



# **DAÑO ENDOTELIAL EN PACIENTES OBESOS EN RESPUESTA AL ESTRÉS QUIRÚRGICO**

**M<sup>a</sup> Victoria Noci Sánchez  
Córdoba, 2013**

TITULO: *Daño endotelial en pacientes obesos en respuesta al estrés quirúrgico*

AUTOR: *María Victoria Noci Sánchez*

---

© Edita: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba. 2015  
Campus de Rabanales  
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A  
14071 Córdoba

[www.uco.es/publicaciones](http://www.uco.es/publicaciones)  
[publicaciones@uco.es](mailto:publicaciones@uco.es)

---





**TÍTULO DE LA TESIS: DAÑO ENDOTELIAL EN PACIENTES OBESOS EN RESPUESTA AL ESTRÉS QUIRÚRGICO**

**DOCTORANDO/A:** Maria Victoria Noci Sánchez

**INFORME RAZONADO DEL/DE LOS DIRECTOR/ES DE LA TESIS**

(se hará mención a la evolución y desarrollo de la tesis, así como a trabajos y publicaciones derivados de la misma).

Que D<sup>a</sup> Maria Victoria Noci Sánchez, Licenciada en Medicina y Cirugía, ha realizado bajo nuestra dirección, en el grupo Daño celular en Inflamación crónica del Instituto Maimónides de Investigaciones Biomédicas de Córdoba (IMIBIC) / Hospital universitario Reina Sofía y en el departamento de Departamento de Especialidades Médico-Quirúrgicas de la Universidad de Córdoba, el trabajo titulado: **“Daño endotelial en pacientes obesos en respuesta al estrés quirúrgico”**.

Este trabajo, incluye aspectos clínicos y básicos y ha permitido a la doctoranda ampliar su actividad investigadora participando de proyectos de investigación financiados en convocatorias públicas relacionados con el desarrollo de su tesis doctoral, desarrollando el proceso de forma altamente satisfactoria. Los resultados obtenidos están incluidos en un manuscrito actualmente en proceso de revisión editorial en una revista indexada en JCR, por lo que en nuestra opinión ha conseguido un nivel científico de suficiente relevancia.

Por todo ello, se autoriza la presentación de la tesis doctoral.

Córdoba, 15 de julio de 2013

Firma del/de los director/es

Fdo.: Dra. Julia María Carracedo Añón



**TÍTULO DE LA TESIS: DAÑO ENDOTELIAL EN PACIENTES OBESOS EN RESPUESTA AL ESTRÉS QUIRÚRGICO**

**DOCTORANDO/A:** María Victoria Noci Sánchez

**INFORME RAZONADO DEL/DE LOS DIRECTOR/ES DE LA TESIS**

(se hará mención a la evolución y desarrollo de la tesis, así como a trabajos y publicaciones derivados de la misma).

Que Dña. María Victoria Noci Sánchez ha realizado el presente trabajo de investigación sobre el tema " Daño endotelial en pacientes obesos en respuesta al estrés quirúrgico ", que presenta como Tesis Doctoral, realizada bajo mi dirección.

La presente Tesis Doctoral ha sido por mi revisada y la considero conforme y adecuada para ser presentada y optar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía ante el Tribunal Calificador que en su día se designe.

Por todo ello, se autoriza la presentación de la tesis doctoral.

Córdoba, 11 de julio de 2013

Firma del/de los director/es

Fdo.: Dra. Mercedes Lluch Fernández





## **DAÑO ENDOTELIAL EN PACIENTES OBESOS EN RESPUESTA AL ESTRÉS QUIRÚRGICO**

Unidad de Investigación,  
Unidad de Gestión Clínica de Anestesia  
HOSPITAL UNIVERSITARIO REINA SOFÍA DE CÓRDOBA  
Departamento de Especialidades Médico-Quirúrgicas  
UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

Memoria de Tesis presentada por D<sup>a</sup> M<sup>a</sup> Victoria Noci Sánchez,  
Licenciada en Medicina y Cirugía, para optar al grado de Doctor.

M<sup>a</sup> Victoria Noci Sánchez

Córdoba, 2013





D<sup>a</sup> JULIA CARRACEDO AÑÓN, Doctora en Medicina y Cirugía por la Universidad de Córdoba e Investigadora del Sistema Sanitario Público de Andalucía, Unidad de Gestión Clínica de Nefrología (Programa Nicolás Monardes) en el Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba.

D<sup>a</sup> MERCEDES LLUCH FERNÁNDEZ, Doctora en Medicina y Cirugía por la Universidad de Córdoba, Profesora Asociada del Departamento de Especialidades Médico-Quirúrgicas de la Universidad de Córdoba y Jefe de Servicio de Anestesia y Reanimación del Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba.

#### INFORMAN:

Que D<sup>a</sup> M<sup>a</sup> Victoria Noci Sánchez, Licenciada en Medicina y Cirugía, ha realizado bajo su dirección, de forma conjunta en la Unidad de Investigación del Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba y en el departamento de Departamento de Especialidades Médico-Quirúrgicas de la Universidad de Córdoba, desde el año 2003 hasta la actualidad, el trabajo titulado: **“Daño endotelial en pacientes obesos en respuesta al estrés quirúrgico”**, y que a su juicio reúne los méritos suficientes para optar al Grado de Doctor por la Universidad de Córdoba.

Fdo: Dra. Julia Carracedo Añón

Fdo: Dra. Mercedes Lluch Fernández











A la Dra. Mercedes Lluch Fernández, mi más sincero agradecimiento por la confianza puesta en mí y su colaboración en la investigación realizada.

Dra. Julia Carracedo Añón por su paciencia, su trabajo exquisito, su presencia constante y ayuda durante todos estos años, sin la cual hubiera sido imposible realizar este trabajo.

Al Dr. Pedro Aljama y al Dr. Rafael Ramírez por su interés y ayuda para superar los obstáculos.

Al Dr. Pedro Carpintero por su cooperación e impulso en este estudio.

Mil gracias a la Dra. Ana Merino y a la técnico M<sup>a</sup> José Jiménez por su ayuda en el procesamiento de las muestras.

También quiero expresar mi agradecimiento al Dr. Mariano Rodríguez y a su grupo, Yolanda Almadén, Juan Muñoz, Marién Rodríguez, Addy Montesdeoca, Fátima Guerrero, Carmen Herencia, Rocío Canalejo y Julio. Gracias a todos por vuestra amistad.

Al grupo de la Unidad de Investigación Paula Buendía, Sagrario Cañadillas, Carolina Briceño, Rosa Moyano, Teresa Cabada por sus ánimos y guía en este trabajo.

Me gustaría dar las gracias al resto de los grupos de la Unidad de Investigación del Hospital Reina Sofía y al personal de la Unidad: Inés Carmen, Lubi, y a José Luis.

A mis compañeros del Servicio de Anestesia, Luis Maldonado, Antonio Vallejo, Asunción Giménez, Francisco Funes, José Luis Gómez, Manuel Ruiz Mateo, Francisco Zurita, Manuel Belmonte, Ángel Merina, Ángel Meléndez, Victoria Eugenia Rubio, José María Martínez, Rafael Muñoz, Teresa Mantaras, Antonio Herruzo, Carmen García Gaitán, Lourdes González, Lourdes Rodríguez de Tembleque, y a los que se me olvidan, por su comprensión y ánimo.

Gracias a la Dra. Lourdes Ruiz Fernández de Mesa por sus buenos consejos, aunque piense que todos estamos un poquito locos.

Al personal de Reanimación, Ana, Estrella, Sofía, M<sup>a</sup> Jesús, Gloria, Margarita, Mercedes, Paco, Toñi, Miguel, M<sup>a</sup> Dolores, Paqui y Ángel, tanto a los que no están, como a los que me siguen sufriendo.

A Toñi Adame por ánimo y buen humor.

A mis hijas porque con su risas y juegos me alegran cada día.

A mis padres, por su eterno amor, apoyo y confianza.





---



# **ABREVIATURAS**



## Listado de abreviaturas

- ACVA.....Accidente cerebrovascular agudo
- AGL .....Ácidos grasos libres
- AIT .....Accidente isquémico transitorio
- CBA.....Cytometric Bead Array Immunoassay
- CCC.....Cociente entre la cintura la cadera
- CE .....Células endoteliales
- DMNID.....Diabetes mellitus no insulino dependiente
- DS.....Desviación estándar
- ECC .....Enfermedad cardiaca coronaria
- ECV .....Enfermedad cardiovascular
- ELISA.....Ensayo de inmunodetección ligado a enzima o Enzimoensayo
- EMP.....Micropartículas derivadas del endotelio
- EPC .....Células progenitoras endoteliales
- EPOC .....Enfermedad obstructiva crónica
- FA.....Fibrilación auricular
- FCEV .....Factor de crecimiento del endotelio vascular
- FCH .....Factor de crecimiento del hepatocito
- FIM .....Factor de inhibición de la migración
- FRC .....Factores de riesgo cardiovascular
- HDL .....Lipoproteínas de alta densidad
- HTA .....Hipertensión arterial
- ICC .....Índice cintura cadera
- IFN- $\gamma$ .....Interferón gamma
- IGF-1 .....Factor de crecimiento similar a la insulina
- IL-1 .....Interleuquina-1

- IL-6 ..... Interleuquina-6
- IL-8.....Interleuquina-8
- IL-10.....Interleuquina-10
- IL-12.....Interleuquina-12
- IMC ..... Índice de masa corporal
- LDL ..... Lipoproteína de baja densidad
- LIF ..... Factor inhibidor de leucemia
- LPS..... Lipopolisacárido
- M.....Media
- MP.....Micropartículas
- MCP-1 ..... Proteína quimioatrayente de monocitos
- MIP-1 ..... Proteína inflamatoria de macrófagos
- MPE..... Micropartículas endoteliales
- NGF.....Factor de crecimiento de los nervios
- NHANES III..... National health and nutrition examination survey III
- NO ..... Óxido nítrico
- OD.....Densidad óptica
- OMS ..... Organización mundial de la salud
- OSA.....Obstructive sleep apnea. Apnea obstructiva del sueño
- PAI-1.....Inhibidor del activador del plasminógeno-1
- PCR..... Proteína C reactiva
- PGE<sub>2</sub>..... Prostaglandina E<sub>2</sub>
- PPAR..... Receptores activadores de la proliferación peroxisomal
- PQM-1 ..... Proteína quimiotáctica del monocito-1
- PSGN ..... Polisomnografía nocturna
- PTR.....Prótesis total de rodilla
- RI..... Resistencia a la insulina

- SAA.....Amiloide sérico A
- SAOS.....Síndrome de apnea obstructiva del sueño
- SEEDO.....Sociedad española para el estudio de la obesidad
- SM.....Síndrome metabólico
- TAB.....Tejido adiposo blanco
- TAM.....Tejido adiposo marrón o pardo
- TG.....Triglicéridos
- TGF- $\beta$ .....Factor de crecimiento transformante- $\beta$
- TH1.....Linfocitos T helper 1
- TNFR.....Receptor del factor de necrosis tumoral.
- TNF- $\alpha$ .....Factor de necrosis tumoral- $\alpha$ .
- TZD.....Tiazolidinedionas
- VD.....Ventrículo derecho
- VEGF.....Factor de crecimiento derivado del endotelio
- VLDL.....Lipoproteínas de muy baja densidad

---

---

# ÍNDICE



<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>9</b>
1.- DEFINICIÓN E INCIDENCIA DE LA OBESIDAD	13
2.- COMORBILIDAD ASOCIADA A LA OBESIDAD	15
2.1.- Obesidad como factor de riesgo de enfermedad cardiovascular	16
2.2. Riesgo quirúrgico	
2.2.1.- Problemas quirúrgicos respiratorios asociados a la obesidad	16
2.2.2.- Problemas quirúrgicos cardiovasculares asociados a la obesidad	17
2.3.- Evaluación cardiovascular preoperatoria	18
3. DAÑO CARDIOVASCULAR Y OBESIDAD	21
3.1.Micropartículas endoteliales	21

---

3.2.- Células progenitoras endoteliales (EPCs)	23
3.3.- Equilibrio entre el daño y la reparación endotelial	25
3.4.- Papel de las MPE y EPCs en el desarrollo de enfermedad vascular	25
<b>4. INFLAMACION Y OBESIDAD: CITOQUINAS Y ADIPOQUINAS</b>	<b>27</b>
4.1.- Leptina	30
4.2.- Adiponectina	31
4.2.1.-Estructura, síntesis y regulación de la adiponectina	31
4.2.2.- Adiponectina y obesidad	33
4.3.- Citoquinas y obesidad	34
<b>OBJETIVOS</b>	<b>42</b>

---

<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>49</b>
1.- SUJETOS DE ESTUDIO	51
1.1.- Selección de pacientes	51
1.2.- Diseño del estudio y obtención de muestras	52
1.3.- Parámetros clínicos:	53
1.3.1 Historia clínica	53
1.3.2 Pruebas complementarias	55
2.- MÉTODOS	56
2.1.- Aparatos, materiales de laboratorio y reactivos	56
2.2.- Protocolos	57
2.2.1 Determinación de citoquinas proinflamatorias solubles.	
Método de “Cytometric Bead Array Immunoassay” (CBA).	57
2.2.2 Determinación de adiponectina por el método de Enzimoensayo (ELISA)	61
2.2.3 Micropartículas endoteliales (EMP)	64
2.2.4 Células precursoras del endotelio (EPC) (VEGFR2+/CD133+/CD34+)	66
3.-ANÁLISIS ESTADÍSTICO	69



<b>RESULTADOS</b>	<b>73</b>
1. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LOS SUJETOS DEL ESTUDIO	75
2. CUANTIFICACIÓN MPE de CD31+/Annexin V+	78
a. Determinación de las micropartículas endoteliales (MPE) en el preoperatorio.	79
b. Cuantificación de MPE con el procedimiento quirúrgico.	80
c. Efecto del procedimiento quirúrgico sobre el número de MPE.	85
d. Cambio del nº de MPE a lo largo del proceso quirúrgico.	87
3. EVALUACIÓN DEL PORCENTAJE DE EPCs:	89
a. Porcentaje de EPCs en el preoperatorio.	89
b. Modulación de EPCs con el procedimiento quirúrgico.	90
c. Efecto del acto quirúrgico en las ratios de EPCs.	95
d. Cambio en el porcentaje de EPCs a lo largo del proceso quirúrgico	97
4. CONCENTRACIÓN DE CITOQUINAS PROINFLAMATORIAS, ANTIINFLAMATORIAS Y ADIPONECTINA.	99
<b>DISCURSIÓN</b>	<b>109</b>

**CONCLUSIONES**

122

**BIBLIOGRAFÍA**

131





---



# **INTRODUCCIÓN**



Los procedimientos quirúrgicos han aumentado considerablemente en los últimos años gracias a las técnicas anestésicas de cuidados, monitorización y tratamiento de los pacientes pre, intra y postoperatoriamente. Al mismo tiempo la edad media de la población se ha incrementado, y también la obesidad, considerándose esta última como una epidemia del mundo civilizado.

La obesidad es cada vez más frecuente en los países desarrollados, y adquiere mayor relevancia si se tiene en cuenta que puede agravar numerosas patologías, sobre todo de tipo cardiovascular. Sin embargo, no hay suficientes estudios científicos que expliquen cuales son las relaciones entre obesidad y daño cardiovascular. Aunque si existen evidencias en el sentido contrario, cuando se produce una pérdida de peso, muchas de estas patologías mejoran o desaparecen. Hay teorías que intentan explicar el porqué de la enfermedad cardiovascular: el sobrepeso origina problemas mecánicos de todo tipo incluido, producir una inflamación subyacente. Esto es una evidencia, pero los mecanismos que pueden estar implicados en este hecho no se conocen. Tampoco existen marcadores suficientes fácilmente medibles, por ejemplo en sangre periférica, que ayuden al médico en la evaluación del enfermo obeso con patologías asociadas y en las posibles complicaciones que puedan ir apareciendo a lo largo de la cirugía.

Por eso, cuando un paciente, susceptible de sufrir un tratamiento quirúrgico, entra en la consulta de un médico anesthesiologo, si es obeso, el médico piensa inmediatamente en una serie de problemas además, de los propios de la cirugía. Y ante este tipo de pacientes, el anesthesiologo se plantea realizar diferentes actos médicos especiales y adicionales a los habituales, que ayudarán a que la cirugía y el postoperatorio transcurran con las menores incidencias, e incluso se prepara para las posibles complicaciones que puedan surgir.

Así, el objetivo general de nuestro trabajo será determinar si con muestras de sangre periférica se puede pensar que el sujeto obeso ya tiene instaurada una inflamación crónica; muestras que ayudarán al médico clínico a tomar decisiones y medidas para minimizar las posibles complicaciones; y a nosotros a intentar explicar los mecanismos de esta inflamación.

## 1.- DEFINICIÓN E INCIDENCIA DE LA OBESIDAD

En los últimos años la obesidad ha emergido como un serio problema de salud pública. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha reconocido la obesidad como una epidemia en el mundo desarrollado y en vías de desarrollo (1). Después del hábito de fumar es la segunda causa de muerte prematura y prevenible en los Estados Unidos (2).

La definición más extendida de obesidad se basa en el índice de masa corporal (IMC), que es el resultado de dividir el peso de una persona medido en kilogramos entre el cuadrado de la altura medido en metros (3) considerándose como obesidad un  $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$ .

$$IMC = \text{Kg/m}^2$$

Con estos criterios de IMC, se estima que el 65% de los norteamericanos son obesos o tienen sobrepeso, estando predispuestos a sufrir enfermedades crónicas y graves (4). Por ejemplo, se ha estimado por la National Health and Nutrition Examination Survey III (NHANES III) que las mujeres entre 20 y 30 años de edad y con un  $IMC \geq 45 \text{ kg/m}^2$  pueden perder hasta 8 años de su esperanza de vida, y 13 años, si se trata de hombres (5). Además, el crecimiento de la población de obesos ha sido más evidente en los obesos severos y en los superobesos (6). Entre 1986 y 2000, en número de sujetos con un  $IMC > 30, 40$  y  $50 \text{ kg/m}^2$  se ha doblado, cuadruplicado y quintuplicado, respectivamente (7).

En la zona europea, una reciente estadística del gobierno del Reino Unido indicó que un 20 % de los adultos son obesos y un 1 % son obesos mórbidos (8).

En España, la prevalencia de obesidad en la población adulta entre 25 y 60 años se estima en torno al 14,5 % (13,3 % en varones y 15,7 % en mujeres) (9,10).

La importancia de la obesidad está en que puede ser causa directa de muchas enfermedades graves que producen invalidez e incluso la muerte (3,11).

Un IMC > 35 kg/m<sup>2</sup> unido a enfermedades relacionadas con la obesidad, o un IMC > 40 kg/m<sup>2</sup> sin comorbilidad, se considera obesidad mórbida; IMC > 55 kg/m<sup>2</sup> es súper-obesidad mórbida (**Tabla 1**). Sin embargo, la mortalidad y la morbilidad aumentan de forma considerable a partir de un IMC > 30 kg/m<sup>2</sup>, particularmente en fumadores, y el riesgo es proporcional a la duración de la obesidad (12). Con un mismo IMC, los hombres tienen mayor riesgo de complicaciones cardiovasculares que las mujeres.

**Tabla 1:** Definición de obesidad en función del índice de masa corporal (IMC)

<b>IMC (Kg / m<sup>2</sup>)</b>	<b>Grados de obesidad</b>
< 25	Normal
25-30	Sobrepeso
> 30	Obeso
> 35	Obesidad mórbida
> 55	Súper-obesidad mórbida

La obesidad se describía clásicamente conforme a la distribución androide o ginecoide de la grasa (manzanas y peras). El actual parámetro de IMC y la distribución de la grasa corporal en un paciente concreto son dos consideraciones importantes. La distribución ginecoide de la grasa implica característicamente la grasa acumulada en lugares periféricos (brazos, piernas y nalgas). La distribución androide implica grasa central (intraperitoneal, incluyendo hígado, y omento). Las definiciones de la distribución de la grasa corporal se han basado en el cociente cintura-cadera. Un valor del cociente cintura-cadera > 0.8 en mujeres o de 1 en hombres es el típico de una distribución androide. Aunque la distribución androide predomina en los hombres y se asocia a un mayor riesgo de morbilidad, esta distribución de la grasa corporal se puede dar en ambos géneros.

## 2.- COMORBILIDAD ASOCIADA A LA OBESIDAD

La obesidad se asocia a hipertensión, dislipemia, enfermedad isquémica cardíaca, diabetes mellitus, osteoartritis, enfermedad hepática y asma. El síndrome de apnea obstructiva del sueño (SAOS) es un problema común en la obesidad mórbida. Menos conocido es el síndrome de hipoventilación de la obesidad.

Los riesgos cardiorrespiratorios y otras comorbilidades aumentan con la duración de la obesidad (años de obesidad). Sin embargo, la presencia y la severidad de la comorbilidad están marcadas por la vida sedentaria. La verdadera importancia de las enfermedades asociadas a la obesidad puede emerger solamente en el estudio preoperatorio o en el periodo peri-operatorio (**Tabla 2**).

**Tabla 2.** Comorbilidad asociada a la obesidad mórbida

Cardiovascular	Muerte súbita, enfermedad coronaria, hipertensión arterial, linfedema, varices, trombosis venosa profunda, trombo-embolismo pulmonar.
Vía aérea y pulmonar	SAOS, síndrome de hipoventilación de la obesidad, hipertensión pulmonar.
Endocrino	Insuficiencia renal, diabetes mellitus, dislipemia, disfunción hipofisaria/gonadal.
Enfermedades digestivas	Esteatosis hepática, colelitiasis, hernia hiatal.
Patología osteoarticular	Artrosis, enfermedad articular degenerativa.
Neoplasias	Próstata, colon, vesícula biliar, endometrio, ovario y mama.
Problemas socioeconómicos y psicosociales	Problemas de transporte, vivienda y vestido, rechazo social y aislamiento.

## **2.1.- Obesidad como factor de riesgo de enfermedad cardiovascular (ECV)**

La obesidad es un factor de riesgo independiente para las enfermedades cardiovasculares, y también aumenta la incidencia de otros factores de riesgo como, diabetes, hipertensión, enfermedad coronaria, artritis, dislipemia y estados protrombóticos (11,13). Además, la probabilidad de sufrir una insuficiencia cardíaca isquémica en los obesos, es el doble que en la población normal. La obesidad se ha vinculado con una disfunción miocárdica en pacientes sin enfermedad coronaria, y se ha descrito una disfunción diastólica y un deterioro sistólico en el contexto de enfermos con un excesivo IMC (14).

En la población de obesos se ha demostrado una resistencia a la insulina, una disfunción endotelial, y una inflamación subclínica que puede contribuir a aumentar su riesgo cardiovascular (15).

## **2.2.- Riesgo quirúrgico**

Dado el incremento de la prevalencia de pacientes obesos severos, se han establecido recomendaciones basadas en la evidencia respecto a la evaluación cardiovascular preoperatoria, el manejo cardiovascular intra y peri-operatorio, y los cuidados postoperatorios de los sujetos obesos severos que se someten a cirugía.

### *2.2.1. Problemas quirúrgicos respiratorios asociados a la obesidad.*

Los obesos tienen un incremento del número de respiraciones y del trabajo respiratorio, una musculatura pulmonar ineficiente, una disminución de la capacidad funcional residual y del volumen respiratorio residual, y cierre de las unidades pulmonares periféricas. Todo esto produce con frecuencia una alteración del cociente ventilación-perfusión, especialmente en la posición supina.

La obesidad es una causa clásica de hipoventilación alveolar. Históricamente, el síndrome de hipoventilación de la obesidad se conocía como el síndrome de Pickwick. La hipoventilación y la apnea obstructiva de la obesidad se observaron por primera vez en pacientes con obesidad severa. En los pacientes muy obesos estos síntomas son inespecíficos, pero la identificación del cor pulmonale es extremadamente importante. En la evaluación de los obesos severos en el preoperatorio, se debe considerar que padecen trastornos de la respiración en el sueño los sujetos que presenten: policitemia, ronquidos, sofocos nocturnos, ahogo, episodios de apnea, y sueño diurno. Es importante recordar que los signos clínicos y electrocardiográficos de *cor pulmonare* aparecen más tarde que si se determina la hipertensión pulmonar por un catéter en corazón derecho.

La hipertensión pulmonar puede ser el resultado del fallo del ventrículo izquierdo, la hipoxia de la apnea del sueño, émbolos pulmonares recurrentes, o de la combinación de varias causas (3).

### *2.2.2 Problemas quirúrgicos cardiovasculares asociados a la obesidad*

Las arritmias cardíacas severas y los trastornos de la conducción debidos a la obesidad son raros. Las arritmias en los obesos están relacionadas con la hipoxia de la apnea del sueño, aunque pueden desarrollar fibrilación auricular idiopática, flutter auricular y taquicardia ventricular, e igualmente algunas bradiarritmias asociadas a la disfunción del seno (3).

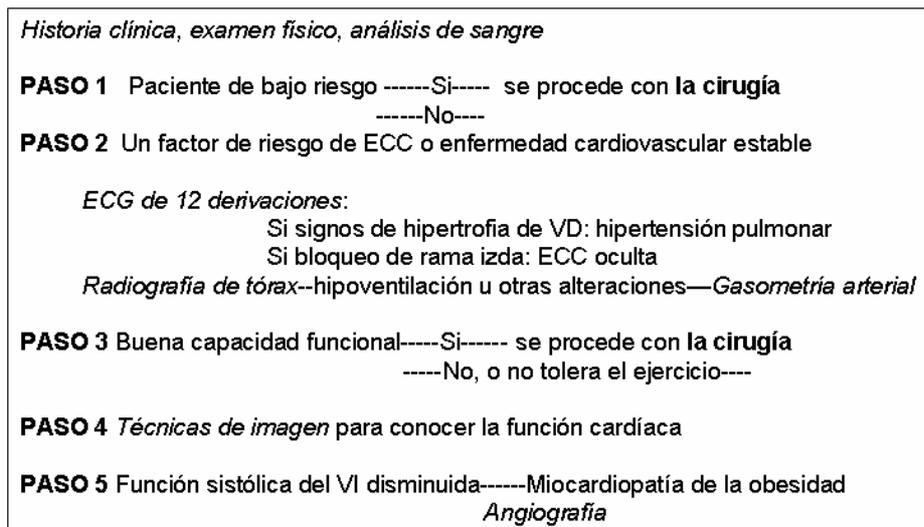
Los cambios en la hemodinámica cardíaca que se asocian a la obesidad pueden alterar la estructura del ventrículo izquierdo, su función y por último, causar fallo cardíaco (3,16-18). Estas alteraciones pueden presentarse en niños y en adultos con grados 1 y 2 de obesidad, pero son más pronunciados en las personas severamente obesas (3,16). El riesgo de fallo cardíaco debido a la obesidad severa (miocardiopatía de la obesidad) empieza a incrementarse después de 10 años de obesidad mantenida. La mayoría de los pacientes con miocardiopatía de la obesidad tienen insuficiencia cardíaca diastólica, pero algunos manifiestan disfunción sistólica y diastólica juntas (3,19). Los síntomas y signos de miocardiopatía se dan normalmente en sujetos con un IMC  $\geq 40$

kg/m<sup>2</sup>. La mayoría de la clínica y de las alteraciones estructurales y funcionales cardíacas son reversibles con la pérdida de peso, debido en parte a las condiciones favorables de carga (3,18). Se desconoce si hay un defecto miocárdico intrínseco en la miocardiopatía de la obesidad.

### 2.3.- Evaluación cardiovascular preoperatoria

El reto de los clínicos es identificar a los pacientes con un riesgo cardiovascular elevado, realizar una evaluación preoperatoria complementaria y manejar el riesgo perioperatorio. Se recomienda que todos los obesos severos en lista de espera para cirugía, deben tener una historia clínica completa, un examen físico, y una bioquímica sanguínea (20) **(Figura 1)**.

**Figura 1.** Algoritmo cardíaco y pulmonar de cirugía programada no cardíaca en pacientes obesos severos



Tomado de Standards Committee, American Society for Bariatric Surgery.  
(27)

Se debe realizar un electrocardiograma de 12 derivaciones en todos los sujetos con un factor de riesgo de enfermedad coronaria o con poca tolerancia al ejercicio, o con ambos. Los signos electrocardiográficos de hipertrofia ventricular derecha incluyendo desviación del eje hacia la derecha y bloqueo de rama derecha sugieren hipertensión pulmonar. Por el contrario, el bloqueo de rama izquierda es inusual en la obesidad e incrementa la posibilidad de enfermedad coronaria cardíaca oculta.

En la valoración clínica se deben considerar la edad, el sexo masculino, los problemas cardiorrespiratorios, la alteración de los electrolitos, y la insuficiencia cardíaca congestiva como factores de riesgo independientes para la mortalidad quirúrgica (20,21). Se ha visto que el aumento de mortalidad después de los 65 años es exponencial (20). Un IMC  $\geq 50$  kg/m<sup>2</sup> y fumar cigarrillos se ha asociado a un mayor número de complicaciones quirúrgicas (22).

En un estudio multicéntrico realizado por DeMaría y cols. (23,24), se realizó una valoración del riesgo de mortalidad en pacientes obesos sometidos a cirugía (**Tabla 3**).

**Tabla 3.** Factores de riesgo de muerte en la cirugía de la obesidad

<ul style="list-style-type: none"><li>-IMC <math>\geq 50</math> kg/m<sup>2</sup></li><li>-Sexo masculino</li><li>-Hipertensión</li><li>-Edad <math>\geq 45</math> años</li><li>-Embolismo pulmonar definido como:<ol style="list-style-type: none"><li>1. Trombosis venosa profunda</li><li>2. Tener un filtro en vena cava inferior</li><li>3. Historia de insuficiencia cardíaca derecha</li><li>4. Historia de hipertensión pulmonar</li><li>5. Historia o hallazgo de estasis venoso (ulceraciones, edema maleolar).</li></ol></li></ul>
--

*Esquema tomado de DeMaría y cols (23,24)*

Cuando se identifiquen los síntomas de apnea obstructiva del sueño o hipercapnia está indicada una polisomnografía nocturna (PSGN) que determinará el índice de apnea-hipopnea; esta además permite identificar un subgrupo de estos pacientes quienes presentan el síndrome de hipoventilación asociada a la obesidad ( $pO_2$  menor de 65 mmHg), ( $pCO_2$  mayor de 45 mmHg), en ausencia de enfermedad pulmonar (25).

La existencia de obesidad mórbida o de SAOS no implica la necesidad de realizar pruebas de función pulmonar o gasometría arterial, y se considera indicado realizar dichas pruebas solo si el paciente presenta un IMC  $\geq 60$  Kg/m<sup>2</sup>, datos sugestivos de síndrome de hipoventilación-obesidad y en las patologías pulmonares asociadas (26).

La radiografía de tórax (preferentemente pósterio-anterior y lateral) se debe pedir en todos los pacientes obesos que necesitan operarse. Los pacientes severamente obesos tienen problemas respiratorios en el postoperatorio y una radiografía de base ayuda a evaluar estos problemas. Además una radiografía de tórax puede sugerir un fallo cardíaco no diagnosticado, un aumento de las cámaras cardíacas, o una vascularización pulmonar anormal sugestiva de hipertensión pulmonar, la cual justificará otros estudios cardiovasculares.

### 3.- DAÑO CARDIOVASCULAR Y OBESIDAD

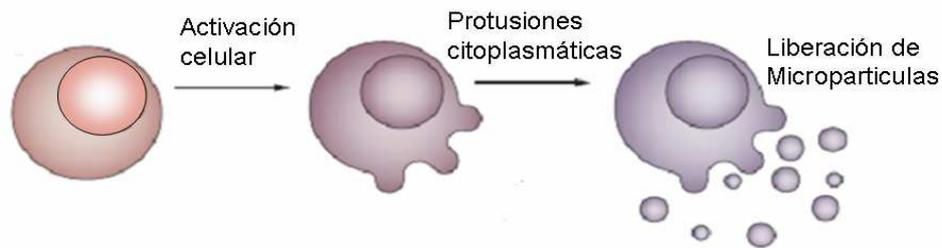
Los mecanismos precisos por los cuales la obesidad promueve la enfermedad cardiovascular no se comprenden bien, pero es probable que incluya respuestas metabólicas e inflamatorias debidas a la mayor cantidad de grasa almacenada. El endotelio desempeña un papel fundamental en el mantenimiento de la salud vascular, siendo el deterioro de la función endotelial un predictor independiente de enfermedad cardiovascular. La mayoría de los estudios de la función vascular en personas obesas han demostrado deterioro de la función endotelial (28). Esta alteración de la función endotelial se hace evidente desde el principio, mucho antes de que las anomalías vasculares se vuelvan clínicamente relevantes y detectables.

El equilibrio entre la lesión y la regeneración del endotelio es fundamental para el mantenimiento de la integridad del vaso. La exposición a factores de riesgo cardiovasculares (FRC) altera las funciones reguladoras del endotelio, que progresa desde un estado de reposo, al de activación, apoptosis y muerte.

#### 3.1.-Micropartículas endoteliales

En los últimos 10 años, la identificación de las micropartículas derivadas del endotelio (EMP) en la circulación ha suscitado interés al considerarlas como marcadores no invasivos de la disfunción vascular.

Las micropartículas circulantes (MPs) son vesículas de membrana liberadas por la célula en respuesta a diversos estímulos (**Figura 2**) (29-34). Las MPs se describieron originalmente como unas estructuras excretadas por diferentes células activadas (células inmunocompetentes, células endoteliales, plaquetas...) que contenían y compartían proteínas de membrana de las células originales (30-32).



**Figura 2:** Esquema de producción y liberación de micropartículas celulares

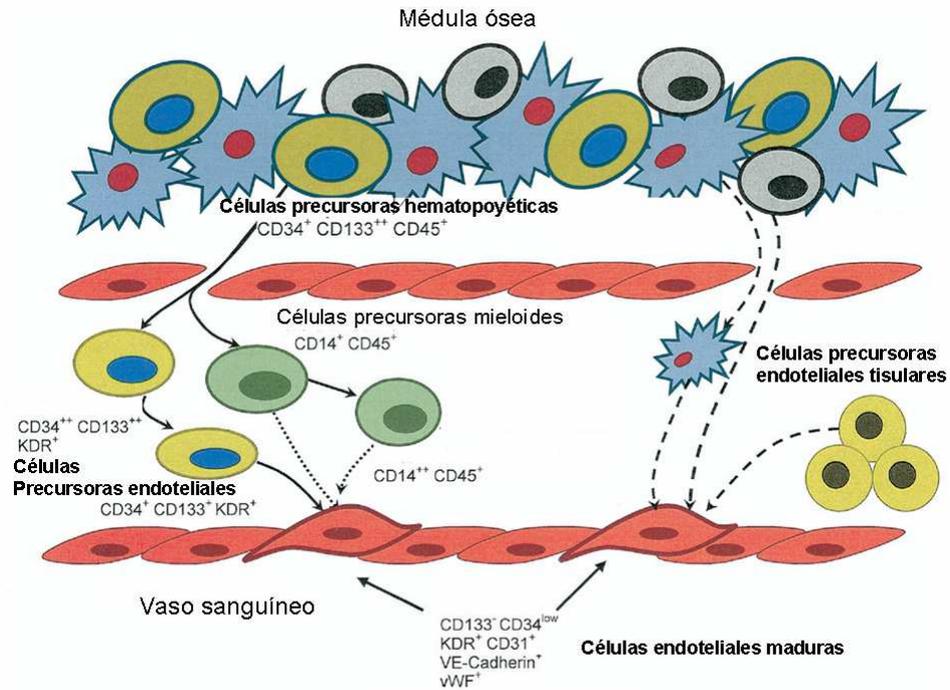
Las MPs se han considerado como marcadores indicativos de activación celular, que si además expresan proteínas asociadas a apoptosis, reflejan un daño celular (33-35). Las micropartículas endoteliales (MPEs) son liberadas directamente por la célula endotelial madura en respuesta a una activación celular o apoptosis (31-36) y transportan componentes citoplasmáticos y antígenos de la superficie celular. En diferentes estudios se ha demostrado que los niveles plasmáticos de MPE de activación y/o apoptosis son indicadores de una disfunción/daño endotelial y en consecuencia, pueden ser utilizados como ayuda diagnóstica en el estudio de la enfermedad cardiovascular (ECV) (30-35), así como para valorar la eficacia de algunas terapias. Se caracterizan por poseer receptores de membrana específicos de las células de las que proceden, que en el caso de las MPE se corresponden con CD31 (PECAM) o CD144 (VE-Cadherina). Además de expresar antígenos que aportan información sobre su procedencia, también se pueden determinar en ellas receptores que reflejan el estado funcional de las células que las emitieron; por ejemplo, si la célula endotelial entra en apoptosis sus MP serán positivas para Anexina V. En estudios recientes se ha demostrado que las MPEs apoptóticas se encuentran relacionadas con la disfunción endotelial presente en patologías como el síndrome antifosfolípido, preclampsia, y síndrome agudo coronario (37-39). En pacientes urémicos se ha visto un número elevado de estas MPEs comparable al de las patologías citadas anteriormente, sugiriendo que la excesiva vesiculación de las células endoteliales puede actuar como un nuevo marcador de disfunción endotelial en la uremia (40). En estudios realizados en

mujeres obesas se demostró que presentan un número significativamente mayor de MPE que las delgadas (41). En definitiva, los diferentes estudios realizados demuestran que niveles elevados de MPE en plasma se pueden considerar un indicador de daño endotelial en situaciones patológicas; además, también se observan niveles bajos de MPE en el plasma de sujetos sin patología vascular. El mecanismo, in vivo, por el que las células endoteliales emiten las MPE no se conoce. Sin embargo, in vitro, una gran variedad de estímulos, como TNF- $\alpha$ , producen vesiculación de estas células (42). Estos estímulos no son sólo proapoptóticos, sino que pueden ser pro-inflamatorios, pro-trombóticos o tener un efecto oxidante (43).

### **3.2.- Células progenitoras endoteliales (EPCs)**

El conocimiento de la respuesta a la lesión endotelial se ha ampliado por el descubrimiento de un proceso de reparación fisiológica de gran alcance basado en el reclutamiento de células progenitoras endoteliales circulantes (EPCs) de la médula ósea (44,45). Estudios recientes indican que la reducción del número de EPCs desempeña un papel crítico en la progresión de las enfermedades cardiovasculares (46). La capacidad de respuesta a la reparación endotelial por EPCs va a definir la "competencia vascular" de cada individuo.

La muerte de células endoteliales es un proceso relativamente frecuente en el ser vivo (47-51). La situación de barrera de la célula endotelial hace que ésta se vea sometida constantemente a estímulos y agresiones por el torrente circulatorio, por lo que un número relativamente pequeño de estas células mueren cada día. Para mantener la homeostasis vascular, las células endoteliales dañadas son reemplazadas por células progenitoras endoteliales (EPCs), que circulan en un bajo porcentaje en sangre periférica (48, 52, 53).



**Figura 3:** Diferenciación de células progenitoras endoteliales (EPCs).

En los numerosos estudios realizados sobre estas células, no existe un consenso en relación a la definición de EPCs. Existe una pluralidad de opiniones en relación a los marcadores de membrana que expresan y funciones que realizan. Los métodos para determinarlas y aislarlas son también muy diversos. Lo que sí se puede afirmar, y es el punto donde la mayoría de los autores está de acuerdo, es que no se trata de una única población celular con un único origen la que muestra características de precursor del endotelio, es decir, que tenga capacidad angiogénica y pueda reendotelizar zonas dañadas del endotelio. En la gran mayoría de estudios se definen las EPCs en función de su fenotipo por citometría de flujo. Diferentes autores han afirmado que las EPCs, si tienen su origen en médula ósea deben expresar moléculas de superficie como CD34<sup>+</sup>/CD133<sup>+</sup>/VEGFR2<sup>+</sup> (54) (**Figura 3**). El número de estas células es muy pequeño en sangre periférica de sujetos sanos. Aunque la posible participación de las EPCs en el proceso de reendotelización en

modelos in vivo no está muy clara, debido a la dificultad para realizar estos estudios, si que se ha demostrado que son potentes secretoras de factores angiogénicos, por lo que se les confiere un importante papel promoviendo la angiogénesis y la reparación endotelial vía estimulación paracrina de las células residentes en el endotelio.

### **3.3.- Equilibrio entre el daño y la reparación endotelial**

La teoría de una interrelación entre daño y reparación endotelial exige que haya una red de señalización intercelular, exquisitamente regulada, que permita mantener un equilibrio eficaz entre las células endoteliales (CE) y las EPCs. Estudios realizados recientemente han demostrado que las MP producidas por CE sirven de estímulo para la diferenciación de EPCs (55,56). Tanto en modelos animales (51), como en pacientes con daño endotelial (36) existe una correlación entre los niveles plasmáticos de MPE y la actividad de EPCs. De esta forma, al inducirse un daño endotelial se observa un incremento plasmático de MPE. Paralelamente, aumenta el porcentaje de células EPCs en sangre periférica. Tras la reparación del endotelio vascular, se normalizan los niveles de MPE y el número de EPCs desciende hasta niveles basales. Estos resultados apoyan la hipótesis de que las MPE pueden actuar como “mensajeros” entre células maduras y células reparadoras.

### **3.4.- Papel de las MPE y EPCs en el desarrollo de enfermedad vascular**

Los mecanismos exactos por los que EMP y EPCs participan en la generación del daño vascular no se conocen, y son objeto de estudio por numerosos grupos. Se han descrito varios factores que producen injuria del endotelio y a su vez contribuyen potencialmente a elevar el número de MPE o disminuir el número de EPCs: inflamación, aumento de la tensión arterial, ciertas drogas, infecciones, etc (33).

Las MPEs pueden también interaccionar con el endotelio actuando como un factor paracrino que potencia la disfunción endotelial, teniendo un efecto negativo sobre las propiedades vasodilatadoras y mediando la progresión de la

enfermedad vascular (33). Por otro lado, las moléculas PECAM (CD31) y VE-cadherina (CD144) son moléculas constitutivas de células endoteliales y la liberación de MPEs que expresan estas moléculas refleja una profunda desorganización de la arquitectura celular y de las uniones entre las células (57,58).

Un bajo número de EPCs asociado con un estadio precoz de la patogénesis de la enfermedad vascular, puede deberse a un agotamiento de las reservas de células progenitoras, pero también puede producirse por mecanismos como estrés oxidativo, inflamación, u otros procesos fisiopatológicos que conducen a la inadecuada movilización de EPCs y como consecuencia, la falta de reparación del endotelio (59).

#### 4.- INFLAMACIÓN Y OBESIDAD: CITOQUINAS Y ADIPOQUINAS

Actualmente se considera que la obesidad es un síndrome complejo en el que una activación anormal de las vías neuroendocrinas y pro-inflamatorias conduce a una alteración del control de la ingesta de alimentos, la expansión de grasas y los cambios metabólicos. El tejido adiposo puede diferenciarse morfológica y funcionalmente en tejido adiposo blanco (TAB) y tejido adiposo pardo o marrón (TAM). En los individuos obesos se produce un notable aumento del TAB debido a la hiperplasia e hipertrofia de los adipocitos. El TAB se había considerado tradicionalmente como un reservorio energético pasivo, donde la energía se acumula en forma de triglicéridos durante periodos de consumo alimentario excesivo o movilizada cuando el aporte calórico es insuficiente (67). No obstante, en la última década, se ha reconocido el TAB como un órgano endocrino activo que produce de forma regulada muchas citoquinas, chemoquinas, factores de crecimiento, proteínas del complemento y hormonas llamadas adipoquinas (68) (72); desarrollando un papel importante en el balance energético.

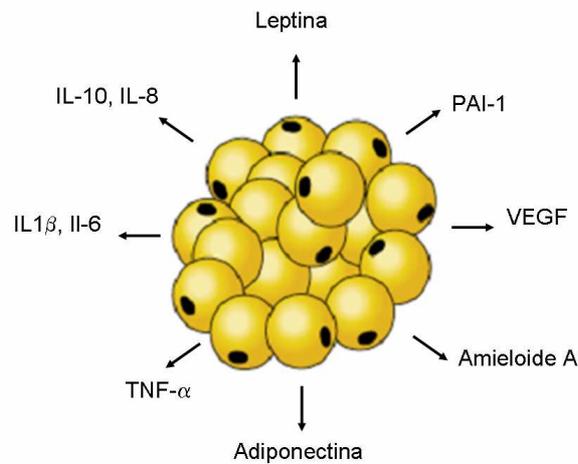
El TAB está especializado en almacenar lípidos y suministrar energía al resto del organismo para hacer frente a los requerimientos de cada momento, regulando la movilización de ácidos grasos en respuesta a estímulos anabólicos y catabólicos. Además se ha sugerido que el tejido adiposo participa en la regulación el tono arterial y en la patogénesis de la arterioesclerosis (73).

El tejido adiposo se compone de diferentes tipos de células: adipocitos, preadipocitos, células vasculares y del estroma y macrófagos (70). Cada una de estas células presenta su propio perfil de secreción y de regulación (71).

La inflamación crónica de bajo grado o microinflamación que acompaña a la obesidad difiere de la inflamación clásica en que no presenta los signos clásicos de calor, dolor y rubor, pero es similar en cuanto a que comparte las alteraciones en los mediadores de inflamación típicos y las rutas de señalización (63).

La inflamación crónica en la obesidad se pone de manifiesto a nivel circulante por un aumento de los marcadores clásicos de la inflamación como la proteína C-reactiva, el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) o el fibrinógeno (64-66). De

hecho, se ha demostrado que los niveles séricos de proteína C-reactiva se correlacionan de manera extraordinariamente significativa con el porcentaje de grasa corporal (65). Además parece existir una relación entre la expansión del tejido adiposo y el incremento del estado pro-inflamatorio. A medida que aumenta el tejido adiposo, se modifica la producción de adipocinas y se desencadenan una serie de procesos fisiopatológicos relacionados con la inflamación que van a conducir a un incremento del riesgo de sufrir enfermedad cardiovascular, diabetes mellitus de tipo 2 y cáncer, entre otras comorbilidades.



**Figura 4:** La respuesta inflamatoria y las adipocinas asociadas a la inflamación. IL-6: interleucina 6; MCP-1: proteína quimioatrayente de monocitos-1; SAA: amiloide sérico A; TNF- $\alpha$ : factor de necrosis tumoral  $\alpha$ ; VEGF: Factor de crecimiento derivado del endotelio.

La activación del tejido adiposo blanco aumenta la síntesis de citoquinas pro-inflamatorias (**Figura 4**), como la IL-6, IL-1, IL-8, TNF $\alpha$ , IL-18, mientras que las citoquinas reguladoras, como la IL-10, se reducen (60,61). Además produce interferón- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), factor de crecimiento transformante- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), factor inhibidor de leucemia (LIF), proteína quimioatrayente de monocitos (MCP-1) y proteína inflamatoria de macrófagos (MIP-1). Las citoquinas pro-inflamatorias

estimulan la síntesis de neuropéptidos, como la sustancia P y el factor de crecimiento nervioso, que han demostrado ser cruciales en la regulación tanto del apetito como en la homeostasis del cartílago (62).

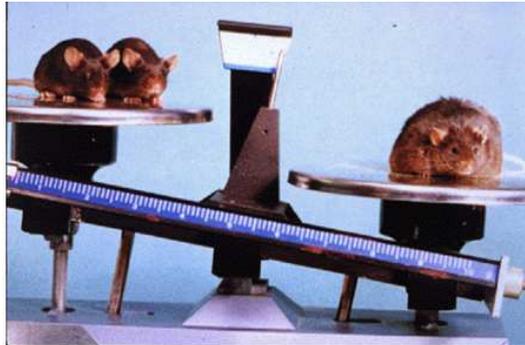
Las adipoquinas son citoquinas producidas por los adipocitos que ejercen efectos múltiples. Las adipoquinas son moléculas de señalización circulantes que median la comunicación intercelular contribuyendo a la regulación de la inmunidad innata y adaptativa, la inflamación y la función metabólica. Estas citoquinas ejercen su función a través de una compleja red de interacciones en las cuales una citoquina puede influir tanto en la producción como en la respuesta de otras citoquinas.

La mayoría de estas adipoquinas juegan un papel importante en la patogénesis de las enfermedades relacionadas con la obesidad, incluyendo la arterioesclerosis acelerada, hipertensión arterial y algunas glomerulopatías. Como la disfunción endotelial es una etapa temprana de la arterioesclerosis, es razonable considerar que las sustancias secretadas por el tejido adiposo pueden influir directa o indirectamente (por ejemplo induciendo microinflamación) en la función de las células endoteliales.

El estudio de estas moléculas ofrece una nueva perspectiva en el estudio de la obesidad, y probablemente contribuya en el futuro a tipificar mejor el pronóstico y el tratamiento del paciente obeso. De estas sustancias, la adiponectina es una de las más interesantes, por la creciente evidencia que la relaciona con el metabolismo hidrocarbonado y lipídico y con la aterogénesis.

#### 4.1 Leptina

Es una proteína producida principalmente por los adipocitos. Al principio se creyó que la leptina era la hormona de la saciedad y que regulaba el apetito (74). La implicación de la leptina en la homeostasis energética ha sido bien estudiada (75). La leptina es una señal de escasez. Así, un descenso en la concentración de leptina conduce a cambios neurohumorales que intentan preservar las reservas de energía para las funciones vitales. Por ejemplo, durante un período de ayuno, y tras una reducción de grasa corporal, hay un descenso en los niveles de leptina que conducen a una reducción en el gasto total de energía para proporcionar energía suficiente que garantice el funcionamiento de órganos vitales como el cerebro, el corazón y el hígado (76). Aunque estos efectos del descenso de leptina están destinados a mejorar las opciones de supervivencia bajo condiciones de hambruna, la caída de los niveles de leptina puede conducir a la inmunosupresión (77), además de otras alteraciones neuroendocrinas que afectan a las funciones adrenal, tiroidea y sexual/reproductiva (78). Al menos estas alteraciones observadas durante el ayuno ocurren en paralelo con el descenso en los niveles circulantes de leptina. De hecho, tanto los ratones ob/ob (a los que les falta la leptina), como los db/db (a los que les falta el receptor de leptina), no sólo son obesos sino que muestran las mismas deficiencias inmunes y endocrinas del ayuno prolongado (77, 79, 80). Se ha encontrado que los niveles de leptina se asocian con la respuesta inmunológica en niños malnutridos (81). La modulación del sistema inmune está también moderada por la regulación de la hematopoyesis y la linfopoyesis.



## 4.2 Adiponectina

### 4.2.1 Estructura, síntesis y regulación de la adiponectina

La adiponectina es una adipoquina específica de adipocitos que está implicada en la regulación del metabolismo de lípidos y carbohidratos, así como de la biología vascular. En la actualidad, la adiponectina se considera como un componente de la comunicación entre el adipocito, los tejidos sensibles a la insulina y la función vascular.

La adiponectina se ha caracterizado de forma independiente en diferentes grupos y, por ello, es conocida con distintos nombres según su origen sea humano (apM1 y GPB28), o de ratón (Acrp30 y adipoQ).

La adiponectina es la adipoquina que presenta una mayor expresión en el adipocito y, en condiciones fisiológicas normales, se expresa exclusivamente en éstos. La adiponectina es una proteína abundante en el plasma, pues se encuentra presente en concentraciones de 5-30 µg/ml, lo que constituye aproximadamente el 0,01% del total de las proteínas plasmáticas humanas (82, 83). Su concentración en el plasma depende del sexo, ya que es menor en los varones que en las mujeres, y también de la edad o la etnia (84-86).

La síntesis y secreción de adiponectina se regula por diferentes mecanismos (**tabla 4**). Se ha demostrado que la insulina y el factor de crecimiento de la insulina (IGF-1) estimulan su expresión génica y la secreción en adipocitos cultivados *in vitro* (82). Si bien se desconoce el proceso catabólico que sigue la adiponectina plasmática, se ha sugerido que el riñón estaría implicado en éste, pues los pacientes con insuficiencia renal grave presentan un notable aumento de esta proteína en el plasma.

**Tabla 4.** Factores que afectan a la concentración plasmática de adiponectina en humanos

<b>Factor</b>	<b>Concentración de adiponectina</b>
Obesidad	↓
Sexo	↓ varones, ↑ mujeres
Edad	↓
Etnia	↑ caucásicos, ↓ indoasiáticos
Ritmo cardiaco	↓ noche
Pérdida de peso por:	
Dieta	↑
Bypass gástrico	↑
Tamaño de los adipocitos	↓
Resistencia a la insulina	↓
Diabetes tipo 2	↓
Enfermedad coronaria arterial	↓
Diabetes gestacional	↓
Tratamiento con TZD	↑
TNF- $\alpha$ , IL-6	↓
Catecolaminas	↓
Glucocorticoides	↓

TZD: tiazolidinedionas; TNF- $\alpha$ : factor de necrosis tumoral; IL-6: interleucina 6

#### 4.2.2 Adiponectina y obesidad

Una de las características más importantes de la adiponectina es que, a diferencia de otras adipoquinas, se expresa en el tejido adiposo y su concentración plasmática se reduce en individuos con sobrepeso y obesidad (82, 85, 87). Esto también se ha observado en diferentes modelos de obesidad animal, como por ejemplo en ratones deficientes en leptina (ob/ob), ratones resistentes a leptina (db/db), ratones alimentados con dietas ricas en grasas (82,88) y monos que desarrollan espontáneamente obesidad y con frecuencia resistencia a la insulina y diabetes tipo 2 (89). El mecanismo por el que la secreción de adiponectina está reducida en los individuos obesos no es conocido. Dado que la adiponectina se estimula por la insulina y se inhibe por el TNF- $\alpha$ , la resistencia a la insulina y el incremento en la expresión de TNF- $\alpha$  podrían contribuir a este efecto (82). Por el contrario, la reducción del peso corporal mediante dietas hipocalóricas o el tratamiento quirúrgico de la obesidad mórbida provocan una elevación de la adiponectina en el plasma (82, 87). La pérdida de peso corporal en ratones obesos también supone un incremento de la expresión de adiponectina, aunque éste sólo se produce en la adiposidad visceral, no en la subcutánea (87). La misma asociación entre la adiponectina y la grasa visceral, pero no subcutánea, se ha observado en una población japonesa con diabetes tipo 2 (90).

La concentración de adiponectina en el plasma, además de correlacionarse negativamente con el IMC y el porcentaje de grasa corporal (87), lo hace también negativamente con la concentración de triglicéridos (91) y apolipoproteína B (92) en el plasma, mientras que es proporcional al colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad (cHDL) (82, 93). Asimismo, se ha demostrado que la adiponectina reduce los valores plasmáticos de ácidos grasos libres y triglicéridos en modelos animales de obesidad e hiperlipemia (82). Este efecto se produce por un aumento en el catabolismo lipídico derivado de una estimulación de la expresión de enzimas implicadas en el transporte y el metabolismo de los ácidos grasos en el músculo esquelético y el hígado, como por ejemplo la acil-CoA oxidasa y la 5'-AMP cinasa (AMPK) (94).

Los estudios realizados con ratones Agouti Yellow Ay/a han demostrado que la administración de adiponectina no modifica la ingestión de alimentos en estos animales (95). Puesto que la regulación de la ingesta requiere la intervención del sistema nervioso central, Masaki y cols. sugirieron que la adiponectina no podría traspasar la barrera hematoencefálica debido a su elevado peso molecular y, por tanto, no podía ejercer ninguna acción sobre la ingesta (95). No obstante, recientemente Qi y cols., (96) han demostrado que la adiponectina sí traspasa la barrera hematoencefálica y actúa en el cerebro para reducir el peso corporal (97).

El tratamiento de ratones obesos Agouti Yellow Ay/a con adiponectina produce un aumento de glucosa, insulina y triglicéridos, reduce el peso del TAB y aumenta la actividad simpática (95). Además, la pérdida de peso corporal sería consecuencia de una reducción en la adiposidad visceral, en contraposición a la subcutánea (95).

#### **4.3 Citoquinas y obesidad**

El TNF- $\alpha$  es una citoquina producida principalmente por monocitos, linfocitos, tejido adiposo y músculo. El TNF- $\alpha$  señala a través de dos receptores de membrana bien conocidos (TNFR): TNFR1 (p60) y TNFR2 (p80) (98-103). El tejido adiposo humano tiene unos niveles de mRNA y expresión proteica de TNF- $\alpha$  bajos y en un estudio basado en las diferencias arterio-venosas en lecho adiposo subcutáneo se demostró que éste no contribuye de forma significativa a las concentraciones circulantes de TNF- $\alpha$  (104). Sin embargo, el tejido adiposo sí contribuye en la concentración circulante de las fracciones solubles de TNFR (105). De hecho, el mRNA del TNFR2 se halla sobreexpresado en tejido adiposo de sujetos obesos y esta expresión está correlacionada con el IMC y el índice cintura cadera (ICC) (106,107).

El TNF- $\alpha$  se ha implicado como un regulador importante de la sensibilidad a la insulina. Estudios in vivo han demostrado que el tejido adiposo de roedores obesos con resistencia a la insulina (RI) (108) y de humanos obesos (109,110) produce significativamente mayor cantidad de TNF- $\alpha$  y la neutralización de éste

en roedores con RI produce un aumento de la captación de glucosa en respuesta a la insulina (108). Los sujetos obesos al perder peso presentan una disminución de los niveles de TNF- $\alpha$  (110, 111). Sin embargo, no parecen existir diferencias entre los niveles de TNF- $\alpha$  entre los pacientes con y sin RI, cuando se corrige por el IMC (112).

Por otro lado, también se ha visto que en la obesidad se halla aumentado el TNF- $\alpha$  asociado a la membrana, por un defecto en el procesamiento a su forma soluble (113). El TNF- $\alpha$  transmembrana parece que es capaz de generar RI local y así alterar de forma autocrina la biología del adipocito (114). Un dato interesante es que los ratones transgénicos que sólo expresan la forma transmembrana tienen menor masa grasa que los controles, es decir, la producción de TNF- $\alpha$  por el adipocito y la generación de RI podría corresponder a un mecanismo de defensa del propio tejido adiposo para no seguir aumentando de tamaño (114).

El TNF- $\alpha$  parece jugar un papel en la fisiopatología de la hipertensión (HTA) asociada a la obesidad. El TNF- $\alpha$  estimula la producción de endotelina 1 (115) y de angiotensinógeno (116) *in vitro*. En el modelo de rata espontáneamente hipertensa, la síntesis y secreción de TNF- $\alpha$  en respuesta al lipopolisacárido bacteriano (LPS) se halla significativamente aumentada en relación al control no hipertenso (117). También se ha encontrado una asociación entre la concentración circulante de TNF- $\alpha$  y la tensión arterial sistólica en sujetos con un rango de adiposidad corporal amplio (118).

La IL-1 $\beta$ , junto con TNF- $\alpha$  se considera como el prototipo de citoquinas proinflamatorias. Fain y cols., (72) demostraron que la liberación total de IL-1 $\beta$  por tejido adiposo *in vitro* fue un 50% mayor en individuos obesos.

La IL-6 es una citoquina multifuncional producida por diferentes tipos celulares, incluyendo células del sistema inmune, células endoteliales, fibroblastos, miocitos y tejido adiposo, mediando en la respuesta inflamatoria. Dado que la concentración plasmática de IL-6 es proporcional a la masa de grasa (119) el tejido graso puede ser una fuente muy importante de esta citoquina. Se ha calculado que la tercera parte de la concentración circulante de IL-6 proviene

del tejido adiposo (103). La producción y concentración circulante de IL-6 se asocia significativamente con el IMC y otras medidas de adiposidad corporal en varones y mujeres post-menopáusicas (120-122). Se ha otorgado a la IL-6 un papel preponderante en la aparición de dislipemia en sujetos con el síndrome metabólico (SM) (123). De hecho, la concentración de IL-6 se asocia a la de marcadores de respuesta de fase aguda, incluyendo la PCR, en paralelo a la dislipemia (aumento de TG y HDL-colesterol disminuido) (123). La concentración de TG totales, de la fracción VLDL y la de ácidos grasos libres (AGL) post-prandial también se asocian positivamente a la concentración de IL-6 (124).

Por tanto la IL-6 como el TNF- $\alpha$  podría tener un papel importante en la regulación de la captación de ácidos grasos libres (AGL) por el tejido adiposo (125). Es posible que el TNF- $\alpha$  producido por el adipocito y cuya expresión aumenta en la obesidad induzca la expresión de IL-6 en tejido adiposo y no adiposo. De hecho el TNF- $\alpha$  en modelos de cultivo de adipocitos diferenciados in vitro induce un aumento muy importante de IL-6 (126). Se ha demostrado el tejido adiposo omental, libera de 2-3 veces más IL-6 que el tejido adiposo abdominal subcutáneo. De acuerdo con observaciones recientes, la concentración circulante de IL-6 se relaciona con la acción de la insulina en el hombre (127-129); e incluso tiene capacidad predictiva del desarrollo de DM 2 (130).

También existen datos de la relación entre IL-6 e HTA. En estudios recientes, la concentración circulante de IL-6 se asoció de forma significativa a la tensión arterial de mujeres aparentemente sanas (121,122), de la misma forma un polimorfismo del promotor de la IL-6 también se ha relacionado con la HTA (131). Sin embargo, no todos los estudios muestran estos datos (132). De hecho la IL-6 estimula el sistema nervioso central y simpático, pudiendo abocar a la HTA (133,134). La IL-6 también podría contribuir a un aumento del colágeno de la pared vascular (135), así como a la inducción de la síntesis de fibrinógeno, un determinante mayor de la viscosidad sanguínea (136). Otro mecanismo mediante el que la IL-6 puede inducir HTA es mediante el aumento de la concentración de angiotensinógeno (119), que posteriormente dará lugar a angiotensina II, molécula con gran poder vasoconstrictor.

La IL-10 es principalmente una citoquina anti-inflamatoria cuya liberación parece coordinarse con la de citoquinas proinflamatorias (137). Los niveles séricos de IL-10 se encuentran elevados en personas obesas (138). Sin embargo, Manigrasso y cols. (139) encontraron que una pérdida de 8 kg de peso en mujeres obesas no tenía efecto en los niveles circulantes de IL-10. La liberación total de la IL-10 por el tejido adiposo de las personas con un IMC de 45 fue de 2.5 veces mayor que la liberada por el tejido adiposo de individuos con un IMC de 32. Parece aceptado que la liberación de IL-10 por células del tejido adiposo es mayor en la obesidad, y que la IL-10 puede funcionar como un inhibidor de la retroalimentación del efecto de las citoquinas inflamatorias.

La IL-8 es producida por monocitos, macrófagos, queratinocitos, fibroblastos y células endoteliales; su función es atraer a neutrófilos y linfocitos, así como movilizar, activar y provocar la desgranulación de neutrófilos. También estimula la angiogénesis. Se ha demostrado que la IL-8 se encuentra elevada en la obesidad (140-142). En estudios *in vitro*, se ha demostrado que la IL-8 se produce y libera de forma regulada a partir de adipocitos humanos aislados (143). Además de su asociación con un número de diversos procesos inflamatorios, la IL-8 también se ha implicado en la patogénesis de la aterosclerosis (144,145) y la enfermedad coronaria (146). Además se han encontrado niveles elevados de IL-8 en plasma de pacientes con diabetes tipo I y II en comparación con sujetos sanos (147). Recientemente, Straczkowski y cols. (142) han demostrado que los niveles plasmáticos de IL-8 en sujetos con obesidad abdominal fueron mayores que en sujetos delgados, mientras que Bruun y cols (143) observaron que la concentración plasmática de IL-8 se correlaciona con las medidas de obesidad y la sensibilidad a la insulina. En definitiva, existen suficientes evidencias para considerar una participación de IL-8 en algunas de las complicaciones de salud relacionadas con la obesidad.

La interleucina-12 (IL-12) es una citoquina pro-inflamatoria que participa de forma activa en la diferenciación de los linfocitos T helper 1, induciendo la

producción de interferón (IFN), y formando un vínculo entre la resistencia innata y la inmunidad adaptativa. Se ha reportado su participación en la respuesta a la infección, donde las células presentadoras de antígeno como macrófagos y monocitos producen IL-12 en respuesta a patógenos (148). Asimismo, la IL-12 participa de la defensa antitumoral (149). El papel de esta citocina en la obesidad es poco conocido y si se ha estudiado su implicación en el desarrollo de la inflamación relacionada con el desarrollo de la enfermedad cardiovascular asociada a aterosclerosis (150), así como su participación en el desarrollo de diabetes autoinmune en modelos de ratón (151).









# **OBJETIVOS**



En este trabajo se estudió, en pacientes con diferente grado de obesidad sometidos a cirugía, la relación entre el daño y la capacidad de reparación del endotelio a través de los siguientes objetivos:

1.- Ver si con una simple muestra de sangre periférica el daño endotelial vascular, precursor de posibles problemas cardiovasculares, en obesos que se van a someter a cirugía.

2.- Cuantificar, en pacientes con diferente grado de obesidad, el daño del endotelio vascular, establecido por el número de micropartículas en sangre periférica producidas por el endotelio.

3.- Determinar la capacidad en estos pacientes obesos para reparar el endotelio cuantificando el porcentaje de células progenitoras (EPCs).

4.- Valorar si el posible desbalance daño/reparación endotelial está determinado por una alteración en parámetros inflamatorios como adipocitoquinas o producción de citocinas.

5.- Ante una situación de estrés quirúrgico, valorar la capacidad de respuesta del endotelio para recuperar una situación basal en relación a los parámetros de EMP y EPCs.

6.- Relacionar si el procedimiento quirúrgico tiene efectos sobre parámetros inflamatorios como adipocitoquinas o citocinas.









---

**MATERIAL Y  
MÉTODOS**

---



## 1.- SUJETOS DE ESTUDIO

### 1.1.- Selección de pacientes:

Este trabajo se realizó en pacientes programados para cirugía de implantación de prótesis total de rodilla (PTR), que supone un daño quirúrgico homogéneo, una duración similar y una misma técnica anestésica. Además casi todos los pacientes tienen sobrepeso o son obesos.

Se trata de en un estudio observacional prospectivo, donde se incluyeron todos los pacientes de PTR que acudieron a la Consulta de Preanestesia y que no presentaron los siguientes criterios de exclusión:

1. neoplasias,
2. infección activa,
3. anemia grave,
4. criterios de insuficiencia cardiaca,
5. enfermedades inflamatorias, enfermedades autoinmunes
6. rechazo del procedimiento

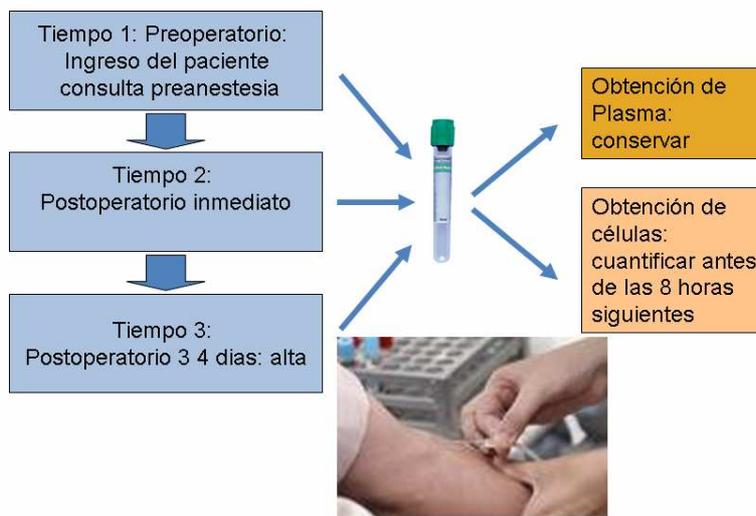
Además, los pacientes que eran susceptibles de recibir anestesia loco-regional, con bloqueo intradural más sedación.

El tamaño de la muestra se ha calculó utilizando el software: [home.clara.net/sisa/sampshlp.htm](http://home.clara.net/sisa/sampshlp.htm)

Los pacientes objeto del estudio fueron debidamente informados de su participación en el mismo y sólo se incluyeron cuando firmaron el consentimiento informado (Ver anexo 1).

## 1.2.- Diseño del estudio y obtención de muestras

Para valorar el estrés quirúrgico se tomaron muestras de sangre periférica; las muestras de sangre se obtuvieron antes, inmediatamente después, y a las 72 horas de la intervención quirúrgica (**Figura 5**).



**Figura 5:** Diseño del estudio

Cada muestra consta de 10 ml de sangre periférica. 5 ml se depositaron en un tubo con anticoagulante para obtener plasma que se separó, alicuotó y conservó a  $-40,00^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior procesamiento. Los otros 5 ml se utilizaron de forma inmediata para el estudio de elementos celulares tras eliminar los eritrocitos mediante lisis por choque osmótico.

### **1.3.- Parámetros clínicos:**

#### 1.3.1 Historia clínica

En la consulta se recogieron los siguientes datos:

*- Antecedentes*

Antecedentes cardiovasculares: historia de hipertensión, insuficiencia cardíaca, valvulopatías, crisis de ángor, insuficiencia venosa, mala circulación periférica

Antecedentes pulmonares: asma, enfermedad obstructiva crónica (EPOC), enfisema, silicosis, ex fumador, hipertensión pulmonar.

Antecedentes endocrinos: diabetes, hipo, hipertiroidismo, enfermedad suprarrenal, etc.

Antecedentes neurológicos: accidente isquémico transitorio (AIT), accidente cerebrovascular agudo (ACVA), trombosis, hemorragias, hemiplejia...

*Otras enfermedades*

*Hábitos, adicciones (drogas, tabaco, alcohol)*

*- Exploración física:*

Se recogieron los parámetros antropométricos de peso y altura que nos sirvió para calcular el índice de masa corporal, además de los parámetros hemodinámicos, con la tensión arterial y frecuencia cardíaca, y los aspectos anatómicos particulares de cada enfermo que podían modificar nuestra actitud terapéutica (escoliosis, edemas, apertura bucal, disnea, fiebre... ).

*- Cálculo del IMC*

Los métodos de investigación para cuantificar la grasa corporal son demasiado complejos para ser utilizados en clínica, por lo que utilizamos un modelo antropométrico que relaciona el peso del individuo con la altura elevada al cuadrado: el índice de masa corporal (IMC) o índice de Quetelet:

$$\text{IMC} = \text{peso en kg} / \text{talla en m}^2$$

En adultos, el IMC guarda una buena correlación con el contenido de grasa corporal calculado por los métodos experimentales y no requiere el empleo de tablas. Según el consenso establecido por la SEEDO (Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad), un IMC < 18.5 se considera como de bajo peso. Un IMC = 18.5-24.9 es un peso normal. Un IMC = 25-29.9 es sobrepeso. La obesidad se define como un índice de masa corporal mayor de 30. Un IMC = 30-34.9 es obesidad clase 1. Un IMC = 35-39.9 es obesidad clase 2. Y un IMC > 40 obesidad clase 3 u obesidad extrema (152, 153).

Otros parámetros antropométricos, son el cociente entre la cintura (a nivel del ombligo) y la cadera (a nivel de la mayor circunferencia) (CCC), o la circunferencia de la cintura o la circunferencia de la cadera, que nosotros no utilizaremos al ser de mayor complejidad en nuestra práctica clínica habitual.

Por lo tanto empleamos el IMC para clasificar nuestro grupo de enfermos, pero resultó que, los sujetos seleccionados no se distribuían homogéneamente en los escalones de obesidad propuestos por la Sociedad Española y Americana de Obesidad, sobre todo, a penas contábamos con pacientes de peso normal; así que creamos nuestros propios grupos de pacientes: tercil 1, tercil 2 y tercil 3 con igual número de enfermos.

Tercil 1: entre 17,7 a 30,5 de IMC

Tercil 2: entre 30,6 a 34,5 de IMC

Tercil 3: entre 34,6 a 43,7 de IMC

### 1.3.2. Pruebas complementarias

Se extraen muestras y se solicitan al laboratorio de análisis clínicos del hospital las siguientes determinaciones

- Hematimetría, fórmula leucocitaria, recuento plaquetario
- Bioquímica con electrolitos, función renal, enzimas hepáticas, proteínas totales, colesterol, HDL, LDL, triglicéridos
- Estudio de coagulación con actividad de protrombina, tiempo de tromboplastina parcial activado, INR.

Se realiza *un electrocardiograma (ECG)* de 12 derivaciones. Los signos electrocardiográficos de hipertrofia ventricular derecha, incluyendo desviación del eje hacia la derecha y bloqueo de rama derecha, sugieren hipertensión pulmonar. Por el contrario, el bloqueo de rama izquierda incrementa la posibilidad de enfermedad coronaria oculta.

*Radiografía de tórax* preferentemente pósterio-anterior y lateral. Ésta radiografía sirve de base en un postoperatorio con problemas; además, puede sugerir un fallo cardíaco no diagnosticado, un aumento de las cámaras cardíacas, o una vascularización pulmonar anormal sugestiva de hipertensión pulmonar.

*Otras pruebas* como gasometría arterial y espirometría. Están indicadas en obesidades extremas ( $IMC \geq 60 \text{ kg/m}^2$ ), ante la sospecha del síndrome de hipoventilación-obesidad y en las patologías pulmonares asociadas.

La ecocardiografía y el cateterismo solo se llevarían a cabo en pacientes con síntomas de insuficiencia cardíaca, hipertensión pulmonar u otros problemas cardiovasculares.

Todos los datos se registraron en una base de datos informatizada.

## 2.- MÉTODOS

### 2.1. Aparatos, materiales de laboratorio y reactivos

- Centrifugadora Megafuge 1.0 R (Heraeus, Sepatech).
- Microscopio invertido Zeiss (Captair®).
- Citómetros de flujo:
  - FACSCalibur de Becton-Dickinson, San José California, USA,
  - FC-500 de Beckman Coulter, Marsella, Francia.
- Espectrofotómetro Power Wave XS microplate reader (Biotek, VT, USA)
- Placa de contaje celular de Neubauer. Cristales cubreobjetos.
- Tubos FACS para citometría (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA)
- Thermomixer 5436 (Eppendorf, Netheler, Alemania).
- Congelador – 80°C modelo U-410 (New Brunswick)
- Tubos de vacío estériles EDTA K3, tubos de vacío de 5ml con EDTA K3 (15%): 0,054 ml, 0,34M (Vacutainer).
- Tubos Eppendorf de 1,5ml.
- Guantes estériles, tubos universales estériles de 10ml, jeringas de 2, 5, 10 y 20 ml, agujas, pipetas Pasteur de 3ml, pipetas automáticas de 0,5-5, 5-50, 50-200 y 1000µl, gradillas.
- Solución salina tamponada con fosfato (PBS, GIBCO BRL. Life Technologies ®).
- Agua destilada apirógena Vitulia.
- Kit de BD™ Cytometric Bead Array (CBA) Human Inflammation Kit (Pharmingen, San Diego, CA)
- Kit de Quantikine-Human Adiponectin/Acrp30 Immunoassay (R&D Systems Minneapolis, MN, USA).

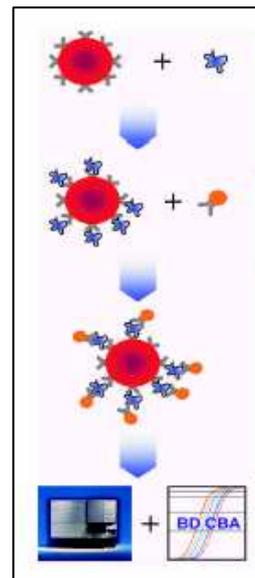
- Anticuerpos monoclonales conjugados con fluorocromos: anti-CD31 (MHCD3104- Phycoerythrin [PE] Caltag lab., Burlingame, California, USA), anti-VEGFR2 humano (KDR-PE, R&D System, Minneapolis, MN USA). CD133-FITC (SEROTEC, Kidlington, UK), y CD34 Tricolor (TC) (Caltag, Invitrogen, San Diego, CA, USA). Como controles intraexperimentales se utilizaron los correspondientes anticuerpos anti isotipo conjugados con fluorocromos.
- Kit de anexina V conjugado con isotiocianato de fluoresceína (FITC), (Bender MedSystem, Viena, Austria).
- Flow Count Calibrator beads (Beckman Coulter, Marsella, Francia).
- Facs Lysing (Pharmingen, San Diego, CA).

## 2.2. Protocolos

### 2.2.1 Determinación de citoquinas proinflamatorias solubles. Método de “Cytometric Bead Array Immunoassay” (CBA).

La citometría de flujo es una herramienta de análisis que permite la discriminación de diferentes partículas en función del tamaño y el color. El método de CBA utiliza la sensibilidad de la detección por fluorescencia amplificada por citometría de flujo para medir parámetros solubles por una técnica basada en un inmunoensayo.

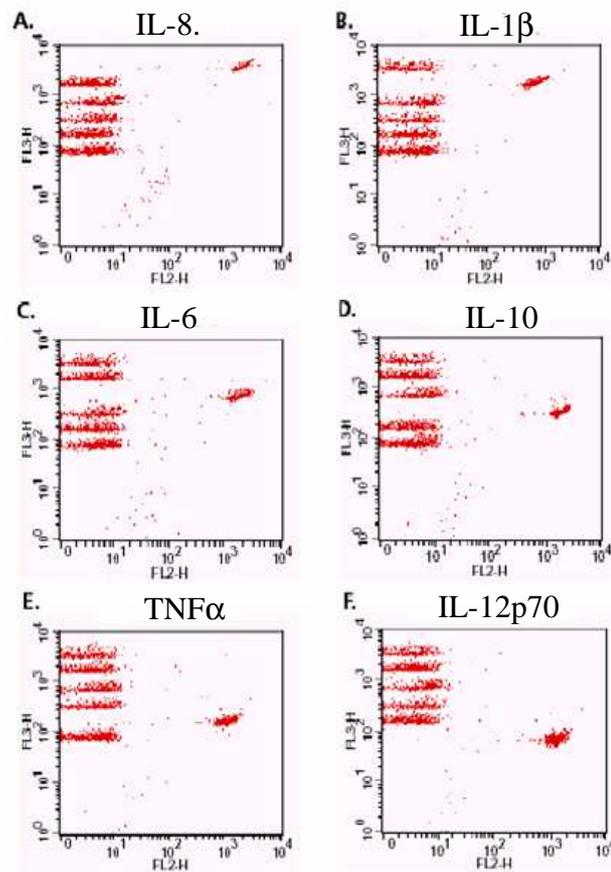
En este trabajo se utilizó el kit de BD™ Cytometric Bead Array (CBA) Human Inflammation Kit para cuantificar citoquinas proinflamatorias. El método de CBA se basa en la unión de microbolas marcadas con anticuerpos con diferentes intensidades de fluorescencia (**Figura 6**).



**Figura 6**

La longitud de onda máxima de emisión de la fluorescencia es de alrededor de 650 nm (canal de fluorescencia-3, FL-3). Las bolas están unidas por un enlace covalente a un anticuerpo frente a las diferentes citoquinas: Interleukin-8 (IL-8), Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), Interleukin-6 (IL-6), Interleukin-10 (IL-10), Tumor Necrosis Factor (TNF), e Interleukin-12p70 (IL-12p70) (**figura 7**). El rendimiento del análisis de citoquinas por este método es similar al obtenido mediante el método convencional de Ensayo de inmunodetección ligado a enzima (ELISA), con la ventaja de necesitar una menor cantidad de muestra y un ahorro de tiempo en el montaje del kit.

**Figura 7:** Ejemplo de detección de citoquinas proinflamatorias de forma individual por citometría de flujo

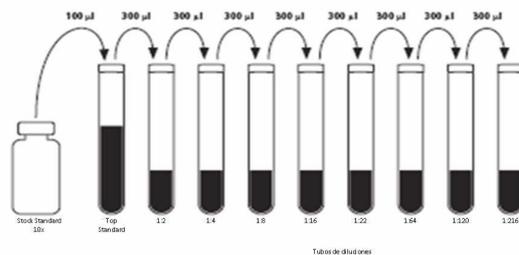


En el procedimiento se llevan a cabo tres procesos de forma paralela:

- a.- Elaboración de la Curva Estándar,
- b.- Procesamiento de las muestras
- c.- Preparación de las bolas de calibración para el citómetro.

a.- Elaboración de la Curva Estándar

Se preparan 10 tubos Facs para hacer las mezclas (los rotulamos con Top S, 1, 2, 3, 4,...) y 10 tubos Facs adicionales para la curva estandar. Una vez hecho esto, se reconstituye el Top Estándar añadiendo 300µl de diluyente del ensayo en el vial de citoquinas estándar, y en cada tubo rotulado. A continuación se añaden 100µl del vial de Top Standard, mezclando y equilibrando durante 15 minutos antes de pasar a hacer las diluciones. Realizar una dilución seriada añadiendo a los tubos siguientes 300 µl del vial anterior, mezclando enérgicamente (**Figura 8**).

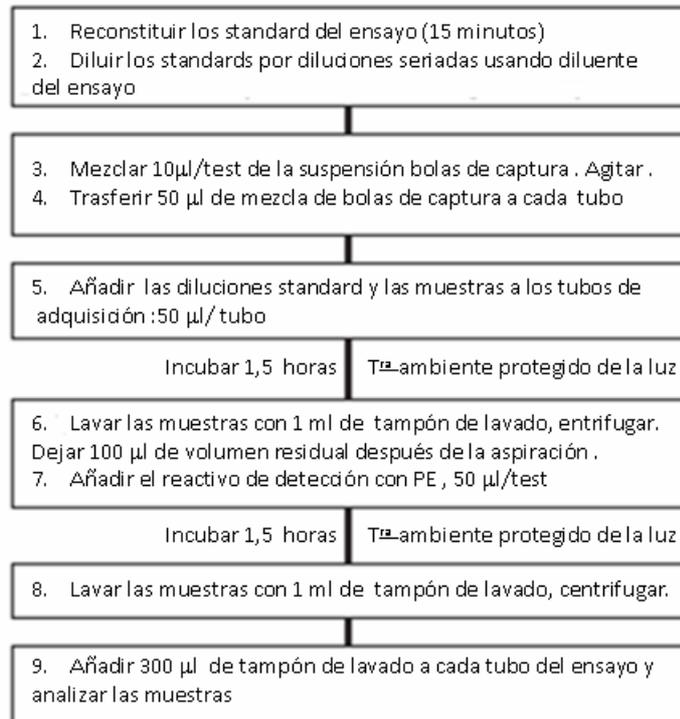


**Figura 8:** Preparación de las diluciones de los standard para el kit de citocinas inflamatorias

b.- Procesamiento de las muestras: En un tubo Facs, se prepara la mezcla con las bolas captadoras vertiendo 10µl de cada tipo por muestra más una pequeña cantidad por error de pipeteo. Las bolas captadoras son seis, una para cada citocina que se va a determinar. Se añaden 50µl de esta mezcla en cada tubo de la muestra y de la curva. A continuación se añaden 50µl de suero, previamente homogeneizado. Se incuban durante hora y media. Posteriormente se añade 1 ml de Wash Buffer en cada tubo de la muestra y de la curva. Se centrifuga a 1500 r.p.m. durante 5 minutos y se decanta el sobrenadante por

aspiración dejando una pequeña cantidad. Se añaden 50µl de Phycoeritrina en cada tubo de la muestra y de la curva, agitándose con una pipeta e incubar durante hora y media en oscuridad. Se añade 1 ml de Wash Buffer en cada tubo de la muestra y de la curva. Se centrifuga a 1500 r.p.m. durante 5 minutos decantándose posteriormente el sobrenadante. Se añade 300µl de Buffer de lavado. Se adquieren las muestras en el citómetro de flujo (**Figura 9**).

**Figura 9:** Secuencia y tiempos del protocolo de determinación de citoquinas por CBA



c.- Preparación de las bolas de calibración para el citómetro. Durante las incubaciones preparamos las bolitas de calibración para el citómetro, que consiste en preparar tres tubos Facs (A, B, C). Añadir a cada tubo 50µl de las bolas del citómetro: Tubo A, nada. Tubo B, 50µl de primer color (FITC). Tubo C, 50µl de segundo color (PE). Se incuba 30 minutos protegido de la luz. Se añade al Tubo A, 450µl, al Tubo B, 400µl y al Tubo C, 400µl de tampón de lavado. El citómetro se calibra con estos reactivos antes de comenzar a adquirir las muestras.

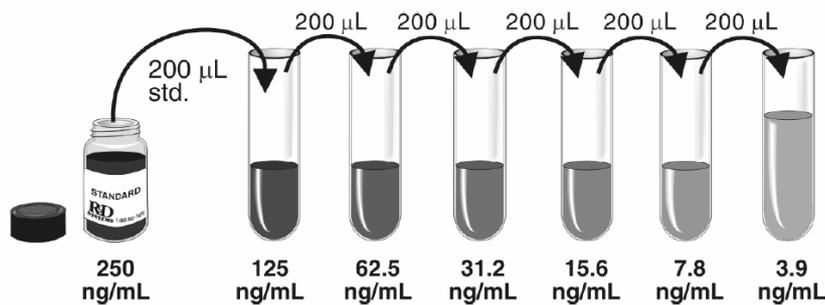
### **2.2.2.- Determinación de adiponectina por el método de Enzimoensayo (ELISA)**

La técnica de ELISA es un ensayo inmunoenzimático ampliamente empleado en el área médica para la cuantificación de moléculas, especialmente de aquellas que experimentan cambios en diferentes estados como pueden ser infecciones por bacterias, virus, hongos o parásitos o fases activas de enfermedades autoinmunes. Por este método se pueden determinar hormonas, autoanticuerpos, inmunoglobulinas frente a antígenos de patógenos, toxinas, antígenos, entre otras aplicaciones. En este estudio se ha utilizado el kit de Quantikine-Human Adiponectin/Acrp30 Immunoassay diseñado para cuantificar concentraciones de adiponectina humana en sobrenadantes de cultivo, suero y plasma. El inmunoensayo Quantikine de adiponectina es un ELISA en fase sólida diseñado para medir adiponectina humana total (bajo, medio y alto peso molecular).

Este ensayo emplea la técnica de inmunoensayo enzimático cuantitativo. Utiliza un anticuerpo monoclonal específico para el dominio globular de la adiponectina con el que se ha pre-recubierto una microplaca.

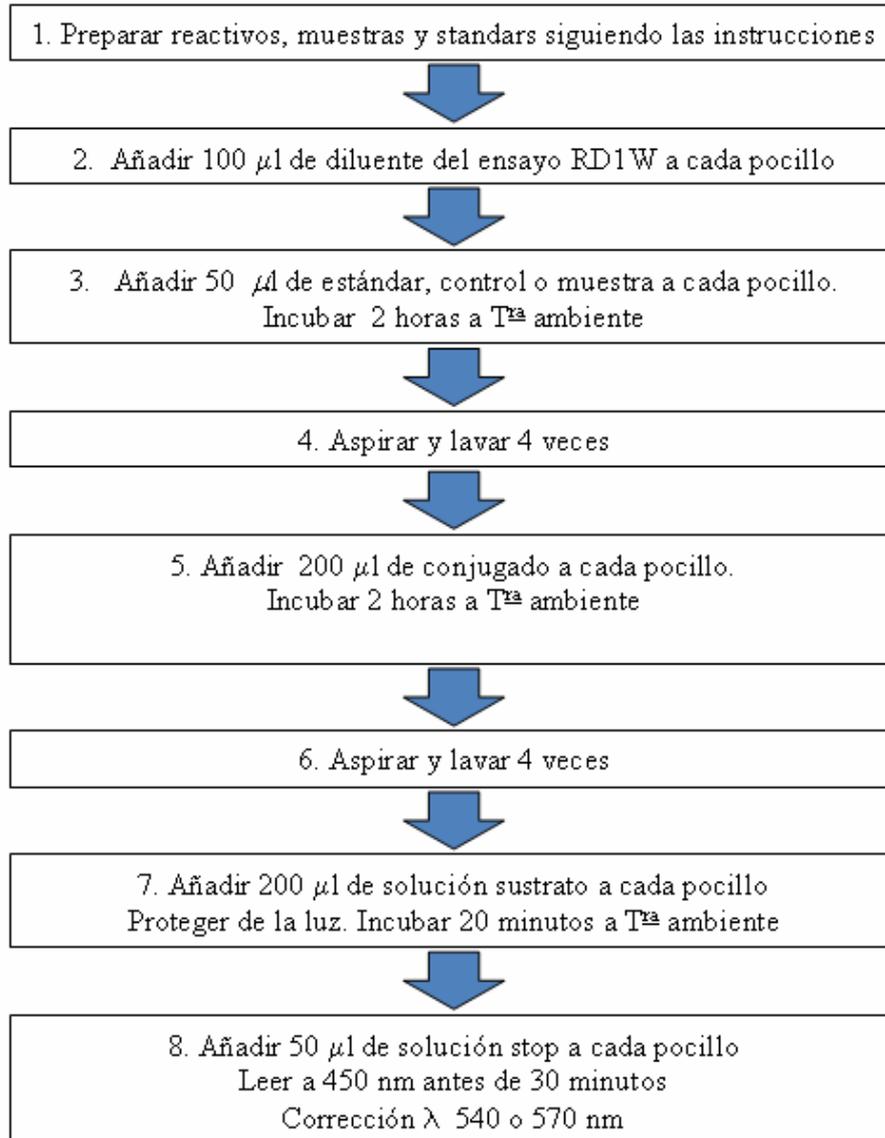
El procedimiento del ensayo consta de dos fases:

- a. Preparación de la curva estándar (**Figura 10**) y dilución de muestras y controles, necesario para incluirlas en el rango de sensibilidad del kit.
- b. Realización del protocolo, siguiendo las instrucciones del fabricante. Básicamente, los controles y las muestras se pipetean en los pocillos uniéndose la adiponectina al anticuerpo inmovilizado. Después de lavar, se añade a los pocillos una enzima ligada al anticuerpo monoclonal específico para el dominio globular de la adiponectina. Después de un lavado para eliminar los anticuerpos no unidos a la enzima, se añade la solución de sustrato y se desarrolla el color que va a estar en proporción con la cantidad de adiponectina unida en el paso inicial. El desarrollo del color se detiene y la intensidad del color se mide cuantificando la densidad óptica (OD) en un espectrofotómetro Power Wave XS microplate reader a 450 nm. Un esquema del protocolo se incluye en la **figura 11**.



**Figura 10:** Preparación de las diluciones de los standard para el kit de adiponectina por ELISA

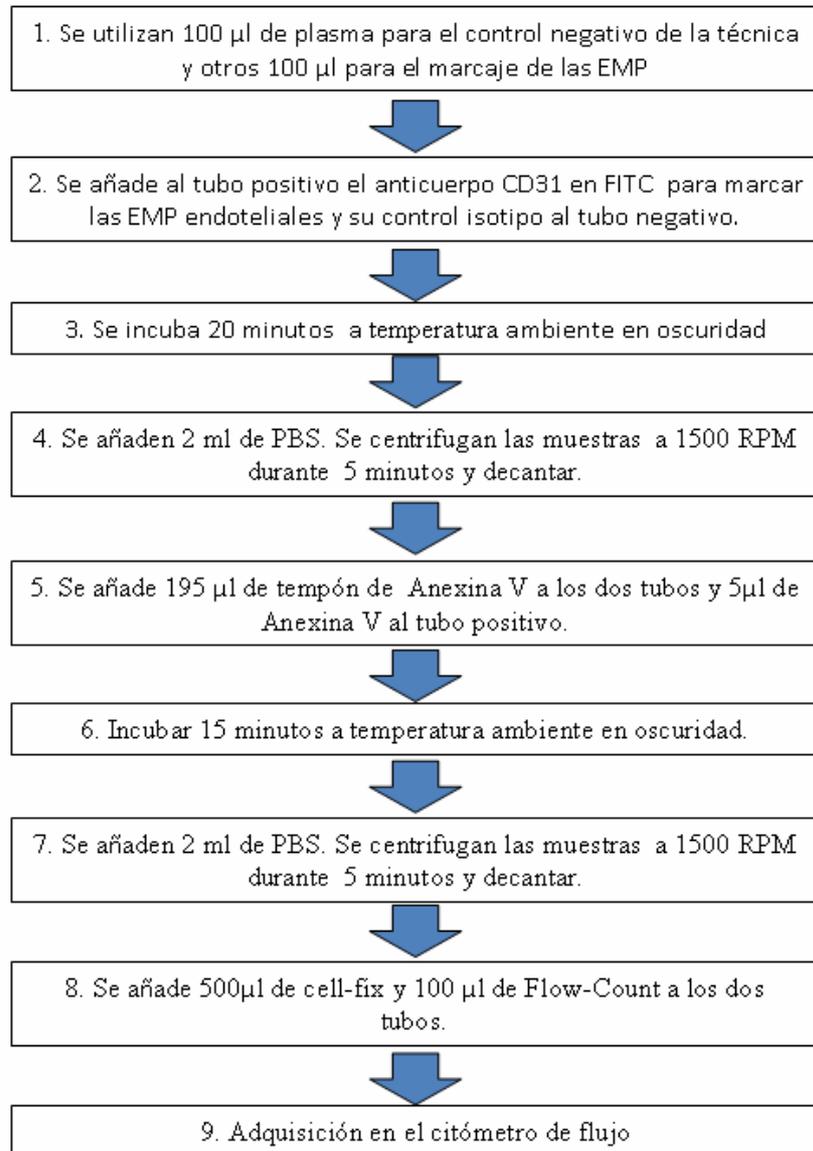
**Figura 11:** Procedimiento para determinación de adiponectina por ELISA



**2.2.3.- Micropartículas endoteliales (EMP):**

Las EMP se cuantificaron siguiendo un protocolo desarrollado por Werner y cols 2006 (154). Básicamente consiste en, inmediatamente recogida la sangre total anticoagulada se centrifuga a 13000 g durante 5 min a fin de producir plasma pobre en plaquetas. Se extrae el plasma y se congela a una temperatura de -80°C hasta su utilización. El plasma pobre en plaquetas se incubó con el anticuerpo monoclonal anti-CD31 PE, seguido de incubación con anexina V FITC de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El control negativo (valor cero) se obtuvo utilizando los anticuerpos anti-isotipo. Junto con la adquisición de las muestras se realizó una calibración del citómetro de flujo con el reactivo Flow Count Calibrator Beads (Beckman Coulter, Marseille, France), que permite realizar de forma automática un recuento del número de micropartículas. El análisis se realizó en un citómetro de 500 Coulter Cytomic FC flujo, utilizando el software de CXP. Cada resultado (un valor único) fue la media de tres determinaciones independientes de la misma muestra. En la **figura 12** se detalla el protocolo técnico para la determinación de EMP.

**Figura 12:** Procedimiento para determinación de EMP

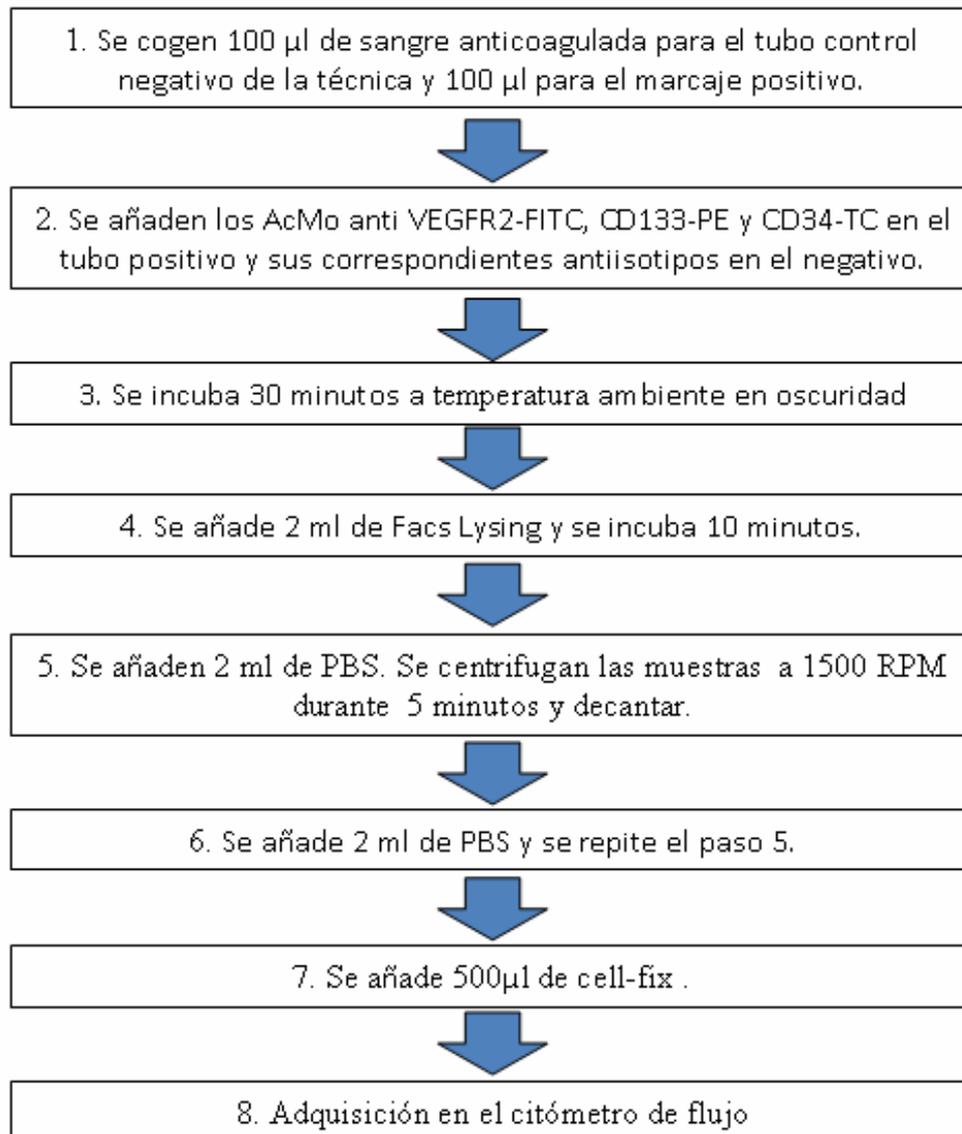


#### 2.2.4.- Células precursoras del endotelio (EPC) (VEGFR2+/CD133+/CD34+)

Las EPC se caracterizan por la expresión de tres moléculas de superficie: CD34, CD133, y VEGFR2 (155). Para realizar el triple marcaje por fluorescencia, inmediatamente después de la extracción de sangre, se eliminan los glóbulos rojos utilizando el método de sangre total. Con este procedimiento se consigue obtener todos los leucocitos de sangre periférica, eliminando la posibilidad de perder algunas células por el uso alternativo de otros métodos que utilizan gradientes de densidad para la separación de células. Paralelamente se realiza el triple marcaje utilizando concentraciones saturadas de anticuerpos monoclonales conjugados con fluorocromos específicos frente a las moléculas que definen el fenotipo de EPCs: CD34, CD133, y VEGFR2. El detalle del protocolo se resume en la **figura 13**.

El análisis cuantitativo se realizó en un citómetro de flujo FACSCalibur, adquiriendo 200.000 eventos por muestra. Los datos fueron analizados utilizando el software CellQuest (Becton Dickinson). El número de CPE se define como eventos de triple positivo para CD34, CD133, y VEGFR2. El control negativo (valor cero) es el valor obtenido con los anticuerpos anti-isotipo y representa la fluorescencia no específica. Cada resultado (un valor único) fue la media de tres determinaciones independientes de la misma muestra. Una representación esquemática del análisis de la fluorescencia triple se representa en la **Figura 14**.

**Figura 13:** Procedimiento para el marcaje de EPC

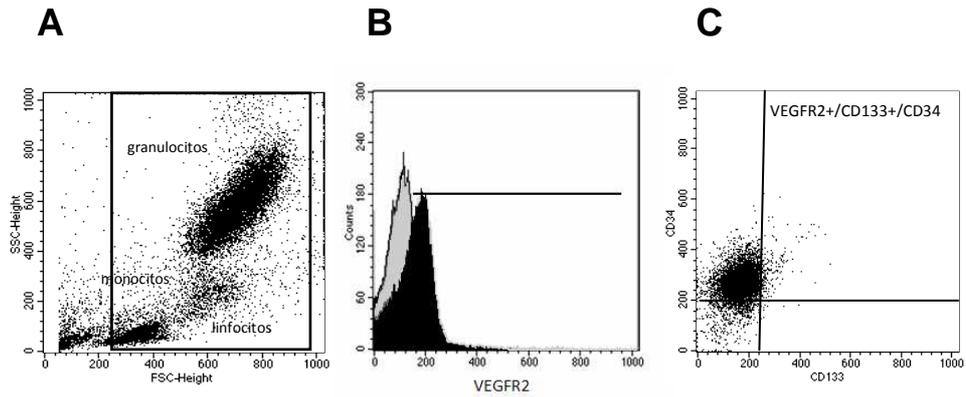


**Figura 14:** Figura representativa del análisis por citometría de flujo de EPCs.

A) Histograma biparamétrico que integra la complejidad (FSC) y el tamaño (SSC) de células blancas de sangre periférica. Se hace una ventana eliminando los restos de células.

B) Histograma simple que representa la expresión de VEGFR2 en leucocitos.

C) Expresión de las moléculas CD133 y CD34 en leucocitos VEGFR2 positivos.



### **3.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Todos los resultados se expresan en el texto como media (M)  $\pm$  Desviación Estándar (DE). La comparación entre dos grupos se ha realizado mediante t de Student (comprobando siempre que las muestras tuvieran una distribución normal y la varianza fuera similar). La diferencia estadística entre más de dos grupos ha sido determinada mediante ANOVA. Las diferencias estadísticas entre las medias de los diferentes grupos se han considerado significativas cuando el valor de P ha sido inferior a 0.05. El análisis estadístico se ha realizado con el paquete informático NCSS.







---



# RESULTADOS



## 1. Características clínicas de los sujetos del estudio

Los pacientes incluidos en el estudio se seleccionaron en la consulta de preanestesia entre los programados para el acto quirúrgico de prótesis total de rodilla (PTR). Una vez aplicados los criterios de exclusión, se reclutaron un total de 74 pacientes.

Los sujetos del estudio se dividieron en terciles según su índice de masa corporal (IMC) (**tabla 5**): El tercil 1 comprende los sujetos con un IMC entre 17,7 y 30,5 Kg/m<sup>2</sup>, el tercil 2 incluye sujetos con IMC entre 30,6 y 34,5 Kg/m<sup>2</sup> y el tercil 3 son los pacientes de mayor peso, con un IMC entre 34,6 y 43,7 Kg/m<sup>2</sup>. En cada uno de los terciles también predominó el sexo femenino, suponiendo un 66.66 % en el tercil 1, el 84% en el tercil 2, y un 84 % en los pacientes del tercil 3.

En la **tabla 5** se muestran las características clínicas y demográficas de los pacientes: eventos cardiovasculares (cardiopatía isquémica, fibrilación auricular (FA), valvulopatías, crisis de ángor...), tensión arterial elevada (HTA), problemas respiratorios (enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), síndrome de apnea obstructiva del sueño (SAOS)...), enfermedades endocrinas (diabetes mellitus no insulino dependiente) (DMNID), patologías osteoarticulares (artrosis, artritis...), historial de neoplasias, hipercolesterolemia, hiperuricemia, hipotiroidismo, depresión, mareos, enfermedades autoinmunes (vitiligo, colitis ulcerosa).

El análisis de los datos demográficos demostró un predominio del sexo femenino (78%) sobre el masculino (22%). La edad de los tres grupos de enfermos fue similar: 72 años de media aritmética en los tres terciles.

Nuestros resultados identifican la asociación entre de hipertensión arterial y aumento de IMC (**tabla 5**). El 92% de los pacientes incluidos en el tercil 3 estaban en tratamiento con antihipertensivos, frente a un 72% entre los pacientes del tercil 2 y un 50% de los pacientes del tercil 1 ( $p < 0.01$ ).

No se han encontrado otras asociaciones significativas en relación al resto de los parámetros recogidos en la historia clínica y en el preoperatorio.

**Tabla 5. Características clínicas basales de los pacientes incluidos en el estudio**

Parámetro	Total n=74	Tercil 1, n=24	Tercil 2, n=25	Tercil 3, n=25	Valor de P
<b>Edad</b> (años) Media ± DE / rango	74	72,71 ± 5,77 (62-81)	72,16 ± 4,54 (65-80)	72 ± 5,99 (61-83)	
<b>Sexo</b> nº H/M / % vs total	16 H 58 M	8 H (33,33%) 16 M (66,66%)	4 H (16%) 21 M (84%)	4 H (16%) 21 M (84%)	
<b>IMC*</b> (Kg/m <sup>2</sup> ) Media ± DE/rango	74	(17,7- 30,5) 27,62 ± 2,94	(30,6- 34,5) 32,44 ± 1,26	(34,6-43,7) 37,89 ± 3,04	
<b>Hipertensión</b> nº / % vs total	53 21	12 HTA (50%) 12 no HTA (50%)	18 HTA (72%) * 7 no HTA (28%)	23 HTA (92%)* 2 no HTA (8%)	P<0,01
<b>Eventos CV</b> nº / % vs total	7	4 (16,66%)	2 (8%)	1 (4%)	
<b>Enf. respiratoria</b> nº / % vs total	10	2 (8,3%)	4 (16%)	4(16%)	
<b>Enf. endocrinas</b> nº / % vs total	15	3 DMNID (12,5%)	8 DMNID (32%)	4 DMNID (16%)	
<b>Pat. osteoarticular</b> nº / % vs total	19	7 (29%)	9 (36%)	3 (12%)	
<b>Neoplasias (nº)</b>	2	1 cáncer de mama		1 nódulo tiroideo	
<b>Colesterol</b> nº / % vs total	14	6 (25%)	4 (16%)	4 (16%)	
<b>Hiperuricemia (nº)</b>	1	1	0	0	
<b>Depresión</b> nº / % vs total	12	5 (20,83%)	4 (16%)	3 (12%)	
<b>Mareos</b> nº / % vs total	6	3 (12,5%)	1 (4%)	2 (8%)	

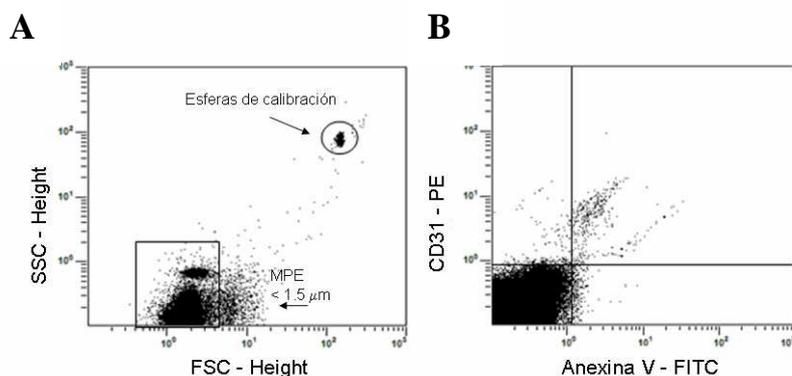
<b>Hipotiroidismo</b> nº / % vs total	4	0	2 (8%)	2 (8%)	
<b>Otros (nº)</b>	2	1 Vitíligo		1 Colitis ulcerosa	

**Tabla 5. Características clínicas basales de los pacientes incluidos en el estudio** El cálculo de la media del IMC resultó ser de  $27,62 \pm 2,94 \text{ Kg/m}^2$  en los pacientes en el tercil 1, de  $32,44 \pm 1,26 \text{ Kg/m}^2$  en los pacientes incluidos en el tercil 2 y de  $37,89 \pm 3,04 \text{ Kg/m}^2$  en los pacientes del tercil 3. Este fue el parámetro utilizado para distribuir los grupos en terciles. La edad de los pacientes fue igual en los tres grupos, 72 años. Predominó el sexo femenino, suponiendo un 66.66 %, 84.0 % y 84.0 % de los pacientes incluidos en el tercil 1, 2 y 3 respectivamente. No se han encontrado diferencias en relación a los parámetros recogidos en la historia clínica y en el preoperatorio, salvo en la hipertensión arterial y el aumento de IMC ( $p < 0.01$ ).

## 2. Cuantificación de micropartículas endoteliales (MPE) CD31+/Annexin V+

Eliminado: ¶

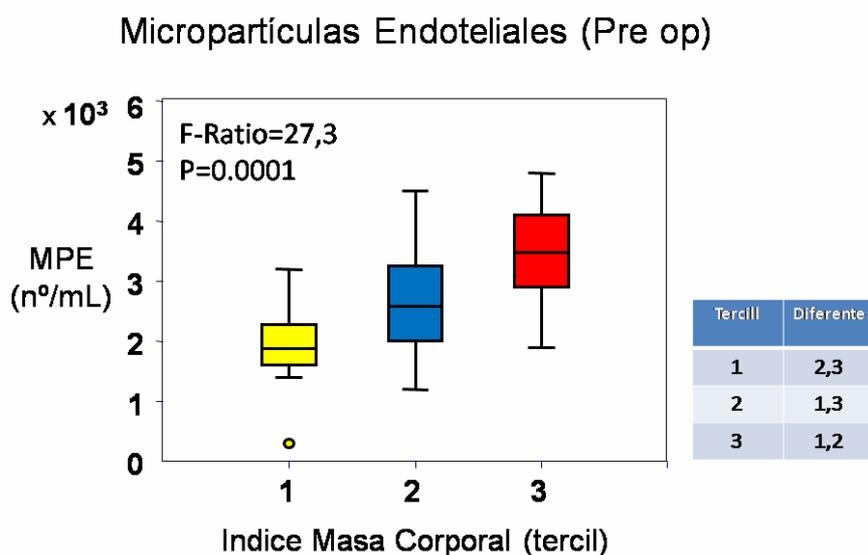
El número de micropartículas endoteliales (MPE) obtenidas de plasma pobre en plaquetas de pacientes quirúrgicos de PTR, se cuantificó mediante citometría de flujo utilizando un marcaje anexina V/CD31 (**Figura 15**).



**Figura 15: Histograma representativo del análisis por citometría de flujo de micropartículas endoteliales (MPE):** **A)** Histograma biparamétrico que muestra el tamaño de las MPE en el eje vertical (log Side Scatter, SSC) en relación a la complejidad de las mismas (eje horizontal) (log Forward Scatter, FSC). En el ángulo superior derecho del histograma se define una ventana que recoge las esferas utilizadas experimentalmente para la calibración del equipo, se recuentan automáticamente el número de MPE por ml de muestra. En la zona inferior se selecciona otra ventana que recoge en aquellas MPE que son inferiores a 1.5 μm de diámetro. Este cálculo se realizó mediante una calibración adicional previa al ensayo para establecer una escala de tamaño. **B)** El histograma de la derecha se corresponde con el análisis del doble marcaje de anexina V conjugada con isotiocianato de fluoresceína (Anexina V-FITC), versus la molécula CD31 conjugada con ficoeritrina (CD31-PE), que define el origen endotelial de estas MPE. El porcentaje de MPE dobles positivas se corresponde y cuantifica en el cuadrante superior derecho.

**a. Determinación de las micropartículas endoteliales (MPE) en el preoperatorio.**

Previamente a la cirugía (**Pre op**), los pacientes con mayor IMC (tercil 3) mostraron un número de MPE por ml de plasma ( $3.5 \pm 0.7$  MPE/ml) mayor que los del tercil 1 ( $1.9 \pm 0.6$  MPE/ml,  $p < 0,001$ ) y tercil 2 ( $2.7 \pm 0,9$  MPE/ml,  $p < 0,001$ ) (**Figura 16**). Asimismo, en el Pre op, los pacientes incluidos en el tercil 2, tenían un nº de MPE significativamente mayor que los pacientes en el tercil 1 ( $p < 0,001$ ). En definitiva, los pacientes con mayor IMC (tercil 3) tienen más MPE que los otros grupos estudiados, y los tres terciles son diferentes entre sí de forma significativa.

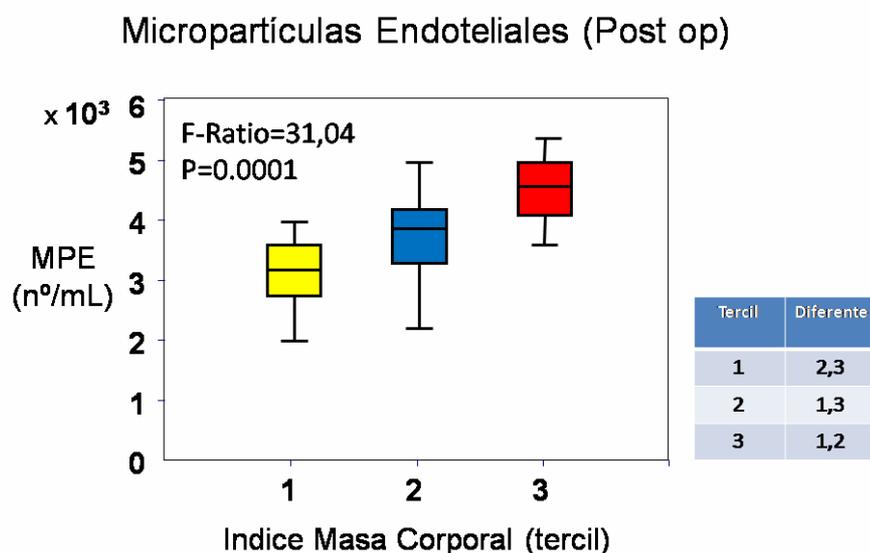


**Figura 16: Cuantificación de MPEs en pacientes distribuidos en terciles de IMC.** Se muestra el número absoluto de MPE por ml de muestra, obtenido de plasma pobre en plaquetas de los pacientes quirúrgicos de prótesis total de rodilla (PTR) agrupados en terciles de peso corporal (IMC). Los resultados se representan en diagrama de cajas. Los bordes inferior y superior de las cajas representan los percentiles 25 y 75 de los resultados para cada tercil; la línea horizontal dentro de las cajas representa la mediana; los extremos de las barras verticales por debajo y por encima de las cajas señalan los

valores mínimos y máximos, respectivamente. Los valores atípicos están marcados con el símbolo (o). Las diferencias entre los terciles 1, 2 y 3, fueron analizadas usando ANOVA y resultaron ser estadísticamente significativas ( $p=0,0001$ ). En la tabla adjunta de la derecha se muestran las diferencias con significación estadística de los diferentes grupos de enfermos entre si.

### **b. Cuantificación de MPE con el procedimiento quirúrgico**

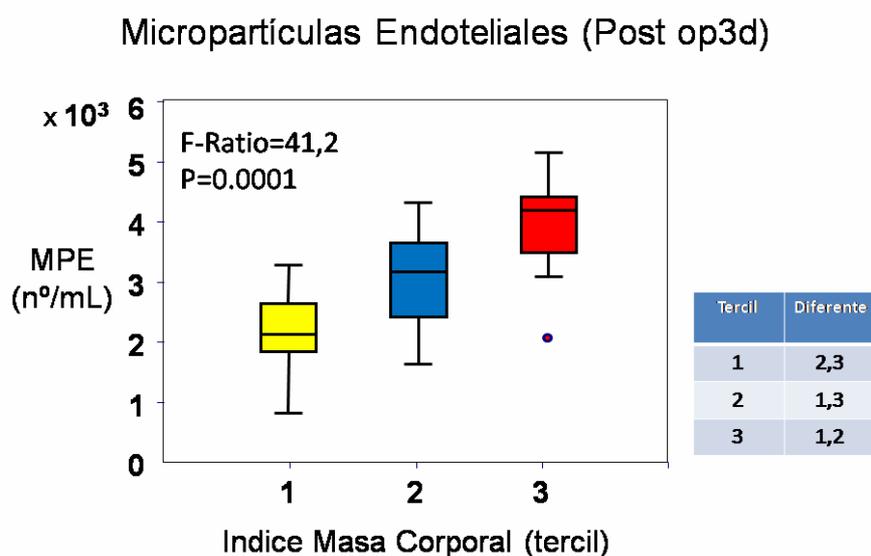
A lo largo de los periodos del estudio se observó que, en los tres terciles de pacientes, independientemente de su IMC, el n<sup>o</sup> de MPE se incrementó de forma significativa en el postoperatorio inmediato (**Post op**) (**Figura 17**). Los pacientes del primer tercil llegaron a tener un número de MPE por ml de plasma de  $3,01 \pm 0,6$  MPE/ml; los del tercil 2:  $3,7 \pm 0,7$  MPE/ml; los más obesos, el tercil 3,  $4,4 \pm 0,5$  MPE/ml ( $p < 0,001$ ). Las diferencia entre los terciles 1, 2 y 3 fueron estadísticamente significativas ( $p=0,0001$ ).



**Figura 17: Número de MPE después del procedimiento quirúrgico en los pacientes distribuidos por terciles de IMC. En número de MPE se incrementa en los tres terciles**

de forma significativa. Las diferencias entre los terciles 1, 2 y 3, fueron estadísticamente significativas ( $p=0,0001$ ).

En el periodo final del estudio (**Post op3d**) (**Figura 18**) los niveles de MPE están elevados, pero en cifras menores que en postoperatorio inmediato (Post op). En los pacientes del primer tercil, el número de MPE por ml de plasma fue de  $2,2\pm 0,6$ ;  $3,1\pm 0,7$  MPE/ml y  $4,0\pm 0,7$  MPE/ml en los del terciles 2 y 3 respectivamente. Todos los grupos de pacientes en este periodo del experimento son diferentes entre sí ( $p<0,001$ ).

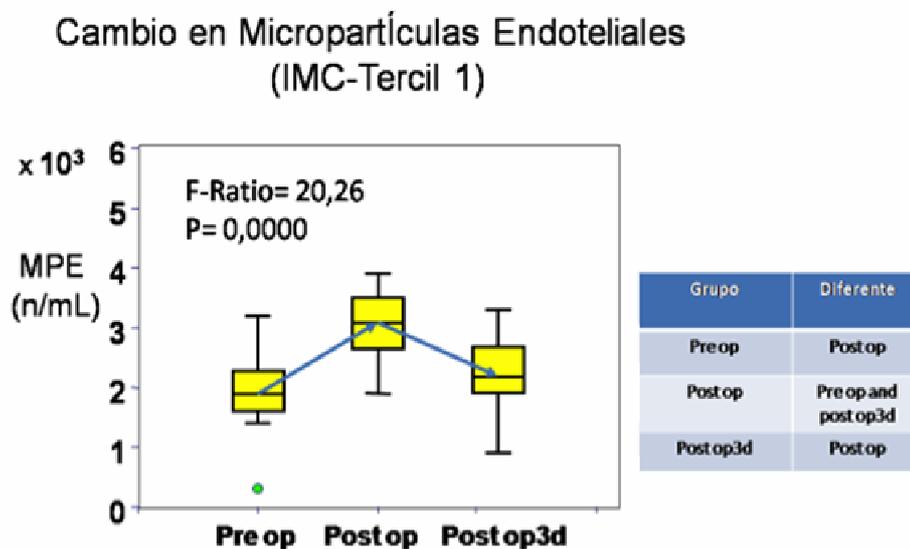


**Figura 18: Número de MPE tres días después del procedimiento quirúrgico en los pacientes distribuidos por terciles de IMC. Todos los grupos de pacientes en este tiempo del experimento son diferentes entre sí ( $p<0,001$ ).**

En resumen, el número de MPE está aumentado en función del IMC de los pacientes y el estrés quirúrgico produce un aumento adicional de MPE.

Posteriormente analizamos el número de MPE en cada tercil a lo largo del tiempo, para valorar el efecto de la cirugía sobre el número de las MPE y la capacidad para recuperar cifras normales en un breve periodo de tiempo.

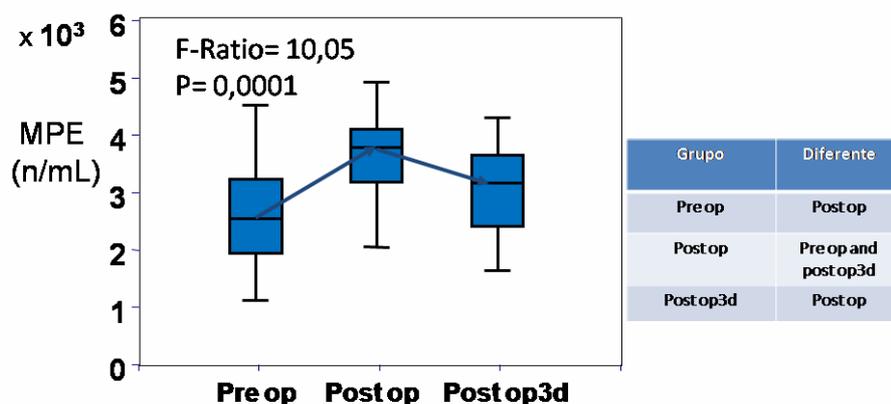
Después de la cirugía (**post op**), los pacientes con peso más bajo (tercil 1) presentaron unos niveles de MPE elevados en relación a momento previo a la cirugía ( $3,01 \pm 0,6$  MPE/ml vs pre op  $1,9 \pm 0,6$  MPE/ml;  $p < 0,001$ ) (**Figura 19**). En el tercer periodo del estudio (**post op3d**), el número de MPE disminuyó en relación al post op inmediato ( $2,2 \pm 0,6$  MPE/ml,  $p < 0,001$  vs post op  $3,01 \pm 0,6$  MPE/ml) hasta niveles similares al periodo del preoperatorio.



**Figura 19: Cambio en el nº de MPE en el tercil 1.** En los pacientes de menor peso, las MPE se incrementan con el estrés quirúrgico pero, a los tres días (post op3d) vuelven a niveles basales. Los valores Pre op y Post op3d no son diferentes de forma estadísticamente significativa ( $p=0,0001$ ).

Los resultados obtenidos en pacientes del tercil 2 siguieron un paralelismo con los obtenidos en el tercil 1 (**figura 20**), donde a los 3 días después de la cirugía el nº de MPE (n/ml) descendió a  $3,1 \pm 0,7$ , siendo menor que el nº obtenido en el post op inmediato ( $3,7 \pm 0,7$  MPE/ml;  $p < 0,001$ ), pero no fue significativamente diferente del número de MPE obtenido en el preoperatorio ( $2,7 \pm 0,9$  MPE/ml).

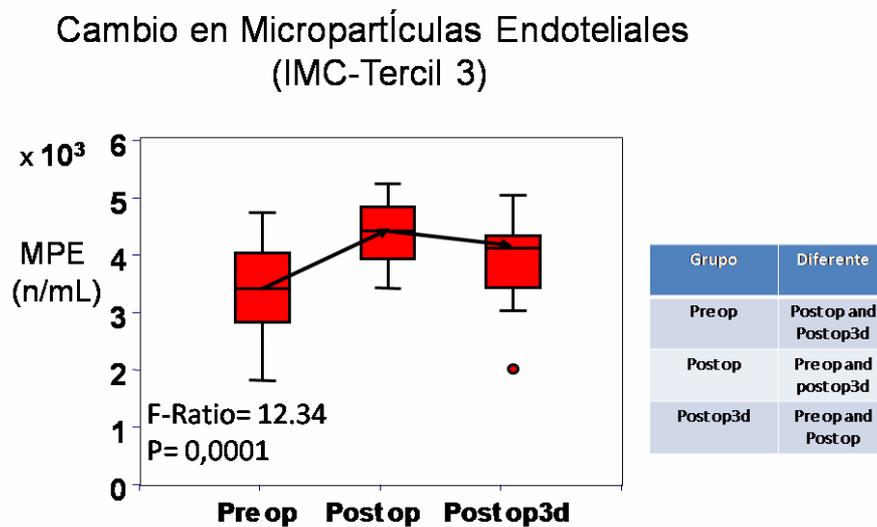
### Cambio en Micropartículas Endoteliales (IMC-Tercil 2)



**Figura 20: Cambios del nº de MPE en el tercil 2.** En el tercil 2 los niveles de MPE suben con el estrés quirúrgico y se recuperan parcialmente a los tres días de la cirugía.

Eliminado:

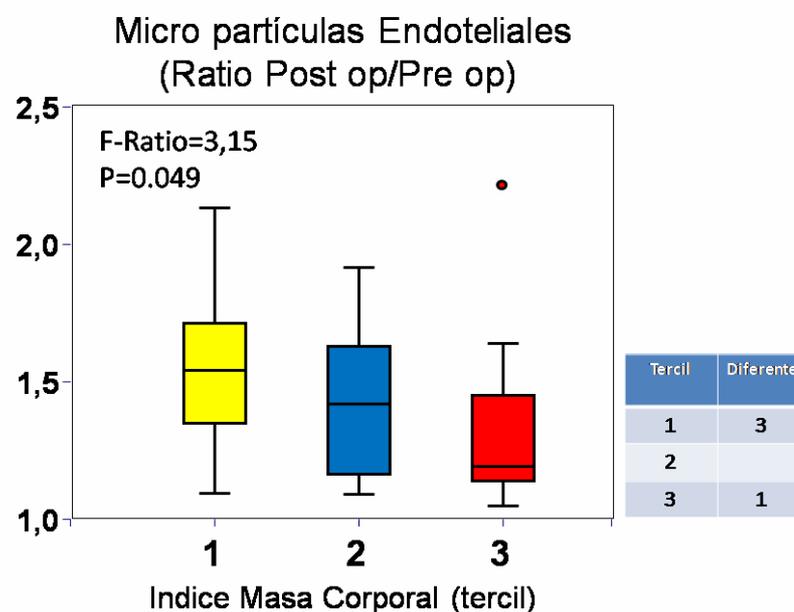
En el grupo de pacientes más obesos (tercil 3), las cifras basales de MPE obtenidas en el pre op ( $3,5\pm 0,7$  MPE/ml) se incrementaron en el periodo inmediato a la cirugía, post op inmediato ( $4,4\pm 0,5$ ,  $p < 0,001$  MPE/ml). Tres días después de la cirugía (post op3d), las cifras de MPE no bajaron a los valores basales. Esto contrasta con lo observado en los pacientes del tercil 1 y 2, siendo los valores de MPE en el post op muy similares a los encontrados en el post op3d ( $4,0\pm 0,7$  n/ml) (**figura 21**).



**Figura 21. Cambio del nº de MPE en el tercil 3.** En el grupo más obeso, las MPE permanecieron altas al tercer día de la cirugía de forma estadísticamente significativa.

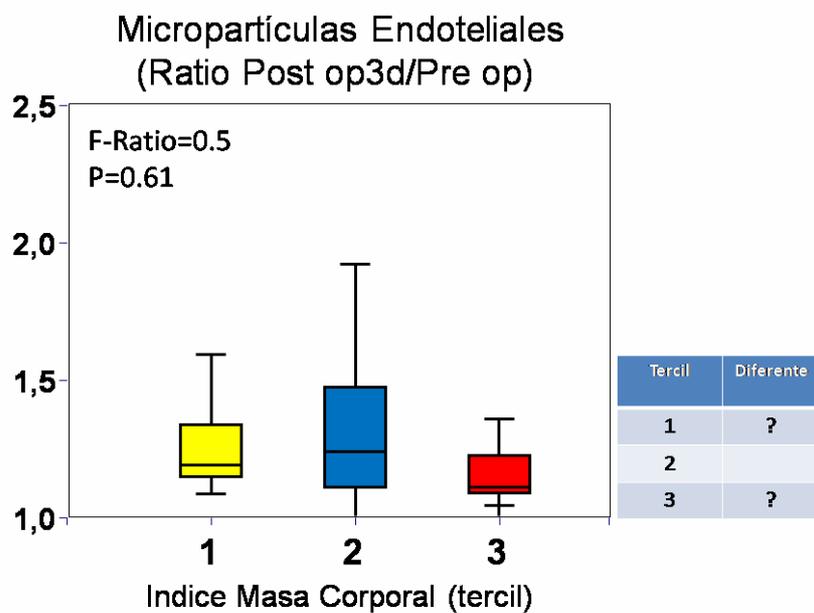
**c. Efecto del procedimiento quirúrgico sobre el número de MPE**

Para valorar si las diferencias en las MPE son significativas en relación al estrés quirúrgico y al peso, se calculó la ratio entre el nº de MPE producidas en el Post op y el Post op3d versus el resultado basal (**Figura 22**). La ratio Post op/Pre op desciende con el aumento de IMC; los pacientes con IMC en el tercil 3 ( $1,3 \pm 0,3$  MPE/ml) tienen una capacidad de producción de MPE significativamente inferior a los enfermos en tercil 1 ( $1,7 \pm 1$  MPE/ml), ( $p < 0,05$ ). Sin embargo no se observaron diferencias significativas entre los pacientes del tercil 3 y 2 ( $1,4 \pm 0,3$  MPE/ml).



**Figura 22. Micropartículas Endoteliales (Ratio Post op/Pre op).** La ratio MPE Post op/Pre op es menor en pacientes del tercil 3 en comparación con el tercil 1 ( $p < 0,05$ ). La ratio Post op/Pre op del tercil 2 no llega a ser estadísticamente diferente al tercil 1 o al 3.

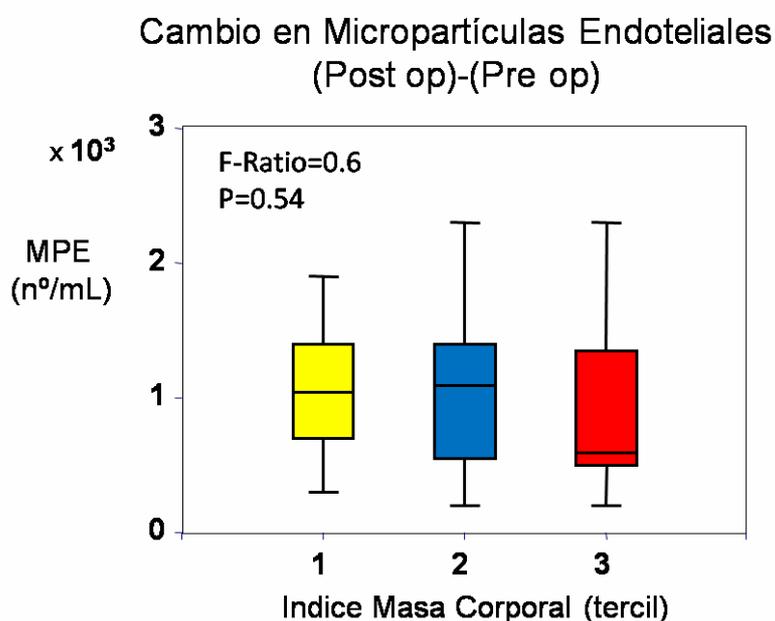
Sin embargo, la ratio Post op3d/Pre op fue similar en los tres terciles (tercil 3:  $1,15 \pm 0,1$  MPE/ml; tercil 2:  $1,20 \pm 0,3$  MPE/ml; tercil 1:  $1,31 \pm 0,9$  MPE/ml) (**Ratio Post op 3d/Pre op**) (figura 23).



**Figura 23: Micropartículas Endoteliales (Ratio Post op3d/Pre op).** Los valores de la ratio Post op3d/Pre op, no son estadísticamente diferentes entre los terciles 1, 2 y 3

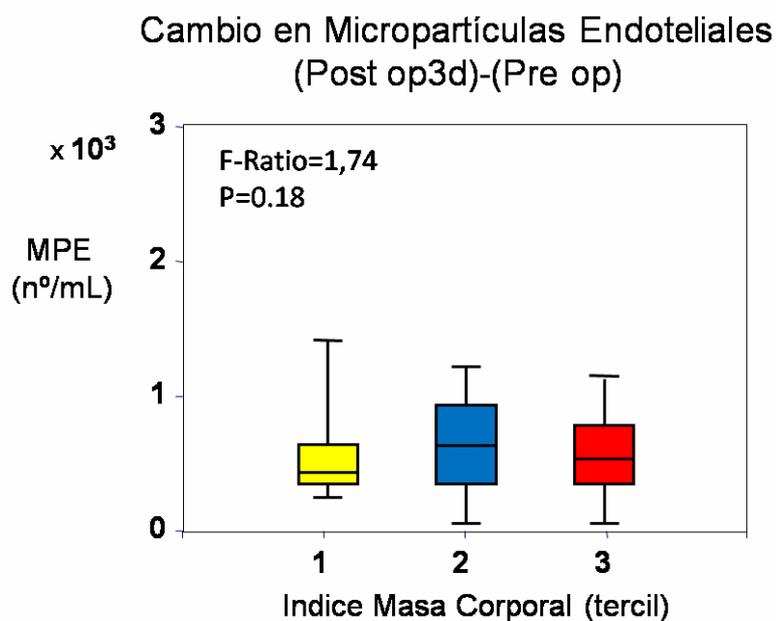
**d. Cambio del número de MPE a lo largo del proceso quirúrgico**

Con el objeto de valorar la modificación en el nº de MPE entre los pacientes con diferente grado de obesidad y a lo largo del estudio; se calculó el cambio que ocurre en la producción de MPE con la cirugía, respecto a los niveles basales, en los tres grupos de pacientes. En el postoperatorio inmediato, el cambio de MPE fue similar en los tres terciles. Los pacientes agrupados en los terciles 1 y 2 el aumento del número de MPE fue de  $10,5 \pm 4,5$  MPE/ml y  $9,9 \pm 4,9$  MPE/ml respectivamente, y en el tercil 3 el aumento del nº de MPE fue un poco menor ( $8,9 \pm 5,7$  MPE/ml), pero este cambio no fue significativo



**Figura 24: Aumento de Micropartículas Endoteliales (MPE) después de la intervención (Post op)-(Pre op).** El aumento en el número de MPE inmediatamente después de la cirugía (Post op) es similar en todos los terciles de IMC.

Igualmente, la diferencia entre el número de MPE a los tres días de la intervención (Post op3d) y el basal (Pre op) es similar en los tres terciles de IMC; tercil 1 ( $2,7 \pm 4,8$  MPE/ml), terciles 2 y 3 ( $4 \pm 5,1$  MPE/ml y  $5 \pm 3$  MPE/ml). (Figura 25)



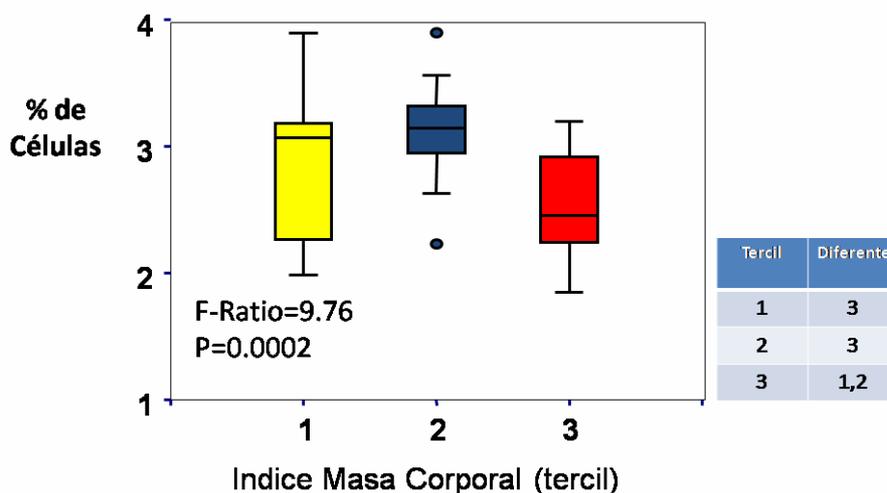
**Figura 25: Cambio en Micropartículas Endoteliales (Post op3d)-(Pre op).** El cambio en el número de MPE entre el post operatorio a los 3 días y el preoperatorio no es significativo

### 3. Evaluación del porcentaje de EPCs:

#### a. Porcentaje de EPCs en el preoperatorio.

En el momento previo a la cirugía (**Pre op**), los pacientes con mayor IMC (tercil 3) mostraron un n° de EPCs significativamente inferior ( $25,3\pm 4\%$ ), que los sujetos con menor IMC, tercil 1 ( $28,6\pm 5\%$ ) y que los pacientes del tercil 2 ( $31,2\pm 3,8\%$ ), ( $p < 0,0002$ ). Sin embargo no se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de EPC entre los pacientes de los terciles 1 y 2.

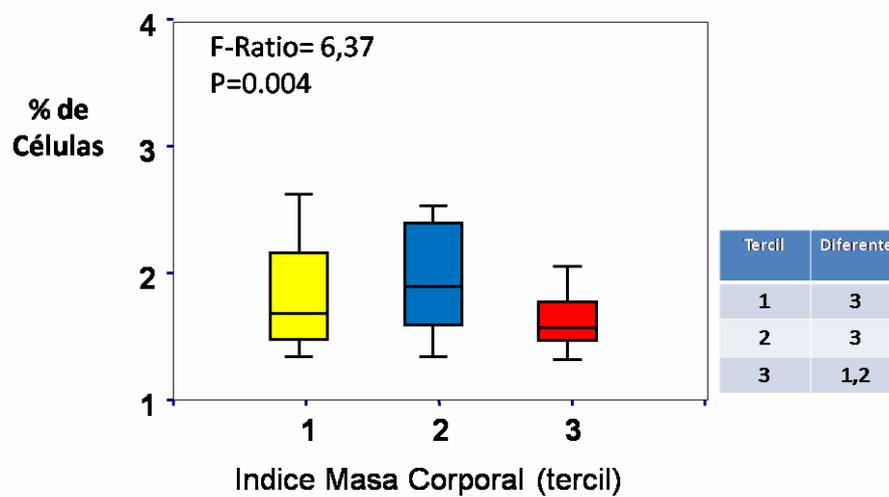
#### Células Progenitoras Endoteliales (Pre op)



**Figura 26: Células Progenitoras Endoteliales (Pre op).** Antes de la cirugía, el porcentaje de EPC es mayor en los sujetos de menor peso (tercil 1 y 2) versus los de mayor peso, (tercil 3) ( $p=0,0002$ ).

**b. Modulación de las EPCs con el procedimiento quirúrgico.**

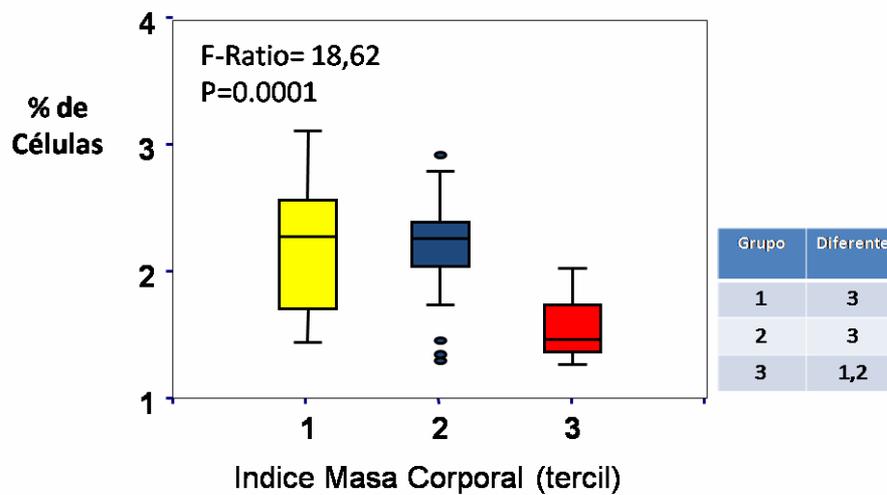
En el postoperatorio inmediato (**Post op**), los niveles de EPCs disminuyeron respecto a los obtenidos en el preoperatorio, en los tres grupos (tercil 1: 15,8±4%; tercil 2: 17,4±4,3% y tercil 3: 13,0±3,8%), siendo el grupo del tercil 3, los más obesos, los que tienen menos EPCs de forma significativa respecto al tercil 1 y al tercil 2 ( $p < 0,004$ ).

**Células Progenitoras Endoteliales (Post op)**

**Figura 27: Células Progenitoras Endoteliales (Post op).** En el postoperatorio inmediato, el porcentaje de EPC disminuye en los tres terciles, y es más bajo en los más obesos ( $p=0,004$ ).

Tres días después de la cirugía (**Post op3d**), se observó una tendencia a recuperar los niveles basales de EPCs en pacientes del tercil 1 y 2 (tercil 1:  $20,9 \pm 5,2\%$ ), (tercil 2:  $19,9 \pm 5,1\%$ ) pero en los pacientes del tercil 3 ( $12,6 \pm 4,3\%$ ) el número de EPC permaneció bajo de manera estadísticamente significativa ( $p < 0,0001$ ).

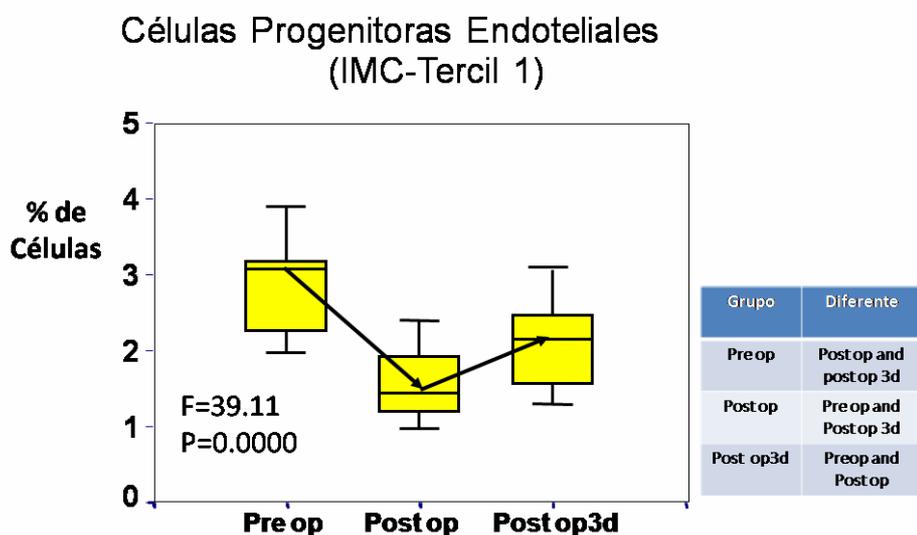
### Células Progenitoras Endoteliales (Post op3d)



**Figura 28: Células Progenitoras Endoteliales (Post op3d).** A los tres días de la cirugía (Post op3d), las EPCs aumentan, excepto en el tercil 3, donde permanecen bajas de forma significativa, respecto al resto de los grupos ( $p=0.0001$ ).

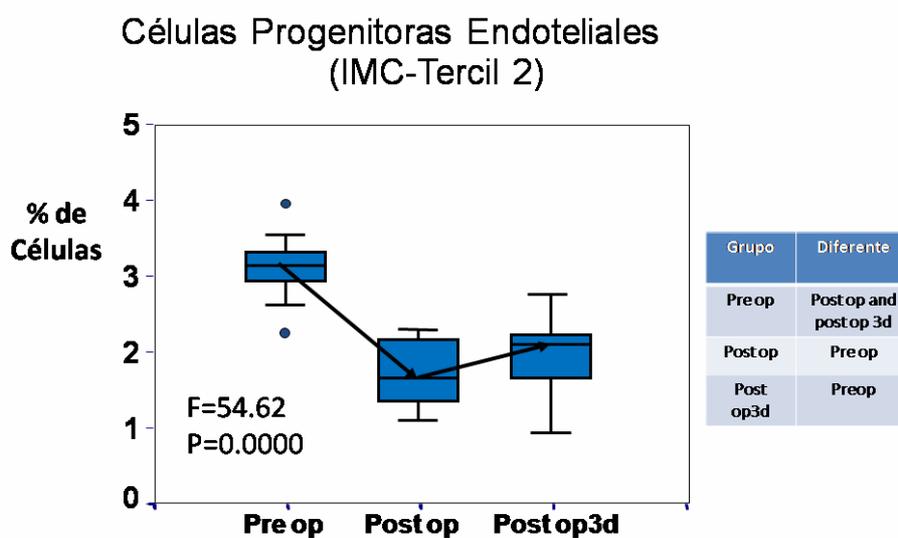
Posteriormente analizamos el número de EPCs en cada tercil a lo largo del tiempo, para valorar el efecto del acto quirúrgico sobre el número de las EPCs y la capacidad para recuperar cifras normales en un breve periodo de tiempo.

Los pacientes de menor peso (**Tercil 1**) presentan unos niveles basales de EPCs ( $28,6\pm 5\%$ ) elevados, estos disminuyen con el estrés quirúrgico ( $15,8\pm 4\%$ ) de forma significativa ( $0 < 0,001$ ), pero que tienden a recuperarse, aunque no totalmente, a los tres días de la cirugía ( $20,9\pm 5\%$ ). Los tres grupos son diferentes entre sí de forma significativa.



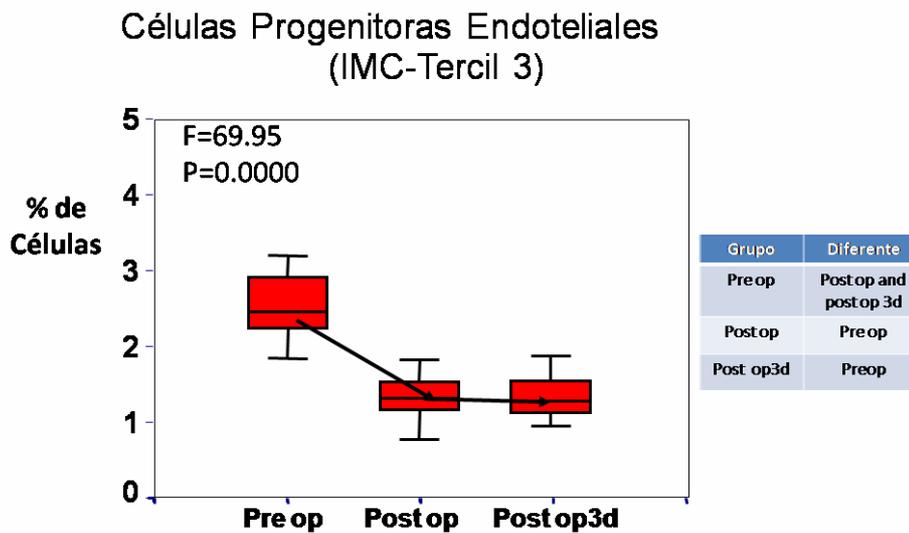
**Figura 29: Células Progenitoras Endoteliales (IMC-Tercil 1).** En los sujetos del tercil 1, las EPCs disminuyen con el estrés quirúrgico y a los tres días vuelven a subir. Los tres grupos son diferentes entre sí de forma significativa.

Con los pacientes del **Tercil 2** ocurre algo similar durante el experimento. Preoperatoriamente los niveles de EPC son mayores ( $31,2\pm 3,8\%$ ) que en el postoperatorio inmediato ( $17,4\pm 4,3\%$ ) y a los tres días de la cirugía ( $19,9\pm 5,1\%$ ) con una  $p < 0,001$ ; pero la recuperación de los niveles de EPC es menor. El número de EPCs en el post operatorio inmediato y en el post operatorio 3 días no son diferentes entre sí.



**Figura 30: Células Progenitoras Endoteliales (IMC-Tercil 2).** Los niveles de EPC en el tercil 2 bajan con la cirugía, pero no llegan a recuperar los niveles basales. ( $p < 0.001$ ).

En los pacientes de mayor peso (**Tercil 3**) los niveles de EPCs ( $25,3\pm 4\%$ ) nunca se recuperan tras la agresión quirúrgica, quedándose prácticamente iguales en el post operatorio inmediato ( $13,0\pm 3,8\%$ ) que cuando los determinamos 3 días después en el post operatorio ( $12,6\pm 4,3\%$ ). Sin embargo, el número de EPCs en el preoperatorio es distinto significativamente respecto al número de EPCs en el post op y en el post 3d ( $p<0,001$ ). (**Figura 31**)

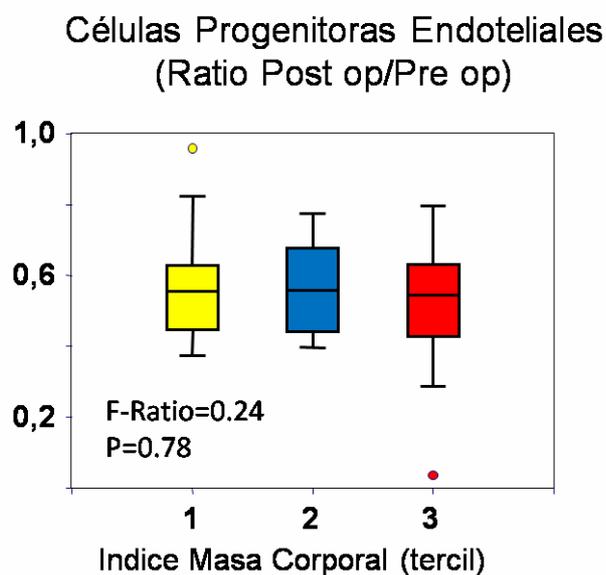


**Figura 31: Células Progenitoras Endoteliales (IMC-Tercil 3)** Las EPCs del tercil 3 decrecen con la cirugía de forma significativa ( $p<0,001$ ), pero permanecen bajas a los tres días del postoperatorio.

### c. Efecto del acto quirúrgico en las ratio de EPCs

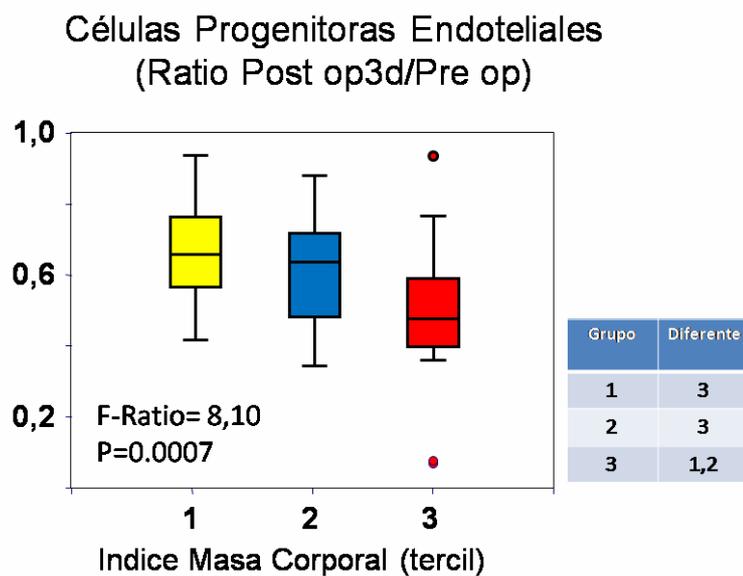
Para valorar mejor el efecto de la cirugía, se calculó la ratio del nº de EPCs postquirúrgicas respecto al nº de EPCs pre-quirúrgicas, en los tres grupos de terciles de peso.

En el postoperatorio inmediato (**Ratio Post op/Pre op**) la ratio Post op/Pre op es similar en los tres grupos de terciles, sin encontrar diferencias significativas (tercil 1:  $0,56\pm 0,1$ ; tercil 2:  $0,56\pm 0,1$ ; tercil 3:  $0,53\pm 0,2$ ).



**Figura 32: Células Progenitoras Endoteliales (Ratio Post op/Pre op).** El cociente entre los niveles de EPCs post operatorios y preoperatorios es igual en los tres grupos de IMC.

Pero a los tres días de la cirugía, en la ratio Post op3d/Pre op (**Células Progenitoras Endoteliales (Ratio Post op3d/Pre op)**), el grupo de enfermos con más IMC (tercil 3:  $0,52\pm 0,2$ ) tiene el número de EPCs significativamente más bajo ( $p < 0,0007$ ), que los grupos de menor peso (tercil 1:  $0,74\pm 0,2$ , tercil 2:  $0,64\pm 0,2$ ).

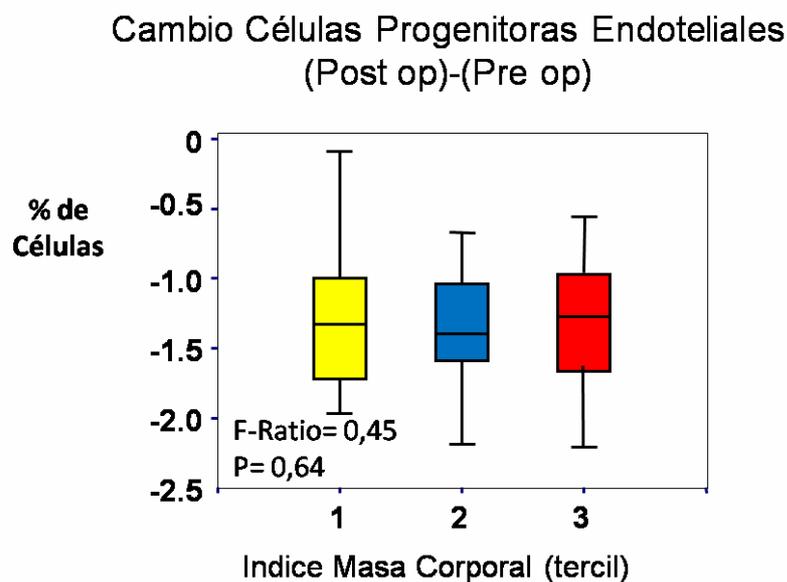


**Figura 33: Células Progenitoras Endoteliales (Ratio Post op3d/Pre op).** El cociente entre las EPCs a los tres días de la cirugía y los niveles preoperatorios, si disminuye en los sujetos más obesos (tercil 3) de forma significativa ( $p = 0,0007$ )

**d. Cambio en el porcentaje de EPCs a lo largo del proceso quirúrgico**

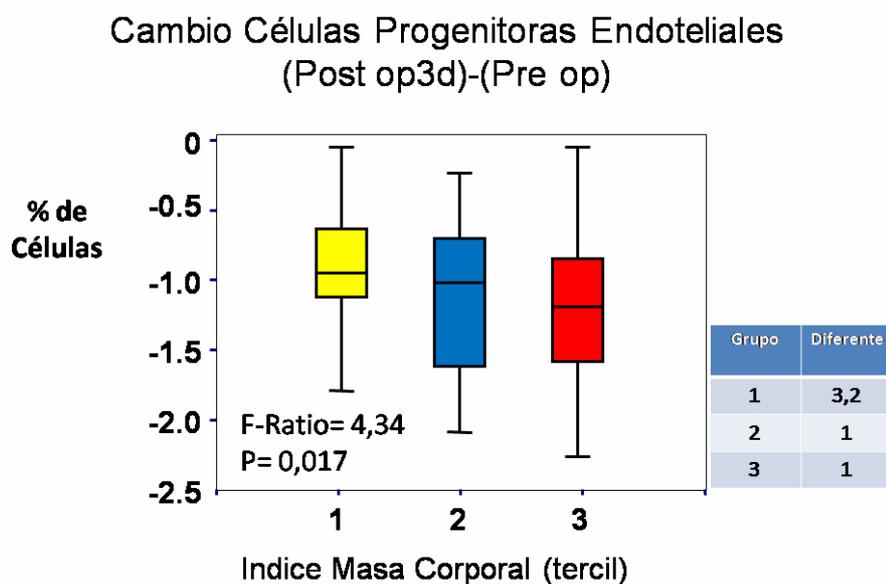
Siguiendo con la valoración del estrés quirúrgico, reflejamos la diferencia del número de EPCs postoperatorias con las EPCs basales o preoperatorias en los tres grupos de IMC.

En el postoperatorio inmediato (**Cambio Células Progenitoras Endoteliales (Post op)-(Pre op)**) hay menos EPCs en el tercil 3 ( $-12,2\pm 6,1\%$ ) que en los terciles 2 y 1 ( $-13,7\pm 3,8\%$  y  $-12,8\pm 4,8\%$ ), pero estas diferencias no son significativas ( $p < 0,64$ ).



**Figura 34: Cambio Células Progenitoras Endoteliales (Post op)-(Pre op).** La diferencia o cambio en el porcentaje de EPCs postoperatorias versus las preoperatorias, no es significativa en ninguno de los grupos de IMC.

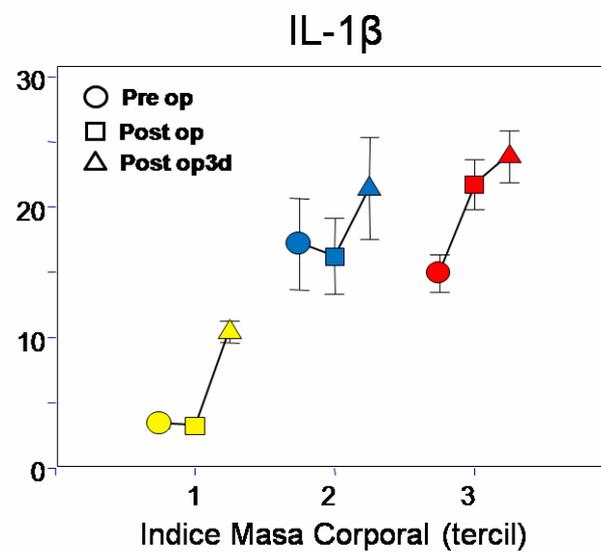
Sin embargo, tres días después de la cirugía (**Cambio Células Progenitoras Endoteliales (Post pos3d)-(Pre op)**) estas diferencias si son significativas y el grupo del tercil 1 ( $-7,7 \pm 5,4\%$ ) es diferente respecto al tercil 2 ( $-11,2 \pm 5,3\%$ ) y al tercil 3 ( $-12,6 \pm 6,4\%$ )  $p < 0,017$ .



**Figura 35: Cambio Células Progenitoras Endoteliales (Post pos3d)-(Pre op).** La diferencia de EPC a los tres días de la cirugía, respecto a los niveles basales, si es diferente en el tercil de menor peso respecto a los dos otros grupos (tercil 2 y tercil 3).  $P=0,017$ .

#### **4. Concentración de citoquinas proinflamatorias, antiinflamatorias y adiponectina.**

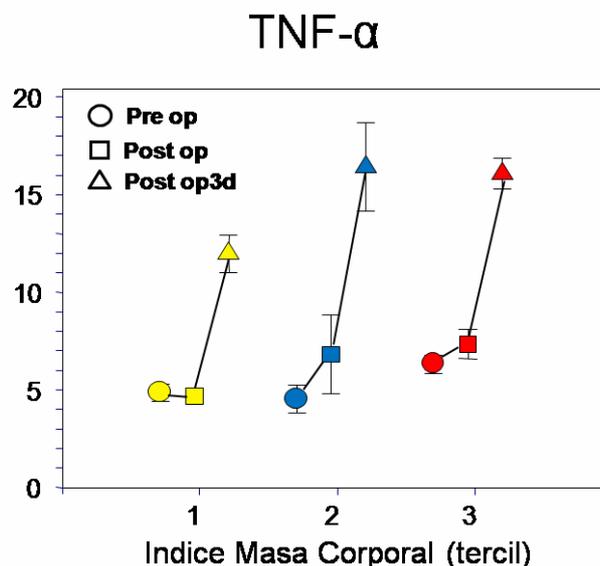
En la determinación de IL-1 $\beta$  (**figura 36**) realizada previamente a la cirugía, se observó que los pacientes con menor IMC (tercil 1: 3,4 $\pm$ 1,1 pg/ml) tuvieron menor concentración de IL-1 $\beta$  que los pacientes en tercil 2 y tercil 3 (tercil 2: 17,2 $\pm$ 7,8 pg/ml; tercil 3: 14,9 $\pm$ 4,8 pg/ml); con una significación estadística de  $p < 0,00003$ . Tres días después de la cirugía, la IL-1 $\beta$  se encuentra elevada en el tercil 1 (10,4 $\pm$ 2,4 pg/ml) en comparación con el preoperatorio y con el postoperatorio inmediato ( $p < 0,0001$ ). En el tercil 2 no hay un incremento significativo de los valores de IL-1 $\beta$  (21,4 $\pm$ 8,7 pg/ml) en relación a los niveles previos. Sin embargo, en el tercil 3 aumentó la IL-1 $\beta$  en el postoperatorio inmediato (21,4 $\pm$ 8,7 pg/ml) y a los tres días del postoperatorio (23,9 $\pm$ 6,6 pg/ml)  $P < 0.004$ .



**Figura 36: IL-1 $\beta$ .** Representamos los niveles de IL-1 $\beta$  en los tres grupos de peso (Tercil 1=amarillo, Tercil 2=azul y Tercil 3=rojo), y a lo largo del tiempo del experimento. En el tercil 1, los niveles de IL- $\beta$  se encuentran elevados a los tres días de la cirugía de forma significativa, aunque preoperatoriamente son los niveles más bajos. El tercil 2, sus cambios no son significativos. El tercil 3, el incremento es significativo inmediatamente después de la cirugía.

En relación a la concentración de la **citoquina TNF $\alpha$**  (**fig. 37**), en el preoperatorio no se encontraron diferencias significativas entre el tercil 1 ( $4,9\pm 1,3$  pg/ml) y el tercil 2 ( $4,6\pm 1,6$  pg/ml); sin embargo en el tercil 3 la concentración de TNF $\alpha$  fue mayor que en los otros dos grupos ( $6,4\pm 1,5$  pg/ml,  $p<0,05$ ). Tras la cirugía, los valores del TNF $\alpha$  no sufrieron cambios significativos en el postoperatorio inmediato respecto del tercil 1 ( $4,8\pm 1,1$  pg/ml), tercil 2 ( $6,9\pm 4,5$  pg/ml) y tercil 3 ( $7,4\pm 2,5$  pg/ml).

A los tres días de la cirugía, las concentraciones de TNF $\alpha$  se incrementan significativamente respecto a los niveles basales y del postoperatorio inmediato en los tres grupos: tercil 1 ( $12\pm 2,7$  pg/ml),  $p<0,00001$  vs valores previos; tercil 2 ( $16,5\pm 5$  pg/ml),  $p<0,001$ ; y tercil 3 ( $16,1\pm 2,6$  pg/ml),  $p<0,00001$ .

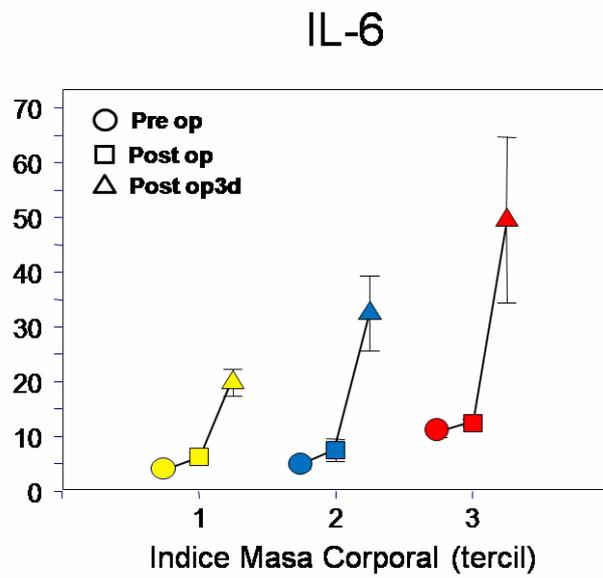


**Figura 37: TNF- $\alpha$ .** Los niveles de TNF- $\alpha$  en los tres grupos de peso o terciles, se mantienen parecidos a los basales en el postoperatorio inmediato, siendo su incremento no significativo; pero aumentan con alta significación estadística a los tres días de la cirugía en todos los terciles,  $p<0,001$

**La interleuquina-6 (fig. 38)** tiene un comportamiento similar al TNF $\alpha$  con el estímulo quirúrgico, pero en su determinación basal ya presenta diferencias significativas entre los dos primeros terciles de peso (tercil 1:  $3,8\pm 0,9$  pg/ml), (tercil 2:  $4,7\pm 1,4$  pg/ml), y el tercil 3 ( $11\pm 3,7$  pg/ml);  $p < 0,00001$ .

En el grupo del tercil 1 la IL-6 aumenta con el estímulo quirúrgico, (preop:  $3,8\pm 0,9$  pg/ml), (postop inmediato:  $6,2\pm 3,5$  pg/ml) siendo significativo el incremento a los tres días de la cirugía (postop 3 días:  $19,8\pm 7$  pg/ml)  $p < 0,00001$ .

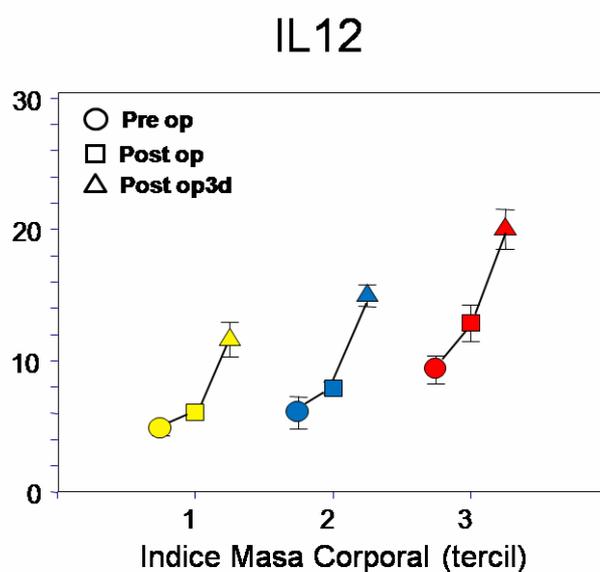
En el tercil 2 se repite este patrón de comportamiento, aumentando con una  $p < 0,0008$ , a los tres días de la cirugía, la IL-6 de los pacientes (postop 3 días:  $32,5\pm 15$  pg/ml vs post inmediato:  $7,5\pm 4,6$  pg/ml; preop:  $4,7\pm 1,4$  pg/ml). De forma similar, en el grupo del tercil 3, la IL-6 sube con el estímulo quirúrgico, siendo significativo a los tres días de la cirugía (IL-6:  $49,5\pm 50$  pg/ml) respecto al tiempo preoperatorio ( $11\pm 3,7$  pg/ml) y al postoperatorio inmediato ( $12,4\pm 2,1$  pg/ml),  $p < 0,005$ .



**Figura 38: Interleuquina 6.** La IL-6 muestra niveles basales similares en los terciles 1 y 2 pero en el tercil de mayor peso, tercil 3, está incrementada de forma significativa,  $p < 0,00001$ . A los tres días de la cirugía la IL-6 aumenta en los tres grupos de peso,  $p < 0,005$ .

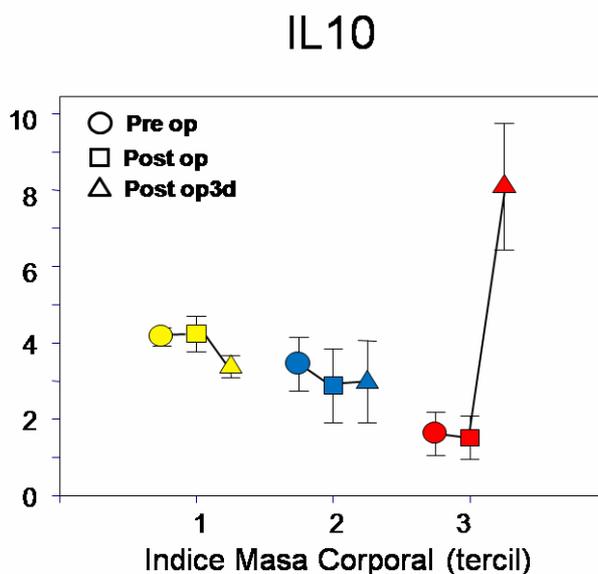
**La Interleuquina- 12 (IL-12) (figura 39)** se encuentra incrementada de forma significativa en los pacientes más obesos (tercil 1:  $4,8 \pm 1,6$  pg/ml), (tercil 2:  $6 \pm 2,7$  pg/ml), (tercil 3:  $9,3 \pm 3,5$  pg/ml)  $p < 0,007$ .

Con la cirugía, los pacientes del tercil 1 muestran un aumento de IL-12 solo significativo a los tres días de la cirugía,  $p < 0,00004$  (preop:  $4,8 \pm 1,6$  pg/ml; postop inmediato:  $6,1 \pm 1,7$  pg/ml; postop 3 días:  $11,6 \pm 3,6$  pg/ml). En el tercil 2, ocurre lo mismo, y en tiempo postop de 3 días, el incremento de IL-12 es significativo;  $p < 0,00002$  (preop:  $6 \pm 2,7$  pg/ml; postop inmediato:  $7,9 \pm 1$  pg/ml; postop 3 días:  $15 \pm 1,8$  pg/ml). Con el tercil 3, la IL-12 se incrementa entre el preop ( $9,3 \pm 3,5$  pg/ml) y el postop inmediato ( $12,9 \pm 4,5$  pg/ml) casi 4 puntos, pero solo el aumento a los tres días ( $20 \pm 5$  pg/ml) tiene significación estadística,  $p < 0,00001$ .



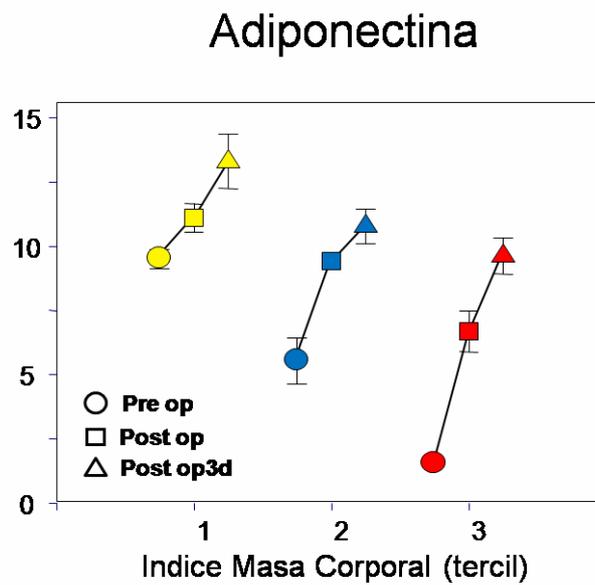
**Figura 39: Interleuquina 12.** La IL-12 muestra un comportamiento similar a las otras citoquinas proinflamatorias, estando incrementada en los sujetos con más peso ( $p < 0,007$ ) y a los tres días de la cirugía, en los tres grupos de peso ( $p < 0,0001$ ).

Resultados opuestos se obtuvieron cuando cuantificamos la concentración de **IL10 (figura 40)**. Una disminución significativa ( $p < 0,005$ ) de esta citoquina se encontró en los pacientes más obesos, tercil 3 ( $1,6 \pm 1,8$  pg/ml), en relación a los del tercil 1 ( $4,1 \pm 0,7$  pg/ml) y tercil 2 ( $3,4 \pm 1,6$  pg/ml). Cuando se sometieron a la cirugía, los pacientes menos obesos, tercil 1, mantuvieron sus niveles de IL-10, igual que los del tercil 2. Pero en los pacientes del tercil 3 se incrementó la IL-10 de forma significativa,  $p < 0,0001$ , a los tres días de la cirugía ( $8,1 \pm 5,5$  pg/ml) respecto al preoperatorio ( $1,6 \pm 1,6$  pg/ml) y postoperatorio inmediato ( $1,5 \pm 1,9$  pg/ml).



**Figura 40: Interleuquina 10.** Citoquina antiinflamatoria que se encuentra en menor cantidad en sujetos más obesos (tercil 3), pero que aumenta a los tres días de la cirugía en estos mismos sujetos del tercil 3,  $p < 0,0001$ .

Igualmente, la concentración de **adiponectina (figura 41)** está basalmente disminuida en pacientes del tercil 3 con más peso ( $1,5 \pm 0,5$  pg/ml), en relación al tercil 2 ( $5,5 \pm 2$  pg/ml) y al tercil 1 ( $9,5 \pm 1,1$  pg/ml) con menos peso; siendo los tres grupos diferentes entre sí. ( $p < 0,0001$ ). En el grupo del tercil 1, la adiponectina (preop:  $9,5 \pm 1,1$  pg/ml) se incrementa con el procedimiento quirúrgico (post:  $11,1 \pm 1,6$  pg/ml), siendo el postoperatorio a los tres días ( $13,3 \pm 3$  pg/ml) diferente las anteriores determinaciones ( $p < 0,005$ ). Con el tercil 2, la adiponectina vuelve a incrementarse con la intervención quirúrgica ( $p < 0,0003$ ), pero el aumento es más significativo inmediatamente después de la operación (preop:  $5,5 \pm 2$  pg/ml), (post op inmediato:  $9,4 \pm 0,5$  pg/ml), (post op 3 días:  $10,8 \pm 1,5$  pg/ml). En el tercil 3, con más peso, el incremento es muy significativo ( $p < 0,0001$ ), siendo los tres grupos diferentes entre sí (preop:  $1,5 \pm 0,5$  pg/ml), (post op inmediato:  $6,7 \pm 2,6$  pg/ml), (post op 3 días:  $9,6 \pm 2,3$  pg/ml).



**Figura 41: Adiponectina.** Se encuentra elevada de forma significativa en los sujetos de menor peso y disminuye con la obesidad ( $p < 0,0001$ ). Con la cirugía, la adiponectina se incrementa de forma significativa en los tres grupos de peso, y en los dos momentos de la cirugía, post inmediato y post de tres días ( $p < 0,0001$ ).



---



# **CONCLUSIONES**



## CONCLUSIONES

1. Las micropartículas endoteliales (MPE), que se producen como consecuencia de la activación o daño celular, están elevadas en los pacientes más obesos respecto a los menos obesos.
2. El nº de MPE se incrementa a lo largo del procedimiento quirúrgico en todos los grupos de pacientes.
3. Los pacientes más obesos, tuvieron una capacidad relativa inferior a los otros grupos para producir MPE en respuesta a un estrés quirúrgico.
4. Después de tres días del acto quirúrgico los pacientes recuperaron las cifras basales de MPE, salvo el grupo con mayor índice de masa corporal (IMC), donde permanecieron elevadas.
5. Las células progenitoras endoteliales (EPCs), que representan un marcador de la capacidad de reparación del endotelio, se encuentran disminuidas en los pacientes más obesos.
6. El procedimiento quirúrgico produce una disminución significativa de las EPCs.
7. A los tres días de la intervención quirúrgica, los niveles de EPCs vuelven a subir salvo en los pacientes más obesos.

8. Los sujetos con más obesidad, tienen reducida su capacidad de producción de EPCs a pesar del estrés quirúrgico.
9. Los pacientes con mayor IMC tienen mayor concentración de citoquinas proinflamatorias (IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IL-6, IL-12) en sangre periférica.
10. Ante una situación de estrés quirúrgico, se incrementa la concentración de citoquinas proinflamatorias, siendo mayor esta concentración después de 3 días del procedimiento quirúrgico.
11. La IL-10, una citoquina antiinflamatoria, se encuentra disminuida en los sujetos más obesos.
12. Como consecuencia del acto quirúrgico, la IL-10 disminuye. En el grupo de pacientes más obesos la IL-10 aumenta a los 3 días de postoperatorio.
13. La adiponectina, una adipocitoquina que se encuentra decrecida en la obesidad, se incrementó como consecuencia del procedimiento quirúrgico, alcanzando los niveles mayores después de 3 días de la intervención quirúrgica.
14. Los pacientes con mayor IMC tienen más cantidad de citoquinas proinflamatorias y menor concentración de citoquinas antiinflamatorias como IL 10 o adiponectina.
15. Ante una situación de estrés quirúrgico, los pacientes más obesos tienen una respuesta diferente a los sujetos con menor

IMC, sufriendo un retardo en el sistema de reparación del endotelio.

16. Los niveles de MPE y de EPC pueden utilizarse para valorar el grado de daño endotelial en pacientes obesos, considerándose factores independientes en la valoración del paciente antes y durante el procedimiento quirúrgico.





---



## **DISCUSIÓN**



En el presente estudio hemos observado que en los pacientes obesos los niveles de micropartículas endoteliales (MPE) están elevados respecto a los pacientes con menor peso corporal. Cuando los pacientes se someten a un procedimiento quirúrgico, el número de MPE se incrementó en pacientes con menor índice de masa corporal (IMC) (tercil 1), para posteriormente recuperar niveles similares a los encontrados en la situación basal. Hemos encontrado que, en los pacientes con mayor IMC, se produjo un mayor número de MPE en el postoperatorio inmediato; sin embargo, después de tres días de la cirugía, las cifras basales de MPE no se recuperaron, a diferencia de lo que se observó en pacientes con menor IMC. En el análisis sobre los cambios relativos en el nº de MPE entre los diferentes grupos, se observó que los terciles 1 y 2 (menos obesos) desarrollan cambios en el nº de MPE de forma similar. Sin embargo, los pacientes obesos (tercil 3) mostraron una capacidad relativa inferior a los otros dos grupos para producir MPE en respuesta a un estrés quirúrgico.

Uno de los primeros estadios de la enfermedad cardiovascular es la alteración morfológica y funcional del endotelio. Diferentes estudios han demostrado que las MPE se producen a partir de células activadas o que sufren daño y/o apoptosis de la célula endotelial. Existen numerosos trabajos donde se ha demostrado que las MPE se encuentran elevadas en condiciones de pérdida de células endoteliales, como consecuencia de procesos inflamatorios, o en asociación a traumatismo vascular (40, 157-159). Esta situación de incremento de las MPE se ha relacionado además con el desarrollo de aterogénesis (33, 37). Muchos de estos estudios realizados previamente, coinciden en que uno de los marcadores que pueden reflejar un daño del endotelio vascular es el

aumento del número de MPE en el plasma, aportando un valor añadido a los criterios clínicos y de laboratorio que actualmente se utilizan.

En nuestro estudio, hemos encontrado que los pacientes con mayor IMC tuvieron un incremento significativo en el número de MPE. Existen pocos trabajos en los que se relacione el número de MPE con la obesidad. Espósito y cols., describieron en mujeres obesas (41) un aumento de MPE que se correlaciona con la disfunción endotelial. Otro estudio realizado igualmente en mujeres obesas (>40 IMC) sin factores de riesgo añadidos como diabetes, ha relacionado un incremento de micropartículas (MP) con obesidad, aunque en este caso analizaron MP con actividad procoagulante que, en principio, podrían no estar originadas a partir de células endoteliales sino de plaquetas (160). En otros estudios realizados en patologías asociadas con un peso elevado, como el síndrome metabólico, diabetes y la apnea obstructiva del sueño (OSA), se ha encontrado también una elevación de MPE (160-165); los autores de estos trabajos incluyeron en su discusión que todos estos cuadros se encontraban asociados a una gran diversidad de situaciones de incremento de riesgo vascular. Además, la reducción en micropartículas después de la cirugía bariátrica en pacientes obesos con diabetes mellitus tipo 2 puede relacionarse con una atenuación de la inflamación (189). Al igual que en estos estudios previos, en nuestro trabajo la asociación entre obesidad y número de MPE fue un hallazgo independiente de evidencia clínica e instrumental de la enfermedad cardiovascular. Existen algunas discrepancias en cuanto a los resultados obtenidos por los diferentes autores, que pueden deberse simplemente a la diversidad técnica para identificar las MPE, ya que cada grupo incluye moléculas diferentes para definir las MPE. Nosotros, como otros grupos (32, 160), utilizamos una muestra de MPE pobre en plaquetas en la que se analiza la unión de Annexina V a las moléculas de fosfatidilserina, lo cual

que demostraría el característico cambio de polarización de las membranas plasmáticas. La técnica que utilizamos nosotros, incorpora en las mismas células, la determinación de la expresión de la molécula CD31 para identificar el origen endotelial. En definitiva, la elaboración de protocolos estandarizados para la cuantificación de las MPE es una condición necesaria para establecer de forma definitiva su interés como marcadores clínicos y de pronóstico.

En relación a la valoración de la obesidad, existen muchos criterios para establecer los diferentes grados. Nosotros utilizamos el IMC como parámetro determinante de la obesidad, a diferencia de otros autores que encontraron mayor asociación entre el incremento de MPE con el cociente cintura – cadera (ICC) elevado (41). Nuestra limitación fue que la mayor parte de nuestros pacientes tenía escasa movilidad, imposibilitando la medición de otros parámetros antropométricos.

Una de las aportaciones más interesantes de nuestro estudio es que, ante un stress quirúrgico, el número de MPE se incrementó en el momento de la cirugía, para posteriormente retornar a los niveles basales en los pacientes menos obesos. Nuestros resultados son probablemente el reflejo de una situación de estrés agudo intrínseca al acto quirúrgico que pone en marcha una activación y/o apoptosis del endotelio vascular, lo cual se traduce en un incremento en el nº de MPE. No hemos encontrado estudios similares que analicen las MPE en pacientes sometidos a cirugía. Otros autores han demostrado que las MPE se incrementan ante un estrés agudo como es la isquemia reperfusión (166). De acuerdo con estos autores, nosotros pensamos que el incremento de MPE inmediatamente después de la cirugía, puede reflejar el proceso agudo de daño endotelial que origina una respuesta inflamatoria sistémica, que en condiciones normales debe ser

restablecida al cabo de poco tiempo. Sin embargo, en los pacientes con mayor IMC, después de tres días de la cirugía, no se recuperaron los niveles de MPE de origen a diferencia de lo que ocurre con los pacientes menos obesos (terciles 1 y 2); y resulta interesante profundizar en la razón de esta observación. En nuestra opinión, existiría una capacidad limitada de las células endoteliales para liberar MPE, y si esta hipótesis fuera cierta, estos resultados podrían estar reflejando la imposibilidad de las células endoteliales de los pacientes obesos para responder ante la agresión, en este caso concreto, debida al estrés quirúrgico.

Observamos que en realidad, el estrés quirúrgico tiene un efecto reducido sobre la capacidad de producción de MPE, y que existe una respuesta proporcional o similar entre los diferentes grupos de pacientes analizados. No es el caso de los pacientes muy obesos (tercil 3) que, de forma paradójica, tienen una capacidad relativa disminuida para producir MPE si analizamos el ratio o la diferencia entre la situación basal con el postoperatorio inmediato. La explicación a estas observaciones está en que se parte de un número de MPE incrementado y la capacidad de producción de MPE está relativamente mantenida en los enfermos cuando se someten a estrés quirúrgico.

Existe una gran controversia en cuanto al significado biológico de la presencia de niveles elevados de MP en las diferentes enfermedades. Por un lado, las MPE están presentes en la sangre de pacientes con diversas patologías, fortaleciendo la idea de que pueden desempeñar un papel en el desarrollo de ciertas enfermedades. Diferentes teorías explican este incremento de MPE en sangre periférica. En primer lugar, podrían comportarse como efectores biológicos causales de ciertas enfermedades (167). Alternativamente, otros estudios indican que las MPE son en realidad una consecuencia de la enfermedad en la que se describen (168). En definitiva, y de manera independiente de la causa de

la elevación de las MPE en las diferentes enfermedades, actualmente se están desarrollando numerosas estrategias orientadas a utilizarlas como dianas terapéuticas, valorando la capacidad de modulación de estas MPE con diferentes terapias (169-170). Adicionalmente a estas hipótesis sobre el papel fisiopatológico de las MPE, existen estudios que indican que las MP tienen un efecto protector sobre las células endoteliales, e incluso se ha postulado que se podrían utilizar como un nuevo enfoque terapéutico contra la disfunción endotelial (171-172).

Una nueva función para las MP se ha definido más recientemente, y es la de transportar y transferir información genética entre células (190). Efectivamente, se ha encontrado que tanto mRNA como microRNA (miRNA) pueden transportarse dentro de exosomas o MP. Por tanto las MP pueden además estar implicadas en señales específicas postrascricpcionales encaminadas a determinadas funciones fisiológicas de las células.

Otro de los posibles mecanismos que pueden intervenir en el daño del endotelio es una ineficacia en el sistema de reparación del mismo, que normalmente es llevado a cabo por la acción de células progenitoras reparadoras (EPCs) que se encuentran circulando en sangre periférica y que son capaces de diferenciarse hacia células endoteliales maduras para restaurar la integridad vascular. Los niveles de EPCs fueron menores en los pacientes más obesos que en pacientes menos obesos. En nuestro estudio, el número de EPCs disminuyó en todos los pacientes a lo largo del procedimiento quirúrgico, para posteriormente recuperar niveles similares a los encontrados en la situación basal. Esta recuperación de los niveles basales de EPCs después de tres días de la cirugía, no se observó en los pacientes más obesos.

Actualmente, se sabe que el endotelio esta continuamente siendo reparado ante las continuas agresiones a las que está sometido. De hecho, las células EPCs cuyo reservorio está mayoritariamente en la médula ósea, se movilizan frente a diversos estímulos en la circulación para contribuir al proceso neoangiogénico o para reparar el endotelio dañado. Nuestros resultados indican que los pacientes obesos (con mayor IMC, tercil 3) presentan un número de EPCs significativamente inferior a los pacientes con menor peso. Otros autores han mostrado que los niveles de EPCs se relacionan inversamente con el IMC y con la circunferencia de la cintura (173). En enfermedades frecuentes en pacientes obesos, se ha observado que existe una relación entre niveles bajos de EPCs circulantes y la progresión de enfermedad arteriosclerótica (174-177). El grupo de *Ciuceis* (191) además de documentar que el número de EPC se encuentra reducido significativamente en los pacientes obesos, encontraron que la pérdida de peso pronunciada inducida por la cirugía bariátrica parece inducir una mejora significativa del número de EPC. Además, recientemente se ha demostrado que las EPCs en pacientes obesos tienen propiedades funcionales disminuidas en relación a sujetos con peso normal o bajo peso (156,178). En otros procesos de tipo inflamatorio, nuestro grupo ha señalado igualmente no solo la importancia en el número de EPCs sino en la alteración de la función de las mismas en la alteración de la reparación del endotelio (40).

Sin embargo, en personas obesas no se ha estudiado como se modifican las EPCs como consecuencia de un procedimiento quirúrgico. En nuestro estudio hemos observado que en el postoperatorio inmediato ocurre una disminución significativa de las EPCs que, salvo en el grupo con mayor índice de masa corporal, va incrementándose tendiendo a una recuperación en los siguientes días. En laparotomía quirúrgica por

neoplasias o cirugía abdominal por otras causas, otros autores han demostrado que tras el postoperatorio se produce un incremento de EPCs (179); o después de cirugía cardíaca se ha encontrado un incremento de la actividad funcional de EPCs (180). Como hemos comentado, en personas obesas nuestros hallazgos son diferentes. De hecho, en pacientes obesos moderados (tercil 2), después de tres días del postoperatorio, observamos cierta recuperación de las cifras de EPCs, pero sin regresar a la situación basal. Sin embargo, en pacientes obesos mórbidos en el tercil 3 el número de EPCs disminuye pero no recupera los porcentajes basales después de tres días. Estos resultados sugieren que los sujetos con mayor obesidad tienen reducida su capacidad de producción de EPCs, y este hecho podría estar contribuyendo a la mayor incidencia de complicaciones vasculares.

Parece bastante probable que el estado inflamatorio crónico mantenido asociado con la obesidad sea el responsable del desbalance entre el daño y la reparación del endotelio vascular, y que sea uno de los mecanismos responsables de la desregulación endotelial en obesos. De hecho, existen numerosos trabajos en la literatura que sugieren que tanto la liberación de MPE como la capacidad para producir EPCs, están modulados tanto por factores angiogénicos como de tipo inflamatorio (181). En modelos *in vitro*, las MPE son capaces de activar directamente y estimular las células dendríticas para producir mediadores de la inflamación como citoquinas (182). En estudios en animales de laboratorio (183), se ha demostrado que las EPCs se movilizan rápidamente después de un trauma vascular en respuesta a los niveles circulantes del factor de crecimiento derivado del endotelio (VEGF), contribuyendo a la revascularización del tejido dañado. Así mismo, se ha demostrado que citoquinas proinflamatorias como interleucina-1 (IL1) participan en el reclutamiento de EPCs y en el mecanismo de atracción al

tejido isquémico (184,185). Además de las citocinas, existen otros factores que pueden intervenir regulando la movilización de EPCs como las moléculas de adhesión, como ICAM-1/CD18 y las integrinas (186-188). En resumen existen en la literatura evidencias claras sobre como una respuesta inflamatoria transitoria restringida puede constituir un estímulo para la movilización de EPC. Sin embargo, se conoce muy poco sobre el efecto que pueda tener una situación inflamatoria persistente o excesiva, como es el caso de la obesidad, sobre el sistema de reparación vascular. Por ello hemos analizado en el suero de los pacientes obesos sometidos a cirugía las concentraciones de citocinas y adipocitocinas. Nuestros resultados mostraron que todas las citocinas analizadas se modularon después del procedimiento quirúrgico. De forma notable en respuesta a la cirugía, se encontró un incremento de TNF $\alpha$  en pacientes del grupo del tercil 2. Además en los pacientes con mayor IMC, se encontraron incrementadas las concentraciones de IL1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IL12 y adiponectina. Es posible que esta concentración elevada de citocinas sea el reflejo de un estado inflamatorio que se encuentre relacionado con las alteraciones que hemos observado en los niveles de MPE y de EPCs y en la alteración de la capacidad para recuperar el estado previo a la cirugía. Por otro lado, después de tres días de la cirugía, hemos observado un incremento generalizado de todas las citocinas, incluyendo la IL10 sólo en el grupo de los más obesos, lo cual podría estar determinado por el estrés quirúrgico. Nuestra opinión es que la obesidad per sé está provocando una situación de inflamación mantenida que produce alteraciones en la regulación del sistema de daño / reparación del endotelio vascular. Ante una situación de estrés, como es el caso de la cirugía, la incidencia de sobrepeso puede tener consecuencias nocivas. De hecho nuestros resultados pueden estar reflejando un agotamiento de la reserva de células progenitoras disponibles en médula ósea, y en consecuencia, no hay suficientes EPC funcionales para poder

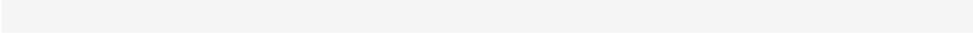
regenerar el endotelio lesionado. El resultado sería en este caso una disminución de EPC en la circulación. Es por ello que, en nuestro estudio lo que observamos es un incremento de citocinas, incluida la adiponectina que intenta poner en marcha el sistema de reparación pero que como hemos observado en nuestros resultados no es posible de lograr.

Se sabe que en sujetos sanos con peso normal el tejido adiposo perivascular ejerce un efecto anticontractil en las pequeñas arterias adyacentes que se pierde en condiciones asociadas con la obesidad tales como por ejemplo en el síndrome metabólico y la diabetes tipo II donde hay evidencias de inflamación y aumento de estrés oxidativo. Recientemente se ha demostrado que la adiponectina secretada por los adipocitos funciona como un modulador fisiológico del tono vascular local aumentando la biodisponibilidad del óxido nítrico (192). Esta capacidad se pierde en la obesidad porque se desarrolla una hipertrofia de adipocitos, que conlleva hipoxia, inflamación y estrés oxidativo. En otro estudio realizado por el mismo grupo de investigadores en sujetos obesos sometidos a cirugía bariátrica (193) se comprobó como la actividad anticontractil del tejido adiposo perivascular se encontró disminuida en los pacientes obesos antes de la cirugía en comparación con los voluntarios sanos, restaurándose 6 meses después de la cirugía bariátrica. Por tanto, existen suficientes evidencias de que la corrección de la obesidad puede mejorar los parámetros relacionados con la inflamación y el daño endotelial que hemos cuantificado en nuestro estudio.

En definitiva, en pacientes obesos existe un estado inflamatorio mantenido que se manifiesta por un incremento de citocinas proinflamatorias y disminución de citocinas antiinflamatorias y

adiponectina. Esta situación puede estar induciendo un incremento del daño del endotelio y un fallo en el sistema de reparación del mismo. Ante una situación de estrés quirúrgico, los pacientes con mayor IMC tienen una respuesta diferente a los sujetos con menor peso, sufriendo un retardo en el sistema de reparación del endotelio.

En definitiva nuestros resultados, avalados por las publicaciones previas de otros investigadores, confirman la importancia de mantener una actitud activa y alerta frente al problema de la obesidad como causa de incremento del riesgo cardiovascular previamente a un acto quirúrgico.









---



# **BIBLIOGRAFÍA**



1. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. *World Health Organ Tech Rep Ser.* 2000; 894:1-253.
2. Mokdad AH, Marks JS, Stroup DF, et al. Actual causes of death in the United States, 2000. *JAMA.* 2004; 291:1238-1264
3. Poirier P, Giles TD, Bray GA, Hong Y, Stern JS, Pi-Sunyer, Eckel RH. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss: an update of the 1997 American Heart Association scientific statement on obesity and heart disease from the Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. *Circulation.* 2006; 113:898-918.
4. McInnis KJ, Franklin BA, Rippe JM. Counselling for physical activity in overweight and obese patients. *Am Fam Physician.* 2003; 67:1249-1256.
5. Fontaine KR, Redden DT, Wang C, Westfall AO, Allison DB. Years of life lost due to obesity. *JAMA.* 2003; 289:187-193.
6. Standards Committee, American Society for Bariatric Surgery. Guidelines for reporting results in bariatric surgery. *Obes Surg.* 1997; 7:521-522.
7. Sturm R. Increases in clinically severe obesity in the United States, 1986-2000. *Arch Intern Med.* 2003; 163:2146-2148.

8. Lotia S, Bellamy MC. Anaesthesia and Morbid Obesity. *Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care & Pain*. 2008; 8(5):151-156.
9. Aranceta J, Serra L, et al. Prevalencia de la obesidad en España: resultados del estudio SEEDO 2000. *Med Clin*. 2003; 120; 16:688-12.
10. Sanz Fernández FJ, Garutti Martínez I, de la Gala García FA. *Esquemas de valoración anestésica preoperatoria*. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. 2008; 213.
11. Kopelman PG. Obesity as a medical problem. *Nature*. 2000; 404:635-643.
12. Murphy PG. Obesity. In: *Foundations of Anaesthesia, Basic and Clinical Sciences*-Hemmings HC Jr, Hopkins PM, eds. 2000. London: Mosby. 703-11.
13. Must A, Spadano J, Coakley EH, Field AE, Colditz G, Dietz WH. The disease burden associated with overweight and obesity. *JAMA*. 1999; 282:1523-9.
14. Wigfiel CH, Lindsey JD, Muñoz A, Chopra PS, Edwards NM, Love RB. Is extreme obesity a risk factor for cardiac surgery? An analysis of patients with a BMI>40. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery*. 2006; 29:434-440.
15. Esposito K, Pontillo A, Di Palo C, Giugliano G, Masella M, Marfella R, Giugliano D. Effect of weight loss and lifestyle changes on vascular inflammatory markers in

- obese women: a randomized trial. *JAMA*. 2003; 289:1799-1804.
16. Alpert MA. Obesity cardiomyopathy: pathophysiology and evolution of the clinical syndrome. *Am J Med Sci*. 2001; 321:225-236.
  17. Wong CY, O'Moore-Sullivan T, Leano R, Byrne N, Beller E, Marwick TH. Alterations of left ventricular myocardial characteristics associated with obesity. *Circulation*. 2004; 110:3081-3087.
  18. Poirier P, Martin J, Marceau P, Biron S, Marceau S. Impact of bariatric surgery on cardiac structure, function and clinical manifestations morbid obesity. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2004; 2:193-201.
  19. Alpert MA, Terry BE, Mulekar M, Cohen MV, Massey CV, Fan TM, Panayiotou H, Mukerji V. Cardiac morphology and left ventricular function in normotensive morbidly obese patients with and without congestive heart failure, and effect of weight loss. *Am J Cardiol*. 1997; 80:736-740.
  20. Livingston EH, Langert J. The impact of age and Medicare status on bariatric surgical outcomes. *Arch Surg*. 2006; 141:1115-1120.
  21. McCullough PA, Gallagher MJ, DeJong AT, Sandberg KR, Trivax JE, Alexander D, Kasturi G, Jafri SM, Krause KR, Chengelis DL, Moy J, Franklin BA. Cardiorespiratory fitness and short-term complications after bariatric surgery. *Chest*. 2006; 130:517-525.

22. Livingston EH, Arterburn D, Schiffner TL, Henderson WG, DePalma RG. National Surgical Quality Improvement Program analysis of bariatric operations: modifiable risk factors contribute to bariatric surgical adverse outcomes. *J Am Coll Surg.* 2006; 203:625-633.
23. DeMaria EJ, Portenier D, Wolfe L. Obesity surgery mortality risk score: proposal for a clinically useful score to predict mortality risk in patients undergoing gastric bypass. *Surg Obes Relat Dis.* 2007; 3:134-140.
24. DeMaria EJ, Murr M, Byrne TK, Blackstone R, Grant JP, Budak A, Wolfe L. Validation of the obesity surgery mortality risk score in a multicenter study proves it stratifies mortality risk in patients undergoing gastric bypass for morbid obesity. *Ann Surg.* 2007; 246:578-582.
25. Kessler S, Chaouat A, et al. The obesity hypoventilation syndrome revisited. A prospective study of 34 consecutive cases. *Chest.* 2001; 120:369-376.
26. Ramaswamy A. Extensive preoperative testing is not necessary in morbidly obese patients undergoing gastric bypass. *J Gastrointest Surg.* 2004; 8:159-165.
27. Standards Committee, American Society for Bariatric Surgery. Guidelines for reporting results in bariatric surgery. *Obes Surg.* 1997; 7:521-522.
28. Rueda-Clausen CF, Lahera V, Calderón J, Bolívar IC, Castillo VR, Gutiérrez M, Carreño M, Oubiña Mdel P, Cachofeiro V, López-Jaramillo P. The presence of

- abdominal obesity is associated with changes in vascular function independently of other cardiovascular risk factors. *Int J Cardiol.* 2010; Feb 18;139(1):32-41.
29. Piccin A, Murphy WG, Smith OP. Circulating microparticles: pathophysiology and clinical implications. *Blood Rev.* 2007; 21:157-171.
  30. Burnier L, Fontana P, Kwak BR, Angelillo-Scherrer A. Cell-derived microparticles in haemostasis and vascular medicine. *Thromb Haemost.* 2009; 101:439-51.
  31. Baj-Krzyworzeka M, Majka M, Pratico D, et al. Platelet-derived microparticles stimulate proliferation, survival, adhesion, and chemotaxis of hematopoietic cells. *Exp Hematol.* 2002; 30:450-459.
  32. Jimenez JJ, Jy W, Mauro LM, Horstman LL, Bidot CJ, Ahn YS. Endothelial microparticles (EMP) as vascular disease markers. *Advances in clinical Chemistry.* 2005; 39:131-157.
  33. Boulanger CM, Amabile N, Tedgui A. Circulating microparticles: a potential prognostic marker for atherosclerotic vascular disease. *Hypertension.* 2006; 48: 180-186.
  34. Diamant M, Tushuizen ME, Sturk A, Nieuwland R. Cellular microparticles: new players in the field of vascular disease? *Eur J Clin Invest.* 2004; 34:392-401.
  35. Deregibus MC, Cantaluppi V, Calogero R, Lo Iacono M, Tetta C, Biancone L, Bruno S, Bussolati B, Camussi G. Endothelial progenitor cell derived microvesicles activate

- an angiogenic program in endothelial cells by a horizontal transfer of mRNA. *Blood*. 2007; 110:2440-2448.
36. Pirro M, Schillaci G, Bagaglia F, Menecali C, Paltriccia R, Mannarino MR, Capanni M, Velardi A, Mannarino E. Microparticles derived from endothelial progenitor cells in patients at different cardiovascular risk. *Atherosclerosis*. 2008; 197:757-767.
  37. Dignat-George F, Camoin-Jau L, Sabatier F, Arnoux D, Anfosso F, Bardin N, Veit V, Combes V, Gentile S, Moal V, Sanmarco M, Sampol J. Endothelial microparticles: a potential contribution to the thrombotic complications of the antiphospholipid syndrome. *Thromb Haemost*. 2004 Apr; 91(4):667-73.
  38. Chironi GN, Simon A, Boulanger CM, Dignat-George F, Hugel B, Megnien JL, Lefort M, Freyssinet JM, Tedgui A. Circulating microparticles may influence early carotid artery remodeling. *J Hypertens*. 2009 Dec 25.
  39. Redman CW, Sargent IL. Circulating microparticles in normal pregnancy and pre-eclampsia. *Placenta*. 2008 Mar; 29 Suppl A: S 73-7.
  40. Ramírez R, Carracedo J, Merino A, Nogueras S, Alvarez-Lara MA, Rodríguez M, Martín-Malo A, Tetta C, Aljama P. Microinflammation induces endothelial damage in hemodialysis patients: the role of convective transport. *Kidney Int*. 2007; 72:108-113.

41. Esposito K, Ciotola M, Schisano B, Gualdiero R, Sardelli L, Misso L, Giannetti G, Giugliano D. Endothelial microparticles correlate with endothelial dysfunction in obese women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006 Sep; 91(9):3676-9.
42. Combes V, Simon AC, Grau GE, Arnoux D, Camoin L, Sabatier F, Mutin M, Sanmarco M, Sampol J, Dignat-George F. In vitro generation of endothelial microparticles and possible prothrombotic activity in patients with lupus anticoagulant. *J Clin Invest.* 1999;104: 93-102.
43. Leroyer AS, Tedgui A, Boulanger CM. Role of microparticles in atherothrombosis. *J Intern Med.* 2008; 263:528-537.
44. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, van der Zee R, Li T, Witzenbichler B, Schatteman G, Isner JM. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science.* 1997; 275:964-967.
45. Schmid MC, Varner JA. Circulating endothelial progenitor cells. *Methods Mol Biol.* 2009; 467:139-155.
46. Wu H, Chen H, Hu PC. Circulating endothelial cells and endothelial progenitors as surrogate biomarkers in vascular dysfunction. *Clin Lab.* 2007; 53:285-295.
47. Bannerman DD, Goldblum SE. Mechanisms of bacterial lipopolysaccharide-induced endothelial apoptosis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2003; 284:L899-914.

- 
48. Urbich C, Dimmeler S. Endothelial progenitor cells: characterization and role in vascular biology. *Circ Res*. 2004; 95(4):343-353. Review.
  49. Merino A, Nogueras S, García-Maceira T, Rodríguez M, Martín-Malo A, Ramírez R, Carracedo J, Aljama P. Bacterial DNA and endothelial damage in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2008; 23:3635-3642.
  50. Merino A, Nogueras S, Buendía P, Ojeda R, Carracedo J, Ramírez-Chamond R, Martín-Malo A, Aljama P. Microinflammation and endothelial damage in hemodialysis. *Contrib Nephrol*. 2008; 161:83-88.
  51. Nogueras S, Merino A, Ojeda R, Carracedo J, Rodríguez M, Martín-Malo A, Ramírez R, Aljama P. Coupling of endothelial injury and repair. An analysis in *in vivo* experimental model. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2008; 294:H708-713.
  52. Heiss C, Keymel S, Niesler U, Ziemann J, Kelm M, Kalka C. Impaired progenitor cell activity in age-related endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol*. 2005; 45:1441-1448.
  53. Ingram DA, Caplice NM, Yoder MC. Unresolved questions, changing definitions, and novel paradigms for defining endothelial progenitor cells. *Blood*. 2005; 106:1525-1531.
  54. Peichev M, Naiyer AJ, Pereira D, Zhu Z, Lane WJ, Williams M, Oz MC, Hicklin DJ, Witte L, Moore MA, Rafii S. Expression of VEGFR-2 and AC133 by circulating
-

- 
- human CD34(+) cells identifies a population of functional endothelial precursors. *Blood*. 2000; 95:952-958.
55. Kushner EJ, Van Guilder GP, Maceneaney OJ, Cech JN, Stauffer BL, DeSouza CA. Aging and endothelial progenitor cell telomere length in healthy men. *Clin Chem Lab Med*. 2009; 47:47-50.
56. Minamino T, Miyauchi H, Yoshida T, Ishida Y, Yoshida H, Komuro I. Endothelial cell senescence in human atherosclerosis: role of telomere in endothelial dysfunction. *Circulation*. 2002; 105:1541-1544.
57. Burger D, Touyz RM. Cellular biomarkers of endothelial health: microparticles, endothelial progenitor cells, and circulating endothelial cells. *J Am Soc Hypertens*. 2012; 6(2):85-99.
58. Boulanger CM. Microparticles, vascular function and hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2010 Mar; 19(2):177-80.
59. Campagnolo P, Wong MM, Xu Q. Progenitor cells in arteriosclerosis: good or bad guys? *Antioxid Redox Signal*. 2011 Aug 15; 15(4):1013-27.
60. Grunfeld C, Feingold KR. Role of cytokines in inducing hyperlipidemia. *Diabetes*. 1992; 41:97-101.
61. Vgontzas NA, Papanicolaou Da, Bixler EO, Kales A, Tyson K, Chrousos GP. Elevation of plasma cytokines in disorders of daytime sleepiness: role of sleep disturbance and obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:1313-6.
-

- 
62. Trayhurn P, Wood IS. Adipokines: Inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr.* 2004; 92:347-55.
  63. Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature.* 2006; 444:860-7.
  64. Frühbeck G. The adipose tissue as a source of vasoactive factors. *Curr Med Chem-Cardiovasc Hematol Agents.* 2004; 2:197-208.
  65. Gómez-Ambrosi J, Salvador J, Silva C, Pastor C, Rotellar F, Gil MJ, et al. Increased cardiovascular risk markers in obesity are associated with body adiposity: role of leptin. *Thromb Haemost.* 2006; 95:991-6.
  66. Catalán V, Gómez-Ambrosi J, Ramírez B, Rotellar F, Pastor C, Silva C, et al. Proinflammatory cytokines in obesity: impact of type 2 diabetes mellitus and gastric bypass. *Obes Surg.* 2007. 17: 1464-74.
  67. Fantuzzi G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* 2005; 115:911-9.
  68. Chudek J, Więcek A. Adipose tissue, inflammation and endothelial dysfunction. *Pharmacological Reports.* 2006; 58 suppl, 81-88.
  69. Trayhurn P y Wood SI. Signalling role of adipose tissue: adipokines and inflammation in obesity. *Biochemical society transactions.* 2005:33; 1078-1081.
  70. Wisse BE: The inflammatory syndrome: the role of adipose tissue cytokines in metabolic disorders linked to obesity. *J Am Soc Nephrol.* 2004; 15:2792-2800.
-

71. Wellen KE, Hotamisligil GS: Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue. *J Clin Invest.* 2003; 112:1785-1788.
72. Fain JN, Madan AK, Hiler ML, Cheema P, Bahouth SW. Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissues of obese humans. *Endocrinology.* 2004; 145: 2273–2282.
73. Gollasch M, Dubrovskaja G. Paracrine role for periaortic adipose tissue in the regulation of arterial tone. *Trends Pharmacol Sci.* 2004; 25:647-653.
74. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature.* 1994; 372:425-432.
75. Flier JS. The adipocyte: storage depot or node on the energy information superhighway? *Cell.* 1995; 80:15-8.
76. Ahima RS, Prabakaran D, Mantzoros C, Qu D, Lowell B, Maratos-Flier E, et al. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. *Nature.* 1996; 382:250-2.
77. Lord GM, Matarese G, Howard JK, Baker RJ, Bloom SR, Lechler RI. Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. *Nature.* 1998; 394:897-901.

- 
78. Fantuzzi G, Faggioni R. Leptin in the regulation of immunity, inflammation, and hematopoiesis. *J Leukoc Biol.* 2000; 68:437-46.
  79. Howard JK, Lord GM, Matarese G, Vendetta S, Ghatei MA, Ritter MA et al. Leptin protects mice from starvation-induced lymphoid atrophy and increases thymic cellularity in ob/ob mice. *J Clin Invest.* 1999; 104:1041-59.
  80. Montez JM, Soukas A, Asilmaz E, Fayzikhodjaeva G, Fantuzzi G, Friedman JM. Acute leptin deficiency, leptin resistance, and the physiologic response to leptin withdrawal. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005; 102:2537-42.
  81. Palacio A, López M, Pérez-Bravo F, Monkeberg F, Schlesinger L. Leptin levels are associated with immune response in malnourished infants. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002; 87:3040-6.
  82. Beltowski J. Adiponectin and resistin – new hormones of white adipose tissue. *Med Sci Monit.* 2003; 9:55RA-61.
  83. Phillips SA, Ciaraldi TP, Kong APS, Bandukwala R, Aroda V, Carter L, et al. Modulation of circulating and adipose tissue adiponectin levels by antidiabetic therapy. *Diabetes.* 2003; 52:667-74.
  84. Chandran M, Phillips SA, Ciaraldi T, Henry RR. Adiponectin: more than just another fat cell hormone? *Diabetes Care.* 2003; 26:2442-50.
  85. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, et al. Paradoxical decrease of an adipose-
-

- 
- specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999; 257:79-83.
86. Hanley AJG, Connelly PW, Harris SB, Zinman B. Adiponectin in a native Canadian population experiencing rapid epidemiological transition. *Diabetes Care.* 2003; 26:3219-25.
87. Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Matsuzawa Y, Walsh K. Obesity, adiponectin and vascular inflammatory disease. *Curr Opin Lipidol.* 2003; 14:561-6.
88. Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem.* 1995; 270:26746-9.
89. Hotta K, Funahashi T, Bodkin NL, Ortmeier HK, Arita Y, Hansen BC, et al. Circulating concentrations of the adipocyte protein adiponectin are decreased in parallel with reduced insulin sensitivity during the progression to type 2 diabetes in rhesus monkeys. *Diabetes.* 2001; 50:1126-33.
90. Yatagai T, Nagasaka S, Taniguchi A, Fukushima M, Nakamura T, Kuroe A, et al. Hypoadiponectinemia is associated with visceral fat accumulation and insulin resistance in Japanese men with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism.* 2003; 52:1274-8.
91. Comuzzie AG, Funahashi T, Sonnenberg G, Martin LJ, Jacob HJ, Black AE, et al. The genetic basis of plasma variation in adiponectin, a global endophenotype for
-

- obesity and the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86:4321-5.
92. Havel PJ. Update on adipocyte hormones. Regulation of energy balance and carbohydrate/lipid metabolism. *Diabetes.* 2004; 53:S143-51.
93. Hotta K, Funahashi T, Takahashi M, Matsuda M, Okamoto Y, et al. Plasma concentration of a novel adipose specific protein adiponectina in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000; 20:1595-9.
94. Yamauchi T, Kamon J, Kaki H, Terauchi Y, Kubota N, Hara K, et al. The fat-derived hormone Adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipotrophy and obesity. *Nat Med.* 2001; 7:941-6.
95. Masaki T, Chiba S, Yasuda T, Tsubone T, Kakuma T, Shimomura I, et al. Peripheral, but not central, administration of adiponectin reduces visceral adiposity and upregulates the expression of uncoupling protein in Agouti yellow (Ay/a) obese mice. *Diabetes.* 2003; 52:2266-73.
96. Qi Y, Takahashi N, Hileman SM, Patel HR, Berg AH, Pajvani UB, Scherer PE, Ahima RS. Adiponectin acts in the brain to decrease body weight. *Nat Med.* 2004; 10:524-529.
97. Sánchez-Recalde A, Kaski JC. Diabetes mellitus, inflamación y aterosclerosis coronaria: perspectiva actual y futura. *Rev Esp Cardiol.* 2001; 54:751-63.

- 
98. Tartaglia LA, Goeddel DV. Two TNF receptors. *Immunol Today*. 1992; 13:151-3.
  99. Smith CA, Farrah T, Goodwin RG. The TNF- $\alpha$  superfamily of cellular and viral proteins: activation, co stimulation and death. *Cell* 1994; 76:959-62.
  100. Nophar Y, Kemper O, Brakebusch C, Engelmann H, Zwang R, Adreka D, et al. Soluble forms of tumor necrosis factors (TNFRs). The cDNA for the type 1 TNF-R, cloned using amino acid sequence data of its soluble form, encodes both the cell surface and a soluble form of the receptor. *EMBO* 1990; J):3269-3278.
  101. Aderka D, Engelmann H, Maor Y, Brakebusch C, Wallach D. Stabilization of the bioactivity of tumor necrosis factor by its soluble receptors. *J Exp Med*. 1992; 175:323-9.
  102. Aderka D, Sorkine P, Abu-Abid Lev D, Setton A, Cope AP, Wallach D, et al. Shedding kinetics of soluble tumor necrosis factor (TNF) receptors after systemic TNF leaking during isolated limb perfusion. Relevance to the patophysiology of septic shock. *J Clin Invest*. 1998; 101:650-9.
  103. Aderka D, Engelmann H, Shemer-Avni Y, Hornik V, Galil A, Sarov B, et al. Variation in serum levels of the soluble TNF- $\alpha$  receptors among healthy individuals. *Lymphokine Cytokine Res*. 1992; 11:157-9.
  104. Mohamed-Ali V, Goodrick S, Rawesh A, Katz DR, Miles JM, Yudkin JS, et al. Subcutaneous adipose tissue

- releases interleukin -6, but not tumor necrosis factor- $\alpha$ , in vivo. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997; 82:4196-200.
105. Mohamed-Ali V, Goodrick S, Bulmer K, Holly JM, Yudkin JS, Coppel SW. Production of soluble tumor necrosis factor receptors by human subcutaneous adipose tissue in vivo. *Am J Physiol.* 1999; 277:E971-E975.
106. Hotamisligil GS, Arner P, Atkinson RL, Spiegelman BM. Differential regulation of the p80 Tumor Necrosis Factor Receptor in human obesity and insulin resistance. *Diabetes.* 1997; 46:451-5.
107. Fernández-Real JM, Broch M, Ricart W, Gutiérrez R, Casamitjana R, Vendrell J, *et al.* Plasma levels of the soluble fraction of Tumor Necrosis Factor Receptor -2 and insulin resistance. *Diabetes.* 1998; 47:1752-62.
108. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- $\alpha$ : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science.* 1993; 259:87-91.
109. Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- $\alpha$  in human obesity and insulin resistance. *J Clin Invest.* 1995; 95:2409-15.
110. Kern PA, Saghizadeh M, Ong JM, Bosch RJ, Deem R, Simsolo RB. The expression of tumor necrosis factor in human adipose tissue. Regulation by obesity, weight loss, and relationship to lipoprotein lipase. *J Clin Invest.* 1995; 95:2111-9.

111. Kern PA, Ranganathan S, Li C, Wood L, Ranganathan G. Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin-resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001; 280:E745-E751.
112. Bluher M, Kratsch J, Praschke R. Plasma levels of tumor necrosis factor- $\alpha$ , angiotensin-II, growth hormone, and IGF-1 are not elevated in insulin-resistant obese individuals with impaired glucose tolerance. *Diabetes Care* 2001; 24:328-334.
113. Xu H, Uysal T, Becherer D, Arner P, Gökhan S, Hotamisligil GS. Altered tumor necrosis factor- $\alpha$  processing in adipocytes and increased expression of transmembrane TNF- $\alpha$  in obesity. *Diabetes* 2002; 51:1876-83.
114. Xu H, Hirosumi J, Uysal T, Guler AD, Hotamisligil GS. Exclusive action of transmembrane TNF- $\alpha$  in adipose tissue leads to reduced adipose mass and local but not systemic insulin resistance. *Endocrinology*. 2002; 143:1502-11.
115. Kahaleh MB, Fan PS. Effect of cytokines on the production of endothelin by endothelial cells. *Clin Exp Rheumatol* 1997; 15:163-7.
116. Brasier AR, Li J, Wimbish KA. Tumor necrosis factor activates angiotensinogen gene expression by the Rel A transactivator. *Hypertension*. 1996; 27:1009-17.
117. Nyui N, Tamura K, Yamaguchi S, Nakamaru M, Ishigami T, Yabana M, *et al.* Tissue angiotensinogen gene

- expresión induced by lipopolysaccharide in hypertensive rats. *Hypertension*. 1997; 30:859-67.
118. Zinman B, Hanley AJG, Harris SB, Kwan J, Fantus IG. Circulating tumor necrosis factor- $\alpha$  concentrations in a native Canadian population with high rates of type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999; 84:272-8.
119. Fried SK, Bunkin DA, Greenberg AS. Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:847-50.
120. Fernández-Real JM, Vayreda M, Richart C, Gutiérrez C, Broch M, Vendrell J, *et al*. Circulating IL-6 levels, blood pressure and insulin sensitivity in apparently healthy men and women. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:1154-9.
121. Straub RH, Hense HW, Andus J, Schölmerich J, Riegger AJ, Schunkert H. Hormone replacement therapy and interrelation between serum interleukin-6 and body mass index in postmenopausal women: a population based study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000; 85:1340-4.
122. Pickup JC, Mattock MB, Chusney GD, Burt D. NIDDM as a disease of the innate immune system: association of the acute-phase reactants and interleukin 6 with metabolic syndrome X. *Diabetologia*. 1997; 40:1286-92.
123. Fernández-Real JM, Broch M, Vendrell J, Richart C, Ricart W. Interleukin 6 gene polymorphism and lipid

- abnormalities in healthy subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000; 85:1334-9.
124. Greenberg AS, Nordan RP, McIntosh J, Calvo JC, Scow RO, Jablons D. Interleukin-6 reduces lipoprotein lipase activity in adipose tissue of mice in vivo and in 3T-L1 adipocytes: a possible role for interleukin-6 in cancer cachexia. *Cancer Res* 1992; 52:4113-6.
125. Páth G, Bornstein SR, Ehrart-Bornstein M, Scherbaum WA. Interleukin-6 and the interleukin-6 receptor in the human adrenal gland: expresión and effects on steroidogenesis. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997; 82:2343-9.
126. Makin T, Noguchi Y, Yoshikawa T, Doi C, Nomura K. Circulating interleukin-6 concentrations and insulin resistance in patients with cancer. *Br J Surg.* 1998; 85:1658-62.
127. Vozarova B, Weyer C, Hanson K, Tatarani Pa, Bogardus C, Pratley RE. Circulating interleukin-6 in relation to adiposity, insulin actino, and insulin secretion. *Obes Res.* 2001; 9:414-7.
128. Bastard JP, Jardel C, Bruckert E, Blondy P, Capeau J, Laville M, *et al.* Elevated levels of interleukin-6 are reduced in serum and subcutaneous adipose tissue of obese women after weight loss. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000; 85:3338-42.

- 
129. Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA*. 2001; 286:327-34.
  130. Humphries SE, Luong LA, Ogg MS, Hawe E, Miller GJ. The interleukin-6-174 G/C promoter polymorphism is associated with risk of coronary heart disease and systolic blood pressure in healthy men. *Eur Heart J*. 2001; 22:2243-52.
  131. Chae CU, Lee RT, Rifai N, Ridker PM. Blood pressure and inflammation in apparently healthy men. *Hypertension*. 2001; 399-403.
  132. Papanicolaou DA, Petrides JS, Tsigos C, Bina S, Kalogerias KT, Wilder R *et al*. Exercise stimulates interleukin-6 secretion: inhibition by glucocorticoids and correlation with catecholamines. *Am J Physiol*. 1996; 271:E601-E605.
  133. Besedovsky HO, Del Rey A. Immune-neuro-endocrine interactions. *Endocr Rev*. 1996; 17:64-102.
  134. Greenwel P, Iraburu MJ, Reyes-Romero M, Meraz-Cruz N, Casado E, Solis-Herruzo JA. Induction of an acute phase response in rats stimulates the expression of alpha 1 (I) procollagen messenger ribonucleic acid in their livers. Possible role of interleukin-6. *Lab Invest*. 1995; 72:83-91.
  135. Lowe GDO, Rumley A. Coagulation, fibrinolysis and cardiovascular disease. *Fibrinolysis & Proteolysis*. 1999; 13:91-8.
-

136. Takano M, Itoh N, Yayama K, Yamano M, Otah R, Okamoto H. Interleukin-6 as a mediator responsible for inflammation induced increase in plasma angiotensinogen. *Biochem Pharmacol.* 2000; 45:201-6.
137. Mocellin, S., Panelli, M. C., Wang, E., Nagorsen, D., and Marincola, F. M. The dual role of IL-10. *Trends Immunol.* 2003; 24: 36–43.
138. Esposito, K., Pontillo, A., Giugliano, F., Giugliano, G., Marfella, R., Nicoletti, G., and Giugliano, D. Association of low interleukin-10 levels with the metabolic syndrome in obese women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2003; 88:1055–1058.
139. Manigrasso MR, Ferroni P, Santilli F, Taraborelli T, Guagnano MT, Michetti N, Davì G. Association between circulating adiponectin and interleukin-10 levels in android obesity: effects of weight loss. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005 Oct; 90(10):5876-9. Epub 2005 Jul 19.
140. Kim CS, Park HS , Kawada T , Kim JH , Lim D, Hubbard NE , Kwon BS , Erickson K L Yu R. Circulating levels of MCP-1 and IL-8 are elevated in human obese subjects and associated with obesity-related parameters. *International Journal of Obesity.* 2006; 30:1347–1355.
141. Bruun JM, Lihn AS, Madan AK, Pedersen SB, Schiøtt KM, Fain JN et al. Higher production of IL-8 in visceral vs. subcutaneous adipose tissue. Implication of nonadipose cells in adipose tissue. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2004; 286: E8–E13.

- 
142. Straczkowski M, Dzienis-Straczkowska S, Stepień A, Kowalska I, Szelachowska M, Kinalska I. Plasma interleukin-8 concentrations are increased in obese subjects and related to fat mass and tumor necrosis factor-alpha system. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002; 87: 4602–4606.
  143. Bruun JM, Pedersen SB, and Richelsen B. Regulation of interleukin 8 production and gene expression in human adipose tissue in vitro. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86:1267-1273.
  144. Gerszten RE, Garcia-Zepeda EA, Lim YC, Yoshida M, Ding HA, Gimbrone MAJ, Luster AD, Luscinskas FW, and Rosenzweig A. MCP-1 and IL-8 trigger firm adhesion of monocytes to vascular endothelium under flow conditions. *Nature.* 1999; 398:718-723.
  145. Moreau M, Brocheriou I, Petit L, Ninio E, Chapman MJ, and Rouis M. Interleukin-8 mediates downregulation of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 expression in cholesterol-loaded human macrophages: relevance to stability of atherosclerotic plaque. *Circulation.* 1999; 99:420-426.
  146. Romuk E, Skrzep-Poloczek B, Wojciechowska C, Tomasik A, Birkner E, Wodniecki J, Gabrylewicz B, Ochala A, and Tendera M. Selectin-P and interleukin-8 plasma levels in coronary heart disease patients. *Eur J Clin Invest.* 2002; 32:657-661.

147. Erbagci AB, Tarakcioglu M, Coskun Y, Sivasli E, and Sibel NE. Mediators of inflammation in children with type I diabetes mellitus: cytokines in type I diabetic children. *Clin Biochem.* 2001; 34:645-650.
148. Watford WT, Moriguchi M, Morinobu A, O'Shea JJ. The biology of IL-12: coordinating innate and adaptive immune responses. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2003 Oct; 14(5):361-8.
149. Xu M, Mizoguchi I, Morishima N, Chiba Y, Mizuguchi J, Yoshimoto T. Regulation of antitumor immune responses by the IL-12 family cytokines, IL-12, IL-23, and IL-27. *Clin Dev Immunol.* 2010;2010 pii
150. Ait-Oufella H, Taleb S, Mallat Z, Tedgui A. Recent advances on the role of cytokines in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011 May; 31(5):969-79.
151. Adorini L, Gregori S, Harrison LC. Understanding autoimmune diabetes: insights from mouse models. *Trends Mol Med.* 2002 Jan; 8(1):31-8.
152. Jenkins TM. Prevalence of Overweight, Obesity, and Comorbid Conditions Among U.S. and Kentucky Adults, 2000-2002. *Preventing chronic disease. Public health research, practice, and policy.* January 2005; vol 2; nº1:1-8
153. Flegal KM, Carroll MD, Ogden CL, Johnson CL. Prevalence and trends in obesity among US adults, 1999-2000. *J Am Med Assoc.* 2002; 288:1723-7.

- 
154. Werner N, Wassmann S, Ahlers P, Kosiol S, Nickenig G: Circulating CD31+/annexin V+ apoptotic microparticles correlate with coronary endothelial function in patients with coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006; 26: 112-116.
  155. Goon PK, Lip GY, Boos CJ, Stonelake PS, Blann AD. Circulating endothelial cells, endothelial progenitor cells, and endothelial microparticles in cancer. *Neoplasia.* 2006 Feb; 8(2):79-88.
  156. Heida NM, Müller JP, Cheng IF, Leifheit-Nestler M, Faustin V, Riggert J, Hasenfuss G, Konstantinides S, Schäfer K. Effects of obesity and weight loss on the functional properties of early outgrowth endothelial progenitor cells. *J Am Coll Cardiol.* 2010 Jan 26; 55(4):357-67.
  157. Mause SF, Weber C. Microparticles: protagonists of a novel communication network for intercellular information exchange. *Circ Res.* 2010; 107:1047-57.
  158. Marin C, Ramirez R, Delgado-Lista J, Yubero-Serrano EM, Perez-Martinez P, Carracedo J, Garcia-Rios A, Rodriguez F, Gutierrez-Mariscal FM, Gomez P, Perez-Jimenez F, Lopez-Miranda J. Mediterranean diet reduces endothelial damage and improves the regenerative capacity of endothelium. *Am J Clin Nutr.* 2011 Feb; 93(2):267-74.
  159. Merino A, Portolés J, Selgas R, Ojeda R, Buendia P, Ocaña J, Bajo MA, del Peso G, Carracedo J, Ramírez R,

- 
- Martín-Malo A, Aljama P. Effect of different dialysis modalities on microinflammatory status and endothelial damage. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010 Feb; 5(2):227-34.
160. Goichot B, Grunebaum L, Desprez D, Vinzio S, Meyer L, Schlienger JL, Lessard M, Simon C. Circulating procoagulant microparticles in obesity. *Diabetes Metab*. 2006. 32: 82-85.
161. Koga H, Sugiyama S, Kugiyama K, Watanabe K, Fukushima H, Tanaka T, Sakamoto T, Yoshimura M, Jinnouchi H, Ogawa H. Elevated levels of VE-cadherin-positive endothelial microparticles in patients with type 2 diabetes mellitus and coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 2005. 45: 1622-1630.
162. Despres JP, Lemieux I. Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature* 2006. 444: 881-887.
163. Tramontano AF, Lyubarova R, Tsiakos J, Palaia T, Deleon JR, Ragolia L. Circulating endothelial microparticles in diabetes mellitus. *Mediators Inflamm*. 2010; 250476.
164. Yun CH, Jung KH, Chu K, Kim SH, Ji KH, Park HK, Kim HC, Lee ST, Lee SK, Roh JK. Increased circulating endothelial microparticles and carotid atherosclerosis in obstructive sleep apnea. *J Clin Neurol*. 2010 Jun; 6(2):89-98.
165. Priou P, Gagnadoux F, Tesse A, Mastronardi ML, Agouni A, Meslier N, Racineux JL, Martinez MC, Trzepizur W, Andriantsitohaina R. Endothelial dysfunction and
-

- circulating microparticles from patients with obstructive sleep apnea. *Am J Pathol*. 2010 Aug; 177(2):974-83.
166. Fink K, Schwarz M, Feldbrügge L, Sunkomat JN, Schwab T, Bourgeois N, Olschewski M, von Zur Mühlen C, Bode C, Busch HJ. Severe endothelial injury and subsequent repair in patients after successful cardiopulmonary resuscitation. *Crit Care*. 2010; 14(3):R104.
167. Chironi GN, Boulanger CM, Simon A, Dignat-George F, Freyssinet JM, Tedgui A. Endothelial microparticles in diseases. *Cell Tissue Res*. 2009 Jan; 335(1):143-51.
168. Boulanger CM, Leroyer AS, Amabile N, Tedgui A. Circulating endothelial microparticles : a new marker of vascular injury. *Ann Cardiol Angeiol (Paris)* 2008 Jun; 57:149–54.
169. Nomura S, Shouzu A, Omoto S, Inami N, Ueba T, Urase F, et al. Effects of eicosapentaenoic acid on endothelial cell-derived microparticles, angiopoietins and adiponectin in patients with type 2 diabetes. *J Atheroscler Thromb* 2009; 16:83–90.
170. Esposito K, Ciotola M, Giugliano D. Pioglitazone reduces endothelial microparticles in the metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26:1926.
171. Meziani F, Tesse A, Andriantsitohaina R. Microparticles are vectors of paradoxical information in vascular cells including the endothelium: role in health and diseases. *Pharmacol Rep*. 2008 Jan-Feb; 60(1):75-84.

172. Dignat-George F, Boulanger CM. The many faces of endothelial microparticles. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011 Jan; 31(1):27-33.
173. Müller-Ehmsen J, Braun D, Schneider T, Pfister R, Worm N, Wielckens K, Scheid C, Frommolt P, Flesch M. Decreased number of circulating progenitor cells in obesity: beneficial effects of weight reduction. *Eur Heart J.* 2008 Jun; 29(12):1560-8.
174. Schmidt-Lucke C, Rossig L, Fichtlscherer S, Vasa M, Britten M, et al. Reduced number of circulating endothelial progenitor cells predicts future cardiovascular events: proof of concept for the clinical importance of endogenous vascular repair. *Circulation* 2005. 111: 2981–2987.
175. Maruyama S, Taguchi A, Iwashima S, Ozaki T, Yasuda K, et al. Low circulating CD34(+) cell count is associated with poor prognosis in chronic hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2008. 74: 1603-1609.
176. Fadini GP, de Kreutzenberg S, Agostini C, Boscaro E, Tiengo A, et al. Low CD34+ cell count and metabolic syndrome synergistically increase the risk of adverse outcomes. *Atherosclerosis.* 2009. 207: 213-219.
177. Werner, N, Kosiol, S, Schiegl, T , Ahlers, P., Walenta, K, Link, A, Böhm, M., and Nickenig, G. Circulating Endothelial Progenitor Cells and Cardiovascular Outcomes. *New Engl J Med* 2005. 353: 999-1007.

- 
178. MacEneaney OJ, Kushner EJ, Van Guilder GP, Greiner JJ, Stauffer BL, DeSouza CA. Endothelial progenitor cell number and colony-forming capacity in overweight and obese adults. *Int J Obes (Lond)*. 2009 Feb; 33(2):219-25. Epub 2008 Dec 16.
179. Schillaci G, Rondelli F, Pirro M, Bagaglia F, Pucci G, Noya G, Mannarino E. Endothelial progenitor cells are mobilized after major laparotomic surgery in patients with cancer. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2009. 22: 1035-1041.
180. Roberts N, Xiao Q, Weir G, Xu Q, Jahangiri M. Endothelial progenitor cells are mobilized after cardiac surgery. *Ann Thorac Surg*. 2007. 83: 598-605.
181. Kushner E, Van Guilder G, MacEneaney O, Greiner J, Cech J, Stauffer B, Desouza C. Ageing and endothelial progenitor cell release of proangiogenic cytokines. *Age Ageing*. 2010 Mar; 39(2):268-72. Epub 2009 Dec 29.
182. Madden LA, Christmas BC, Mellor D, Vince RV, Midgley AW, McNaughton LR, Atkin SL, Laden G. Endothelial function and stress response after simulated dives to 18 msw breathing air or oxygen. *Aviat Space Environ Med*. 2010 Jan; 81(1):41-5.
183. Gill M, Dias S, Hattori K, Rivera ML, Hicklin D, Witte L, Girardi L, Yurt R, Himel H, Rafii S. Vascular trauma induces rapid but transient mobilization of VEGFR2(+)/AC133(+) endothelial precursor cells. *Circ Res*. 2001. 88: 167-174.
-

184. Amano K, Okigaki M, Adachi Y, Fujiyama S, Mori Y, Kosaki A, Iwasaka T, Matsubara H. Mechanism for IL-1 beta-mediated neovascularization unmasked by IL-1 beta knock-out mice. *J Mol Cell Cardiol.* 2004. 36: 469-480.
185. Takahashi T, Kalka C, Masuda H, Chen D, Silver M, Kearney M, Magner M, Isner JM, Asahara T. Ischemia- and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization. *Nat Med.* 1999. 5: 434-438.
186. Wu Y, Ip JE, Huang J, Zhang L, Matsushita K, Liew CC, Pratt RE, Dzau VJ. Essential role of ICAM-1/CD18 in mediating EPC recruitment, angiogenesis, and repair to the infarcted myocardium. *Circ Respiratory.* 2006. 99: 315–322.
187. Jin H, Aiyer A, Su J, et al. A homing mechanism for bone marrow derived progenitor cell recruitment to the neovasculature. *J Clin Invest.* 2006. 116: 652–662.
188. Dentelli P, Rosso A, Balsamo A, Colmenares Benedetto S, Zeoli A, Pegoraro M, Camussi G, Pegoraro L, Brizzi MF. c-Kit by interacting with the membrane-bound ligand recruits endothelial progenitor cells to inflamed endothelium. *Blood.* 2007. 109: 4264-4271.
189. Cheng V, Kashyap SR, Schauer PR, Kirwan JP, McCrae KR. Restoration of glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus after bariatric surgery is associated with reduction in microparticles. *Surg Obes Relat Dis.* 2013 Mar-Apr; 9(2):207-12.
-

- 
190. Valadi H, Ekström K, Bossios A, Sjöstrand M, Lee JJ, Lötvall JO. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol.* 2007 Jun; 9(6):654-9.
  191. Ciuceis CD, Rossini C, Porteri E, Boria EL, Corbellini C, Mittempergher F, Betta ED, Petroboni B, Sarkar A, Agabiti-Rosei C, Casella C, Nascimbeni R, Rezzani R, Rodella LF, Bonomini F, Agabiti-Rosei E, Rizzoni D. Circulating endothelial progenitor cells, microvascular density and fibrosis in obesity before and after bariatric surgery. *Blood Press.* 2013 Jun;22(3):165-72.
  192. Greenstein AS, Khavandi K, Withers SB, Sonoyama K, Clancy O, Jeziorska M, Laing I, Yates AP, Pemberton PW, Malik RA, Heagerty AM. Local inflammation and hypoxia abolish the protective anticontractile properties of perivascular fat in obese patients. *Circulation.* 2009 Mar 31; 119(12):1661-70.
  193. Aghamohammadzadeh R, Greenstein AS, Yadav R, Jeziorska M, Hama S, Soltani F, Pemberton PW, Ammori B, Malik RA, Soran H, Heagerty AM. The effects of bariatric surgery on human small artery function: evidence for reduction in perivascular adipocyte inflammation, and the restoration of normal anticontractile activity despite persistent obesity. *The Lancet* 2013 Feb Vol 381: S18.

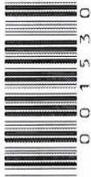




FORMULARIO DE INFORMACIÓN Y CONSENTIMIENTO INFORMADO ESCRITO

Orden de 8 de julio de 2009 (BOJA nº 152 de fecha 6 de agosto) por la que se dictan instrucciones a los Centros del Sistema Sanitario Público de Andalucía, en relación al procedimiento de Consentimiento Informado.

CENTRO SANITARIO HOSPITAL U. REINA SOFÍA		SERVICIO DE ANESTESIA
1	DOCUMENTO DE INFORMACIÓN PARA (*) ANESTESIA GENERAL, REGIONAL O LOCAL	
<p>Este documento sirve para que usted, o quien lo represente, dé su consentimiento para esta intervención. Eso significa que nos autoriza a realizarla.</p> <p>Puede usted retirar este consentimiento cuando lo desee. Firmarlo no le obliga a usted a hacerse la intervención. De su rechazo no se derivará ninguna consecuencia adversa respecto a la calidad del resto de la atención recibida. Antes de firmar, es importante que lea despacio la información siguiente.</p> <p><b>Díganos si tiene alguna duda o necesita más información.</b> Le atenderemos con mucho gusto.</p> <p>(*) Indicar el nombre del procedimiento/intervención a realizar; si es posible, además del nombre técnico que siempre debe figurar, puede tratar de expresarlo con un nombre más sencillo.</p>		
<b>1.1 LO QUE USTED DEBE SABER:</b>		
<p><b>EN QUÉ CONSISTE. PARA QUÉ SIRVE:</b></p> <p>Consiste en administrarle medicamentos para poder operarle sin sufrir dolor.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• En la anestesia general los medicamentos le dejan profundamente dormido, inconsciente.</li> <li>• En la anestesia regional y local los medicamentos sólo le adormecen la zona donde se va a intervenir.</li> </ul>		
<p><b>CÓMO SE REALIZA:</b></p> <p>Es muy importante que esté en ayunas antes de la intervención.</p> <p>La anestesia general se administra por vía intravenosa o por inhalación a través de una mascarilla. Es necesario ayudar a la respiración mediante un aparato que introduce el gas dentro de los pulmones a través de un tubo colocado en la garganta (ventilación mecánica).</p> <p>En la anestesia regional se inyecta el anestésico en los nervios que van a la zona que se va a intervenir. Esto se puede hacer en su inicio o a lo largo de su trayecto. En la anestesia local, el anestésico se inyecta directamente en la zona que se va a intervenir. También puede administrarse mediante gotas en las mucosas.</p> <p>Tanto en la anestesia regional como en la local pueden darse además medicamentos para que usted esté algo adormecido mientras esté en el quirófano. Así estará más relajado y tranquilo. En todos los casos, salvo en la anestesia general con mascarilla, es preciso pinchar en alguna zona del cuerpo. El lugar depende del tipo de anestesia. Puede ser en las venas (anestesia general), en la espalda (anestesia raquídea y epidural), en el brazo o la pierna (anestesia de troncos y plexos nerviosos) o en la zona a operar (anestesia local).</p> <p>A veces, es necesario pinchar alguna otra vena o arteria para control de sus constantes o la administración de medicación, dependiendo de la agresividad de la intervención quirúrgica y/o de sus circunstancias</p>		



SD 134

personales (patología cardiovascular, neumológica, metabólica, etc.), la canalización de más de una vena, un acceso venoso central y/o de una arteria (para el control continuo de su tensión arterial), así como la colocación de una sonda vesical y/o nasogástrica.

La intervención quirúrgica puede ocasionar pérdidas sanguíneas; si fuese necesario el/la anestesiólogo/a indicará una transfusión durante o después de la operación. La sangre procede de donantes sanos, aunque a veces puede utilizarse su propia sangre recogida por medio de aparatos recuperadores durante la intervención o en el postoperatorio inmediato. Recibirán la información clínica específica sobre las técnicas y los riesgos transfusionales si la transfusión estuviera indicada.

Deberá mantener cualquier medicación que esté tomando de manera habitual (por ejemplo, sus pastillas para la tensión), salvo que tras indicarle el tratamiento que usted sigue regularmente al/a la anestesiólogo/a, éste le recomiende otra cosa. El día de la cirugía puede tomarlas con un sorbo de agua (unas dos horas antes de la hora prevista de intervención), sin romper la norma anterior. Solamente debe interrumpir, bajo prescripción médica, aquellos medicamentos que afectan a la coagulación sanguínea u otro tipo de medicamentos, que evidentemente el/la anestesiólogo/a le habrá indicado en la visita de preanestesia. Si es usted fumador, debería intentar interrumpir su hábito cuanto más tiempo mejor, previo a la cirugía, ya que así disminuye el riesgo de complicaciones respiratorias.

**QUÉ EFECTOS LE PRODUCIRÁ:**

- La anestesia general le dejará dormido de forma que no sentirá ni oír nada durante la operación. Una vez terminada la misma, se despertará gradualmente con cierta sensación de "resaca".
- La anestesia regional le hará perder la sensibilidad. Toda una parte de su cuerpo quedará adormecida, por ejemplo un brazo, las dos piernas, etc. No podrá mover la zona afectada ni sentirá dolor. Sin embargo le permitirá estar despierto. Si lo desea pueden administrarle una sedación. La recuperación de la sensibilidad y la movilidad puede tardar un tiempo variable después de la operación.
- La anestesia local sólo le hará perder la sensibilidad de la zona operada. La recuperará más tarde de forma progresiva.

En algunas intervenciones puede ser aconsejable prolongar el estado anestésico unas horas en una unidad de cuidados especiales.

En todos los casos se le administrará un tratamiento para controlar el dolor y las molestias del postoperatorio, mediante analgésicos intravenosos o mediante técnicas especiales como la analgesia epidural o los bloqueos nerviosos.

**EN QUÉ LE BENEFICIARÁ:**

La anestesia nos permite hacer la operación sin que usted experimente dolor. Además, el/la médico anestesiólogo/a controlará sus constantes vitales para asegurar que todo discurre con normalidad. Ello facilitará que usted se recupere de la intervención más fácilmente.

001530

**OTRAS ALTERNATIVAS DISPONIBLES EN SU CASO:**

Cualquier intervención quirúrgica precisa algún tipo de anestesia. El/la anestesiólogo/a le informará cuáles son las alternativas en su caso particular. Usted podrá manifestar sus preferencias.

En su caso:

CENTRO SANITARIO HOSPITAL U. REINA SOFÍA	SERVICIO DE ANESTESIA
<p><b>QUÉ RIESGOS TIENE:</b></p>	
<p>Cualquier actuación médica tiene riesgos. La mayor parte de las veces los riesgos no se materializan, y la intervención no produce daños o efectos secundarios indeseables. Pero a veces no es así. Por eso es importante que usted conozca los riesgos que pueden aparecer en este proceso o intervención.</p>	
<p>Actualmente los riesgos de la anestesia son pocos, siendo una técnica bastante segura, con una mortalidad muy baja. Un riesgo común aunque infrecuente a todas las técnicas es la reacción alérgica a cualquier droga usada durante la anestesia o a sustancias empleadas durante la intervención, como el látex. Las pruebas de alergia previas no están exentas de riesgos y su resultado no descarta una reacción alérgica intraoperatoria.</p>	
<p>• <b>LOS MÁS FRECUENTES:</b></p>	
<p>Son trastornos habitualmente poco graves y pasajeros.</p>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• En la anestesia general:                     <ul style="list-style-type: none"> <li>o Náuseas y vómitos durante el postoperatorio. Es más frecuentes en mujeres y en determinadas intervenciones.</li> <li>o Dificultad para orinar en el postoperatorio.</li> <li>o La necesidad de introducir un tubo en las vías aéreas puede dejar una sensación de dolor, sequedad y ronquera. Algún diente podría resultar dañado.</li> <li>o Algunos/as pacientes pueden tener mayores dificultades para recuperar la respiración después de la anestesia general, como las personas obesas o los enfermos pulmonares</li> <li>o Puede ocurrir el paso del contenido del estómago a las vías respiratorias en momentos puntuales de la anestesia. Este riesgo es potencialmente más grave. Ocurre más en la cirugía urgente si no es posible respetar los periodos de ayuno mínimo de seguridad.</li> <li>o En muy raras ocasiones se pueden dar cuadros de depresión, pesadillas y neurosis postanestésica.</li> <li>o Otras complicaciones muy poco frecuentes pueden ser lesiones oculares, nerviosas, quemaduras cutáneas y electrocución por la utilización intraoperatoria de instrumentación eléctrica.</li> </ul> </li> <li>• En la anestesia regional:                     <ul style="list-style-type: none"> <li>o Dolores de cabeza y visión borrosa.</li> <li>o Dolores de espalda.</li> <li>o Dificultad para orinar en el postoperatorio.</li> <li>o Se pueden producir sensación de acorchamiento y debilidad de la zona.</li> </ul> </li> <li>• En la anestesia local:                     <ul style="list-style-type: none"> <li>o Sensación de adormecimiento de la zona.</li> </ul> </li> </ul>	
<p>• <b>LOS MÁS GRAVES:</b></p>	
<p>Suelen ser los menos frecuentes</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• La parada cardiaca imprevista, con resultado de muerte, coma o daño cerebral irreversible se produce de forma excepcional en pacientes sanos/as. El riesgo es mayor en pacientes con enfermedades cardiacas, edad avanzada y en la cirugía de urgencia.</li> </ul>	

001530

- Reacciones adversas o tóxicas imprevistas a los medicamentos y anestésicos utilizados. Pueden producir descensos de la presión arterial, alteraciones del ritmo cardíaco, aumento de la temperatura corporal, problemas renales y coma.
- En la anestesia regional la punción accidental de una vena o arteria vecina a los nervios provoca hemorragias y hematomas. Esto, a su vez, pueden lesionar los propios nervios. Esta complicación es rara, pero potencialmente grave cuando se produce en la columna vertebral. Puede ser necesaria una operación en la espalda para descomprimir los nervios.
- En raras ocasiones, al realizar la canalización de una vena central o en anestesia regional, se puede producir un neumotórax.

- LOS DERIVADOS DE SUS PROBLEMAS DE SALUD:

**SITUACIONES ESPECIALES QUE DEBEN SER TENIDAS EN CUENTA:**

- Si es usted alérgico a los anestésicos o sospecha que puede serlo debe comunicarlo al/a la médico.
- Las infecciones respiratorias pueden obligar a posponer el procedimiento.
- La infección en la piel cercana a la zona donde se le pinchará contraindica la realización del tratamiento, por lo que debe ponerlo en conocimiento del/de la médico.
- También debe comunicar si toma usted anticoagulantes, padece arritmias cardíacas, o si ha tenido un infarto de miocardio reciente o un neumotórax. Estas situaciones podrían incrementar el riesgo.
- Antes de enfrentarse a una anestesia, es necesario que nos advierta de posibles alergias a medicamentos, alteraciones de la coagulación sanguínea, enfermedades de corazón y pulmón, existencia de prótesis, marcapasos, enfermedades recientes, medicaciones actuales o cualquier otra circunstancia que usted considere importante, y que crea deba saber el/la anestesiólogo/a.

**OTRAS INFORMACIONES DE INTERÉS (a considerar por el/la profesional):**

**OTRAS CUESTIONES PARA LAS QUE LE PEDIMOS SU CONSENTIMIENTO:**

- A veces, durante la intervención, se producen hallazgos imprevistos. Pueden obligar a tener que modificar la forma de hacer la intervención y utilizar variantes de la misma no contempladas inicialmente.
- A veces es necesario tomar muestras biológicas para estudiar mejor su caso. Pueden ser conservadas y utilizadas posteriormente para realizar investigaciones relacionadas con la enfermedad que usted padece. No se usaran directamente para fines comerciales. Si fueran a ser utilizadas para otros fines distintos se le pediría posteriormente el consentimiento expreso para ello. Si no da su consentimiento para ser utilizadas en investigación, las muestras se destruirán una vez dejen de ser útiles para documentar su caso, según las normas del centro. En cualquier caso, se protegerá adecuadamente la confidencialidad en todo momento.
- También puede hacer falta tomar imágenes, como fotos o videos. Sirven para documentar mejor el caso. También pueden

001530

usarse para fines docentes de difusión del conocimiento científico. En cualquier caso serán usadas si usted da su autorización. Su identidad siempre será preservada de forma confidencial.

<b>CENTRO SANITARIO HOSPITAL U. REINA SOFÍA</b>	<b>SERVICIO DE ANESTESIA</b>
<b>1.2 IMÁGENES EXPLICATIVAS</b>	
En este espacio podrán insertarse con carácter opcional imágenes explicativas, esquemas anatómicos, pictogramas etc. que faciliten y permitan explicar de manera más sencilla la información al paciente.	

CENTRO SANITARIO HOSPITAL U. REINA SOFÍA		SERVICIO DE ANESTESIA
<b>2</b>	<b>CONSENTIMIENTO INFORMADO</b>	
<b>2.1</b>	<b>DATOS DEL/DE LA PACIENTE Y DE SU REPRESENTANTE</b> (sólo en caso de incapacidad del/de la paciente)	
APELLIDOS Y NOMBRE, DEL PACIENTE		DNI / NIE
APELLIDOS Y NOMBRE, DEL/DE LA REPRESENTANTE LEGAL		DNI / NIE

<b>2.2</b>	<b>PROFESIONALES QUE INTERVIENEN EN EL PROCESO DE INFORMACIÓN Y/O CONSENTIMIENTO</b>	
APELLIDOS Y NOMBRE	FECHA	FIRMA
APELLIDOS Y NOMBRE	FECHA	FIRMA
APELLIDOS Y NOMBRE	FECHA	FIRMA
APELLIDOS Y NOMBRE	FECHA	FIRMA
APELLIDOS Y NOMBRE	FECHA	FIRMA

<b>2.3</b>	<b>CONSENTIMIENTO</b>
Yo, D/Dña _____, manifiesto que estoy conforme con la intervención que se me ha propuesto. He leído y comprendido la información anterior. He podido preguntar y aclarar todas mis dudas. Por eso he tomado consciente y libremente la decisión de autorizarla. También sé que puedo retirar mi consentimiento cuando lo estime oportuno.	
<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO Autorizo a que se realicen las actuaciones oportunas, incluyendo modificaciones en la forma de realizar la intervención, para evitar los peligros o daños potenciales para la vida o la salud, que pudieran surgir en el curso de la intervención.	
<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO Autorizo la conservación y utilización posterior de mis muestras biológicas para investigación relacionada directamente con la enfermedad que padezco.	
<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO Autorizo que, en caso de que mis muestras biológicas vayan a ser utilizadas en otras investigaciones diferentes, los investigadores se pongan en contacto conmigo para solicitarme consentimiento.	
<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO Autorizo la utilización de imágenes con fines docentes o de difusión del conocimiento científico.	
NOTA: Márquese con una cruz.	
En _____	a _____ de _____ de _____
EL/LA PACIENTE	EL/LA REPRESENTANTE LEGAL (sólo en caso de incapacidad del paciente)
Fdo.:	Fdo.:

001530

CENTRO SANITARIO HOSPITAL U. REINA SOFÍA	SERVICIO DE ANESTESIA
---	--------------------------

<b>2.4</b>	<b>RECHAZO DE LA INTERVENCIÓN</b>
Yo, D/Dña. _____, no autorizo a la realización de esta intervención. Asumo las consecuencias que de ello puedan derivarse para la salud o la vida.	
En _____ a _____ de _____ de _____	
EL/LA PACIENTE	EL/LA REPRESENTANTE LEGAL (sólo en caso de incapacidad del paciente)
Fdo.: _____	Fdo.: _____

<b>2.5</b>	<b>REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO</b>
Yo, D/Dña _____, de forma libre y consciente he decidido retirar el consentimiento para esta intervención. Asumo las consecuencias que de ello puedan derivarse para la salud o la vida.	
En _____ a _____ de _____ de _____	
EL/LA PACIENTE	EL/LA REPRESENTANTE LEGAL (sólo en caso de incapacidad del paciente)
Fdo.: _____	Fdo.: _____

# **HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE**

## **PARTICIPACIÓN EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN**

**Título del trabajo:** Daño endotelial en pacientes obesos en respuesta al estrés quirúrgico

**Investigadora responsable:** Dra. María Victoria Noci Sánchez

### **Introducción**

Este estudio se realiza para saber la repercusión que tiene la cirugía sobre los vasos sanguíneos, cómo se lesionan, si es que se lesionan con la operación, cómo se reparan, y si ya están dañados previamente por la edad, la hipertensión, el colesterol y la obesidad.

### **¿Cual es el objetivo de este estudio?**

Saber si con el simple análisis de sangre del preoperatorio, podemos obtener información del estado basal del sistema circulatorio, de los vasos sanguíneos del paciente.

### **¿Estoy obligado a participar?**

Su participación en este estudio es completamente voluntaria. Puede negarse a participar en el mismo, sin tener que dar explicaciones y sin que ello tenga consecuencias sobre su tratamiento ni sobre la calidad de la asistencia que seguirá recibiendo de su médico. Si accede a tomar parte en el estudio, se le entregará este documento informativo para que lo guarde y se le pedirá que firme un formulario de consentimiento. Esta decisión no afectará a los cuidados que reciba ni a su tratamiento.

### **¿Que tengo que hacer?**

En el estudio se recogerán muestras de sangre, datos clínicos sobre su enfermedad, información relativa a la medicación que toma y datos analíticos solicitados por su médico.

### **¿Cuáles son los riesgos o inconvenientes de participar?**

No corre ningún riesgo por participar en el estudio, su médico no cambiará la atención ni el tratamiento que recibe.

### **¿Cuáles son las ventajas de participar?**

Esperamos que la información obtenida en el presente estudio nos proporcione datos suficientes que nos permita comprender y mejorar el diagnóstico y el tratamiento de las enfermedades de los vasos sanguíneos

### **¿Será confidencial mi participación en este estudio?**

Si accede a formar parte del estudio, se mantendrá su anonimato. Solo conocerán su nombre el médico y el personal que depende de él. Este estudio se llevará a cabo de acuerdo a la normativa de la Ley Orgánica 15/1999 del 13 de Diciembre sobre la Protección de Datos Personales. El paciente tiene derecho de acceso, rectificación y cancelación de sus datos en cualquier momento.

### **¿Qué se hará con los resultados del estudio de investigación?**

Si los resultados de la investigación llegan a publicarse, su identidad será confidencial. Si es necesario referirse a usted, se utilizarán códigos numéricos que no permitan su identificación.

### **Información Adicional**

Si desea comentar en algún momento con detalle este estudio, además de su médico habitual, puede dirigirse a la Dra. María Victoria Noci Sánchez en el teléfono 957736541

Gracias por su atención. Si accede a participar en este estudio, su médico le entregará una copia de esta hoja de información para el paciente y una copia firmada del consentimiento informado

## FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

**Título del proyecto: Daño endotelial en pacientes obesos en respuesta al estrés quirúrgico**

**Investigador Principal: MARÍA VICTORIA NOCI SÁNCHEZ**

Yo, .....(nombre del paciente).

-He leído la hoja de información que se me ha entregado.

-He podido hacer preguntas sobre el estudio.

-He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con el Dr.....(nombre del investigador)

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

-cuando quiera.

-sin tener que dar explicaciones.

-sin que ello repercuta en mis cuidados médicos.

Por todo ello presto libremente mi conformidad para participar en el estudio

Fecha \_\_/\_\_/\_\_

Fecha \_\_/\_\_/\_\_

Firma del paciente

Firma del investigador