

# VNIVERSITAT E VALÈNCIA

DEPARTAMENT DE MEDICINA

PROGRAMA DE DOCTORADO EN MEDICINA 3139



**TESIS DOCTORAL:**

**“Efecto de los parámetros epigenéticos tras dos años de la cirugía bariátrica”**

**Ning Yun Wu Xiong**

Dirigida por:

**Prof. D. José Tomás Real Collado**

**Prof. D. Juan Francisco Ascaso Gimilio**

Valencia, Noviembre 2019



VNIVERSITAT DE VALÈNCIA

FACULTAT DE MEDICINA I ODONTOLOGIA

DEPARTAMENT DE MEDICINA



**TESIS DOCTORAL:**

**“Efecto de los parámetros epigenéticos tras dos años de la cirugía bariátrica”**

Ning Yun Wu Xiong

Licenciada en Medicina – Especialista en Endocrinología y Nutrición.

Dirigida por:

Prof. José Tomás Real Collado. Catedrático de Medicina. Departament de Medicina. Universitat de València.

Prof. Juan Francisco Ascaso Gimilio. Catedrático Emérito de Medicina. Departament de Medicina. Universitat de València.



VNIVERSITAT DE VALÈNCIA



**DEPARTAMENT DE MEDICINA**

D. José Tomás Real Collado. Doctor en Medicina y Cirugía. Catedrático de Universidad.  
Departament de Medicina, Facultat de Medicina i Odontologia de la Universitat de València.

D. Juan F. Ascaso Gimilio. Doctor en Medicina y Cirugía. Catedrático Emérito de Universidad.  
Departament de Medicina, Facultat de Medicina i Odontologia de la Universitat de València.

Informan:

Que el trabajo titulado: “Efecto de los parámetros epigenéticos tras dos años de la cirugía bariátrica” presentado por D<sup>a</sup> Ning Yun Wu Xiong para optar al grado de Doctor por la Universitat de València, ha sido realizado bajo nuestra dirección y reúne los requisitos necesarios para su presentación y lectura.

Y para que así conste firmamos este informe en Valencia el 30 de Noviembre de 2019.

Fdo. José Tomás Real Collado

Fdo. Juan Francisco Ascaso Gimilio



# Agradecimientos

Mis más sinceros agradecimientos a todas las personas que han hecho posible este trabajo:

Al Doctor Real y al Doctor Ascaso, por transmitirme sus conocimientos, por introducirme en el mundo de la investigación, por hacer fácil lo difícil, por iluminarme en los momentos de mayor oscuridad, por ser un ejemplo a seguir como profesionales y como personas, por la suerte que he tenido de haber podido aprender de ellos.

Al Doctor Civera, por sus consejos, por animarme día a día a conseguir cada uno de mis objetivos, por guiarme y ayudarme a tomar decisiones que siempre terminan siendo acertadas.

A Geles Viguer y a Ana Albert, por su entera disponibilidad para las extracciones sanguíneas, por esas charlas que fueron tan necesarias y que tanto echo de menos.

A Ana Artero, a Juncal Martínez y a Celia Gallego, por embarcarnos juntas en esta línea de investigación, por todas las tardes que nos hemos dedicado a la recogida de muestras, por ofrecerme su ayuda en todo momento.

A Esther Benito, por ayudarme en la recogida de datos, por estar siempre dispuesta a colaborar y hacer fácil el desarrollo de cualquier estudio.

A Laura Olivares y a Verónica Albert, por coordinar la recogida de las muestras, que no siempre es fácil, y por todo el tiempo que han dedicado a la conservación y procesamiento de las muestras. A Felipe Chaves y a Pilar Rentero, por el análisis de la metilación, por las tardes dedicadas al análisis de datos y a resolverme las dudas del mundo de la epigenética.

A mis abuelos, por haberme cambiado la vida, porque sé que estarán muy orgullosos estén donde estén.

A mis padres, por su apoyo incondicional en todos mis proyectos y decisiones, por enseñarme a ser constante, a trabajar duro y a no rendirme nunca.

A Liam, por su paciencia, por su generosidad, por sacarme una sonrisa incluso en los momentos más difíciles, por entender y apoyar lo que hago aunque suponga sacrificar horas de nuestro tiempo.





*“Si caminas solo, llegarás más rápido; si caminas acompañado, llegarás más lejos.”*

(Proverbio chino)



# ÍNDICE

ABREVIATURAS .....	13
TABLAS Y FIGURAS .....	15
I. INTRODUCCIÓN .....	17
1. Obesidad .....	19
1.1. Epidemiología .....	19
1.2. Diagnóstico y clasificación .....	19
1.3. Comorbilidades de la obesidad.....	20
1.4. Tratamiento .....	22
1.4.1. Modificaciones de los hábitos de vida .....	22
1.4.2. Tratamiento farmacológico.....	23
1.4.3. Cirugía bariátrica.....	25
2. Cirugía bariátrica.....	26
2.1. Evolución histórica .....	26
2.2. Indicaciones de la cirugía bariátrica .....	27
2.3. Técnicas quirúrgicas .....	27
2.3.1. Bypass gástrico Y en Roux .....	28
2.3.2. Gastrectomía vertical.....	28
2.3.3. Banda gástrica ajustable laparoscópica .....	28
2.3.4. Derivación biliopancreática con cruce duodenal .....	28
2.4. Complicaciones .....	30
2.5. Resultados .....	31
3. Epigenética .....	32
3.1. Patrones epigenéticos .....	33
3.1.1. Metilación del ADN.....	33
3.1.2. Modificaciones postraduccionales de histonas .....	34
3.1.3. ARN no codificante .....	35

	3.2. Epigenética y obesidad .....	35
	3.3. Epigenética y cirugía bariátrica .....	36
II.	HIPÓTESIS Y OBJETIVOS .....	39
III.	MATERIALES Y MÉTODOS .....	43
	1. Sujetos.....	45
	2. Métodos .....	45
	3. Diseño del estudio .....	46
	4. Método de extracción de células del tejido adiposo.....	47
	5. Método de estudio de patrón de metilación del ADN .....	47
	5.1. Extracción de ADN .....	47
	5.2. Conversión con Bisulfito .....	47
	5.3. Análisis de niveles de metilación global .....	47
	5.4. Validación de los resultados en los sitios de metilación .....	48
	6. Métodos estadísticos .....	48
IV.	RESULTADOS .....	51
V.	DISCUSIÓN.....	77
	1. Evaluación del efecto de la cirugía bypass gastroyeyunal en variables biológicas y antropométricas tras 24 meses de seguimiento .....	79
	2. Asociación del patrón de metilación de ADN de los tejidos obtenidos durante el bypass gastroyeyunal y su respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía.....	81
	3. Comparación de los patrones de metilación en los diferentes tejidos obtenidos en cada uno de los grupos de los sujetos según su respuesta antropométrica tras 24 meses del bypass gastroyeyunal .....	83
	4. Limitaciones.....	84
VI.	CONCLUSIONES .....	85
VII.	BIBLIOGRAFÍA.....	89

## ABREVIATURAS

ADP: adenosín difosfato	HbA1c: hemoglobina glicosilada
ATP: adenosín trifosfato	HDL: lipoproteína de alta densidad
ADN: ácido desoxirribonucleico	HTA: hipertensión arterial
ARN: ácido ribonucleico	IFSO: federación internacional de cirugía de la obesidad y enfermedades metabólicas
AGRP: proteína r-agouti	IL: interleucina
BPGY: bypass gastroyeyunal	IMC: índice de masa corporal
CART: transcriptasa relacionada con la cocaína-anfetamina	IMAO: inhibidores de la monoamino oxidasa
cHDL: colesterol asociado a lipoproteína de alta densidad	LDL: lipoproteína de baja densidad
cLDL: colesterol asociado a lipoproteína de baja densidad	MC-4: melanocortina-4
CPAP: presión positiva continua en la vía aérea	MEN-2: neoplasia endocrina múltiple 2
CpG: dinucleótido citosina-guanina	MetAP-2: metionina aminopeptidasa-2
CT: colesterol total	NIH: institutos nacionales de la salud
DEXA: absorciometría de energía dual de rayos X	NYHA: New York Heart Association
DM2: diabetes mellitus tipo 2	OMS: organización mundial de la salud
DNMT: ADN metiltransferasas	PCR: reacción en cadena de la polimerasa
DPP-IV: dipeptidilpeptidasa-IV	POMC: pro-opiomelanocortina
EMA: agencia europea de medicamentos	SAHS: síndrome de apneas e hipopneas del sueño
ENPE: estudio nacional de la población española	SNP: polimorfismo de nucleótido único
EWL: pérdida de exceso de peso	TG: triglicéridos
FDA: food and drug administration	TEP: tromboembolismo pulmonar
GABA: ácido gamma-amino-butírico	TNF- $\alpha$ : factor de necrosis tumoral alfa
GIP: polipéptido inhibidor gástrico	TSH: hormona estimulante de tiroides
GLP-1: péptido similar al glucagón tipo 1	VLDL: lipoproteína de muy baja densidad
	$\alpha$ -MSH: hormona estimulante de melanocitos



## TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Clasificación internacional del bajo peso, normopeso y obesidad según IMC.....	19
Figura 1. Patogénesis de la DM 2 en individuos con obesidad.....	21
Tabla 2. Evolución de los fármacos para el tratamiento de la obesidad que han sido retirados y los motivos de su retirada .....	23
Tabla 3. Indicaciones y contraindicaciones de la cirugía bariátrica .....	27
Figura 2. Técnicas de cirugía bariátrica .....	29
Tabla 4. Complicaciones asociadas al bypass gástrico Y en Roux.....	30
Figura 3. Factores nutricionales que se han asociado con cambios epigenéticos.....	32
Figura 4. Inhibición de la transcripción génica por medio de metilación .....	34
Tabla 5. Características generales y antropométricas del grupo completo según sexo previas a la cirugía. ....	53
Tabla 6. Características bioquímicas basales del grupo completo según sexo .....	54
Figura 5. Distribución de la diabetes mellitus tipo 2 según sexo previa a la cirugía.....	55
Figura 6. Distribución de la dislipemia según sexo previa a la cirugía .....	55
Figura 7. Distribución de la hipertensión arterial según sexo previa a la cirugía .....	56
Tabla 7. Características generales y antropométricas del grupo completo según sexo tras 24 meses de la cirugía.....	56
Tabla 8. Características bioquímicas basales del grupo completo según sexo tras 24 meses de la cirugía.....	57
Figura 8. Distribución de la diabetes mellitus tipo 2 según sexo tras 24 meses de la cirugía.....	58
Figura 9. Distribución de la dislipemia según sexo tras 24 meses de la cirugía .....	58
Figura 10. Distribución de la hipertensión arterial según sexo tras 24 meses de la cirugía .....	59
Tabla 9. Comparación de las características generales y antropométricas del grupo completo una semana antes y tras 24 meses de la cirugía .....	59
Tabla 10. Comparación de las características bioquímicas del grupo completo una semana antes y tras 24 meses de la cirugía .....	60
Figura 11. Prevalencia de la diabetes mellitus tipo 2 del grupo completo previo y tras 24 meses de la cirugía .....	61
Figura 12. Prevalencia de la dislipemia del grupo completo previo y tras 24 meses de la cirugía .....	61

Figura 13. Prevalencia de la hipertensión arterial del grupo completo previo y tras 24 meses de la cirugía .....	62
Tabla 11. Características generales y antropométricas basales según respuesta antropométrica a los 24 meses del BPGY (%EWL 50) .....	64
Tabla 12. Características bioquímicas basales según respuesta antropométrica a los 24 meses del BPGY (%EWL 50).....	64
Tabla 13. Características generales y antropométricas tras 24 meses del BPGY según respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía (%EWL 50) .....	65
Tabla 14. Características bioquímicas tras 24 meses del BPGY según respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía (%EWL 50) .....	66
Figura 14. Grado de metilación en sangre periférica previo al BPGY según respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía (%EWL 50) .....	67
Figura 15. Grado de metilación en tejido adiposo subcutáneo extraído en el BPGY según respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía (%EWL 50) .....	67
Figura 16. Grado de metilación en tejido adiposo visceral extraído en el BPGY según respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía (%EWL 50) .....	68
Tabla 15. Características generales y antropométricas basales según respuesta antropométrica a los 24 meses del BPGY divididos en terciles de %EWL.....	69
Tabla 16. Características bioquímicas basales según respuesta antropométrica a los 24 meses del BPGY divididos en terciles de %EWL .....	70
Tabla 17. Características generales y antropométricas tras 24 meses del BPGY según respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía divididos en terciles de %EWL.....	71
Tabla 18. Características bioquímicas tras 24 meses del BPGY según respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía divididos en terciles de %EWL .....	72
Figura 17. Grado de metilación en sangre periférica previo al BPGY según respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía divididos en terciles de %EWL.....	73
Figura 18. Grado de metilación en tejido adiposo subcutáneo extraído en el BPGY según respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía divididos en terciles de %EWL.....	74
Figura 19. Grado de metilación en tejido adiposo visceral extraído en el BPGY según respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía divididos en terciles de %EWL.....	74
Tabla 19. Comparativa de los porcentajes de metilación en los tres tejidos analizados dentro de cada grupo según respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía (%EWL 50) .....	75
Tabla 20. Comparativa de los porcentajes de metilación en los tres tejidos analizados dentro de cada grupo según respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía divididos en terciles de %EWL.....	76



## **I. INTRODUCCIÓN**



# INTRODUCCIÓN

## 1. Obesidad

La obesidad es una enfermedad metabólica producida por un acúmulo excesivo o anómalo de grasa en el organismo consecuencia de un balance energético positivo. Es una entidad crónica de etiología multifactorial, debida a la interacción entre factores biológicos, genéticos, psicológicos, socioeconómicos y culturales(1).

### 1.1. Epidemiología

La prevalencia de esta enfermedad ha aumentado drásticamente en las últimas décadas, sobre todo en países desarrollados, llegando a duplicar esta cifra desde 1980. Por este motivo a la obesidad se le ha llamado la “epidemia del siglo XXI”. Según la OMS, en el año 2014, el 39% de los adultos mayores de 18 años (39% de hombres y 40% de mujeres) presentan sobrepeso; y obesidad en un 11 % de hombres y 15 % en mujeres, afectando así a más de 500.000 adultos en el mundo(2). Se cree que estas cifras podrían aumentar hasta un 50% en el año 2030(3).

En España, según los datos del estudio ENPE (Estudio Nacional de la Población Española), la prevalencia de sobrepeso en población adulta (25-64 años) es del 39,3% (46,5% en varones y 32,1% en mujeres) y de la obesidad del 21,6 % (22,8% en varones y 20,5% en mujeres), aumentando este número significativamente con la edad(4).

### 1.2. Diagnóstico y clasificación

La obesidad, como hemos definido, es un aumento de la masa grasa. Sin embargo, los métodos actuales para la determinación de masa grasa corporal no están disponibles en la práctica clínica habitual como es la bioimpedancia o la DEXA(5). Por ello, se emplean métodos indirectos que estiman la masa grasa como la antropometría. El diagnóstico y la clasificación se de la obesidad se basan en el cálculo del índice de masa corporal [IMC = peso (kg)/talla (m)<sup>2</sup>]. El IMC se relaciona con la adiposidad corporal y permite clasificar el peso de un individuo de la siguiente manera, según la OMS:

Clasificación	IMC (Kg/m <sup>2</sup> )
Bajo peso	< 18,5
Normopeso	18,5-24,9
Sobrepeso	25-29,9
Obesidad grado I	30-34,9
Obesidad grado II	35-39,9
Obesidad grado III	≥40

Tabla 1. Clasificación internacional del bajo peso, normopeso y obesidad según IMC. Adaptada de WHO: Global Database on Body Mass Index(6).

### **1.3. Comorbilidades de la obesidad**

En un meta-análisis en el que se incluía 2,88 millones de individuos, se observó un aumento de riesgo de mortalidad en el grupo de obesidad grado II y III frente a sujetos con normopeso(7). Esto es debido a que el exceso de peso está asociado al aumento de riesgo de diversas patologías que incrementan la morbilidad y mortalidad del individuo. La incidencia de la diabetes tipo 2 (DM2), resistencia a la insulina, hipertensión arterial (HTA), cardiopatía isquémica, colelitiasis, osteoartritis, síndrome de apneas e hipopneas del sueño (SAHS) y algunos tipos de cáncer es mayor en individuos con obesidad que en los que no la presenta. Además de presentar mayor probabilidad de depresión, infertilidad o complicaciones en el embarazo(8).

La resistencia de la insulina en la obesidad está relacionada con el estado inflamatorio crónico del tejido adiposo. El aumento del tamaño de los adipocitos produce un aumento de los niveles de los ácidos grasos libres y del factor de necrosis tumoral. Esta elevación inhibe la utilización de la glucosa por parte del músculo, aumenta la gluconeogénesis hepática y estimula la secreción insulínica por las células beta del páncreas causando hiperinsulinemia. Si este proceso se cronifica y claudica la célula beta, se producirá hiperglucemia y finalmente DM2, figura 1(9). Con la pérdida de peso se consigue un aumento de los niveles de la adiponectina con la consiguiente disminución de la inflamación(10) y reversión del proceso fisiopatológico descrito.

Al igual que la resistencia a la insulina, la DM2 está muy relacionada con la obesidad, de hecho, el 85,2 % de los DM2 presentan sobrepeso y el 54,8 % presentan obesidad(11). Se ha visto que por cada incremento de 1 Kg de peso aumenta el riesgo de desarrollo de la DM2 un 4,5%(12). Asimismo, uno de los pilares fundamentales del tratamiento de la DM2 es la pérdida de peso, ya que alcanzando una pérdida del 10% del peso se consigue una mejora del control metabólico(13).

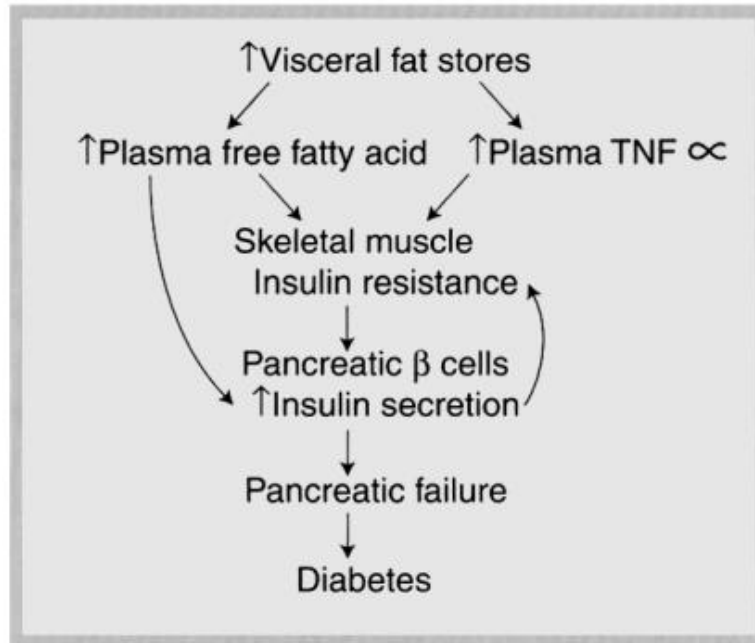


Figura 1. Patogénesis de la DM 2 en individuos con obesidad(8)

Siguiendo con los factores de riesgo cardiovascular, la dislipemia y la HTA también están relacionadas con la obesidad. La obesidad, se asocia a un aumento de colesterol total y triglicéridos y una reducción del colesterol HDL. Los niveles del colesterol LDL pueden estar aumentados o ser normales, pero aumenta el número de partículas de LDL pequeñas y densas, de VLDL y se acompañan de niveles disminuidos de lipoproteína lipasa. Esto se produce sobre todo en pacientes con resistencia a la insulina y obesidad abdominal, incrementándose así el riesgo de arteriosclerosis(14). El exceso de peso, especialmente cuando se asocia a aumento de tejido adiposo visceral es una causa mayor de HTA, representando el 65-75 % del riesgo de hipertensión esencial(15). El mecanismo fisiopatológico sigue siendo desconocido aunque se postula que el riñón juega un papel importante, relacionándose con la actividad del sistema renina-angiotensina-aldosterona, la alteración de la sensibilidad de barorreceptores, la compresión renal por el exceso de grasa acumulada, la hiperleptinemia o la hiperinsulinemia(16).

La obesidad, especialmente el exceso de grasa a nivel cervical, se considera el factor de riesgo más importante para el desarrollo del SAHS(17). Entre el 60 y el 70% de los individuos que lo presentan son obesos y el 40% que sufren obesidad presentan SAHS(3). Las consecuencias clínicas de esta entidad incluyen: exceso de sueño diurno, HTA, arritmias, cardiopatía isquémica e hipertensión pulmonar. El tratamiento de elección es el uso de CPAP(18).

A nivel gastrointestinal cabe destacar la esteatohepatitis no alcohólica, cuya prevalencia aumenta de forma proporcional a la de la obesidad. Hasta un 90 % de los pacientes con obesidad mórbida presentan cambios morfológicos hepáticos como esteatosis o inflamación(8). El acúmulo de grasa en el hígado provoca disfunción mitocondrial y estrés

oxidativo que culmina con daño hepático y muerte celular del hepatocito(3). El grado de gravedad en los cambios morfológicos está directamente relacionado con el grado del exceso de peso(8). El reflujo gastroesofágico, resultado del aumento de la presión intraabdominal(19) y la formación de litiasis biliar secundaria al exceso de colesterol biliar(20) son otras de las complicaciones gastrointestinales relacionadas con la obesidad.

El impacto más significativo de la obesidad en el sistema musculoesquelético es la osteoartritis. Esta se produce tanto por el incremento del peso sobre las articulaciones de carga, como son las rodillas o las caderas, como por el estado inflamatorio crónico producido por el aumento de adipocinas con el incremento del tejido adiposo, como es el caso de las articulaciones de la mano(21).

El importante aumento global de la obesidad y sus comorbilidades es uno de los retos más difíciles en salud pública que debe afrontar la sociedad actual.

#### **1.4. Tratamiento**

Se recomienda tratamiento para conseguir pérdida de peso a todo paciente con un IMC mayor de 30 kg/m<sup>2</sup> o mayor de 25 Kg/m<sup>2</sup> asociado a comorbilidades(22). El objetivo es conseguir alcanzar el peso corporal adecuado y pactado con cada paciente de manera gradual y mantenida. En todos los pacientes que presenten obesidad, se debería aplicar la modificación de los hábitos de vida, que incluyen el tratamiento dietético, el incremento de la actividad física y las terapias psicológicas (cognitivas y conductuales)(23).

##### **1.4.1. Modificaciones en los hábitos de vida**

El contenido calórico de la dieta es lo que permite la pérdida de peso independientemente de su composición cualitativa(24). La dieta hiperproteica puede inducir a corto plazo (menos de 6 meses) mayor pérdida de peso que una dieta convencional rica en hidratos de carbono, pero no a largo plazo (más de 12 meses)(25). La proporción de macronutrientes se adaptará según las características y necesidades de cada paciente realizando un balance energético individualizado, cuantificando tanto la ingesta calórica como el gasto energético total.

El objetivo inicial sería alcanzar una pérdida de peso de 5 al 10 % en los primeros 6 meses de tratamiento(26), permitiendo así reducir el impacto de las complicaciones asociadas explicadas anteriormente como pueden ser la DM2, dislipemia mixta o la HTA(27). Varios estudios muestran que con un buen programa de cambio de estilo de vida se puede conseguir una pérdida aproximada de 7 a 10 Kg en seis meses, que equivaldría al 7-10% de reducción del peso inicial con un mantenimiento del mismo de 12 meses(22,28). En cuanto a los resultados a largo plazo, se produce una ganancia de peso de 3,5 a 4,5 Kg desde los 12 a los 24 meses que equivaldría a un 30 a 40 % del peso perdido en los primeros 12 meses(28). Esta ganancia se produce de forma paulatinamente pero a los 5 años, más del 50 % han recuperado todo el peso perdido(29), siendo un resultado muy desalentador. Las causas de esta ganancia de peso

no son del todo conocidas. Se cree que podría contribuir tanto una situación ambiental desfavorable con la consiguiente falta de adherencia de los consejos dietéticos como por causa biológica con respuestas metabólicas compensatorias a la pérdida de peso (reducción en el gasto energético en reposo, disminución de los niveles de leptina y el aumento de los de grelina)(27).

#### 1.4.2. Tratamiento farmacológico

En el caso de que no se consiga los objetivos de pérdida de peso propuestos tras la intervención en los cambios del estilo de vida, se recomienda la farmacoterapia en individuos con IMC igual o mayor de 30 Kg/m<sup>2</sup> o igual o mayor de 27 Kg/m<sup>2</sup> si se asocia a comorbilidades(30). El mecanismo de acción de estos fármacos suele ser bien anorexígenos (supresión del apetito) o bien bloqueadores de la absorción de grasa a nivel intestinal(23).

Para que un fármaco sea considerado efectivo para tratar la obesidad, según la FDA, debe cumplir los siguientes requisitos: a) que alcance una diferencia de peso significativa respecto a un placebo > 5% al finalizar el año de tratamiento, b) que el porcentaje de sujetos que pierdan más de un 5% de peso supere al 35% de los casos tratados activamente respecto al placebo. Si tras 12-16 semanas de tratamiento activo el paciente no pierde al menos un 5% del peso inicial y/o aparecen efectos indeseables graves, se aconseja la retirada del mismo(30).

En el último siglo una larga lista de fármacos que se han utilizado para el tratamiento de la obesidad ha tenido que ser retirados por efectos secundarios indeseables para la salud a largo plazo, por eso las agencias reguladoras se han mostrado muy cautas a la hora de aprobar nuevos fármacos para la obesidad.

Fármaco	Año de comercialización	Causas y año de retirada
<b>Dinitrofenol</b>	1930	Neuropatía y cataratas
<b>Anfetaminas</b>	1936	Dependencia y abuso. Efectos cardiovasculares potencialmente graves.
<b>Aminorex</b>	1965	Hipertensión pulmonar (1968)
<b>Mazindol</b>	1970	Dependencia y síndrome de abstinencia (1993)
<b>Fenfluramina</b>	1963 Europa 1973 EEUU	Enfermedad valvular cardiaca. Hipertensión pulmonar (1997)
<b>Dexfenfluramina</b>	1985 Europa 1996 EEUU	Enfermedad valvular cardiaca. Hipertensión pulmonar (1997)
<b>Sibutramina</b>	1997 EEUU 2001 Europa	Enfermedad cardiovascular (2010)
<b>Rimonabant</b>	2006 Europa	Alteraciones psiquiátricas graves (2009)

Tabla 2. Evolución de los fármacos para el tratamiento de la obesidad que han sido retirados y los motivos de su retirada(31,32)

Entre los fármacos comercializados no disponibles en Europa, se encuentran la lorcaserina y la combinación de fentermina y topiramato, han sido aprobados por la FDA, sin embargo, rechazados por la EMA por los posibles efectos adversos.

La lorcaserina, aprobada en 2012, es un agonista del receptor de serotonina muy específico del subtipo 5HT<sub>2C</sub> implicado en la inhibición de la vía anorexígena a través de la estimulación de las neuronas con pro-opiomelanocortina (POMC). La especificidad al receptor no tendría los efectos adversos a nivel valvular (expresión de receptores 5HT<sub>2B</sub>) o de hipertensión pulmonar como pasa con otros fármacos serotoninérgicos. Los estudios de metanálisis indican que en comparación con el placebo, la lorcaserina presenta una OR de 3,10 (IC 95%: 2,38-4,05) de alcanzar una pérdida  $\geq$  5% del peso(33). Está contraindicado en el síndrome serotoninérgico o neuroléptico y faltan datos de seguridad en pacientes con afectación psiquiátrica o cardiopatías. Los efectos adversos más frecuentes son: cefalea, mareos y náuseas(23).

La combinación de fentermina y topiramato fue aprobada también en 2012. La fentermina es un agente noradrenérgico y el topiramato es capaz de reducir el apetito al antagonizar los receptores del glutamato (agente orexígeno). Además, este último componente inhibe la anhidrasa carbónica y aumenta la actividad del ácido gamma-amino-butírico (GABA)(23). El hecho de combinar los dos compuestos tiene como finalidad potenciar sus efectos y disminuir los efectos secundarios. En los resultados de metanálisis, presenta una OR de 9,22 (IC 95%: 6,63-12,85) de alcanzar una pérdida  $\geq$  5% del peso respecto al placebo(33). Fue rechazado por la EMA en 2013 por riesgo cardiovascular incierto a largo plazo de la fentermina y la asociación del topiramato a alteraciones en la atención, la memoria y una posible teratogenicidad(23).

Los fármacos comercializados en Europa para la obesidad son: el orlistat, la combinación de bupropión-naltrexona y la liraglutida 3 mg.

El orlistat está comercializado en Europa desde 1998 y cuyo mecanismo de acción se relaciona con la inhibición de la absorción de las grasas de la dieta al inhibir parcialmente la acción de las lipasas gástrica y pancreática. Esto causa una serie de efectos secundarios como flatulencia, heces grasientas o aumento de deposiciones. Entre el 35-73% de los sujetos perdieron  $\geq$  5% del peso inicial, lo que supone una OR de 2,70(IC 95%: 2,34-3,09)(33). Está contraindicado en pacientes con síndrome de malabsorción intestinal, colestasis o nefrolitiasis por oxalatos(34).

El bupropión inhibe la recaptación de norepinefrina y dopamina, involucrados en la regulación del apetito y mecanismos de recompensa. Capaz de estimular las neuronas POMC que, a su vez liberan la hormona estimulante de melanocitos ( $\alpha$ -MSH) para unirse a los receptores hipotalámicos melanocortina-4 (MC-4), que tienen una potente acción anorexígena. Las neuronas POMC simultáneamente liberan una  $\beta$ -endorfina que actúa sobre los receptores opioides- $\mu$ . La  $\beta$ -endorfina reduce la liberación de  $\alpha$ -MSH desde las neuronas POMC, por un mecanismo de control retroalimentado. La naltrexona bloquearía esta acción de feedback de la endorfina, prolongando así la acción anorexígena de la  $\alpha$ -MSH. Su asociación fue aprobada en Europa en 2015 y aproximadamente un 50% de los individuos perdieron  $\geq$  5% del peso inicial, lo que supone una OR de 3,96 (IC 95%: 3,03-5,11)(33). Está contraindicado en pacientes



con HTA descontrolada, trastornos del comportamiento alimentario, depresión grave, uso concomitante con fármacos anticomociales, inductores del CYP2B6 o IMAO.

La liraglutida es un análogo de la incretina péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP-1) que se libera en las células L intestinales tras la ingesta de alimentos. Tiene un vida media mucho más prolongada que el GLP-1 nativo, ya que es resistente a la degradación enzimática de la dipeptidilpeptidasa-IV (DPP-IV) e incrementa la liberación de insulina tras la ingesta de la comida y frena la acción hiperglucemiante del glucagón(35). A nivel central, interviene principalmente sobre los núcleos hipotalámicos, estimulando directamente las neuronas de las vías anorexígenas POMC y CART (transcriptasa relacionada con la cocaína-anfetamina) e indirectamente inhibiendo los neurotransmisores en neuronas que expresan neuropéptido-Y y de proteína r-agouti (AGRP), vía GABA, en el núcleo arcuato del hipotálamo. Produce además un enlentecimiento del vaciamiento gástrico que ayuda a implementar la sensación de plenitud y saciedad tras la ingesta. Consiguiendo así una OR de 5,54(IC 95%: 4,16-7,78) de probabilidades de que los sujetos en tratamiento pierdan  $\geq 5\%$  del peso inicial frente a placebo(33). Está contraindicado en pacientes con neoplasia endocrina múltiple (MEN-2), antecedentes de carcinoma medular de tiroides, presencia de pancreatitis o colecistitis.

Otros fármacos como la tesofensina (inhibidor de la recaptación de noradrenalina, dopamina y serotonina(36)) o el beloranib (inhibidor de la metionina aminopeptidasa-2(MetAP2)) que reduce la síntesis grasa, favorece su oxidación y la lipólisis consiguiendo así un efecto dual de incrementar el metabolismo graso y reducir la sensación de apetito(37). Han demostrado su eficacia en la pérdida de peso, pero su desarrollo fue detenido por posibles efectos secundarios graves.

En los próximos años se prevé que tendrá un mayor protagonismo la combinación de moléculas con diferentes mecanismos de acción para potenciar los efectos en la baja de peso y disminuir los efectos secundarios. Se está ensayando asociaciones de fármacos conocidos como bupropión-zonisamida o de fentermina-lorcaserina; además de los agonistas duales o triagonistas de hormonas gastrointestinales (GLP1 junto a análogos de glucagón, oxintomodulina o GIP). Los nuevos fármacos tendrán que superar los efectos secundarios a nivel central y de riesgo cardiovascular que han hecho fracasar en el pasado a otros que les precedieron(38).

#### 1.4.3. Cirugía bariátrica

La cirugía está indicada en individuos con IMC mayor de 40 kg/m<sup>2</sup> o mayor de 35 kg/m<sup>2</sup> con comorbilidades asociadas que hayan fracasado tanto con las modificaciones del estilo de vida como tras el tratamiento farmacológico(27).

## **2. Cirugía bariátrica**

El aumento de la prevalencia de la obesidad mórbida, junto a los resultados poco prometedores a largo plazo del tratamiento médico y cambios de estilo de vida, ha permitido el auge en las últimas décadas de la cirugía bariátrica(39). Según los datos de la Federación Internacional de Cirugía de la Obesidad y Enfermedades Metabólicas (IFSO), a nivel mundial, el número total de intervenciones bariátricas/metabólicas en 2011 fueron de 340.768, aumentando esta cifra a 468.609 cirugías en 2013 (95,7% mediante laparoscopia), siendo el bypass gástrico (BPGY) la técnica más empleada(39,40). Se ha demostrado que además de la pérdida de peso, conlleva una mejoría en el control de la morbi-mortalidad sobre todo en cuanto al riesgo cardiovascular asociado a la obesidad(41). Permite, a través de modificaciones anatómicas del tracto gastrointestinal, conseguir un balance energético negativo, que facilite la pérdida de peso a través de la limitación de la ingesta, asociada o no a la maldigestión y a la malabsorción.

### **2.1. Evolución histórica**

El tratamiento quirúrgico de la obesidad mórbida comenzó a practicarse a partir de los años 70 del siglo XX. En 1967, Edward Mason, publicó por primera vez resultados significativos de pérdida de peso tras la realización de un bypass gástrico(42). Antes de este trabajo, se ensayaron técnicas de bypass yeyunoileales, que fueron desechados debido a un alto riesgo de desarrollo de cirrosis hepática y malabsorción(43).

La gastroplastia vertical se comenzó a practicar en los años 80, y en la misma época otros cirujanos más agresivos comenzaron a realizar resección gástrica con bypass del intestino delgado. Esta intervención ha sufrido modificaciones durante las siguientes décadas y actualmente se realiza bajo el término de bypass gástrico.

La técnica del anillo gástrico fue introducida en 1983 y fueron muchas las intervenciones realizadas en Europa, por lo que en 2001 recibió el reconocimiento de la FDA. La gastrectomía vertical (sleeve) es una intervención más reciente (2003) descrita inicialmente como parte de la derivación biliopancreática y que posteriormente se demostró su eficacia de forma independiente.

El avance más importante en los últimos 50 años en la cirugía bariátrica es probablemente la posibilidad de la realización de la intervención por laparoscopia. Permite una cirugía con menos complicaciones y una estancia hospitalaria más corta. En la actualidad, alrededor del 97% de las intervenciones bariátricas, bien sean iniciales o reintervenciones, se realizan por vía laparoscópica(43).

## 2.2. Indicaciones de la cirugía bariátrica

Resulta fundamental seleccionar adecuadamente a los candidatos a someterse a este tipo de tratamiento dado que no está exento de riesgos y complicaciones. La evaluación previa deberá ser lo más completa posible, con un protocolo establecido y por un equipo multidisciplinario que incluya endocrinólogos, cirujanos, psicólogos, psiquiatras, neumólogos, anestesistas, enfermeros, dietistas, etc. (44)

En 1991 la NIH (Institutos Nacionales de la Salud) recomendaba la cirugía bariátrica en individuos con  $IMC \geq 40 \text{ Kg/m}^2$  o  $IMC \geq 35 \text{ Kg/m}^2$  con al menos una comorbilidad asociada(45). Desde entonces se ha ido actualizando los criterios de inclusión, sobre todo en la última década, al observarse mejoría tras la cirugía del control metabólico, especialmente en la DM2. Esto es debido a la existencia de mecanismos de control metabólico independientes de la pérdida de peso producidos por las alteraciones del tracto gastrointestinal de la cirugía bariátrica(46). Con todo esto, en 2013 la Sociedad Americana de Cirugía Bariátrica y Metabólica extendió las indicaciones de la cirugía a individuos con  $IMC$  entre 30 y  $35 \text{ Kg/m}^2$  y DM2(47). A nivel nacional, en 2013 las diferentes sociedades de Endocrinología y Cirugía firmaron un documento en el cual se incluye la cirugía como opción terapéutica de los pacientes DM2 con  $IMC > 30 \text{ kg/m}^2$ (48).

Indicaciones	Contraindicaciones
Edad 18-60 años	Enfermedad psiquiátrica no controlada
$IMC \geq 40 \text{ Kg/m}^2$	Abuso de alcohol u otras drogas
$IMC \geq 35 \text{ Kg/m}^2$ asociado a comorbilidades que se espera mejorar tras la cirugía (DM 2, HTA, SAHS, etc.)	Enfermedad crónica no controlada que comprometa la supervivencia a corto plazo
$IMC 30-35 \text{ kg/m}^2$ asociado a DM 2 de difícil control a pesar de la optimización del tratamiento convencional y asociado a otras comorbilidades.	Riesgo elevado para la cirugía bariátrica

Tabla 3. Indicaciones y contraindicaciones de la cirugía bariátrica(49).

Su utilización en adolescentes requiere un protocolo específico y en las personas mayores de 60 años se puede considerar en base a criterios individuales condicionado en gran medida por la comorbilidad que se asocie(49).

## 2.3. Técnicas quirúrgicas

Los procedimientos quirúrgicos empleados, se clasifican en restrictivos (limitación de la capacidad gástrica), malabsortivos (limitación de la absorción de los nutrientes) y mixtos. Los más empleados son el bypass gástrico Y en Roux y la gastrectomía vertical, le siguen la banda gástrica ajustable y la derivación biliopancreática(44).

### 2.3.1. Bypass gástrico Y en Roux

Esta intervención se compone de tres fases y dos anastomosis. Primero se crea un pequeño reservorio gástrico de unos 15-30mL, separado del resto de estómago limitando así la ingesta. Después se secciona el yeyuno a los 40-50cm tras el ángulo de Treitz y se realiza la anastomosis gastroyeyunal entre el reservorio gástrico y el extremo distal del yeyuno seccionado. La longitud de esta asa alimentaria puede variar de 75 a 150cm. Por último se realiza otra anastomosis entre la parte distal del asa alimentaria y el extremo proximal del yeyuno (asa biliar) seccionado inicialmente, dando lugar así a una anastomosis gastroyeyunal en Y de Roux con dos asas (alimentaria y biliopancreática) generando así, cierto grado de malabsorción(43,44). Por lo tanto se trata de una técnica mixta. La exclusión del duodeno y el yeyuno proximal puede prevenir las secreciones de sustancias anti-incretínicas y la presencia precoz de los alimentos al yeyuno distal estimula agentes incretínicos como el GLP-1, mejorando así la sensibilidad a la insulina independientemente de la pérdida de peso(44).

Es el procedimiento más utilizado y se consigue una pérdida de peso de entre el 60 y 70 % del exceso de peso y una disminución de las comorbilidades, con una tasa de complicaciones aceptable.

### 2.3.2. Gastrectomía vertical

También llamada gastrectomía tubular, manga gástrica o “sleeve gástrico”. Consiste en la exéresis vertical de la porción izquierda del estómago y el fundus, aproximadamente el 80%, dejando una porción gástrica alargada que mantiene una continuidad normal con el intestino. Aunque se trata de una técnica puramente restrictiva, se cree que se produce una modificación en la secreción de ciertas hormonas gastrointestinales como la ghrelina, secundaria a la exéresis del fundus dando lugar a un aumento de la saciedad y una disminución de la sensación de hambre(43). Presenta buenos resultados en la pérdida de peso, se estima un 50 a 70% del exceso de peso o una reducción de 12-16 puntos de IMC en el primer año, con una tasa de complicaciones más baja, pero los resultados a largo plazo podrían ser peores que los del bypass gástrico(50).

### 2.3.3. Banda gástrica ajustable laparoscópica

Consiste en la colocación de una banda de silicona a nivel del fundus gástrico, unido a un reservorio percutáneo que permite ajustar la magnitud de la compresión. Se emplea generalmente en pacientes con grados menores de obesidad o en pacientes con elevado riesgo quirúrgico. La pérdida ponderal es menor que la que se produce con otras técnicas, 34% del exceso de peso en un año o una disminución de 7 a 10 puntos de IMC(50), precisando en un porcentaje elevado de reconversiones a otras técnicas(43).

### 2.3.4. Derivación biliopancreática con cruce duodenal

Es una técnica mixta con predominio del componente malabsortivo. Se realiza una gastrectomía tubular con preservación pilórica. Se secciona la porción distal del íleon a 250cm

de la válvula ileocecal y se anastomosa al reservorio gástrico (asa alimentaria). Se completa la operación con otra anastomosis, ileoileal, que se realiza a 100cm de la válvula ileocecal (asa biliopancreática). Todo ello conlleva un bypass de más de un 50% del intestino delgado que origina una malabsorción importante, principalmente de las grasas. Está especialmente indicada en formas más graves de obesidad ya que la pérdida de peso se encuentra en un 70-80% del exceso de peso y una reducción de 16 puntos en IMC a los dos años de la cirugía, siendo también más frecuentes las complicaciones como deficiencias de micronutrientes(44).

Nuevas técnicas quirúrgicas se encuentran en desarrollo, como es el caso del mini-bypass o bypass en omega, que consiste en la realización de una sola anastomosis duodeno yeyunal con sleeve gástrico sin necesidad de una diversión en Y de Roux para evitar el reflujo alcalino. A este desarrollo también se acompaña el ámbito tecnológico, permitiendo la realización de cirugías con un solo trócar e incluso cirugía robótica(43).

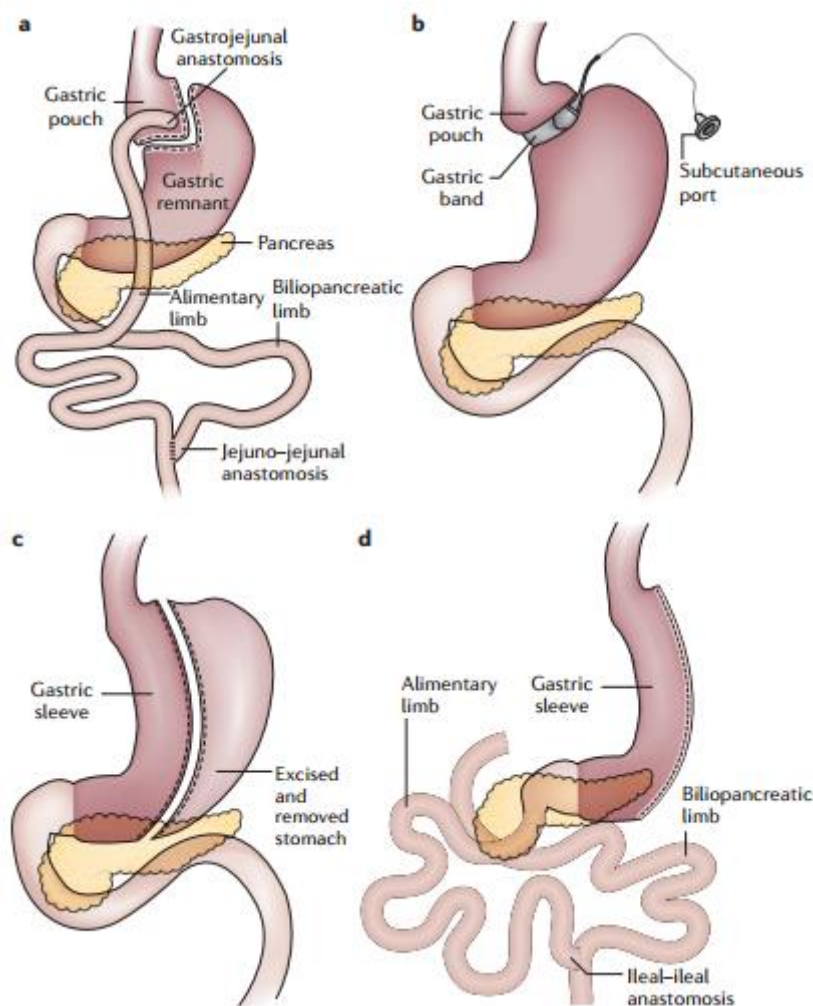


Figura 2. Técnicas de cirugía bariátrica. a. Bypass gástrico Y en Roux. b. Banda gástrica ajustable c. Gastrectomía vertical. d. Derivación biliopancreática(44).

No existe un acuerdo, ni una recomendación concreta para utilizar una técnica u otra, por lo que la indicación será individualizada según las características del paciente. En general, las técnicas con componente malabsortivo se reservan para pacientes con grados mayores de obesidad o comorbilidad importante(49).

#### 2.4. Complicaciones

En las últimas dos décadas ha mejorado mucho la seguridad en la cirugía bariátrica con el desarrollo de las nuevas tecnologías como la revolución laparoscópica y el aumento en la experiencia técnica de los cirujanos. Esto ha permitido la reducción del tiempo quirúrgico, la estancia hospitalaria y el número de complicaciones. La mortalidad a corto plazo tras la cirugía se sitúa del 0,04% a 0,3%(51) y solo en el 1% de las cirugías laparoscópicas acaban en una conversión a cirugía abierta(52).

Las complicaciones perioperatorias más frecuentes son: las infecciones, la hemorragia, la dehiscencia de la anastomosis y las complicaciones trombóticas. Las complicaciones quirúrgicas van en función de la técnica practicada. En la siguiente tabla se muestra las complicaciones postquirúrgicas de la técnica más empleada en la actualidad.

Frecuencia	Leve	Moderada	Severa
<b>&gt;5%</b>	Náuseas y vómitos autolimitados (hasta un 100%).	-Úlcera anastomótica (8%). -Estenosis anastomótica (7%). -Déficit de vitaminas y minerales (hasta un 50%). -Síndrome de dumping (hasta un 75%).	-Náuseas y vómitos con deshidratación que requiera ingreso (5%). -Reintervención por cualquier causa (menor del 5%).
<b>1-5%</b>	Empeoramiento de la función renal autolimitado.	-Hemorragia abdominal o anemia que requiera de transfusión sanguínea (5%). -Neumonía (4%). -Herniación u obstrucción del intestino delgado (4%). -Infección de la herida (3%). -Arritmia sin inestabilidad hemodinámica (2%). -Cálculos biliares (sintomáticos en un 2%).	-Reintervención por hemorragia abdominal (2%). -Dehiscencia de anastomosis (2%).
<b>&lt;1%</b>			- Arritmia inestable o infarto miocárdico (<1%). - TEP, insuficiencia respiratoria (0.5%). - Riesgo general de la mortalidad quirúrgica (0,3%).

Tabla 4. Complicaciones asociadas al bypass gástrico Y en Roux(53)

La pérdida excesiva de peso, la desnutrición proteica y el déficit de micronutrientes son las complicaciones nutricionales más frecuentes, por lo tanto, es de gran importancia el seguimiento analítico posterior para aportar la suplementación necesaria(53). Cabe hacer una mención especial al síndrome de dumping que ocurre con mucha frecuencia tras la realización, sobre todo, de técnicas que excluyen el duodeno. Los síntomas característicos son: náuseas, temblor, sudoración, taquicardia e incluso hipoglucemia(53). Se cree que se produce por la llegada rápida al yeyuno de un contenido alimenticio de alta osmolaridad y también por aumento de la secreción de hormonas con efecto incretínico. El tratamiento consiste en medidas dietéticas evitando el consumo de carbohidratos de absorción rápida y fraccionar la ingesta a lo largo del día.

Se han identificado factores de riesgo que incrementan la morbi-mortalidad postquirúrgica, y son: el género masculino, la edad mayor de 50 años, la insuficiencia cardiaca, la enfermedad vascular periférica y la insuficiencia renal(54).

## **2.5. Resultados**

La cirugía bariátrica es la única intervención que ha demostrado eficacia en la pérdida de peso a largo plazo. Ésta se define como la pérdida de porcentaje de exceso de peso (%EWL), siendo la cirugía efectiva si supera el 50%. No obstante, un 15-20% de los sujetos que se someten a la cirugía, no consiguen alcanzar este objetivo(55). Con la gastrectomía vertical se puede conseguir un %EWL de 76% a los 5 años y un 67% a los 8 años(56) y con el bypass gástrico 72% a los 2 años y 52,7% a los 10 años tras la cirugía(57). La remisión o mejoría del control de la DM2 tras la cirugía bariátrica ya es un hecho, llegando a considerarse la mejor terapia para pacientes con obesidad, siendo superior a las modificaciones del estilo de vida y al tratamiento médico óptimo(58). La remisión de la DM2 puede alcanzar a un 77% tras el bypass gástrico, siendo este resultado similar en pacientes tanto con IMC mayor de 35 como con un IMC menor(59). Un reciente metanálisis mostró que la cirugía, ya no solo disminuye la prevalencia de DM 2, sino que también puede mejorar sus complicaciones microvasculares, sobre todo la nefropatía diabética(60). La resolución de la resistencia a la insulina llega a un 84,7% y de la dislipemia un 80,7% a los 5 años(61). La HTA también se ve afectada por la cirugía bariátrica con una remisión del 66% a los 5-7 años(62). Todo esto conlleva a una reducción del riesgo cardiovascular, reduciendo la puntuación de Framingham a la mitad tras un año de la cirugía(63). Cabe resaltar que estos efectos beneficiosos en la comorbilidad parece que son independientes a la pérdida de peso, ya que se obtienen incluso en pacientes, que no logran el objetivo de pérdida de peso (EWL <25%) o que presentan reganancia de peso tras años de la cirugía(64).

Dado que hasta un 20% de los pacientes no alcanzan la reducciones ponderales esperadas incluso un subgrupo tiene reganancias es muy importante conocer los factores que influyen en este mal resultado. La base genética del individuo o su interacción con el ambiente (epigenética) podría ser un factor importante que explique el problema planteado.

### 3. Epigenética

Durante los últimos años ha habido un creciente interés sobre el estudio de la epigenética, debido a la importancia del papel que presentan los factores ambientales en el desarrollo de las diferentes patologías. El término epigenética fue descrito por primera vez, a principios de los años 40, por Conrad Waddington como “la rama de la biología que estudia las interacciones causales entre genes y sus productos que dan lugar al fenotipo”(65). En la actualidad se define como el estudio de los cambios heredables en la expresión genética en el que no existen modificaciones en la secuencia del ADN(66). Todos nuestros tejidos presentan los mismos genes, pero sólo unos pocos se expresan en un determinado tejido dando lugar al fenotipo. Esto es debido a que los patrones epigenéticos específicos condicionan la accesibilidad de los factores de transcripción a la cromatina facilitando su reconocimiento, para ser silenciados temporal o permanentemente. Estas marcas epigenéticas pueden ser hereditarias, bien por mitosis o en algunos casos por meiosis. Lo que permite explicar los mecanismos no dependientes de la secuencia genética por los que el factor ambiental contribuye a regular la expresión genética, actuando como un “diálogo” entre la genética y el ambiente. Es conocido que los factores ambientales pueden provocar cambios epigenéticos y son dependientes de cada tejido y tipo celular. Al contrario de los polimorfismos genéticos, las marcas epigenéticas no son permanentes, sino que son potencialmente reversibles(67). Esta reversibilidad tiene un especial interés a la hora de diseñar un tratamiento para su reversión. La susceptibilidad a los cambios en la epigenética varía en las diferentes etapas de la vida, las épocas fetal y prenatal son las que existen mayor predisposición, son las llamadas ventanas epigenéticas.

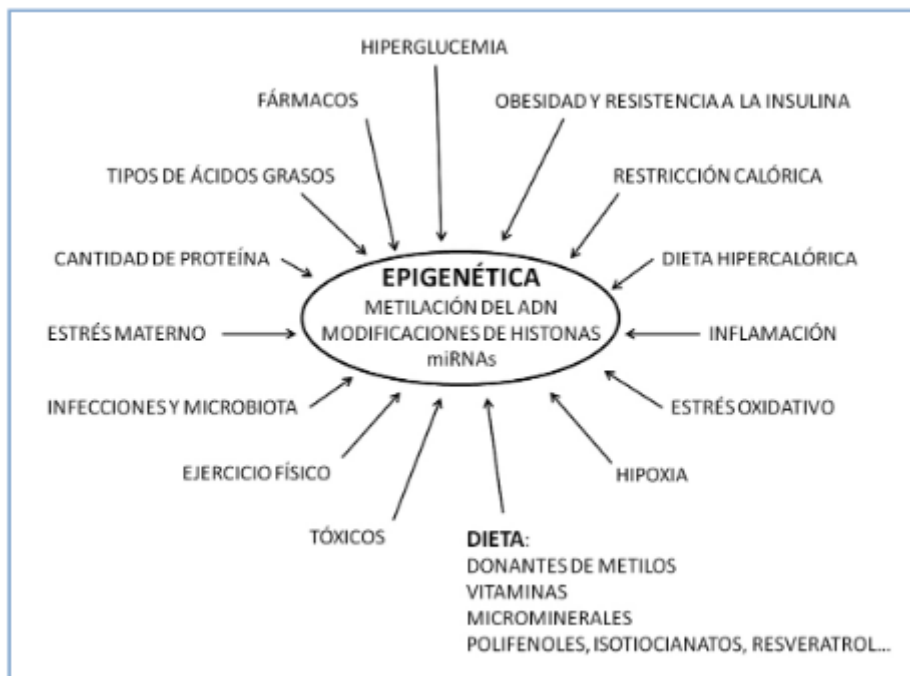


Figura 3. Factores nutricionales que se han asociado con cambios epigenéticos(67).



### 3.1. Patrones epigenéticos

Los principales mecanismos epigenéticos conocidos que regulan la expresión génica son:

#### 3.1.1. Metilación del ADN

Es la modificación epigenética mejor estudiada. Regula la expresión de los genes a través del proceso de la transcripción genética, siendo crucial en la diferenciación celular en los diferentes tejidos(68). En los mamíferos, de las cuatro bases del ADN, solo la citosina es fisiológicamente modificada a un análogo llamado 5' metilcitosina por la agregación de un grupo metilo (-CH<sub>3</sub>) en el carbono 5 del anillo de pirimidina. Este proceso se denomina metilación y se da en aquellos residuos de citosina que van seguidos de un nucleótido de guanina. Esta reacción es catalizada por un grupo de enzimas denominadas ADN metiltransferasas(DNMTs), que son divididas en grupos de acuerdo al ADN que utilizan como sustrato(65):

- A. Metiltransferasas de novo (DNMT3a y DNMT3b) son responsables de la adición de grupos metilos a citosinas en regiones CpG que no habían sido metiladas con anterioridad.
- B. Metiltransferasa de mantenimiento (DNMT1) realiza la copia de patrones de metilación preexistentes en cadenas de ADN nuevas durante la replicación, manteniendo el patrón de metilación de ADN durante la división celular. Este proceso es guiado por la presencia de CpG hemi-metilados.

Los dinucleótidos CpG no están distribuidos de manera uniforme en el genoma, sino que aproximadamente el 60% están concentrados en las regiones promotoras de los genes formando las llamadas "islas CpG". Éstas están constituidas por la agrupación de los sitios CpG de tamaño igual o superior a 500 pares de bases y con un porcentaje de CpG mayor del 50%(68,69). Normalmente las "islas CpG" no se encuentran metiladas, a diferencia de las secuencias CpG dispersas en las que del 60-90% se encuentran metiladas(70).

El grado de metilación de las islas CpG localizadas en la región promotora de un gen se relaciona de forma inversa a la expresión de ese gen. En términos generales, la hipermetilación se asocia a la inhibición de la transcripción mientras que la hipometilación con su activación(71). A nivel molecular, existirían dos mecanismos principales por los cuales la metilación del ADN inhibiría la expresión génica(72):

- A. La modificación de la citosina inhibiría la unión de factores activadores de la transcripción sobre el ADN, impidiendo así la expresión génica.
- B. Una serie de proteínas que tienen la capacidad de reconocer y unirse a la 5' metilcitosina(MBDs) por medio de diferentes dominios proteicos (MeCP2, MBD1, MBD2, MBD3 y MBD4) ejerciendo su capacidad represiva sobre la expresión del ADN metilado por mecanismos aún desconocidos.

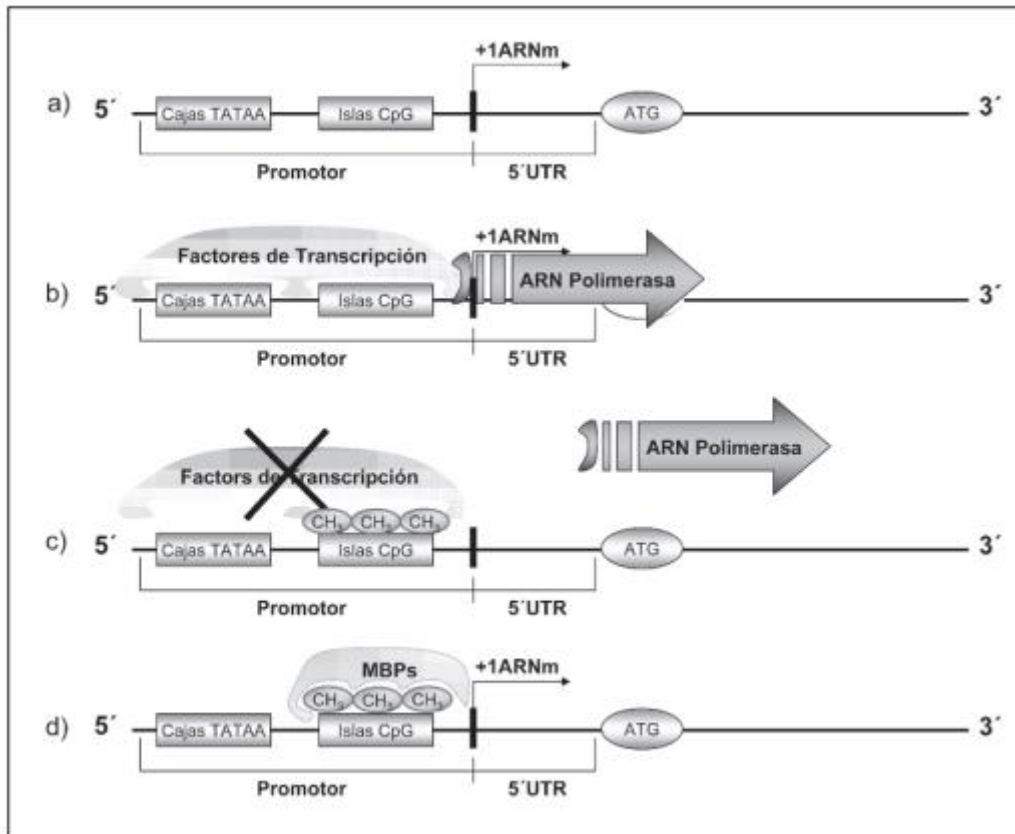


Figura 4. Inhibición de la transcripción génica por medio de metilación. a) Esquema de un promotor clásico. b) La unión de los factores de transcripción a los elementos promotores permite que se ubique correctamente la ARN polimerasa y comience con la transcripción. c) La adición de grupos metilos a las citosinas impide la unión de los factores de transcripción inhibiendo la transcripción. d) La unión de proteínas que reconocen metilcitosina (MBDs) inhiben la transcripción(72).

Cabe señalar que la función de la metilación del ADN no solo está en la expresión/represión de la transcripción, sino también está asociada al mantenimiento de la integridad del genoma por la supresión de la recombinación mitótica y/o la contribución a la segregación de los cromosomas durante la mitosis(72).

### 3.1.2. Modificaciones postraduccionales de histonas

El nucleosoma es la unidad fundamental de la cromatina y está compuesto por un octámero de histonas: 2 copias de 4 proteínas denominadas H2A, H2B, H3 y H4, rodeada de 1,7 vueltas de ADN (146pb). Estas proteínas presentan un dominio globular mediante el cual interactúan para formar el octámero y una cola flexible que interacciona con el ADN(72).

Cada nucleosoma se une al siguiente por un pequeño segmento del ADN y puede encontrarse condensado o relajado, impidiendo o permitiendo la transcripción respectivamente. Las modificaciones postraduccionales de las histonas contribuyen a la regulación de la expresión génica permitiendo o bloqueando el acceso de la maquinaria de la transcripción a la

cromatina. Las modificaciones más conocidas son: la acetilación, la metilación, la fosforilación, la ubiquitinación y la ADP-ribosilación; y son catalizadas por hasta 50 diferentes enzimas específicos de cada tipo de modificación(73)

Con todo esto se ha postulado la teoría del “código de histonas”, en el que según las modificaciones que presenten en las colas amino-terminales de las histonas determinarán un efecto activador o represor sobre la expresión de un gen(74).

### 3.1.3. ARN no codificante

Existen moléculas de ARN que no codifican proteínas (ncARN) y tienen su origen en segmentos de ADN intrónico de genes codificantes de proteínas así como en intrones y exones de genes de productos no proteicos. La idea de que ARN no codificantes pudiesen regular la expresión de genes fue propuesta en los años 60, aunque los mecanismos implicados han comenzado a conocerse en los últimos años. Se ha visto que menos de un 5% de los ARN que son transcritos codifican para alguna proteína siendo el resto ARN no-codificantes, dentro de los cuales una gran parte participa en mecanismos de regulación de expresión de genes (ncARN reguladores). Dentro de los principales ncARN reguladores se encuentran los ncARN largos (lncARN), los ARN asociados a Piwi (piARN), los pequeños ARN interferentes (siARN) y los micro ARN (miARN)(75,76).

De esta manera el ARN tiene una función epigenética a parte de las ya conocidas de transcripción y traducción.

## 3.2. Epigenética y obesidad

Los cambios epigenéticos están relacionados con diferentes patologías entre las que se encuentran la obesidad y la DM2, resultado de las interacciones entre la nutrición, el ejercicio físico y el perfil genético. Existe evidencia de que las personas obesas tienen un patrón epigenético diferente al de las que no lo son, pero sería necesario determinar si esta diferencia es debida intrínsecamente a la obesidad o a sus comorbilidades; o en cambio es por influencia de los nutrientes más frecuentes de la dieta, la exposición de otros factores ambientales o la herencia(77).

Por una parte, se ha visto que los perfiles de metilación de los individuos obesos tras perder peso se asemejan más a los individuos no obesos que a los que lo son. La restricción energética en la dieta y la pérdida de peso implican cambios en los patrones epigenéticos. Esto hace pensar que bien algunos perfiles de metilación son una consecuencia del fenotipo obeso o bien que una marca de metilación determinada predispone a las personas a convertirse en obesas. Por lo que aún está por demostrar si esta relación que existe es causa o consecuencia. Así pues, los perfiles de metilación podrían servir como marcadores tempranos del riesgo de desarrollo de la enfermedad(78).

Por otra parte, también existen diferencias en los niveles de metilación entre sujetos que consiguen la pérdida de peso con éxito y los que fracasan (considerando fracaso una pérdida

menor del 5% del peso). En un estudio de intervención, se ha visto diferencias de niveles basales de metilación (en células mononucleares de sangre periférica) en los genes ATP10A y CD44 entre los pacientes que presentaban buena respuesta en la pérdida de peso tras la dieta y los que no. Además de contar con niveles de metilación más elevados en el promotor WT1 (gen relacionado con la obesidad) en los más respondedores una vez acabada la intervención dietética(79). Otro estudio similar analizó las diferencias del patrón epigenético de los diferentes genes en la grasa subcutánea antes y después de la intervención dietética, encontrándose también diferencias entre los dos grupos; entre los genes más relevantes se encontraron GLIS3 (gen asociado a la DM2), INSM1, y CCKBR. Tras la reducción de peso, el cambio más relevante observado en el tejido adiposo subcutáneo fue la hipermetilación traduciéndose en una reducción en la expresión genética en el locus 5q13 afectando al gen ENC1(80).

Entre los genes más conocidos relacionados con la obesidad, se ha estudiado los niveles de metilación en promotores del TNF- $\alpha$  o de la leptina, tanto en tejido adiposo subcutáneo como en células mononucleares de sangre periférica. En los dos casos se ha visto que los niveles son más bajos en sujetos respondedores a la pérdida de peso que el grupo de los no respondedores(81,82). Así la determinación de los patrones de metilación basales podría ser útil en la predicción de la pérdida de peso.

### **3.3. Epigenética y cirugía bariátrica**

En los últimos años, varios estudios han propuesto que las modificaciones epigenéticas podrían relacionarse con la respuesta a la cirugía bariátrica. Al igual que en el cambio del estilo de vida, la cirugía bariátrica modifica el patrón de metilación de ADN en diferentes genes. Estas modificaciones podrían contribuir tanto a la pérdida de peso como a los beneficios a nivel metabólico que se observan tras la cirugía.

Los estudios que analizan las diferencias de los niveles totales de metilación de los diferentes tejidos entre pacientes obesos antes y después de la cirugía muestran resultados muy variables, probablemente debido a las diferentes técnicas utilizadas, y poco concluyentes(68). En el caso del músculo esquelético, no se ha visto diferencias significativas entre sujetos obesos y no obesos ni tras la cirugía(83). En cuanto al tejido adiposo, en un estudio se ha visto que los niveles totales de metilación fueron mayores antes que después de la cirugía, tanto en el tejido adiposo subcutáneo como en el visceral(84). Otro estudio, en el que se analizaron los niveles totales de metilación de los adipocitos del tejido adiposo subcutáneo entre mujeres no obesas y mujeres tras dos años tras la cirugía bariátrica siendo estos niveles menores en el grupo de las postbariátricas(85). Por último en la sangre periférica no se ha visto diferencias de niveles totales de metilación tras la cirugía(86,87).

Por otra parte, los estudios que analizaron la metilación del ADN en genes específicos muestran que la cirugía bariátrica sí que modifica los patrones de metilación del ADN. En el músculo esquelético se estudiaron los niveles de metilación de los promotores de los genes PGC1 $\alpha$  y PDK4. Ya se había visto diferencias de metilación de estos genes entre sujetos

diabéticos y los que no lo son. Tras la cirugía bariátrica hay una disminución de la metilación en los promotores de PGC1 $\alpha$  y un aumento en los del gen PDK4. Los autores concluyeron que el patrón de metilación de estos promotores podría haber sido alterado por la obesidad y tras la pérdida de peso en consecuencia de la cirugía se había normalizado(83). En el tejido adiposo (tanto subcutáneo como visceral) se ha visto también cambios en los patrones de metilación en genes relacionados con la obesidad como son: CETP, FOXP2, HDAC4, DNMT3B, KCNQ1 y HOX(84). En el hígado, se objetivó cambios en los patrones de metilación de genes que podrían estar relacionados con la mejora de la esteatosis no alcohólica tras la cirugía(88). En la sangre periférica, Kirchner et al. demostraron que los niveles de metilación de los genes PPARGC1A, IL1B, IL6 y TNF- $\alpha$  descendían a los dos días de la cirugía, mientras que los de los promotores de PDK4, IL1b, IL6 y TNF- $\alpha$  aumentaban al año de la misma. Estas diferencias epigenéticas son mayores que las observadas en pacientes que conseguían pérdida de peso tras la realización de la dieta(86). En cuanto a la metilación del promotor TNF- $\alpha$  se ha visto diferencias entre obesos diabéticos y no diabéticos, que desaparecían tras la cirugía(87).

Con todo esto, la epigenética continúa siendo un tema emergente en el que es necesario más estudios para poder determinar qué marcadores podrían servir para establecer la respuesta de la cirugía bariátrica y/o identificar marcas epigenéticas que puedan predecir de forma temprana el riesgo metabólico y desarrollar tratamientos para retrasar los cambios epigenéticos o revertirlos.



## **II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**





# HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

La cirugía bariátrica es la opción terapéutica de elección en la obesidad mórbida cuando han fracasado los cambios del estilo de vida y el tratamiento farmacológico. Además, permite la mejora de las complicaciones y comorbilidades asociadas. Pero los beneficios obtenidos tras una misma técnica quirúrgica no son los mismos en todos los pacientes.

Se ha visto diferencias de patrones de metilación en promotores de diferentes genes entre sujetos obesos y los que no los son, y también cambios de estos patrones tras la pérdida de peso, bien sea tras cambios dietéticos o tras la cirugía bariátrica.

Por lo que debe de haber marcadores epigenéticos, probablemente en genes implicados en procesos metabólicos como la adipogénesis, el metabolismo energético, la inflamación o la regularización del apetito, que condicionen la respuesta de la cirugía bariátrica.

En base a esto **nuestra hipótesis de trabajo es:**

**Debe existir relación entre los parámetros epigenéticos del tejido adiposo y los linfomonocitos de los obesos mórbidos y las diferentes respuestas metabólicas y antropométricas que experimentan tras la cirugía bariátrica.**

Sería interesante conocer qué genes reprimidos o sobreexpresados son los que podrían determinar los cambios producidos en los parámetros metabólicos y antropométricos tras la cirugía bariátrica. Y así saber qué pacientes se beneficiarían en mayor medida de esta técnica quirúrgica.

Aunque ya se han realizado estudios para conocer diferencias entre patrones de metilación en diferentes tejidos en pacientes que se intervienen de cirugía bariátrica, los conocimientos actuales aún siguen siendo limitados por la heterogeneidad de los resultados y el seguimiento a corto plazo de la cirugía, la mayoría hasta 12 meses después de la misma.

Los objetivos de nuestro trabajo son:

### **Objetivo general**

Conocer si el patrón de metilación del ADN de los tejidos (linfomonocitos, tejido adiposo subcutáneo y tejido adiposo visceral) obtenidos durante el BPGY en obesos mórbidos modula la respuesta terapéutica a los dos años de la cirugía.

### **Objetivos específicos**

1. Evaluar el efecto de la cirugía BPGY en variables biológicas (perfil lipídico en ayunas, metabolismo glucídico) y antropométricas (IMC y perímetro de cintura) tras 24 meses de seguimiento.
2. Analizar si existe relación entre el patrón de metilación de ADN de los tejidos obtenidos durante el BPGY y su respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía.
3. Comparar los patrones de metilación en los diferentes tejidos obtenidos en cada uno de los grupos de obesos mórbidos según su respuesta antropométrica.

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**



# MATERIALES Y MÉTODOS

## 1. Sujetos

Se estudiaron 99 pacientes con obesidad mórbida incluidos en el programa de cirugía bariátrica en el Hospital Clínico Universitario de Valencia. Los pacientes fueron seleccionados de forma aleatoria en las consultas externas de la Unidad de Obesidad de nuestro centro e incluidos en el estudio.

### Criterios de inclusión:

Hombres y mujeres entre los 18 y 60 años con obesidad grave-mórbida ( $IMC \geq 34.9 \text{ kg/m}^2$ ).

### Criterios de exclusión:

- Enfermedad renal (creatinina  $> 2 \text{ mg/dL}$ ).
- Insuficiencia cardíaca (NYHA  $\geq$  II).
- Insuficiencia respiratoria (necesidad de oxigenoterapia).
- Cirrosis hepática o colestasis (GGT  $>32 \text{ mU/mL}$ , bilirrubina directa  $> 0.2 \text{ mg/dL}$  o fosfatasas alcalinas  $> 250 \text{ mU/mL}$ ).
- Enfermedad neoplásica.
- Enfermedad cardiovascular arteriosclerótica (infarto agudo de miocardio, angioplastia transluminal, by-passaorto-coronario, angor pectoris con test de esfuerzo positivo, accidente cerebrovascular o claudicación intermitente en los últimos 10 años).
- TSH  $> 10 \text{ mU/mL}$ .
- Ingesta de alcohol  $>30 \text{ g/día}$ .

El estudio fue **aprobado por el comité de ética** de nuestro centro. Antes de la intervención quirúrgica los pacientes fueron informados del estudio y firmaron el consentimiento informado.

## 2. Métodos

Los parámetros recogidos fueron:

### 1. Clínicos

- Fármacos de uso habitual u ocasional.
- Ejercicio físico realizado (minutos / semana).
- Consumo de alcohol (gramos / día).

- Registro del hábito tabáquico (cigarros/día y dosis acumulada en paquetes / año) y tiempo desde que se abandonó el hábito (en años).
- Años de evolución de la obesidad.
- Problemas cardiovasculares presentados hasta la fecha de inclusión.
- Procesos de tipo inflamatorio, infeccioso o alérgicos padecidos.
- Determinación de la presión arterial con esfigmomanómetro.

## 2. Antropométricos

- Peso en kilogramos.
- Talla en metros.
- Índice de masa corporal (IMC) en kg/m<sup>2</sup>.
- Perímetro de cintura, determinado en el punto medio entre el borde costal inferior y la cresta iliaca, expresado en centímetros.

## 3. Bioquímicos

- Hemograma y bioquímica estándar.
- Colesterol total (CT) y triglicéridos por método colorimétrico en situación basal tras 12 horas de ayuno.
- cHDL tras precipitación con polianiones.
- cLDL en mg/dL calculado mediante la fórmula de Friedewald [cLDL = CT – (cHDL + TG/5)]. En caso de hipertrigliceridemia (TG > 400 mg/dL) se empleará la determinación de colesterol no-HDL.
- Ácidos grasos libres por método enzimático colorimétrico.
- Apoproteínas B y A1 por inmunoturbidimetría.
- Glucemia por método enzimático e insulinemia por ELISA.
- Cálculo del índice de HOMA [HOMA-IR = (glucosa x insulina) / 22,5].

## 4. Genéticos

- ADN de muestras de tejido adiposo (subcutáneo y omental).
- ADN de linfo-monocitos de sangre periférica extraídos junto con el análisis de parámetros basales.

## 3. Diseño del estudio

Se trata de un estudio prospectivo, longitudinal y analítico. En todos los sujetos estudiados se recogieron datos clínicos, antropométricos y bioquímicos 7 días antes de la cirugía y a los dos años de la misma. Además, se analizaron marcadores epigenéticos en la sangre periférica (linfomonocitos) y en el tejido adiposo (subcutáneo y omental) obtenidos durante la intervención del bypass gastroyeyunal.

Se evaluaron las variaciones de los datos antropométricos y bioquímicos obtenidos antes y tras dos años de la cirugía BPGY, y su relación con los distintos patrones de metilación del ADN de los tejidos obtenidos.

## **4. Método de extracción de células del tejido adiposo**

Las muestras de tejido graso omental y subcutáneo (aprox. 5 g) fueron obtenidas al inicio de la intervención del BPGY. Dichas muestras fueron transportadas en criotubos en nitrógeno líquido y posteriormente purificadas para extraer los adipocitos mediante un procedimiento estandarizado para estas células(89). Con las muestras obtenidas de los participantes, se generó un biobanco de adipocitos.

## **5. Método de estudio del patrón de metilación del ADN**

### 5.1 Extracción de ADN:

Para la extracción de ADN se utilizó la tecnología Maxwell de Promega. Con una muestra de 300  $\mu$ L de sangre o 100  $\mu$ g de adipocitos se incubaron con 30  $\mu$ L de proteinasa K y 300  $\mu$ L de tampón de lisis durante 20 minutos a 56°C. Estos reactivos rompen las membranas celulares y las proteínas permitiendo la salida del material genético al exterior y evitando su degradación. Una vez liberado el ADN mediante partículas paramagnéticas de sílice revestido, se realizó la captura, el lavado y la elución del ADN en 100  $\mu$ L de tampón. Se cuantificó el ADN extraído mediante fluorescencia para asegurar la concentración mínima requerida de 12.5 ng/ $\mu$ L y poder continuar su análisis.

### 5.2 Conversión con Bisulfito:

El tratamiento de las muestras con Bisulfito permite convertir las citosinas no metiladas en uracilos sin modificar las citosinas metiladas y así poder ver las diferencias del estado de metilación en las posiciones de interés para el estudio. La citosina tratada sufre un proceso de desaminación y otro de desulfonación hasta convertirse en uracilo. Para esto se utilizó el kit comercial EZ-96 DNA Methylation-Gold (Zymo Research) y se siguieron las indicaciones del fabricante. El resto de las bases no se ven alteradas en este proceso.

### 5.3 Análisis de niveles de metilación global:

La metilación en más de 485.000 sitios fue analizada mediante el sistema “Infinium HumanMethylation450 BeadChip” (Illumina) y el sistema HiScanSQ (Illumina), disponible en la Unidad de Genómica y Diagnóstico Genético del INCLIVA. Para ello, se siguieron las instrucciones del fabricante de los chips y del equipamiento.

A partir de los resultados obtenidos del análisis de los chips de Illumina, se seleccionaron los sitios de metilación, basándonos en:

- Diferencias superiores al 10% en el estado de la metilación entre diabéticos y no diabéticos.
- P valor inferior a 0.001 en la asociación con la DM2.

#### 5.4 Validación de los resultados en los sitios de metilación

Se procedió a la validación de los resultados del paso anterior mediante la secuenciación de los fragmentos de ADN que contenían los sitios de metilación seleccionados.

Para ello, se diseñaron cebadores (fragmentos de ADN con una secuencia determinada de entre 18 a 30 nucleótidos de cadena sencilla) que fueron utilizados en la amplificación mediante PCR de las regiones de interés. Esto se realizó mediante la herramienta web PRIMER 3, previamente se identificó la secuencia de referencia en torno al sitio de metilación de interés. Esta secuencia se sometió también a la conversión con bisulfito para la diferenciación entre citosinas metiladas y no metiladas. La amplificación de las regiones de ADN seleccionadas se realizó mediante una única reacción en mutiplex de todos los fragmentos. Tras ello, se comprobó el resultado mediante electroforesis capilar utilizando el equipo Qiaxcel (Qiagen).

El siguiente paso consistió en añadir barcodes a cada una de las muestras. El barcode es una secuencia de 8 nucleótidos que combinados entre sí permite la identificación inequívoca de la muestra en los pasos posteriores. Para ello se llevó a cabo un nuevo paso de amplificación y comprobación posterior mediante electroforesis capilar utilizando el equipo Qiaxcel (Qiagen).

Una vez obtenido el pool con todas las muestras, se llevó a cabo el proceso de secuenciación utilizando MiSeq de Illumina (secuenciador de nueva generación). Y posteriormente se analizó los resultados obtenidos mediante el propio software de MiSeq con el consiguiente control de calidad.

Por último, se realizó el cálculo del porcentaje de metilación para cada muestra y sitio estudiado.

## **6. Métodos estadísticos**

La población a estudio proviene de pacientes asistidos y diagnosticados de obesidad mórbida seleccionados para cirugía bariátrica del Servicio de Endocrinología y Nutrición de nuestro centro. El tamaño muestral se calculó teniendo en cuenta un error alfa estándar del 5% y un error beta del 20%. Se asume un fracaso terapéutico al año de la cirugía en un 15% de los sujetos. Con esto se estimó una n mínima de 30 sujetos con obesidad. En el estudio se



incluyeron inicialmente a 99 sujetos (pre-cirugía), de los que 68 completaron el seguimiento a dos años.

El estudio estadístico se realizó con el programa informatizado Statistical Package for Social Sciences (SPSS) software (version 20.0, SPSS, Chicago, IL, USA). La comparación de medias se hizo con el test de ANOVA y ANCOVA. La comparación de proporciones con el test de  $\chi^2$  o de Fisher según el número. Las correlaciones simples se estimaron mediante el cálculo del coeficiente de correlación de Pearson. Se comparó mediante la prueba t-student para datos apareados los parámetros en situación basal y tras la cirugía.

El análisis de metilación fue realizado con el GenomeStudio® Software v2010.3” usando la aplicación “Methylumi” e “IMA” (Wang D, Yan L, Hu Q, et al. IMA: an R package for high-throughput analysis of Illumina’s 450K Infinium methylation data. Estos sistemas permiten el análisis de los datos del “Infinium 450K Methylationarray”. Se comprobaron la calidad de los datos y se eliminaron aquellos anómalos mediante inspección en cada muestra del “Principal ComponentAnalysis” (PCA). Se verificó que todos los controles de metilación y de los diferentes parámetros de cada muestra sean correctos. Las posibles diferencias en la metilación se analizaron mediante modelos estadísticos lineal general y t-test / F-test según normalidad, dependiendo de las necesidades de cada análisis. Estimamos un error alfa del 1%. Mediante estudios de “Clustering” y de “Gensetenrichmentanalysis” (GSEA) utilizando modelos supervisados y no supervisados se determinarán los genes y posibles rutas que puedan verse alterados por las diferencias en la metilación.

Para la evaluación de la variación del estado de la metilación entre los distintos grupos de individuos en los diferentes tejidos estudiados, se realizó una ANOVA de un factor y se llevaron a cabo comparaciones múltiples para identificar las diferencias entre grupos (Bonferroni con un p valor <0.05)



## **IV. RESULTADOS**



# RESULTADOS

## 1. Evaluación del efecto de la cirugía BPGY en variables biológicas y antropométricas tras 24 meses de seguimiento.

Inicialmente se incluyeron en el estudio un total de 99 sujetos que iban a ser intervenidos de BPGY de los cuales se habían obtenido, procesado y almacenado las muestras de grasa visceral y subcutánea y sangre periférica para la extracción del ADN y el estudio de los marcadores epigenéticos. Tras los 24 meses de la cirugía se consiguió el seguimiento de 68 sujetos con una pérdida del 31,31% de la muestra. El estudio se ha realizado con los 68 sujetos en los que se completó el seguimiento.

En las tablas y figuras que se exponen a continuación comparamos las características generales, antropométricas y bioquímicas previas y a los 24 meses tras la cirugía BPGY.

### 1.1. Características generales y antropométricas basales del grupo completo según sexo previas a la cirugía.

En la tabla 5 se muestra las características generales y antropométricas previas a la cirugía BPGY del grupo de hombres frente al de mujeres. Se observa diferencias estadísticamente significativas en la edad, la talla, el peso máximo, el peso previo a la cirugía y el perímetro abdominal.

	Hombres (n= 28)	Mujeres (n=40)
Edad (años)	43,98±8,40	48,78±8,51*
Talla (m)	1,75±0,07	1,61±0,06**
Peso máximo (Kg)	149,38±19,00	123,68±17,69**
Peso (Kg)	136,83±18,46	116,20±18,52**
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	44,82±5,14	44,78±5,89
Perímetro abdominal (cm)	138,24±11,98	122,54±11,45**
Presión arterial sistólica (mmHg)	132,50±16,54	134,43±27,92
Presión arterial diastólica (mmHg)	79,50±9,89	82,24±15,09

Los datos se expresan como media±desviación estándar.

\*p<0,05 \*\*p<0,001

**Tabla 5. Características generales y antropométricas del grupo completo según sexo previas a la cirugía.**

## 1.2. Características bioquímicas basales del grupo completo según sexo previas a la cirugía.

En la tabla 6 se muestra las características bioquímicas previas a la cirugía BPGY del grupo de hombres frente al de mujeres. Se observa diferencias estadísticamente significativas en los niveles de colesterol total, LDL colesterol, HDL colesterol, no HDL colesterol, apolipoproteína A y apolipoproteína B, siendo mayores en el grupo de mujeres. No se ha observado diferencias significativas en el metabolismo hidrocarbonado.

	Hombres (n= 28)	Mujeres (n=40)
Glucosa (mg/dL)	99,61±30,75	114,90±54,91
HbA1c (%)	6,01±1,14	6,15±1,21
Insulina (μU/mL)	19,26±11,61	19,80±11,56
HOMA-IR	5,01±4,63	5,86±4,51
Colesterol total (mg/dL)	140,57±30,99	180,40±37,05**
LDL colesterol (mg/dL)	92,68±28,36	124,75±35,42**
HDL colesterol (mg/dL)	36,57±11,22	41,88±9,03*
No HDL colesterol (mg/dL)	104,00±33,30	138,53±37,09**
Triglicéridos (mg/dL)	117,64±56,13	128,25±42,55
Ácidos grasos libres (mEq/L)	0,87±0,27	0,98±0,25
Apolipoproteína A (mg/dL)	101,39±11,71	117,15±17,85**
Apolipoproteína B (mg/dL)	81,54±20,28	103,43±23,29**

Los datos se expresan como media±desviación estándar.

\*p<0,05 \*\*p<0,001

**Tabla 6. Características bioquímicas basales del grupo completo según sexo.**

### 1.3. Distribución de los factores de riesgo cardiovascular del grupo completo según sexo previa a la cirugía.

En las siguientes figuras se muestran la distribución de diabetes mellitus tipo 2, dislipemia e hipertensión arterial previa a la cirugía BPGY del grupo de hombres frente al de mujeres.

#### Diabetes Mellitus 2

En la figura 5 se muestra que el 36% (n=10) de los hombres presentaban DM2 previa a la cirugía frente al 47 % (n=19) de las mujeres que la presentaban.

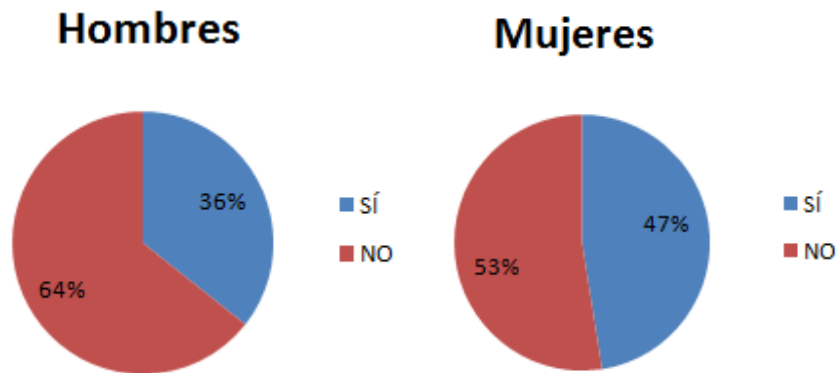


Figura 5. Distribución de la diabetes mellitus tipo 2 según sexo previa a la cirugía.

#### Dislipemia

En la figura 6 se muestra que el 46% (n=13) de los hombres presentaban dislipemia previa a la cirugía frente al 65 % (n=26) de las mujeres que la presentaban.

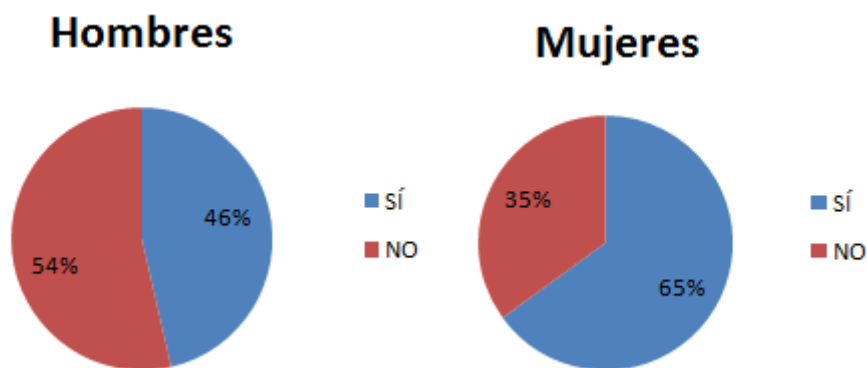


Figura 6. Distribución de la dislipemia según sexo previa a la cirugía.

### Hipertensión arterial

En la figura 7 se muestra que el 46% (n=13) de los hombres presentaban HTA previa a la cirugía frente al 52 % (n=21) de las mujeres que la presentaban.

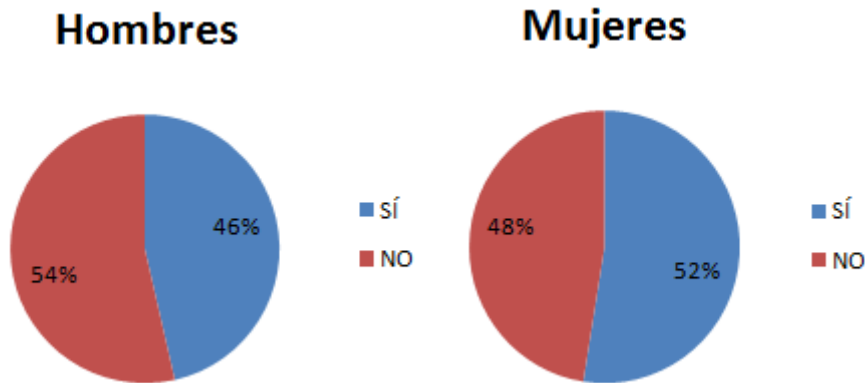


Figura 7. Distribución de la hipertensión arterial según sexo previa a la cirugía.

#### 1.4. Características generales y antropométricas basales del grupo completo según sexo tras 24 meses de la cirugía.

En la tabla 7 se muestra las características generales y antropométricas tras 24 meses de la cirugía BPGY del grupo de hombres frente al de mujeres. Se observa diferencias estadísticamente significativas en el peso, el perímetro abdominal y la presión arterial diastólica.

	Hombres (n= 28)	Mujeres (n=40)
Peso (Kg)	98,40±18,27	77,39±14,37**
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	32,22±5,37	29,90±5,54
Perímetro abdominal (cm)	109,34±14,72	95,41±12,94**
Presión arterial sistólica (mmHg)	134,14±28,24	125,43±24,20
Presión arterial diastólica (mmHg)	82,43±18,63	73,88±13,97*

Los datos se expresan como media±desviación estándar.

\*p<0,05 \*\*p<0,001

Tabla 7. Características generales y antropométricas del grupo completo según sexo tras 24 meses de la cirugía.



### 1.5. Características bioquímicas basales del grupo completo según sexo tras 24 meses de la cirugía.

En la tabla 8 se muestra las características bioquímicas tras 24 meses de la cirugía BPGY del grupo de hombres frente al de mujeres. Se observa diferencias estadísticamente significativas en los niveles de colesterol total, LDL colesterol, HDL colesterol, No HDL colesterol, apolipoproteína A y apolipoproteína B, siendo superiores en el grupo de mujeres al igual que en el estado previo a la cirugía. Además se ha objetivado una diferencia entre el índice HOMA-IR, siendo superior en los hombres.

	Hombres (n= 28)	Mujeres (n=40)
Glucosa (mg/dL)	98,57±39,25	89,31±15,09
HbA1c (%)	5,73±1,03	5,48±0,48
Insulina (μU/mL)	9,71±5,12	7,59±3,82
HOMA-IR	2,41±1,58	1,69±1,11*
Colesterol total (mg/dL)	154,96±28,18	189,56±38,05**
LDL colesterol (mg/dL)	95,71±20,88	121,51±29,89**
HDL colesterol (mg/dL)	53,43±13,78	60,15±12,46*
No HDL colesterol (mg/dL)	101,54±23,67	129,41±36,18**
Triglicéridos (mg/dL)	80,11±37,11	80,44±39,11
Ácidos grasos libres (mEq/L)	0,55±0,30	0,53±0,27
Apolipoproteína A (mg/dL)	139,75±25,19	154,66±29,14*
Apolipoproteína B (mg/dL)	73,89±16,42	93,11±24,40**

Los datos se expresan como media±desviación estándar.

\*p<0,05 \*\*p<0,001

**Tabla 8. Características bioquímicas basales del grupo completo según sexo tras 24 meses de la cirugía.**

### 1.6. Distribución de los factores de riesgo cardiovascular del grupo completo según sexo tras 24 meses de la cirugía.

En las siguientes figuras se muestran la distribución de diabetes mellitus tipo 2, dislipemia e hipertensión arterial tras 24 meses de la cirugía BPGY del grupo de hombres frente al de mujeres.

#### Diabetes Mellitus 2

En la figura 8 se muestra que el 14% (n=4) de los hombres presentaban DM2 tras 24 meses de la cirugía frente al 10% (n=4) de las mujeres que la presentaban.

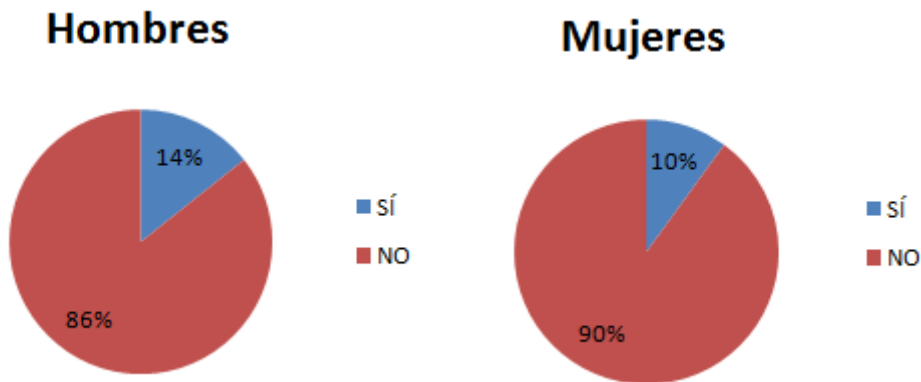


Figura 8. Distribución de la diabetes mellitus tipo 2 según sexo tras 24 meses de la cirugía.

#### Dislipemia

En la figura 9 se muestra que el 21% (n=6) de los hombres presentaban dislipemia tras 24 meses de la cirugía frente al 10% (n=4) de las mujeres que la presentaban.

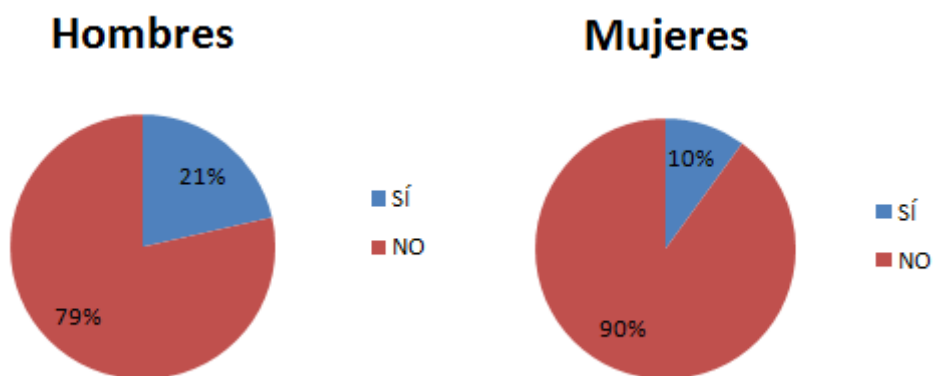
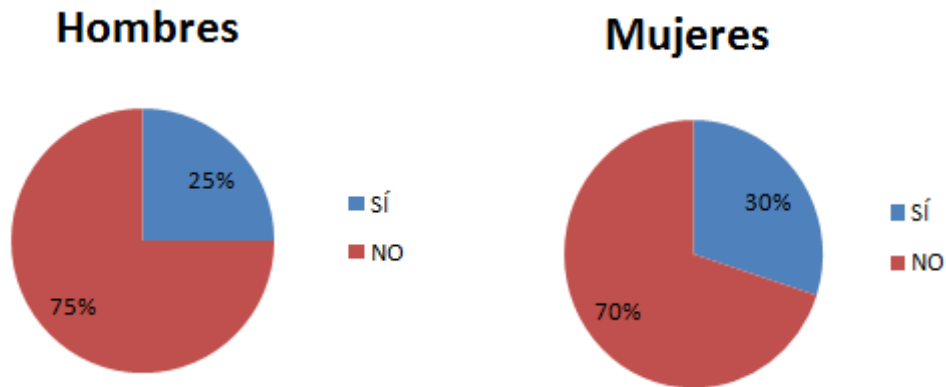


Figura 9. Distribución de la dislipemia según sexo tras 24 meses de la cirugía.

### Hipertensión arterial

En la figura 10 se muestra que el 25% (n=7) de los hombres presentaban HTA tras 24 meses de la cirugía frente al 30% (n=12) de las mujeres que la presentaban.



**Figura 10. Distribución de la hipertensión arterial según sexo tras 24 meses de la cirugía.**

#### **1.7. Respuesta en las características generales y antropométricas del grupo completo tras 24 meses de la cirugía.**

En la tabla 9 se muestra los cambios en las características generales y antropométricas tras 24 meses de la cirugía BPGY del grupo completo. Se observa diferencias estadísticamente significativas en el peso, el IMC, el perímetro abdominal, la presión arterial sistólica y la presión arterial diastólica, habiendo disminuido todos los parámetros tras 24 meses de la cirugía.

	Precirugía	Postcirugía
Peso (Kg)	124,69±21,02	86,04±19,06**
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	44,80±5,55	30,85±5,55**
Perímetro abdominal (cm)	128,96±13,95	100,46±14,70**
Presión arterial sistólica (mmHg)	133,67±23,95	126,77±22,61**
Presión arterial diastólica (mmHg)	81,16±13,27	76,28±14,50*

Los datos se expresan como media±desviación estándar.

\*p<0,01 \*\*p<0,001

**Tabla 9. Comparación de las características generales y antropométricas del grupo completo una semana antes y tras 24 meses de la cirugía.**

**1.8. Respuesta en las características bioquímicas basales del grupo completo tras 24 meses de la cirugía.**

En la tabla 10 se muestra los cambios en las características bioquímicas tras 24 meses de la cirugía BPGY del grupo completo. Se observa mejoría del control del metabolismo hidrocarbonado con disminución de los niveles de glucosa, HbA1c, insulina e índice HOMA. En cuanto al perfil lipídico se objetiva una disminución de los niveles de LDL colesterol, no HDL colesterol, triglicéridos y apolipoproteína B y un aumento de los niveles de HDL colesterol, colesterol total y apolipoproteína A, siendo las diferencias estadísticamente significativa.

	Precirugía	Postcirugía
Glucosa (mg/dL)	108,70±47,18	93,18±27,97**
HbA1c (%)	6,11±1,18	5,58±0,76**
Insulina (μU/mL)	19,57±11,58	8,58±4,57*
HOMA-IR	5,51±4,54	2,01±1,38**
Colesterol total (mg/dL)	163,54±39,81	175,10±38,13**
LDL colesterol (mg/dL)	111,21±36,32	110,73±29,28**
HDL colesterol (mg/dL)	39,51±10,22	57,34±13,35**
No HDL colesterol (mg/dL)	124,03±39,48	117,76±34,28**
Triglicéridos (mg/dL)	124,54±48,55	80,30±38,00**
Ácidos grasos libres (mEq/L)	0,94±0,27	0,53±0,29
Apolipoproteína A (mg/dL)	110,36±17,31	148,33±28,32**
Apolipoproteína B (mg/dL)	93,85±24,63	84,95±23,29*

Los datos se expresan como media±desviación estándar.

\*p<0,01 \*\*p<0,001

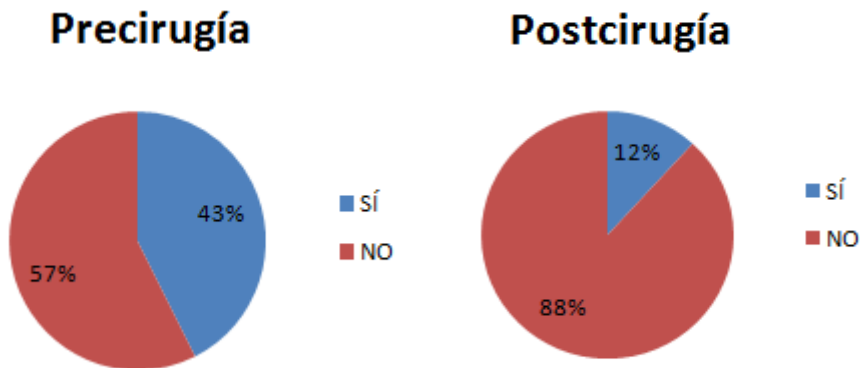
**Tabla 10. Comparación de las características bioquímicas del grupo completo una semana antes y tras 24 meses de la cirugía.**

### 1.9. Modificaciones en la prevalencia de los factores de riesgo cardiovascular del grupo completo tras 24 meses de la cirugía.

En las siguientes figuras se muestran los cambios en la prevalencia de diabetes mellitus tipo 2, dislipemia e hipertensión arterial del grupo completo tras 24 meses de la cirugía.

#### Diabetes Mellitus tipo 2

En la figura 11 se muestra que el 43% (n=29) de los sujetos presentaban DM2 previo a la cirugía, mientras que tras 24 meses de la cirugía la cifra desciende a 12% (n=8). Siendo esta diferencia estadísticamente significativa.

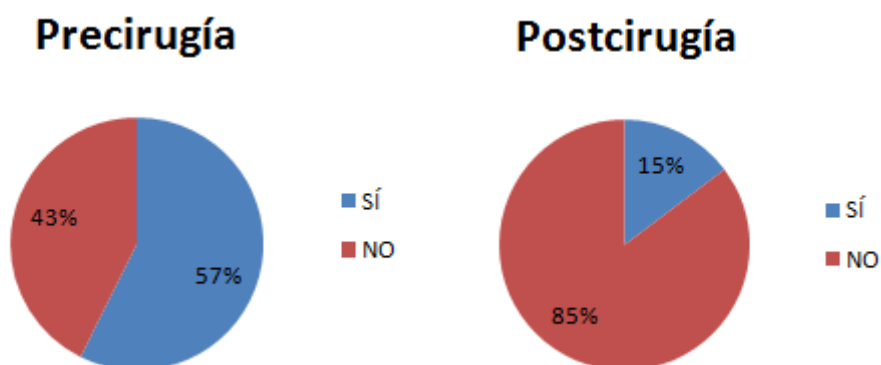


p<0,01

Figura 11. Prevalencia de la diabetes mellitus tipo 2 del grupo completo previo y tras 24 meses de la cirugía.

#### Dislipemia

En la figura 12 se muestra que el 57% (n=39) de los sujetos presentaban dislipemia previo a la cirugía, tras 24 meses de la misma la cifra desciende a 15% (n=10). Siendo esta diferencia estadísticamente significativa.

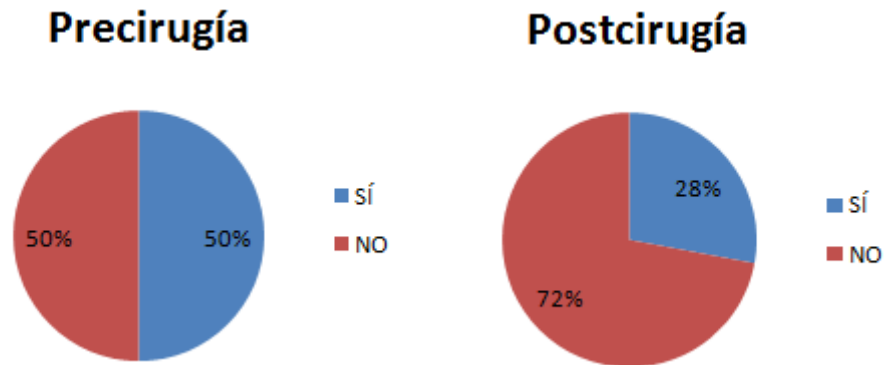


p=0,003

Figura 12. Prevalencia de la dislipemia del grupo completo previo y tras 24 meses de la cirugía.

### Hipertensión arterial

En la figura 13 se muestra que el 50% (n=34) de los sujetos presentaban HTA previo a la cirugía, tras 24 meses de la misma la cifra desciende a 28% (n=19). Siendo esta diferencia estadísticamente significativa.



p<0,01

**Figura 13.** Prevalencia de la hipertensión arterial del grupo completo previo y tras 24 meses de la cirugía.

## **2. Asociación del patrón de metilación de ADN de los tejidos obtenidos durante el BPGY y su respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía.**

A partir de los resultados obtenidos del análisis de los chips de Illumina del ADN de los tejidos adiposos visceral y subcutáneo y la sangre periférica en los 68 sujetos, se seleccionaron 69 sitios de metilación (CG), basándonos en:

- Diferencias superiores al 10% en el estado de la metilación entre diabéticos y no diabéticos.
- p valor inferior a 0.001 en la asociación con la DM2.

Se procedió a la validación de los resultados mediante la secuenciación de los fragmentos de ADN que contenían estos 69 sitios. Tras este procedimiento se validaron 11 sitios de metilación que fueron:

cg14530382, cg07064495, cg19533582, cg07249765, cg26354017, cg14341177, cg08441918, cg04245305, cg08354527, cg22730047, cg22504140.

Se analizaron estos 11 sitios del ADN de los tejidos adiposos visceral y subcutáneo y la sangre periférica en los 68 sujetos, y se realizó el cálculo del porcentaje de metilación para cada muestra y sitio estudiado.

En las tablas y figuras que se exponen a continuación estudiamos la relación del estado de metilación del ADN en sangre periférica, tejidos adiposos subcutáneo y visceral obtenidos durante el BPGY con la respuesta antropométrica a los dos años de la cirugía bariátrica.

Para valorar la respuesta antropométrica se ha utilizado el valor del porcentaje de pérdida del exceso de peso (%EWL).

### **2.1. Asociación del patrón de metilación de ADN de los tejidos obtenidos durante el BPGY y su respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía según el punto de corte %EWL 50.**

Dividimos a los pacientes en dos grupos según si el porcentaje de pérdida del exceso de peso (%EWL), tras 24 meses de la cirugía, supera o no el 50% y analizamos las diferencias del estado de metilación de los tejidos obtenidos durante el BPGY entre los dos grupos.

#### **2.1.1. Características generales y antropométricas basales según respuesta antropométrica a los 24 meses del BPGY (%EWL 50).**

En la tabla 11 se muestra las características generales y antropométricas previas a la cirugía del grupo con buena respuesta antropométrica tras la cirugía (%EWL $\geq$ 50) y mala respuesta antropométrica tras la cirugía (%EWL $<$ 50). No se observan diferencias significativas entre los dos grupos en los parámetros antropométricos basales previos a la cirugía.

	%EWL $\geq$ 50 (n=56)	%EWL<50 (n=12)
Peso (Kg)	122,90 $\pm$ 19,66	133,05 $\pm$ 25,81
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	44,40 $\pm$ 5,19	46,65 $\pm$ 6,97
Perímetro abdominal (cm)	127,58 $\pm$ 13,10	135,86 $\pm$ 16,61
Presión arterial sistólica (mmHg)	131,57 $\pm$ 21,59	144,40 $\pm$ 32,89
Presión arterial diastólica (mmHg)	79,67 $\pm$ 11,38	88,80 $\pm$ 19,38

Los datos se expresan como media $\pm$ desviación estándar.

**Tabla 11. Características generales y antropométricas basales según respuesta antropométrica a los 24 meses del BPGY (%EWL 50).**

**2.1.2. Características bioquímicas basales según respuesta antropométrica a los 24 meses del BPGY (%EWL 50).**

En la tabla 12 se muestra las características bioquímicas previas a la cirugía del grupo con buena respuesta antropométrica tras la cirugía (%EWL $\geq$ 50) y mala respuesta antropométrica tras la cirugía (%EWL<50). No se observan diferencias significativas entre los dos grupos en los parámetros bioquímicos basales previos a la cirugía.

	%EWL $\geq$ 50 (n=56)	%EWL<50 (n=12)
Glucosa (mg/dL)	108,48 $\pm$ 48,87	109,17 $\pm$ 37,66
HbA1c (%)	6,06 $\pm$ 1,17	6,27 $\pm$ 1,24
Insulina ( $\mu$ U/mL)	18,47 $\pm$ 9,24	24,44 $\pm$ 18,25
HOMA-IR	5,10 $\pm$ 3,63	7,31 $\pm$ 7,30
Colesterol total (mg/dL)	161,61 $\pm$ 37,59	175,17 $\pm$ 48,68
LDL colesterol (mg/dL)	109,54 $\pm$ 34,45	120,92 $\pm$ 43,73
HDL colesterol (mg/dL)	40,18 $\pm$ 9,01	37,42 $\pm$ 15,09
No HDL colesterol (mg/dL)	121,43 $\pm$ 34,78	137,75 $\pm$ 55,65
Triglicéridos (mg/dL)	119,38 $\pm$ 42,21	144,92 $\pm$ 69,47
Ácidos grasos libres (mEq/L)	0,94 $\pm$ 0,27	0,93 $\pm$ 0,26
Apolipoproteína A (mg/dL)	112,25 $\pm$ 17,84	103,25 $\pm$ 13,24
Apolipoproteína B (mg/dL)	91,55 $\pm$ 21,53	107,75 $\pm$ 33,11

Los datos se expresan como media $\pm$ desviación estándar.

**Tabla 12. Características bioquímicas basales según respuesta antropométrica a los 24 meses del BPGY (%EWL 50).**



### 2.1.3. Características generales y antropométricas tras 24 meses del BPGY según respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía (%EWL 50).

En la tabla 13 se muestran las características generales y antropométricas tras 24 meses de la cirugía del grupo con buena respuesta antropométrica tras la cirugía (%EWL $\geq$ 50) y mala respuesta antropométrica tras la cirugía (%EWL $<$ 50). Se observa que el grupo de mejor respuesta presenta menor peso, IMC, perímetro abdominal, presión arterial sistólica y diastólica que el grupo de peor respuesta, siendo estas diferencias estadísticamente significativas.

	%EWL $\geq$ 50 (n=56)	%EWL $<$ 50 (n=12)
Peso (Kg)	80,74 $\pm$ 14,33	110,78 $\pm$ 19,35**
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	29,14 $\pm$ 3,89	38,87 $\pm$ 5,16**
Perímetro abdominal (cm)	96,93 $\pm$ 12,07	120,83 $\pm$ 13,22**
Presión arterial sistólica (mmHg)	124,55 $\pm$ 20,14	149,83 $\pm$ 39,32*
Presión arterial diastólica (mmHg)	74,88 $\pm$ 14,70	89,17 $\pm$ 19,76*

Los datos se expresan como media $\pm$ desviación estándar.

\*p $<$ 0,01 \*\*p $<$ 0,001

**Tabla 13. Características generales y antropométricas tras 24 meses del BPGY según respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía (%EWL 50).**

### 2.1.4. Características bioquímicas tras 24 meses del BPGY según respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía (%EWL 50).

En la tabla 14 se muestra las características bioquímicas tras 24 meses de la cirugía del grupo con buena respuesta antropométrica tras la cirugía (%EWL $\geq$ 50) y mala respuesta antropométrica tras la cirugía (%EWL $<$ 50). Se observa que el grupo de mejor respuesta presenta menores niveles de insulina y HOMA-IR, y mayores niveles de HDL colesterol y apolipoproteína A que el grupo de peor respuesta, siendo estas diferencias estadísticamente significativas.

	%EWL≥50 (n=56)	%EWL<50 (n=12)
Glucosa (mg/dL)	91,96±27,55	98,75±30,44
HbA1c (%)	5,50±0,74	5,95±0,78
Insulina (μU/mL)	7,43±3,65	13,28±5,05**
HOMA-IR	1,71±1,15	3,28±1,57**
Colesterol total (mg/dL)	173,22±37,30	183,75±42,39
LDL colesterol (mg/dL)	108,40±28,93	121,42±29,72
HDL colesterol (mg/dL)	59,42±12,91	47,83±11,46*
No HDL colesterol (mg/dL)	113,80±32,11	135,92±39,37
Triglicéridos (mg/dL)	72,98±24,15	113,83±65,62
Ácidos grasos libres (mEq/L)	0,55±0,30	0,49±0,18
Apolipoproteína A (mg/dL)	152,59±27,46	129,17±24,83*
Apolipoproteína B (mg/dL)	82,33±22,43	96,75±24,41

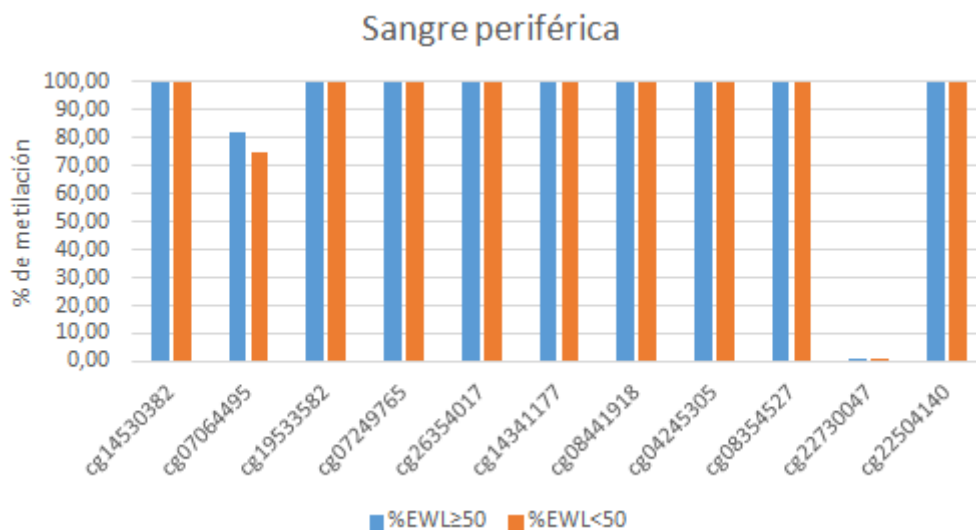
Los datos se expresan como media±desviación estándar.

\*p<0,01 \*\*p<0,001

**Tabla 14. Características bioquímicas tras 24 meses del BPGY según respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía (%EWL 50).**

#### **2.1.5. Grado de metilación en sangre periférica previo al BPGY según respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía (%EWL 50).**

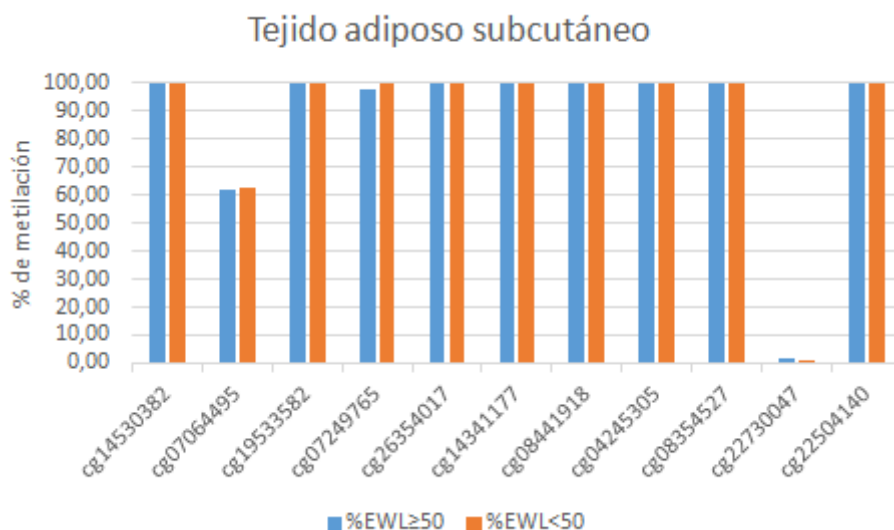
En la figura 14 se muestra las diferencias en el grado de metilación (en los 11 sitios estudiados) en la sangre periférica extraída previa a la cirugía entre pacientes que tras 24 meses de la misma presentaban un %EWL igual o mayor de 50 y los que presentaban menor de 50. No se han encontrado diferencias significativas entre los dos grupos.



**Figura 14. Grado de metilación en sangre periférica previo al BPGY según respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía (%EWL 50).**

**2.1.6. Grado de metilación en tejido adiposo subcutáneo extraído en el BPGY según respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía (%EWL 50).**

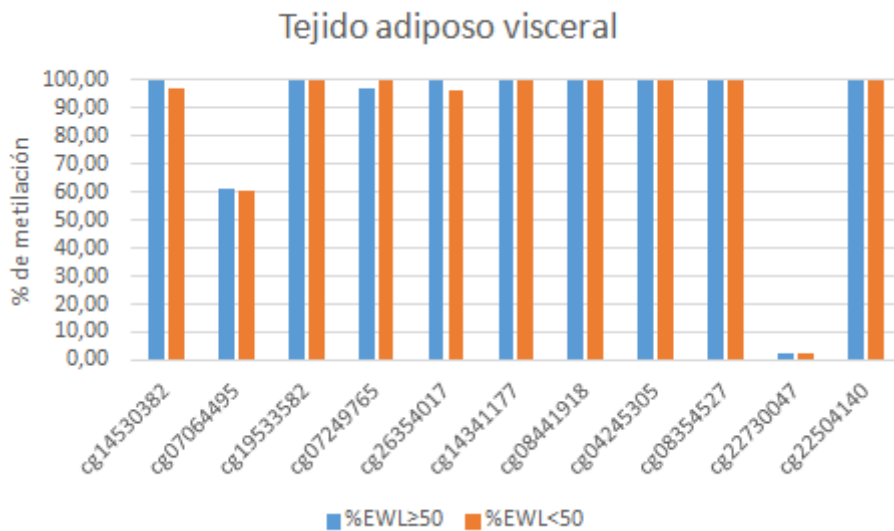
En la figura 15 se muestra las diferencias en el grado de metilación (en los 11 sitios estudiados) en el tejido adiposo subcutáneo extraído durante la cirugía entre pacientes que tras 24 meses de la misma presentaban un %EWL igual o mayor de 50 y los que presentaban menor de 50. No se ha visto diferencias significativas entre los dos grupos.



**Figura 15. Grado de metilación en tejido adiposo subcutáneo extraído en el BPGY según respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía (%EWL 50).**

**2.1.7. Grado de metilación en tejido adiposo visceral extraído en el BPGY según respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía (%EWL 50).**

En la figura 16 se muestra las diferencias en el grado de metilación (en los 11 sitios estudiados) en el tejido adiposo visceral extraído durante la cirugía entre pacientes que tras 24 meses de la misma presentaban un %EWL igual o mayor de 50 y los que presentaban menor de 50. Se observa mayor grado de metilación en los sitios cg 14530382 y cg26354017 en el grupo de mejor respuesta, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ( $p=0,026$  y  $p=0,039$  respectivamente).



**Figura 16. Grado de metilación en tejido adiposo visceral extraído en el BPGY según respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía (%EWL 50).**

**2.2. Asociación del patrón de metilación de ADN de los tejidos obtenidos durante el BPGY y su respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía según terciles de %EWL.**

Dividimos a los pacientes en terciles según el porcentaje de pérdida del exceso de peso (%EWL), tras 24 meses de la cirugía y analizamos las diferencias del estado de metilación de los tejidos obtenidos durante el BPGY entre los tres grupos.

**2.2.1. Características generales y antropométricas basales según respuesta antropométrica a los 24 meses del BPGY divididos en terciles de %EWL.**

En la tabla 15 se muestra las características generales y antropométricas previas a la cirugía según terciles de %EWL tras 24 meses de la misma. Se observan diferencias significativas entre los grupos en el peso, el IMC y la presión arterial diastólica, siendo en los tres casos menores en el tercil con mejor respuesta.

	%EWL<62,64 (n=22)	%EWL 62,64 -83,43 (n=22)	%EWL>83,43 (n=23)
Peso (Kg)	129,38±21,43	131,85±18,45	115,60±19,10*
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	48,66±6,78	48,35±5,22	44,71±4,13*
Perímetro abdominal (cm)	132,48±14,74	131,96±12,74	124,60±12,71
Presión arterial sistólica (mmHg)	142,21±27,00	134,88±27,48	127,17±16,82
Presión arterial diastólica (mmHg)	85,84±15,28	83,56±14,89	76,29±9,09*

Los datos se expresan como media±desviación estándar.

\*p<0,05

**Tabla 15. Características generales y antropométricas basales según respuesta antropométrica a los 24 meses del BPGY divididos en terciles de %EWL.**

**2.2.2. Características bioquímicas basales según respuesta antropométrica a los 24 meses del BPGY divididos en terciles de %EWL.**

En la tabla 16 se muestra las características bioquímicas basales previo a la cirugía según terciles de %EWL tras 24 meses de la misma. No se observan diferencias significativas entre los tres grupos en los parámetros bioquímicos basales previos a la cirugía.

	%EWL<62,64 (n=22)	%EWL 62,64 -83,43 (n=22)	%EWL>83,43 (n=23)
Glucosa (mg/dL)	113,29±47,35	111,05±35,78	104,00±56,26
HbA1c (%)	6,31±1,36	6,13±1,07	5,94±1,15
Insulina (μU/mL)	21,86±14,52	19,94±9,73	17,86±10,31
HOMA-IR	6,44±5,78	6,02±4,62	4,55±3,33
Colesterol total (mg/dL)	167,05±43,39	155,65±35,39	167,36±39,47
LDL colesterol (mg/dL)	114,38±37,90	108,95±38,70	110,52±33,21
HDL colesterol (mg/dL)	37,24±11,92	40,10±8,16	41,32±10,57
No HDL colesterol (mg/dL)	129,81±46,98	115,55±32,04	126,04±37,32
Triglicéridos (mg/dL)	133,62±60,28	117,90±36,53	122,40±48,10
Ácidos grasos libres (mEq/L)	0,94±0,28	0,98±0,31	0,93±0,23
Apolipoproteína A (mg/dL)	106,05±17,72	114,20±15,47	111,24±18,79
Apolipoproteína B (mg/dL)	100,57±29,49	88,60±21,40	93,52±21,58

Los datos se expresan como media±desviación estándar.

**Tabla 16. Características bioquímicas basales según respuesta antropométrica a los 24 meses del BPGY divididos en terciles de %EWL.**

**2.2.3. Características generales y antropométricas tras 24 meses del BPGY según respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía divididos en terciles de %EWL.**

En la tabla 17 se muestra las características generales y antropométricas tras 24 meses de la cirugía según terciles de %EWL tras 24 meses de la misma. Se observa valores menores de peso, IMC, perímetro abdominal, presión arterial sistólica y diastólica en los grupos de mejor respuesta antropométrica, siendo estas diferencias estadísticamente significativas.

	%EWL<62,64 (n=22)	%EWL 62,64 -83,43 (n=22)	%EWL>83,43 (n=23)
Peso (Kg)	103,57±17,43	87,48±10,15	69,81±10,37**
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	36,87±4,88	31,08±1,66	25,67±1,99**
Perímetro abdominal (cm)	115,29±13,26	102,60±9,54	88,40±8,50**
Presión arterial sistólica (mmHg)	143,24±31,48	125,25±18,61	120,52±22,74*
Presión arterial diastólica (mmHg)	86,81±18,36	76,55±13,51	70,32±14,21*

Los datos se expresan como media±desviación estándar.

\*p<0,01 \*\*p<0,001

**Tabla 17. Características generales y antropométricas tras 24 meses del BPGY según respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía divididos en terciles de %EWL.**

**2.2.4. Características bioquímicas tras 24 meses del BPGY según respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía divididos en terciles de %EWL.**

En la tabla 18 se muestra las características bioquímicas tras 24 meses de la cirugía según terciles de %EWL tras 24 meses de la misma. Se observa niveles menores de HbA1c, insulina, HOMA-IR, noHDL colesterol, triglicéridos y apolipoproteína B y mayores niveles de HDL colesterol y apolipoproteína A en los grupos de mejor respuesta, siendo estas diferencias estadísticamente significativas.

	%EWL<62,64 (n=22)	%EWL 62,64 -83,43 (n=22)	%EWL>83,43 (n=23)
Glucosa (mg/dL)	105,62±43,18	89,21±12,91	86,60±16,42
HbA1c (%)	5,99±1,03	5,44±0,49	5,38±0,58*
Insulina (μU/mL)	11,41±4,72	7,68±3,69	6,37±3,56***
HOMA-IR	2,99±1,66	1,65±1,01	1,38±0,82***
Colesterol total (mg/dL)	183,38±37,56	173,16±45,37	170,92±32,86
LDL colesterol (mg/dL)	120,81±27,33	110,95±36,96	103,00±22,33
HDL colesterol (mg/dL)	49,52±10,38	57,16±9,87	64,24±14,83**
No HDL colesterol (mg/dL)	133,86±38,26	116,00±40,22	106,68±24,62*
Triglicéridos (mg/dL)	106,71±52,67	70,21±22,02	66,40±19,93***
Ácidos grasos libres (mEq/L)	0,48±0,16	0,60±0,28	0,54±0,37
Apolipoproteína A (mg/dL)	133,62±21,62	146,21±24,93	163,92±30,10**
Apolipoproteína B (mg/dL)	97,05±23,51	84,84±25,43	74,63±15,56**

Los datos se expresan como media±desviación estándar.

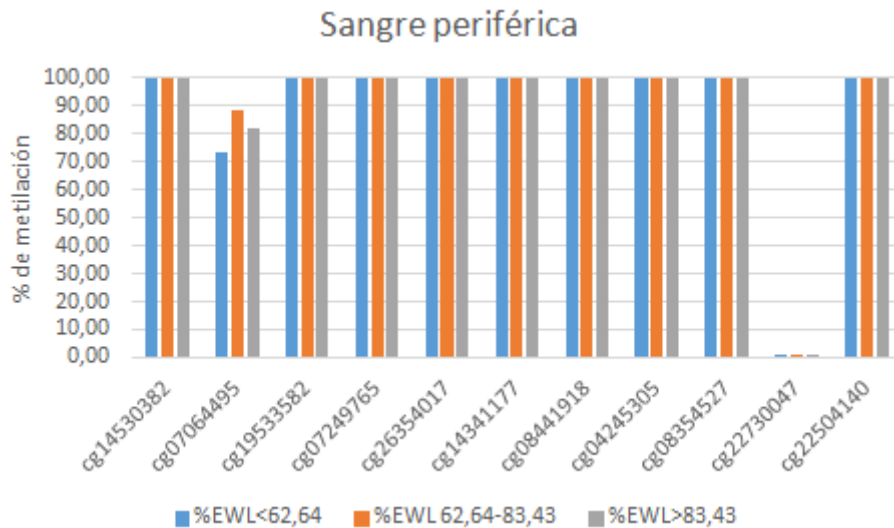
\*p<0,05 \*\*p<0,01 \*\*\*p<0,001

**Tabla 18. Características bioquímicas tras 24 meses del BPGY según respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía divididos en terciles de %EWL.**



**2.2.5. Grado de metilación en sangre periférica previo al BPGY según respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía divididos en terciles de %EWL.**

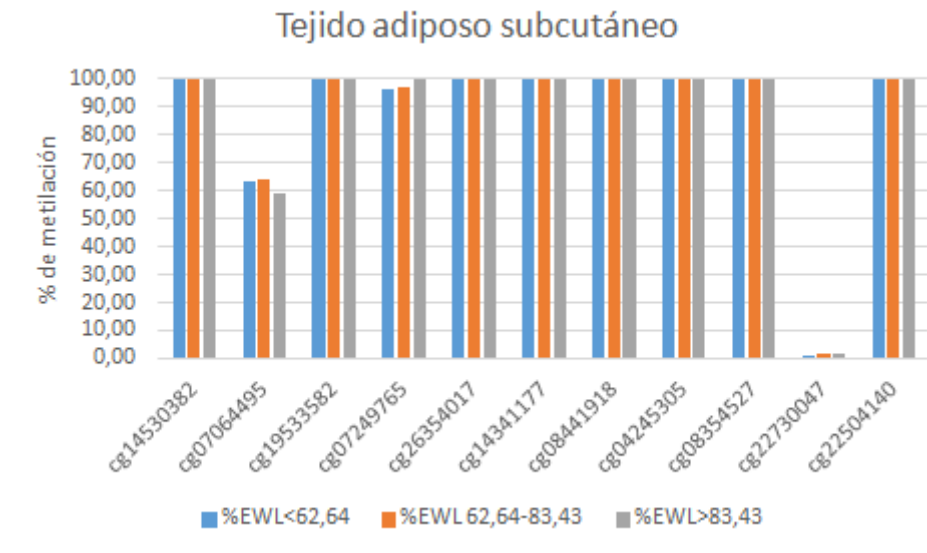
En la figura 17 se muestra las diferencias en el grado de metilación (en los 11 sitios estudiados) en la sangre periférica extraída previa a la cirugía según la respuesta antropométrica, divididos los sujetos en terciles de %EWL tras 24 meses de la misma. No se han encontrado diferencias significativas entre los tres grupos.



**Figura 17. Grado de metilación en sangre periférica previo al BPGY según respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía divididos en terciles de %EWL.**

**2.2.6. Grado de metilación en tejido adiposo subcutáneo extraído en el BPGY según respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía divididos en terciles de %EWL.**

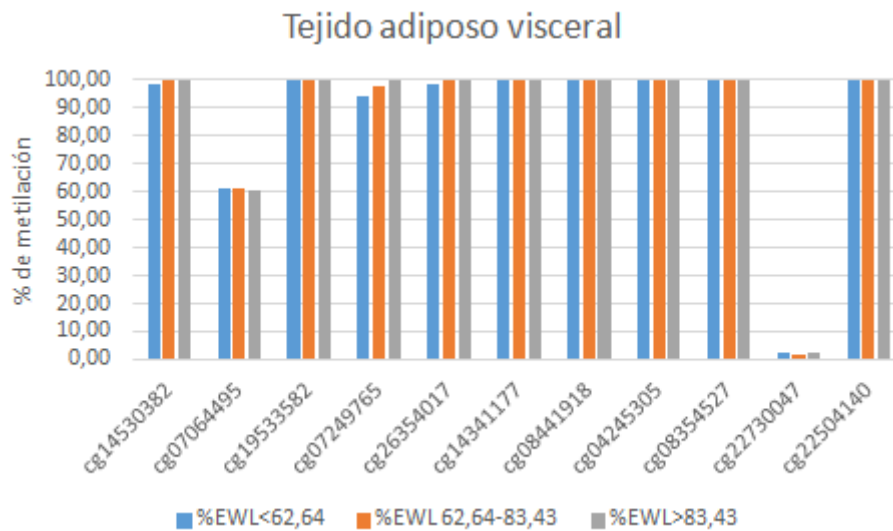
En la figura 18 se muestra las diferencias en el grado de metilación (en los 11 sitios estudiados) en el tejido adiposo subcutáneo extraído durante la cirugía según la respuesta antropométrica en terciles de %EWL tras 24 meses de la misma. Se observa menor grado de metilación en el sitio cg 22730047 en el grupo de peor respuesta que en el grupo de respuesta intermedia, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ( $p= 0,022$ ).



**Figura 18.** Grado de metilación en tejido adiposo subcutáneo extraído en el BPGY según respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía divididos en terciles de %EWL.

**2.2.7. Grado de metilación en tejido adiposo visceral extraído en el BPGY según respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía divididos en terciles de %EWL.**

En la figura 19 se muestra las diferencias en el grado de metilación (en los 11 sitios estudiados) en el tejido visceral subcutáneo extraído durante la cirugía según la respuesta antropométrica divididos los sujetos en terciles de %EWL tras 24 meses de la misma. No se han encontrado diferencias significativas entre los tres grupos.



**Figura 19.** Grado de metilación en tejido adiposo visceral extraído en el BPGY según respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía divididos en terciles de %EWL.

**3. Comparación de los patrones de metilación en los diferentes tejidos obtenidos en cada uno de los grupos de los sujetos según su respuesta antropométrica tras 24 meses del BPGY.**

En las siguientes tablas se muestra las diferencias del porcentaje de metilación (en los 11 sitios estudiados) de los diferentes tejidos estudiados en cada grupo de sujetos según su respuesta antropométrica tras 24 meses del BPGY.

**3.1. Comparación de los patrones de metilación en los diferentes tejidos obtenidos según respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía (%EWL 50).**

En la siguiente tabla se compara el porcentaje de metilación (en los 11 sitios estudiados) de los tres tejidos estudiados (sangre periférica, tejido adiposo subcutáneo y visceral) entre los dos grupos de sujetos según si tras 24 meses del BPGY presentaban un %EWL igual o mayor de 50 y los que presentaban menor de 50.

En el grupo de mejor respuesta (%EWL≥50) se observa diferencias en los porcentajes de metilación en el sitio cg07064495 entre la sangre periférica y los tejidos adiposos visceral (p<0,001) y subcutáneo (p<0,001) y en el sitio cg22730047 entre la sangre periférica y el tejido adiposo visceral (p<0,001) y entre el tejido adiposo subcutáneo y visceral (p=0,001).

En el grupo de peor respuesta (%EWL<50) se observan diferencias en los porcentajes de metilación en el sitio cg22730047 entre la sangre periférica y el tejido adiposo visceral (p=0,005) y entre el tejido adiposo subcutáneo y visceral (p=0,009).

			Sangre	T. adiposo subcutáneo	T. adiposo visceral
%EWL≥50	cg07064495	Sangre		p<0,001	p<0,001
		T. adiposo subcutáneo	p<0,001		n.s.
		T. adiposo visceral	p<0,001	n.s.	
	cg22730047			n.s.	p<0,001
		T. adiposo subcutáneo	n.s.		p=0,001
		T. adiposo visceral	p<0,001	p=0,001	
%EWL<50	cg22730047	Sangre		n.s.	p=0,005
		T. adiposo subcutáneo	n.s.		p=0,009
		T. adiposo visceral	p=0,005	p=0,009	

**Tabla 19. Comparativa de los porcentajes de metilación en los tres tejidos analizados dentro de cada grupo según respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía (%EWL 50).**

### 3.2. Comparación de los patrones de metilación en los diferentes tejidos obtenidos según respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía divididos en terciles de %EWL.

En la siguiente tabla se compara el porcentaje de metilación (en los 11 sitios estudiados) de los tres tejidos (sangre periférica, tejido adiposo subcutáneo y visceral) entre los sujetos divididos según terciles de %EWL tras 24 meses del BPGY.

En el grupo de mejor respuesta (%EWL>83,43) se observa diferencias en los porcentajes de metilación en el sitio cg07064495 entre la sangre periférica y los tejidos adiposos visceral ( $p=0,003$ ) y subcutáneo ( $p=0,003$ ) y en el sitio cg22730047 entre la sangre periférica y el tejido adiposo visceral ( $p=0,002$ ).

En el grupo de respuesta intermedia (%EWL 62,64-83,43) se observa diferencias en los porcentajes de metilación en el sitio cg07064495 entre la sangre periférica y los tejidos adiposos visceral ( $p<0,001$ ) y subcutáneo ( $p<0,001$ ).

En el grupo de peor respuesta (%EWL<62,64) se observa diferencias en los porcentajes de metilación en el sitio cg22730047 entre la sangre periférica y el tejido adiposo visceral ( $p<0,001$ ) y entre el tejido adiposo subcutáneo y visceral ( $p<0,001$ ).

			Sangre	T. adiposo subcutáneo	T. adiposo visceral
%EWL>83,43	cg07064495	Sangre		$p=0,003$	$p=0,003$
		T. adiposo subcutáneo	$p=0,003$		n.s.
		T. adiposo visceral	$p=0,003$	n.s.	
	cg22730047	Sangre		n.s.	$p=0,002$
		T. adiposo subcutáneo	n.s.		n.s.
		T. adiposo visceral	$p=0,002$	n.s.	
%EWL 62,64-83,43	cg07064495	Sangre		$p<0,001$	$p<0,001$
		T. adiposo subcutáneo	$p<0,001$		n.s.
		T. adiposo visceral	$p<0,001$	n.s.	
%EWL<62,64	cg22730047	Sangre		n.s.	$p<0,001$
		T. adiposo subcutáneo	n.s.		$p<0,001$
		T. adiposo visceral	$p<0,001$	$p<0,001$	

**Tabla 20. Comparativa de los porcentajes de metilación en los tres tejidos analizados dentro de cada grupo según respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía divididos en terciles de %EWL.**

## V. DISCUSIÓN



# DISCUSIÓN

## 1. Evaluación del efecto de la cirugía BPGY en variables biológicas y antropométricas tras 24 meses de seguimiento.

La cirugía bariátrica es la opción terapéutica de elección en pacientes con obesidad mórbida cuando han fracasado los cambios en el estilo de vida y el tratamiento farmacológico. Permite, además de una pérdida significativa de peso, el control del riesgo cardiovascular y la consiguiente reducción de la mortalidad(90,91).

La pérdida de peso es el objetivo principal del tratamiento de la cirugía bariátrica. En este trabajo se ha analizado los resultados de pacientes tras dos años de la intervención del bypass gástrico. El 82,35% de los pacientes obtuvieron una pérdida del más del 50% del exceso de peso, con una media del 30.6% de pérdida de peso total. Este resultado es similar a los de las diferentes series publicadas, en las que se muestran una pérdida de peso total de 30-35% tras los 2 años de la cirugía(92–94), siendo esta pérdida más acusada en los primeros doce meses tras la misma.

Además de cuantificar el exceso peso, es importante también tener en cuenta la distribución del tejido adiposo. La obesidad abdominal con un elevado perímetro abdominal aumenta el riesgo cardiovascular ya que el tejido adiposo intraabdominal es metabólicamente más activo que el periférico pudiendo causar así alteraciones en el metabolismo lipídico y de los hidratos de carbono por el aumento de la resistencia a la insulina(95). Junto al peso, el perímetro abdominal es otro parámetro antropométrico que se ha visto disminuido tras la intervención, pasando de una media de 128,96±13,95 cm a 100,46±14,70 cm con una reducción media del 22,1%. Se ha visto que además de disminuir el riesgo cardiovascular, la reducción del perímetro abdominal mejora también la función respiratoria(96), permitiendo disminuir la prevalencia de SAHS en este grupo de pacientes.

La DM2 es otro factor de riesgo cardiovascular que se ve reducido tras la cirugía bariátrica. Tras dos años de la cirugía observamos una disminución del 31 % de la prevalencia de la DM2 en todo el grupo estudiado. De los 29 pacientes que presentaban DM 2 previa a la cirugía, se produjo la remisión de la misma en 21 pacientes (72.4%).

Existe una disminución significativa tanto de los niveles de glucemia basal (108,70 ±47,18 vs 93,18 ±27,97 mg/dL), de insulina (19,57 ±11,58 vs 8,58±4,57 µU/mL), del índice HOMA 85,51 ±4,54 vs 2,01± 1,38) como de HbA1c (6,11±1,18 vs 5,58±0,76 %) tras la cirugía. No obstante, para el análisis de estos resultados se incluyeron a los pacientes tanto diabéticos como no diabéticos, probablemente estas diferencias fueran mucho mayores si sólo consideráramos al grupo de pacientes con diagnóstico de DM2 previa a la cirugía.

Los mecanismos entre los que se encuentra envuelta la cirugía en la remisión de la DM2 no son del todo conocidos y se encuentran en estudio. Se podría dividir en mecanismos dependientes o no del peso, en este último caso los resultados aparecen poco después de la cirugía y dependen de la técnica quirúrgica. La reducción del peso con la consiguiente disminución del tejido adiposo visceral disminuye el efecto de la lipotoxicidad y aumenta la sensibilidad a la insulina incrementándose la función de las células beta pancreáticas(97). Los mecanismos independientes del peso son menos conocidos, se cree que son múltiples y dependen de los cambios anatómicos y funcionales producidos por cada técnica quirúrgica. Existe una

estimulación de las células epiteliales L del íleon con producción de incretinas reguladoras (GLP-1 y PYY) por la llegada precoz de alimentos a los segmentos distales del intestino, esto conlleva al aumento de los valores de péptido C mejorando la función pancreática(98).

Otros mecanismos como la secreción de la ghrelina, las modificaciones de la microbiota intestinal y la elevación de los ácidos biliares en el íleon han sido descritos y podrían contribuir al mejor control glucémico(94).

En cuanto a los resultados de los estudios publicados, parecen sugerir que cuanto antes se realice la intervención mayor será la probabilidad de remisión de la diabetes, ya que, los pacientes con menor tiempo de evolución, mayor grado de reserva pancreática, mayores niveles de péptido C y menor índice de HOMA presentaban mayor tasa de remisión(99).

La prevalencia de la HTA también se ha visto disminuida tras la cirugía. Existe una disminución de su prevalencia en el grupo completo del 50% previo a la cirugía a la de 28% tras la misma. De los 34 pacientes que presentaban HTA previa a la cirugía, se produjo la remisión de la misma en 15 pacientes (44,1%). Esta cifra es similar a los resultados de otras series publicadas que sitúan la remisión de HTA tras la cirugía en un rango de 37-53%(100–102). Entre los factores que favorecen la remisión de la HTA se encuentran el tiempo de evolución de HTA previa a la intervención(100) y los niveles de la vitamina D. Se ha relacionado el déficit de esta vitamina con peores resultados en la remisión de la HTA(103). La disminución afecta tanto a la presión arterial sistólica, de una media de 133,67±23,95 mmHg a 126,77±22,61 mmHg, como a la presión arterial diastólica, de una media de 81,16 ±13,27 mmHg a 76,28 ±14,50 mmHg. Esta disminución a primera vista puede no resultar llamativa, aunque las diferencias sean estadísticamente significativas, pero es debido a que están incluidos todos los sujetos (tanto con diagnóstico de HTA como sin diagnóstico de la misma previa a la cirugía).

La dislipemia tiene un papel importante en el aumento de la morbimortalidad en pacientes con obesidad. La pérdida del exceso de peso tras la cirugía ha demostrado también una mejora en el perfil lipídico(104). Un estudio de cohorte con 6235 pacientes sometidos a la cirugía bariátrica muestra una reducción significativa en la medicación hipolipemiante a los 3 meses tras la cirugía y al año el tratamiento fue retirado en el 59% de los pacientes(105). Otros estudios con menor tamaño muestral presentan resultados de resolución de la dislipemia de hasta un 96% a los 2 años del bypass gastroyeyunal(106,107). En nuestro estudio se muestra una disminución de la prevalencia de dislipemia en el grupo completo del 42%. De los 39 pacientes que presentaban dislipemia previo a la cirugía, se produjo la remisión de la misma en 29 pacientes (74,4%).

En el perfil lipídico existe una disminución de niveles de LDL-c (111,21±36,32 vs 110,73±29,28 mg/dL), no HDL-c (124,03±39,48 vs 117,76±34,28 mg/dL), triglicéridos (124,54±48,55 vs 124,54 ±48,55 vs 80,30±38,00 mg/dL) y apolipoproteína B (93,85±24,63 vs 84,95±23,29 mg/dL) y un incremento de HDL-c (39,51±10,22 vs 57,34±13,35 mg/dL) y apolipoproteína A (110,36±17,31 vs 148,33±28,32 mg/dL) resultados muy similares a los diferentes estudios y metanálisis publicados (104,108–110). Excepto en los niveles de colesterol total, que en nuestro estudio



observamos un incremento ( $163,54 \pm 39,81$  vs  $175,10 \pm 38,13$  mg/dL) tras la cirugía mientras que en las series publicadas suelen presentar también una disminución. Este aumento puede estar explicado por el aumento de los niveles de HDL-c.

Estos cambios en el perfil lipídico suelen ser similares independientemente de la técnica quirúrgica utilizada, excepto en el descenso del LDL-c que es más significativo en pacientes intervenidos de bypass gastroyeyunal probablemente mediado por el aumento de GLP-1 (110,111). No se produce cambios en los niveles de lipoproteína a tras la cirugía (110,112). En la derivación biliopancreática se asocia una reducción de PCSK9 (113).

El mantenimiento en el tiempo de la pérdida del exceso de peso y la disminución de los riesgos cardiovasculares conlleva a que los pacientes con obesidad tras la cirugía bariátrica presenten menor riesgo de mortalidad (tanto por causa cardiovascular como por cualquier causa) que en pacientes no intervenidos, aunque éste siga siendo mayor que en pacientes sin obesidad (114). La cirugía bariátrica no solo reduce el riesgo de enfermedades cardiovasculares sino que también se ha visto disminución de las patologías oncológicas (115). En un estudio de 500 pacientes intervenidos de bypass gástrico muestra que el riesgo de desarrollar un evento cardiovascular en 10 años se reduce de 5.4% a 2.7% tras un año de la cirugía (116). La reducción de la mortalidad por causa cardiovascular podría ser principalmente debido a la mejoría del control glucémico (90,102).

## **2. Asociación del patrón de metilación de ADN de los tejidos obtenidos durante el BPGY y su respuesta antropométrica a los 24 meses de la cirugía.**

Para valorar la respuesta antropométrica, por una parte hemos dividido a los pacientes según si la pérdida del exceso de peso superaba o no el 50%, en caso de hacerlo, se consideraba que presentaba una buena respuesta al tratamiento de la cirugía bariátrica. De los 68 pacientes estudiados el 82.4% (56 pacientes) obtuvieron buena respuesta, mientras que en el 17.3% (21 pacientes), la pérdida del exceso de peso no llegó al 50% tras los dos años de la cirugía.

Una de las cuestiones que nos planteamos es qué factores son los que determinan la respuesta antropométrica de la cirugía bariátrica. Por una parte analizamos las características antropométricas y bioquímicas basales en los dos grupos pero no encontramos diferencias estadísticamente significativas. Al analizar los parámetros tras la cirugía, sí que se ha visto que en el grupo de mejor respuesta antropométrica existe también una disminución significativa del perímetro abdominal, la presión arterial sistólica y diastólica, los niveles de insulina e índice de HOMA, y un aumento de los de HDL-c y apolipoproteína A como era de esperar.

Por otra parte, analizamos el porcentaje de metilación en los 11 sitios seleccionados en la sangre periférica, el tejido adiposo subcutáneo y en el tejido adiposo visceral obtenidos en la cirugía. En este caso sí encontramos diferencias en los sitios cg14530382 y cg26354017 del tejido adiposo visceral, observándose mayor grado de metilación en el grupo de mejor respuesta.

La posición cg 14530382 se localiza dentro del gen SH2D3A, "SH2 Domain Containing 3A" (nomenclatura alternativa: NSP1) situado en el cromosoma 19 (19p13.3), se expresa sobre todo en estómago, duodeno y colon(117). Este gen codifica la proteína NPS1 que pertenece a la familia de las proteínas adaptadoras que contienen un dominio SH2 en N terminal, una región central rica en prolina/serina y una secuencia C-terminal característica de esta familia de proteínas. Se ha visto que el estímulo con factores de crecimiento epidérmico o insulina favorece su fosforilación y aumenta su asociación a p130<sup>Cas</sup> (proteína adaptadora hipofosforilada). En cambio, el contacto con la fibronectina provoca la fosforilación de Cas y una disociación transitoria entre NSP1 y la proteína p130<sup>Cas</sup>. El aumento de la expresión de este gen induce la activación de la proteína JNK1 (c-Jun N-terminal kinasa) y el aumento de la expresión del promotor de AP-1 que a la vez regula la proliferación celular. La proteína JNK1 pertenece a su vez a la familia de proteínas MAPK kinasas que son responsables de la activación y regulación de los factores de transcripción, proliferación celular, señales de inflamación y estrés oxidativo(118). Por todo ello, se le ha relacionado con el desarrollo de la patología oncológica, sobre todo en el cáncer de mama, ya que se ha observado que la activación de estas cascadas favorece la migración y adhesión celular y la resistencia antiestrogénica(119).

La posición cg26354017 se localiza dentro del gen que codifica la proteína PM20D1, "Peptidase M20 Domain Containing 1" (nomenclatura alternativa: Cps1), situado en el cromosoma 1 (1q32.1) y está relacionado con el SNP rs11540014(120). Se trata de una enzima de la familia de las M20 peptidasas que, secretada por los adipocitos del tejido adiposo marrón, cataliza la síntesis de los aminoácidos N-acilo. El aumento de la expresión de PM20D1 o la administración de aminoácidos N-acilo activan directamente el gasto energético de la respiración mitocondrial(121). En estudios con ratones que se les ha aumentado la expresión de PM20D1 presentaban menor ganancia de peso frente a los ratones sin sobreexpresión de este gen tras alimentarlos con una dieta de alto contenido lipídico, además tras analizar la composición corporal se muestra que esta diferencia de peso es debido al componente graso sin quedar afectada la masa muscular(122). Por otra parte, en los ratones que se les habían generado un déficit de PM20D1 presentaban una reducción de niveles de aminoácidos N-acilo. Se ha demostrado que estos presentaban mayor resistencia a la insulina, alteración en la termorregulación y disminución de la nocicepción debido a que estas enzimas actúan como "desacopladores de la respiración mitocondrial" disipando la energía almacenada en forma de calor sin producción de ATP (123).

Por lo que tanto PM20D1 como los aminoácidos N-acilo podrían convertirse en una diana terapéutica para el tratamiento de la obesidad y de otras alteraciones del metabolismo como la diabetes o el síndrome metabólico.

Además el gen PM20D1 está asociado a la Enfermedad de Alzheimer. Se ha visto que su sobreexpresión está relacionado con la disminución de la muerte celular, de los niveles de amiloide  $\beta$  y mejora el estado cognitivo del sujeto, por lo que elevados niveles de PM20D1

podrían proporcionar un potencial mecanismo de defensa frente a la Enfermedad de Alzheimer(124).

Como al dividir a los pacientes con el punto de corte de %EWL 50 obteníamos dos grupos con tamaños de muestras muy diferentes (n= 56 y n=12), volvimos a analizar los datos separando al grupo completo en terciles según %EWL. En este caso al comparar las características antropométricas y bioquímicas basales de los tres grupos obtenemos que el grupo con mejor respuesta presentaba menor peso inicial, menor IMC y menor presión arterial diastólica, sin diferencias en los parámetros bioquímicos basales. Al analizar los parámetros tras la cirugía, se ha visto que en los grupos de mejor respuesta antropométrica existe también una disminución de niveles de HbA1c, no HDL-c, triglicéridos y apolipoproteína B, además de los cambios ya observados en el apartado anterior al dividirlos en dos grupos.

Respecto al porcentaje de metilación en los tejidos, hemos encontrado diferencia en el sitio cg22730047 en el tejido adiposo subcutáneo, presentando menor grado de metilación en el grupo de peor respuesta que en el grupo de respuesta intermedia, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ( $p= 0,022$ ).

La posición cg22730047 se localiza en el cromosoma 1 (1q23.3), en una región que por el momento no se ha asociado a ningún gen codificante de proteína, aunque se encuentra en una zona de alta densidad de ARN de transferencia. No hay estudios que muestren metilación diferencial en este dinucleótido en relación a la respuesta antropométrica o metabólica en pacientes intervenidos de cirugía bariátrica.

### **3. Comparación de los patrones de metilación en los diferentes tejidos obtenidos en cada uno de los grupos de los sujetos según su respuesta antropométrica tras 24 meses del BPGY.**

Al dividir a los pacientes en dos grupos según punto de corte %EWL 50, observamos que el grupo de mejor respuesta antropométrica presentaba diferencias del porcentaje de metilación en el sitio cg07064495 entre la sangre periférica y los tejidos adiposos visceral ( $p<0.001$ ) y subcutáneo ( $p<0.001$ ). Estas diferencias en los niveles de metilación también se ponen en manifiesto al dividir al grupo en terciles, siendo los dos terciles de mejor respuesta los que las presentan. Por lo que parece ser que los pacientes que presentan mejor respuesta antropométrica tienen diferencias en los niveles de metilación entre los tejidos descritos.

La posición cg07064495 se encuentra situada en las proximidades de la región promotora del gen B4Gal-T6 que codifica la proteína  $\beta$ -1,4-galactosiltransferasa 6, localizada en el cromosoma 18 (18q12.1)(125). Las galactosiltransferasas son enzimas que participan en la glicosilación, dentro de esta familia se encuentra uno de los siete subgrupos denominado B4Gal-T6, que cataboliza la transferencia de galactosa desde UDP-galactosa a lactosilceramida, precursora de los glicoesfingolípidos(126). La vía de las ceramidas ha sido asociada a procesos metabólicos como la DM2 y la arteriosclerosis. En un estudio con hamsters se ha visto que una disminución de lactosilceramida a nivel muscular y hepático se relaciona con mayor sensibilidad a la insulina(127). Por lo que parece que esta posición podría estar relacionada con la homeostasis del tejido adiposo y la resistencia a la insulina.

Cg22730047 es otro de los sitios en los que se encuentran diferencias en el porcentaje de metilación entre los tejidos analizados. Pero en este caso no parece que se encuentre relacionado con la respuesta antropométrica tras la cirugía, ya que presentan diferencias entre sangre periférica y tejido subcutáneo visceral, y entre el tejido adiposo subcutáneo y visceral tanto en los grupos de mejor respuesta como de peor respuesta. Aunque cabe decir que al dividirse en terciles, en el tercil de respuesta intermedia no se observan diferencias en este sitio.

#### **4. Limitaciones.**

La primera dificultad que encontramos en este estudio fue contactar con los pacientes tras los dos años de la cirugía bariátrica. Partimos de una muestra de 99 sujetos que fueron intervenidos de BPGY, de los cuales se habían obtenido las muestras de los tejidos para su estudio epigenético y recogido los parámetros antropométricos y bioquímicos. Pero tras los 24 meses de la cirugía conseguimos contactar con 68 sujetos, suponiendo esto una pérdida del 31,31% de la muestra. 31 sujetos que, bien sea por cambios de domicilio, de teléfono de contacto o por problemas laborales, no fue posible su seguimiento.

Una de las principales limitaciones que encontramos fue analizar los resultados de la metilación. Hay que tener en cuenta a la hora de interpretar los resultados que sólo se comparó las diferencias del porcentaje de metilación en 11 sitios seleccionados. A pesar de haber realizado el análisis completo con los chips de Illumina del ADN de los tres tejidos en todos los sujetos, se seleccionaron 69 sitios de metilación basándonos en su asociación con la DM2. Sin embargo, tras proceder a la validación de los resultados mediante la secuenciación de los fragmentos de ADN que contenían estos 69 sitios, sólo se validaron 11. Sería conveniente preseleccionar los sitios de metilación teniendo en cuenta otro criterio (antropometría).

Otra de las limitaciones que se planteó fue que al dividir a los pacientes según su respuesta antropométrica con el punto de corte %EWL 50 obtuvimos dos grupos con tamaños muestrales muy diferentes ( $n= 56$  y  $n=12$ ). Para solventarlo, volvimos a analizar los datos dividiendo toda la muestra en terciles para conseguir tres grupos homogéneos en número de sujetos.

El número de sujetos estudiados es bajo lo que puede limitar la validez de los resultados. Es necesario validar nuestros resultados en otras series o incrementar el número de la cohorte analizada.

## **VI. CONCLUSIONES**



# CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos en nuestro estudio establecemos las siguientes conclusiones:

1. Existe una mejoría en los parámetros antropométricos, en el control del metabolismo hidrocarbonado y en el perfil lipídico tras 24 meses de la cirugía BPGY en sujetos con obesidad mórbida.
2. Un mayor grado de metilación en los sitios cg14530382 y cg26354017 en los adipocitos del tejido adiposo visceral tras 24 meses de la cirugía BPGY se asocia con una mejor respuesta antropométrica. En el sitio cg22730047 en los adipocitos del tejido adiposo subcutáneo se objetiva menor grado de metilación en el grupo de peor respuesta que en el grupo de respuesta intermedia.
3. Se observa diferencias en el grado de metilación en los sitios cg07064495 (en los sujetos con mejor respuesta antropométrica) y cg22730047 (independientemente de la respuesta antropométrica) al comparar los distintos tejidos estudiados dentro de los grupos de sujetos divididos según respuesta antropométrica tras 24 meses de la cirugía BPGY.

**Este estudio confirma la tesis que existe relación de los parámetros epigenéticos del tejido adiposo de los obesos mórbidos con las diferentes respuestas metabólicas y antropométricas que experimentan tras la cirugía bariátrica.**





## VII. BIBLIOGRAFÍA



# BIBLIOGRAFÍA

1. Hruby A, Hu FB. The Epidemiology of Obesity: A Big Picture. *Pharmacoeconomics*. 2015; 33(7):673–89.
2. WHO | Global status report on noncommunicable diseases 2014 [Internet]. WHO. [citado 9 de agosto de 2018]. Disponible en: <http://www.who.int/nmh/publications/ncd-status-report-2014/en/>
3. Andolfi C, Fisichella PM. Epidemiology of Obesity and Associated Comorbidities. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A*. 2018; 28(8):919-24.
4. Aranceta-Bartrina J, Pérez-Rodrigo C, Alberdi-Aresti G, Ramos-Carrera N, Lázaro-Masedo S. Prevalencia de obesidad general y obesidad abdominal en la población adulta española (25–64 años) 2014–2015: estudio ENPE. *Rev Esp Cardiol*. 2016; 69(06):579–87.
5. Krachler B, Völgyi E, Savonen K, Tylavsky FA, Alén M, Cheng S. BMI and an Anthropometry-Based Estimate of Fat Mass Percentage Are Both Valid Discriminators of Cardiometabolic Risk: A Comparison with DXA and Bioimpedance. *J Obes* [Internet]. [citado 9 de agosto de 2018];2013. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3886548/>
6. WHO: Global Database on Body Mass Index [Internet]. [citado 9 de agosto de 2018]. Disponible en: [http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro\\_3.html](http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html)
7. 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(1):71–82.
8. Khaodhlar L, McCowen KC, Blackburn GL. Obesity and its comorbid conditions. *Clin Cornerstone*. 1999; 2(3):17–31.
9. Shulman GI. Cellular mechanisms of insulin resistance. *J Clin Invest*. 2000; 106(2):171–6.
10. Pedersen DJ, Guilherme A, Danai LV, Heyda L, Matevossian A, Cohen J, et al. A major role of insulin in promoting obesity-associated adipose tissue inflammation. *Mol Metab*. 2015; 4(7):507–18.
11. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Prevalence of overweight and obesity among adults with diagnosed diabetes--United States, 1988-1994 and 1999-2002. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2004; 53(45):1066–8.
12. Ford ES, Williamson DF, Liu S. Weight change and diabetes incidence: findings from a national cohort of US adults. *Am J Epidemiol*. 1997; 146(3):214–22.
13. Wadden TA, Butryn ML, Byrne KJ. Efficacy of lifestyle modification for long-term weight control. *Obes Res*. 2004; 12 Suppl:151S-62S.
14. Després JP. Dyslipidaemia and obesity. *Baillieres Clin Endocrinol Metab*. 1994; 8(3):629–60.

15. Hall JE, do Carmo JM, da Silva AA, Wang Z, Hall ME. Obesity-induced hypertension: interaction of neurohumoral and renal mechanisms. *Circ Res*. 2015; 116(6):991–1006.
16. Bueter M, Ahmed A, Ashrafian H, le Roux CW. Bariatric surgery and hypertension. *Surg Obes Relat Dis Off J Am Soc Bariatr Surg*. 2009; 5(5):615–20.
17. Mortimore IL, Marshall I, Wraith PK, Sellar RJ, Douglas NJ. Neck and total body fat deposition in nonobese and obese patients with sleep apnea compared with that in control subjects. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998; 157(1):280–3.
18. Grunstein RR, Wilcox I. Sleep-disordered breathing and obesity. *Baillieres Clin Endocrinol Metab*. 1994; 8(3):601–28.
19. Nadaletto BF, Herbella FAM, Patti MG. Gastroesophageal reflux disease in the obese: Pathophysiology and treatment. *Surgery*. 2016; 159(2):475–86.
20. Erlinger S. Gallstones in obesity and weight loss. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2000; 12(12):1347–52.
21. King LK, March L, Anandacoomarasamy A. Obesity & osteoarthritis. *Indian J Med Res*. 2013; 138(2):185–93.
22. Butryn ML, Webb V, Wadden TA. Behavioral Treatment of Obesity. *Psychiatr Clin North Am*. 2011; 34(4):841–59.
23. Kushner RF. Weight loss strategies for treatment of obesity. *Prog Cardiovasc Dis*. 2014; 56(4):465–72.
24. Sacks FM, Bray GA, Carey VJ, Smith SR, Ryan DH, Anton SD, et al. Comparison of Weight-Loss Diets with Different Compositions of Fat, Protein, and Carbohydrates. *N Engl J Med*. 2009; 360(9):859–73.
25. Calleja Fernández A, Vidal Casariego A, Cano Rodríguez I, Ballesteros Pomar MD. One-year effectiveness of two hypocaloric diets with different protein/carbohydrate ratios in weight loss and insulin resistance. *Nutr Hosp*. 2012; 27(6):2093–101.
26. Adults (US) NOEIEP on the I Evaluation, and Treatment of Obesity in. *Clinical Guidelines on the Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults*. National Heart, Lung, and Blood Institute; 1998.
27. Wadden TA, Butryn ML, Wilson C. Lifestyle modification for the management of obesity. *Gastroenterology*. 2007; 132(6):2226–38.
28. Wadden TA, Webb VL, Moran CH, Bailer BA. Lifestyle Modification for Obesity. *Circulation*. 2012; 125(9):1157–70.
29. Perri MG, Corsica JA. Improving the maintenance of weight lost in behavioral treatment of obesity. In: *Handbook of obesity treatment*. New York, NY, US: Guilford Press; 2002. p. 357–79.

30. Apovian CM, Aronne LJ, Bessesen DH, McDonnell ME, Murad MH, Pagotto U, et al. Pharmacological management of obesity: an endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015; 100(2):342–62.
31. Krentz AJ, Fujioka K, Hompesch M. Evolution of pharmacological obesity treatments: focus on adverse side-effect profiles. *Diabetes Obes Metab.* 2016; 18(6):558–70.
32. Cabrerizo García L, Ramos-Leví A, Moreno Lopera C, Rubio Herrera MA. Update on pharmacology of obesity: benefits and risks. *Nutr Hosp.* 2013; 28 Suppl 5:121–7.
33. Khera R, Murad MH, Chandar AK, Dulai PS, Wang Z, Prokop LJ, et al. Association of Pharmacological Treatments for Obesity With Weight Loss and Adverse Events: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA.* 2016; 315(22):2424–34.
34. Garvey WT, Mechanick JI, Brett EM, Garber AJ, Hurley DL, Jastreboff AM, et al. American association of clinical endocrinologists and American college of endocrinology comprehensive clinical practice guidelines for medical care of patients with obesity. *Endocr Pract Off J Am Coll Endocrinol Am Assoc Clin Endocrinol.* 2016; 22 Suppl 3:1–203.
35. Drucker DJ, Nauck MA. The incretin system: glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes. *Lancet Lond Engl.* 2006; 368(9548):1696–705.
36. Astrup A, Madsbad S, Breum L, Jensen TJ, Kroustrup JP, Larsen TM. Effect of tesofensine on bodyweight loss, body composition, and quality of life in obese patients: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Lond Engl.* 2008; 372(9653):1906–13.
37. Kim DD, Krishnarajah J, Lillioja S, de Looze F, Marjason J, Proietto J, et al. Efficacy and safety of beloranib for weight loss in obese adults: a randomized controlled trial. *Diabetes Obes Metab.* 2015; 17(6):566–72.
38. Bhat VK, Kerr BD, Flatt PR, Gault VA. A novel GIP-oxytomodulin hybrid peptide acting through GIP, glucagon and GLP-1 receptors exhibits weight reducing and anti-diabetic properties. *Biochem Pharmacol.* 2013; 85(11):1655–62.
39. Buchwald H, Oien DM. Metabolic/bariatric surgery worldwide 2011. *Obes Surg.* 2013; 23(4):427–36.
40. Angrisani L, Santonicola A, Iovino P, Formisano G, Buchwald H, Scopinaro N. Bariatric Surgery Worldwide 2013. *Obes Surg.* 2015; 25(10):1822–32.
41. Sjöström L, Lindroos A-K, Peltonen M, Torgerson J, Bouchard C, Carlsson B, et al. Lifestyle, diabetes, and cardiovascular risk factors 10 years after bariatric surgery. *N Engl J Med.* 2004; 351(26):2683–93.
42. Mason EE, Ito C. Gastric bypass in obesity. *Surg Clin North Am.* 1967; 47(6):1345–51.
43. Brunaud L, Nomine-Criqui C, Fouquet T, Sirveaux M-A, Reibel N, Quilliot D. [Bariatric surgical procedures]. *Presse Medicale Paris Fr* 1983. 2018; 47(5):447–52.

44. Nguyen NT, Varela JE. Bariatric surgery for obesity and metabolic disorders: state of the art. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017; 14(3):160–9.
45. Gastrointestinal surgery for severe obesity: National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement. *Am J Clin Nutr*. 1992; 55(2 Suppl):615S-619S.
46. Rubino F, Forgione A, Cummings DE, Vix M, Gnuli D, Mingrone G, et al. The Mechanism of Diabetes Control After Gastrointestinal Bypass Surgery Reveals a Role of the Proximal Small Intestine in the Pathophysiology of Type 2 Diabetes. *Ann Surg*. 2006; 244(5):741–9.
47. Clinical Issues Committee A. Bariatric surgery in class I obesity (body mass index 30–35 kg/m<sup>2</sup>). *Surg Obes Relat Dis*. 2013; 9(1):e1–10.
48. Rubio MA, Monereo S, Lecube A, Resa J, Masdevall C, de la Cruz Vigo F, et al. Posicionamiento de las sociedades SEEN-SECO-SEEDO-SED sobre la cirugía metabólica en la diabetes mellitus tipo-2. *Endocrinol Nutr*. 2013; 60(10):547–8.
49. Fried M, Yumuk V, Oppert JM, Scopinaro N, Torres A, Weiner R, et al. Interdisciplinary European guidelines on metabolic and bariatric surgery. *Obes Surg*. 2014; 24(1):42–55.
50. Chang S-H, Stoll CRT, Song J, Varela JE, Eagon CJ, Colditz GA. The effectiveness and risks of bariatric surgery: an updated systematic review and meta-analysis, 2003-2012. *JAMA Surg*. 2014; 149(3):275–87.
51. Böckelman C, Hahl T, Victorzon M. Mortality Following Bariatric Surgery Compared to Other Common Operations in Finland During a 5-Year Period (2009-2013). A Nationwide Registry Study. *Obes Surg*. 2017; 27(9):2444–51.
52. Sundbom M. Laparoscopic revolution in bariatric surgery. *World J Gastroenterol*. 2014; 20(41):15135–43.
53. le Roux CW, Heneghan HM. Bariatric Surgery for Obesity. *Med Clin North Am*. 2018; 102(1):165–82.
54. Nguyen NT, Masoomi H, Laugenour K, Sanaiha Y, Reavis KM, Mills SD, et al. Predictive factors of mortality in bariatric surgery: data from the Nationwide Inpatient Sample. *Surgery*. 2011; 150(2):347–51.
55. Livhits M, Mercado C, Yermilov I, Parikh JA, Dutson E, Mehran A, et al. Preoperative predictors of weight loss following bariatric surgery: systematic review. *Obes Surg*. 2012; 22(1):70–89.
56. Noel P, Nedelcu M, Eddbali I, Manos T, Gagner M. What are the long-term results 8 years after sleeve gastrectomy? *Surg Obes Relat Dis Off J Am Soc Bariatr Surg*. 2017; 13(7):1110–5.
57. 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(1):121–6.

58. Mingrone G, Panunzi S, De Gaetano A, Guidone C, Iaiconelli A, Nanni G, et al. Bariatric-metabolic surgery versus conventional medical treatment in obese patients with type 2 diabetes: 5 year follow-up of an open-label, single-centre, randomised controlled trial. *Lancet Lond Engl*. 2015; 386(9997):964–73.
59. Panunzi S, De Gaetano A, Carnicelli A, Mingrone G. Predictors of remission of diabetes mellitus in severely obese individuals undergoing bariatric surgery: do BMI or procedure choice matter? A meta-analysis. *Ann Surg*. 2015; 261(3):459–67.
60. Billeter AT, Scheurlen KM, Probst P, Eichel S, Nickel F, Kopf S, et al. Meta-analysis of metabolic surgery versus medical treatment for microvascular complications in patients with type 2 diabetes mellitus. *Br J Surg*. 2018; 105(3):168–81.
61. 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 Off J Am Soc Bariatr Surg*. 2014; 10(6):1129–33.
62. Sugerman HJ, Wolfe LG, Sica DA, Clore JN. Diabetes and hypertension in severe obesity and effects of gastric bypass-induced weight loss. *Ann Surg*. 2003; 237(6):751–8.
63. Benaiges D, Goday A, Ramon JM, Hernandez E, Pera M, Cano JF, et al. Laparoscopic sleeve gastrectomy and laparoscopic gastric bypass are equally effective for reduction of cardiovascular risk in severely obese patients at one year of follow-up. *Surg Obes Relat Dis Off J Am Soc Bariatr Surg*. 2011; 7(5):575–80.
64. Aminian A, Jamal M, Augustin T, Corcelles R, Kirwan JP, Schauer PR, et al. Failed Surgical Weight Loss Does Not Necessarily Mean Failed Metabolic Effects. *Diabetes Technol Ther*. 2015; 17(10):682–4.
65. Dupont C, Armant DR, Brenner CA. Epigenetics: Definition, Mechanisms and Clinical Perspective. *Semin Reprod Med*. 2009; 27(5):351–7.
66. Waterland RA, Michels KB. Epigenetic epidemiology of the developmental origins hypothesis. *Annu Rev Nutr*. 2007; 27:363–88.
67. Milagro Y FI. Epigenética en obesidad y diabetes tipo 2: papel de la nutrición, limitaciones y futuras aplicaciones. *Rev Chil Endocrinol Diabetes*. 2013; 6(3):108–14.
68. Morcillo S, Macías-González M, Tinahones FJ. The Effect of Metabolic and Bariatric Surgery on DNA Methylation Patterns. *Curr Atheroscler Rep*. 2017; 19(10):40.
69. Quina AS, Buschbeck M, Di Croce L. Chromatin structure and epigenetics. *Biochem Pharmacol*. 2006; 72(11):1563–9.
70. Bird A. DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes Dev*. 2002; 16(1):6–21.
71. Suzuki MM, Bird A. DNA methylation landscapes: provocative insights from epigenomics. *Nat Rev Genet*. 2008; 9(6):465–76.

72. González SJ, Cristiano E, Argibay P. Epigenética y epigenoma: Un paso más allá en la etiología y potencial tratamiento de las enfermedades neurológicas. *Med B Aires*. 2011; 71(4):390–6.
73. Allis CD, Berger SL, Cote J, Dent S, Jenuwien T, Kouzarides T, et al. New nomenclature for chromatin-modifying enzymes. *Cell*. 2007; 131(4):633–6.
74. Jenuwein T, Allis CD. Translating the histone code. *Science*. 2001; 293(5532):1074–80.
75. Palazzo AF, Lee ES. Non-coding RNA: what is functional and what is junk? *Front Genet* [Internet]. [citado 29 de agosto de 2018];6. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4306305/>
76. Kaikkonen MU, Lam MTY, Glass CK. Non-coding RNAs as regulators of gene expression and epigenetics. *Cardiovasc Res*. 2011; 90(3):430–40.
77. Xu X, Su S, Barnes VA, De Miguel C, Pollock J, Ownby D, et al. A genome-wide methylation study on obesity: differential variability and differential methylation. *Epigenetics*. 2013; 8(5):522–33.
78. de Mello VDF, Pulkkinen L, Lalli M, Kolehmainen M, Pihlajamäki J, Uusitupa M. DNA methylation in obesity and type 2 diabetes. *Ann Med*. 2014; 46(3):103–13.
79. Milagro FI, Campión J, Cordero P, Goyenechea E, Gómez-Uriz AM, Abete I, et al. A dual epigenomic approach for the search of obesity biomarkers: DNA methylation in relation to diet-induced weight loss. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. 2011; 25(4):1378–89.
80. Bouchard L, Rabasa-Lhoret R, Faraj M, Lavoie M-E, Mill J, Pérusse L, et al. Differential epigenomic and transcriptomic responses in subcutaneous adipose tissue between low and high responders to caloric restriction. *Am J Clin Nutr*. 2010; 91(2):309–20.
81. Cordero P, Campion J, Milagro FI, Goyenechea E, Steemburgo T, Javierre BM, et al. Leptin and TNF-alpha promoter methylation levels measured by MSP could predict the response to a low-calorie diet. *J Physiol Biochem*. 2011; 67(3):463–70.
82. Campión J, Milagro FI, Goyenechea E, Martínez JA. TNF-alpha promoter methylation as a predictive biomarker for weight-loss response. *Obes Silver Spring Md*. 2009; 17(6):1293–7.
83. Barres R, Kirchner H, Rasmussen M, Yan J, Kantor FR, Krook A, et al. Weight loss after gastric bypass surgery in human obesity remodels promoter methylation. *Cell Rep*. 2013; 3(4):1020–7.
84. Benton MC, Johnstone A, Eccles D, Harmon B, Hayes MT, Lea RA, et al. An analysis of DNA methylation in human adipose tissue reveals differential modification of obesity genes before and after gastric bypass and weight loss. *Genome Biol*. 2015; 16:8.
85. Dahlman I, Sinha I, Gao H, Brodin D, Thorell A, Rydén M, et al. The fat cell epigenetic signature in post-obese women is characterized by global hypomethylation and differential DNA methylation of adipogenesis genes. *Int J Obes* 2005. 2015; 39(6):910–9.



86. Kirchner H, Nylen C, Laber S, Barrès R, Yan J, Krook A, et al. Altered promoter methylation of PDK4, IL1 B, IL6, and TNF after Roux-en Y gastric bypass. *Surg Obes Relat Dis Off J Am Soc Bariatr Surg.* 2014; 10(4):671–8.
87. Martín-Núñez GM, Cabrera-Mulero A, Alcaide-Torres J, García-Fuentes E, Tinahones FJ, Morcillo S. No effect of different bariatric surgery procedures on LINE-1 DNA methylation in diabetic and nondiabetic morbidly obese patients. *Surg Obes Relat Dis Off J Am Soc Bariatr Surg.* 2017; 13(3):442–50.
88. Ahrens M, Ammerpohl O, von Schönfels W, Kolarova J, Bens S, Itzel T, et al. DNA methylation analysis in nonalcoholic fatty liver disease suggests distinct disease-specific and remodeling signatures after bariatric surgery. *Cell Metab.* 2013; 18(2):296–302.
89. Fernyhough ME, Vierck JL, Hausman GJ, Mir PS, Okine EK, Dodson MV. Primary adipocyte culture: adipocyte purification methods may lead to a new understanding of adipose tissue growth and development. *Cytotechnology.* 2004; 46(2–3):163–72.
90. Sjöström L, Narbro K, Sjöström CD, Karason K, Larsson B, Wedel H, et al. Effects of bariatric surgery on mortality in Swedish obese subjects. *N Engl J Med.* 2007; 357(8):741–52.
91. Adams TD, Gress RE, Smith SC, Halverson RC, Simper SC, Rosamond WD, et al. Long-Term Mortality after Gastric Bypass Surgery. *N Engl J Med.* 2007; 357(8):753–61.
92. Sjöström CD, Lissner L, Wedel H, Sjöström L. Reduction in incidence of diabetes, hypertension and lipid disturbances after intentional weight loss induced by bariatric surgery: the SOS Intervention Study. *Obes Res.* 1999; 7(5):477–84.
93. Pories WJ, Swanson MS, MacDonald KG, Long SB, Morris PG, Brown BM, et al. Who would have thought it? An operation proves to be the most effective therapy for adult-onset diabetes mellitus. *Ann Surg.* 1995; 222(3):339–52.
94. Wolfe BM, Kvach E, Eckel RH. Treatment of Obesity: Weight Loss and Bariatric Surgery. *Circ Res.* 2016; 118(11):1844–55.
95. De Pablos Velasco PL, Martínez Martín FJ. Significado clínico de la obesidad abdominal. *Endocrinol Nutr.* 2007; 54(5):265–71.
96. Wei Y-F, Tseng W-K, Huang C-K, Tai C-M, Hsuan C-F, Wu H-D. Surgically induced weight loss, including reduction in waist circumference, is associated with improved pulmonary function in obese patients. *Surg Obes Relat Dis.* 2011; 7(5):599–604.
97. Bojsen-Møller KN. Mechanisms of improved glycaemic control after Roux-en-Y gastric bypass. *Dan Med J.* 2015; 62(4):B5057.
98. Dixon JB. Obesity and diabetes: the impact of bariatric surgery on type-2 diabetes. *World J Surg.* 2009; 33(10):2014–21.
99. Renard E. Bariatric surgery in patients with late-stage type 2 diabetes: expected beneficial effects on risk ratio and outcomes. *Diabetes Metab.* 2009; 35(6 Pt 2):564–8.

100. Hinojosa MW, Varela JE, Smith BR, Che F, Nguyen NT. Resolution of systemic hypertension after laparoscopic gastric bypass. *J Gastrointest Surg Off J Soc Surg Aliment Tract.* 2009; 13(4):793–7.
101. Pajecki D, Dalcanalle L, Souza de Oliveira CPM, Zilberstein B, Halpern A, Garrido AB, et al. Follow-up of Roux-en-Y gastric bypass patients at 5 or more years postoperatively. *Obes Surg.* 2007; 17(5):601–7.
102. Athyros VG, Tziomalos K, Karagiannis A, Mikhailidis DP. Cardiovascular benefits of bariatric surgery in morbidly obese patients. *Obes Rev Off J Int Assoc Study Obes.* 2011; 12(7):515–24.
103. Carlin AM, Yager KM, Rao DS. Vitamin D depletion impairs hypertension resolution after Roux-en-Y gastric bypass. *Am J Surg.* 2008; 195(3):349–52.
104. Dixon JB, O'Brien PE. Lipid profile in the severely obese: changes with weight loss after lap-band surgery. *Obes Res.* 2002; 10(9):903–10.
105. Segal JB, Clark JM, Shore AD, Dominici F, Magnuson T, Richards TM, et al. Prompt reduction in use of medications for comorbid conditions after bariatric surgery. *Obes Surg.* 2009; 19(12):1646–56.
106. Ocón Bretón J, García B, Benito P, Gimeno S, García R, López P. [Effect of gastric bypass on the metabolic syndrome and on cardiovascular risk]. *Nutr Hosp.* 2010; 25(1):67–71.
107. Ali MR, Fuller WD, Rasmussen J. Detailed description of early response of metabolic syndrome after laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass. *Surg Obes Relat Dis Off J Am Soc Bariatr Surg.* 2009; 5(3):346–51.
108. Vest AR, Heneghan HM, Agarwal S, Schauer PR, Young JB. Bariatric surgery and cardiovascular outcomes: a systematic review. *Heart Br Card Soc.* 2012; 98(24):1763–77.
109. Carswell KA, Belgaumkar AP, Amiel SA, Patel AG. A Systematic Review and Meta-analysis of the Effect of Gastric Bypass Surgery on Plasma Lipid Levels. *Obes Surg.* 2016; 26(4):843–55.
110. Gómez-Martin JM, Balsa JA, Aracil E, Cuadrado-Ayuso M, Rosillo M, De la Peña G, et al. Beneficial changes on plasma apolipoproteins A and B, high density lipoproteins and oxidized low density lipoproteins in obese women after bariatric surgery: comparison between gastric bypass and sleeve gastrectomy. *Lipids Health Dis [Internet].* [citado 1 de mayo de 2019];17. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6011580/>
111. Griffo E, Cotugno M, Nosso G, Saldalamacchia G, Mangione A, Angrisani L, et al. Effects of Sleeve Gastrectomy and Gastric Bypass on Postprandial Lipid Profile in Obese Type 2 Diabetic Patients: a 2-Year Follow-up. *Obes Surg.* 2016; 26(6):1247–53.
112. To VT, Hüttl TP, Lang R, Piotrowski K, Parhofer KG. Changes in body weight, glucose homeostasis, lipid profiles, and metabolic syndrome after restrictive bariatric surgery. *Exp*

- Clin Endocrinol Diabetes Off J Ger Soc Endocrinol Ger Diabetes Assoc. 2012; 120(9):547–52.
113. Boyer M, Piché M-E, Auclair A, Grenier-Larouche T, Biertho L, Marceau S, et al. Acute and Chronic Impact of Bariatric Surgery on Plasma LDL Cholesterol and PCSK9 Levels in Patients With Severe Obesity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2017; 102(11):4023–30.
  114. Plecka Östlund M, Marsk R, Rasmussen F, Lagergren J, Näslund E. Morbidity and mortality before and after bariatric surgery for morbid obesity compared with the general population. *Br J Surg.* 2011; 98(6):811–6.
  115. Christou NV, Sampalis JS, Liberman M, Look D, Auger S, McLean APH, et al. Surgery Decreases Long-term Mortality, Morbidity, and Health Care Use in Morbidly Obese Patients. *Ann Surg.* 2004; 240(3):416–24.
  116. Torquati A, Wright K, Melvin W, Richards W. Effect of gastric bypass operation on Framingham and actual risk of cardiovascular events in class II to III obesity. *J Am Coll Surg.* 2007; 204(5):776–83.
  117. SH2D3A SH2 domain containing 3A [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI [Internet]. [citado 2 de agosto de 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/10045>
  118. Lu Y, Brush J, Stewart TA. NSP1 defines a novel family of adaptor proteins linking integrin and tyrosine kinase receptors to the c-Jun N-terminal kinase/stress-activated protein kinase signaling pathway. *J Biol Chem.* 1999; 274(15):10047–52.
  119. Vervoort VS, Roselli S, Oshima RG, Pasquale EB. Splice variants and expression patterns of SHEP1, BCAR3 and NSP1, a gene family involved in integrin and receptor tyrosine kinase signaling. *Gene.* 2007; 391(1–2):161–70.
  120. PM20D1 peptidase M20 domain containing 1 [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI [Internet]. [citado 2 de agosto de 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/148811>
  121. Larrick JW, Larrick JW, Mendelsohn AR. Uncoupling Mitochondrial Respiration for Diabetes. *Rejuvenation Res.* 2016; 19(4):337–40.
  122. Zincarelli C, Soltys S, Rengo G, Rabinowitz JE. Analysis of AAV serotypes 1-9 mediated gene expression and tropism in mice after systemic injection. *Mol Ther J Am Soc Gene Ther.* 2008; 16(6):1073–80.
  123. Long JZ, Roche AM, Berdan CA, Louie SM, Roberts AJ, Svensson KJ, et al. Ablation of PM20D1 reveals N-acyl amino acid control of metabolism and nociception. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2018; 115(29):E6937–45.
  124. Sanchez-Mut JV, Heyn H, Silva BA, Dixsaut L, Garcia-Esparcia P, Vidal E, et al. PM20D1 is a quantitative trait locus associated with Alzheimer’s disease. *Nat Med.* 2018; 24(5):598.

125. B4GALT6 Gene - GeneCards | B4GT6 Protein | B4GT6 Antibody [Internet]. [citado 21 de agosto de 2019]. Disponible en: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=B4GALT6&keywords=B4Gal-T>
126. Chatterjee S, Kolmakova A, Rajesh M. Regulation of lactosylceramide synthase (glucosylceramide beta1-->4 galactosyltransferase); implication as a drug target. *Curr Drug Targets*. 2008;9(4):272–81.
127. Kasbi-Chadli F, Ferchaud-Roucher V, Krempf M, Ouguerram K. Direct and maternal n-3 long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation improved triglyceridemia and glycemia through the regulation of hepatic and muscle sphingolipid synthesis in offspring hamsters fed a high-fat diet. *Eur J Nutr*. 2016;55(2):589–99.