos sanitarios se asocian con la obesidad es Estados Unidos, con un 5,5-9,4% de su gasto sanitario ⁽⁵⁷⁾.

En España, la referencia es el estudio incluido en el libro blanco “Costes sociales y económicos de la obesidad y sus patologías asociadas” en el cual se señala que el gasto de la obesidad podría suponer el equivalente al 7% del importe sanitario del Sistema Nacional de Salud, estimándose en unos 2.500 millones de euros anuales (actualizado al año 2002).

I.2.2. Etiopatogenia e implicaciones fisiopatológicas.

Etiopatogenia. La obesidad es una enfermedad con una etiopatogenia compleja y multifactorial que incluye, entre otros, factores genéticos, metabólicos, sociológicos y psicológicos que influyen en la alteración del control del peso corporal.

Las grasas que se ingieren con los alimentos son convertidas en triglicéridos y ácidos grasos libres por las lipasas del intestino delgado, siendo transformadas en lipoproteínas en el hígado y posteriormente pasan a los adipocitos.

La lipólisis produce energía a través de liberación de ácidos grasos libres y glicerol. Los triglicéridos remanentes se esterifican rápidamente mediante el glicerofosfato proporcionado por la glucosa, mientras que el glicerol libre se convierte en glicógeno en el hígado.

La epinefrina y norepinefrina son capaces de activar la lipólisis y también lo hacen, aunque en menor proporción, los glucocorticoides, hormonas tiroideas, hormona adrenocorticotropa (ACTH), hormona estimulante del tiroides (TSH) y vasopresina.

En la acumulación de la grasa tiene especial relevancia el control insulínico ya que la insulina favorece la síntesis de lípidos en el hígado y contrarresta los efectos lipolíticos de la estimulación adrenérgica simpática. La cantidad de insulina es importante pero también lo es el grado de sensibilidad de las células a la misma. La resistencia al efecto de la insulina origina hipersecreción pancreática para contrarrestarla ⁽⁵⁸⁾.

En el control del peso corporal intervienen numerosas moléculas, genes y otros marcadores, en un entramado metabólico

que implica no sólo al hígado y al tejido adiposo, sino al conjunto de los tejidos. La leptina inhibe en el hipotálamo la liberación del neuropéptido Y (NPY) principal agente inductor del apetito, promueve la activación del sistema nervioso simpático y desencadena los mecanismos de termogénesis. Los pacientes obesos poseen niveles elevados de leptina circulante, derivados de la gran masa de tejido adiposo, y sin embargo muestran una situación compatible con leptinorresistencia que impide que la hiperleptinemia lleve a una saciedad más intensa y precoz ⁽⁵⁹⁾, posiblemente ocasionada por una leptina con una estructura diferente y sin actividad biológica.

Durante la pubertad y en la época reproductiva hay una elevación de leptina que se relaciona con el tipo de obesidad, y que posteriormente desciende durante la menopausia y en personas que realizan importante ejercicio físico.

La obtención de energía de los alimentos es regulada por mecanismos neuroendocrinos, pues la fase cefálica de la digestión está en gran parte dirigida por la actividad de neuropéptidos hipotalámicos, como el NPY, o la AGRP (*Agouti Related Protein*), que junto con péptidos gastrointestinales como la ghrelina, originan la sensación de apetito ⁽⁶⁰⁾. En cambio, la colecistocinina, el péptido análogo al glucagón tipo 1 (GLP-1), el péptido YY (PYY) y la leptina, ejercen un potente efecto saciante al contrarrestar las señales de la ghrelina.

En el sistema nervioso central actúan el NPY y la hormona estimulante del melanocito como agentes orexigénicos, y la hormona liberadora de ACTH (CRH) y la propia serotonina, que actúan como anorexiantes.

Muchos de estos péptidos (leptina, NPY, ghrelina, CRH y citocinas entre otros) desempeñan además un papel importante en la regulación del gasto calórico, lo que indica que el control humoral del balance energético es extraordinariamente complejo, no siendo bien conocidos los mecanismos que controlan la función de estos circuitos.

La investigación actual destaca la importancia de factores genéticos en la patogenia de la obesidad, centrándose en la identificación de alteraciones genéticas asociadas a su desarrollo, habiéndose descrito mutaciones responsables de la deficiencia de péptidos o de sus receptores directamente implicados en la regulación del peso corporal, que conducen a situaciones de obesidad ⁽⁶¹⁾.

Se conocen polimorfismos en receptores beta-3 adrenérgicos que hipotéticamente pueden ser responsables de alteraciones en la termogénesis y así favorecer un balance calórico negativo ⁽⁶²⁾.

Entre los genes identificados que se relacionan con la obesidad, tiene especial importancia el gen LEP (leptina), localizado en el cromosoma 7q31.3 y el LEPR (receptor de leptina), localizado en el cromosoma 1p31, que codifica la síntesis de la leptina producida por el tejido adiposo y a través de la que el cerebro tiene información sobre las reservas energéticas almacenadas en el organismo ⁽⁶³⁾. También se ha comprobado que los genes identificados hasta el momento, no solo intervienen en la expresión fenotípica de la obesidad, sino que también lo hacen en otros aspectos tales como la conducta alimentaria, el balance energético, la regulación del apetito y la diferenciación de adipocitos.

En la etiopatogénia de la obesidad, tiene importancia las influencias ambientales, donde factores socio-económicos y culturales relacionados con la alimentación (mayor ingesta de alimentos ricos en valor energético y contenido graso) y la actividad física (hábitos sedentarios), así como otros, tales como lactancia, bajo peso al nacer, embarazo y menopausia, ocupan un lugar preponderante y son decisivos en el aumento de la obesidad observado en los últimos años en el mundo desarrollado.

Algunas enfermedades endocrinas tal como el síndrome de Cushing, las de origen hipotalámico y las asociadas a síndromes genéticos de muy baja incidencia (síndrome de Prader-Willi, de Ålstrom, de Carpenter, de Cohen, etc.) también influyen en la obesidad.

En el síndrome de Cushing existe una redistribución centrípeta del tejido adiposo, mientras que en el hipertiroidismo existe un aumento de peso por disminución de la actividad catabólica, mixedema y por pérdida efecto de la tiroxina sobre la lipólisis. En pacientes con insulinoma se observa obesidad porque el hiperinsulinismo ocasiona hiperfagia y lipogénesis.

Mujeres con ovarios poliquísticos presentan también resistencia a la insulina y aumento de peso. El síndrome de Frölich y otros hipogonadismos también se asocian a obesidad.

Otros factores etiológicos importantes para la acumulación adiposa, especialmente en pacientes con factores genéticos o ambientales predisponentes, son la supresión del hábito tabáquico o la administración de algunos medicamentos tales como glucocorticoides, antidepresivos tricíclicos, insulina, contraceptivos

orales, fenotiacinas o hidracidas.

Los estudios del mapa genómico de las bacterias existentes en la flora gastrointestinal humana han ocasionado investigaciones que informan que cambios en la microbiota intestinal pueden estar implicados en el desarrollo de obesidad y síndrome metabólico. Ciertas bacterias, como la *Methanobrevibacter smithii*, han adquirido la capacidad de aumentar la ingesta energética y por tanto provocar ganancia de peso. Así mismo se han observado cambios en la microbiota intestinal según el tipo de cirugía bariátrica realizada en pacientes obesos mórbidos ⁽⁶⁴⁾.

Implicaciones fisiopatológicas: patología asociada a la OM. La obesidad conlleva diversos mecanismos fisiopatológicos que facilitan la aparición de complicaciones que tienen un impacto importante sobre la calidad y expectativa de vida. Así, el riesgo de padecer diabetes, dislipidemias, RI y apnea del sueño es tres veces superior en pacientes con obesidad y dos veces superior el riesgo relativo de enfermedad coronaria ⁽⁶⁵⁾.

En un estudio reciente ⁽⁶⁶⁾ se ha comprobado una relación positiva entre IMC y la mortalidad. Un metanálisis en el que se revisaron 270.000 muertes provenientes de 97 estudios, puso de manifiesto un incremento significativo de riesgo de muerte para rangos de IMC > 35 ⁽⁶⁷⁾, y en un estudio de 179.000 procedimientos quirúrgicos bariátricos, los autores concluyen que la cirugía bariátrica reduce la mortalidad por todas las causas de un 30% a un 50% entre los siete y 15 años después de la cirugía en comparación con los pacientes con obesidad que no tuvieron cirugía ⁽⁶⁸⁾.

Tanto el efecto masa ocasionado por el aumento del compartimento graso, como el aumento de secreción por los adipocitos de ácidos grasos libres y adipoquinas, son los principales factores causantes de la comorbilidad asociada a la obesidad.

El efecto masa sería responsable entre otras, de la patología articular, apnea del sueño, de la circulación hipercinética y aumento del volumen sanguíneo, del aumento del flujo sanguíneo renal, de lesiones por decúbito, del incremento de la presión intrabdominal (PIA), de trastornos ginecológicos y obstétricos y de problemas psicosociales, mientras que la alteración metabólica sería responsable de la diabetes, dislipidemia, intolerancia a la glucosa con RI, aterosclerosis, trastornos hepatobiliares, trombogénesis, carcinogénesis, hipercortisolismo, hiperuricemia, enfermedad cardiovascular, etc.

Una revisión sistemática del año 2009 ⁽⁶⁹⁾ establece una relación significativa entre la obesidad y la diabetes, la enfermedad coronaria, la hipertensión arterial (HTA), la insuficiencia cardíaca congestiva, el asma, el infarto cerebral, el embolismo pulmonar, la colelitiasis, diversos tipos de cáncer, la osteoartritis y el dolor de espalda.

El exceso de grasa presente en los obesos mórbidos ocasiona un aumento de la PIA, la cual conlleva a un aumento del estasis venoso, al síndrome nefrótico por compresión de las venas renales y al síndrome obesidad/hipoventilación por elevación del diafragma. La PIA puede activar también el Sistema-Renina-Angiotensina-Aldosterona (SRAA) por estímulo del aparato yuxtglomerular, aumento de la presión venosa renal y disminución

en la presión de la arteria renal por bajo gasto cardíaco secundario a la alteración del retorno venoso. Esta activación del SRAA junto a las alteraciones en los péptidos natriuréticos, los cambios en la estructura renal (síndrome compartimental renal) y los cambios en los receptores α -adrenérgicos, serán mediadores de la hipertensión arterial (HTA) ligada a la obesidad ⁽⁷⁰⁾.

En la génesis de la HTA del obeso también está implicado el binomio RI-hiperinsulinemia por estimular la reabsorción de sodio a nivel de la neurona y por sobreactivar el sistema renina-angiotensina y la actividad simpática, efecto este último al que contribuye la hiperleptinemia derivada del aumento de tejido adiposo.

La HTA puede afectar hasta un 60% de pacientes con obesidad, siendo el riesgo de padecerla cinco veces superior que en la población normal. Se ha comprobado que la tensión arterial sistólica aumenta 1 mm de Hg por cada incremento de IMC de 1,7 en hombres y 1,25 en mujeres, o por cada incremento de la circunferencia de la cintura de 4,5 cm en hombres y 2,5 cm en mujeres ⁽⁷¹⁾.

La repercusión cardíaca de la HTA se ve potenciada por la hipertrofia ventricular izquierda que se asocia a la obesidad, independientemente de las cifras tensionales ⁽⁷²⁾, acrecentando el riesgo de insuficiencia cardíaca un 5% en hombres y 7% en mujeres por cada aumento de un punto en el IMC ⁽⁷³⁾.

El paciente obeso se incluye en la categoría de riesgo moderado de cardiopatía isquémica, siendo de riesgo elevado si se asocia con HTA, dislipidemia, diabetes o tabaquismo.

Las altas presiones intrapleurales presentes en el obeso mórbido condicionan un aumento de la presión intracardiaca que obliga a un aumento del llenado cardíaco para mantener el gasto, lo que acaba produciendo hipertensión sistémica y fallo ventricular derecho. A la larga, esto ocasiona el fallo ventricular izquierdo presente en más del 30% de los obesos mórbidos, porcentaje que puede llegar al 90% tras 25 años de padecimiento de la obesidad.

La hipertrofia ventricular izquierda y la disfunción diastólica se han mostrado fuertemente vinculadas a la mortalidad en la población obesa.

La acumulación de grasa visceral y el aumento de producción de citocinas, especialmente TNF- α e IL-6, junto al aumento del flujo de ácidos grasos libres hacia el hígado, son elementos fundamentales en la aparición de RI y aumento de la producción hepática de partículas VLDL, que va a originar hipertrigliceridemia, descenso de partículas c-HDL y aparición de partículas LDL con alto poder aterogénico ⁽⁷⁴⁾.

El colesterol total y el unido a lipoproteínas de baja densidad (cLDL) pueden estar discretamente elevados, pero la tasa de lipoproteínas que contienen apolipoproteína B (ApoB) está aumentada, apreciándose un incremento de LDL pequeñas y densas, de la relación colesterol total/cHDL, de la hiperlipidemia postprandial y aumento de la oxidación de lipoproteínas.

Las alteraciones del perfil lipoprotéico observadas en personas con obesidad visceral se deben a alteraciones de la homeostasis de la glucosa y de la insulina, pues se ha comprobado que mujeres obesas con abundante grasa abdominal presentan un

deterioro de la tolerancia a la glucosa, hiperinsulinemia y resistencia insulínica, de hecho, más del 80% de pacientes con DM2 son obesos y el riesgo de padecer diabetes aumenta con el grado y distribución abdominal de la grasa, incluso aunque el IMC esté por debajo del grado de obesidad.

Hasta un 13% de pacientes con IMC superior a 35 tienen DM⁽⁷⁵⁾, siendo el riesgo de desarrollar diabetes en personas con IMC superior a 35 entre 40 y 60 veces mayor al de la población con normopeso^(76,77).

El aumento de peso de 20 kg incrementa hasta 15 veces el riesgo de diabetes, mientras que una reducción de 5 a 11 kg lo disminuye en un 50%⁽⁷⁸⁾.

La RI lleva a la DM2, con un aumento de la glucemia que estimula la producción de insulina por parte de las células β pancreáticas, empeorando la intolerancia periférica con una marcada disregulación de los receptores de insulina⁽⁷⁹⁾.

El agotamiento de la reserva insular pancreática conduce al desarrollo de DM, con el consiguiente riesgo de desarrollo de alteraciones macro y microangiopáticas^(80,81). La reducida captación y utilización de la glucosa a nivel del músculo esquelético lleva a la acumulación de grasa y constituye un marcador metabólico de la RI.

Se han descrito una serie de mediadores secretados en el tejido adiposo como implicados en este proceso: TNF- α , IL-6, PCR, adiponectina y polipéptido inhibidor gástrico (GIP).

La distribución central de la grasa corporal se encuentra ligada al desarrollo de complicaciones de la obesidad.

Aunque no son bien conocidos los mecanismos que favorecen este depósito centrípeto, la producción de hormonas sexuales y su aromatización periférica, el descenso de hormona de crecimiento, las alteraciones en la función hipotálamo-hipófiso-adrenal y la hiperinsulinemia que tienen lugar en la obesidad, pueden desempeñar un papel significativo ⁽⁷²⁾.

El aumento de producción de colesterol asociado a la obesidad facilita su mayor concentración en la bilis y la precipitación, favoreciendo el sustrato para el desarrollo de colelitiasis, mientras que el aflujo de ácidos grasos al hígado y el aumento de la síntesis de partículas VLDL es la base del desarrollo de la esteatosis hepática que afecta hasta al 80% de los obesos ⁽⁸²⁾.

Existe relación entre el IMC y el riesgo de muerte por cáncer, estando la obesidad asociada con un mayor riesgo de cáncer de mama, colon, próstata, riñón, endometrio y vesícula biliar ⁽⁸³⁾. La producción estrogénica derivada de la aromatización periférica, es uno de los mecanismos implicados en el aumento del carcinoma endometrial ⁽⁸⁴⁾ y de mama en mujeres obesas postmenopáusicas ^(85,86).

La obesidad se reconoce como un estado inflamatorio crónico caracterizado por aumento de PCR. Esta inflamación, mediada por adipocinas, está involucrada en los procesos de reactividad vascular, trombogénesis (por aumento del inhibidor del activador del plasminógeno y homocisteína), angiogénesis, sensibilidad a la insulina y actividad nerviosa simpática, lo que contribuye, conjuntamente con la disfunción endotelial, a aumentar el riesgo cardiovascular ^(87,88).

El endotelio produce prostanoides a partir del ácido araquidónico (AA) y otras sustancias paracrinas que mantienen un equilibrio entre vasodilatación mediante liberación de óxido nítrico, prostaciclina (PGI₂) o factor hiperpolarizante dependiente del endotelio (EDHF), y vasoconstricción mediante liberación de angiotensina II, endotelina 1 (ET-1) y productos derivados de la ciclooxigenasa (COX).

Estas sustancias elaboradas por el endotelio colaboran también en la coagulación y fluidez de la sangre, en el estímulo o inhibición del factor de crecimiento vascular, en la agregación plaquetaria y en el metabolismo de algunas sustancias vasoactivas circulantes como adrenalina, serotonina, bradikinina y angiotensina.

La forma COX-1 es responsable de la formación del tomboxano A₂ (TXA₂) (vasoconstrictor) y la forma COX-2 lo es de la formación de la PGI₂ (vasodilatador). Una alteración en el metabolismo del AA, con un aumento de TXA₂ y una disminución de PGI₂ conllevaría una alteración de la vasodilatación y una disfunción endotelial, la cual es un factor de riesgo para la enfermedad cardiovascular y otros trastornos de tipo metabólico ⁽⁸⁹⁾.

La obesidad interviene en la microcirculación a través de la remodelación hipertrófica de las arteriolas ⁽⁹⁰⁾, con crecimiento de las células musculares lisas como respuesta a los efectos vasculares de factores humorales de crecimiento (angiotensina II, insulina y factor de crecimiento insulina-like), un descenso en la capacidad de relajación del músculo liso y una vasomotilidad reducida con vasoconstricción.

Al mismo tiempo, el estado de inflamación crónica presente en la obesidad inducido por los niveles circulantes elevados de citocinas, ocasiona daño endotelial, que es fundamental en la aterogénesis, la erosión de la placa y la formación de microtrombos, con aumento del diámetro de la capa íntima/media y disminución de la distensibilidad arterial ⁽⁹¹⁾.

El endotelio sintetiza NO (potente vasodilatador que inhibe la adhesión y agregación plaquetaria y la proliferación del músculo liso, ejerciendo efectos antiaterogénicos) a partir de la L-Arginina, por acción de la óxido-nítrico-sintetasa endotelial (eNOS).

En los obesos, el aumento de los niveles de la dimetil-L-arginina asimétrica (ADMA) ⁽⁹²⁾ que compite con la L-Arginina, provoca una disminución en la producción de NO a nivel endotelial, ocasionando su alteración, que como hemos visto, está implicada en el riesgo cardiovascular presente en la obesidad.

La acumulación de tejido adiposo a nivel cervical y en vías aéreas superiores favorece la aparición de fenómenos mecánicos compresivos que ocasionan, especialmente en el sexo masculino y mujeres postmenopáusicas, la presencia del síndrome de apnea obstructiva del sueño (SAOS), ya que este acumulo de grasa favorece la menor distensión de la pared torácica, con caída del volumen de reserva respiratoria, colapso alveolar, hipoxemia crónica y aumento de las presiones pulmonar y capilar alveolar.

Todo ello induce desaturaciones de oxígeno nocturnas y fragmentación del sueño, dando lugar a la activación simpática promotora de HTA y RI así como a EO y deterioro cognitivo ^(93,94).

La prevalencia de SAOS aumenta en la obesidad entre un 40% y un 77% en personas con IMC superior a 50 ⁽⁹⁵⁾. La obesidad se asocia también con accidentes cerebrovasculares ⁽⁹⁶⁾, siendo su riesgo, en pacientes con IMC mayor de 30, el doble que el de la población normal.

El aumento de peso ocasiona sobrecarga articular con especial afectación de rodillas, tobillos y caderas. El riesgo de artrosis es doble en mujeres y 1,5 veces superior en hombres obesos respecto a personas no obesas ⁽⁹⁷⁾.

También se ha observado asociación de obesidad con hiperuricemia y gota, especialmente cuando existe un predominio abdominal del depósito de grasa ⁽⁹⁸⁾.

Entre un 20% y un 30% de los obesos tienen alteraciones psicológicas, siendo la baja autoestima uno de los rasgos más acusados, potenciada por una elevada tasa de incapacidad y discriminación social.

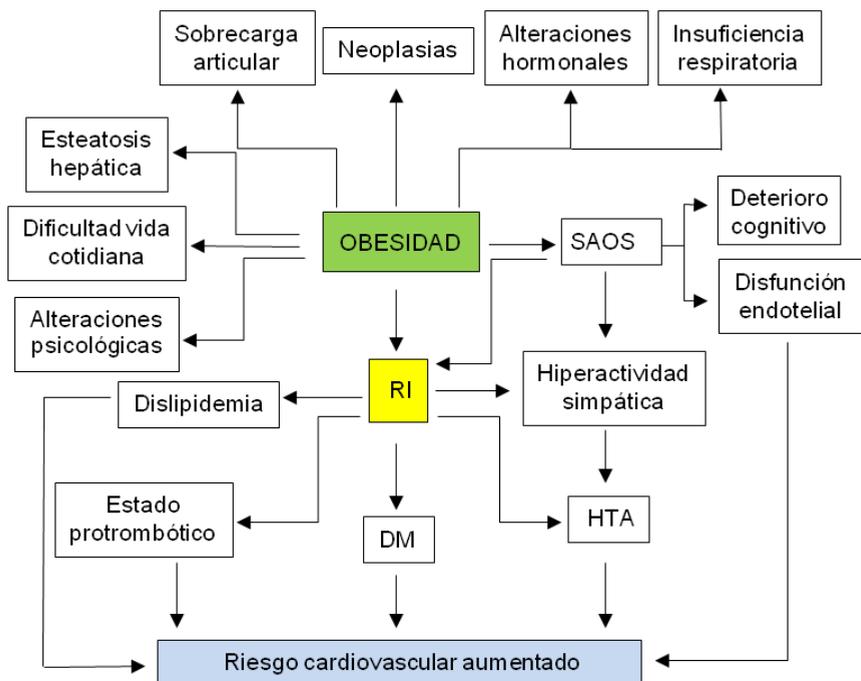
Desde el punto de vista hormonal, la obesidad genera un aumento del tono somatostatinérgico y por tanto de la disminución de niveles circulantes de la hormona del crecimiento. No es infrecuente el hipogonadismo hipogonadotrópico, con reducción en la pulsatilidad de hormona foliculoestimulante y hormona luteinizante, que puede traducirse en amenorrea e infertilidad ⁽⁹⁹⁾.

La disminución de proteína transportadora de hormonas sexuales provocada por la hiperinsulinemia y el consiguiente aumento de la fracción androgénica libre, puede favorecer la aparición de hiperandrogenismo, que en muchas ocasiones se encuentra en el marco del síndrome del ovario poliquístico ⁽¹⁰⁰⁾ o

hiperandrogenismo ovárico funcional, caracterizado por amenorrea u oligomenorrea, hirsutismo e infertilidad ocasionada por ciclos menstruales anovulatorios ⁽¹⁰¹⁾, además existe un mayor riesgo de complicaciones durante el embarazo tales como HTA, preeclampsia y diabetes gestacional.

En la figura 8 se muestra un esquema de las diferentes alteraciones relacionadas con la obesidad.

Figura 8. Alteraciones/patologías más frecuentes relacionadas con la obesidad.



I.2.3. Tratamiento.

Médico-dietético. El tratamiento dietético de la obesidad busca promover cambios en la conducta del sujeto mediante la creación de hábitos de vida saludable.

Se basa en el uso de dietas de muy bajo contenido calórico junto con la introducción de una actividad física regular de intensidad moderada cuyo objetivo es crear un déficit energético que promueva la pérdida de peso en el paciente. Si bien pueden garantizar la pérdida de hasta un 10% del peso a largo plazo, más del 90% de los pacientes recuperan su peso en el transcurso de un año ⁽¹⁰²⁾.

Esta alta tasa de fracasos junto a los notables avances en el conocimiento de la fisiología de la alimentación, han hecho que durante las últimas décadas se haya investigado el uso de diversos fármacos con diferentes mecanismos de acción: reducción de la ingesta, incremento de la termogénesis, modulación de la regulación central del peso corporal y modulación del metabolismo.

Actualmente en España los criterios para el tratamiento farmacológico de la obesidad son los siguientes:

- Debe indicarse en pacientes con IMC superior a 30 o a 27 si asocian comorbilidades (DM, HTA, dislipidemia, síndrome de apnea obstructiva del sueño (SAOS), etc.
- No deben utilizarse nunca de manera aislada; deben asociarse a dietoterapia y ejercicio físico así como a un apoyo psicológico adecuado.

- No deben indicarse en el resto de pacientes, ni en lactantes ni en pacientes con enfermedades cardiovasculares de difícil control.

Entre los fármacos más importantes utilizados en el tratamiento de la obesidad están:

- Sibutramina: es un fármaco de acción central que inhibe y bloquea la recaptación de serotonina, provocando una disminución de la ingesta al aumentar la sensación de saciedad así como un aumento de la termogénesis debido a su efecto adrenérgico.

A pesar de conseguir efectos sobre el peso corporal y sobre los factores de riesgo cardiovascular asociados a la obesidad, la sibutramina fue retirada del mercado por el elevado riesgo de sufrir problemas cardiovasculares graves como ictus, infarto de miocardio o parada cardíaca.

- Rimonabant: es un antagonista del receptor cannabinoide de tipo 1 (CB1) del sistema de los endocannabinoides, los cuales representan una de las vías de regulación del apetito y del placer de comer. Producen una disminución de la ingesta junto a una disminución de la lipogénesis. Rimonabant fue retirado del mercado por las importantes alteraciones psiquiátricas observadas en los pacientes tratados.

- Orlistat: es un derivado de la lipstatina que presenta un efecto periférico actuando como potente inhibidor de las lipasas gastrointestinales, lo cual reduce un 30% la absorción de la grasa de la dieta independientemente de la composición de la misma. No interfiere en la absorción de otros compuestos como hidratos de carbono, proteínas ni fosfolípidos y ha demostrado ser eficaz

especialmente en pacientes con DM2 en los que mejora la sensibilidad a la insulina ⁽¹⁰³⁾. Actualmente su autorización está en proceso de revisión por a los casos de hepatotoxicidad observados.

Existen otros fármacos que están siendo utilizados y que si bien su uso no está autorizado todavía en Europa han sido aprobados por FDA (Food and drug administration. USA).

- Naltrexona/bupropión: el bupropion estimula las neuronas productoras de pro-opio melanocortina (POMC) mientras que la naltrexona, antagonista opioide, bloquea la autoinhibición de la POMC mediada por opioides, prolongando así el efecto del bupropión.

- Liraglutida: es un análogo peptídico similar al glucagón tipo 1, que estimula la producción y secreción de insulina y que se también se encuentra comercializado para el tratamiento de la DM2. Produce pérdida de peso debido a que suprime el apetito. Presenta como efecto secundario provocar pancreatitis aguda por lo que su autorización está en proceso de revisión.

- Lorcaserin: es un agonista de los receptores 5-HT_{2c} de serotonina, provoca aumento de sensación de saciedad y disminución de la sensación de hambre. La selectividad de acción sobre unos receptores específicos disminuyen los efectos adversos cardiovasculares.

- Topiramato/fentermina: la fentermina es un fármaco de acción simpática que a nivel central produce disminución del apetito y aumento del consumo energético, mientras que el topiramato es un antiepiléptico cuyo mecanismo de acción en la pérdida de peso no es

bien conocido. Si bien ambos fármacos habían sido probados por separado y desechados por la gran cantidad de efectos adversos observados (aumento en la frecuencia cardiaca y tensión arterial, parestesias, somnolencia y alteraciones en la capacidad de concentración y memoria), su uso de manera conjunta permite disminuir las dosis de ambos, aportando un perfil de seguridad adecuado.

A pesar de la gran cantidad de fármacos y mecanismos de acción estudiados hasta la fecha, los beneficios en cuanto a pérdida de peso al año frente a tratamiento con placebo varían desde el 3% en estudios con orlistat y con lorcaserin, hasta el 9% en estudios con fentermina/topiramato ⁽¹⁰⁴⁾. Dado que se trata de fármacos con importantes efectos secundarios, el análisis constante del balance riesgo/beneficio es de vital importancia en estos pacientes, ya que por lo general se trata de tratamientos de larga duración y la exposición a posibles efectos adversos, con resultados clínicos muy satisfactorios, debe ser tenida en cuenta.

Algunos estudios han mostrado que la pérdida de peso obtenida durante las doce primeras semanas de tratamiento puede ser un factor predictor de la pérdida obtenida al año ⁽¹⁰⁵⁾, por lo que tras estas doce primeras semanas se debe evaluar los resultados y decidir si continuar con el tratamiento, cambiar la medicación o suspenderlo.

Tratamiento quirúrgico. En pacientes con obesidad grados I y II, pérdidas del 10% del peso redundan en importantes beneficios y el tratamiento multimodal con dietoterapia, ejercicio físico y tratamiento farmacológico puede ser efectivo.

Sin embargo, en pacientes con obesidad mórbida o extrema (tipos III y IV) esta pérdida no es suficiente y los tratamientos convencionales fracasan en la mayoría de casos.

En estos pacientes la cirugía es el único tratamiento eficaz a largo plazo, tanto en la pérdida de peso como en la mejoría o resolución de las comorbilidades asociadas a la obesidad. La cirugía ha mostrado una reducción de la mortalidad del 25% frente a una población control tratada médicamente ⁽¹⁰⁶⁾.

El objetivo de la cirugía es prevenir la morbimortalidad ligada a la obesidad y al síndrome metabólico, reducir la comorbilidad asociada y mejorar la calidad de vida a través de una pérdida de peso mantenida en el tiempo y todo ello con un mínimo de complicaciones.

Las indicaciones para realizar cirugía en los pacientes con obesidad mórbida son:

1. IMC superior a 40 kg/m²
2. IMC superior a 35 kg/m² con comorbilidades mayores asociadas
3. Tratamiento médico previo de al menos 5 años con fracaso del mismo
4. Situación de obesidad mórbida de al menos 5 años
5. Edad entre 16-65 años
6. Técnicas con aceptable riesgo quirúrgico
7. Cooperación del paciente a largo plazo
8. Consentimiento informado y aceptación del riesgo quirúrgico

Mientras que las contraindicaciones para la cirugía de la obesidad:

1. Alteraciones psiquiátricas graves
2. Patología suprarrenal o tiroidea causante de la obesidad
3. Adicción a drogas o alcohol sin posibilidad de remisión
4. Poca colaboración del paciente o escasa adhesión al tratamiento

A pesar de que en estos son los criterios clásicos para indicar cirugía en los pacientes obesos, algunos de ellos se encuentran actualmente en discusión.

Existen numerosas guías clínicas que admiten que la cirugía podría estar indicada en pacientes con IMC inferior a 35 con DM2 mal controlada y factores de riesgo cardiovascular aumentados. También se discute la necesidad de tratamiento médico en pacientes superobesos, ya que se sabe de antemano que fracasa en el 95% de los mismos y muchos grupos indican de entrada el tratamiento quirúrgico.

Estándares de calidad en cirugía bariátrica. Actualmente los estándares de calidad exigibles a la cirugía bariátrica afectan a tres ámbitos:

- Pérdida de peso: se admite que se debe conseguir un porcentaje de sobrepeso perdido (PSP) superior al 55% al año de la intervención quirúrgica. Para el *by-pass* gástrico es exigible un PSP de 75% y 65% a los 2 y 5 años y se han propuesto PSP de 65% y 55% a 2 y 5 años para la gastrectomía vertical (GV).
- Resolución de comorbilidades mayores:

Diabetes: los criterios de remisión son conseguir una hemoglobina glicosilada (HbA1c) por debajo del 6% y normalización de la glucemia en ayunas sin medicación durante un año como mínimo. La resolución para el by-pass gástrico debe ser al menos el 75% al año y 70% a los tres años, y para la GV 47% al año en individuos con IMC inferior a 35 y del 87% para individuos con IMC superior a 35.

Hipertensión arterial: son criterios de remisión la tensión arterial menor de 140/80 mm Hg (consenso SECO/SEEDO 2012) y menor de 130/85 mm Hg según la Federación Internacional de Diabetes. Se debe conseguir la resolución de la HTA en al menos 70% de los pacientes.

Dislipidemia: los criterios que se utilizan para definir la remisión son: cLDL < 100 mg/dl, triglicéridos (TG) < 150 mg/dL, cHDL > 40 mg/dl (hombres) y > 50 mg/dl (mujeres) según consenso SECO/SEEDO 2012. Se debe conseguir la remisión en el menos el 70 % de los casos.

Apnea obstructiva del sueño: la remisión se define como menos de cinco episodios apneicos-hipoapneicos/hora, registrados mediante polisomnografía y la cirugía debe conseguir la remisión en al menos el 25% de los pacientes tras la pérdida ponderal.

- Morbi-mortalidad: Se propone una mortalidad inferior al 0,5% con una morbilidad global a 30 días inferior al 7%.

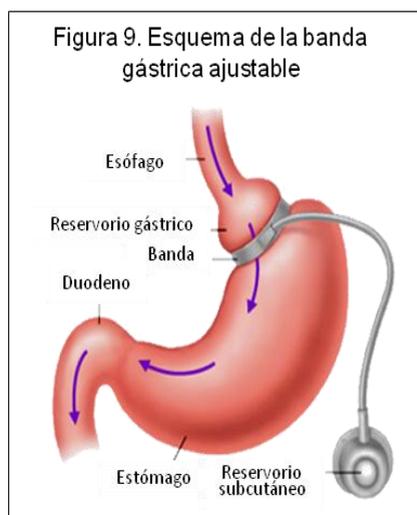
Técnicas quirúrgicas. Históricamente se han realizado numerosas técnicas quirúrgicas, si bien actualmente la Federación Internacional de Cirugía de la Obesidad (IFSO) reconoce como procedimientos cualificados la banda gástrica ajustable, la gastrectomía vertical, el

by-pass gástrico en Y de Roux y la derivación bilio-pancreática con o sin cruce duodenal, siendo el abordaje laparoscópico de primera elección.

La elección de la técnica quirúrgica dependerá de las características clínicas del paciente así como de su perfil psicológico y de su comportamiento alimentario. Podemos diferenciar estas técnicas en función de su mecanismo de acción:

➤ Técnicas restrictivas: buscan reducir la capacidad del estómago con el objetivo de obtener una sensación de plenitud precoz con pequeñas ingestas. Son técnicas que no provocan malabsorción de nutrientes y pueden ser convertidas a otras técnicas más complejas.

- Gastroplastia con banda ajustable (Figura 9): consiste en la colocación de una banda hinchable de silicona alrededor de la *pars* flácida del estómago, delimitando por encima de la misma un pequeño reservorio gástrico de unos 10 ml de volumen, conectada por medio de un catéter a un pequeño dispositivo subcutáneo que permite el hinchado y deshinchado de la banda. Es una técnica sencilla con baja mortalidad (inferior al 0,3%) y morbilidad (5%).

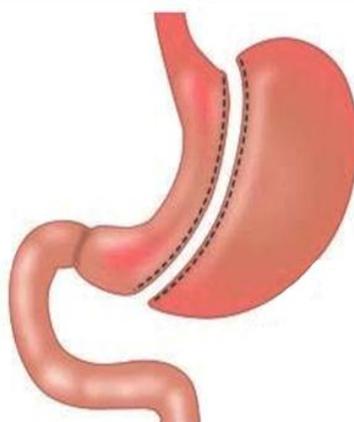


La pérdida de exceso de peso asociada a la banda gástrica ajustable puede ir de un 30% a un 65% en los primeros años, aunque

se ha descrito pérdidas menores a más largo plazo ⁽¹⁰⁷⁾. En cuanto a resolución de las comorbilidades, la mayor parte de los autores coinciden en su efectividad, notificando mejoría de la DM2 (79-81%), el SM (78%), la HTA (67%) y la dislipemia (65%). Presenta una tasa de fracasos por no alcanzar la pérdida de peso prevista, entre un 10-20% ⁽¹⁰⁸⁾, con una alta tasa de revisión y conversión a otras técnicas por complicaciones como vómitos incoercibles, deslizamiento de la banda (1-6%), dilatación gastroesofágica (5-15%) erosión de la banda (1-3%) y problemas relacionados con el catéter o el repertorio subcutáneo (15%).

- Gastrectomía vertical, manga gástrica, gastric sleeve (Figura 10): consiste en realizar una gastrectomía vertical de aproximadamente el 70% del estómago a lo largo de la curvatura mayor, dejando un reservorio gástrico tubular con una capacidad aproximada de 60-150 ml. Con este tipo de gastrectomía se elimina la mayor parte de células oxínticas que son las productoras de ghrelina, hormona estimulante de la somatotropina con conocido efecto orexiante, por lo que se produce una disminución del apetito y una reducción del volumen de ingesta. Al ser puramente restrictiva no ocasiona importantes déficits nutricionales y requiere poca suplementación nutricional.

Figura 10. Esquema de la GV.



Fue inicialmente concebida como el primer tiempo quirúrgico de un cruce duodenal en pacientes superobesos con elevado riesgo quirúrgico ⁽¹⁰⁹⁾, pero los buenos resultados obtenidos en cuanto a pérdida de peso y mejoría de las co-morbilidades junto al fácil manejo a largo plazo, así como a la sencillez técnica y baja morbimortalidad ha ocasionado un auge en su difusión y su indicación en solitario como tratamiento de la obesidad mórbida.

Presenta las ventajas de no requerir anastomosis intestinales y ser técnicamente menos demandante que el by-pass gástrico en Y de Roux. Presenta un menor tiempo operatorio, una menor hospitalización y menor morbilidad. No altera la continuidad del tracto alimentario, no alterando por tanto la absorción de alimentos y permitiendo el acceso endoscópico esófago-gastro-duodenal, así como a la vía biliar.

Preserva el píloro por lo que reduce el fenómeno de dumping ⁽¹¹⁰⁾ y no presenta riesgo de hernias internas. Es la técnica de elección en pacientes con elevado riesgo quirúrgico. Las tasas de mortalidad publicadas son del 0,3% con una morbilidad variable entre el 0 y el 29% ⁽¹¹¹⁾.

Las complicaciones tempranas incluyen fugas gástricas (2%), hemorragias (3,5%), estenosis precoces y tromboembolismo pulmonar (1-2%). Entre las complicaciones tardías se encuentra la enfermedad por reflujo gastroesofágico (RGE) (20-30%), fístulas crónicas, estenosis tardías (1%) y déficit nutricionales.

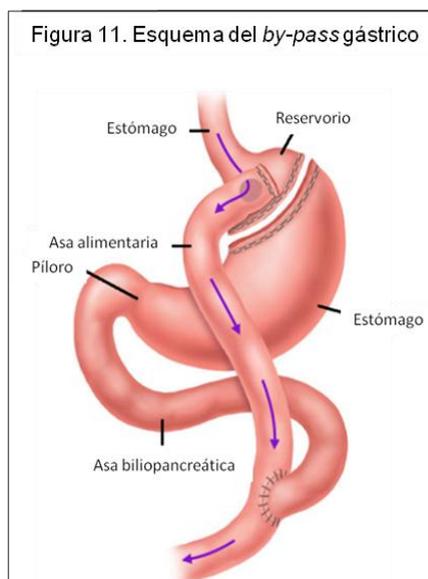
La GV produce una pérdida del PSP de entre el 50 y 62% a los 6 años ^(112,113) y una tasa de resolución de comorbilidades del

77% para la diabetes, 71% para la hipertensión y 61% para la hiperlipidemia tras seguimiento entre 6 y 24 meses ⁽¹¹¹⁾.

Diversos estudios han publicado tasas de reganancia ponderal de entre el 10 y el 20%, tratados con conversión a by-pass gástrico en Y de Roux o a derivación bilio-pancreática con cruce duodenal.

➤ Técnicas mixtas. Las técnicas mixtas asocian un componente restrictivo como es la creación de un reservorio gástrico con un by-pass intestinal que conlleva cierto grado de malabsorción. Son las que mayor pérdida de peso ocasionan pero también las más complejas técnicamente.

- *By-pass gástrico en Y de Roux* (Figura 11): asocia un parte restrictiva, como es la confección de un remanente gástrico vertical a expensas de la curvatura menor de unos 20-30 ml, junto con una parte discretamente malabsortiva, como es la reconstrucción de tránsito gastrointestinal con una Y de Roux, con una longitud del asa común entre 150-200 cm. La mortalidad asociada a la técnica varía del 0,3% al 1%, con tendencia a cifras menores en los estudios más recientes ⁽¹¹⁴⁾, con una tasa de complicaciones mayores entre 8 y 15%. Las complicaciones precoces postoperatorias incluyen la fuga de la anastomosis (5,6%),



hemorragia (1-4%), y el tromboembolismo venoso (0,1-3,8%). Entre las tardías está la estenosis anastomótica (5-27%), las úlceras marginales (2-12%), la obstrucción intestinal (3-4,5%), el síndrome de dumping (hasta un 70%) y diversos déficits nutricionales.

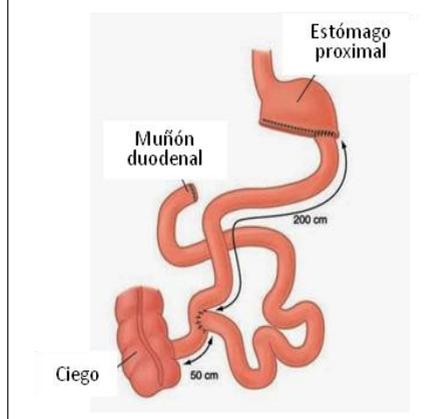
Actualmente es el *gold standard* de la cirugía bariátrica; con una pérdida de exceso de peso entre el 60-70% y resolución de comorbilidades del 75% ^(115,116).

Su efectividad a largo plazo ha sido validada con estudios que muestran pérdidas de exceso de peso a 10 y 14 años del 75% y 49% respectivamente ^(117,118) y el mantenimiento de la mejoría o remisión de las comorbilidades. Los fracasos de la técnica son muy poco frecuentes y generalmente se observan en pacientes superobesos que requieren cirugía de conversión a derivación biliopancreática.

- Derivación bilio-pancreática estándar (Figura 12): es una técnica fundamentalmente malabsortiva en la que se asocia una gastrectomía subtotal horizontal distal, que deja un reservorio gástrico de aproximadamente 200 ml, con un by-pass intestinal que deja un asa común de entre 50 y 100 cm (en función del grado de malabsorción deseado). Provoca malabsorción selectiva de grasa y almidón.

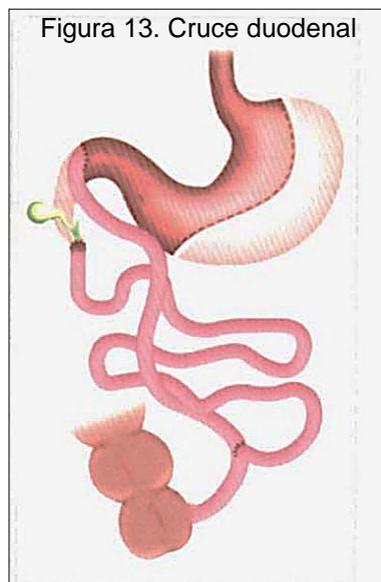
Presenta una mortalidad del 1-2% y una morbilidad del 8%. Obtiene buenos resultados en cuánto a pérdida de peso con

Figura 12. Esquema de la derivación biliopancreática estándar



tasas de pérdida de exceso de peso del 70-75% a largo plazo y una buena calidad de vida para los pacientes en cuanto que no restringe la ingesta pero tiene los inconvenientes de ser una técnica ulcerógena y producir malnutrición proteico-calórica, déficit de vitamina A, K y D y anemia ferropénica, requiriendo un seguimiento de por vida con controles periódicos y corrección de los distintos déficits.

- Derivación bilio-pancreática con cruce duodenal (Figura 13): se trata de una modificación de la técnica estándar en la que la gastrectomía realizada es vertical y la Y de Roux se construye con anastomosis duodeno-ileal y una anastomosis ileo-ileal, dejando un asa común de 80 cm y un asa alimentaria de 250 cm. Estas modificaciones introducen un componente restrictivo más importante a la vez que disminuyen el síndrome de dumping al mantener el píloro, Previene el déficit de vitamina B12 y la severidad de la malnutrición proteico-calórica al conservar un asa común más larga.



I.3. OBESIDAD, INFLAMACIÓN Y ESTRÉS OXIDATIVO.

La obesidad ha sido reconocida como un importante factor subyacente en la patogénesis de diversas enfermedades. Se ha demostrado que la obesidad se relaciona con un estado crónico de

inflamación leve influenciado por la activación de las células del sistema inmune en el tejido adiposo así como por el EO, desencadenando una respuesta sistémica de fase aguda.

Algunas enfermedades crónicas tal como el síndrome metabólico, algunos tipos de cáncer y diversas enfermedades cardiovasculares, se encuentran estrechamente relacionadas con la obesidad y el EO, por lo que algunos autores postulan que dicho estado inflamatorio en el tejido adiposo de la población obesa juega un papel fundamental en la patogénesis de las complicaciones relacionadas con la obesidad ⁽¹¹⁹⁾.

Hoy día el tejido adiposo se considera como un órgano de almacenamiento y endocrino necesario para la homeostasis de la energía. Este tejido contiene principalmente adipocitos pero también otras células como fibroblastos, pre-adipocitos, células endoteliales e inmunes y segrega hormonas y citoquinas (adipocitoquinas) con efecto endocrino, autocrino y paracrino en todo el organismo. Dichas adipocitoquinas tanto en condiciones fisiológicas pero sobretodo en condiciones patológicas inducen la formación de ROS que generan EO y la producción de otras adipocitoquinas ⁽¹²⁰⁾.

El exceso de tejido adiposo ha sido identificado como fuente de producción de citoquinas pro-inflamatorias tales como el factor tumoral de necrosis alfa (TNF- α), interleuquina-6 (IL-6), interleuquina-1 beta (IL-1 β), y proteína C reactiva (PCR), así como toda una serie de adipoquinas bioactivas como la leptina, adiponectina, visfaina, resistina, apelina y factor inhibidor del plasminógeno tipo I (PAI-1).

Un factor anti-inflamatorio presente en el tejido adiposo, la adiponectina, va disminuyendo a medida que aumenta el grado de obesidad ⁽¹²¹⁾.

Existe evidencia de que durante la fase de crecimiento excesivo del tejido graso que se produce en la obesidad se genera cierto grado de hipoxia ⁽¹²²⁾, que a través del factor inducible por hipoxia 1 (HIF-1) incrementa la expresión de citoquinas proinflamatorias y la producción de ROS y conduce a una mayor expresión del factor inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1) en los adipocitos ⁽¹²³⁾.

El TNF- α es una citoquina crucial, producida principalmente en los monocitos, linfocitos, tejido adiposo y tejido muscular, que regula la respuesta inflamatoria, el sistema inmune, la apoptosis de adipocitos así como el metabolismo de los lípidos, incrementando la lipogénesis hepática y las señales reguladoras de insulina. Se le ha relacionado con el desarrollo de resistencia insulínica (RI), obesidad y diabetes ⁽¹²⁴⁾.

El TNF- α incrementa la liberación de ácidos grasos libres en los adipocitos, bloquea la síntesis de adiponectina, otra citoquina que posee una importante actividad sensibilizado frente a insulina, e interfiere con la fosforilación de residuos de tirosina en el primer sustrato del receptor de insulina, paso necesario para la progresión intracelular de la señal hormonal.

También favorece la respuesta sistémica de fase aguda mediante la liberación de agentes pro-inflamatorios como IL-6, así como mediante la inhibición de otras citoquinas anti-inflamatorias como la adiponectina, además activa el factor de transcripción

nuclear kappa B (NF- κ B), lo que conlleva un aumento en la expresión de moléculas de adhesión en la superficie de las células endoteliales y de la musculatura lisa, dando lugar a un estado inflamatorio en el tejido adiposo, disfunción endotelial y por último aterogénesis.

Los niveles séricos de TNF- α se encuentran elevados en pacientes con obesidad y disminuyen con la pérdida de peso.

La IL-1 β es una citoquina liberada principalmente por los monocitos en respuesta a daño tisular, infección o compromiso inmunológico.

Favorece la respuesta pro-inflamatoria existente en la obesidad mediante la producción de otras citoquinas tal como la IL-6⁽¹²⁵⁾. La IL-6 ejerce múltiples funciones que van desde actividades de defensa hasta la inflamación y daño tisular. Es producida en los macrófagos y adipocitos así como en células del sistema inmune, fibroblastos, células endoteliales y de músculo esquelético. Los niveles plasmáticos de IL-6 se relacionan con el índice de masa corporal (IMC), resistencia a la insulina e intolerancia a carbohidratos⁽¹²⁶⁾.

La IL-6 afecta la tolerancia a la glucosa mediante la regulación negativa de otra citoquina, la visfatina, y además antagoniza la secreción de adiponectina. También suprime la actividad de lipoprotein-lipasa potenciando la gluconeogénesis y la glucogenolisis e inhibiendo la glucogénesis, lo cual eleva los niveles de triglicéridos. También controla el apetito y la ingesta de energía a nivel del hipotálamo⁽¹²⁷⁾.

El tejido adiposo visceral, a través de la secreción de otras moléculas que estimulan la expresión de IL-6, libera entre dos y tres veces más IL-6 que el tejido graso subcutáneo ⁽¹²⁸⁾.

La leptina es una hormona cuya producción y secreción tiene lugar principalmente en el tejido adiposo y dicha secreción se produce proporcionalmente a la masa de tejido adiposo y al contenido del mismo en triglicéridos. Tiene efectos anorexígenos, circula en plasma unida a proteínas y es capaz de entrar por difusión en el sistema nervioso central (SNC). En el núcleo ventro-medial del hipotálamo estimula la citoquin-receptor-quinasa 2 y la síntesis de hormona estimulante de melanocitos, ocasionando saciedad. Inhibe la lipogénesis y estimula lipólisis, reduciendo el nivel de lípidos intracelulares en múltiples tejidos, tales como el músculo estriado, el hígado y las células beta del páncreas, mejorando así la sensibilidad a la insulina.

En el sistema límbico estimula la recaptación de dopamina, eliminando el placer de comer activando el sistema nervioso simpático a través del *locus caeruleus*, lo que se traduce en un aumento del gasto energético en reposo ⁽¹²⁹⁾.

Si bien las catecolaminas y los glucocorticoides están implicados en la regulación de producción de leptina, el factor determinante en su secreción es el metabolismo de la glucosa ya que los niveles plasmáticos de leptina disminuyen en condiciones de ayuno o restricción calórica y aumentan en respuesta a la ingesta de alimentos ⁽¹³⁰⁾. Los niveles de leptina se encuentran paradójicamente elevados en la población obesa.

Hoy en día se cree que la pérdida de su capacidad anorexígena es debida a mecanismos de resistencia ⁽¹²⁵⁾.

La leptina promueve el EO actuando directamente sobre los macrófagos e incrementando su actividad fagocítica, induciendo la síntesis de diversas citoquinas pro-inflamatorias como TNF- α , IL-6 e IL-2. Ejerce su función sobre linfocitos T, monocitos, neutrófilos y células endoteliales. Sobre estas últimas actúa estimulando su proliferación y migración, así como las de células de musculatura lisa, favoreciendo la aterogénesis.

Se cree que estos efectos pro-inflamatorios de la leptina podrían deberse a similitudes estructurales y funcionales con la familia de la IL-6 ⁽¹³¹⁾. Cuando se produce pérdida de peso los niveles circulantes de leptina disminuyen y así lo hacen también los marcadores inflamatorios relacionados con la obesidad ⁽¹²⁵⁾.

La adiponectina es segregada únicamente por adipocitos diferenciados y desempeña funciones de regulación en el metabolismo de glucosa y de lípidos, acción anti-inflamatoria y anti-aterogénica, mejora la sensibilidad a la insulina, disminuye el flujo de ácidos grasos libres e incrementa su oxidación, inhibe las principales enzimas gluconeogénicas hepáticas, reduce la liberación hepática y muscular de glucosa y estimula la utilización de glucosa y la oxidación de ácidos grasos ⁽¹²⁶⁾.

Su actividad anti-inflamatoria y antiaterogénica deriva de su capacidad para inhibir la adhesión de monocitos a las células endoteliales, la transformación de macrófagos en células espumosas y la activación de células endoteliales. Incrementa la producción de óxido nítrico en las células endoteliales e inhibe la migración celular y

la producción de ROS inducida por la LDL-oxidasa durante la formación de la placa de ateroma.

Por lo general los niveles de adiponectina se encuentran disminuidos en gran cantidad de enfermedades que se asocian a obesidad y resistencia a la insulina ⁽¹²⁴⁾.

Niveles elevados de esta hormona se relacionan con la pérdida de peso, mientras que niveles deficientes de la misma originan una reducción del óxido nítrico en la pared vascular y promueve la adhesión leucocitaria causando inflamación vascular crónica ⁽¹³²⁾. Tanto el IL-6 como el TNF- α son potentes inhibidores de la síntesis de adiponectina.

El factor inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1) es el principal inhibidor del sistema fibrinolítico y una de sus fuentes de producción es el tejido adiposo, sobretodo el visceral. Además de contribuir a la formación de trombos y el desarrollo de patologías cardiovasculares, juega un papel importante en la regulación del tejido adiposo incrementando el aporte sanguíneo al mismo y la liberación de ácidos grasos desde este ⁽¹³³⁾. Estos efectos son mediados por la liberación de citoquinas inflamatorias y por la activación del factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NF-kB), induciendo EO ⁽¹³⁴⁾.

El tejido adiposo también tiene la capacidad de secretar angiotensinógeno II, el cual estimula la actividad de la NADPH-oxidasa, que constituye la mayor fuente de producción de ROS en el adipocito.

La adipsina es una proteasa sérica que regula la captación de ácidos grasos por parte de los adipocitos y por tanto su tasa de

conversión a triglicéridos. Es capaz de activar el factor C3 favoreciendo la acción pro-inflamatoria de monocitos y macrófagos.

La visfatina es una hormona que estimula la diferenciación de adipocitos, promueve la acumulación de triglicéridos provenientes de glucosa y disminuye la liberación de glucosa por parte de los adipocitos. Tiene efecto pro-inflamatorio en cuanto que induce la liberación de citoquinas (TNF- α , IL-1, IL-6). Su concentración se encuentra elevada en pacientes con obesidad y en diabéticos y sus niveles se relacionan directamente con la masa grasa corporal, disminuyendo con la pérdida de peso.

La resistina es una adipocina producida en adipocitos maduros y en monocitos, relacionada con la regulación del apetito, del balance energético y con la resistencia a la insulina. Promueve la activación de células endoteliales y regula la adhesión de moléculas y citoquinas vasculares proinflamatorias.

El aumento de su concentración disminuye la expresión de la óxido-nítrico-sintetasa y la producción de NO a través de EO en células endoteliales de arterias coronarias cultivadas, lo que sugiere que la acción de la resistina pueda estar mediada por EO ⁽¹³⁵⁾.

Los adipocitos de los pacientes obesos tienen una menor densidad de receptores de insulina y una mayor densidad de receptores beta-3 adrenérgicos. Debido a ello presentan una tasa elevada de lipólisis y de liberación de ácidos grasos libres, lo cual presenta efectos negativos sobre el metabolismo de la glucosa ⁽¹³⁶⁾ ⁽¹⁾, favorece el acumulo de glúcidos y lípidos en el tejido adiposo y promueve la oxidación mitocondrial y peroxisomal.

Este estado conduce a la producción de radicales libres y favorece el EO, el daño de ADN mitocondrial y diversos efectos dañinos en las estructuras celulares que se conocen como lipotoxicidad ⁽¹³⁷⁾. El daño celular origina la producción de citoquinas inflamatorias como el TNF- α , lo cual genera a su vez producción de ROS, incrementando la tasa de peroxidación lipídica a modo de círculo vicioso.

Los pacientes con obesidad presentan niveles elevados de biomarcadores de peroxidación lipídica tal como el MDA y F2 isopropanos (F-2IsoPs), y sus niveles están correlacionados con el IMC ⁽¹³⁸⁾, con el porcentaje de masa grasa, la oxidación de LDL y los niveles de triglicéridos ⁽¹³⁹⁾. Por contra presentan una actividad de la SOD y la GPx significativamente menor que la población sana y sus niveles séricos de vitamina A, C y beta-carotenos así como de glutatión se encuentran disminuidos ⁽¹⁴⁰⁾.

II. HIPOTESIS Y OBJETIVOS

II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

II.1. HIPÓTESIS

El proceso inflamatorio crónico que subyace en la obesidad, a través de la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS), induce estrés oxidativo y cambios en el estado redox que afectan tanto al tejido adiposo en crecimiento como a las células circulantes.

El EO y su consecuencia más inmediata, la oxidación del ADN, se han relacionado con procesos degenerativos y alteraciones metabólicas que frecuentemente evolucionan con alteración de los sistemas endocrino, digestivo y circulatorio.

Todos estos cambios metabólicos y alteraciones bioquímico-moleculares están especialmente incrementados en la obesidad mórbida.

Los productos de modificación oxidativa que se inducen por la generación de ROS se utilizan a nivel experimental como marcadores de distintas alteraciones cardio-metabólicas y procesos degenerativos.

En la obesidad mórbida existe una alta incidencia de comorbilidades mantenidas y agravadas por procesos metabólicos, cardiovasculares e incluso neoplásicos que guardan una estrecha relación con el EO a través de la generación tanto de productos de peroxidación lipídica como de modificación del material genético.

La técnica de la gastrectomía vertical laparoscópica representa una mejora a nivel quirúrgico por su menor agresividad, que posiblemente tenga una repercusión positiva tanto para la

recuperación clínica del paciente como de su estado metabólico y oxidativo.

La valoración sistémica de los productos de oxidación en muestras biológicas de fácil obtención y análisis (suero y orina) en los pacientes obesos puede ser de gran utilidad para el mejor conocimiento de estado patológico de los pacientes obesos y su seguimiento clínico.

Teniendo en cuenta que el elevado daño oxidativo es la causa subyacente de la obesidad y de sus complicaciones clínicas, la reducción terapéutica del tejido adiposo, mediante GVL debería contribuir a mejorar el estado inflamatorio que a su vez reduciría los niveles de EO y los resultados clínicos de los pacientes afectados.

Es por eso que nos hemos planteado las siguiente hipótesis:

- El estrés oxidativo está presente en los pacientes afectos de obesidad mórbida.
- La pérdida de peso obtenida en estos pacientes tras cirugía bariátrica mediante la técnica de la gastroplastia vertical laparoscópica, con la consiguiente disminución de la cantidad de depósitos de grasa y la disminución del *status* de inflamación crónica, mejora el estrés oxidativo presente en ellos.

II.2. OBJETIVOS

Para responder a las hipótesis antes enunciadas nos hemos planteado los siguientes objetivos:

Objetivos principales

1. Valoración del EO en pacientes con obesidad mórbida y su modulación tras cirugía bariátrica mediante la gastrectomía vertical laparoscópica.
2. Estudios de correlación entre los metabolitos de EO y los marcadores bioquímico-metabólicos y antropométricos.
3. Estudios de correlación entre los metabolitos de EO y la evolución de comorbilidades tras el tratamiento quirúrgico de los pacientes.

Objetivos secundarios

1. Estudio integral del estrés oxidativo mediante el análisis de la actividad de proteínas antioxidantes (SOD, CAT, GPx, GSH), relación GSH/GSSG y niveles de los productos de modificación de lípidos, proteínas y ácidos nucleicos (8-oxo-dG) en células mononucleares periféricas, suero y orina respectivamente, en sujetos sanos normopeso y pacientes con obesidad mórbida.
3. Valoración de parámetros antropométricos y bioquímicos clínicos incluyendo perfiles metabólicos de glúcidos (glucosa, HbAc, insulina e índice HOMA) lípidos (Triacilglicéridos, Colesterol total, colesterol HDL y colesterol LDL) en suero y plasma de sujetos controles y pacientes con obesidad mórbida.

4. Variación ponderal y parámetros bioquímico-clínicos tras la cirugía bariátrica y su comparación con los valores determinados antes de la cirugía en los pacientes obesos mórbidos.

II. MATERIAL Y METODO

III. MATERIAL Y MÉTODO.

III.1. DISEÑO DEL ESTUDIO.

Estudio prospectivo y observacional sobre el estrés oxidativo en pacientes obesos mórbidos y su evolución tras la pérdida de peso obtenida con cirugía bariátrica mediante la técnica de la gastroplastia vertical laparoscópica (GVL).

III.2. POBLACIÓN A ESTUDIO.

Pacientes obesos mórbidos estudiados la Unidad de Obesidad del Hospital General Universitario de Valencia, que son sometidos a cirugía bariátrica. Se incluyeron en el estudio, de forma prospectiva y consecutiva, todos aquellos pacientes candidatos a cirugía bariátrica de acuerdo a los criterios establecidos por la SECO⁽¹⁴⁰⁾ y que dieron su consentimiento para participar en el mismo, siendo los criterios de inclusión y exclusión para la indicación de la cirugía los siguientes:

Criterios de inclusión

- Pacientes con IMC \geq 40
- Pacientes con IMC \geq 35 y comorbilidades mayores asociadas
- Edad entre 15 y 65 años
- ASA II y III
- Múltiples fracasos de diversos tratamientos médico dietéticos
- Historia de obesidad de más de 5 años de evolución

- Entendimiento y firma voluntaria del consentimiento informado

Criterios de exclusión

- Enfermedades psiquiátricas, alteraciones de la personalidad y del comportamiento alimentario, depresiones graves no tratables y tendencias suicidas.
- Patología endocrina, suprarrenal o tiroidea, causante de la obesidad.
- Incontrolada adicción al alcohol y/o drogas.
- Oposición importante de la familia a la intervención.
- Expectativa de mala cumplimentación en los controles postoperatorios.
- Incapacidad para realizar el seguimiento del estudio.

III.3. TAMAÑO DE LA MUESTRA.

A lo largo de un periodo comprendido entre Septiembre de 2006 y Septiembre de 2015 han sido intervenidos quirúrgicamente en el Servicio de Cirugía General y Aparato Digestivo, un total de 161 pacientes afectos de obesidad mórbida, a los que se les ha realizado la técnica de GVL y que han seguido controles postoperatorios de su evolución ponderal y comorbilidades. De ellos, 21 participaron en el estudio de EO, siendo intervenidos de manera consecutiva, entre el 15-5-2013 y el 24-6-2014.

Posteriormente han sido controlados, realizando el estudio del EO a lo largo del primer año postoperatorio, que ha finalizado en Junio de 2015 y que se ha realizado sobre muestras biológicas,

sangre y orina, procesadas en la Unidad de Toxicología Metabólica del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de Valencia, así como por el Servicio de Análisis Clínicos del Consorcio Hospital General Universitario de Valencia (CHGUV).

III. 4. CONSIDERACIONES ÉTICAS.

El estudio ha sido aprobado por el Comité Ético y de Investigación del CHGUV. Tras explicación, lectura y entendimiento del proyecto, los pacientes que aceptaron participar en el mismo y firmaron la autorización, son lo que han formado la serie a estudio.

III.5. GRUPO CONTROL DE EO.

Para el estudio de los valores de los metabolitos de EO, se ha conformado y estudiado un conjunto de 21 personas de edad y género similar al grupo de estudio pero sin obesidad ni otras patologías de interés, que nos ha servido de grupo control y que ha sido extraído de la misma población de referencia que la población a estudio.

El grupo control lo conforman 20 mujeres y 1 hombre, con una media de edad de 42,1 años (22-60), un peso medio de $79\pm 3,2$ Kg y una talla media de 172 ± 12 cm. En ellos se han valorado los mismos metabolitos que se han estudiado en el grupo de obesos y que hemos considerado como valores “normales” al ser los de un grupo de personas sanas.

III.6. MÉTODO.

Los pacientes fueron intervenidos quirúrgicamente de forma consecutiva, efectuándoles la técnica de la GVL y siempre realizada por el mismo equipo quirúrgico formado por los cuatro cirujanos

componentes de la Sección de Cirugía Esofagogástrica y Obesidad Mórbida del Servicio de Cirugía del CHGUV. Previamente a la intervención y en el postoperatorio, se les realizó el estudio de los metabolitos del EO y antioxidantes, controlándose además, tanto la evolución ponderal como la de las comorbilidades.

Todos los pacientes han seguido un protocolo previo a la cirugía, concretado en la guía/vía clínica instaurada en el Servicio de Cirugía General del CHGUV.

II.6.1. Circuito preoperatorio.

En el CHGUV existe la Unidad de Obesidad, integrada por médicos especialistas pertenecientes a la Sección Esófago-gástrica y Obesidad Mórbida del Servicio de Cirugía General, a la Unidad de Endocrinología, a la Sección de Trastornos del Sueño del Servicio de Neumología, a la Sección de Trastornos de la Conducta Alimentaria del Servicio de Psiquiatría y la Dietista, para la asistencia multidisciplinar al paciente obeso mórbido.

A los pacientes se les realiza el historial clínico mediante una anamnesis completa y exploración física con toma de medidas antropométricas y se valora el cumplimiento de los requisitos de inclusión para cirugía bariátrica, siendo preceptivo para ello el informe previo del endocrinólogo indicando la necesidad de cirugía como tratamiento de estos pacientes y el del psiquiatra, con valoración positiva para la realización de la cirugía.

A los pacientes se les solicita de manera sistemática un tránsito esófago-gastroduodenal para ver la morfología del estómago, presencia de hernia de hiato y/o reflujo gastroesofágico radiológico.

La presencia de hernia de hiato determinará la conveniencia de reducirla y realizar un cierre de pilares, mientras que la existencia de sintomatología de RGE que requiere medicación (con o sin confirmación radiológica) determinará la necesidad de realizar estudios funcionales para indicar el tipo de cirugía a realizar y una endoscopia digestiva alta con determinación de *Helicobacter Pylori* si se va a realizar un bypass gástrico. Se solicita también de manera sistemática una ecografía hepática para valorar la presencia de litiasis y esteatosis hepática.

Se valora la posible existencia de SAOS mediante estudios funcionales a fin de efectuar tratamiento previo con presión positiva continua en la vía aérea (CPAP) en caso afirmativo. El estudio preoperatorio se completa con interconsultas a otros especialistas tales como cardiólogo, hematólogo etc. para la valoración de las distintas patologías que fueran detectadas en la anamnesis, a fin de reducir al mínimo el riesgo quirúrgico.

Los pacientes que cumplen los criterios de inclusión, con visto bueno del endocrinólogo y psiquiatra y aceptan la intervención se les incluye en lista de espera quirúrgica y son priorizados con arreglo al grado de obesidad, factores de riesgo cardiovascular, comorbilidad asociada y repercusión sobre la calidad de vida y en su momento, próximo a la cirugía, los pacientes son valorados por el anestesista con las exploraciones pertinentes. Se les pauta una dieta de bajo contenido calórico que deben seguir previamente a la intervención para obtener una pérdida de al menos un 10% de su peso y se le suministra un aparato de fisioterapia respiratoria incentivada (Respiflow®).

El día previo a la intervención, todos los pacientes reciben profilaxis tromboembólica con heparina de bajo peso molecular. El día de la intervención se les coloca medias compresivas y se les realiza profilaxis antibiótica empírica junto a la extracción de 20 ml de sangre y 5 ml de orina como primeras muestras biológicas para el estudio del estrés oxidativo.

III.6.2. Exploraciones preoperatorias.

Previamente a la intervención quirúrgica se realizan las exploraciones habituales protocolizadas en el preoperatorio de todo paciente quirúrgico:

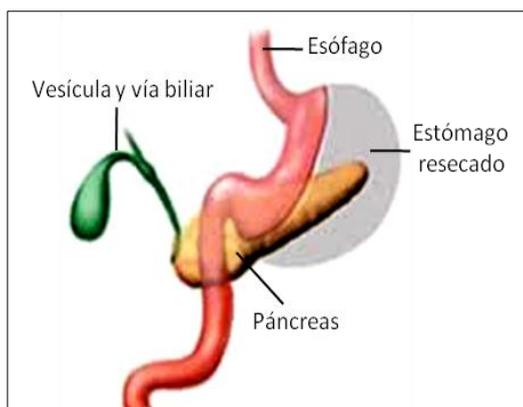
- Determinaciones sanguíneas: hemograma, bioquímica y estudio de la coagulación.
- Electrocardiograma (ECG).
- Radiografía simple de tórax y abdomen.
- Valoración neumológica y cardiológica.
- Ecografía hepátobiliar.
- Tránsito esofago-gástrroduodenal (TEGD).
- Ecocardiografía en pacientes con IMC > 50.
- Medición del peso, altura y diámetro de la cintura.

Antes de proceder a la cirugía, se comprueban los informes favorables del endocrinólogo, psiquiatra y anestesista, así como del neumólogo y cardiólogo si procedía, y los documentos firmados del consentimiento para la intervención y la de la participación voluntaria en el estudio del EO.

III.6.3. Técnica quirúrgica.

Todos los pacientes fueron intervenidos quirúrgicamente mediante la técnica de la GVL (Figura 14).

Figura 14. Esquema de la gastrectomía vertical laparoscópica.



La cirugía se realiza bajo anestesia general y ventilación mecánica asistida, con el paciente en posición decúbito supino y anti-Trendelemburg (35-40°), los brazos extendidos y las piernas abiertas (posición francesa) entre las que se sitúa el cirujano, con el primer ayudante colocado a la izquierda del paciente y el segundo ayudante a la derecha.

Se procede a la tracción de la pared abdominal y a la colocación de un trocar óptico (con óptica de 0° para entrar en cavidad y óptica de 30° para el resto de la cirugía) en línea media supraumbilical, a unos 15 cm del apéndice xifoides, a través del cual se realiza el neumoperitoneo.

Una vez establecido, se procede a la colocación, bajo visión directa, de los diferentes trocares: dos trocares de 12 mm para el cirujano (uno en línea medio-clavicular derecha y otro en la izquierda) y dos trocares de 5 mm para los ayudantes, uno en xifoides (para colocación del separador hepático) y el otro subcostal izquierdo (para el primer ayudante). Previamente se infiltra con anestesia local (bupivacaína) la piel, aponeurosis y peritoneo en los lugares donde se van a introducir los trocares.

Comprobada la ausencia de hallazgos de interés quirúrgico se comienza liberando la curvatura mayor gástrica del epiplón gastrocólico y pared gástrica posterior, desde 4 cm de píloro hasta el ángulo de Hiss y pilar izquierdo del hiato esofágico, respetando los vasos gastroepiploicos. Habitualmente se realiza con instrumentos de termofusión o termocoagulación tipo Ultracisión® o Ligasure®.

A continuación se procede a realizar la hemigastrectomía vertical de forma mecánica mediante endograpadora lineal, tutorizando la sección del estómago mediante la colocación de una sonda intragástrica de 36 French, situada junto a la curvatura menor y hasta el píloro, para conseguir un tubo gástrico de un volumen de 100 ml aproximadamente.

Utilizamos una endograpadora de tres líneas de grapado con variación en el tamaño de la grapa según la zona gástrica a seccionar: de 3, 3,5 y 4 mm para antro gástrico y de 2, 2,5 y 3 mm para cuerpo y *fundus*, iniciando la sección en zona antropilórica y siguiendo hasta visualizar el pilar izquierdo del hiato y controlando la parte posterior del estómago a fin de que no quede remanente del mismo y la capacidad del estómago residual sea mayor de la

deseada. Una vez seccionado el estómago, se comprueba la hemostasia de la línea de grapado y en ocasiones se procede (este punto no es sistemático) a la invaginación sero-serosa de la misma con sutura de monofilamento reabsorbible.

Se realiza un control de la estanqueidad de la línea de grapado mediante la instilación de azul de metileno a través de la sonda gástrica. El estómago reseca se extrae por la puerta del trocar colocado en línea media clavicular izquierda. Ocasionalmente se deja un drenaje aspirativo de Jackson-Pratt y se cierran los orificios de los trocares de 12 mm.

Tras la cirugía, los pacientes pasan a la Unidad de Reanimación Post Anestésica (URPA) donde permanecen bajo monitorización continua durante 24 horas y una vez comprobada la estabilidad hemodinámica y la recuperación de todas sus funciones vitales, pasan a Sala de Cirugía.

III.6.4. Controles postoperatorios inmediatos.

En la sala de cirugía, a los pacientes se les realiza todas las medidas protocolizadas para la cirugía de la obesidad mórbida, según la vía clínica instaurada para esta patología: analítica sanguínea, movilización precoz, TEGD con contraste hidrosoluble a las 48 de la cirugía, dieta líquida en caso de normalidad en los estudios realizados y alta hospitalaria al tercer día postoperatorio.

Hemos tenido especial consideración en tres aspectos:

- Fisioterapia respiratoria: mediante incentivación espiratoria (Respiflow[®]), aseo bronquial (clapping) y presión positiva continua de las vías respiratorias (CPAP) para evitar las atelectasias.

- Profilaxis tromboembólica: con heparina de bajo peso molecular adecuada al sobrepeso del paciente, vendaje/medias de compresión en las extremidades inferiores colocadas antes del traslado al quirófano, compresión neumática peroperatoria y deambulación precoz.

- Detección precoz de fugas anastomóticas y/o estenosis: mediante radiología con contraste hidrosoluble (Gastrografin[®]) antes de iniciar cualquier tipo de ingesta (2º día postoperatorio).

Los pacientes que no presentaron complicaciones fueron dados de alta a los tres días de la intervención, siendo remitidos a Consultas Externas de Cirugía con fecha concertada, entregándosele una hoja informativa con las oportunas recomendaciones sobre estilo de vida, alimentación, medicación (analgésicos, profilaxis tromboembólica a dosis profiláctica e inhibidores de la bomba de protones durante un mes) así como diferentes aspectos de su postoperatorio.

III.6.5. Seguimiento ambulatorio.

Todos los pacientes, tras ser dados de alta hospitalaria son seguidos ambulatoriamente, con controles periódicos tal como mostramos en la siguiente tabla.

Tabla IV. Controles periódicos durante el seguimiento ambulatorio de los pacientes.							
Visita (mes)	Cirugía	Endocrino	Dietista	Psiquiatra	Hemograma	Perfil obesidad	Perfil EO
1	X		X		X	X	X
3	X		X		X	X	X
6	X	X		X	X	X	X
9			X				
12	X	X		X	X	X	X
18	X				X	X	X
24	X	X	X		X	X	X

Perfil de obesidad: Sangre: Glucemia, creatinina, urea, ácido úrico, bilirrubina total y directa, proteínas totales, albúmina, sodio, potasio, calcio, fósforo, perfil lipídico, transaminasas, fosfatasa alcalina, CPK, LDH, GGT, vitamina B12, ácido fólico, TSH/T4 libre, insulina basal, hemoglobina glucosilada, hemograma, 25(OH)D3 y perfil de anemia.

En estas consultas periódicas se realiza el control ponderal y de la evolución de las comorbilidades que presentaba el paciente, valorándose también las complicaciones secundarias a la cirugía en caso de su aparición. También se realiza el estudio de muestras sanguínea y de orina, para valoración del estrés oxidativo.

Control del peso. En cada uno de los controles del seguimiento, con los datos de peso y altura hemos obtenido el IMC, el porcentaje de sobrepeso perdido (PSP) y el porcentaje de pérdida de exceso de IMC (PPEIMC) según las fórmulas:

$PSP = (\text{peso inicial} - \text{peso actual}) \times 100 / (\text{peso inicial} - \text{peso ideal})$

$$PPEIMC = 100 - \left[\frac{\text{IMC actual} - 25}{\text{IMC inicial} - 25} \right] \times 100$$

Así mismo, siguiendo la clasificación de Reinhold ⁽¹⁴¹⁾ (hemos establecido la siguiente categorización de los resultados:

Excelente: $PSP > 75\%$ e $IMC < 30$; Bueno: $PSP = 50 - 75\%$ e $IMC = 30 - 35$; Malo: $PSP < 50\%$ e $IMC > 35$.

Para este estudio, hemos utilizado como valores del peso ideal los calculados tras los datos desarrollados por la Metropolitan Life Insurance Company, ahora llamada MetLife, que en 1983 publicaron unas tablas que señalaban los “pesos ideales” o “pesos deseables” para una mayor longevidad basadas en los datos recogidos por 25 compañías de seguros de vida en Canadá y EE.UU (más de 4,2 millones de personas). En base a estos datos se desarrolló una fórmula para calcular el peso ideal.

Evolución de las comorbilidades mayores. Se ha evaluado cómo han evolucionado la DM2, HTA, dislipemia, SAOS y la osteoartropatía, tipificándolas como igual, mejorada y en remisión según necesidad o no de tratamiento y registrando el momento de la mejoría o curación, siguiendo los criterios que se muestran en la siguiente tabla (Tabla V).

Tabla V. Criterios de mejoría o remisión de las comorbilidades mayores.			
Comorbilidad	Diagnóstico	Mejoría	Remisión
HTA	PAS \geq 140 y/o PAD \geq 90 mm Hg (o medicación)	PA controlada con medicación o disminución de fármacos	Sin tratamiento
DM2	Glucemia en ayunas \geq 126 mg/ o \geq 200 mg/ dos horas tras sobrecarga oral de glucosa (SOG)	Controlada con antidiabéticos orales y/o dosis muy bajas de insulina ($<0,3$ U/kg). Hb A1c $< 7\%$	Controlada sólo con dieta y ejercicio. Hb A1c $< 6\%$
Dislipemia	cL elevado cH bajo TG \geq 150 mg/	Controlada con medicación	Controlada sin medicación
SAOS	Estudio polisomnográfico	5-15 episodios de apnea-hiponea / hora	Normalizado
Artrosis	Estudio radiológico	Controlado con medicación	Sin tratamiento

Aparición y control de déficits metabólicos. Mediante el seguimiento de los parámetros hematológicos y bioquímicos sanguíneos, cuyos valores de referencias utilizados han sido los del Servicio de Análisis Clínicos del CHGUV y que se muestran en la tabla VI, se ha controlado la aparición de alteraciones metabólicas y carenciales, principalmente de minerales (Fe) y vitaminas (B12).

Tabla VI. Determinaciones analíticas de control evolutivo.

Parámetros	Valores Normales
Hematocrito	35 – 50%
Hematíes	3,9 – 5,6 ($10^{12}/L$)
Hemoglobina	16 – 11,8 (g/)
Volumen corpuscular medio (VCM)	82-98 fL
Velocidad de sedimentación (VSG)	♂0-15 mm/h ♀0-20 mm/h
Indice de Quick	75 – 100 (%)
Glucemia	74 – 106 (mg/)
Insulina basal	2 - 23 (μ UI/mL)
Hemoglobina glicosilada (EEUU)	4,2-6,2 (%)
Urea	17 – 43 (mg/)
Creatinina	0,66 - 1,09 (mg/)
Sodio	136 - 146 (mmol/L)
Potasio	3,5 - 5,1 (mmol/L)
Proteínas totales	6,6 - 8,3 (g/)
Albúmina	3,2 - 5,2 (g/)
Calcio	8,8 - 10,6 (mg/)
Colesterol total	100 -200 (mg/)
Triglicéridos	50-150 (mg/)
H	40-200 (mg/)
L	0-130 (mg/)
Bilirrubina total	0,3 - 1,2 (mg/)
Alaninaminotransferasa ALT	7 – 33 U/L
Aspartatoaminotransferasa AST	5 – 33 U/L
Gammaglutamiltranspeptidasa GGT	8-38 ♂ 5-27 ♀ U/L
Lactodeshidrogenasa (LDH)	105-333 UI/L
Lipasa	0-160 UI/L
Vitamina B12	197 – 866 (pg/)
Acido fólico	2,7 – 34 (ng/)
Sideremia	60 – 180 (μ g/)
Indice de saturación de transferrina (IST)	20-50 %
Capacidad de fijación total del hierro (CFTH)	240-450 μ g/
Ferritina	♂ (18-30 años) 19 - 323 (ng/) ♂ (31-60 años) 16,5 – 294 (ng/) ♀ premenopausica 6,9-282,5 (ng/) ♀ postmenopausica 14-233 (ng/)

Como resultado final del estudio hemos valorado a los pacientes de manera global siguiendo el índice BAROS ⁽¹⁴²⁾ que no

solamente valora la pérdida de peso y la evolución de las comorbilidades, sino que también contempla la calidad de vida, las complicaciones y las secuelas en una escala de puntuación.

III.6.6. Determinación de metabolitos marcadores de EO.

Para la valoración del EO se han determinado tanto los productos de oxidación molecular como los sistemas antioxidantes. En el primer grupo de parámetros se han seleccionado los marcadores más indicativos de EO como son el malondialdehído (MDA), 8-isoprostano, la base nucleotídica modificada 8-oxo-desoxiguanosina (8-oxo-dG) en suero como su eliminación por la orina, el glutatión oxidado (GSSG) y la relación entre glutatión oxidado y glutatión reducido (GSSG/GSH).

En el segundo grupo de parámetros, se ha cuantificado la actividad enzimática más representativa de la defensa antioxidante intracelular como es la del glutatión reducido (GSH), la superoxidodismutasa (SOD), la catalasa y la Glutacion Peroxidasa (GPx).

III.6.6.1. Recogida y procesamiento de las muestras.

La extracción de las muestras biológicas de sangre y orina para el aislamiento de linfocitos y ADN se realizó a las 8 de la mañana estando el paciente en ayunas como mínimo 8 horas antes, el día de la intervención quirúrgica y posteriormente al mes y a los 3, 6 y 12 meses postoperatorios.

1. Sangre periférica. Se recogieron 20 ml de sangre en 2 tubos con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) que fueron conservados en frío (2-4°C) para su inmediato procesamiento.

- Separación de células mononucleares: se realizó durante las primeras horas tras la extracción, mediante la técnica de centrifugación en gradiente de densidad (1077 g/ml) con Hystopaque (Sigma H-1077) a 1700 rpm durante 30 minutos y a 12°C, lo que permite a los eritrocitos y granulocitos sedimentar a través del medio, mientras que las células mononucleares quedan atrapadas en la capa de interfaz con el medio.

La proporción sangre/hystopaque fue 2:1. El sobrenadante y la capa amarillenta fueron transferidos a otro tubo, llevándose a cabo una segunda centrifugación en las mismas condiciones que la primera. El exceso de líquido se desechó y se conservó aproximadamente 1 ml. Las células mononucleares adheridas al fondo fueron resuspendidas en solución PBS, transferidas a un nuevo tubo de eppendorf y preservadas a -80°C.

- Suero: Se utilizaron aproximadamente 7 ml de sangre periférica en ayunas recogida en tubos con silicona y procoagulantes. Los tubos se dejaron coagular durante 15-20 minutos a temperatura ambiente y después centrifugados a 3000 rpm durante 5 minutos a 4°C. El sobrenadante amarillento resultante (suero) fue retirado con pipeta y almacenado a -80°C hasta su análisis

2. Orina. La orina se recogió en frascos estériles de 40 ml, fue transferida a tubos de cristal y centrifugada a 3000 rpm durante 5 minutos para eliminar impurezas.

Se alicuotaron las muestras en tubos de microcentrifuga eppendorf de 1 ml de capacidad que se almacenaron a -80°C hasta su procesamiento y análisis.

III.6.6.2. Determinación de 8-oxo-dG mediante HPLC-EC.

- En suero: Se determina mediante cromatografía líquida de alta resolución siguiendo el método de Li y colaboradores ⁽¹⁴³⁾ con algunas modificaciones. Para su separación y cuantificación se utilizó un cromatógrafo líquido de alta resolución HPLC modelo 515 Waters con columna Spherisorb ODS 5 μm y detectores electroquímicos (EC) y ultravioleta (UV).

Se utilizaron muestras de 60 μl de suero, calentándolas a 50°C durante una hora para posteriormente añadirle 100 μl de proteinasa-K e incubarlas 1 hora a 37°C. Posteriormente se añade 200 μl de la solución tampón $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$ (50mM, pH 5,1) y se centrifugan a 13000 rpm durante 5 minutos. Finalmente se realizaron partes alicuotas de 200 μl del sobrenadante y se inyectaron con una jeringa de 0,2-40 μl en el sistema HPLC-EC según las condiciones descritas por Espinosa y colaboradores ⁽¹⁴⁴⁾. Se mantuvo un flujo de 1 ml/min con 50 mmol/L de tampón fosfato de potasio (pH 5,1) en 5% de acetonitrilo y un tiempo de retención de 7,5 minutos. La detección electroquímica se realizó con un detector ESA Coulochem II que está equipado con electrodos colorimétricos y amperométricos conectados en serie.

Para asegurar la optimización y precisión del ensayo HPLC-EC para el aislamiento y detección de 8-oxo-dG, todas las muestras fueron analizadas por duplicado y se analizaron patrones de desoxiguanosina (dG) y 8-oxodG para comprobar la correcta separación e identificación de las bases derivadas del ADN celular.

- En orina: El método utilizado es una modificación del descrito por Espinosa ⁽¹⁴⁴⁾.

Partimos de 1 ml de orina descongelada, la cual se centrifugó a 10.000 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante fue transferido a un nuevo tubo y se le añadieron 100 µl de solución Tris-EDTA (pH 8,6), mezclándolo en el vórtex durante 30 segundos. La solución resultante se aplicó a una columna Bond Elut C18 (OH) SPE, la cual se lavó previamente con 3 ml de etanol y 3 ml de agua de grado HPLC, y acto seguido se lavó con 3 ml de agua seguidos de 3 ml del tampón acetonitrilo al 2,5% y metanol al 1,5% en 10 mM de borato (pH 7,9).

- La muestra se eluyó con 3 ml del mismo tampón y fue aplicada a una columna de intercambio catiónico, previamente preparada con 3 ml de metanol y 3 ml de tampón borato (pH 7,9).

La 8-oxo-dG se eluyó con 2 ml de tampón acetonitrilo/metanol en borato y se ajustó el pH a 6 con 1 mol/l de HCl. A dos ml del eluyente se le añadieron 4 ml de la mezcla diclorometano:propano (1:1) y se mezcló en el vórtex durante 30 segundos, para acto seguido centrifugar la mezcla durante 10 minutos a 3500 rpm. La capa acuosa superficial resultante se desechó por evaporación en una cámara de vacío (Concentrator Plus; Eppendorf AG, 2331 Hamburg) a 50°C. Finalmente se reconstituyó la muestra con 500 µl de fase móvil HPLC (tampón fosfato 50 mM pH 5,1) sin acetonitrilo y se inyectaron 50 µl en la columna de HPLC.

Las condiciones de funcionamiento y la detección electroquímica son las mismas que las descritas para su detección en suero. Los valores de 8-oxo-dG fueron expresados en función de a su proporción con la concentración de creatinina en orina y dados en nmol 8-oxo-dG/mmol creatinina.

La determinación de creatinina se realizó utilizando el Kit comercial Spinreact (nº 1001111).

Las muestras se diluyen con agua destilada en proporción 1:10. Por cada muestra analizada mezclamos 15 µl de orina diluida con 150 µl de picrato alcalino (preparado comercial), se incuban las muestras en un vibrador durante 10 minutos a temperatura ambiente.

A continuación se mide la absorbancia a 490-500 nm (absorbancia inicial). Se añadieron 5 µl de una solución ácida (mezcla de ácido sulfúrico y ácido acético) a las muestras y se incubaron de nuevo en el vibrador a temperatura ambiente durante 20 minutos. Finalmente se midió la absorbancia a la misma longitud de onda que previamente (absorbancia final). La diferencia entre ambas es la absorbancia correcta (ajustada) la cual utilizamos para obtener la curva estándar donde interpolamos las absorbancias de cada muestra para obtener la cantidad de creatinina.

En cada cubeta se mezclaron 1 ml del reactivo comercial (50% hidróxido sódico, 50% ácido pícrico) con 100 µl de orina diluida y se midió la absorbancia a una longitud de onda de 492 nm a los 30 y 60 segundos de iniciada la reacción.

Para el cálculo del blanco se sustituyó la orina diluida por 100 µl del estándar proporcionado en el kit (2 mg/l) y se midió la absorbancia a 492 nm a 30 y 60 segundos. La concentración de creatinina se calcula según la fórmula:

Creatinina = $(A_m(60\text{ s}) - A_m(30\text{ s})) / (A_b(60\text{ s}) - A_b(30\text{ s})) \times 2\text{ mg/l} \times 88,4\text{ (}\mu\text{l/l)} \times 10\text{ (factor dilución)} \times 10^6$ y su resultado se expresa en moles/ml.

AM: absorbancia de la muestra; Ab: absorbancia del blanco

III.6.6.3. Determinación de MDA mediante HPLC-UV.

Se realizó en células mononucleares. Los lipoperóxidos de dichas células son hidrolizados por ebullición con ácido ortofosfórico. Partimos de 50 µl de células mononucleares aisladas y se añadieron 75 µl H₃PO₄ 0,44 M, 25 µl de solución de TBA (ácido tiobarbitúrico). La mezcla se calienta a 95°C durante 30 minutos para conseguir la liberación de las moléculas de MDA que se conjugan con dos de TBA (MDA-TBA₂). Posteriormente se conservaron las muestras en hielo y se añadieron 150 µl de solución neutralizante (NaOH 1M) y se realiza una centrifugación a 10000 rpm durante 5 minutos.

Se recogieron 100 µl de sobrenadante en un vial para su análisis HPLC-UV utilizando una columna C-18 Spherisorb de 15 cm de longitud y 5 micras de diámetro. El MDA se eluyó con una solución compuesta por 5% acetonitrilo y 50 mM de tampón fosfato potásico (pH 5,5) con unas condiciones cromatográficas de 3 minutos y un flujo de 1ml/min. La detección de los compuestos mediante el detector ultravioleta se realizó a 532 nm de longitud de onda. Los resultados se expresaron en relación a su proporción con las proteínas en mmol de MDA/mg de proteínas.

La cantidad de proteínas presente en cada muestra se cuantificó según la técnica de Markwell y colaboradores ⁽¹⁴⁵⁾, siendo su determinación necesaria para normalizar los valores obtenidos de MDA así como de SOD, catalasa (CAT), GSSG y del GSH. Para su determinación se añadió a las muestras y a los patrones 1ml de Lowry A + B (1:1).

Se incubaron las muestras y los patrones durante 10 minutos y posteriormente se agregaron 100 μ l de solución Folin-Ciocalteau 1N y se incubaron 30 minutos más. Tras ello se midieron las absorbancias a 750 nm. Con las absorbancias de los patrones se construyó una recta patrón sobre la que se interpolaron las absorbancias de las muestras para obtener la cantidad de proteína.

III.6.6.4. Determinación de 8-isoprostanos.

Se realizó en orina, utilizando el kit comercial Cayman kit nº 516351. Se utilizaron placas de 96 pocillos cubiertas por anticuerpos mouse anti-rabbit IgG y en ellos se pipetearon 50 μ l de muestras y de estándares en sus pocillos correspondientes.

Tanto a los estándares como a la muestras y a los pocillos de unión no específica se les añadió 50 μ l de 8-isoprostano acetilcolinesterasa, que compite con los 8-isoprostanos presentes en las muestras. Tras esto se añadieron 50 μ l de antisuero específico de 8-isoprostanos a estándares y a muestras, el cual se une tanto a los anticuerpos que recubren la placa como a los 8-isoprostanos presentes en las muestras y aquellos conjugados con acetilcolinesterasa.

Se cubrieron las placas y se incubaron 18 horas a 4°C, tras lo cual se vacían los pocillos y se lavan 5 veces con tampón de lavado. Se añadieron 200 μ l de reactivo de Ellman a todos los pocillos y 5 μ l de conjugado de 8-isoprostano-acetilcolinesterasa al pocillo de actividad total.

Se incubó la placa durante 90-120 minutos en un agitador orbital a temperatura ambiente. La placa se leyó en el lector de placas a una longitud de onda de 405-420 nm.

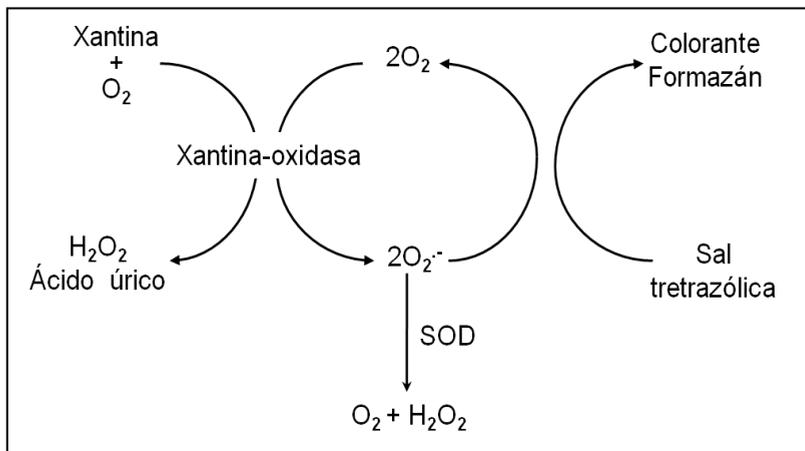
Se construyó una curva estándar sobre la que se interpolaron las absorbancias de las muestras para calcular el contenido de 8-isoprostanos.

Los resultados se expresan en relación a su proporción con la creatinina como Pg 8-isoprostanos/mmoles de creatinina.

III.6.6.5. Determinación de la actividad enzimática de SOD.

Se realizó en células mononucleares y para su determinación se utilizó el kit comercial Cayman SOD n° 706002. Su determinación se basa en la detección de radicales superóxidos generados por la xantina-oxidasa y la hipoxantina usando una sal tetrazólica que produce colorante formazán altamente hidrosoluble. El esquema se muestra en la figura siguiente (Figura 15).

Figura 15. Esquema del ensayo de la SOD.



Se utilizaron 3 ml de tampón de ensayo 8% 0mM Tris-HCl, pH 8,0 con 0,1mM de ácido dietileno triamino-penta-acético (DTPA 0,1 mM de hipoxantina) diluidos en 27 ml de agua de grado HPLC y 2 ml de Tampón de muestra (50 mM Tris-Hcl, pH 8,0) diluidos en 18 ml de agua de grado HPLC.

Se diluyeron 50 μ l de sal tetrazólica en 9,95 ml de tampón de ensayo diluido (*Radical Detector*), se cubrió y se almacenó (es estable durante 2 horas). Por otra parte se diluyeron 50 μ l de xantina-oxidasa en 1,95 ml del tampón de muestra diluido. Antes de iniciar el ensayo se descongelaron células mononucleares almacenadas y se diluyeron en proporción 1:5 con tampón de muestra.

Se prepararon los patrones de SOD utilizando una solución de SOD preparada, diluyendo 20 μ l de SOD estándar con 1,98 ml de tampón de muestra. En cada pocillo se añadieron 200 μ l de *Radical Detector* y 10 μ l de SOD estándar a diferentes concentraciones. A continuación se añadió en pocillos 200 μ l de *Radical Detector* diluido y 10 μ l de muestra. La reacción se inició añadiendo 20 μ l de xantina-oxidasa diluida a todos los pocillos.

La placa de 96 pocillos fue agitada durante unos segundos y entonces cubierta e incubada en el agitador durante 30 minutos a temperatura ambiente. Finalmente se midió la absorbancia a 440-460 nm en un lector de placas (Multiskan ES, ThermoLabsystems).

La absorbancia de cada muestra se interpoló en la curva patrón previamente calculada a partir de las absorbancias de los patrones para determinar la actividad SOD. Los resultados se expresaron en función de la cantidad de proteína en la muestra y expresada en U/mg de proteína.

Se define una unidad de SOD como la cantidad de enzima necesaria para conseguir la dismutación del 50% de radical superóxido.

III.6.6.6. Determinación de la actividad enzimática de Catalasa.

Se realizó en células mononucleares utilizando el kit comercial Cayman CAT n°707002. El método se basa en la reducción de valores de absorbancia que se produce en la transformación de peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno molecular inducida por la enzima catalasa (CAT):



Se diluyeron 2 ml de tampón de ensayo y 5 ml de tampón de muestra en 18 ml y 45 ml de agua de grado HPLC respectivamente. Las muestras de células mononucleares se diluyeron en el tampón de muestra diluido. Se alicuotaron 20 µl de cada dilución en placas de 96 pocillos. Para la preparación de estándares de formaldehídos se diluyeron 10 µl de formaldehído estándar en 9,99 ml de tampón de muestra diluido para obtener una solución de formaldehído 4,25 mM.

A partir de esa solución se prepararon 7 tubos con diferentes concentraciones de formaldehído y tampón de muestra. A continuación añadimos 100 µl de tampón de ensayo diluido y metanol en todos los pocillos. Se alicuotaron 20 µl de cada preparación estándar en pocillos diferentes.

La CAT se añadió a 2 ml de tampón de muestra diluido y mezclado en el vórtex.

De la solución resultante se diluyeron 100 μl en 1,9 ml de tampón de muestra diluido de los cuales utilizamos 20 μl que colocamos en un nuevo pocillo como control positivo.

Añadimos 40 μl de H_2O_2 diluidos en 9,96 ml de agua ultrapura HPLC a todos los pocillos, y se incubó la placa en un agitador orbital durante 20 minutos a temperatura ambiente y en oscuridad.

Se detuvo la reacción añadiendo 30 μl de hidróxido de potasio 10 M en cada pocillo.

A continuación se añadieron 30 μl de cromógeno de Purpald (4-amino-3-hidrazino-5-mercapto-1,2,4-triazol) a cada pocillo y se incubó la placa 10 minutos a temperatura ambiente en agitación y oscuridad.

Tras esto se añadieron 10 μl de periodato potásico en 0,5 M de hidróxido de potasio a cada pocillo y se incubó 5 minutos más en oscuridad y agitación a temperatura ambiente. Finalmente se leyó la absorbancia de las muestras en el lector de placas a 540 nm y posteriormente dichos resultados fueron interpolados sobre la curva patrón previamente calculada con la absorbancia de los patrones o estándares.

Los resultados se normalizaron con el contenido de proteína de las muestras y expresado en U/mg de proteína. Se define una unidad de CAT como la cantidad de enzima necesaria para catalizar la transformación de 1 mol de H_2O_2 por minuto a un pH 7,0.

III.6.6.7. Determinación de la actividad de GSH y GSSG.

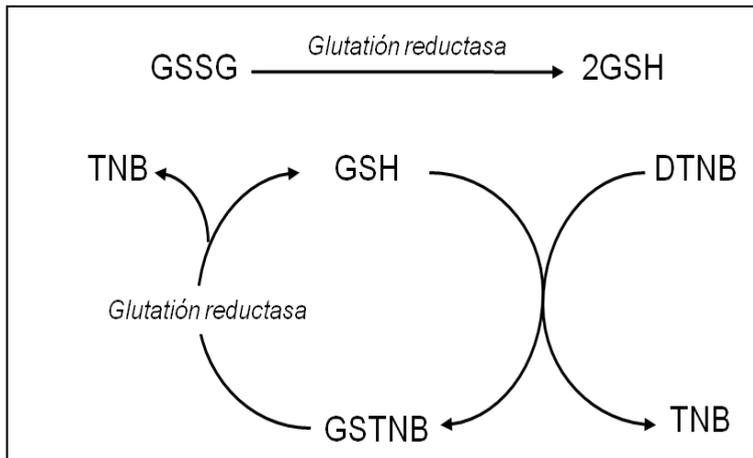
Se realizó en células mononucleares y se utilizó el kit comercial Cayman GSH nº 703002. Su determinación se basa en la

reacción del grupo sulfidriilo de la molécula de GSH con DTNB (5,5'-dithio-bis-2(ácido nitrobenzoico)) la cual produce ácido 5-thio-2-nitrobenzoico. La mezcla entre GSH y TNB, GSTNB, es reducida por la glutatión-reductasa reciclando así la GSH y produciendo más TNB.

La tasa de producción de TNB es directamente proporcional a esta reacción de reciclaje, que es a su vez directamente proporcional a la concentración de GSH en la muestra.

Dado que utilizamos la glutatión-reductasa en el procedimiento, la determinación será tanto de GSH como de GSSG, reflejando la actividad total glutatión. Para la medida exclusiva del GSSG, se utilizó una solución de 2-vinilpiridina. En la figura 16 se muestra la reacción de reciclaje del GSH.

Figura 16. Reacción de reciclaje del GSH.



Antes de iniciar el ensayo las muestras se desproteinizaron para obtener resultados más fiables ya que las proteínas de los grupos sulfidriilo de las muestras podría interferir en el análisis de los

mismos. Para ello se utilizó una solución de 5 g de ácido metafosfórico en 50 ml de agua y un mismo volumen de dicha solución se añadió a las muestras.

Posteriormente se mezcló en el vórtex y se mantuvieron a temperatura ambiente durante 5 minutos para luego centrifugar a 2000 rpm durante al menos 2 minutos. El sobrenadante fue recogido y se añadieron 4 ml de reactivo TEAM 4M (597 μ l de trietanolamina con 403 μ l de agua) por ml de sobrenadante y se mezcló en el vórtex. Acto seguido las muestras se concentraron por liofilización y fueron reconstituídas con tampón MES (ácido 2-(*N* morfolino) etanosulfónico) hasta 1/3 de su volumen original. Se prepararon 8 tubos estándar o patrón con diferentes concentraciones de GSSG estándar y tampón MES.

Para la determinación exclusiva de GSSG, las muestras y el GSSG estándar son tratados con 10 y 5 μ l de una solución de 2-vinilpiridina (en etanol 1M) respectivamente mezcladas en el vórtex e incubadas a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadieron 50 μ l tanto de muestra como de estándar a sus pocillos correspondientes y se cubrió la placa.

Se preparó el cocktail de ensayo compuesto por:

- 11,25 ml de tampón MES
- 0,45 ml de mezcla de cofactores reconstituídos en 0,5 ml de agua
- 2,1 ml de mezcla de enzimas (con contenido de glutatión reductasa y glucosa 6 fosfato (G6PD) reconstituída en 0,2 ml de tampón MES)
- 2,3 ml de agua

- 0,45 ml de Ellman's Reagent (DTNB) reconstituidos en 0,5 ml de agua.

Se añadieron 150 μ l de este cocktail a cada uno de los pocillos y se incubó la placa en un agitador orbital.

La absorbancia de cada muestra se midió a 405-411 nm cada 5 minutos durante 30 minutos. Los valores medios de absorbancia de cada patrón o estándar se trazaron en función del tiempo y se determinó la inclinación de cada curva. Entonces, cada inclinación fue trazada como una función de la concentración de GSSG o de GSH total (calculado en preparaciones estándar).

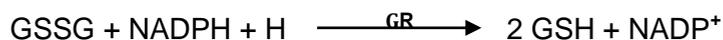
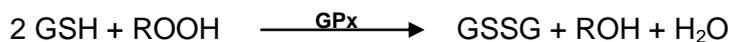
El GSH total y el GSSG se calcularon interpolando la absorbancia de cada muestra en su respectiva curva patrón. Los valores obtenidos se multiplican por 2 teniendo en cuenta la adición de reactivo MPA (ácido metafosfórico) en el paso de desproteinización de la muestra. Los resultados se normalizaron con la cantidad de proteínas y se expresaron como nmoles /mg de proteína.

La relación GSSG/GSH, importante marcador de estrés oxidativo se realizó de la siguiente forma $GSSG/GSH \times 100$ y se expresa en %.

III.6.6.8. Determinación de la actividad de la GPx.

Se realizó en células mononucleares y se utilizó el kit comercial Cayman GPx nº 703102. La actividad de la GPx se mide indirectamente a través de una reacción acoplada con la glutatió-n-reductasa (GR), donde 2 moléculas de GHS se oxidan a GSSG que

a su vez es reciclado a su estado reducido por la glutatión reductasa y NADPH:



Cuando la NADPH se oxida a NADP⁺ la absorbancia disminuye a 340 nm. La tasa de descenso de la absorbancia a 340 nm es directamente proporcional a la actividad de la GPx en las muestras.

Se diluyeron las muestras con tampón de muestras en proporción 1:2 antes de comenzar la reacción. En 3 pocillos se añadieron 100 µl de tampón de ensayo (50 mM Tris-HCL, pH 7,6, con 5mM EDTA), 50 µl de mezcla de co-substratos (que contiene NADPH liofilizada, GSH y GR reconstituida en 6 ml de agua de grado HPLC) y 20 µl de muestra.

Se utilizaron 3 pocillos como controles en los que se añadió 120 µl de tampón de ensayo y 50 µl de mezcal de co-substratos y 20 µl de GPx diluida. Las reacciones enzimáticas se inician añadiendo 20 µl de hidroperóxido de cumeno a todos los pocillos utilizados.

La placa es agitada durante unos segundos para su mezcla. Finalmente se leyó la absorbancia a 340 nm cada minuto durante al menos 5 minutos con el lector de placas. Los cambios en la absorbancia por minuto se determinaron trazando los valores de la absorbancia como una función de tiempo para obtener la porción lineal de la curva. Entonces la tasa de absorbancia a 340 nm/minuto de los controles es substraída a la de los pocillos de las muestras.

La actividad GPx es calculada usando el coeficiente de extinción de NADPH: $0,00622 \text{ microM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Los resultados se expresaron como U de GPx/mg de proteína. Se define una unidad de GPx como la cantidad de enzima que causa la oxidación de 1 nmol de NADPH a NADP⁺ por minuto a un pH 8,0.

III.7. METODOLOGÍA ESTADÍSTICA Y SOPORTE INFORMÁTICO

Para efectuar el análisis de los datos y el cálculo de los resultados estadísticos se han utilizado los programas informáticos Excel XP y SPSS para Windows versión 15.0.

En los contrastes de hipótesis que se han efectuado, el nivel de significación que hemos considerado para la aceptación de la hipótesis nula ha sido 0,05 que es el valor más comúnmente aceptado por la comunidad científica.

Descripción de la muestra

Se realizó un análisis descriptivo de la muestra, empleando para ello la media \pm desviación estándar para los datos cuantitativos y las proporciones para las variables cualitativas.

Análisis basal

- Comparativo caso-control. Para evaluar si los pacientes candidatos a cirugía bariátrica presentaban un aumento del estrés oxidativo, se realizó una comparación entre aquellos con obesidad mórbida susceptible de intervención quirúrgica y un grupo control de sujetos sanos. Se definió el grupo control como sujetos de edad similar a los casos, pero sin sobrepeso, sin comorbilidad significativa asociada, ni previsión de intervención quirúrgica.

Antes de realizar las oportunas comparaciones, se realizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para evaluar si la distribución de los distintos metabolitos de estrés oxidativo seguía modelo de normalidad o no. En los casos de distribución normal, se empleó la prueba de la t de Student para comparar medias, utilizando la prueba de la U de Mann-Whitney para los datos no paramétricos.

- Determinantes basales del E.O. Con el fin de identificar los posibles determinantes del estrés oxidativo en situación basal, realizamos una correlación de Pearson para variable cuantitativas que siguiesen distribución normal o una correlación ordinal de Spearman para las cualitativas.

Análisis longitudinal

Los cambios en las variables estudiadas antes y un año después de la intervención quirúrgica fueron evaluados mediante la prueba de la t-pareada para las variables cuantitativas paramétricas, empleando la prueba de Wilcoxon en las no paramétricas.

- Determinantes de los cambios longitudinales en el E.O. Se utilizó la correlación de Pearson o la ordinal de Spearman para evaluar la asociación univariada entre el cambio observado en las distintas variables estudiadas (antes-un año después) y el posible cambio en los marcadores metabólicos de EO.

IV. RESULTADOS

IV. RESULTADOS.

IV.1. CARACTERÍSTICAS BASALES DE LOS PACIENTES.

Durante el periodo comprendido entre Septiembre de 2006 y Septiembre de 2015 han sido intervenidos quirúrgicamente en el Servicio de Cirugía General y Aparato Digestivo con la técnica de la GVL un total de 161 pacientes afectados de obesidad mórbida, de los que 21 forman la serie que estudia en ellos el EO y que fueron intervenidos entre Mayo de 2013 y Junio de 2014.

De la serie global (n=161) 115 eran mujeres (71,4%) y 46 hombres (28,6%), con una media de edad de $42,3 \pm 9,9$ años y un IMC preoperatorio de $48,2 \pm 6,5$ Kg/m² (35,9-71,5). De ellos 101 (62,7%) eran ASA III, 52 (32,3) ASA II, 4 (2,5%) ASA I y 4 (2,5%) ASA IV. Entre las comorbilidades mayores que presentaron, 64 (39,75%) eran diabéticos, 91(56,5%) tenían HTA, 87 (54%) SAOS, 73 (45,3%) dislipidemia, 57 (35,3%) osteoartritis y 40 (24,8%) presentaban síndrome de ansiedad/depresión.

De los 21 pacientes que componen la serie a estudio, 19 (90,5%) fueron mujeres y 2 (9,5%) hombres, con una media de edad de $50,8 \pm 12$ años (23-66), una altura media de $160,7 \pm 8,1$ cm (148-173) y un peso medio de $119,5 \pm 16,2$ Kg, lo que corresponde a un valor medio de IMC de $46,2 \pm 5,2$ Kg/m² (40,4-51). Todos los pacientes presentaron un IMC superior a 40 Kg/m², de los que el 66,6% presentaban IMC entre 40 y 49,9 Kg/m², es decir una obesidad mórbida tipo III y el 33,4% un IMC entre 50 y 65 Kg/m², es decir una obesidad extrema o de tipo IV. Presentaban comorbilidades mayores 16 pacientes (76,2%), llegando dos de ellos a presentar cinco a la vez.

En la Tabla VII se muestran las comorbilidades mayores que presentaron:

Tabla VII. Comorbilidades presentes en los 21 pacientes de la serie previamente a la cirugía.		
Comorbilidad	Nº	%
SAOS	10	47,6
HTA	11	52,4
Dislipemia	10	47,6
Diabetes	10	47,6
Osteoartritis	6	28,6
Síndrome Metabólico	11	52,4
Depresión/ansiedad	7	33,3

IV.2. MORBILIDAD QUIRÚRGICA.

IV.2.1. Morbilidad precoz (postoperatoria). En el postoperatorio inmediato, de los 21 pacientes que forman parte del estudio de EO, solo hubo dos casos (9,5%) con complicación, un paciente que presentó un hemoperitoneo que requirió reintervención siendo la causa de su hemorragia el sangrado de un vaso corto y al que se realizó ligadura del mismo, y un caso de hemorragia objetivada analíticamente y con salida de sangre por el drenaje que requirió transfusión de 2 unidades de sangre, cediendo el sangrado espontáneamente.

En la serie global 161 pacientes intervenidos con GVL hubo una tasa de complicaciones mayores del 10,5% (n=17), siendo la más frecuente el hemoperitoneo (8 casos) y la fuga de la línea de

grapado (seis casos). Se reintervinieron nueve pacientes: cuatro por hemoperitoneo en los que se realizó ligadura del vaso sangrante en tres casos y lavados más colocación de drenajes por no objetivar el origen del sangrado en otro caso. También se reintervinieron tres casos de fugas, realizando sutura de la misma en dos casos y lavado y drenaje en un caso por no encontrar la fuga en la reintervención. Se reintervino también un caso de perforación de intestino delgado al que se realizó sutura de la misma y una incarceración de asa en orificio de trocar al que se realizó cierre del mismo.

Se trataron de forma conservadora cuatro casos de hemoperitoneo (requirieron transfusión tres de ellos) y tres casos de fugas con colocación de stent parcialmente cubierto en dos casos y drenaje percutáneo en otro caso. Hubo además un caso de edema agudo de pulmón que requirió ingreso en UCI.

IV.2.2. Morbilidad tardía. En la serie a estudio no hemos tenido ningún caso que haya presentado hernia de hiato ni síntomas de RGE. Tampoco hemos tenido que reintervenir a ninguno de ellos por fracaso en la pérdida de peso. Solamente hay un paciente con un IMC < 40 al año, si bien su evolución en los periodos estudiados ha sido buena (de 56,7 al inicio, 47,9, 44,2, 43,1 y 42,1 al final del estudio), por lo que está pendiente de la evolución de su peso antes de decidir si tiene que ser reintervenido por fracaso en la pérdida del mismo. Del mismo modo hemos valorado déficits vitamínicos y/o metabólicos, comprobando que no se ha presentado alteración de ningún tipo, siendo los valores de fósforo, calcio, vitamina D, PTH, proteínas totales, albúmina, hierro, ferritina, vitamina B12 y ácido fólico normales a lo largo del periodo estudiado.

IV.3. EVOLUCIÓN PONDERAL.

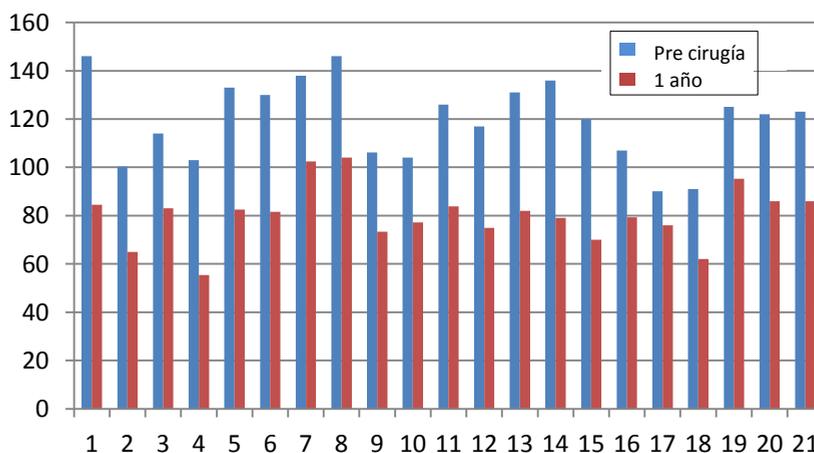
IV.3.1. Peso e IMC.

Los pacientes presentaron un valor medio del peso de $119,5 \pm 16,2$ Kg. Al año de la cirugía, alcanzó un valor medio $80,1$ Kg (Tabla VIII).

Tabla VIII. Evolución del peso a lo largo de los periodos estudiados.				
PESO				
Pre cirugía	1 m	3 m	6 m	1 año
146	125,1	112,3	103,5	84,5
100,3	81	74,5	68	65
114	109	98	86	83
103	94,1	86	75	55,4
133	114,9	97,2	93	82,5
130	117,2	107,8	87,4	81,6
138	116,8	107,5	105	102,5
146	132,7	117,6	106	104
106,2	93	83,9	75,5	73,4
104	95,3	86	80,5	77,2
126	116,7	107	90,9	83,9
117	90,9	81	76,8	75
131	121,8	112,1	92,8	82
136	123,2	109,9	97	79
120	109,6	97,7	77,7	70
107	86,4	82,1	79,9	79,3
90,1	87,5	78,7	76,8	76
91	82,3	73,2	62,2	62
125	118,9	110,6	102	95,3
122	94	91	87,5	86
123	106,7	94,7	87	86
119,5±16,5	105,6±15,7	95,6±13,9	86,2±12,2	80,1±11,8

En la gráfica siguiente (Gráfica 1) se muestra la diferencia entre el peso preoperatorio y el del año en cada uno de los pacientes.

Gráfica 1. Representación del peso al inicio y final del estudio en cada uno de los pacientes.



El valor medio del IMC ha ido disminuyendo, de modo que al mes descendió a 40,9, alcanzando un valor menor de 40 todos los pacientes a partir del tercer mes. Existen diferencias significativas ($p < 0,001$) entre el valor del peso preoperatorio y el de los diferentes periodos. Todos los pacientes presentaban un IMC preoperatorio mayor de 40, siendo el valor medio del IMC preoperatorio de 46,21, descendiendo en cada uno de los periodos, siendo el valor al final del estudio de 31,16. Existen diferencias significativas entre el valor del IMC preoperatorio y el de cada uno de los periodos estudiados.

Al año 20 pacientes presentaron un IMC<40 y 16 un IMC<35. Solo un paciente llegó a obtener un IMC de 42,1 al final del estudio, si bien partía de un IMC de 56,7 por lo que la pérdida de peso también es satisfactoria (Tabla IX).

Tabla IX. Evolución del IMC a lo largo de los periodos estudiados. En negrita, en la última fila se muestran los valores medios de cada periodo.				
IMC				
Pre cirugía	1 m	3 m	6 m	1 año
51,11	43,80	39,31	36,23	29,58
41,21	33,28	30,61	27,94	26,70
52,04	49,76	44,74	39,26	37,89
45,17	41,27	37,71	32,89	24,29
44,43	38,39	32,47	31,07	27,56
48,92	44,11	40,57	32,89	30,71
56,70	47,99	44,17	43,14	42,11
53,62	48,74	43,19	38,93	38,20
42,00	36,78	33,18	29,86	29,03
40,62	37,22	33,59	31,44	30,15
41,14	38,10	34,93	29,68	27,39
42,45	32,98	29,39	27,87	27,21
53,14	49,41	45,47	37,64	33,26
45,97	41,64	37,14	32,78	26,70
41,52	37,92	33,8	26,88	24,22
42,86	34,60	32,88	32,00	31,76
40,58	39,41	35,44	34,59	34,23
40,44	36,57	32,53	27,64	27,55
50,07	47,62	44,30	40,85	38,17
43,22	33,30	32,24	31,00	30,47
53,23	46,18	40,98	37,65	37,22
46,21±5,3	40,91±5,6	37,08±5,1	33,44±4,7	31,16±5,07

IV.3.2. Valor del PSP y del PPEIMC.

El PSP aumentó a lo largo de cada uno de los periodos, alcanzando al año un valor medio de $64,5 \pm 15,6$, lo que implica una pérdida de sobrepeso del 60%. A los 6 meses se había conseguido un PSP del 50%. De los 21 pacientes, 17 tuvieron un PSP > 50% y solamente 4 lo tuvieron por debajo, ente 34,5 y 47,3. La pérdida progresiva del PSP mostró diferencias significativas entre el primer mes y el tercer, sexto mes y año ($p < 0,001$). Tabla X.

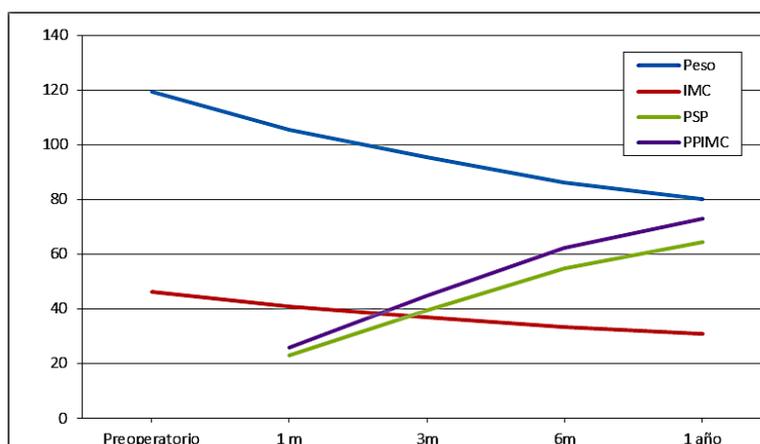
Tabla X. Evolución del PSP en los pacientes en cada uno de los periodos del estudio.				
PSP				
Peso pre cirugía	1 m	3 m	6 m	1 año
146	25,56	41,22	51,98	75,22
100,3	42,13	56,33	70,52	77,07
114	7,63	24,42	42,74	47,32
103	17,03	32,53	53,58	91,10
133	27,52	54,44	60,83	76,80
130	18,22	31,60	60,64	68,89
138	25,38	36,52	39,52	42,51
146	15,69	33,51	47,19	49,55
106,2	26,69	45,09	62,08	66,32
104	18,70	38,70	50,53	57,63
126	16,24	33,18	61,31	73,53
117	47,45	65,45	73,09	76,36
131	12,14	24,95	50,42	64,68
136	18,41	37,55	56,11	82,01
120	18,90	40,54	76,90	90,90
107	40,39	48,82	53,13	54,31
90,1	6,36	27,90	32,55	34,51
91	21,21	43,41	70,24	70,73
125	8,84	20,86	33,33	43,04
122	47,86	52,99	58,97	61,53
123	22,79	39,58	50,34	51,74
Valor medio	23,10±12,2	39,50±11,4	55,05±12,1	64,56±15,6

El valor medio del PPEIMC ha ido aumentando a lo largo de los periodos estudiados, oscilando entre 26,1 el primer mes y 73 al año, con un valor mínimo de 34,51 y máximo de 91,1. De los 21 pacientes, 17 perdieron más del 50% de PPEIMC. Este incremento del PPEIMC se refleja en la gráfica 2 junto al descenso del IMC y aumento del PSP. Hay diferencias con significación estadística entre el PPEIMC en el primer mes, tercero, sexto y año ($p < 0,001$). Tabla XI.

Tabla XI. Valores del PPEIMC a lo largo del estudio				
PPEIMC				
Altura	1 m	3 m	6 m	1 año
169	25,56	41,22	51,98	75,22
156	42,13	56,33	70,52	77,07
148	7,63	24,427	42,74	47,32
151	17,03	32,53	53,58	91,10
173	27,52	54,44	60,83	76,80
163	18,22	31,60	60,64	68,89
156	25,38	36,52	39,52	42,51
165	15,69	33,51	47,19	49,55
159	26,69	45,09	62,08	66,32
160	18,70	38,70	50,53	57,63
175	16,24	33,18	61,31	73,53
166	47,45	65,45	73,09	76,36
157	12,14	24,95	50,42	64,68
172	18,41	37,55	56,11	82,01
170	18,90	40,54	76,90	90,90
158	40,39	48,82	53,13	54,31
149	6,364	27,90	32,55	34,51
150	21,21	43,41	70,24	70,73
158	8,84	20,86	33,33	43,04
168	47,86	52,99	58,97	61,53
152	22,79	39,58	50,34	51,74
Valor medio	26,17	44,75	62,33	73,04

En la gráfica siguiente (Gráfica 2) se muestra la evolución de los valores medios del peso, IMC, PSP y PPE IMC a lo largo del periodo estudiado.

Gráfica 2. Evolución del peso, IMC, PSP y PPIMC a lo largo de los periodos estudiados.



Los valores medios de todos estos datos ponderales se muestran en la tabla XV.

Parámetro	Preoperatorio	1 mes	3 mes	6 mes	1 año
Peso	119,45	105,57	95,65	86,21	80,17
IMC	46,21	40,91	37,08	33,44	31,16
PSP	-	23,1	39,5	55,05	64,5
PPEIMC	-	26,17	44,75	62,3	73,04

Siguiendo la clasificación de Reinhold hemos obtenido al final del estudio los siguientes resultados:

Excelente 7 casos y bueno 9 casos, siendo el total de buenos resultados de 16 casos (76,2%). Hay 5 casos de fracaso (23,8%). Más del 75% de los casos tenían una pérdida de peso aceptable según los estándares de calidad exigidos a una técnica quirúrgica para ser aceptada como válida para la cirugía de la obesidad mórbida. En la Tabla XIII se muestran estos resultados.

Tabla XIII. Resultados finales del peso según la clasificación de Reinhold.			
RESULTADO	3^{er} mes	6^o mes	Año
Fracaso	12	8	5
Bueno	6	6	9
Excelente	3	7	7

IV.4. EVOLUCIÓN DE LAS COMORBILIDADES.

IV.4.1. Evolución de parámetros bioquímicos y metabólicos.

Dentro de los muchos parámetros bioquímicos/metabólicos que se controlan tanto en el pre como en el postoperatorio, presentamos aquellos que son representativos del riesgo cardiovascular (Tabla XIV).

Tabla XIV. Valores medios de los parámetros bioquímicos/metabólicos de riesgo cardiovascular.						
Parámetro	Valor normal	Pre cirugía	1 m	3 m	6 m	1 año
Glucosa	74 -106 mg/dL	116	111,9	93,2	87	89,7
Hb glicosilada	4,2-6,2 (%)	6,6	6,4	5,75	5,46	5,6
Insulina	2 - 23 μ UI/mL	24,15	13,97	9,01	6,6	7
Índice HOMA	< 3	5,7	3,3	2,5	1,8	1,7
Colesterol Total	100 -200 mg/dL	199,9	196,7	208,1	192,8	199,3
Triglicéridos	50-150 mg/dL	164,3	157,7	139,8	124,7	114,3
Colesterol HDL	40-200 mg/dL	41,6	37,7	41,1	44,3	51,6
Colesterol LDL	0-130 mg/dL	127,2	126,7	136,6	126,7	127,4
Colesterol total / HDL	3-5	4,9	4,9	4,9	4,6	4,1

El valor medio de la glucosa fue de 116 mg/dL (76-238) alcanzando al final del estudio un valor medio de 89,7 (77-126), siendo los valores medios normales a partir de tercer mes, y de 89,7 mg/dL al año, en el que solamente dos pacientes presentaban una glucemia de 116 y 126 mg/dL cada uno de ellos.

Los valores medios de insulina disminuyeron de 24,15 μ UI/mL (superior al valor normal) en el preoperatorio a 7 μ UI/mL al año, descendiendo de forma progresiva en todos los controles.

El mayor descenso de los niveles de insulina se produjo al mes de la cirugía, donde ya se encuentra entre los límites de los valores normales y a partir de entonces todos los pacientes mantuvieron valores normales excepto uno que, únicamente al mes, presentaba un valor mayor del normal.

Han habido diferencias significativas en cuanto a descenso de los valores de glucemia e insulina entre los periodos preoperatorios y los del resto del estudio ($p=0,02$).

El valor medio de la hemoglobina glicosilada EE.UU. que presentaban los pacientes antes de la intervención era de 6,6%, mayor que el límite superior de los valores considerados normales, descendiendo a lo largo del estudio hasta un valor medio de 5,6% al año, estando los valores medios de los distintos periodos dentro del rango de la normalidad.

El valor medio del índice HOMA-IR también descendió desde el periodo preoperatorio, donde presenta un valor medio de 5,7 (2,3-12,7), superior al valor considerado normal, hasta 1,7 (0,6-3,4), siendo estos valores normales prácticamente a partir del primer mes postoperatorio. Solamente un paciente presentó un valor de 3,4 al año de la cirugía (su HOMA previo era de 9,5).

Existen diferencias significativas estadísticamente entre los valores de HOMA preoperatorios y los del año ($p=0,01$) al igual que los valores preoperatorios de la hemoglobina glicosilada y sus valores al sexto mes y año.

El colesterol Total presentó en el periodo preoperatorio un valor medio de 199,9 mg/dL, que corresponde al límite superior del valor normal (139-280) de los que 10 presentaban valores mayores de los normales. En el postoperatorio, los valores medios fueron descendiendo excepto al tercer mes si bien el descenso no ha sido significativo. A año había 4 pacientes con valores más elevados de los normales (211-318)

El valor medio de los triglicéridos en el preoperatorio fue de 164,3 mg/dL, mayor que el valor normal, descendiendo a lo largo del estudio hasta alcanzar un valor de 114,3 mg/dL al final del mismo (48-213), comprobando que a partir del tercer mes los valores medios ya están dentro del rango de los valores considerados normales (50-150).

Al final del estudio, 2 pacientes (14,3%) mantenían valores superiores a los normales. Existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores de triglicéridos preoperatorios y los del sexto mes y año ($p=0,01$).

El valor medio del colesterol HDL y LDL no varió significativamente durante el estudio, si bien el valor medio final del HDL fue superior al valor medio preoperatorio, no ocurriendo así con el LDL. El valor medio del índice Colesterol total/HDL presente en el periodo preoperatorio fue de 4,9, límite alto de la normalidad situada entre 3 y 5. Los valores se mantienen estables hasta el tercer mes en que empiezan a disminuir hasta alcanzar al año un valor de 4,1, valor normal e inferior al preoperatorio. Existen diferencias con significación estadística entre el valor del colesterol total/colesterol HDL preoperatorio y los del mes, tercer mes y año ($p=0,01$).

Todos estos valores quedan reflejados en la Tabla XVII.

IV.4.2. Evolución de las comorbilidades.

Todos los pacientes, asociaban alguna o varias comorbilidades mayores antes de ser intervenidos (Tabla VII).

Al año de la intervención, hubo resolución en 6 de los pacientes que presentaban SAOS preoperatoriamente.

De los cuatro casos restantes, tres presentaron mejoría y uno no presentó cambios. La HTA presentó resolución en 5 pacientes, dos no presentaron cambio y el resto (4) tuvo mejoría. La diabetes se resolvió en 8 pacientes y el resto (2) tuvieron mejoría de la misma.

Los pacientes con dislipidemia mejoraron excepto cuatro que no presentaron cambios. El SM se resolvió en dos de los pacientes, presentó mejoría en 7 y no hubo cambios en dos. Uno de los pacientes con artropatía presentó resolución, otro tuvo mejoría y dos no presentaron cambios.

De manera global, los 16 pacientes que presentaron comorbilidades preoperatorias, 9 (56,2%) tuvieron resolución de las mismas, 4 (25%) presentaron mejoría y 3 (18,7) no presentaron cambios, es decir que un 81,2% tuvieron alivio de las patologías asociadas a su obesidad.

IV.4.3. Control de calidad: sistema BAROS.

De los 16 pacientes con comorbilidad, al mes de la intervención presentaron una puntuación media de 1,9 que entra del resultado considerado regular en la puntuación final del sistema BAROS. Al tercer mes la puntuación ya fue buena (2,5), a los 6 y 12 meses estos resultados pasaron a ser muy buenos, con valores de 3,3 y 4,2 respectivamente.

Los 5 pacientes que no presentaron comorbilidad, tuvieron una puntuación al mes de 2,6 (regular), de 3,1 al tercer mes (buena), 3,7 al sexto mes (buena) y 4,8 al año (buena).

IV.5. VALORES BASALES DE LOS METABOLITOS DE ESTRÉS OXIDATIVO.

Comparativo caso-control

Al comparar el grupo de casos en situación basal con el grupo control se observó que los casos presentaron niveles de estrés oxidativo significativamente elevados, mientras que la actividad de los sistemas antioxidantes estaba disminuida.

Todos los marcadores de EO evaluados tenían valores más elevados en todos los componentes del grupo obeso que los del grupo control, mientras que los antioxidantes presentan valores inferiores. Estas diferencias han mostrado una gran significancia estadística. Los resultados de los valores basales del grupo caso (preoperatorios) y del grupo control se muestran Tabla XV.

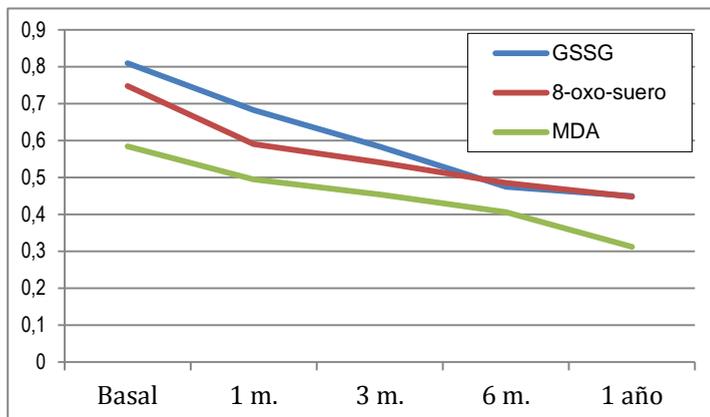
Tabla XV. Valores de los metabolitos de EO en el grupo casos y en el grupo control.			
Metabolitos	Casos	Controles	p
SOD	3,9±0,8	4,8±0,4	<0,001
Catalasa U/mg proteína	132,9±30,2	211±22	<0,001
GPx	38,2±8,5	59±10	<0,001
GSH	13,1±2,9	22±3	<0,001
8-Isoportanos	212,6±44	32±14	<0,001
MDA	0,5±0,1	0,2	<0,001
8-oxo-dG suero	0,7±0,1	0,2	<0,001
8-oxo-dG orina	5,1±0,8	2±1	<0,001
GSSG	0,8±0,1	0,2	<0,001
GSSG/GSH	6,3±2	1	<0,001

IV.6. CAMBIOS EVOLUTIVOS EN LOS METABOLITOS DEL EO.

En las gráficas que mostramos a continuación (Gráficas 3 y 4) se refleja como en todos y cada uno de parámetros de EO estudiados se observó una disminución progresiva de sus valores, con diferencias estadísticamente significativa entre algunos periodos. De manera paralela se observó una mejoría de la función de los sistema antioxidantes naturales, representada por el aumento del glutatión reducido (GSH) y por la reducción del cociente GSSG/GSH, siendo los valores de EO obtenidos al finalizar el estudio similares a los del grupo control.

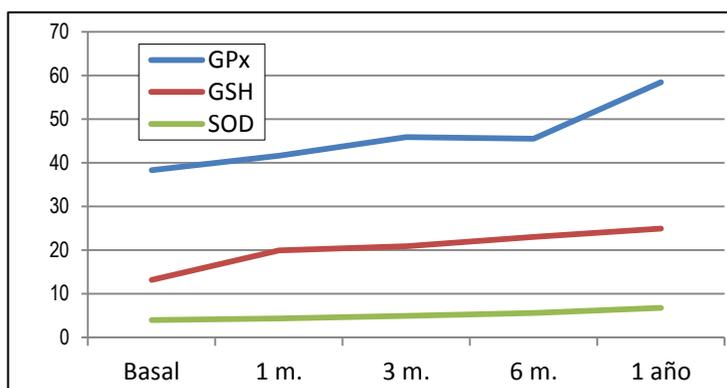
Gráfica 3. Representación lineal de los valores del 8-oxo-dG en suero, del GSSG y MDA a lo largo del estudio.

No se representan los restantes oxidantes (Isoprostanos y %GSSG/GSH) para no desvirtuar la gráfica pues los valores son excesivamente diferentes, aunque su línea también muestra un descenso progresivo en todos y cada unos de los periodos estudiados.



Gráfica 4. Representación lineal de los valores de la GPx, SOD y GSH a lo largo del estudio.

No se representan los valores de CAT por ser muy dispares con los valores del resto de metabolitos y en la gráfica conjunta no permitir una buena visualización, si bien presenta también una línea ascendente a lo largo de los diferentes periodos del estudio.

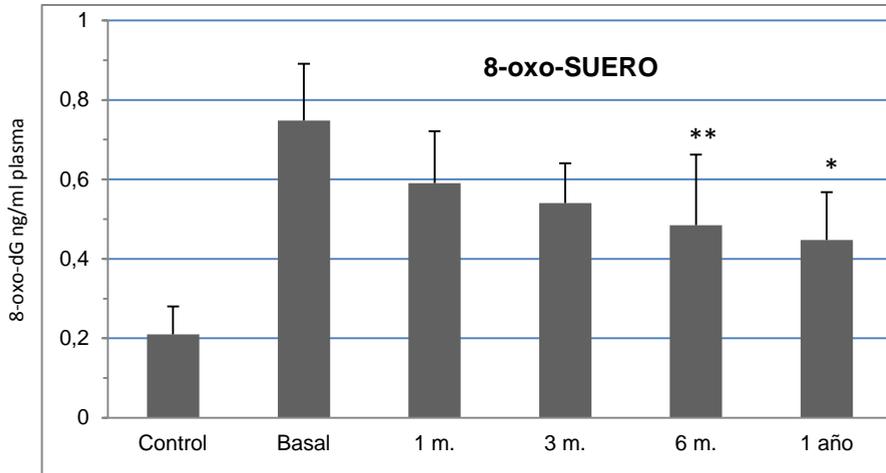


IV.6.1. Valores de la 8-oxo-dG en suero.

El valor medio preoperatorio de la 8-oxo-deoxiguanosina (8-oxo-dG) en suero fue de $0,74 \pm 0,14$ 8-oxo-dG ng/ml plasma y presentó una disminución progresiva a lo largo de los distintos periodos estudiados, siendo los valores medios al mes de $0,59 \pm 0,13$, disminuyendo progresivamente a $0,54 \pm 0,10$ al tercer mes y siendo de $0,48 \pm 0,17$ al sexto mes y de $0,44 \pm 0,12$ al año (Gráfica 5).

Comparando con los niveles basales, el descenso tuvo significación estadística en todos los periodos ($p < 0,001$).

Gráficas 5. Diagramas de los valores de 8-oxo-dG en suero a lo largo del periodo estudiado.



* $p=0,05$ en pacientes con respecto al valor basal

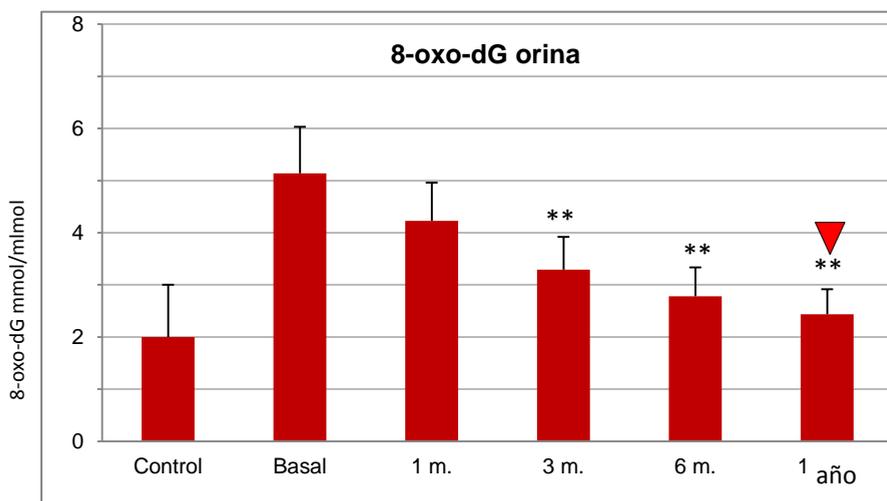
** $p=0,005$

IV.6.2. Valores de la 8-oxo-dG en orina.

Los valores medios de la 8-oxo-deoxiguanosina (8-oxo-dG) determinada en orina en el periodo preoperatorio fue de $5,13 \pm 0,89$ nmol/nmol creatinina. Al mes el valor medio fue de $4,22 \pm 0,73$ nmol/nmol creatinina, al tercer mes de $3,29 \pm 0,62$, al sexto mes de $2,78 \pm 0,55$ y al año fue de $2,43 \pm 0,47$ nmol/nmol creatinina (Gráfica 6), similares a los del grupo control.

El descenso de los valores medios presentó significación estadística ($p < 0,001$) en cada uno de los periodos con respecto a los valores basales. Al final del periodo de estudio los valores son similares a los del grupo control.

Gráficas 6. Diagramas de los valores de 8-oxo-dG en orina a lo largo del periodo estudiado.



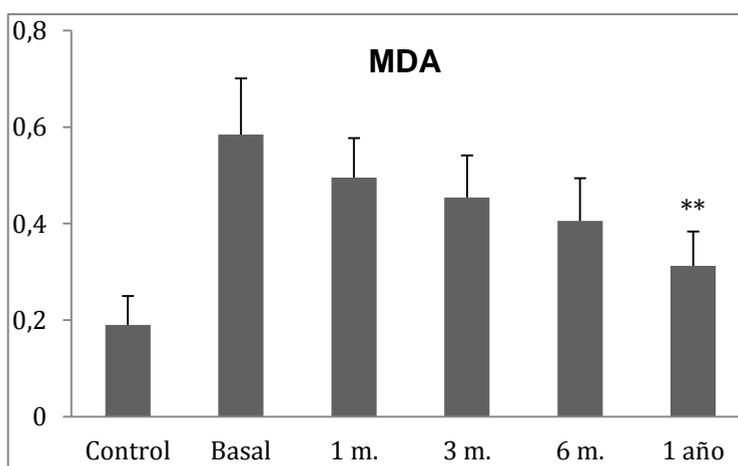
▼ $p = ns.$ entre valores de pacientes y grupo control.

* $p < 0,05$ ** $p < 0,005$ (en pacientes con respecto a su situación basal)

IV.6.3. Valores del Malondialdehído (MDA) en sangre.

El valor medio del malondialdehído (MDA) en el periodo preoperatorio fue de $0,58 \pm 0,11$ nmol/mg prot. Al mes se obtuvo un valor medio de $0,49 \pm 0,08$, al tercer mes fue de $0,45 \pm 0,08$, al sexto mes fue de $0,40 \pm 0,08$ y al año fue de $0,31 \pm 0,07$ nmol/mg proteína. Diferencias con significación estadística se apreciaron entre los valores del control anual y los basales ($p < 0,005$).

En la gráfica 7, que muestra la evolución de los valores de MDA a lo largo del estudio.

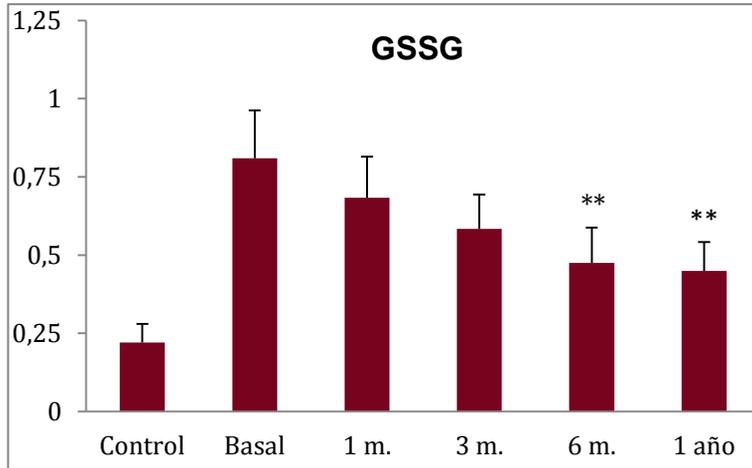
Gráfica 7. Diagrama de la evolución de los valores de la MDA.

* $p=0,005$.

IV.6.4. Valores del Glutati3n oxidado (GSSG) en sangre.

El valor medio de este metabolito en el periodo preoperatorio fue de, $0,80\pm0,15$ nmol/mg prote3na. Al mes se obtuvo un valor medio de $0,68\pm0,13$, siendo de $0,58\pm0,10$ al tercer mes, $0,47\pm0,11$ al sexto mes y $0,44\pm0,009$ nmol/mg prote3na al a3o. Las diferencias fueron estad3sticamente significativas ($p<0,005$) a los seis y doce meses con respecto a los valores basales.

La gr3fica 8 muestra su gradual disminuci3n.

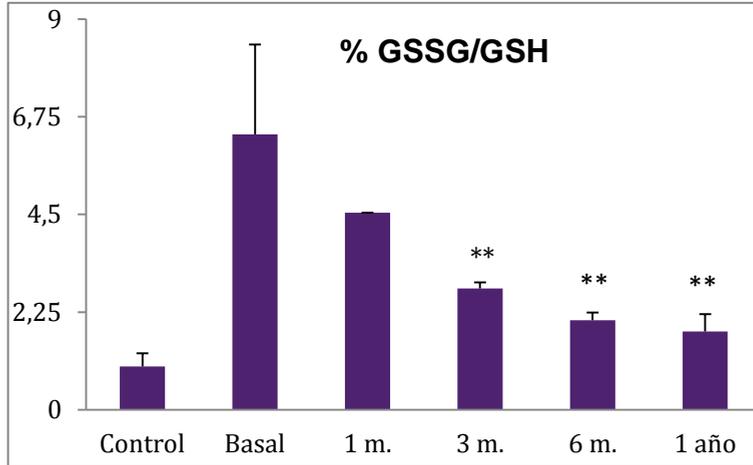
Gráfica 8. Diagrama de la evolución de los valores del GSSG.

* $p=0,005$.

IV.6.5. Valores del cociente glutatión oxidado/glutatión reducido (GSSG/GSH) en sangre.

Los valores medios de este cociente han ido mejorando progresivamente a lo largo del periodo estudiado, observándose mayor diferencia entre los valores basales ($6,34 \pm 2,06$) y del primer mes ($4,53 \pm 1,28$ %GSSG/GSH).

Su valor medio al tercer mes fue de $2,79 \pm 0,14$ y al sexto mes y año fueron de $2,06 \pm 0,17$ y de $1,80 \pm 0,39$ respectivamente, tal como queda reflejado en la gráfica 9, siendo estas diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,005$) con respecto a los valores basales.

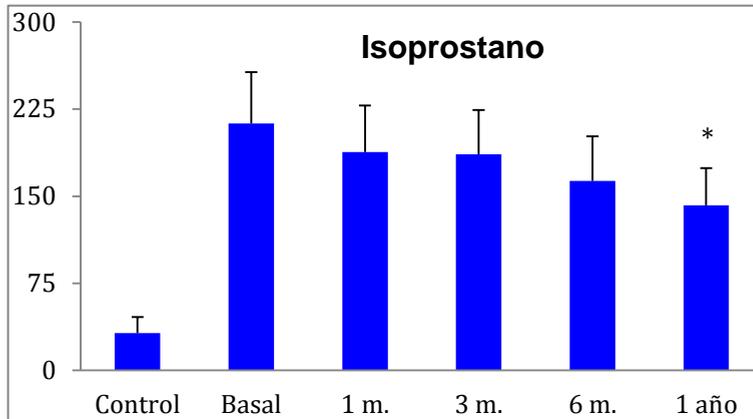
Gráfica 9. Diagrama de la evolución del cociente GSSG/GSH.

** $p=0,005$

IV.6.6. Valores de lo Isoprostanos.

Se ha observado un descenso progresivo de los valores de Isoprostanos en sangre a lo largo del estudio, pasando de valores basales preoperatorios de $212,6 \pm 44$ Pg-8-isoprostanos/mmoles de creatinina a valores medios de 188 ± 40 al primer mes postoperatorio, y a valores de $186,2 \pm 38$, $163 \pm 38,4$ y $142,2 \pm 31,9$ al tercer, sexto mes y año respectivamente (Gráfica 10).

Gráfica 10. Diagrama de la evolución del isoprostanos a lo largo del periodo.

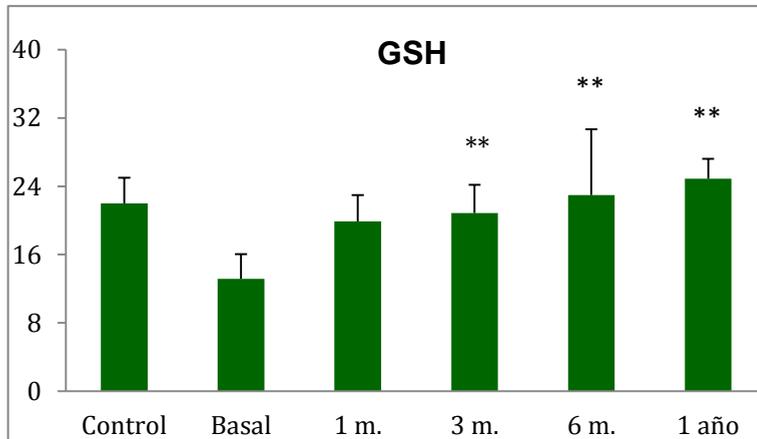


* $p=0,05$

IV.6.7. Valores del Glutatión reducido (GSH) en sangre.

Se observó un aumento en sangre del principal representante de los sistemas antioxidantes celulares, el glutatión reducido (GSH), cuyo incremento ha sido demostrado en los diferentes periodos del estudio como expresión de la mejoría funcional de los mismos.

Desde el valor medio basal de $13,14 \pm 2,91$ nmol/mg proteína, hemos obtenido un valor medio de $19,89 \pm 3,06$ en la determinación del primer mes, siendo de $20,85 \pm 3,32$ el resultado al tercer mes. En las determinaciones del sexto mes y año, la media de los valores ha sido de $22,96 \pm 7,69$ y $24,86 \pm 2,33$ nmol/mg proteína respectivamente. El estudio comparativo muestra la existencia de diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,005$) en casi todos los periodos estudiados, excepto entre el periodo preoperatorio y postoperatorio inmediato. La gráfica 11 muestra su progresión a lo largo del año.

Gráfica 11. Diagrama de la evolución del GSH.

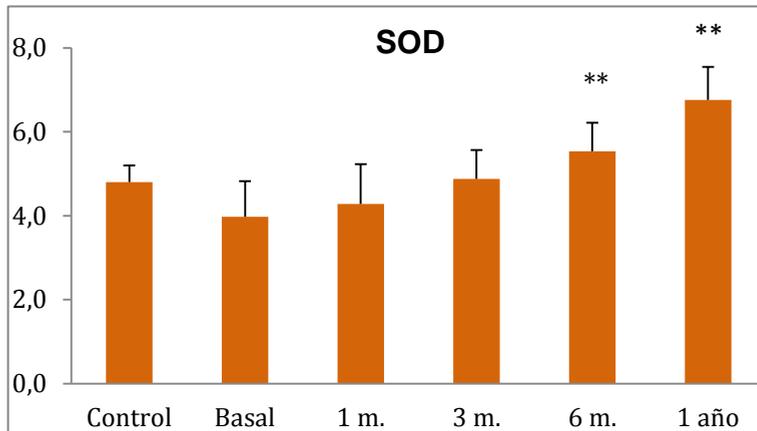
* $p=0,005$

IV.6.8. Valores de la superóxido-dismutasa (SOD) en sangre.

Hemos observado un aumento creciente de los valores a lo largo de año de estudio, de forma que el valor medio basal (preoperatorio) de $3,97 \pm 0,85$ U/mg proteína, aumentó progresivo, siendo el valor medio en la determinación del primer mes de $4,28 \pm 0,94$, de $4,87 \pm 0,69$ el resultado al tercer mes, de $5,54 \pm 0,67$ al sexto mes y $6,75 \pm 0,78$ al año.

Los valores al sexto mes y al año presentan diferencias estadísticamente significativas ($p=0,005$) con respecto a los valores basales (preoperatorios). En la gráfica 12 se muestran los datos correspondientes a estos valores.

Gráfica 12. Diagrama de la evolución de la SOD a lo largo del periodo de estudio.

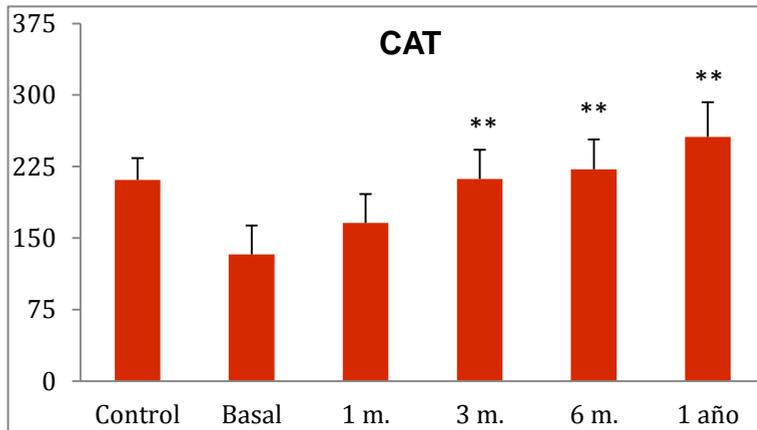


* $p=0,005$

IV.6.9. Valores de la Catalasa (CAT) en sangre.

Al igual que ha ocurrido con la SOD, la catalasa también ha ido aumentando a lo largo del periodo, pasando de un valor medio basal (preoperatorio) de $132,91 \pm 30,25$ U/g proteína a un valor medio en el primer mes de $165,92 \pm 30,09$, y posteriormente a $212,04 \pm 30,56$ al tercer mes, $222,13 \pm 31,28$ al sexto mes y $256,17 \pm 36,12$ U/mg proteína al año. Los valores al tercer, sexto y doce mes tienen diferencia significativa estadísticamente con respecto a los valores basales ($p=0,005$). En la gráfica 13 se muestran los datos correspondientes a estos valores.

Gráfica 13. Diagrama de la evolución de la Catalasa a lo largo del periodo.

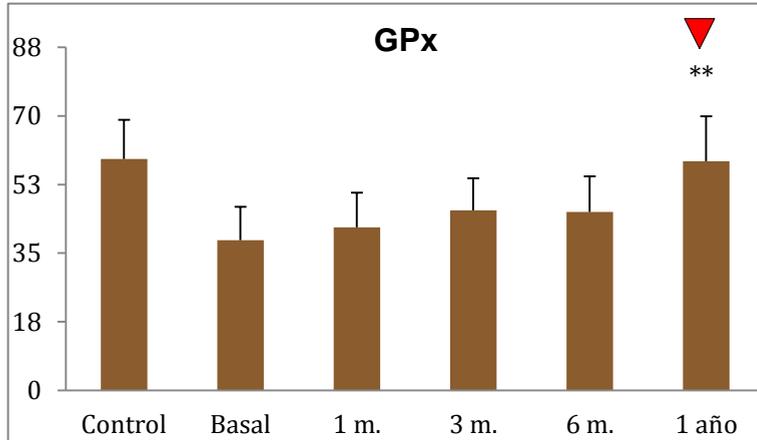


** $p=0,005$

IV.6.10. Valores de la Glutación peroxidasa (GPx) en sangre.

El valor medio preoperatorio fue de $38,27 \pm 8,55$ Gpx U/mg proteína, aumentando a lo largo de estudio, de modo que al mes su valor medio era de $41,58 \pm 8,81$. Al tercer mes el valor medio fue de $45,88 \pm 8,22$, de $45,49 \pm 9,13$ al sexto y de $58,45 \pm 11,44$ al año.

Al año los valores que se obtuvieron presentaban diferencias estadísticamente significativas ($p=0,005$) con respecto a los valores basales preoperatorios y sin diferencias con respecto a los valores considerados “normales” del grupo control. Este aumento se muestra en la gráfica 14.

Gráfica 14. Diagrama de la evolución de la GPx durante el estudio.

** $p=0,005$.



$p = ns.$ entre valores de pacientes y grupo control.

IV.6.11. Correlaciones entre marcadores de EO, parámetros ponderales, y marcadores clínicos.

En la Tabla XVI se muestran los valores medios de los metabolitos de EO a lo largo de los diferentes periodos estudiados.

Los resultados obtenidos corroboran que todos los pacientes experimentaron cambios en cada uno de los periodos estudiados, tanto en el peso como en las comorbilidades asociadas y en los valores de los diferentes metabolitos de EO.

Tabla XVI. Valores medios de los distintos metabolitos de EO.

Parámetro	Basal	1 ^{er} mes	3 ^{er} mes	6 ^o mes	Año
8-oxo-dG orina	5,1±0,9	4,2±0,7	3,3±0,6	2,8±0,5	2,4±0,5
8-oxo-dG sangre	0,7±0,1	0,6±0,1	0,5±0,1	0,5±0,1	0,4±0,1
GSSG	0,8±0,1	0,6±0,1	0,5±0,1	0,4±0,1	0,4±0,0
GSSG/GSH	6,3±2	4,5±1,3	2,8±0,1	2±0,2	1,8 ±0,4
MDA	0,6±0,1	0,5	0,4	0,4	0,3
Isoprostanos	212,6±4	188±4	186,2±4	163±38,4	142,2±32
GSH	13,1±3	19,9±3	20,8±7,7	22,9±7,7	24,8±2,3
SOD	4±0,8	4,3±0,9	4,9±0,7	5,5±0,6	6,7±0,7
Catalasa	132,9±30,2	165,9±30	212±30,5	222,1±31,2	256,1±36,1
GPx	38,3±8,5	41,6±8,8	45,9±8,2	45,5±9,1	58,5±11,4

Al analizar la posible asociación entre estos cambios y los marcadores metabólicos del EO, se objetivó correlación significativa entre los siguientes:

Valores ponderales y metabolitos de EO.

Se han encontrado correlación significativa entre el peso y la 8-oxo-dG tanto en suero como en orina (Gráficas 12 y 13).

También existe relación significativa entre el peso e isoprostanos, MDA, Catalasa, GSH, GSSG y con el cociente GSSG/GSH.

Hubo correlación con la GPx pero menos significativa y no la hubo con la SOD. Resultados muy similares se obtuvieron con el IMC, si bien en todos los casos presentaron significación estadística. En la Tabla XVII se muestran estos valores.

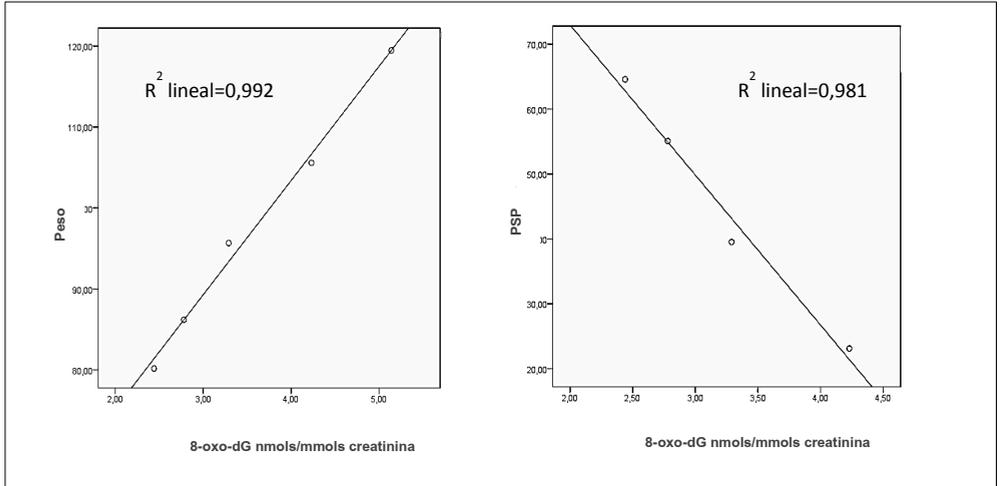
Tabla XVII. Valores de correlación entre el peso e IMC y los diferentes metabolitos.					
PESO	R	p	IMC	R	p
SOD	-0,931	0,022	SOD	-0,930	0,022
GPx	-0,867	0,057	GPx	-0,865	0,058
Isoprostanos	0,964	0,008	Isoprostanos	0,963	0,008
MDA	0,974	0,005	MDA	0,973	0,005
Catalasa	-0,986	0,002	Catalasa	-0,986	0,002
8-oxo-dG orina	0,996	0,001	8-oxo-dG orina	0,996	0,001
8-oxo-dG plasma	0,982	0,003	8-oxo-dG plasma	0,982	0,003
GSH	-0,970	0,006	GSH	-0,969	0,006
GSSG	0,998	0,001	GSSG	9,998	0,001
GSSG/GSH	0,985	0,002	GSSG/GSH	0,986	0,002

Similares han sido los resultados al correlacionar el PSP y PPEIM con los metabolitos (Tabla XVIII).

Tabla XVIII. Relaciones entre el PSP y PPEIMC con los diferentes metabolitos.					
PSP	R	p	PPEIMC	R	p
SOD	0,957	0,043	SOD	0.956	0,044
GPx	0,830	0,170	GPx	0,830	0,170
Isoprostanos	-0,928	0,072	Isoprostanos	-0,928	0,072
MDA	-0,947	0,053	MDA	-0,947	0,053
Catalasa	0,970	0,030	Catalasa	0,970	0,030
8-oxo-dG orina	-0,990	0,010	8-oxo-dG orina	-0,999	0,010
8-oxo-dG plasma	0,999	0,001	8-oxo-dG plasma	-0,999	0,001
GSH	0,972	0,028	GSH	0,972	0,028
GSSG	-0,995	0,005	GSSG	-9,995	0,005
GSSG/GSH	-0,966	0,034	GSSG/GSH	-0,967	0,033

A continuación mostramos la gráfica de la correlación lineal entre el peso y el PSP y la 8-oxo-dG en orina.

Gráfica 15. Correlación entre los valores del peso y PSP y la 8-oxo-dG en orina.



Parámetros bioquímicos y metabolitos de EO.

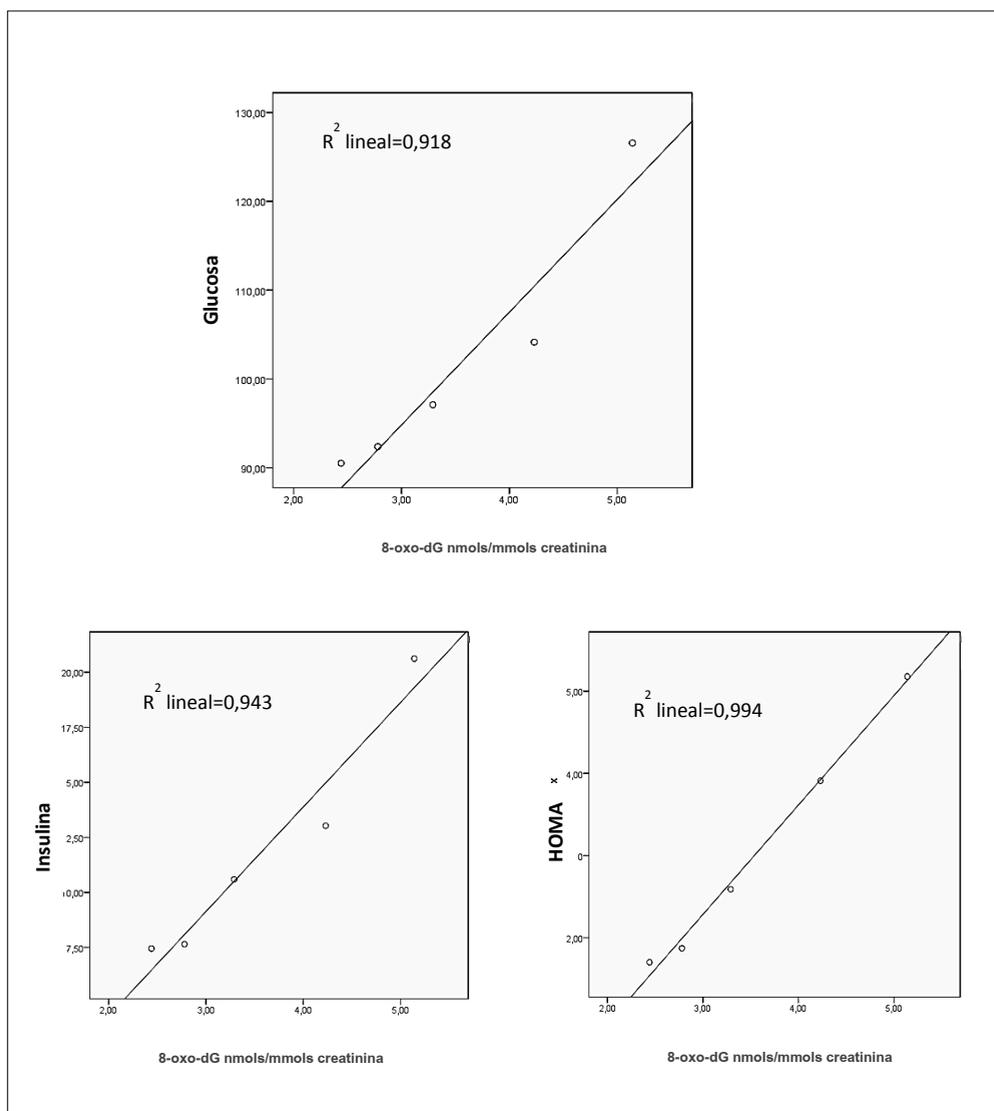
Hemos encontrado relación significativa entre los valores de glucosa con todos los metabolitos a excepción de la SOD y GPx, y de la insulina, índice HOMA y de los triglicéridos con todos los metabolitos a excepción de la GPx (Tablas XIX y XX). No hemos encontrado correlación con el colesterol total ni con el HDL ni LDL, ni con el índice colesterol total/HDL.

Tabla XIX. Relación de la glucosa e insulina con los metabolitos estudiados.					
Glucosa	R	p	Insulina	R	p
SOD	-0,795	0,108	SOD	-0,821	0,088
GPx	-0,751	0,143	GPx	-0,758	0,138
Isoprostanos	0,884	0,046	Isoprostanos	0,907	0,033
MDA	0,898	0,039	MDA	0,910	0,032
Catalasa	-0,928	0,023	Catalasa	-0,937	0,019
8-oxo-dG orina	0,958	0,010	8-oxo-dG orina	0,971	0,006
8-oxo-dG plasma	0,992	0,001	8-oxo-dG plasma	0,996	0,001
GSH	-0,986	0,002	GSH	-0,987	0,002
GSSG	0,958	0,010	GSSG	0,976	0,005
GSSG/GSH	0,973	0,005	GSSG/GSH	0,982	0,003

Tabla XX. Relación del índice HOMA y triglicéridos con los metabolitos estudiados.					
HOMA	R	p	Triglicéridos	R	p
SOD	-0,880	0,049	SOD	-0,821	0,088
GPx	-0,806	0,100	GPx	-0,758	0,138
Isoprostanos	0,915	0,030	Isoprostanos	0,907	0,033
MDA	0,936	0,019	MDA	0,910	0,032
Catalasa	-0,976	0,004	Catalasa	-0,937	0,019
8-oxo-dG orina	0,997	0,001	8-oxo-dG orina	0,971	0,006
8-oxo-dG plasma	0,979	0,001	8-oxo-dG plasma	0,996	0,001
GSH	-0,956	0,011	GSH	-0,987	0,002
GSSG	0,995	0,001	GSSG	0,976	0,005
GSSG/GSH	0,999	0,001	GSSG/GSH	0,982	0,003

A continuación mostramos las gráficas de la relación entre la 8-oxo-dG en orina con la insulina los triglicéridos y el índice HOMA.

Gráfica 16. Correlación entre la glucosa, insulina e índice HOMA con la 8-oxo-dG en orina.



IV.6.12. Correlaciones entre la evolución de los diferentes biomarcadores analizados.

Hemos encontrado correlación estadísticamente significativa entre la SOD y la GPx, Isoprostanos, MDA Catalasa y 8-oxo-dG en orina y la GPx con Isoprostanos, MDA y Catalasa (Tabla XXI).

Tabla XXI. Relaciones de la SOD y GPx con el resto de metabolitos.					
SOD	R	p	GPx	R	p
SOD	1	-	SOD	0,964	0,008
GPx	0,964	0,008	GPx	1	
Isoprostanos	-0,966	0,007	Isoprostanos	-0,915	0,029
MDA	-0,977	0,004	MDA	-0,955	0,011
Catalasa	0,944	0,016	Catalasa	0,911	0,031
8-oxo-dG orina	-0,911	0,031	8-oxo-dG orina	-0,948	0,070
8-oxo-dG plasma	-0,861	0,061	8-oxo-dG plasma	-0,808	0,098
GSH	0,860	0,062	GSH	0,824	0,086
GSSG	-0,911	0,031	GSSG	-0,833	0,080
GSSG/GSH	-0,866	0,058	GSSG/GSH	-0,801	0,103

También hemos encontrado correlación estadísticamente significativa entre los Isoprostanos y la MDA con el resto de metabolitos y (Tabla XXII).

Tabla XXII. Relaciones de los Isoprostanos y MDA con el resto de metabolitos.					
Isoprostano	R	p	MDA	R	p
SOD	-0,966	0,007	SOD	-0,977	0,004
GPx	-0,915	0,029	GPx	-0,955	0,011
Isoprostanos	1	-	Isoprostanos	-0,983	0,003
MDA	0,983	0,003	MDA	1	-
Catalasa	-0,942	0,016	Catalasa	-0,980	0,003
8-oxo-dG orina	0,937	0,019	8-oxo-dG orina	0,959	0,010
8-oxo-dG plasma	0,935	0,020	8-oxo-dG plasma	0,941	0,017
GSH	-0,943	0,016	GSH	-0,944	0,016
GSSG	0,949	0,014	GSSG	0,956	0,011
GSSG/GSH	0,906	0,034	GSSG/GSH	0,931	0,022

La catalasa presentó relación con significación estadística con todos los metabolitos y la 8-oxo-dG en orina también a excepción de la GPx (Tabla XXIII).

Tabla XXIII. Relaciones de la Catalasa y 8-oxo-dG en orina con el resto de metabolitos.					
Catalasa	R	p	8-oxo-dG orina	R	p
SOD	0,944	0,016	SOD	-0,911	0,031
GPx	-0,911	0,031	GPx	-0,848	0,070
Isoprostanos	-0,942	0,016	Isoprostanos	0,937	0,019
MDA	-0,980	0,003	MDA	0,959	0,010
Catalasa	1	-	Catalasa	-0,989	0,001
8-oxo-dG orina	-0,989	0,001	8-oxo-dG orina	1	-
8-oxo-dG plasma	-0,956	0,110	8-oxo-dG plasma	0,979	0,04
GSH	0,943	0,016	GSH	-0,960	0,009
GSSG	-0,978	0,004	GSSG	0,997	0,001
GSSG/GSH	-0,975	0,005	GSSG/GSH	0,995	0,001

La 8-oxo-dG en plasma y la GSH presentaron relación con significación estadística con todos los metabolitos a excepción de la SOD y GPX (Tabla XXIV).

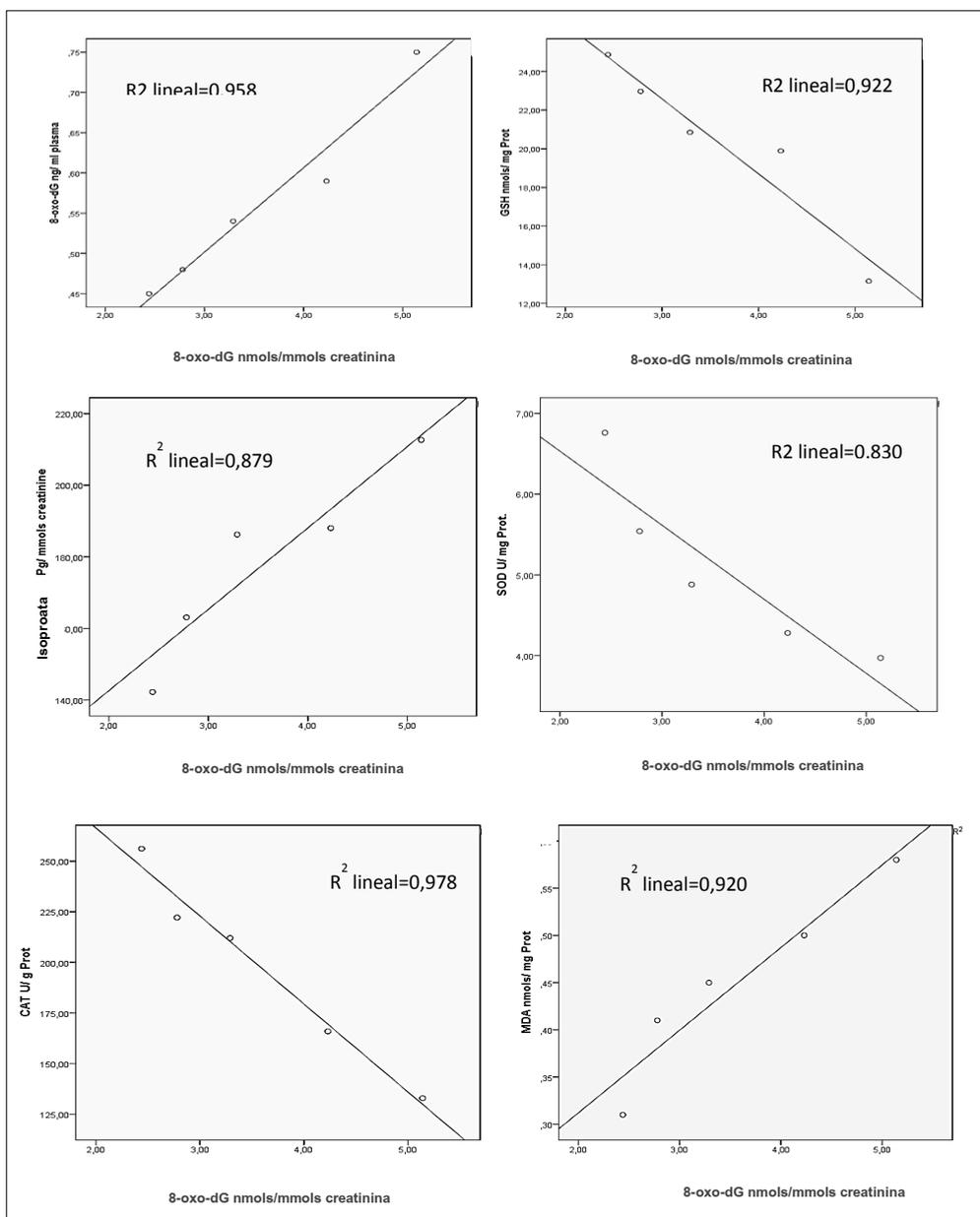
Tabla XXIV. Relaciones de la 8-oxo-dG y GSH en plasma con el resto de metabolitos.					
8-oxo-dG plasma	R	p	GSH	R	p
SOD	-0,861	0,061	SOD	0,860	0,062
GPx	-0,808	0,098	GPx	0,824	0,086
Isoprostanos	0,935	0,020	Isoprostanos	-0,943	0,016
MDA	0,941	0,017	MDA	-0,944	0,016
Catalasa	-0,956	0,011	Catalasa	0,943	0,016
8-oxo-dG orina	0,979	0,004	8-oxo-dG orina	-0,960	0,009
8-oxo-dG plasma	1	-	8-oxo-dG plasma	-0,995	0,001
GSH	-0,995	0,001	GSH	1	-
GSSG	-0,982	0,003	GSSG	-0,965	0,008
GSSG/GSH	0,982	0,003	GSSG/GSH	-0,960	0,009

La GSSG y la fracción GSSG/GSH presentaron relación con significación estadística con todos los metabolitos a excepción de la GPx y SOD y GPX respectivamente (Tabla XXV).

Tabla XXV. Relaciones de la GSSG y fracción GSSG/GSH con el resto de metabolitos.					
GSSG	R	p	GSSG/GSH	R	p
SOD	-0,911	0,031	SOD	-0,866	0,058
GPx	-0,833	0,080	GPx	-0,801	0,103
Isoprostanos	0,949	0,014	Isoprostanos	0,906	0,034
MDA	0,956	0,011	MDA	0,931	0,022
Catalasa	-0,978	0,004	Catalasa	-0,975	0,005
8-oxo-dG orina	0,997	0,001	8-oxo-dG orina	0,995	0,001
8-oxo-dG plasma	0,982	0,003	8-oxo-dG plasma	0,982	0,003
GSH	-0,965	0,008	GSH	-0,960	0,009
GSSG	1	-	GSSG	0,990	0,001
GSSG/GSH	0,990	0,001	GSSG/GSH	1	-

A continuación mostramos las gráficas de correlación entre la 8-oxo.dG en orina con la 8-oxo-dG en plasma, GSH, Isoprostanos y SOD.

Gráfica 17. Relación de la 8-oxo-dG en orina con la 8-oxo-dG en plasma, con la GSH, Isoprostanos, SOD, Catalasa y MDA.



V. DISCUSIÓN

V. DISCUSION.

V.1. TÉCNICA QUIRÚRGICA.

La cirugía constituye hoy día la única posibilidad de tratamiento efectivo a largo plazo para la obesidad mórbida, ya que ha demostrado ampliamente su beneficio al obtener, en un gran número de pacientes, una pérdida progresiva y mantenida del peso junto con la remisión de la mayoría de las comorbilidades asociadas a la obesidad, mejorando de este modo la calidad de vida de los pacientes ⁽¹⁴⁶⁾.

A la hora de decidir que técnica realizar, el cirujano puede valorar la técnica con menor morbimortalidad, con menos secuelas, con mejor tolerancia por los pacientes, la más efectiva, la que él mejor realiza etc. Si en la decisión se valora además al paciente (edad, sexo, peso, comorbilidades, condiciones sociales, entorno etc.) la técnica a elegir varia, ya que no hay una que cumpla todos los criterios comentados.

Generalmente se tiende a considerar que cuanto mayor es el peso del paciente, más agresiva deberá ser la intervención a fin de conseguir una mayor pérdida de peso. Sin embargo, la elección de la técnica no debe basarse únicamente en el IMC del paciente, ya que este es solamente una medida que no refleja ni se correlaciona con la distribución de la grasa o la composición corporal, factores que si tienen una gran importancia para indicar la cirugía y predecir sus resultados ⁽¹⁴⁷⁾, por lo que el IMC está perdiendo importancia como factor único y exclusivo a la hora de valorar el tipo de cirugía a realizar.

La gastrectomía vertical (GV) proviene de la técnica de la derivación biliopancreática con cruce duodenal, y se indicó como paso previo a un *by-pass* gástrico o cruce duodenal en pacientes con alto riesgo quirúrgico o anestésico ⁽¹⁴⁸⁾. Al ser una cirugía con menor morbilidad, obtener una pérdida de peso adecuada y corregir las comorbilidades, se le consideró una primera etapa para mejorar las condiciones del paciente a fin de realizar posteriormente un segundo tiempo y completar la cirugía definitiva con mayor seguridad ⁽¹⁴⁹⁾.

Gagner en el año 2008 ⁽¹⁵⁰⁾, y posteriormente la American Society for Metabolic and Bariatric Surgery (ASMBS) ⁽¹⁵¹⁾ tras una revisión sistemática, confirmaron y sancionaron que la cirugía en dos tiempos podía reducir la morbilidad de procedimientos más agresivos tales como como el *by-pass* gástrico o el cruce duodenal/derivación biliopancreática, lo cual otorgó a la GV validez como técnica para el tratamiento de la obesidad mórbida.

Aunque la técnica del *by-pass* gástrico sigue siendo el *gold estándar* de las técnicas quirúrgicas para el tratamiento de la obesidad mórbida, actualmente la GV se está convirtiendo en una de las más utilizadas en todo el mundo ^(152,153) ya que ha demostrado ser un procedimiento seguro, con una tasa de morbilidad reducida y en muchos grupos inferiores a la del *by-pass* gástrico ^(154,155), con resultados ponderales similares a los obtenidos con el *by-pass* gástrico y técnicamente más fácil de realizar ^(156,157).

Dado que además cumple con los criterios definidos en 1992 por el National Institute of Health de los EE.UU (NIH) ^(158,159) puede ser considerada como técnica bariátrica única y no como primera

etapa de otro procedimiento más complejo ⁽¹⁶⁰⁾, convirtiéndose en una alternativa muy atractiva para pacientes y cirujanos.

En cuanto a sus resultados a corto y medio plazo, se han publicado resultados a cinco o más años de seguimiento que mantienen una pérdida ponderal en torno al 50-60% de pérdida de exceso de peso ⁽¹⁶¹⁻¹⁶³⁾. Lo mismo ocurre con la resolución de las comorbilidades mayores: HTA ⁽¹⁶⁴⁾, dislipidemia, SAOS ⁽¹⁶⁵⁾ y diabetes ⁽¹⁶⁶⁾ y resultados comparables al *bypass* gástrico ⁽¹⁶⁷⁻¹⁶⁹⁾.

Dada la posibilidad de su fácil conversión a *by-pass* gástrico o cruce duodenal en caso de fracaso, hay autores que la indican en todos los pacientes obesos mórbidos independientemente de su IMC ^(170,171).

Aunque a la GV se le considera un técnica puramente restrictiva, su mecanismo de acción no se limita exclusivamente a limitar la ingesta ⁽¹⁷²⁾ ya que siendo el *fundus* gástrico el principal sitio de producción de la ghrelina ⁽¹⁷³⁾ (hormona orexígena primariamente producida y liberada por las células oxínticas del estómago, que participa del complejo entero- hipotalámico que regula la ingesta de alimentos) se ha observado una marcada disminución de los niveles de la misma tras la GV a partir del postoperatorio inmediato y mantenida a 3 y 6 meses. Se le atribuye un importante rol en el mecanismo de acción de esta técnica, junto con la restricción por la disminución del remanente gástrico ⁽¹⁷⁴⁾. Además combina los beneficios que derivan de respetar la anatomía gástrica junto a escasas alteraciones metabólicas y nutricionales ⁽¹⁷⁵⁾. Todo ello hace de la GV una técnica eficaz en el tratamiento quirúrgico de la obesidad mórbida.

V.2. COMPLICACIONES DE LA CIRUGÍA.

El tromboembolismo pulmonar y la dehiscencia anastomótica suelen ser las principales causas de la mortalidad que presenta la cirugía de la obesidad, siendo estas últimas las más temidas por los cirujanos debido a la dificultad tanto en su diagnóstico precoz como en su tratamiento. La embolia pulmonar es mucho menos frecuente (1-2% de casos), pero tiene una mayor mortalidad (20-30%) ⁽¹⁷⁶⁾.

En nuestra serie no ha ocurrido ninguna de estas dos incidencias y aunque hay reconocer que, en parte, este éxito es debido al pequeño tamaño de la muestra, no hay que olvidar que la GVL se caracteriza por una cifra de mortalidad casi nula.

Las tasas de complicaciones postoperatorias tras la GVL varían entre el 1 y el 29%. En España, Sánchez Santos y colaboradores, en un registro nacional que comprende la experiencia de 17 centros muestran un 5,2% de morbilidad y 0,36% de mortalidad ⁽¹⁷⁷⁾.

En la serie de 21 pacientes estudiados no hubo mortalidad y la morbilidad fue de 9,5%. Si valoramos los resultados obtenidos con la serie global de GVL del Servicio de Cirugía General del CHGUV, formada por 161 pacientes, la tasa de morbilidad es del 9,9%, porcentaje dentro de los límites que los diferentes autores dan en sus resultados con esta técnica.

Series más amplias muestran tasas de morbimortalidad variables pero aceptables, así, un estudio que incluye un total de 3003 GVL, en la que la GVL fue el procedimiento primario en 2826 pacientes (94%), tiene como resultados una tasa de complicaciones postoperatorias precoces del 4,4% y una mortalidad operatoria de un

paciente por sangrado (0,03%) ⁽¹⁷⁸⁾. Otro estudio que presenta una revisión de diferentes bases de datos y que evalúa principalmente ensayos controlados y randomizados ⁽¹⁷⁹⁾ informa que no hubo mortalidad en el grupo de GVL y que la tasa de complicaciones fue del 12,1%, con un 2,1% de reintervenciones.

Nuestra principal y más grave complicación en la serie histórica ha sido las fugas en la línea de grapado (5%) y el sangrado (4,5%), siendo la tasa de complicaciones graves del 10,5%. En la serie a estudio (n=21) solo hubo dos casos con complicación (9,5%). En España, y también a 12 meses, García Díaz ⁽¹⁸⁰⁾ presenta resultados similares a los nuestros, con un 6,8% de complicaciones, ninguna grave y con mortalidad nula.

La tasa de complicaciones que presenta la GVL es, además, menor que la de otras técnicas bariátricas y comparable a las del *bypass* gástrico. Así, un estudio finlandés sobre 238 pacientes, comparando las dos técnicas ⁽¹⁵⁶⁾ informa de complicaciones menores en 8 pacientes y una sola complicación grave en la GVL y 11 complicaciones menores y dos mayores en la LRYGB (p=0,4), es decir, resultados similares sin diferencias estadísticas significativas. Goitein ⁽¹⁸¹⁾, tampoco encuentra diferencias significativas entre ambas técnicas (p=0,9).

Zhang Y ⁽¹⁸²⁾, en un meta-análisis de 21 estudios con 18.766 pacientes informa que hubo más eventos adversos en la LRYGB que en la GVL con diferencias significativas a favor de la GVL (p<0,01).

Distintos estudios, que analizan diversos aspectos, tales como la morbimortalidad postoperatoria a 90 días ⁽¹⁸³⁾, la influencia de la edad avanzada (pacientes mayores de 60 años) ⁽¹⁸⁴⁾, y la

cirugía sin ingreso ⁽¹⁸⁵⁾ presentan buenos resultados y similares en las dos técnicas.

Esta baja morbimortalidad hace de la GVL una técnica segura, con pocas y menores tasas de complicaciones que otras técnicas, por lo que su uso está aumentando hasta convertirse en la técnica más realizada actualmente.

V.3. EVOLUCIÓN PONDERAL.

La pérdida de peso que se obtiene con la GVL es similar a la que se obtiene con el *by-pass* gástrico ⁽¹⁵⁶⁾ y superior a la obtenida por otras técnicas restrictivas, tales como la banda gástrica ⁽¹⁸⁶⁾ y la gastroplastia tubular plicada ⁽¹⁸⁷⁾.

En nuestra serie el peso corporal de los pacientes ha presentado una disminución progresiva a lo largo de todo el periodo estudiado, con una disminución del IMC, que pasa de un valor medio preoperatorio de $46,21 \pm 5,2$ Kg/m² a un valor medio de $31,16 \pm 4,9$ Kg/m² al año.

Este resultado final del valor medio del IMC está por debajo del valor mínimo que debe de tener un paciente para indicación de cirugía en la obesidad mórbida (35 Kg/m²) y muy por debajo del IMC necesario para indicar la cirugía sin comorbilidades asociadas (40 Kg/m²). Con la técnica de la GVL hemos conseguido al año que el 95,2% de los pacientes tengan un IMC por debajo de 40 y un 76,2% lo tengan por debajo de 35.

Los resultados ponderales obtenidos con la GVL a un año son bastante satisfactorios, con valores de PSP publicados por diferentes autores que oscilan entre el 59 y el 86% ^(168,169) comparables a los

obtenidos con la técnica del *by-pass* gástrico ⁽¹⁶⁹⁾. El estudio de 2826 pacientes intervenidos con GVL ⁽¹⁷⁷⁾ informa de un PSP del 72% al año (n= 937 y 57% de pacientes controlados).

En nuestra serie el PSP al año alcanzó el 64,5%, valor similar a los resultados que dan otros autores y que es una cifra superior al mínimo exigido a una técnica quirúrgica para ser considerada “eficaz” en la cirugía de la obesidad, que debe garantizar la pérdida de al menos el 50% del sobrepeso.

También hemos comprobado como al año el 95% de los pacientes (n=20) ya habían perdido el 50% o más del sobrepeso que tenían antes de la cirugía, cumpliendo así otra de las prerrogativas que se exige a una técnica quirúrgica para poder ser definida como “eficaz” en la cirugía de la obesidad, según la Conferencia Consenso de la cirugía bariátrica realizada en la universidad de Minesota ⁽¹⁸⁸⁾.

Cifra de PSP similar a la nuestra, es la que aporta Lemaître ⁽¹⁸⁹⁾, que evalúa a 510 pacientes intervenidos con GVL, con un PSP al año del 64,3%. En España, Ruiz Tovar ⁽¹⁹⁰⁾, en un estudio prospectivo expone que al año la media de PSP fue de 81,8%.

A medio/largo plazo también hay autores que informan del mantenimiento de estos buenos resultados. Ching ⁽¹⁹¹⁾, en un trabajo sobre 200 pacientes y un seguimiento a 1, 2 y 3 años, siendo el porcentaje de pacientes seguidos del 79,5%, 75,7% y 50%, informa que la media del PSP obtenido fue del 61,2%, 60,9% y 51%, respectivamente.

Estudios con seguimiento más prolongado ^(192,193) concluyen que la GVL es un procedimiento bariátrico duradero con 70% del PSP a los 5 años. En España, Ruiz Tovar ⁽¹⁹⁰⁾ da cifras del 78,7%.

A más largo plazo, los buenos resultados ponderales que se obtienen parecen mantenerse y ello haría de la GVL una técnica de elección para los pacientes obesos mórbidos, si bien estos resultados de larga duración no alcanzan una temporalidad suficiente como para considerarlo definitivo.

De todos modos hay series con seguimientos a más de 5 años que informan del mantenimiento de la pérdida ponderal, así, un estudio ⁽¹⁹⁴⁾ con tasas de seguimiento de 90,4%, 86,3% y 77,8% a los 5, 6, y 7 años, obtienen un PSP del 69,8%, 70,6% y 76,6%, respectivamente. Himpens ⁽¹⁹⁵⁾ en un seguimiento a 6 años informa de un PSP del 53,3%, cifra similar a la que obtiene D'Hondt ⁽¹⁹⁶⁾ de 55,9% en el mismo periodo.

Una revisión sobre la seguridad y eficacia de la GVL realizada en 1020 pacientes como tratamiento primario para la obesidad mórbida ⁽¹⁹⁷⁾ informa de una media del PSP a 8 años de 52%. Esto corrobora que la pérdida de peso a medio plazo obtenida por la GVL es mantenida y óptima.

Al comparar los resultados de la GVL con otras técnicas y principalmente con el *by-pass* gástrico por ser la técnica *gold estándar* también se informan de resultados similares entre ambas técnicas.

Un estudio comparativo entre la GVL y el *by-pass* gástrico realizado en pacientes coreanos ⁽¹⁹⁸⁾ concluye que el PSP a 12, 24 y 36 meses fue similar en los dos grupos. Otro estudio que realiza una revisión retrospectiva de 135 pacientes super-superobesos ⁽¹⁹⁹⁾ de los que a 93 se realizó LRYGB y a 42 GVL, con una mediana de seguimiento de 49 meses, comunica que el PSP > 30% para los

pacientes en el grupo de LRYGB fue del 72,2 y 94,6% a los 6 y 12 meses respectivamente, mientras que la incidencia de PSP > 30% en los pacientes del grupo de GVL era del 59,1% y 100% también a los 6 y 12 meses respectivamente. Incluso hay estudios que recomiendan, en adolescentes, la realización de la GVL frente al *bypass* gástrico. Alqhatani presenta estudios en pre-púberes, adolescentes y adultos jóvenes, con resultados a 3, 4 y 5 años ⁽²⁰⁰⁻²⁰²⁾ en las que comunica el descenso y mantenimiento del peso.

Siguiendo la clasificación de Reinhold, hemos tenido un 76,2% de buenos resultados al año de la cirugía. Teniendo en cuenta todos los resultados ponderales obtenidos y las ventajas teóricas de la GVL (opciones normales de la dieta, la preservación de un tracto gastrointestinal intacto, menos trastornos vitamínicos, y una mejor calidad de vida), la GVL puede ser una técnica bariátrica adecuada para llevar a cabo en la obesidad mórbida.

V.4. EVOLUCIÓN DE LAS PATOLOGÍAS ASOCIADAS A LA OBESIDAD.

Los pacientes obesos mórbidos suelen presentar comorbilidades asociadas que afectan aproximadamente al 77% de ellos ⁽²⁰¹⁾, tal como ha ocurrido en nuestra serie (76,2%).

La pérdida de peso suele comportar la mejoría de las comorbilidades asociadas a la obesidad mórbida llegando en algunos casos incluso a la resolución de las mismas, por lo que es fácil deducir que sea el exceso de grasa corporal la causa de estas patologías, estando la cirugía bariátrica dirigida a solucionarlas mediante la pérdida de peso ⁽²⁰²⁻²⁰⁴⁾.

La mejoría global de las comorbilidades en nuestra serie alcanza al 81,2% de los pacientes, cifra comparable a la que consigue Perrone ⁽²⁰⁵⁾ que obtiene con la GVL una mejora de las comorbilidades del 89%.

Tras la cirugía, los resultados más favorables son lo que se obtienen con el metabolismo hidrocarbonado y lipídico. En el caso de la hiperglucemia, la corrección ocurre aproximadamente en el 80% de los pacientes intervenidos, con normalización de las concentraciones plasmáticas y de la sensibilidad a la insulina, comunicándose resolución completa a los dos años y sin encontrar diferencias en cuanto a la técnica utilizada ⁽²⁰⁶⁾. La normalización glucémica se consigue con pérdidas de sobrepeso de tan solo el 20-30%.

En nuestra serie, la mejora de la diabetes ocurrió en el 100% de los 21 pacientes, ormalizándose los valores de glucosa en sangre se normalizaron a partir del tercer mes postoperatorio y al año solamente 2 pacientes presentaban cifras de glucemia por encima de las normales, es decir que el 90,5% de los pacientes habían corregido su glucemia. Esto mismo ocurre con la sensibilidad a la insulina, con cifras que mejoran ostensiblemente a lo largo del estudio y normalizándose a partir del primer mes.

De la misma manera el efecto de RI valorado con el índice HOMA muestra que ocurre lo mismo que con los otros dos parámetros de metabolismo glucídico comentados.

Estudios que comparan la eficacia de la GVL y el LRYGB en la resolución de la DM2, tal como el de Li J ⁽²⁰⁷⁾ (meta-análisis de 62 estudios recientes que incluyen a 18.455 pacientes), el de Zhang C

⁽²⁰⁸⁾ (revisión de 16 estudios y 9756 casos) y el de Maiz ⁽²⁰⁹⁾ (sobre 1119 pacientes, a los que 836 (74,8%) se les realizó GVL), no encuentran diferencias en cuanto al porcentaje de mejoría de la DM entre ambas técnicas.

En cuanto al metabolismo lipídico, la normalización de las concentraciones de colesterol y triglicéridos en nuestra serie ocurrió en el 60% de los pacientes que la presentaban. Al año, dos pacientes presentaban valores de colesterol y triglicéridos por encima de los normales, manteniéndolos similares a sus valores preoperatorios y otros dos presentaron elevación de su colesterol al final del estudio. Los resultados que aportan otros autores oscilan entre el 54 y 87% de remisión de la dislipidemia ^(177,187,202).

Mejorías ostensibles tras la cirugía se han observado también en el resto de comorbilidades como SAHS, hipertensión, osteoartritis, etc. tal como publica Buchwald ⁽²¹⁰⁾.

En el estudio de Sakran ⁽¹⁷⁸⁾, la GVL fue el procedimiento primario en 2826 pacientes (94%), con resolución del 98% para el SAOS, 79% para la DM, 87% para la dislipidemia y 85% para la HTA. Maiz ⁽²⁰⁹⁾, con 836 GVL presenta resolución/mejoría del 54/39% en diabetes, 58/29% en HTA, 72/17% en RI, y 54/30% en dislipidemia. Lemaître ⁽¹⁸⁹⁾ en su trabajo evaluando a 510 pacientes con GVL informa de que la HTA se resolvió en un 48,3% de los pacientes, la DM2 en el 72,5%, la dislipidemia en el 61%, y el SAOS en el 77,8% y concluye que en el Pacífico Sur, la GVL es una técnica segura y eficaz para tratar la obesidad mórbida con la una pérdida de peso sostenida y con resolución de las comorbilidades.

Un meta-análisis sobre 16 estudios (2758 pacientes) que comparan la GVL y el LRYGB ⁽²¹⁰⁾ presenta resultados similares en cuanto a remisión de la HTA al año de la cirugía.

El SAOS presentó una tasa de resolución en 60% de los pacientes que lo presentaban preoperatoriamente. En los tres casos restantes, dos presentaron mejoría y uno no presentó cambios, lo cual da una mejora total del 80%.

Del Genio en un estudio del SAOS en pacientes sometidos a GVL ⁽¹⁶⁵⁾ con un seguimiento completo de 5 años obtuvo una mejoría significativa en el cuestionario de la Escala de Somnolencia de Epworth modificado (ESS) en el 91,6% de los pacientes. El índice de apnea/hipopnea (IAH) mejoró en un 80,6%. El 19,4% restante tenían una resistencia respiratoria asociada debido a enfermedades obstructivas nasales. Hay autores ^(177,211) que presentan tasas de resolución del SAOS del 98% y sin diferencias en cuanto a la técnica utilizada.

En nuestra serie, un 81,8% de los pacientes hipertensos mejoraron de su proceso y ha tenido resolución en un 45,5%, solamente un 18% ha fracasado en la solución de la HTA. Las tasas de resolución de la HTA oscila entre el 48,3 y el 85% según diferentes autores ^(177,187,202).

La eficacia de la GVL, valorada con el sistema BAROS, obtiene una puntuación media a 6 años de buena y excelente en el 90,4% de los pacientes ⁽²¹²⁾.

En nuestra serie el resultado final del BAROS fue de muy buenos en los pacientes con comorbilidad y buena en los que no tenían comorbilidades, si bien el seguimiento es de solo un año.

Son muchos los autores que defienden el uso de la GVL en el tratamiento quirúrgico de los pacientes obesos mórbidos dado los buenos resultados que se obtienen en cuanto a pérdida de peso y resolución y/o mejoría de las comorbilidades asociadas ⁽²¹³⁾.

V.5. ALTERACIONES METABÓLICAS.

La GV al ser una técnica restrictiva que mantiene casi la totalidad del funcionamiento fisiológico del estómago no suele presentar déficits vitamínicos ni metabólicos. De hecho nosotros no hemos encontrado alteraciones en el metabolismo del calcio, teniendo los pacientes valores normales de Ca, PTH y vitamina D. Tampoco hemos objetivado en este tiempo anemias ni déficit de Fe, vitamina B12, si bien si hay oscilaciones en los valores del ácido fólico tanto en el preoperatorio como en controles postoperatorios, sin una tendencia definida en los distintos periodos estudiados, siendo variaciones aisladas dentro del mismo paciente y en periodos diferentes.

V.6. RELACIÓN ENTRE ESTRÉS OXIDATIVO Y OBESIDAD.

El daño oxidativo inducido por ROS es uno de los principales factores implicados en el desarrollo de una amplia variedad de condiciones patológicas que comprometen la homeostasis metabólica y alteran la regulación normal del crecimiento y diferenciación celular ⁽²¹³⁾.

EL exceso en la producción de ROS que sobrepase la capacidad antioxidante de las células y tejidos ha sido descrito como uno de los mecanismos patogénicos subyacentes de diversos procesos patológicos tales como enfermedades cardiovasculares o

trastornos metabólicos como la diabetes, la dislipidemia, el síndrome metabólico y múltiples procesos inflamatorios.

La obesidad es una enfermedad de origen multifactorial que comparte muchos de estos trastornos metabólicos citados, progresando en su evolución hacia diferentes complicaciones cardiovasculares así como hacia el desarrollo de diferentes tipos de tumores.

La relación existente entre niveles elevados de daño celular oxidativo y las complicaciones clínicas desarrolladas por los pacientes obesos es algo aceptado por la comunidad científica ⁽²¹⁵⁾.

Sin embargo y a pesar de la evidente relación entre ambos no existe consenso unánime sobre cuál es el mecanismo por el que existe una producción aumentada de ROS en los obesos.

Actualmente existen varios mecanismos descritos que podrían explicar dicha producción aumentada de ROS. Uno de los mecanismos subyacentes podría ser el estado de inflamación crónica de bajo grado que se produce en la obesidad ⁽²¹⁶⁾ que múltiples estudios atribuyen el origen de dicho estado inflamatorio al propio tejido adiposo.

Debido a la acumulación excesiva de grasa y nutrientes, los adipocitos aumentarían su volumen y comenzarían agregarse, disminuyendo de esta manera el flujo sanguíneo y causando por tanto hipoxia ⁽²¹⁷⁾. La reducción del aporte de oxígeno a los adipocitos origina la producción y liberación de diversos factores de necrosis y apoptosis por parte de dichos adipocitos.

La hiperproducción de citoquinas proinflamatorias ⁽²¹⁸⁾ induce la producción aumentada de ROS y por tanto de daño oxidativo celular. Debido al efecto quimiotáctico de dichas citoquinas proinflamatorias se produce la infiltración del tejido adiposo por monocitos y su posterior transformación en macrófagos completándose así un círculo vicioso ⁽²¹⁹⁾. Todos estos factores contribuyen al estado de inflamación crónica de bajo grado presente en la obesidad ⁽²²⁰⁾.

Otro mecanismo descrito, por el cual la elevada producción de ROS sería intrínseca a la obesidad, es el elevado consumo de oxígeno que se produce por la elevada carga mecánica, lo cual origina un aumento en la producción de ROS por parte de la mitocondria y también la pérdida de electrones desde la cadena de transporte. Además, el elevado consumo metabólico de triglicéridos que tiene lugar en los obesos y su efecto inhibitor de la translocación de bases de adenina en la mitocondria favorece los mecanismos de producción de ROS ⁽²²¹⁾.

Teniendo en cuenta que el elevado daño oxidativo es la causa subyacente de la obesidad y de sus complicaciones clínicas, la reducción terapéutica del tejido adiposo, mediante cirugía debería contribuir a mejorar el estado inflamatorio que a su vez reduciría los niveles de EO y los resultados clínicos de los pacientes afectados.

En este trabajo se ha evaluado el estado de EO sistémico en una población de obesos mórbidos y hemos seguido sus cambios a lo largo de un año conjuntamente con resultados clínicos tras cirugía bariátrica mediante GVL. Con este propósito se han analizado los subproductos más característicos de daño oxidativo así como la

actividad de diversas enzimas antioxidantes en diferentes muestras (polimorfonucleares, suero y orina) de pacientes obesos mórbidos y se han comparado con los de una población de sujetos sanos de edad y características similares.

Un estudio combinado tanto de subproductos de daño oxidativo como de actividad de enzimas antioxidante en muestras biológicas de pacientes obesos mórbidos no había sido realizado con anterioridad.

En nuestro estudio hemos evidenciado que los pacientes obesos mórbidos presentan niveles más elevados de los metabolitos de EO y valores más inferiores de antioxidantes con respecto a los que presenta una población normal, diferencias que dada su elevada significación estadística, indica que el EO está muy presente en los obesos mórbidos, posiblemente, como ya hemos comentado, ocasionado por la inflamación crónica que supone la gran cantidad de tejido adiposo que poseen estos pacientes.

La relación entre obesidad y bajos niveles plasmáticos de antioxidantes ha sido confirmada por numerosos autores ⁽²²²⁻²²⁴⁾. Olusi ⁽²²⁵⁾ en su estudio evidencia que la actividad de la SOD y de la GSH era inferior en los obesos frente a sujetos no obesos, y lo mismo ocurre con la glutatión peroxidasa (GPx), además establece una correlación negativa entre el IMC y la actividad de la SOD y la GPx.

En nuestra serie es evidente esta diferencia, tanto en la SOD como en el GSH entre los valores del grupo control de personas sanas y los pacientes obesos mórbidos ($p < 0,001$), diferencias que

hemos encontrado en todos los metabolitos de EO y antioxidantes estudiados.

En la obesidad, el organismo no puede proporcionar niveles apropiados de antioxidantes para compensar la producción de radicales, generando de esta manera MDA como oxidante ⁽²²⁶⁾. En nuestro estudio también es evidente el mayor valor del MDA en el grupo a estudio (obesos) que en el grupo control. Esto mismo ha sido también comprobado en estudios realizados en ratas obesas ⁽²²⁷⁾.

Hemos objetivado también, como con la pérdida de peso obtenida tras la cirugía, los niveles de EO han disminuido hasta alcanzar al final del estudio valores similares a los que presenta la población normal, disminuyendo los metabolitos de EO y aumentando los antioxidantes, lo cual evidencia que la mejoría en el EO está directamente relacionada con la pérdida de peso, cosa comprobada (correlación estadísticamente significativo) en nuestro estudio al igual que informan otros autores ⁽²²⁸⁾ relación que también se ha evidenciado con la pérdida de peso lograda con la administración de dietas hipocalóricas ⁽²²⁹⁾ y el ejercicio físico ⁽²³⁰⁾.

Blum ⁽²⁾ afirma que la cirugía al inhibir la inflamación puede aumentar la disponibilidad de óxido nítrico en el postoperatorio y esto explicaría en parte los efectos beneficiosos de la cirugía para bajar de peso.

El estudio Framingham ⁽²³²⁾, en el que se analizan diferentes factores de riesgo cardiovascular, los autores determinaron la existencia de una correlación positiva entre el IMC y los niveles urinarios de 8-isoprostaglandina F2 alfa (8-iso-PGF2 α), hecho que también reflejan los resultados aportados por Furukawa ⁽⁴⁰⁾ y

Suematsu ⁽²³³⁾. El aumento de 8-iso-PGF_{2α} en el grupo de obesos frente al grupo normal ha sido evidenciado por otros investigadores ⁽²³⁴⁾, comprobando que estos niveles mejoran si los pacientes pierden peso ⁽²³⁵⁾.

En nuestro estudio, los valores basales de Isoprostanos en el grupo a estudio eran mucho más elevados que los del grupo control (población sana): 212,6 de valor medio en el grupo a estudio frente a 32 Pg-8-Isoprostano/nmol creatinina en el grupo control ($p < 0,001$).

Con la actividad de la GPx ocurre lo contrario. Un estudio llevado a cabo en mujeres obesas y de peso normal determinó una diferencia significativa en la actividad de esta enzima, que se revertía parcialmente tras la pérdida de peso ⁽²³³⁾.

Los pacientes de nuestra serie presentaron valores basales (preoperatorios) inferiores a los del grupo control ($p < 0,001$). Estos valores fueron incrementándose progresivamente a lo largo de todo el periodo estudiado conforme disminuía el peso de los pacientes, de modo que al año, este aumento presentaba diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,005$) con respecto a los valores basales preoperatorios y no tenían diferencias con los valores considerados “normales” del grupo control.

En nuestro estudio hemos encontrado correlación estadísticamente significativa ($p < 0,001$) entre los valores de la 8-oxo-dG en suero y orina, Isoprostanos, MDA, GSSG y GSSG/GSH con el peso de los pacientes, siendo esta una correlación positiva, de manera que conforme disminuye el peso del paciente, disminuyen los valores de estos metabolitos. También hemos encontrado correlación significativa entre el IMC y estos mismos valores.

En relación a la actividad de la catalasa, Lazarevic y colaboradores demostraron una disminución en la actividad de la misma en una población de varones obesos con DM 2 ⁽²³⁶⁾.

Furukawa y colaboradores ⁽⁴⁰⁾ estudiaron la actividad de SOD, GPx y CAT en modelos animales de obesidad, ratificando la disminución tanto en la actividad como en la expresión de estas enzimas en el tejido adiposo blanco en el grupo de animales obesos.

En nuestro estudio, la catalasa tenía valores basales en el grupo de obesos inferiores a los de la población normal, y al igual que ha ocurrido con la SOD, los valores de la catalasa han ido aumentando a lo largo de todo el periodo estudiado, pasando de un valor medio basal (preoperatorio) de $132,91 \pm 30,25$ U/mg proteína a un valor medio de $256,17 \pm 36,12$ U/mg proteína al año, casi el doble que al inicio del estudio ($p=0,005$).

Parece evidente, como ha ocurrido en nuestro estudio, que la disminución del volumen de tejido adiposo que presentan los pacientes obesos mórbidos al perder peso tras la cirugía, implique una menor actividad inflamatoria del mismo o incluso su desaparición y por tanto la normalización o desaparición del EO que presentan estos pacientes como consecuencia del proceso inflamatorio crónico.

Los metabolitos de EO que hemos estudiado han disminuido de una manera drástica al perder peso los pacientes y disminuir el volumen de tejido adiposo, lo que confirma la disminución del proceso inflamatorio. Al mismo tiempo, las defensas antioxidantes muy disminuidas en los pacientes de nuestra serie, han ido aumentando progresivamente, tanto la GSH como la SOD, Catalasa

y GPx, hasta alcanzar valores significativamente más altos con respecto a los valores basales ($p=0,005$).

La fuerte presencia del EO en la obesidad ha hecho que se le adjudique un papel principal en el desarrollo de patologías que habitualmente la acompañan ⁽²³⁷⁾.

Esta relación entre EO y comorbilidades se evidencia al comprobar que la mejoría del estrés oxidativo (disminución en los valores de los metabolitos de EO y aumento de los valores de los antioxidantes) se acompaña de mejoría de las comorbilidades. En los pacientes de la serie que presentaron comorbilidades, hubo mejoría de las mismas y del EO presente en ellos.

Cuando existe un balance calórico positivo (ingesta de calorías mayor que el gasto calórico), el almacenamiento de energía en el tejido adiposo suele originar hipertrofia de los adipocitos y acumulación de tejido adiposo visceral, con efectos negativos sobre el EO, lo que puede ser un factor importante que enlaza la obesidad con sus patologías asociadas ⁽²¹⁵⁾, de hecho, estas alteraciones en el tejido adiposo ocasionan diversas respuestas metabólicas e inmunológicas, ya que el incremento de tejido adiposo conlleva una infiltración de macrófagos ⁽²³⁸⁾ responsables del aumento de la expresión de la enzima nicotinamida-adenina-dinucleótido-fosfato-oxidasa, que a su vez es responsable de una mayor producción de ROS en el propio tejido adiposo que desencadena una alteración en la secreción de adipocinas, concretamente del TNF- α y del PAI-1, así como y una disminución de adiponectina, que son uno de los principales mecanismos responsables del SM, HTA y aterosclerosis, enfermedades metabólicas asociadas frecuentemente a la OM ⁽²³⁹⁾.

Si bien no está unánimemente aceptado que el EO sea una condición fisiológica normal, ni cuando los valores que presenta pueden ser considerados patológicos, su atenuación si se ha convertido en un objetivo terapéutico en todas las patologías en las que está presente ⁽²⁴⁰⁾.

Actualmente no existe un método único que permita la determinación y caracterización del EO y muchas de las técnicas de medición utilizadas no están estandarizadas. Con el fin de evitar estos inconvenientes se recurre a la valoración de sus metabolitos, que aun siendo una medida indirecta, sí que indica el estado del EO, sin estar claro si para su cuantificación es suficiente la determinación de uno solo de los biomarcadores o es necesaria las de varios en conjunto ⁽²⁴¹⁾.

En nuestro estudio hemos comprobado como todos los pacientes que componían la serie presentaban, ya en condiciones basales, valores de metabolitos de EO más elevados que los encontrados en el grupo control.

La situación opuesta se ha observado al valorar el estado antioxidante entre ambos grupos. En efecto, al comparar el GSH y su cociente GSSG/GSH como sistema antioxidante natural estudiado, observamos que los valores medios de GSH en el grupo control fue de 22 ± 3 nmol/mg proteína y de 1% el cociente GSSG/GSH, mientras que en muestra serie el valor de GSH fue de $13,1\pm 2,9$ nmol/mg proteína y $6,3\pm 2\%$ el cociente GSSG/GSH. Lo mismo ha ocurrido, como ya hemos comentado anteriormente, con la SOD, catalasa y GPx.

Si bien la presencia de EO en sujetos sanos, como es el caso del grupo control, crea cierta duda a la hora de considerarlo fisiológico, encontrar comparativamente valores elevados en diversas patologías, nos permite catalogarlo como patológico.

V.7. EO y COMORBILIDADES.

Es conocido que el EO está implicado en la patogénia de muchas enfermedades y su aumento suele ir asociado a un mal pronóstico de las mismas. Una mejor comprensión de los mecanismos fisiopatológicos, así como la valoración de sus metabolitos, puede contribuir a mejorar las opciones terapéuticas a fin de atenuarlo en aquellos síndromes clínicos en los que está involucrado y que frecuentemente encontramos como comorbilidad asociada a la obesidad.

V.7.1. Síndrome de apnea-hipoventilación (SAOS-SAHS).

La OM conlleva un riesgo aumentado de disfunción respiratoria, siendo la prevalencia de SAOS del 40%-77% en personas con IMC superior a 50 ⁽⁹⁴⁾, como ha ocurrido con los pacientes de nuestra serie: 47,6%.

Las alteraciones ventilatorias en estos pacientes conllevan desaturaciones arteriales de oxígeno, incremento de la actividad simpática y EO consecuencia de los episodios de hipoxia / reoxigenación típicos de esta enfermedad y que comportan la producción de RL ⁽⁹¹⁾.

Estas alteraciones representan mecanismos fisiopatológicos de la disfunción endotelial que se observa en el SAHS, en la HTA, diabetes e hipercolesterolemia, y en las que el EO es el denominador

común y el indicador subclínico más importante de la disfunción vascular, así como el factor que explica las mayores tasas de enfermedades cardiovasculares en los pacientes que las sufren (242,243).

El tratamiento de la SAOS se basa en garantizar una buena ventilación pulmonar y que en la actualidad, el empleo de CPAPn se ha convertido en su tratamiento de elección (recomendación grado A).

Hay trabajos que prueban cómo con la CPAPn se consigue además una disminución significativa del EO asociado, reflejado en la determinación del MDA (244). A la misma conclusión llega Murri, quien en un estudio para analizar los cambios del EO en un grupo de 78 pacientes con SAHS, hipertensión y obesidad, tratados durante un mes con CPAPn, confirman la disminución significativa de los niveles séricos de la peroxidación lipídica asociada a una capacidad antioxidante significativamente mayor tras el tratamiento (245).

En nuestro trabajo, los pacientes con SAOS fueron 10, y en todos ellos fue la obesidad la causante de su problema respiratorio, estando la resolución y/o mejoría relacionada con la progresiva pérdida de peso, de modo que al año de la intervención, el 90% de los pacientes presentaron resolución y/o mejoría, con abandono del tratamiento de la CPAP. Solamente uno no presentó cambios, manteniendo el tratamiento con CPAPn. Todos ellos presentaron niveles basales de EO elevados, que posteriormente fueron disminuyendo hasta el final del estudio.

Esto motiva a pensar que sí bien es cierto que la CPAP garantiza una buena ventilación pulmonar, la reducción del peso tras

cirugía también consigue el mismo objetivo, ya que la pérdida de tejido adiposo y por tanto también el de localización cervical y en vías aéreas, disminuye la compresión responsable de la menor distensión de la pared torácica y por tanto de insuficiencia respiratoria, además de desaparecer la activación simpática promotora de EO ⁽⁹¹⁾.

V.7.2. DM.

Se ha comprobado que la obesidad está en la base de muchas de las complicaciones clínicas que la caracterizan, entre ellas la RI y/o diabetes.

Los últimos avances en la biología molecular del tejido adiposo han hecho que se conozcan mejor los mecanismos subyacentes de la DM, confiriendo al EO un papel esencial ⁽²⁴⁶⁾, pues se ha identificado a los adipocitos y macrófagos como generadores de la inflamación que caracteriza a los obesos y responsables en el desarrollo de RI y en la progresión a diabetes, ya que contribuyen al incremento en la producción de ROS/RONS que a su vez estarían implicados en los mecanismos de inicio y progresión de la enfermedad.

Este dato es muy importante ya que la inhibición de la acción de los adipocitos y macrófagos se ha convertido en uno de los recursos terapéuticos para las personas obesas que la sufren ⁽²¹⁷⁾, y en nuestro trabajo, la reducción del tejido adiposo mediante la cirugía, ha contribuido a la mejora del EO y de las comorbilidades presentes en los pacientes.

Son varios los mecanismos implicados en el aumento del EO que se observa en la DM, entre ellos la auto-oxidación de la glucosa,

la glicosilación no enzimática de proteínas, la activación de la vía de los polioles y la disminución de las defensas antioxidantes ⁽²⁴⁷⁾.

Por un lado, la glicosilación no enzimática altera la estructura y la función de las proteínas antioxidantes pudiendo disminuir su actividad ⁽²⁴⁸⁾. También, la interacción de los productos finales de la glicación avanzada con receptores celulares, originan la producción de RL. La auto-oxidación de azúcares a enediones genera especies de RL, al igual que ocurre en los diabéticos con concentraciones elevadas de glucosa en presencia de metales de transición.

Está demostrado que la hiperglucemia favorece la activación de la vía de los polioles y, consecuencia de ello, una disminución de NADPH, cofactor de las enzimas generadoras de GSH. Esto constituye un mecanismo de retroalimentación positiva en el que el EO activa a la vía de los polioles y contribuye a la generación de más RL, aumentando de esta forma, aún más, el EO ⁽²⁴⁹⁾.

El aumento de EO en los diabéticos, no solo está relacionado con la excesiva producción de RL, sino también con la disminución de las defensas antioxidantes ⁽²⁵⁰⁾. La alteración del equilibrio entre RL y las defensas antioxidantes es un elemento patogénico importante de la resistencia insulínica debido a que durante el estado de EO no se estimula adecuadamente las vías de señalización mediados por esta hormona ^(251,252).

La relación causal entre los ROS y la RI se ha estudiado mediante una forma de catalasa con localización peroxisomal y una forma de catalasa con localización mitocondrial ⁽²⁵³⁾, viéndose que ambas eran capaces de prevenir hasta un 65% de la reducción en la captación de glucosa estimulada por insulina.

Numerosos estudios han demostrado la abundante presencia de productos derivados de la peroxidación lipídica en la sangre y tejidos de los sujetos diabéticos ⁽²⁵⁴⁻²⁵⁶⁾, siendo la determinación de MDA el procedimiento más utilizado para cuantificar el grado de lipoperoxidación en los tejidos y fluidos humanos ⁽²⁵⁷⁾.

En nuestro trabajo hemos observado como los valores de MDA basales en el grupo obeso eran superiores a los del grupo control, y como en la evolución, con la pérdida de peso han ido disminuyendo hasta casi igualarse con ellos. También hemos comprobado como la pérdida de peso y con ella la disminución de tejido adiposo, conlleva una mejoría en las cifras de glucemia, Hb glicosilada e índice HOMA y EO en todos aquellos pacientes que presentaban alteración del metabolismo glucídico antes de la intervención.

Si la reducción en la masa abdominal se asocia a una mayor sensibilidad a la insulina, podemos afirmar que la pérdida de peso y la disminución del EO han sido los responsables de una mejora de la misma, apoyándonos en que tanto los valores de los metabolitos de EO como los del metabolismo glucídico tienen un comportamiento similar a lo largo de los distintos periodos estudiados, es decir una tendencia a la normalización. La evolución paralela de ambos resultados incita a afirmar la existencia de una correlación causal entre la DM y el EO.

En nuestro estudio hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas en cuanto a descenso de los valores de glucemia e insulina entre los periodos preoperatorios y los del resto del estudio ($p=0,02$), así como entre los valores de HOMA

preoperatorios y los del año ($p=0,01$) y los valores preoperatorios de la hemoglobina glicosilada y sus valores al sexto mes y año.

Vergaray y colaboradores ⁽²⁵⁸⁾ determinan los niveles hemoglobina glicada (reconocido marcador bioquímico de gran utilidad para establecer el grado de control glicémico en los pacientes diabéticos), SOD, GPx y MDA en 25 pacientes afectos de DM2, encontrando una correlación positiva entre los niveles de hemoglobina glicada y los metabolitos de EO estudiados ⁽²⁵⁸⁾.

El EO tiene pues un papel relevante en la patogénesis de la DM ^(257,259), si bien no puede determinarse con exactitud si esta relación es de causa-efecto o simplemente una asociación, aunque es evidente que en los paciente diabéticos existe un aumento de ROS y disminución de agentes antioxidantes ^(260,261).

El EO presente en los diabéticos se asocia con la hiperglucemia que caracteriza a esta enfermedad, y ante un exceso de glucosa se activan diversas vías metabólicas no muy usuales que conducirían a la generación de otros metabolitos entre los cuales se encuentran los RL de oxígeno ⁽²⁶²⁾. Es por esto que se ha propuesto la determinación de los marcadores de EO en los diabéticos como parte del protocolo diagnóstico y pronóstico, además de recomendar el uso de antioxidantes con fines preventivos y terapéuticos ⁽²⁶³⁾.

V.7.3. HTA.

La HTA puede considerarse como el resultado de lesiones vasculares, parenquimatosas, etc, producidas por los RL en el organismo.

Diversos estudios han puesto de manifiesto que el EO es un proceso involucrado en la HTA, ya sea en su génesis o en su evolución ^(264,265), puesto que en ella las especies ROS tienen un papel fisiopatológico preponderante, existiendo un aumento de la producción de ROS y un descenso de las defensas antioxidantes ⁽²⁶⁶⁾.

Este aumento de la producción de ROS en los pacientes hipertensos es conocido desde hace algunos años ⁽²⁶⁷⁻²⁶⁹⁾, así autores como Griendling ⁽²⁷⁰⁾ y Taddei entre otros ⁽²⁷¹⁾ ya informaron de que altos niveles de EO y disminución en la disponibilidad del óxido nítrico asociado, estarían implicados en la disfunción endotelial de la HTA. Esto parece indicar que los pacientes hipertensos están expuestos a un estímulo lesivo constante que comporta daño endotelial y riesgo de alteraciones cardiovasculares, por lo que también consideran que la HTA es el resultado de un conjunto de alteraciones metabólicas dentro de las cuales el EO tiene una evidente participación en su patogénesis.

Diversos trabajos en pacientes con HTA esencial confirman la presencia de EO, con incremento de la concentración sanguínea de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) como indicador de peroxidación lipídica y reducción de las actividades antioxidantes de las enzimas superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (Gpx) y catalasa ^(272,273). Así mismo, estudios realizados por Ward y colaboradores ⁽²⁷⁴⁾ encuentran una disminución de vitamina E y glutatión reducido, que puede contribuir al daño oxidativo que se observa en la hipertensión en humanos.

Las actividades de las enzimas de defensa antioxidante como la SOD y la GPx se encuentran disminuidas en los pacientes con HTA esencial, por lo que el tratamiento con SOD y otros antioxidantes análogos mejoran las funciones vasculares y renales (266, 272).

Recientemente se ha demostrado las personas hipertensas presentan concentraciones significativamente más elevadas de 8-oxo-dG tanto en el ADN nuclear como en el mitocondrial (172,266).

La reducción de las cifras tensionales en estos pacientes normaliza también las concentraciones de los marcadores de estrés oxidativo, siendo este efecto independiente de la estrategia terapéutica utilizada y proporcional al tiempo de tratamiento (275). Cabe destacar la correlación significativa observada entre el marcador de oxidación (GSSG/GSH) y el grado de lesión orgánica, dada por las concentraciones de microalbuminuria, en los pacientes hipertensos (276).

Todas estas observaciones concuerdan con los resultados de nuestro estudio, en el que hemos obtenido datos que nos permiten confirmar la participación del EO en el desarrollo de la HTA. En efecto, en todos los pacientes hipertensos de la serie hemos encontrado cambios similares a los que comunican Redón y colaboradores (266) en un trabajo del año 2003, en el que pone de manifiesto el incremento de la concentración sanguínea de MDA como indicador de peroxidación lipídica, el aumento de la 8-oxo-dG como indicador de daño al ADN, y la disminución de la GSH y aumento del cociente GSSG/GSH como indicadores de la reducida capacidad antioxidante.

V.7.4. Dislipemia.

La hipótesis de que las alteraciones dislipémicas se caracterizan por un desequilibrio entre los mecanismos pro-oxidantes y antioxidantes está muy acreditada, pues se ha comprobado que un incremento de los ácidos grasos libres puede ocasionar un aumento de la producción de ROS en el musculo, adipocitos, células β -pancreática y otras ⁽²⁷⁷⁾.

Diversos estudios confirman la presencia de un EO aumentado en la dislipidemia al observar una mayor peroxidación lipídica y mayor producción intracelular de ROS ⁽²⁷⁸⁻²⁸⁰⁾.

Recientemente se ha comprobado que una comida alta en grasas ocasiona un aumento de los niveles de triglicéridos, generando un gran EO ya que las defensas antioxidantes se reducen drásticamente ⁽²⁸¹⁾.

El incremento de los ácidos grasos libres en sangre puede inducir un aumento en la producción de F2-isoprostanos lo que es más acusado en obesos ⁽²⁸²⁾, así como un aumento de MDA, ya que los ácidos grasos libres pueden incrementar el metabolismo oxidativo mitocondrial y aumentar la fuga de electrones de la cadena respiratoria mitocondrial ⁽²⁸³⁾. Esto ha llevado a sugerir que los AGL contribuyen al incremento del estrés oxidativo y al incremento de las comorbilidades asociadas a la obesidad mórbida, tal como arteriosclerosis, diabetes mellitus o hipertensión arterial.

Ferri y colaboradores ⁽²⁸⁴⁾, utilizando la determinación de 8-oxo-dG en leucocitos plasmáticos, en pacientes con hiperlipemia familiar combinada (HFC) y con estrés oxidativo aumentado, lo identifica como un potencial indicador de riesgo vascular en esta enfermedad.

En nuestro estudio hemos objetivado que tras la pérdida de peso en los obesos intervenidos, se normaliza la dislipemia y el EO. Hay estudios que se asemejan al nuestro en el examen de la relación entre el EO y la alteración del perfil lipídico en humanos en diferentes etapas ⁽²⁸⁵⁾, y que afirman que la mejora del desequilibrio oxidación / antioxidación en pacientes dislipémicos conlleva la prevención o el retraso en el desarrollo de enfermedad cardiovascular.

V. EVOLUCIÓN DE LOS METABOLITOS DE EO.

De acuerdo a su definición, el aumento del EO en obesos mórbidos se caracteriza por una reducción significativa de la actividad de enzimas antioxidantes y un aumento de los subproductos de EO cuando los comparamos con un grupo de voluntarios sanos.

Esta disminución de la actividad enzimática antioxidante no afecta por igual a los enzimas estudiados y es especialmente evidente y significativa en el caso de la CAT y de la GPx más que en el caso de la SOD. Además de su relación con el EO, una actividad reducida de GPx parece jugar un papel importante como factor de riesgo cardiovascular independiente, como refleja el trabajo de Blankenberg ⁽²⁸⁶⁾. Esto explicaría, al menos en parte, la incidencia aumentada de eventos cardiovasculares en pacientes obesos o con sobrepeso.

El cociente GSSG/GSH se encuentra aumentado en las células polimorfonucleares de pacientes obesos mórbidos, lo cual traduce un elevado EO sistémico. Este resultado puede ser de especial importancia dado que los cambios en el estado redox intracelular han mostrado ser capaces de activar una gran variedad

de señales de transducción implicadas en el crecimiento y diferenciación celular. Debemos tener en cuenta que tanto el GSH como el GSSG son cofactores esenciales para las actividades de la GPx y GSR.

Así pues cualquier alteración del equilibrio redox dentro del citosol y/o la mitocondria pueden alterar la actividad de dichas enzimas y de otras relacionadas, como por ejemplo la thioredoxina y la thioredoxin-reductasa.

Niveles reducidos de GSH pueden llegar a comprometer la viabilidad celular dado que dicho tripéptido actúa directamente como un efectivo estabilizador de radicales hidroxilo ^(287,288).

Por lo que respecta a los resultados obtenidos para los niveles enzimáticos de SOD, CAT y GPx así como los valores del ratio GSH, claramente muestran una mejoría de la capacidad antioxidante tras la cirugía.

Como era de esperar, el ratio GSSG/GSH disminuyó como resultado de una progresiva disminución del GSSG a la vez que se produce un aumento de la actividad GSH. Además la GPx volvió prácticamente a sus valores normales, no encontrando diferencias significativas entre los valores obtenidos al año de la intervención y los que presenta el grupo control.

En el caso de la SOD, CAT y GSH los valores medios mostraron niveles similares al grupo control ya a los tres meses tras la cirugía, y llegaron a ser superiores al año de la cirugía. Este incremento puede ser debido a una especie de efecto rebote metabólico consecuencia de la pérdida de peso que conocemos como hormesis.

Este efecto pudo ser comprobado en un estudio reciente con niños saudíes que mostraba como las enzimas antioxidantes se encontraban en niveles bajos en obesos mórbidos comparados con pacientes con normopeso pero más elevados que en el grupo control en niños con sobrepeso ⁽²⁹⁸⁾, lo cual sugiere que quizá con pacientes obesos mórbidos es necesario un mayor tiempo de seguimiento para conocer realmente los valores finales de SOD, CAT y GSH.

Melissas ⁽²⁹⁹⁾, en su estudio sobre la capacidad antioxidante del plasma en relación con la pérdida de peso en obesos mórbidos conseguida con balón intragástrico, comunica una variación sustancial del GSH, que aumenta significativamente llegando a cifras próximas a la normalidad, afirmando que los ROS y la peroxidación lipídica desempeñan un papel esencial en la patogénesis de las comorbilidades asociadas a su enfermedad (aterosclerosis, diabetes, disfunción endotelial, HTA y la insuficiencia cardíaca).

El estudio de Albuali ⁽²⁹⁸⁾ llevado a cabo en 231 niños saudíes con normopeso y obesos mórbidos, en el cual se valora la actividad de enzimas antioxidantes (SOD, CAT, GPx y GSH) así como subproductos de daño oxidativo, apoya los resultados obtenidos en nuestro estudio y da una ligera idea de porqué los niveles de enzimas antioxidantes actúan de esta manera. En este estudio, los pacientes obesos mórbidos presentaron niveles bajos de antioxidantes mientras que los pacientes con sobrepeso presentaban niveles de enzimas antioxidantes más elevados que los presentados por el grupo de sujetos con normopeso.

Esto concuerda con nuestros resultados, indicando que hasta que los pacientes obesos mórbidos alcanzan el normopeso, situación

en la cual los sistemas antioxidantes se estabilizan, presentan valores más elevados que el grupo control, y podría explicar por qué nuestros pacientes presentaron niveles tan altos de SOD, GSH y CAT, y por qué esperamos que a más largo plazo, cuando los pacientes alcancen la situación de normopeso dichos valores se estabilicen, haciéndonos pensar que un mayor período de seguimiento sería la mejor opción para estudios futuros sobre este tema.

Elegimos como metabolitos de EO el MDA y 8-isoprostanos debido a su fiabilidad como marcadores de peroxidación lipídica mientras que la 8-oxo-dG es un buen marcador del daño oxidativo al DNA ⁽²⁹⁰⁾. Además el análisis de la 8-oxo-dG en orina destaca por ser una forma sencilla y poco invasiva para monitorizar en vivo el daño nucleico.

Los obesos presentan concentraciones plasmáticas de MDA elevadas que indica el grado de peroxidación lipídica en estos pacientes. Su cuantificación y la de otros metabolitos se utilizan como indicadores del EO.

Su empleo en nuestro estudio ha sido muy útil para valorar las posibles variaciones del EO y la pérdida de peso, ya que nos ha permitido comprobar estos cambios en relación con la pérdida de peso objetivada en cada uno de los pacientes de la serie a lo largo de los periodos estudiados, así, el MDA ha mostrado una correlación positiva con el peso e IMC, de modo que su variación a lo largo del estudio está relacionada con la variación (pérdida) de peso y esto de manera significativa.

Los datos que presentamos concuerdan con los de otros autores que también encuentran una tendencia a la “normalización” de los niveles de EO paralela a la pérdida de peso, así Vincent HK ⁽²⁹¹⁾, estudiando biomarcadores y posibles mecanismos productores del EO, afirma que la obesidad eleva el EO tal como indican el aumento de la peroxidación lipídica y la oxidación de proteínas, y que este puede ser corregido mediante la mejora de las defensas antioxidantes a través la reducción de volumen de grasa, conseguida entre otros medios, con la cirugía, agentes farmacológicos, ejercicio y/o modificación de la dieta ⁽²⁹²⁾. Zhu ⁽²⁹³⁾ presenta datos similares, obteniendo un valor medio del MDA muy elevado respecto a su grupo control, con diferencias significativas y con un análisis de regresión que mostró correlación positiva con el IMC, al igual que nos ha ocurrido a nosotros.

Así mismo, en los resultados de su trabajo, Kisakol ⁽²⁹⁴⁾ también señalan diferencias estadísticamente significativas. En su estudio sobre 22 pacientes obesos intervenidos quirúrgicamente afirma que la pérdida de peso obtenida conduce a una significativa disminución de la producción de oxidantes (MDA) y al aumento de algunas vitaminas antioxidantes, y que estos dos hechos tienen importancia en los mecanismos oxidativos subyacentes que ocurren en los trastornos asociados a la obesidad.

En pacientes obesos mórbidos los subproductos de oxidación como el MDA y los F-2 isoprostanos se encuentran elevados tanto en polimorfonucleares y en orina respectivamente, confirmando un estado de peroxidación lipídica exacerbado.

Existe una correlación positiva entre ambos, indicando que el líquido celular puede ser usado como un medio válido para cuantificar en vivo el EO inducido por la obesidad. Otros estudios ⁽²⁹⁵⁾ también han encontrado niveles elevados de 8-isoprostanos en niños obesos mórbidos comparados con un grupo control de niños no obesos.

Debido a su potencial mutagénico, la cuantificación de 8-oxo-dG es especialmente relevante. Además de su validez como marcador del daño al DNA inducido por ROS, también ha sido propuesto como potencial marcador tumoral ⁽²⁹⁶⁾.

La medición de MDA, 8-isoprostanos y 8-oxodG (suero y orina) se realizó mediante HPLC porque ha demostrado ser la técnica más precisa para su análisis. La técnica cromatográfica presenta menos variabilidad y aporta resultados más precisos que la técnica ELISA (Enzyme Linked Inmuno Absorbent Assay) ⁽²⁹⁷⁾. Concretamente Li YS y colaboradores ⁽²⁹⁸⁾ han defendido el uso de la HPLC para no sobreestimar los valores de 8-oxo-dG tanto en suero como en orina.

En este estudio, tal y como se esperaba, los valores de MDA, 8-isoprostanos y 8-oxo-dG aparecieron muy elevados en los obesos antes de la cirugía en comparación con el grupo control. Fandos ⁽²⁹⁹⁾ en 2009 también presenta niveles similares de MDA, 8-oxo-dG en su estudio realizado en población mediterránea que presentaba riesgo cardiovascular.

En nuestro estudio, los valores de MDA y de 8-oxo-dG al año de la intervención quirúrgica se acercaron más si cabe a los del grupo control.

Kocael ⁽³⁰⁰⁾ también presenta una reducción de los valores de 8-oxo-dG tanto en suero como en orina en 20 obesos mórbidos a los 6 meses de realizarles cirugía bariátrica mediante la colocación de Banda Gástrica Ajustable por Laparoscopia, junto con una reducción de peso e IMC.

Como hemos comentado anteriormente, la 8-oxo-dG urinaria ha sido propuesta como un potencial marcador tumoral en otras patologías degenerativas, concretamente en el cáncer gástrico. Nuestros resultados actuales sugieren que los subproductos de EO también pueden ser útiles como marcadores clínicos en obesidad y en sus complicaciones asociadas.

En nuestro estudio, el comportamiento de la 8-oxo-dG, tanto en sangre como en orina fue similar al del MDA, con correlación positiva baja (suero) y moderada (orina) con el peso e IMC, pero significativa ($p < 0,01$). Este descenso de los valores de la 8-oxo-dG a lo largo del estudio mostró significación estadística entre el valor basal y el de los distintos periodos, pudiéndose interpretarse este descenso como un ulterior índice de mejora del EO.

Como confirmación de estos resultados, están los que publican Davi y colaboradores ⁽³⁰¹⁾ quienes comparando la 8-oxo-dG urinaria en mujeres obesas con sujetos control, señalan niveles más elevados en el grupo obeso, que se redujeron significativamente tras la pérdida de peso. Otro trabajo, del año 2004, también concluye que los cambios ponderales por la pérdida de peso, se correlacionan con los cambios en la excreción urinaria de 8-oxo-dG, sugiriendo que el consumo de oxígeno y los cambios en la composición corporal están relacionados positivamente con este marcador de daño oxidativo ⁽³⁰²⁾.

Nuestros resultados confirman los objetivos planteados, de modo que confirmamos la importante y significativa presencia del EO en los pacientes obesos mórbidos y su disminución o “normalización” al alcanzar valores iguales a los de población sana. Esta relación parece indicar que la pérdida o disminución de tejido adiposo conlleva la desaparición o disminución del proceso inflamatorio crónico que se genera y mantiene en el mismo y por tanto la disminución del EO presente en ellos, lo cual queda confirmado mediante la valoración de sus metabolitos y defensas antioxidantes.

Esto mismo parece confirmarse en algunos trabajos publicados y que de algún modo tienen en su estudio objetivos concordantes con los nuestros como es la asociación entre los cambios del EO con la pérdida de peso.

Es el caso de un trabajo publicado por un grupo de la Escuela Pública de Salud de Harvard, que valora a 11 enfermos obesos antes y un año después de realizarles *by-pass* gástrico y que concluye que el proceso oxidativo está presente en los tejidos hepático, músculo esquelético y adiposo de las personas obesas, que los marcadores de EO disminuyen significativamente con la pérdida de peso y la mejora del metabolismo y que por lo tanto, esto sugiere la posibilidad de una relación entre la obesidad, el estrés oxidativo y las disfunciones metabólicas asociados. Sin embargo, los mecanismos concretos y exactos aún se desconocen⁽³⁰³⁾.

Otro estudio sobre pacientes obesos sometidos a cirugía bariátrica encuentra los marcadores de EO que utilizan disminuyen de manera significativa con sólo una pérdida de un 20% o más del IMC inicial, por lo que también ratifican que la pérdida de peso

resuelve o mejora la inflamación de bajo grado que se asocia con la obesidad ⁽³⁰⁴⁾.

Por último, mencionar el trabajo de Laimer, que utiliza la PCR como marcador de inflamación relacionada con el EO, y que también llega a la misma conclusión ⁽³⁰⁵⁾.

V.9. COMENTARIO FINAL

La técnica de la GVL es, en nuestra opinión, una técnica bariátrica que cumple con su objetivo de obtener una pérdida de peso suficiente y aceptable; que cumple con los parámetros mínimos exigidos a una técnica quirúrgica para ser considerada idónea como tratamiento primario y definitivo en el tratamiento de la obesidad mórbida; que confiere al paciente una buena calidad de vida tras la intervención, sin los inconvenientes que conllevan otras técnicas quirúrgicas, y fundamentalmente que presenta una escasa morbimortalidad al mismo tiempo que soluciona o mejora las comorbilidades asociadas, presentando a largo plazo en el postoperatorio, escasas o nulas complicaciones metabólicas.

En cuanto al estudio del EO en estos pacientes mediante el estudio de metabolitos específicos, hemos evidenciado un nivel más elevado de los mismos que el que hemos obtenido en el grupo control, mostrando esta diferencia una gran significación estadística ($p < 0,001$).

Nosotros hemos utilizado en este estudio, tanto parámetros de metabolitos de oxidación molecular, como de defensa antioxidante, en total 10 parámetros que valoran el EO de una manera muy completa. Un estudio combinado tanto de subproductos de daño oxidativo como de actividad de enzimas antioxidante en muestras

biológicas de pacientes obesos mórbidos no había sido realizado con anterioridad. Por ello pensamos que los resultados obtenidos son muy indicativos de las conclusiones que hemos extraído.

No hemos podido identificar cuáles han sido los determinantes de la mejora del EO que hemos evidenciado en los pacientes obesos mórbidos que componen el grupo estudiado, aunque sí ha sido evidente su disminución, tras la cirugía con la pérdida de peso obtenida, respecto a los valores basales que presentaban previamente.

Es fácil, y parece lógico pensar, que la reducción del volumen de tejido adiposo que presentan los pacientes obesos mórbidos, ocasionado por la pérdida de peso que se consigue con la cirugía, conlleva una disminución del proceso inflamatorio crónico de baja intensidad presente en dicho tejido, lo que a su vez anula o atenúa el estrés oxidativo que ocasiona y mantiene dicha inflamación o que bien es desencadenada por él.

Al reducirse la presencia de EO en los obesos, se reduce una de las principales causas responsables de las diversas alteraciones metabólicas implicadas en las diferentes patologías (comorbilidades) que se asocian a la obesidad. Esto se ha evidenciado en nuestro estudio al comprobar como las comorbilidades que presentaban los pacientes han mejorado con la pérdida de peso, como esta pérdida se correlaciona con los metabolitos de EO y como estos se correlacionan también con los parámetros bioquímico-metabólicos que las caracterizan. La relación pérdida de peso, mejoría del EO, disminución de parámetros de riesgo cardiovascular y parámetros biológico-metabólicos es muy evidente.

Las correlaciones observadas entre la evolución de los valores de 8-oxo-dG urinaria y otros marcadores de EO a lo largo del estudio pone de relieve su utilidad como marcador para representar el estado real de EO. La correlación negativa observada entre ella y la CAT además apoya su gran utilidad, dado que cuando aumenta la CAT y por tanto mejora la capacidad antioxidante disminuye la 8-oxodG indicando una mejoría en el estado de EO.

En cuanto a la correlaciones positivas observadas entre la 8-oxo-dG urinaria y GSSG, MDA y 8-isoprostanos nos indica que la 8-oxo-dG en orina aumenta en concordancia con otros metabolitos de EO. En esta línea, la 8-oxo-dG en suero mostró una correlación positiva y significativa con MDA y 8-isoprostanos. Hemos hallado una significación estadística entre la 8-oxo-dG en orina y en suero, lo cual indica que sus niveles en orina son proporcionales a los que se obtienen en suero.

El estudio de la 8-oxo-dG nos parece muy importante ya que tanto en suero como en orina presentan correlación muy alta con el peso y la posterior evolución ponderal a lo largo del periodo de estudio, de forma que conforme los pacientes pierden peso, sus valores disminuyen. Asimismo hemos comprobado la correlación significativa existente entre estos metabolitos con la glucemia, insulina. Lo mismo ha ocurrido con los triglicéridos. Al mismo tiempo hemos comprobado la gran correlación existente entre la 8-oxo-dG en plasma y orina.

Todo ello nos hace ver que la determinación de estos marcadores puede ser suficiente para valorar el EO y la evolución metabólica de los obesos mórbidos.

Dado que la determinación en plasma y orina de la 8-oxo-dG presenta valores y estrecha correlación entre ellas, dada su fuerte correlación con el peso y valores metabólicos implicados en la obesidad mórbida, y dado que la determinación en orina es sencilla, inocua y fácil de recoger, es esta determinación la que deberemos emplear, dado la comodidad para el paciente y su fiabilidad en el resultado, como valoración del EO, sin necesidad de realizar las otras determinaciones del resto de metabolitos por nosotros estudiados.

Al mismo tiempo hemos comprobado que la determinación de estos metabolitos y del sistema antioxidante van relacionados con la mejora de los valores bioquímicos relacionado con el metabolismo y comorbilidades de estos pacientes, por lo que pueden ser un control, cómodo utilizar la determinación urinaria de la 8-oxo-dG, para tener un control más de la evolución de estos pacientes, sobre todo en cuanto a las comorbilidades que presenten.

VI. CONCLUSIONES

VI. CONCLUSIONES.

Dados los resultados obtenidos en el estudio efectuado podemos concluir:

1. El estrés oxidativo está presente de manera importante en los pacientes obesos mórbidos, con aumento significativo de los metabolitos producto de oxidación molecular y disminución de los sistemas antioxidantes en relación con los valores basales de una población sana.

2. La pérdida de peso obtenida en los pacientes obesos mórbidos con la cirugía bariátrica realizada (gastrectomía vertical laparoscópica) mejora el estrés oxidativo presente en ellos, con disminución de los valores de los metabolitos de oxidación molecular y aumento de los sistemas antioxidantes, hasta alcanzar los valores basales de una población sana.

3. La pérdida de peso obtenida en los pacientes obesos mórbidos con la cirugía bariátrica realizada (gastrectomía vertical laparoscópica) mejora las comorbilidades presentes en ellos.

4. El estudio de los valores de 8-oxo-deoxiguanosina, tanto en sangre como en orina, pone de relieve su utilidad como marcador para representar el estado real del estrés oxidativo.

5. El estudio de los valores de 8-oxo-deoxiguanosina, tanto en sangre como en orina, pone de relieve su utilidad como marcador para representar el estado real del estrés oxidativo y la valoración de la evolución clínica en estos pacientes.

VII. BIBLIOGRAFÍA

VII. BIBLIOGRAFÍA.

- 1 Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol.* 1997;82:291-5.
- 2 Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free radicals, antioxidants in disease and health. *Int J Biomed Sci.* 2008;4:89-96.
- 3 Valko M, Leibfritz D, Moncola J, Cronin MD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007; 39:44-84.
- 4 Schulz E, Wenzel P, Münzel T, Daiber A. Mitochondrial redox signaling: Interaction of mitochondrial reactive oxygen species with other sources of oxidative stress. *Antioxid. Redox Signal.* 2014;20:308-24.
- 5 Indo HP, Davidson M, Yen HC, Suenaga S, Tomita K, Nishii et al. Evidence of ROS generation by mitochondria in cells with impaired electron transport chain and mitochondrial DNA damage. *Mitochondrion.* 2007;7:106-18.
- 6 Alfadda AA, Sallam RM. Reactive oxygen species in health and disease. *J Biomed Biotechnol.* 2012;2012:936486.
- 7 Moldovan L, Moldovan NI. Oxygen free radicals and redox biology of organelles. *Histochem Cell Biol.* 2004;122:395-412.
- 8 Traber MG, Atkinson J. Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radic Biol Med.* 2007;43:4-15.
- 9 Traber MG, Stevens JF. Vitamins C and E: beneficial effects from a mechanistic perspective. *Free Radic Biol Med.* 2011; 51:1000-13.

- 10 Zhou R, Yazdi AS, Menu P, Tschopp J. A role for mitochondria in NLRP3 inflammasome activation. *Nature*. 2011; 469:221-5.
- 11 Szabó C, Ischiropoulos H, Radi R. Peroxynitrite: biochemistry, pathophysiology and development of therapeutics. *Nat Rev Drug Discov*. 2007;6:662-80.
- 12 Salvi A, Carrupt P, Tillement J, Testa B. Structural damage to proteins caused by free radicals: assessment, protection by antioxidants, and influence of protein binding. *Biochem Pharmacol*. 2001;61:1237-42.
- 13 Bonassi S, Au WW: Biomarkers in molecular epidemiology studies for health risk prediction. *Mutat Res*. 2002;511:73-86.
- 14 Dalle-Donne I, Rossi R, Giustarini D, Milzani A, Colombo R. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clin Chim Acta*. 2003;329:23-38.
- 15 Bo S, Gambino R, Guidi S, Silli B, Gentile L, Cassader M et al. Plasma nitrotyrosine levels, antioxidant vitamins and hyperglycaemia. *Diabetic Med*. 2005;22:1185-9.
- 16 Roberts LJ, Morrow JD. Measurement of F(2)-isoprostanes as an index of oxidative stress in vivo. *Free Radic Biol Med*. 2000;28:505-13.
- 17 Dorjgochoo T, Gao YT, Chow WH, Shu XO, Yang G, Cai Q et al. Major metabolite of F2-isoprostane in urine may be a more sensitive biomarker of oxidative stress than isoprostane itself. *Am J Clin Nutr*. 2012;96:405-14.

- 18 Gopaul NK, Halliwell B, Anggard EE. Measurement of plasma F2-isoprostanes as an index of lipid peroxidation does not appear to be confounded by diet. *Free Radic Res.* 2000;33:115-27.
- 19 Nourooz-Zadeh J, Cooper MB, Ziegler D, Betteridge DJ. Urinaria de 8-epi-PGF2alpha y sus productos de la beta-oxidación endógenos (2,3-dinor y 2,3-dinor-5,6-dihidro) como biomarcadores de estrés oxidativo total del cuerpo. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005;330:731-6.
- 20 Molphy Z, Slator C, Chatgillaloglu C, Kellet A. DNA oxidation profiles of copper phenantrene chemical nucleases. *Front Chem.* 2015;3:28. Doi: 10.3389/fchem.2015.00028.
- 21 Jones DP. Redox potential of GSH/GSSG couple: assay and biological significance. *Methods Enzymol.* 2002;348:93-112.
- 22 Feeney CJ, Frantseva MV, Carlen PL, Pennefather PS, Shulyakova N, Shniffer C et al. Vulnerability of glial cells to hydrogen peroxide in cultured hippocampal slices. *Brain Res.* 2008;1198:1-15.
- 23 Ehrlich D, Hochstrasser T, Humpel C. Effects of oxidative stress on amyloid precursor protein processing in rat and human platelets. *Platelets.* 2013;24:26-36.
- 24 Cirulli ET, Lasseigne BN, Petrovski S, Sapp PC, Dion PA, Leblond CS et al. Exome sequencing in amyotrophic lateral sclerosis identifies risk genes and pathways. *Science.* 2015;347:1436-41.

- 25 Ming X, Stein TP, Brimacombe M, Johnson WG, Lambert GH, Wagner GC. Increased excretion of a lipid peroxidation biomarker in autism. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2005;73:379-84.
- 26 Ghanizadeh A, Akhondzadeh S, Hormozi M, Makarem A, Abotorabi-Zarchi M, Firoozabadi A. Glutathione-related factors and oxidative stress in autism, a review. *Curr Med Chem*. 2012;19:4000-5.
- 27 Lee R, Margaritis M, Channon KM, Antoniadou C. Evaluating oxidative stress in human cardiovascular disease: methodological aspects and considerations. *Curr Med Chem*. 2012;19:2504-20.
- 28 Stocker R, Keaney JF Jr. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol Rev*. 2004;84:1381-1478.
- 29 Bhattacharyya A, Chattopadhyay R, Mitra S, Crowe SE. Oxidative Stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. *Physiol Rev*. 2014;94:329-54.
- 30 Hatem E, Azzi S. Oxidative Stress in carcinogenesis and therapy. *J Cell Signal*. 2015;1:102. doi:10.4172/jcs.1000102.
- 31 Cerdá C, Sánchez C, Climent B, Vázquez A, Iradi A, El Amrani F, et al. Oxidative stress and DNA damage in obesity-related tumorigenesis. *Adv Exp Med Biol*. 2014;824:5-17.
- 32 Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. IDF Epidemiology Task Force Consensus Group. The metabolic syndrome: a new worldwide definition. *Lancet*. 2005;366:1059-62.

- 33 Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: An American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute scientific statement. *Curr Opin Cardiol.* 2006;21:1-6.
- 34 Sabio G, Das M, Mora A, Zhang Z, Jun JY, Ko HJ et al. A stress signalling pathway in adipose tissue regulates hepatic insulin resistance. *Science.* 2008;322:1539-43.
- 35 Ford ES, Giles WH, Dietz WH. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA.* 2002;287:356-59.
- 36 Reilly MP, Rader DJ. The metabolic syndrome: more than the sum of its parts? *Circulation.* 2003;108:1546-51.
- 37 Salazar MR, Carbajal HA, Espeche WG, Dulbecco CA, Aizpurúa M, Marillet AG et al. Relationships among insulin resistance, obesity, diagnosis of the metabolic syndrome and cardio-metabolic risk. *Diab Vasc Dis Res.* 2011;8:109-16.
- 38 Laclaustra M, Corella D, Ordovas JM. Metabolic syndrome pathophysiology: the role of adipose tissue. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2007;17:125-39.
- 39 Maddux BA, See W, Lawrence JC Jr, Goldfine AL, Goldfine ID, Evans JL. Protection against oxidative stress-induced insulin resistance in rat L6 muscle cells by micromolar concentrations of alpha-lipoic acid. *Diabetes.* 2001;50:404-10.

- 40 Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact in metabolic syndrome J Clin Invest. 2004;114: 1752-61.
- 41 Paneni F, Costantino S, Cosentino F. Insulin resistance, diabetes, and cardiovascular risk. Curr Atheroscler Rep. 2014;16:419-27.
- 42 Paneni F, Costantino S, Cosentino F. Role of oxidative stress in endothelial insulin resistance. World J Diabetes. 2015;6:326-32.
- 43 Rother KL. Diabetes treatment-bridging the divide. N Engl J Med. 2007;356:1499-1501.
- 44 Pi J, Bai Y, Zhang Q, Wong V, Floering LM, Daniel K et al. Reactive oxygen species as a signal in glucose-stimulated insulin secretion. Diabetes. 2007;56:1783-91.
- 45 Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad (SEEDO) Consenso español 1995 para la evaluación de la obesidad y para la realización de estudios epidemiológicos. Med Clin (Barc). 1996;107:782-87.
- 46 Renquist K. Obesity classification. Obes Surg. 1998;8:480. Corregido y publicado: Renquist K. Obesity classification. Obes Surg. 1998;8:480.
- 47 Aranceta J, Pérez C, Serra LI, Ribas L, Quiles J, Vioque J et al. Grupo colaborativo para el Estudio de la Obesidad en España. Prevalencia de la obesidad en España: resultados del estudio SEEDO 2000. Medicina Clínica (Barc). 2003;120:608-12.

- 48 Salas-Salvadó J, Rubio MA, Barbany M, Moreno MB y grupo colaborativo SEEDO. Consenso SEEDO 2007 para la evaluación del sobrepeso y la obesidad y el establecimiento de criterios de intervención terapéutica. *Med Clin (Barc)*. 2007;128:184-96.
- 49 Aikenhead, T. Lobstein, C. Knai. Review of current guidelines on adolescent bariatric surgery. *Clinical obesity*. 2011;1:3-11.
- 50 Basterra-Gortari FJ, Bes-Rastrollo M, Seguí-Gómez M, Forga L, Martínez JA, Martínez-González MA. Tendencias de la obesidad, diabetes mellitus, hipertensión e hipercolesterolemia en España (1997-2003). *Med Clin (Barc)*. 2007;129:405-8.
- 51 Basterra-Gortari FJ, Beunza JJ, Bes-Rastrollo M, Toledo E, García-López M, Martínez-González MA. Tendencia creciente de la prevalencia de obesidad mórbida en España: de 1,8 a 6,1 por mil en 14 años. *Rev Esp Cardiol*. 2011;64:424–6.
- 52 Aranceta J, Pérez-Rodrigo C, Serra-Majem L, Ribas L, Quiles-Izquierdo J, Vioque J et al. Spanish Collaborative Group for the Study of Obesity. Influence of sociodemographic factors in the prevalence of obesity in Spain. The SEEDO'97 Study. *Eur J Clin Nutrition*. 2001;55:430-35.
- 53 Mokdad AH, Ford ES, Bowman BA, Dietz WH, Vinicor F, Bales VS et al. Prevalence of obesity, diabetes, and obesity-related health risk factors, 2001. *JAMA*. 2003;289:76-9.
- 54 McTigue K, Larson JC, Valoski A, Burke G, Kotchen J, Lewis C et al. Mortality and cardiac and vascular outcomes in extremely obese women. *JAMA*. 2006;296:79-86.

- 55 Banegas JR, López-García E, Gutiérrez-Fisac JL, Guallar-Castillón J, Rodríguez-Artalejo F. A simple estimate of mortality attributable to excess weight in the European Union. *Eur J Clin Nutr.* 2003;57:201-8.
- 56 Oliva J, González L, Labeaga JM, Álvarez C. Salud pública, economía y obesidad: el bueno, el feo y el malo. *Gac Sanit.* 2008;22:507-10.
- 57 Finkelstein EA, Fiebelkorn IC, Wang G. National medical spending attributable to overweight and obesity: how much, and who's paying? *Health Aff (Millwood).* 2003; Suppl Web Exclusives: W3-219-26.
- 58 Rafacho A, Gonçalves-Neto LM, Santos-Silva JC, Alonso-Magdalena P, Merino B, Taboga SR et al. Pancreatic alpha-cell dysfunction contributes to the disruption of glucose homeostasis and compensatory insulin hypersecretion in glucocorticoid-treated rats. *PLoS ONE* 9(4): e93531. doi:10.1371/journal.pone.0093531.
- 59 Considine RV. Increased serum leptin indicates leptin resistance in obesity. *Clin Chem.* 2011;57:1461-2.
- 60 Jéquier E. Leptin signaling, adiposity, and energy balance. *Ann N Y Acad Sci.* 2002;967:379-88.
- 61 Farooqi IS, Keogh JM, Yeo GS, Lank EJ, Cheetham T, O'Rahilly S. Clinical spectrum of obesity and mutations in the melanocortin 4 receptor gene. *N Engl J Med.* 2003;348:1085-95.

- 62 Szendrei B, González-Lamuño D, Amigo T, Wang G, Pitsiladis Y, Benito PJ et al. PRONAF Study Group. Influence of ADRB2 Gln27Glu and ADRB3 Trp64Arg polymorphisms on body weight and body composition changes after a controlled weight-loss intervention. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2016;41:307-14.
- 63 Rankinen T, Zuberi A, Chagnon YC, Weisnagel SJ, Argyropoulos G, Walts B et al. The human obesity gene map. The 2005 update. *Obesity (Silver Spring)*. 2006;14:529-644.
- 64 Sweeney TE, Morton JM. The human gut microbiome. A review of the effect of obesity and surgically induced weight loss. *JAMA. Surg*. 2013;148:563-69.
- 65 Poirier P, Giles TD, Bray GA, Hong Y, Stern JS, Pi-Sunyer FX et al. American Heart Association; Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss: an update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on Obesity and Heart Disease from the Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. *Circulation*. 2006;113: 898-918.
- 66 Tobias DK, Pan A, Jackson CL, O'Reilly EJ, Ding EL, Willett WC et al. Body-mass index and mortality among adults with incident type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2014;370: 233-44.
- 67 Flegal KM, Kit BK, Orpana H, Graubard BI. Association of all-cause mortality with overweight and obesity using standard body mass index categories: a systematic review and meta-analysis. *JAMA*. 2013;309:71-82.

- 68 Schroeder R, Harrison TD, McGraw SL. Treatment of Adult Obesity with Bariatric Surgery. Am Fam Physician. 2016;93:31-7.
- 69 Guh DP, Zhang W, Bansback N, Amarsi Z, Birmingham CL, Anis AH. The incidence of co-morbidities related to obesity and overweight: a systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health*. 2009; 9: 88. Doi: 10.1186/1471-2458-9-88.
- 70 de Vries AP, Ruggenenti P, Ruan XZ, Praga M, Cruzado JM, Bajema IM et al. ERA-EDTA Working Group Diabetes. Fatty kidney: emerging role of ectopic lipid in obesity-related renal disease. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2014;2:417-26.
- 71 Doll S, Paccaud F, Bovet P, Burnier M, Wietlisbach V. Body mass index, abdominal adiposity and blood pressure: consistency of their association across developing and developed countries. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2002;26:48-57.
- 72 Bray GA. Risks of obesity. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2003;32:787-804.
- 73 Kenchaiah S, Evans JC, Levy D, Wilson PW, Benjamin EJ, Larson MG et al. Obesity and the risk of heart failure. *N Engl J Med*. 2002;347:305-13.
- 74 Talayero B, Wang L, Furtado J, Carey VJ, Bray GA, Sacks FM. Obesity favors apolipoprotein E- and C-III-containing high density lipoprotein subfractions associated with risk of heart disease. *J Lipid Res*. 2014;55: 2167-77.

- 75 Billington CJ, Epstein LH, Goodwin NJ, Hill JO, Pi-Sunyer FX, Rolls BJ et al. Overweight, obesity and health risk. National Task Force on the Prevention and Treatment of Obesity. *Arch Intern Med.* 2000;160:898-904.
- 76 Schienkiewitz A, Schulze MB, Hoffmann K, Kroke A, Boeing H. Body mass index history and risk of type 2 diabetes: results from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam Study. *Am J Clin Nutr.* 2006;84:427-33.
- 77 Meisinger C, Döring A, Thorand B, Heier M, Löwel H. Body fat distribution and risk of type 2 diabetes in the general population: are there differences between men and women? The MONICA/KORA Augsburg cohort study. *Am J Clin Nutr.* 2006;84:483-9.
- 78 Duvigneaud N, Wijndaele K, Matton L, Philippaerts R, Lefevre J, Thomis M et al. Dietary factors associated with obesity indicators and level of sports participation in Flemish adults: a cross-sectional study. *Nutr J.* 2007;6:26. Doi: 10.1186/1475-2891-6-26.
- 79 Busetto L, Sbraccia P, Frittitta L, Pontiroli AE. The growing role of bariatric surgery in the management of type 2 diabetes: evidences and open questions. *Obes Surg.* 2011;21:1451-57.
- 80 Maggio CA, Pi-Sunyer FX. Obesity and type 2 diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2003;32:805-22.
- 81 Hainer V, Toplak H, Mitrakou A. Treatment modalities of obesity: what fits whom?. *Diabetes Care.* 2008;31:S269-77.

- 82 Fabbrini E, Magkos F. Hepatic Steatosis as a Marker of Metabolic Dysfunction. Nutrients. 2015;7:4995-5019.
- 83 Bergström A, Pisani P, Tenet V, Wolk A, Adami HO. Overweight as an avoidable cause of cancer in Europe. *Int J Cancer*. 2001;91:421-30.
- 84 Friedenreich C, Cust A, Lahmann PH, Steindorf K, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F et al. Anthropometric factors and risk of endometrial cancer: the European prospective investigation into cancer and nutrition. *Cancer Causes Control*. 2007;18:399-413.
- 85 Morimoto LM, White E, Chen Z, Chlebowski RT, Hays J, Kuller L et al. Obesity, body size, and risk of postmenopausal breast cancer: the Women's Health Initiative (United States). *Cancer Causes Control*. 2002;13:741-51.
- 86 Wang J, Yang DL, Chen ZZ, Gou BF. Associations of body mass index with cancer incidence among populations, genders, and menopausal status: A systematic review and meta-analysis. *Cancer Epidemiol*. 2016;42:1-8.
- 87 Ritchie SA, Connell JM. The link between abdominal obesity, metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2007;17:319-326.
- 88 Cheng C, Daskalakis C. Association of adipokines with insulin resistance, microvascular dysfunction, and endothelial dysfunction in healthy young adults. *Mediators Inflamm*. 2015; 2015: 594039. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/594039>.

- 89 Giles TD, Sander GE, Nossaman BD, Kadowitz PJ. Impaired vasodilation in the pathogenesis of hypertension: focus on nitric oxide, endothelial-derived hyperpolarizing factors, and prostaglandins. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2012;14:198-205.
- 90 De Ciuceis C, Porteri E, Rizzoni D, Corbellini C, La Boria E, Boari GE et al. Effects of weight loss on structural and functional alterations of subcutaneous small arteries in obese patients. *Hypertension*. 2011;58:29-36.
- 91 Gustafson B. Adipose tissue, inflammation and atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb*. 2010;17:332-41.
- 92 Siervo M, Bluck LJ. In vivo nitric oxide synthesis, insulin sensitivity, and asymmetric dimethylarginine in obese subjects without and with metabolic syndrome. *Metabolism*. 2012; 61:680-8.
- 93 Passali D, Corallo G, Yaremchuk S, Longini M, Proietti F, Passali GC et al. Oxidative stress in patients with obstructive sleep apnoea syndrome. *Acta Otorhinolaryngol Ital*. 2015;35:420-25.
- 94 Yaggi HK, Strohl KP. Adult obstructive sleep apnea/ hypopnea syndrome: definitions, risk factors, and pathogenesis. *Clin Chest Med*. 2010;31:179-86.
- 95 Tanne D, Medalie JH, Goldbourt U. Body fat distribution and long-term risk of stroke mortality. *Stroke*. 2005;36:1021-1025.

- 96 Manson JE, Skerrett PJ, Willett WC. Obesity as a risk factor for major health outcomes. En: Bray GA, Bouchard C, editors. Hand-book of Obesity. New York: Marcel Dekker, 2003; pp: 813-23.
- 97 Hikita M, Ohno I, Mori Y, Ichida K, Yokose T, Hosoya T. Relationship between hyperuricemia and body fat distribution. Intern Med. 2007;46:1353-8.
- 98 Wilkes S, Murdoch A. Obesity and female fertility: a primary care perspective. J Fam Plann Reprod Health Care. 2009;35:181-5.
- 99 Papalou O, Victor VM, Diamanti-Kandarakis E. Oxidative stress in polycystic ovary syndrome. Curr Pharm Des. 2016;22: 2709-22.
- 100 Pasquali R, Gambineri A, Pagotto U. The impact of obesity on reproduction in women with polycystic ovary syndrome. BJOG. 2006;113:1148-59.
- 101 The Look AHEAD Research Group. Pi-Sunyer X, Blackburn G, Brancati FL, Bray GA, Bright R, Clark JM et al. Reduction in weight and cardiovascular disease risk factors in individuals with type 2 diabetes: one-year results of the look AHEAD trial. Diabetes Care. 2007;30:1374-83.
- 102 Rubio MA, Gargallo M, Isabel Millán A, Moreno B. Drugs in the treatment of obesity: sibutramine, orlistat and rimonabant. Public Health Nutr. 2007;10:1200-5.

- 103 Yanovski S Z, Yanovski J A. Long-term Drug Treatment for Obesity: A Systematic and Clinical Review. JAMA. 2014;311:74-86.
- 104 Colman E, Golden J, Roberts M, Egan A, Weaver J, Rosebraugh C. The FDA's assessment of two drugs for chronic weight management. The New England Journal of Medicine. 2012;367:1577-79.
- 105 Sjöström L, Narbro K, Sjöström CD, Karason K, Larsson B, Wedel H et al. Swedish Obese Subjects Study. Effects of bariatric surgery on mortality in Swedish obese subjects. N Engl J Med. 2007; 357: 741-752. Revisado en J Intern Med. 2013;273:219-34.
- 106 Dodsworth A, Warren-Forward H, Baines S. Changes in eating behavior after laparoscopic adjustable gastric banding: a systematic review of the literature. Obes Surg. 2010;20:1579-93.
- 107 Nguyen NQ, Game P, Bessell J, Debreceni TL, Neo M, Burgstad CM et al. Outcomes of Roux-en-Y gastric bypass and laparoscopic adjustable gastric banding. World J Gastroenterol. 2013;19:6035-43.
- 108 Cottam D, Qureshi FG, Mattar SG, Sharma S, Holover S, Bonanomi G et al. Laparoscopic sleeve gastrectomy as an initial weight-loss procedure for high-risk patients with morbid obesity. Surg Endosc. 2006;20: 859-63.
- 109 Brethauer SA. Sleeve gastrectomy. Surg Clin North Am. 2011;91:1265-79.

- 110 Shi X, Karmali S, Sharma AM, Birch DW. A review of laparoscopic sleeve gastrectomy for morbid obesity. *Obes Surg*. 2010;20:1171-77.
- 111 Eid GM, Brethauer S, Mattar SG, Titchner RL, Gourash W, Schauer PR. Laparoscopic sleeve gastrectomy for super obese patients: Forty-eight percent excess weight loss after 6 to 8 years with 93% follow-up. *Ann Surg*. 2012;256:262-65.
- 112 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;20:535-40.
- 113 Dumon KR, Murayama KM. Bariatric surgery outcomes. *Surg Clin North Am*. 2011;91:1313-38.
- 114 Puzziferri N, Roshek TB 3rd, Mayo HG, Gallagher R, Belle SH, Livingston EH. Long-term follow-up after bariatric surgery: a systematic review. *JAMA*. 2014;312:934-42.
- 115 Colquitt JL, Picot J, Loveman E, Clegg AJ. Surgery for obesity. *Cochrane Database Syst Rev*. 2009;2:CD003641.
- 116 Mehaffey JH, LaPar DJ, Clement KC, Turrentine FE, Miller MS, Hallowell PT et al. 10-Year Outcomes After Roux-en-Y Gastric Bypass. *Ann Surg*. 2016;264:121-6.
- 117 Obeid NR, Malick W, Concors SJ, Fielding GA, Kurian MS, Ren-Fielding CJ. Long-term outcomes after Roux-en-Y gastric bypass: 10- to 13-year data. *Surg Obes Relat Dis*. 2016;12:11-20.

- 118 Rico MG, Vega GB. New trends in macrophages, inflammation and adipose tissue. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2012;50:39-45.
- 119 Fernández A, Madrigal E, Bautista M.; Esquivel J, Morales A, Esquivel C e al. Inflammation, oxidative stress, and obesity. *Int J Mol Sci.* 2011;12:3117-32.
- 120 Li S, Shin HJ, Ding EL, van Dam RM. Adiponectin levels and risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *JAMA.* 2009;302:179-88.
- 121 De Taeye, B, Smith LH, Vaughan DE. Plasminogen activator inhibitor-1: a common denominator in obesity, diabetes and cardiovascular disease. *Curr Opin Pharmacol.* 2005;5:149-54.
- 122 Chen B, Lam KS, Wang Y, Wu D, Lam MC, Shen J et al. Hypoxia dysregulates the production of adiponectin and plasminogen activator inhibitor-1 independent of reactive oxygen species in adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006;341:549-56.
- 123 Sánchez F, García R, Alarcón F, Cruz M. Adipocitokines, adipose tissue and its relationship with immune system cells. *Gac Méd Méx.* 2005;141: 505-12.
- 124 Stienstra R, Tack CJ, Kanneganti TD, Joosten LA, Netea MG. The inflammasome puts obesity in the danger zone. *Cell Metab.* 2012;15:10-8.
- 125 Lastra G, Manrique CM, Hayden MR. The role of beta-cell dysfunction in the cardiometabolic syndrome. *J Cardiometab Syndr.* 2006;1:41-6.

- 126 Stenlöf K, Wernstedt I, Fjällman T, Wallenius V, Wallenius K, Jansson JO. Interleukin-6 levels in the central nervous system are negatively correlated with fat mass in overweight/obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88:4379-83.
- 127 Curti ML, Jacob P, Borges MC, Rogero MC, Ferreira SR. Studies of gene variants related to inflammation, oxidative stress, dyslipidemia, and obesity: Implications for a nutrigenetic approach. *J. Obes.* 2011;2011:497401. Doi:10.1155/2011/497401.
- 128 Fonseca-Alaniz MH, Takada J, Alonso-Vale M, Lima FB. Adipose tissue as an endocrine organ: from theory to practice. *J. Pediatr (Rio J).* 2007;83:S192-S203.
- 129 Dulloo AG, Jacquet J, Solinas G, Montani JP, Schutz Y. Body composition phenotypes in pathways to obesity and the metabolic syndrome. *Int. J. Obes (Lond).* 2010;34:S4-S17.
- 130 Fantuzzi G, Faggioni R. Leptin in the regulation of immunity, inflammation, and haematopoiesis. *J Leukoc Biol.* 2000;68:437-46.
- 131 Ouedraogo R, Gong Y, Berzins B, Wu X, Mahadev K, Hough K ET AL. Adiponectin deficiency increases leukocyte-endothelium interactions via upregulation of endothelial cell adhesion molecules in vivo. *J Clin Invest.* 2007;117:1718-26.

- 132 Gottschling-Zeller H, Birgel M, Rohrig K, Hauner H. Effect of tumor necrosis factor alpha and transforming growth factor beta 1 on plasminogen activator inhibitor-1 secretion from subcutaneous and omental human fat cells in suspension culture. *Metabolism*. 2000;49:666-71.
- 133 To M, Takagi D, Akashi K, Kano I, Haruki K, Barnes PJ et al. Sputum plasminogen activator inhibitor-1 elevation by oxidative stress-dependent nuclear factor- κ B activation in COPD. *Chest*. 2013;144:515-21.
- 134 Chen C, Jiang J, Lü JM, Chai H, Wang X, Lin PH et al. Resistin decreases expression of endothelial nitric oxide synthase through oxidative stress in human coronary artery endothelial cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2010;299:193-201.
- 135 Rzheshhevsky AV. Fatal "triad": lipotoxicity, oxidative stress, and phenoptosis. *Biochemistry*. 2013;78:991-1000.
- 136 Goossens GH. The role of adipose tissue dysfunction in the pathogenesis of obesity-related insulin resistance. *Physiol Behav*. 2008;94:206-18.
- 137 Block G, Dietrich M, Norkus EP, Morrow JD, Hudes M, Caan B et al. Factors associated with oxidative stress in human populations. *Am. J. Epidemiol*. 2002;156:274-85.
- 138 Pihl E, Zilmer K, Kullisaar T, Kairane C, Mägi A, Zilmer M. Atherogenic inflammatory and oxidative stress markers in relation to overweight values in male former athletes. *Int J Obes (Lond)*. 2006;30:141-46.

- 139 Huang CJ, McAllister MJ, Slusher AL, Webb HE, Mock JT, Acevedo EO. Obesity-Related Oxidative Stress: the Impact of Physical Activity and Diet Manipulation. *Sports Medicine Open*. 2015;1:32. doi:10.1186/s40798-015-0031-y.
- 140 Rubio MA, Matínez C, Vidal O, Larrad A, Salas-Salvadó J, Pujol J et al, Documento de consenso sobre cirugía bariátrica. *Rev Esp Obes*. 2004;4:223-49.
- 141 Reinhold RB. Critical analysis of long-term weight loss following gastric bypass. *Surg Gynecol Obstet*. 1982;155:385-94.
- 142 Oria HE, Moorehead MK. Bariatric analysis and reporting outcome system (BAROS). *Obes Surg*. 1998;8:487-99.
- 143 Kasai H, Kawai K, Li YS. Analysis of 8-OH- dG and 8-OH-Gua as biomarkers of oxidative stress. *Genes Environ*. 2008;30:33-40.
- 144 Espinosa O, Gímenez-Almazán J, Chaves FJ, Tormos MC, Clapes S, Iradi A et al. Urinary 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine (8-oxo-dG), a reliable oxidative stress marker in hipertension. *Free Radic Res*. 2007;41:546-54.
- 145 Markwell MA, Haas SM, Bieber SL, Tolbert NE. A modification of the Lowry procedure to simplify protein determination in membrane and lipoprotein samples. *Annal Biochem*. 1978;87:206-10.
- 146 Schroeder R, Harrison TD, McGraw SL. Treatment of adult obesity with bariatric surgery. *Am Fam Physician*. 2016;93:31-7.

- 147 Gómez-Ambrosi J, Silva C, Catalán V, Rodríguez A, Galofré JC, Escalada J et al. Clinical usefulness of a new equation for estimating body fat. *Diabetes Care*. 2012;35:383-88.
- 148 Regan JP, Inabnet WB, Gagner M, Pomp A. Early experience with two-stage laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass as an alternative in the super-super obese patient. *Obes Surg*. 2003;13:861-64.
- 149 Iannelli A, Schneck AS, Dahman M, Negri C, Gugenheim J. Two-step laparoscopic duodenal switch for superobesity: A feasibility study. *Surg Endosc Other Interv Tech*. 2009;23:2385-89.
- 150 Deitel M, Crosby RD, Gagner M. The First International Consensus Summit for Sleeve Gastrectomy (SG), New York City, October 25-27, 2007. *Obes Surg*. 2008;18:487-96.
- 151 Updated position statement on sleeve gastrectomy as a bariatric procedure. ASMBS Clinical Issues Committee. *Surg Obes Relat Dis*. 2012;8:e21-6.
- 152 Angrisani L, Santonicola A, Iovino P, Formisano G, Buchwald H, Scopinaro N. Bariatric Surgery Worldwide 2013. *Obes Surg*. 2015;25:1822-32.
- 153 Buchwald H, Oien DM. Metabolic/bariatric surgery worldwide 2011. *Obes Surg*. 2013;23:427-36.

- 154 Li RA, Fisher DP, Dutta S, O'Brien RM, Ackerson LM, Sorel ME et al. Bariatric surgery results: reporting clinical characteristics and adverse outcomes from an integrated healthcare delivery system. *Surg Obes Relat Dis.* 2015;11:1119-25.
- 155 Zellmer JD, Mathiason MA, Kallies KJ, Kothari SN. Is laparoscopic sleeve gastrectomy a lower risk bariatric procedure compared with laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass? A meta-analysis. *Am J Surg.* 2014;208:903-10; discussion 909-10.
- 156 Helmiö M, Victorzon M, Ovaska J, Leivonen M, Juuti A, Jaser N et al. SLEEVEPASS: a randomised prospective multicenter study comparing laparoscopic sleeve gastrectomy and gastric bypass in the treatment of morbid obesity: preliminary results. *Surg Endosc.* 2012;26:2521-26.
- 157 Franco JV, Ruiz PA, Palermo M, Gagner M. A review of studies comparing three laparoscopic procedures in bariatric surgery: sleeve gastrectomy, Roux-en-Y gastric bypass and adjustable gastric banding. *Obes Surg.* 2011; 21:1458-68.
- 158 Gastrointestinal surgery for severe obesity: National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement. *Am J Clin Nutr.* 1992;55:615S-19S.
- 159 Mason EE, Amaral J, Cowan Jr GSM, Deitel M, Gleysteen JJ, Oria HE. Standards for Reporting Results. *Obes Surg.* 1994;4:56-65.

- 160 Eisenberg D, Bellatorre A, Bellatorre N. Sleeve gastrectomy as a stand-alone bariatric operation for severe, morbid, and super obesity. *JLS*. 2013;17:63-7.
- 161 Diamantis T, Apostolou KG, Alexandrou A, Griniatsos J, Felekouras E, Tsigris C. Review of long-term weight loss results after laparoscopic sleeve gastrectomy. *Surg Obes Relat Dis*. 2014;10:177-83.
- 162 Seki Y, Kasama K, Hashimoto K. Long-Term Outcome of Laparoscopic Sleeve Gastrectomy in Morbidly Obese Japanese Patients. *Obes Surg*. 2016;26:138-45.
- 163 Pok EH, Lee WJ, Ser KH, Chen JC, Chen SC, Tsou JJ et al. Laparoscopic sleeve gastrectomy in Asia: Long term outcome and revisional surgery. *Asian J Surg*. 2016;39:21-8.
- 164 Sarkhosh K, Birch DW, Shi X, Gill RS, Karmali S. The impact of sleeve gastrectomy on hypertension: a systematic review. *Obes Surg*. 2012;22:832-37.
- 165 Del Genio G, Limongelli P, Del Genio F, Motta G, Docimo L, Testa D. Sleeve gastrectomy improves obstructive sleep apnea syndrome (OSAS): 5 year longitudinal study. *Surg Obes Relat Dis*. 2016;12:70-4.
- 166 Gagner M. Effect of sleeve gastrectomy on type 2 diabetes as an alternative to Roux-en-Y gastric bypass: a better long-term strategy. *Surg Obes Relat Dis*. 2015; 11:1280-1.

- 167 Cho JM, Kim HJ, Lo Menzo E, Park S, Szomstein S, Rosenthal RJ. Effect of sleeve gastrectomy on type 2 diabetes as an alternative treatment modality to Roux-en-Y gastric bypass: systemic review and meta-analysis. *Surg Obes Relat Dis.* 2015;11:1273-80.
- 168 Karamanakos SN, Vagenas K, Kalfarentzos F, Alexandrides TK. Weight loss, appetite suppression, and changes in fasting and postprandial ghrelin and peptide-YY levels after Roux-en-Y gastric bypass and sleeve gastrectomy: a prospective, double blind study. *Ann Surg.* 2008;247:401-7.
- 169 Peterli R, Wölnerhanssen B, Peters T, Devaux N, Kern B, Christoffel-Courtin C et al. Improvement in glucose metabolism after bariatric surgery: comparison of laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass and laparoscopic sleeve gastrectomy: a prospective randomized trial. *Ann Surg.* 2009;250:234-41.
- 170 Ferrer-Márquez M, Belda-Lozano R, Solvas-Salmerón MJ, Ferrer-Ayza M. Revisional surgery after laparoscopic sleeve gastrectomy. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech.* 2015;25: 6-9.
- 171 Lacy A, Ibarzabal A, Pando E, Adelsdorfer C, Delitala A, Corcelles R et al. Revisional surgery after sleeve gastrectomy. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech.* 2010;20:351-6.
- 172 Melissas J, Daskalakis M, Koukouraki S, Askoxylakis I, Metaxari M, Dimitriadis E et al. Sleeve gastrectomy-a “food limiting” operation. *Obes Surg.* 2008;18:1251-56.

- 173 Anderson B1, Switzer NJ, Almamar A, Shi X, Birch DW, Karmali S. The impact of laparoscopic sleeve gastrectomy on plasma ghrelin levels: a systematic review. *Obes Surg.* 2013;23:1476-80.
- 174 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;15:1024-29.
- 175 Saif T, Strain GW, Dakin G, Gagner M, Costa R, Pomp A. Evaluation of nutrient status after laparoscopic sleeve gastrectomy 1, 3, and 5 years after surgery. *Surg Obes Relat Dis.* 2012;8:542-47.
- 176 Livingston EH. Procedure, incidence and complication rates of bariatric surgery in the United States. *Am J Surg* 2004;188:105-10.
- 177 Sanchez-Santos R, Masdevall C, Baltasar A, Martínez-Blázquez C, García Ruiz de Gondejuela A, Ponsi E et al. Short- and midterm outcomes of sleeve gastrectomy for morbid obesity: the experience of the Spanish National Registry. *Obes Surg.* 2009;19:1203-10.
- 178 Sakran N, Raziell A, Goitein O, Szold A, Goitein D. Laparoscopic Sleeve Gastrectomy for Morbid Obesity in 3003 Patients: Results at a High-Volume Bariatric Center. *Obes Surg.* 2016; doi.10.1007/s11695-16-2063-x.

- 179 Trastulli S, Desiderio J, Guarino S, Ciocchi R, Scalercio V, Noya G et al. Laparoscopic sleeve gastrectomy compared with other bariatric surgical procedures: a systematic review of randomized trials. *Surg Obes Relat Dis.* 2013;9:816-29.
- 180 García-Díaz JJ, Ferrer-Márquez M, Moreno-Serrano A, Barreto-Rios R, Alarcón-Rodríguez R, Ferrer-Ayza M. Outcomes, controversies and gastric volume after laparoscopic sleeve gastrectomy in the treatment of obesity. *Cir Cir.* 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.circir.2015.10.013>.
- 181 Goitein D, Raziell A, Szold A, Sakran N. Assessment of perioperative complications following primary bariatric surgery according to the Clavien-Dindo classification: comparison of sleeve gastrectomy and Roux-Y gastric bypass. *Surg Endosc.* 2016;30:273-78.
- 182 Zhang Y, Wang J, Sun X, Cao Z, Xu X, Liu D et al. Laparoscopic sleeve gastrectomy versus laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass for morbid obesity and related comorbidities: a meta-analysis of 21 studies. *Obes Surg.* 2015;25:19-26.
- 183 Shah N, Greenberg JA, Levenson G, Statz AK, Jolles SA, Funk LM. Weight loss after bariatric surgery: a propensity score analysis. *J Surg Res.* 2016;202:449-54.
- 184 Moon RC, Kreimer F, Teixeira AF, Campos JM, Ferraz A, Jawad MA. Morbidity rates and weight loss after Roux-en-Y gastric bypass, sleeve gastrectomy and adjustable gastric banding in patients older than 60 years old: which procedure to choose?. *Obes Surg.* 2016;26:730-36.

- 185 Garofalo F, Denis R, Abouzahr O, Garneau P, Pescarus R, Atlas H. Fully Ambulatory Laparoscopic Sleeve Gastrectomy: 328 Consecutive Patients in a Single Tertiary Bariatric Center. *Obes Surg.* 2016;26:1429-35.
- 186 Himpens J, Cadiere G-B, Bazi M, Vouche M, Cadiere B, Dapri G. Long-term outcomes of laparoscopic adjustable gastric banding. *Arch Surg.* 2011;146 802-7.
- 187 Abdelbaki TN. An insight on the superior outcome of sleeve gastrectomy over gastric plication. *Surg Obes Relat Dis.* 2015;11:733-34.
- 188 Gastrointestinal Surgery for Severe Obesity. NIH Consensus Statement 1991 Mar 25-27; 9:1-20.
- 189 Lemaître F, Léger P, Nedelcu M, Nocca D. Laparoscopic sleeve gastrectomy in the South Pacific. Retrospective evaluation of 510 patients in a single institution. *Int J Surg.* 2016;30:1-6.
- 190 Ruiz-Tovar J, Martínez R, Bonete JM, Rico JM, Zubiaga L, Diez M et al. Grupo OBELCHE. Long-term Weight and Metabolic Effects of Laparoscopic Sleeve Gastrectomy Calibrated with a 50-Fr Bougie. *Obes Surg.* 2016;26:32-37.
- 191 Ching SS, Cheng AK, Kong LW, Lomanto D, So JB, Shabbir A. Early outcomes of laparoscopic sleeve gastrectomy in a multiethnic Asian cohort. *Surg Obes Relat Dis.* 2016;12:330-7.
- 192 Pok EH, Lee WJ, Ser KH, Chen JC, Chen SC, Tsou JJ et al. Laparoscopic sleeve gastrectomy in Asia: Long term outcome and revisional surgery. *Asian J Surg.* 2016;39:21-8.

- 193 Boza C, Daroch D, Barros D, León F, Funke R, Crovari F. Long-term outcomes of laparoscopic sleeve gastrectomy as a primary bariatric procedure. *Surg Obes Relat Dis.* 2014;10:1129-33.
- 194 Dakour Aridi H, Alami R, Tamim H, Shamseddine G, Fouani T, Safadi B. Long-term outcomes of laparoscopic sleeve gastrectomy: a Lebanese center experience. *Surg Obes Relat Dis.* 2015. doi: 10.1016/j.soard.2015.11.025.
- 195 Himpens J, Dobbela J, Peeters G. Long-term results of laparoscopic sleeve gastrectomy for obesity. *Ann Surg.*2010;252:319-24.
- 196 D'Hondt M, Vanneste S, Pottel H, Devriendt D, Van Rooy F, Vansteenkiste F. Laparoscopic sleeve gastrectomy as a single-stage procedure for the treatment of morbid obesity and the resulting quality of life, resolution of comorbidities, food tolerance, and 6-year weight loss. *Surg Endosc.* 2011;25: 2498-504.
- 197 Alvarenga ES, Lo Menzo E, Szomstein S, Rosenthal RJ. Safety and efficacy of 1020 consecutive laparoscopic sleeve gastrectomies performed as a primary treatment modality for morbid obesity. A single-center experience from the metabolic and bariatric surgical accreditation quality and improvement program. *Surg Endosc.* 2016;30:2673-78.
- 198 Park JY, Kim YJ. Laparoscopic gastric bypass vs sleeve gastrectomy in obese Korean patients. *World J Gastroenterol.* 2015;21:12612-19.

- 199 Serrano OK, Tannebaum JE, Cumella L, Choi J, Vemulapalli P, Scott Melvin W et al. Weight loss outcomes and complications from bariatric surgery in the super super obese. *Surg Endosc.* 2016;30:2505-11.
- 200 Alqahtani AR, Elahmedi MO, Al Qahtani A. Co-morbidity resolution in morbidly obese children and adolescents undergoing sleeve gastrectomy. *Surg Obes Relat Dis.* 2014;10:842-50.
- 201 Alqahtani AR1, Elahmedi MO. Pediatric bariatric surgery: the clinical pathway. *Obes Surg.* 2015;25:910-21.
- 202 Alqahtani AR, Elahmedi MO, Al Qahtani AR, Lee J, Butler MG. Laparoscopic sleeve gastrectomy in children and adolescents with Prader-Willi syndrome: a matched-control study. *Surg Obes Relat Dis.* 2016;12:100-10.
- 201 Ocón J, Pérez S, Gimeno S, Benito P, García R. Eficacia y complicaciones de la cirugía bariátrica en el tratamiento de la obesidad mórbida. *Nutr. Hosp.* 2005;20:409-14.
- 202 Buchwald H, Estok R, Fahrenbach K, Banel D, Jensen MD, Pories WJ et al. Weight and type 2 diabetes after bariatric surgery: systematic review and meta-analysis. *Am J Med.* 2009;122:248-56.
- 203 Maggard MA, Shugarman LR, Suttrop M, Maglione M, Sugerman HJ, Livingston EH et al. Meta-analysis: surgical treatment of obesity. *Ann Intern Med.* 2005;142:547-59.

- 204 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;273:219-34.
- 205 Perrone F, Bianciardi E, Benavoli D, Tognoni V, Niolu C, Siracusano A et al. Gender influence on long-term weight loss and comorbidities after laparoscopic sleeve gastrectomy and Roux-en-Y gastric bypass: a prospective study with a 5-year follow-up. *Obes Surg.* 2016;26: 276-81.
- 206 Parikh M, Ayoung-Chee P, Romanos E, Lewis N, Pachter HL, Fielding G et al. Comparison of rates of resolution of diabetes mellitus after gastric banding, gastric bypass, and biliopancreatic diversion. *J Am Coll Surg.* 2007;205:631-35.
- 207 Li J, Lai D, Wu D. Laparoscopic Roux-en-Y Gastric Bypass versus Laparoscopic Sleeve Gastrectomy to treat morbid obesity-related comorbidities: a systematic review and meta-analysis. *Obes Surg.* 2016;26:429-42.
- 208 Zhang C, Yuan Y, Qiu C, Zhang W. A meta-analysis of 2-year effect after surgery: laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass versus laparoscopic sleeve gastrectomy for morbid obesity and diabetes mellitus. *Obes Surg.* 2014;24:1528-35.
- 209 C, Alvarado J, Quezada N, Salinas J, Funke R, Boza C. Bariatric surgery in 1119 patients with preoperative body mass index < 35 (kg/m²): results at 1 year. *Surg Obes Relat Dis.* 2015;11:1127-32.

- 210 Li P, Fu P, Chen J, Wang LH, Wang DR. Laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass vs. laparoscopic sleeve gastrectomy for morbid obesity and diabetes mellitus: a meta-analysis of sixteen recent studies. *Hepatogastroenterology*. 2013;60:132-7.
- 211 Buchwald H, Avidor Y, Braunwald E, Jensen MD, Pories W, Fahrbach K et al. Bariatric surgery: a systematic review and meta-analysis. *JAMA*. 2004;292:1724-37.
- 212 D'Hondt M, Vanneste S, Pottel H, Devriendt D, Van Rooy F, Vansteenkiste F. Laparoscopic sleeve gastrectomy as a single-stage procedure for the treatment of morbid obesity and the resulting quality of life, resolution of comorbidities, food tolerance, and 6-year weight loss. *Surg Endosc*. 2011;25: 2498-2504.
- 213 Serra C, Pérez N, Bou R, Bengoechea M, Martínez R, Baltasar A. Gastrectomía tubular laparoscópica. Una operación bariátrica con diferentes indicaciones. *Cir Esp*. 2006;79:289-92.
- 214 Moskovitz J, Yim BM, Chock BP. Free radicals and disease. *Arch Biochem Biophys*. 2002;397 354-59.
- 215 Blüher M. Adipose tissue dysfunction in obesity. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2009;117:241-50.
- 216 Pou KM, Massaro JM, Hoffmann U, Vasan RS, Maurovich-Horvat P, Larson MG et al. Visceral and subcutaneous adipose tissue volumes are cross-sectionally related to markers of inflammation and oxidative stress: the Framingham Heart Study. *Circulation* 2007;116:1234-41.

- 217 Heilbronn LK, Campbell LV. Adipose tissue macrophages, low grade inflammation and insulin resistance in human obesity. *Curr Pharm Des.* 2008;14:1225-30.
- 218 González M, Bastidas BE, Ruiz B, Godínez S, Panderó A. Funciones endocrinas de la célula adiposa. *Rev Endocrinol Nutr.* 2002;10:140-6.
- 219 Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest.* 2003;112:1796-1808.
- 220 Rico MG, Vega GB. New trends in macrophages, inflammation and adipose tissue. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2012;50:39-45.
- 221 Fernández A, Madrigal E, Bautista M, Esquivel J, Morales A, Esquivel C et al. Inflammation, oxidative stress, and obesity. *Int J Mol Sci.* 2011;12: 3117-32.
- 222 de Souza Valente da Silva L, Valeria da Veiga G, Ramalho RA. Association of serum concentrations of retinol and carotenoids with overweight in children and adolescents. *Nutrition* 2007;23:392-7.
- 223 Suzuki K, Inoue T, Hioki R, Ochiai J, Kusuhara Y, Ichino N et al. Association of abdominal obesity with decreased serum levels of carotenoids in a healthy Japanese population. *Clin Nutr.* 2006;25:780-9.

- 224 Aasheim ET, Høfso D, Hjelmesaeth J, Birkeland KI, Bøhmer T. Vitamin status in morbidly obese patients: a cross-sectional study. *Am J Clin Nutr.* 2008;87:362-9.
- 225 Olusi SO. Obesity is an independent risk factor for plasma lipid peroxidation and depletion of erythrocyte cytoprotective enzymes in humans. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2002;26:1159-64.
- 226 Myara I, Alamowitch C, Michel O, Heudes D, Bariety J, Guy-Grand B et al. Lipoprotein oxidation and plasma vitamin E in nondiabetic normotensive obese patients. *Obes Res.* 2003;11:112-20.
- 227 Beltowski J, Wojcicka G, Gorny D, Marciniak A. The effect of dietary-induced obesity on lipid peroxidation, antioxidant enzymes and total plasma antioxidant capacity. *J Physiol Pharmacol.* 2000;51:883-96.
- 228 Gletsu-Miller N, Hansen JM, Jones DP, Go YM, Torres WE, Ziegler TR et al. Loss of total and visceral adipose tissue mass predicts decreases in oxidative stress after weight-loss surgery. *Obesity (Silver Spring).* 2009;17: 439-46.
- 229 Tumova E, Sun W, Jones PH, Vrablik M, Ballantyne CM, Hoogeveen RC. The impact of rapid weight loss on oxidative stress markers and the expression of the metabolic syndrome in obese individuals. *J Obes.* 2013; 2013:729515. doi: 10.1155/2013/729515.

- 230 Rector RS, Warner SO, Liu Y, Hinton PS, Sun GY, Cox RH et al. Exercise and diet induced weight loss improves measures of oxidative stress and insulin sensitivity in adults with characteristics of the metabolic syndrome. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007;293:E500-6.
- 231 Blum A, Ginat-Maimon L, Yehuda H, Geron N, Ben Ami M, Tamir S. Inhibition of inflammation may enhance nitric oxide availability in patients undergoing bariatric surgery for weight loss. *J Intern Med.* 2015;278:401-9.
- 232 Keaney JF Jr, Larson MG, Vasan RS, Wilson PW, Lipinska I, Corey D et al. Framingham Study. Obesity and systemic oxidative stress: clinical correlates of oxidative stress in the Framingham Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23:434-9.
- 233 Suematsu M, Katsuki A, Sumida Y, Gabazza EC, Murashima S, Matsumoto K et al. Decreased circulating levels of active ghrelin are associated with increased oxidative stress in obese subjects. *Eur J Endocrinol.* 2005;153:403-7.
- 234 Fujita K, Nishizawa H, Funahashi T, Shimomura I, Shimabukuro M. Systemic oxidative stress is associated with visceral fat accumulation and the metabolic syndrome. *Circ J.* 2006;70:1437-42.
- 235 Bougoulia M, Triantos A, Koliakos G. Plasma interleukin-6 levels, glutathione peroxidase and isoprostane in obese women before and after weight loss. Association with cardiovascular risk factors. *Hormones (Athens).* 2006;5:192-9.

- 236 Lazarevic G, Antic S, Cvetkovic T, Vlahovic P, Tasic I, Stefanovic V. A physical activity programme and its effects on insulin resistance and oxidative defense in obese male patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Metab.* 2006;32:583-90.
- 237 Higdon JV, Frei B. Obesity and oxidative stress: a direct link to CVD? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:365-7.
- 238 Curat CA, Wegner V, Sengenès C, Miranville A, Tonus C, Busse R et al. Macrophages in human visceral adipose tissue: increased accumulation in obesity and a source of resistin and visfatin. *Diabetologia.* 2006;49:744-7.
- 239 Bays HE, González-Campoy JM, Bray GA, Kitabchi AE, Bergman DA, Schorr AB et al. Pathogenic potential of adipose tissue and metabolic consequences of adipocyte hypertrophy and increased visceral adiposity. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2008;6:343-68.
- 240 Grune T, Berger MM. Markers of oxidative stress in ICU clinical settings: present and future. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2007;10:712-17.
- 241 Ogino K, Wang DH. Biomarkers of oxidative/nitrosative stress: an approach to disease prevention. *Acta Med Okayama.* 2007;61:181-9.
- 242 Jelic S, Le Jemtel TH. Inflammation, oxidative stress, and the vascular endothelium in obstructive sleep apnea *Trends Cardiovasc Med.* 2008;18 253-60.

- 243 Lavie L, Lavie P. Molecular mechanisms of cardiovascular disease in OSAHS: the oxidative stress link. *Eur Respir J*. 2009;33:1467-84.
- 244 Hernández C, Abreu J, Abreu P, Colino R, Jiménez A. Effects of nasal positive airway pressure treatment on oxidative stress in patients with sleep apnea-hypopnea syndrome. *Arch Bronconeumol*. 2006;42:125-9.
- 245 Murri M, Alcázar J, Garrido L, Linde F, Alcaide J, Cardona F et al. Oxidative stress and metabolic changes after continuous positive airway pressure treatment according to previous metabolic disorders in sleep apnea-hypopnea syndrome patients. *Transl Res*. 2009;154:111-21.
- 246 Lee YH, Pratley RE. The evolving role of inflammation in obesity and the metabolic syndrome. *Curr Diab Rep*. 2005;5:70-5.
- 247 Sardaş S, Yilmaz M, Oztok U, Cakir N, Karakaya AE. Assessment of DNA strand breakage by comet assay in diabetic patients and the role of antioxidant supplementation. *Mutat Res*. 2001;490:123-9.
- 248 Ahmed N, Babaei-Jadidi R, Howell SK, Beisswenger PJ, Thornalley PJ. Degradation products of proteins damaged by glycation, oxidation and nitration in clinical type 1 diabetes. *Diabetologia*. 2005;48:1590-1603.
- 249 Chung SS, Ho EC, Lam KS, Chung SK. Contribution of polyol pathway to diabetes-induced oxidative stress. *J Am Soc Nephrol*. 2003;14:S233-6.

- 250 Bonnefont-Rousselot D. Glucose and reactive oxygen species. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2002;5:561-8.
- 251 Frank GD, Equchi S, Motley ED. The role of reactive oxygen species in insulin signaling in the vasculature. *Antioxid Redox Signal*. 2005;7:1053-61.
- 252 Evans JL, Maddux BA, Goldfine ID. The molecular basis for oxidative stress-induced insulin resistances. *Antioxid Redox Signal*. 2005;7:1040-52.
- 253 Houstis N, Rosen ED, Lander ES. Reactive oxygen species have a causal role in multiple forms of insulin resistance. *Nature*. 2006;440:944-48.
- 254 García C, Díaz MT, Morales F. Presencia de las especies reactivas de oxígeno en la diabetes mellitus insulino-dependiente. *Av Diabetol*. 2005; 21:145-8.
- 255 Mora H, Angela C, Aragón N, Diana M, Ospina G, Luis F. Caracterización del estrés oxidativo en ratas wistar diabéticas por estreptozotocina. *Vitae*. 2009;16:311-19.
- 256 Clapés S, Torres O, Companioni M, Villariño U, Broche F, Céspedes EM. Peroxidación lipídica y otros indicadores de estrés oxidativo en pacientes diabéticos. *Rev Cub Invest Biomed*. 2001;20:1-8.
- 257 Davi G, Falco A, Patrono C. Lipid peroxidation in diabetes mellitus. *Antioxid Redox Signal*. 2005;7:256-68.

- 258 Vergaray L, Robles Y, Flores E, Suárez S. Correlación entre los niveles de hemoglobina glicada y las enzimas antioxidantes, en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. *Ciencia e Investigación*. 2000;3: 49-58.
- 259 Ceriello A, Mercuri F, Quagliaro L, Assaloni R, Motz E, Tonutti L, Taboga C. Detection of nitrotyrosine in the diabetic plasma: evidence of oxidative stress. *Diabetologia*. 2001;44:834-8.
- 260 Piconi L, Quagliaro L, Ceriello A. Oxidative stress in diabetes. *Clin Chem Lab Med*. 2003;41:1144-49.
- 261 Rebolledo OR, Actis Dato SM. Postprandial hyperglycemia and hyperlipidemia-generated glycooxidative stress: Its contribution to the pathogenesis of diabetes complications. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2005;9:191-208.
- 262 Ceriello A. New insights on oxidative stress and diabetic complications may lead to a "causal" antioxidant therapy. *Diabetes Care*. 2003;26:1589-96.
- 263 Villa L, Nava A, Ponce H, Frati A. El estrés oxidativo. ¿Es necesario medirlo en el paciente diabético? *Gac Med Mex*. 2000;136:249-55.
- 264 Touyz RM. Reactive oxygen species, vascular oxidative stress, and redox signaling in hypertension: what is the clinical significance? *Hypertension*. 2004;44:248-52.
- 265 Pollock DM. Endothelin, angiotensin, and oxidative stress in hypertension. *Hypertension*. 2005;45:477-80.

- 266 Redon J, Olivia MR, Tormos C, Giner V, Chaves J, Iradi ASáez GT. Antioxidant activities and oxidative stress byproducts in human hypertension. *Hypertension*. 2003;41:1096-101.
- 267 Romero JC, Reckelhoff JE. State-of-the-art lecture. Role of angiotensin and oxidative stress in essential hypertension. *Hypertension*. 1999;34:943-49.
- 268 McIntyre M, Bohr DF, Dominiczak AF. Endotelial function in hypertension: the role of superoxide anion. *Hypertension*. 1999;34:539-45.
- 269 Orié NN, Zidec W, Tepel M. Reactive oxygen species in essential hypertension and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Hypertens*. 1999;12:1169-74.
- 270 Griending KK, Sorescu D, Ushio-Fukai M. NAD(P)H oxidase: role in cardiovascular biology and disease. *Circ Res*. 2000;86:494-501.
- 271 Taddei S, Virdis A, Ghiadoni L, Magagna A, Favilla S, Pompella A et al. Restoration of nitric oxide availability after calcium antagonist treatment in essential hypertension. *Hypertension*. 2001;37:943-8.
- 272 Rodríguez B, Zhan CD, Quiroz Y, Sindhu RK, Vaziri ND. Antioxidant-rich diet relieves hypertension and reduces renal immune infiltration in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*. 2003;41:341-6.
- 273 Russo C, Olivieri O, Girelli D, Faccini G, Zenari MI, Lombardi S. Anti-oxidant status and lipid peroxidation in patients with essential hypertension. *J Hypertens*. 1998;16:1267-71.

- 274 Ward NC, Hodgson JM, Puddey IB, Mori TA, Beilin LJ, Croft KD. Oxidative stress in human hypertension: association with antihypertensive treatment, gender, nutrition, and lifestyle. *Free Radic Biol Med.* 2004;36:226-32.
- 275 Sáez GT, Tormos C, Giner V, Chaves J, Lozano JY, Iradi A et al. The impact of antihypertensive treatment in antioxidant activities and oxidative stress by-products in human hypertension. *Am J Hypertens.* 2004;17:809-16.
- 276 Giner V, Tormos C, Chaves FJ, Sáez GT, Redón J. Microalbuminuria and oxidative stress in essential hypertension. *J Intern Med.* 2004;255:588-94.
- 277 Oprescu AI, Bikopoulos G, Naassan A, Allister EM, Tang C, Park E et al. Free fatty acid-induced reduction in glucose-stimulated insulin secretion: evidence for a role of oxidative stress in vitro and in vivo. *Diabetes.* 2007;56:2927-37.
- 278 Yang R, Le G, Li A, Zheng J, Shi Y. Effect of antioxidant capacity on blood lipid metabolism and lipoprotein lipase activity of rats fed a high-fat diet. *Nutrition.* 2006;22:1185-91.
- 279 Chisolm GM, Steindberg D. The oxidative modification hypothesis of atherogenesis: an overview. *Free Radic Biol Med.* 2000;28:1815-26.
- 280 Aikawa M, Sugiyama S, Hill CC, Voglic SJ, Rabkin E, Fukumoto Y et al. Lipid lowering reduces oxidative stress and endothelial cell activation in rabbit atheroma. *Circulation.* 2002;106:1390-6.

- 281 Cardona F, Tunez I, Tasset I, Garrido L, Collantes E, Tinahones FJ. Circulating antioxidant defences are decreased in healthy people after a high-fat meal. *Br J Nutr.* 2008;100:312-16.
- 282 Stojiljkovic MP, Lopes HF, Zhang D, Morrow JD, Goodfriend TL, Egan BM. Increasing plasma fatty acids elevates F2-isoprostanes in humans: implications for the cardiovascular risk factor cluster. *J Hypertens.* 2002;20:1215-21.
- 283 Bakker SJ, IJzerman RG, Teerlink T, Westerhoff HV, Gans RO, Heine RJ. Cytosolic triglycerides and oxidative stress in central obesity: the missing link between excessive atherosclerosis, endothelial dysfunction, and beta-cell failure?. *Atherosclerosis.* 2000;148:17-21.
- 284 Ferri J, Martinez S, Espinosa O, Fandos M, Pedro T, Real JT et al. Estudio de los valores de 8-oxo-7,8-dihidro-2'-deoxiguanosina como marcador de estrés oxidativo del ADN en pacientes con hiperlipemia familiar combinada. *Med Clin (Barc.).* 2008;13:1-4.
- 285 Yang RL, Shi YH, Hao G, Li W, Le GW. Increasing Oxidative Stress with Progressive Hyperlipidemia in Human: Relation between Malondialdehyde and Atherogenic Index. *J Clin Biochem Nutr.* 2008;43:154-8.
- 286 Blankenberg S, Rupprecht HJ, Bickel C, Torzewski M, Hafner G, Tiret L et al. AtheroGene Investigators. Glutathione peroxidase 1 activity and cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med.* 2003;349:1605-13.

- 287 Sáez GT, Valls V, Muñiz P, Pérez C, Iradi A, Oliva MR et al. The role of glutathione in protection against DNA damage induced by rifamycin SV and copper(II) ions. *Free Radic Res Commun.* 1993;19:81-92
- 288 Muñiz P, Valls V, Pérez C, Iradi A, Climent JV, Oliva MR et al. The role of of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in rifamycin-induced DNA damage. *Free Radic Biol Med.* 1995;18:747-55.
- 298 Albuali WH. Evaluation of oxidant-antioxidant status in overweight and morbidly obese Saudi children. *World J Clin Pediatr.* 2014;3:6-13.
- 289 Melissas J. Plasma antioxidant capacity in morbidly obese patients before and after weight loss. *Obes Surg.* 2006;16:314-20.
- 290 Espinosa O, Jiménez J, Chaves FJ, Tormos MC, Clapes S, Iradi A et al. Urinary 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine (8-oxo-dG), a reliable oxidative stress marker hypertension. *Free Radic Res.* 2007;41:546-54.
- 291 Vincent HK, Taylor AG. Biomarkers and potential mechanisms of besity-induced oxidant stress in humans. *Int J Obes (Lond).* 2006;30:400-18.
- 292 Vincent HK, Innes KE, Vincent KR. Oxidative stress and potential interventions to reduce oxidative stress in overweight and obesity. *Diabetes Obes Metab.* 2007;9:813-39.
- 293 Zhu YG, Zhang SM, Wang JY, Xiao WQ, Wang XY, Zhou JF. Overweight and obesity-induced oxidative stress in children. *Biomed Environ Sci.* 2006;19:353-59.

- 294 Kisakol G, Guney E, Bayraktar F, Yilmaz C, Kabalak T, Ozmen D. Effect of surgical weight loss on free radical and antioxidant balance: a preliminary report. *Obes Surg.* 2002;12:795-801.
- 295 Ostrow V, Wu S, Aguilar A, Bonner R Jr, Suarez E, De Luca F. Association between oxidative stress and masked hypertension in a multi-ethnic population of obese children and adolescents. *J Pediatr.* 2011;158:628-33.
- 296 Borrego S, Vázquez A, Dasí F, Cerda C, Iradi A, Tormos C et al. Oxidative stress and DNA damage in human gastric carcinoma: 8-oxo-7'8-dihydro-2'-deoxyguanosine (8-oxo-dG) as a posible tumor marker. *Int J Mol Sci.* 2013;14:3467-86.
- 297 Evans MD, Singh R, Mistry V, Sandhu K, Farmer PB, Cooke MS. Analysis of urinary 8-oxo-7'8-dihydro-urine-2'-deoxyribonucleosides by LC-MS/MS and improved ELISA. *Free Radic Res.* 2008;42:831-40.
- 298 Li YS, Song MF, Kasai H, Kawai K. 8-hydroxyguanine in urine and serum as an oxidative stress marker: effects of diabetes and aging. *J UOEH.* 2013;35:119-27.
- 299 Fandos M, Corella D, Guillén M, Portolés O, Carrasco P, Iradi A et al. Impact of cardiovascular risk factors on oxidative stress and DNA damage in a high risk Mediterranean population. *Free Radic Res.* 2009;43:1179-86.
- 300 Kocael A, Erman H, Zengin K, Kocael PC, Korkmaz GG, Gelisgen R et al. the effects on oxidative DNA damage of laparoscopic gastric band applications in morbidly obese patients. *Can J Surg.* 2014;57:183-7.

- 301 Davi G, Guagnano MT, Ciabattoni G, Basili S, Falco A, Marinopicolli M et al. Platelet activation in obese women: role of inflammation and oxidant stress. *JAMA*. 2002;288:2008-14.
- 302 de la Maza MP, Vivien ZG, Zavala AR, Cataldo VD, Guerra JS, Gladys AB et al. Weight maintenance in humans. Could it mimic calorie restriction of animal models? *Rev Méd Chil*. 2004;132:1166-72.
- 303 Gregor MF, Yang L, Fabbrini E, Mohammed BS, Eagon JC, Hotamisligil GS et al. Endoplasmic reticulum stress is reduced in tissues of obese subjects after weight loss. *Diabetes*. 2009;58:693-700.
- 304 Manco M, Fernandez JM, Equitani F, Vendrell J, Valera ME, Nanni G et al. Effect of massive weight loss on inflammatory adipocytokines and the innate immune system in morbidly obese women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92:483-90.
- 305 Laimer M, Ebenbichler CF, Kaser S, Sandhofer A, Weiss H, Nehoda H et al. Markers of chronic inflammation and obesity: a prospective study on the reversibility of this association in middle-aged women undergoing weight loss by surgical intervention. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2002;26:659-62.