



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

MÁSTER EN ASISTENCIA E INVESTIGACIÓN SANITARIA

ESPECIALIDAD: BIOMEDICINA

Curso académico 2019-2020

TRABAJO DE FIN DE MÁSTER

**Cambios en la expresión génica de FGF21 y
sus receptores en el tejido adiposo de
pacientes obesos sometidos a cirugía
bariátrica**

SARA FERNÁNDEZ PORTEIRO

24 DE JULIO DE 2020

Dra. Dña. Susana Sangiao Alvarellos, profesora contratada Doctora del Área de Fisiología, Departamento Fisioterapia, Medicina y Ciencias Biomédicas, en la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad de A Coruña,

y Dña. Paula Juiz Valiña, profesora contratada predoctoral (FPU) del Área de Fisiología, Departamento de Fisioterapia, Medicina y Ciencias Biomédicas, en la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad de A Coruña.

Certifican que:

el presente Trabajo de Fin de Máster que lleva por título: “Cambios en la expresión génica de FGF21 y sus receptores en el tejido adiposo de pacientes obesos sometidos a cirugía bariátrica”, elaborado por Dña. Sara Fernández Porteiro, ha sido realizado bajo nuestra dirección y estimamos que se encuentra concluido y en condiciones de ser presentado.

Y para que conste, firmamos la presente autorización en

A Coruña, 24 de Julio de 2020

Fdo.: Dra. Susana Sangiao Alvarellos

Fdo.: Dña. Paula Juiz Valiña

Introducción	10
LA OBESIDAD.....	10
Definición	10
Diagnóstico y clasificación	10
Etiopatogenia	11
EL TEJIDO ADIPOSO	11
ADIPOGÉNESIS	14
REGULACIÓN DE LA INGESTA DE ALIMENTOS	15
Sistema de regulación a largo plazo	16
Sistema de regulación a corto plazo	18
TRATAMIENTOS PARA LA OBESIDAD.....	19
FGFs	21
FGF21	23
Objetivos	26
Material y métodos	27
PACIENTES	27
EXTRACCIÓN DE ARN.....	28
RETROTRANSCRIPCIÓN	30
RT-qPCR.....	31
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	33
Resultados y Discusión	35
CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES.....	35
EXPRESIÓN DE LOS GENES DE REFERENCIA EN EL TEJIDO ADIPOSO	35
EXPRESIÓN DE <i>FGF21</i> EN EL TEJIDO ADIPOSO SUBCUTÁNEO ANTES Y DESPUÉS DE LA CIRUGÍA BARIÁTRICA.	36

EXPRESIÓN DE <i>FGFR1</i> Y <i>KLB</i> EN EL TEJIDO ADIPOSO SUBCUTÁNEO ANTES Y DESPUÉS DE LA CIRUGÍA BARIÁTRICA.	40
COMPARACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE <i>FGF-21</i> , <i>FGFR1</i> Y <i>KLB</i> ENTRE EL TEJIDO ADIPOSO SUBCUTÁNEO Y VISCERAL	44
Conclusiones	47
Referencias Bibliográficas	48
Anexo	53

Índice de figuras

Figura 1. Tipo de adipocitos.....	14
Figura 2. Diferenciación de preadipocitos en adipocitos maduros.....	15
Figura 3. Esquema de evolución del eje metabólico FGF.....	22
Figura 4. Funciones metabólicas de FGF21	24
Figura 5- Programa de RT-qPCR.	32
Figura 6. Expresión de FGF21.....	39
Figura 7. Nivel de expresión génica de FGFR1	41
Figura 8. Expresión de KLB.....	43

Índice de tablas

Tabla I. Clasificación del peso corporal según la OMS.....	11
Tabla II. Mezcla inicial de la RT para la síntesis de ADNc.....	31
Tabla III. Mezcla final de la RT para la síntesis de ADNc.	31
Tabla IV. Mezcla de la RT-qPCR para SybrGreen.....	32
Tabla V. Secuencias de los cebadores.....	33
Tabla VI. Características de los pacientes (media \pm EEM)	35

Índice de abreviaturas

aa: aminoácidos

ADN: ácido desoxirribonucleico

ADNc: ácido desoxirribonucleico complementario

AGB: banda gástrica ajustable

ANOVA: análisis de la varianza

ARN: ácido ribonucleico

BPD-DS: derivación biliopancreática con/sin cruce duodenal

CCK: colecistoquinina

C/EBPs: proteínas de unión al potenciador de CCAAT.

CEIC: Comité Ético de Investigación Clínica

CHUAC: Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña

COVID-19: enfermedad por coronavirus 2019

CT: tomografía computarizada

DM2: diabetes *mellitus* tipo 2

dNTPs: desoxirribonucleótidos trifosfato

EEM: error estándar de la media

FBXL10: *F-Box* y proteína repetida rica en leucina 10

FDA: *Food and Drug Administration*

FGF: factor de crecimiento de fibroblastos

FGF4: factor de crecimiento de fibroblastos 4

FGF13: factor de crecimiento de fibroblastos 13

FGF19: factor de crecimiento de fibroblastos 19

FGF21: factor de crecimiento de fibroblastos 21

FGF23: factor de crecimiento de fibroblastos 23

FGFR: receptor del factor de crecimiento de fibroblastos

FGFR1: receptor 1 del factor de crecimiento de fibroblastos

FHF: factor homólogo del factor de crecimiento de fibroblastos

FXR: receptor farnesoide X

Gen-: control de ADN genómico

GH: hormona de crecimiento

GLP-1: péptido análogo al glucagón tipo 1

HOMA-IR: índice de resistencia a la insulina

HPRT1: hipoxantina guanina fosforribosiltransferasa 1

IFSO: Federación Internacional de Cirugía de la Obesidad

IMC: índice de masa corporal

IPO8: importina 8

KLB: *klotho* beta

OMS: Organización Mundial de la Salud

PET: tomografía por emisión de positrones

PPAR α : receptor alfa activado por el proliferador de peroxisomas

PPAR γ : receptor gamma activado por el proliferador de peroxisomas

PPIA: ciclofilina A

RT: retrotranscripción

RT-: control de retrotranscripción

RT-qPCR: reacción en cadena de polimerasa cuantitativa en tiempo real

RYGB: baipás gástrico en Y de Roux

RXR: receptor X retinoide alfa

SECO: Sociedad Española de Cirugía de la Obesidad

SNC: sistema nervioso central.

TAB: tejido adiposo blanco

TAE: tris-acetato-ácido etilendiaminotetraacético

TAM: tejido adiposo marrón

TAS: tejido adiposo subcutáneo

TAS-preB: tejido adiposo subcutáneo antes de la cirugía bariátrica

TAS-postB: tejido adiposo subcutáneo después de la cirugía bariátrica y tras la pérdida de peso

TAV: tejido adiposo visceral

TAV-preB: tejido adiposo visceral antes de la cirugía bariátrica

UCP1: proteína desacoplante 1

VSG: gastrectomía vertical en manga

Resumo

A obesidade é unha enfermidade caracterizada por un aumento da graxa corporal asociada a progresión de diversas enfermidades crónicas como o diabetes *mellitus* do tipo 2 (DM2). O seu manexo é moi complexo e a pesar de existir varios tratamentos, a cirurxía bariátrica é a única que presenta altas taxas de éxito, tanto reducindo o exceso de graxa corporal, como as comorbilidades asociadas como DM2, que se pode corrixir incluso antes de que se produza unha perda de peso importante. Os mecanismos que conducen a esta mellora aínda non están claros, pero suxeríuse a implicación de diferentes factores de crecemento de fibroblastos (FGF), entre eles o FGF21.

O obxectivo principal deste traballo foi analizar os niveis de expresión xénica mediante RT-qPCR de *FGF21* e os seus receptores (*FGFR1* e *KLB*) en tecido adiposo subcutáneo (TAS) de pacientes con obesidade mórbida antes e despois da perda de peso inducida por cirurxía bariátrica. Ademais, comparáronse os niveis de expresión tanto de *FGF21* como dos seus receptores entre depósitos adiposos subcutáneos e viscerais durante a obesidade.

Os nosos resultados mostran que a expresión *FGF21* diminúe no TAS despois da perda de peso inducida pola cirurxía bariátrica, mentres que os niveis de *KLB* aumentan e non hai diferenzas para *FGFR1*. Durante a obesidade, a expresión *FGF21* é maior no TAS que no TAV, sendo a expresión dos seus receptores semellantes en ambos os depósitos graxos.

En conclusión, os datos obtidos apuntan a que tras a cirurxía bariátrica mellora a resistencia a FGF21 que presentan os pacientes obesos; mellora que podería deberse a un aumento en *KLB*.

Resumen

La obesidad es una enfermedad caracterizada por el aumento de grasa corporal que está asociada a la progresión de diversas patologías crónicas como la diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2). Su manejo es muy complejo y a pesar de existir diversos tratamientos, la cirugía bariátrica es el único que presenta altas tasas de éxito, tanto disminuyendo el exceso de grasa corporal, como las comorbilidades asociadas como la DM2, que puede llegar a corregirse incluso antes de que ocurran pérdidas de peso significativas. Los mecanismos que llevan a esta mejora todavía no están esclarecidos, pero se ha sugerido la implicación de distintos factores de crecimiento de fibroblastos (FGF), entre ellos el FGF21.

El objetivo principal de este trabajo fue analizar los niveles de expresión génica mediante RT-qPCR de *FGF21* y sus receptores (*FGFR1* y *KLB*) en el tejido adiposo subcutáneo (TAS) de pacientes obesos mórbidos antes y después de la pérdida de peso inducida por la cirugía bariátrica. Por otra parte, también se compararon los niveles de expresión tanto de *FGF21*, como de sus receptores, entre los depósitos adiposos subcutáneo y visceral (TAV) durante la obesidad.

Nuestros resultados muestran que la expresión de FGF21 disminuye en el TAS tras la pérdida de peso inducida por cirugía bariátrica, mientras que los niveles de KLB aumentan y no hay diferencias para FGFR1. Durante la obesidad, la expresión de FGF21 es mayor en TAS que en TAV, y la expresión de sus receptores es similar en ambos depósitos grasos.

En conclusión, los datos obtenidos indican que después de la cirugía bariátrica, la resistencia a FGF21 en pacientes obesos mejora; mejora que podría deberse a un aumento en la expresión de KLB.

Abstract

Obesity is a disease characterized by an increase in body fat which is associated with the progression of various chronic diseases such as Type 2 Diabetes *Mellitus* (DM2). Its management is very complex and despite of the existence of various treatments, bariatric surgery is the only one that presents high success rates, both reducing excess body fat, and associated comorbidities such as DM2, which can be corrected even before significant weight loss occurs. The mechanisms leading to this improvement are still unclear, but the involvement of different fibroblast growth factors (FGF), including FGF21, has been suggested.

The main goal of this essay was analyse the levels of gene expression by RT-qPCR of FGF21 and its receptors (FGFR1 and KLB) in subcutaneous adipose tissue (SAT) of morbidly obese patients before and after weight loss induced by bariatric surgery. Moreover, the expression levels of FGF21 and its receptors were also compared between subcutaneous and visceral adipose deposits during obesity.

Our results show that FGF21 expression decreases in SAT after weight loss induced by bariatric surgery, KLB expression levels increases and there are no differences for FGFR1. During obesity, FGF21 expression is higher in SAT than in VAT, the expression of its receptors being similar in both adipose tissue depots.

In conclusion, the data obtained suggests that after bariatric surgery resistance to FGF21 improves in obese patients and this improvement could be due to an increase in KLB expression levels.

Introducción

LA OBESIDAD

Definición

La obesidad es una enfermedad crónica multifactorial que constituye una de las primeras causas de mortalidad en los países llamados del primer mundo y, en los países en vías de desarrollo, se está convirtiendo en un grave problema de salud pública considerándose una de las grandes epidemias del siglo XXI (Lechea, 2019).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define la obesidad como la acumulación anormal o excesiva de grasa corporal que genera un riesgo para la salud ("Organización Mundial de la Salud," 2020). En otras palabras, podríamos describir la obesidad como el desequilibrio entre el aporte y el gasto de energía durante un largo plazo de tiempo, lo que produce un balance energético positivo (Lechea, 2019).

La obesidad sostenida en el tiempo se asocia con una mayor prevalencia de condiciones patológicas crónicas, tales como la hipertensión arterial, diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2), cáncer, enfermedades respiratorias, etc. Además, a mayor grado de obesidad, la morbilidad y mortalidad por estas enfermedades se incrementa (Chooi, Ding, & Magkos, 2019).

Diagnóstico y clasificación

El criterio más utilizado en la actualidad para estimar la cantidad de grasa corporal de una persona, y por lo tanto determinar si su peso está dentro del rango normal, es el sugerido por la OMS, que utiliza el índice de masa corporal (IMC) para establecer las diferentes categorías de peso corporal (Tabla I). El IMC se calcula dividiendo el peso (kg) entre el cuadrado de la talla (m²). Sin embargo, el uso del IMC está limitado a adultos, siendo

desaconsejable su uso en niños y en deportistas o personas con un porcentaje de masa muscular superior a la media. Aquellas personas que poseen un IMC igual o superior a 30 kg/m² se consideran obesas. A partir de 40 kg/m² se clasifica como obesidad mórbida ("Organización Mundial de la Salud," 2020).

Tabla I. Clasificación del peso corporal según la OMS ("Organización Mundial de la Salud," 2020).

Clasificación	IMC (kg/m²)
Normopeso	18,5-24,9
Sobrepeso	25-29,9
Obesidad grado I o moderada	30-34,9
Obesidad grado II o severa	35-39,9
Obesidad grado III o mórbida	≥ 40

IMC, índice de masa corporal.

Etioopatogenia

La etiología de la obesidad es compleja y de naturaleza multifactorial, numerosos factores interrelacionan en el desarrollo de dicha enfermedad como causas genéticas, metabólicas, endocrinas, medioambientales y de comportamiento, las cuales pueden afectar al balance energético, alterándolo; otros factores que se han asociados con el desarrollo y mantenimiento de la obesidad son medicamentos, factores emocionales, edad, embarazo, falta de sueño o una inadecuada nutrición intrauterina (Lecube et al., 2017).

EL TEJIDO ADIPOSO

El tejido adiposo es un órgano morfológicamente único que acumula lípidos en respuesta al estado energético positivo del organismo. Es una variedad de tejido conjuntivo que está formado mayoritariamente por un

grupo de células que reciben el nombre de adipocitos (Murawska-Ciałowicz, 2017).

Los adipocitos se consideran un componente principal en el control homeostático del metabolismo, teniendo un profundo impacto en el metabolismo de otros tejidos, la regulación del apetito, la sensibilidad a la insulina, las respuestas inmunológicas y la enfermedad vascular (Arrizabalaga et al., 2003; Goossens, 2017). Su función principal es controlar el equilibrio energético almacenando triacilgliceroles en períodos de exceso de energía y movilizándolos durante períodos de restricción calórica. Además de esta función clásica como órgano de reserva energética, el descubrimiento de la leptina y su secreción por parte del tejido adiposo, así como la producción de numerosas hormonas conocidas como adipoquinas, demostró que el tejido adiposo es un órgano endocrino que regula una gran variedad de funciones biológicas (Kojta, Chacińska, & Błachnio-Zabielska, 2020).

El aumento del tejido adiposo se puede producir tanto por un aumento en el tamaño de los adipocitos, debido a la acumulación de lípidos en su interior (hipertrofia), como por un incremento en el número de los mismos (hiperplasia), debido a un proceso de diferenciación celular (Ghaben & Scherer, 2019).

En función de características morfológicas y funcionales podemos diferenciar dos tipos de tejido adiposo: el tejido adiposo blanco (TAB) y el tejido adiposo marrón (TAM) (Figura 1A y 1B). Un buen equilibrio entre ambos es importante para mantener la homeostasis energética (Esteve Rafols, 2014).

Como ya se ha mencionado, el tejido adiposo blanco tiene como función principal el depósito energético, pero también tiene otras funciones, además de actuar como órgano endocrino, como aislar y proporcionar protección mecánica a algunos órganos vitales. Los adipocitos de este tejido son células redondeadas grandes (25-200 micras), caracterizadas por poseer una gran gota lipídica unilocular rodeada por una fina capa de

citoplasma, pocas mitocondrias y un núcleo plano y desplazado a la periferia (Figura 1A). El TAB se encuentra distribuido por todo el cuerpo humano, y se divide en dos grandes tipos: subcutáneo y visceral. La distribución visceral se ha asociado con la resistencia a la insulina y es un predictor de la misma, pero también se ha encontrado que la distribución del tejido adiposo subcutáneo abdominal tiene relación con la resistencia a la insulina y otras enfermedades metabólicas. Es por ello que el aumento de la adiposidad central es de importancia en este tipo de patologías (Vegiopoulos, Rohm, & Herzig, 2017).

El tejido adiposo marrón se caracteriza por disipar energía con la formación de calor, es decir, es el encargado de llevar a cabo la termogénesis adaptativa a través de la lipólisis. Los adipocitos de la grasa marrón son células más pequeñas (15-60 micras), con un núcleo central, forma poligonal, gotas lipídicas multiloculares y múltiples mitocondrias que le brindan el color marrón característico, debido a la cantidad apreciable de citocromos, y que permiten la función termorreguladora (Figura 1B) (Vegiopoulos et al., 2017).

Durante muchos años se consideró que el TAM era importante únicamente en mamíferos que sufren procesos de hibernación y en humanos durante la etapa neonatal, siempre para prevenir fenómenos de hipotermia. Sin embargo, en los últimos años se ha demostrado que el tejido adiposo pardo también es funcional en adultos, encontrándose en pequeñas cantidades en la región supraclavicular, cuello profundo y en la región perirrenal. Para llevar a cabo esta identificación se han usado técnicas moleculares, mediante el estudio de la expresión de la proteína desacoplante 1 (UCP1), una proteína presente en las mitocondrias del TAM cuya función es generar calor. Otra técnica que ha resultado de especial utilidad para estudiar la presencia del TAM es la técnica de tomografía por emisión de positrones/tomografía computarizada (PET/CT). Para la toma de imágenes en esta prueba el paciente debe estar primero en condiciones de termoneutralidad y posteriormente expuesto a bajas temperaturas, de este modo se constató que la grasa

marrón está presente y se activa alrededor de la médula espinal y en las regiones intercostales en humanos adultos (Scheele & Nielsen, 2017).

Recientemente, se descubrió la existencia de un tercer tipo de células grasas denominada adipocitos beige o *brite* (*brown in white*) con morfología de adipocitos pardos en el tejido adiposo blanco (Figura 1C). La adquisición de este fenotipo similar a los adipocitos pardos se produce tras la exposición al frío, estimulación de receptores β -adrenérgicos o por el tratamiento de agonistas del receptor gamma activado por el factor proliferador de peroxisomas (PPAR γ), en un proceso denominado pardeamiento (*browning*) del tejido adiposo (Fasshauer & Bluher, 2015).

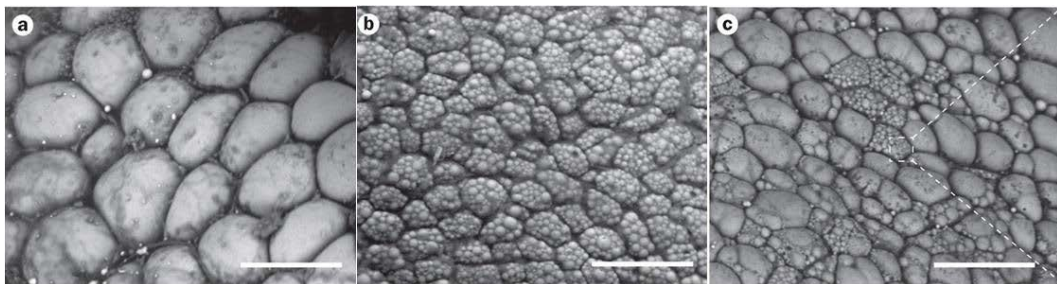


Figura 1. Tipo de adipocitos. A) Adipocitos blancos con una sola gota de lípídica; B) Adipocitos marrones multiloculares; C) Adipocitos beige tras estímulo farmacológico β -adrenérgico del TAB inguinal. Microfotografía de microscopio de barrido. Barra de escala: 50 μ m. Fotografía tomada de (Bartelt & Heeren, 2014).

ADIPOGÉNESIS

La línea adiposa se empieza a formar antes del nacimiento, y en la etapa postnatal se empieza a expandir tanto por incremento del número de adipocitos como por el aumento en su tamaño, tal como mencionamos anteriormente (Ghaben & Scherer, 2019).

La adipogénesis es el proceso por el cual las células madres precursoras, células de origen mesenquimal fusiformes o estrelladas como los preadipocitos, se diferencian en adipocitos maduros (Figura 2A); requiere

la activación secuencial de numerosos factores de transcripción (Figura 2B), que permiten la progresión desde un estado primitivo y multipotente, a un fenotipo final caracterizado por un cambio en la forma celular y en la acumulación lipídica. Para alcanzar la madurez, estas células deben pasar por dos pasos vitales: determinación de adipocitos y diferenciación de adipocitos (Esteve Rafols, 2014).

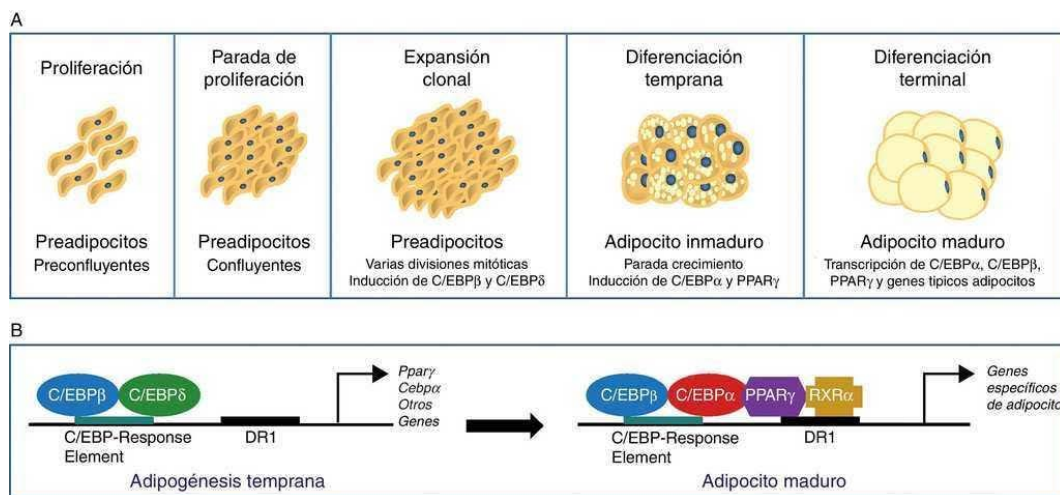


Figura 2. Diferenciación de preadipocitos en adipocitos maduros. A) Esquema del proceso de transición de preadipocito a adipocito maduro indicando diferentes estadios. B) Modelo secuencial del control transcripcional durante la adipogénesis. PPARγ, receptor gamma activado por el factor proliferador de peroxisomas; C/EBPs, proteínas de unión al potenciador CCAAT; RXR, receptor X retinoide alfa. Modificado de (Esteve Rafols, 2014).

REGULACIÓN DE LA INGESTA DE ALIMENTOS

La regulación orgánica de la ingesta energética representa un proceso de vital importancia para el adecuado funcionamiento celular, ya que posibilita el equilibrio necesario entre la cantidad de energía almacenada en forma de grasa corporal y el catabolismo de la misma. En determinadas ocasiones, la cantidad de energía ingerida no se correlaciona con el gasto energético diario, debido a factores relacionados con el estilo de vida, medioambientales, socioeconómicos y culturales, entre otros, lo que a largo plazo acaba provocando alteraciones en el

peso corporal. En el control de la ingesta pueden diferenciarse dos sistemas de regulación, uno a corto plazo y otro a largo plazo (González-Jiménez & Schmidt Río-Valle, 2012).

Sistema de regulación a largo plazo

La regulación a largo plazo se basa en las señales periféricas de adiposidad, proporcionales al tamaño de las reservas energéticas en forma de tejido adiposo. En este sistema destacan especialmente tres hormonas: la insulina, la leptina y la ghrelina (Basain-Valdés et al., 2017).

La insulina

La insulina es una hormona peptídica de 5,8 KDa, se secreta en las células β -pancreáticas, en respuesta a los nutrientes circulantes (glucosa y aminoácidos (aa)) y a otras hormonas. En su forma activa consta de dos cadenas polipeptídicas: la A, de 20 aa y la B, de 31 aa. Además de su función principal regulando la glucemia, tiene un papel muy importante en la regulación del metabolismo, del balance energético y de la adiposidad corporal a largo plazo, estimulando la lipogénesis, disminuyendo la lipólisis y aumentando el transporte de aminoácidos en las células (González-Jiménez & Schmidt Río-Valle, 2012).

Los sujetos obesos, ante una misma cantidad de glucosa, suelen presentar una secreción de insulina más elevada que los individuos con normopeso, por lo que los niveles plasmáticos de insulina serán proporcionales, además de a la ingesta reciente, a la grasa corporal (González-Jiménez & Schmidt Río-Valle, 2012).

La leptina

La leptina es un péptido de 16 kDa y que consta de 167 aa, secretada por el tejido adiposo en función de la cantidad total de masa grasa, del

tamaño de los adipocitos y de su contenido en triglicéridos, por lo que aumenta en obesos y disminuye con la pérdida de peso (González-Jiménez & Schmidt Río-Valle, 2012).

A través de esta hormona, el hipotálamo ejerce un efecto controlador del estado nutricional del organismo, modulando la ingesta y contrarrestando un potencial balance energético positivo. Para ello, la leptina provoca una activación de los sistemas efectores catabólicos. Éstos van a provocar una reducción de la adiposidad inhibiendo el apetito, estimulando el gasto energético e inhabilitando los sistemas efectores anabólicos, cuyo objetivo es aumentar la adiposidad corporal (vía aumento de apetito), y favoreciendo así el proceso de lipólisis del tejido adiposo. Sin embargo, durante la obesidad se genera un fenómeno de resistencia a la leptina, al igual que ocurre con la insulina, evitando de este modo que cumpla su función anorexigénica y catabólica a pesar de existir niveles aumentados de la misma (González-Jiménez & Schmidt Río-Valle, 2012).

La ghrelina

La ghrelina es un péptido de 3,3 kDa y que consta de 28 aa, es la única hormona circulante conocida hasta el momento con acción orexigénica y tras su administración, tanto a nivel central como periférico, aumenta la adiposidad y la ingesta de alimentos. Se secreta principalmente en el estómago (González-Jiménez & Schmidt Río-Valle, 2012).

La ghrelina pertenece a la familia de los secretagogos de la hormona del crecimiento (GH), sin embargo, su efecto sobre la adiposidad es independiente de la GH e implica los circuitos neuronales que controlan la ingesta de alimentos, el gasto de energía y la partición de nutrientes. Al igual que la leptina, ha sido implicada directamente en el control a corto y largo plazo de la ingesta. En cuanto a su liberación, los niveles más elevados de la hormona se corresponden con períodos de ayuno o estados de caquexia en los que se genera una sensación de hambre, siendo por el contrario baja su concentración en sujetos obesos y en

individuos sanos tras una ingesta de nutrientes (González-Jiménez & Schmidt Río-Valle, 2012).

Sistema de regulación a corto plazo

En los humanos, la ingesta diaria de alimentos varía en función del tamaño, frecuencia y composición de las comidas. Desde que percibimos los alimentos hasta el inicio de su ingesta, va a tener lugar la intervención de toda una serie de señales sensitivas, señales que a través de los pares craneales van a ser transmitidas hasta el sistema nervioso central (SNC) (González-Jiménez & Schmidt Río-Valle, 2012). La información sensorial que se produce en el tracto digestivo con el paso de la comida converge toda ella en el cerebro, se procesa y da inicio a procesos que se traducen en respuestas conductuales de necesidad nutricional o de saciedad a través de reflejos vagales aferentes al tallo. El polipéptido pancreático, la amilina y el glucagón, secretados por el páncreas endocrino, también inducen saciedad (Basain-Valdés et al., 2017).

La disminución de los niveles de glucosa y lípidos en sangre se considera como el principal elemento propiciador de la sensación de hambre y en consecuencia del comienzo de la ingesta (Basain-Valdés et al., 2017).

Podemos diferenciar dos tipos de señales de la ingesta:

- 1) **Señales mecánicas:** debidas a la distensión gástrica transmitidas a través de las vías aferentes del nervio vago (Guyenet & Schwartz, 2012).
- 2) **Señales químicas:** derivadas de los nutrientes y de los osmosensores del intestino delgado y del hígado, transmitidas también a través de las fibras vagales aferentes. El tracto gastrointestinal en respuesta al alimento secreta una gran variedad de péptidos, como la colecistoquinina (CCK) o el péptido análogo al glucagón tipo 1 (GLP-1) que inhiben la ingesta en un corto espacio de tiempo. Los nutrientes

también regulan la ingesta a corto plazo dependiendo de la composición, así como las propiedades físicas del alimento, por lo que pueden afectar a la intensidad y duración de la sensación de saciedad (Basain-Valdés et al., 2017).

TRATAMIENTOS PARA LA OBESIDAD

Existen varios tratamientos que se centran en reducir y controlar el peso de las personas que sufren obesidad, el más evidentes es un cambio en el estilo de vida combinando una dieta adecuada con ejercicio físico. De este modo, se pierde más grasa, se gana y/o mantiene la masa muscular y se evita la "reganancia" de peso cuando se vuelve a la dieta habitual. Los tratamientos de modificación de la conducta se centran principalmente en (Córdoba García et al., 2016):

1. Consumir una dieta hipocalórica.
2. Mantenerse activos. La actividad física facilita el gasto de energía, ayuda a mantener y mejorar la masa muscular y, por tanto, ayuda a la dieta en la reducción de peso.
3. Modificar los hábitos alimentarios y de actividad física para garantizar el mantenimiento del peso conseguido. Para que al dejar de consumir la dieta hipocalórica el consumo habitual no se traduzca de nuevo en un incremento de peso.

Existen también tratamientos farmacológicos contra la obesidad. El descubrimiento de la leptina abrió un nuevo marco de investigación puesto que su deficiencia está directamente asociada con la obesidad, tanto en animales como en seres humanos. Sin embargo, el tratamiento con leptina revierte la enfermedad en individuos con déficit de esta, pero no es efectivo en individuos con niveles normales de leptina, puesto que, como ya se ha comentado, los pacientes obesos desarrollan resistencia a esta hormona (Bray et al., 2018).

Según la *Food and Drug Administration* (FDA) los medicamentos se pueden dividir en dos grupos según estén aprobados para un tratamiento a largo o a corto plazo. El primero incluye fármacos como el orlistat, lorcaserina, liraglutida, la combinación de fentermina-topiramato y la combinación de naltrexona-bupropión, mientras que el segundo grupo consiste en medicamentos simpaticomiméticos que se suelen administrar sólo durante unas semanas (Bray et al., 2018)

Se ha estudiado la aplicación combinada de varios medicamentos (generalmente en pares), como las parejas fentermina-topiramato y naltrexona-bupropión. Se ha demostrado que actúan de manera aditiva o sinérgica sobre mecanismos neurales implicados en la pérdida de peso (Heymsfield & Wadden, 2017).

Sin embargo, el tratamiento farmacológico para la obesidad se debe contemplar únicamente como complemento de un cambio en el estilo de vida (Dietz et al., 2015).

No obstante, estos tratamientos no siempre resultan efectivos y, ante determinados casos, el único tratamiento posible y/o efectivo pasa a ser quirúrgico. Varios estudios revelan que el tratamiento quirúrgico aporta beneficios como descenso de la glucemia y la presión arterial, disminución o resolución de la apnea del sueño, reducción de la carga de trabajo del corazón, regulación de los niveles de colesterol, así como una mayor pérdida de peso y una mayor tasa de remisión de comorbilidades en comparación con el tratamiento dietético y farmacológico (Bray et al., 2018).

La Federación Internacional de Cirugía de la Obesidad (IFSO) reconoce como “procedimientos cualificados” los siguientes (Díez et al., 2015):

- Banda gástrica ajustable (AGB).
- Gastrectomía vertical en manga (VSG).
- Baipás gástrico en Y de Roux (RYGB).
- Derivación biliopancreática con/sin cruce duodenal (BPD-DS).

La cirugía bariátrica tiene efectos sobre la salud en general tanto a corto como a largo plazo. Tras la cirugía se produce un impacto positivo en el riesgo cardio-metabólico y se corrigen o mejoran problemas metabólicos como la DM2, antes de que ocurran pérdidas de peso significativas, o de modo más efectivo que con tratamientos no quirúrgicos que también logren disminuir el peso corporal (Wolfe, Kvach, & Eckel, 2016).

Los beneficios a largo plazo de la pérdida de peso después de la cirugía bariátrica son indiscutibles; entre las muchas moléculas candidatas consideradas importantes para estos beneficios posquirúrgicos agudos se incluyen las hormonas incretinas, como el GLP-1, el péptido YY y, más recientemente, los niveles circulantes de ácidos biliares o los factores de crecimiento de fibroblastos 19 (FGF19) y 21 (FGF21). Elevaciones en los ácidos biliares circulantes, FGF19 y FGF21 después de los procedimientos quirúrgicos bariátricos puede proporcionar una visión invaluable de las respuestas fisiológicas agudas observadas después de la cirugía (Patton, Khan, & Kohli, 2017).

FGFs

La familia de los FGFs es un grupo vasto y diverso que está formado al menos por 22 miembros que desempeñan papeles pleiotrópicos en la homeostasis celular y metabólica (X. Li, 2019). Los FGFs se pueden clasificar en dos grandes grupos: FGF mitogénicos y metabólicos, que regulan abiertamente la proliferación celular y el metabolismo energético, respectivamente, en base a sus distintas funciones y efectos biológicos finales. Ambas clases de FGFs llevan a cabo sus funciones a través de los mismos tipos de receptores transmembrana tirosín quinasa, es decir, los receptores de FGF (FGFR) 1 a 4. A nivel fisiológico, los FGF mitogénicos parecen ser incapaces de viajar a tejidos lejanos, incluidos los tejidos metabólicos, para promover el metabolismo celular debido a la captura local después de su secreción, que está mediada por la unión de

alta afinidad que produce el heparán sulfato de la matriz extracelular. Por otro lado, los FGF metabólicos circulan, pero están inactivos para los tejidos o células no metabólicos (Figura 3) (X. Li, 2019).

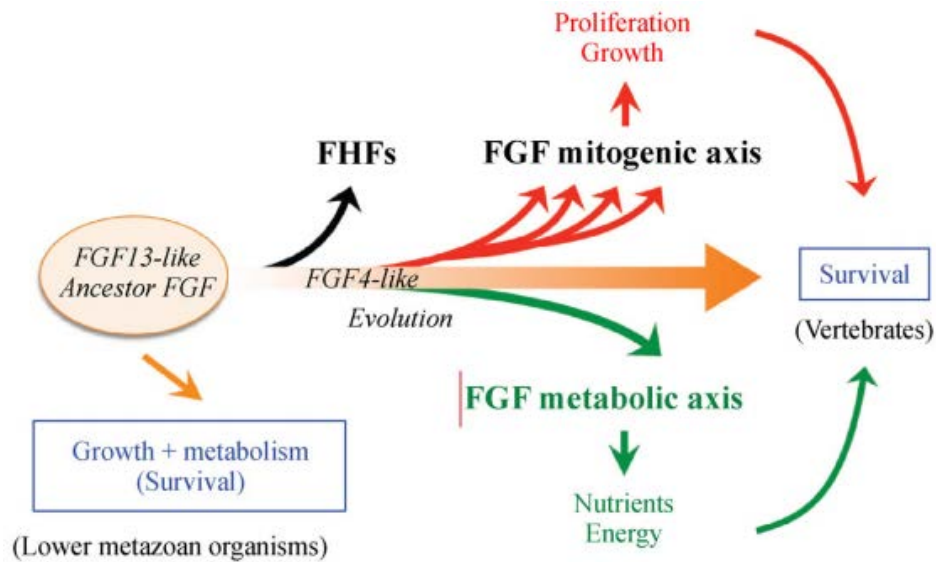


Figura 3. Esquema de evolución del eje metabólico FGF. La familia FGF se origina a partir de una molécula ancestral común similar al FGF13 de metazoos que se bifurca en el llamado subgrupo de factor homólogo de FGF intracrino (flecha negra), que incluye FGF11, 12, 13 y 14 (no mostrados), y la molécula similar a FGF4, la cual se bifurca en dos subgrupos funcionales, el subgrupo metabólico y el mitogénico. Los denominados subgrupos mitogénicos de FGF, incluyen a las subfamilias FGF5, 8, 9 y 10 (flechas rojas), que se unen al heparán sulfato de la matriz extracelular e impulsan la proliferación celular y el crecimiento de la población. Por el contrario, los miembros del subgrupo endocrino de FGF (flecha verde), incluidos FGF19, 21 y 23, actúan en la regulación de la homeostasis metabólica de los ácidos biliares, lípidos, glucosa y minerales sin promover la proliferación directamente. Sin embargo, tanto el eje metabólico como mitogénico están diseñados para promover la supervivencia celular y del organismo en los vertebrados (flechas naranjas y fuente de color azul). FGF13, factor de crecimiento de fibroblastos 13; FGF, factor de crecimiento de fibroblastos; FGF4, factor de crecimiento de fibroblastos 4; FHF, factor homólogo del factor de crecimiento de fibroblastos (X. Li, 2019).

Los miembros del grupo metabólico, formado por FGF19 (o su ortólogo en roedores FGF15), FGF21 y FGF23, actúan como hormonas regulando procesos metabólicos; el descubrimiento relativamente reciente de su potencial endocrino desencadenó el interés por desentrañar su actividad, funciones e interacciones (X. Li, 2019). FGF19 se sintetiza en el intestino delgado distal o el íleon, la vesícula biliar y el cerebro. Su transcripción,

en el íleon, está regulada por los ácidos biliares a través de la interacción con el receptor nuclear, el receptor farnesoide X (FXR). La expresión de FGF19 aumenta con la elevación posprandial en la absorción de ácidos biliares en el intestino delgado distal (Patton et al., 2017).

FGF21

El gen *FGF21* se descubrió por primera vez en ratones y luego se identificó en el genoma humano durante la búsqueda del gen homólogo. El FGF21 humano está compuesto de 209 aa, participa en la homeostasis del metabolismo glucolipídico y energético (Dolegowska, Marchelek-Mysliwiec, Nowosiad-Magda, Slawinski, & Dolegowska, 2019).

Tiene funciones metabólicas (Figura 4) tanto en el estado alimentado como en el privado de alimentos, con su expresión regulada por las señales de ayuno (por ejemplo, glucagón) y de alimentación (por ejemplo, sales biliares). Se ha encontrado que FGF21 induce el pardeamiento del tejido adiposo blanco y activa los adipocitos marrones en respuesta a la exposición al frío, aumentando así la termogénesis. Además, se ha demostrado que FGF21 regula la expresión de adiponectina en los adipocitos y, por lo tanto, afecta sus niveles séricos. También actúa directamente sobre los adipocitos blancos, inhibiendo la lipólisis y estimula la absorción de glucosa (Kojta et al., 2020).

Se expresa principalmente en el hígado y en el TAB donde su transcripción está regulada positivamente por la acción directa de las vías del receptor activado por el proliferador de peroxisomas, incluido el receptor α y receptor γ activado por el proliferador de peroxisomas (PPAR α y PPAR γ , respectivamente) (Patton et al., 2017). La inducción de la expresión de FGF21 por PPAR α y PPAR γ ha sido demostrada tanto por estudios *in vitro* como *in vivo*; también se expresa y, en menor grado, en las células β de los islotes pancreáticos, en el esqueleto, en el timo, músculo, corazón, riñones y testículos (X. Li, 2019).

La unión de FGF21 a sus receptores, como el receptor 1 del factor de crecimiento de fibroblastos (*FGFR1*) o *klotho* beta (*KLB*), activa su señalización en tejidos diana, como el tejido adiposo blanco donde ambos están altamente expresados (H. Li et al., 2018).

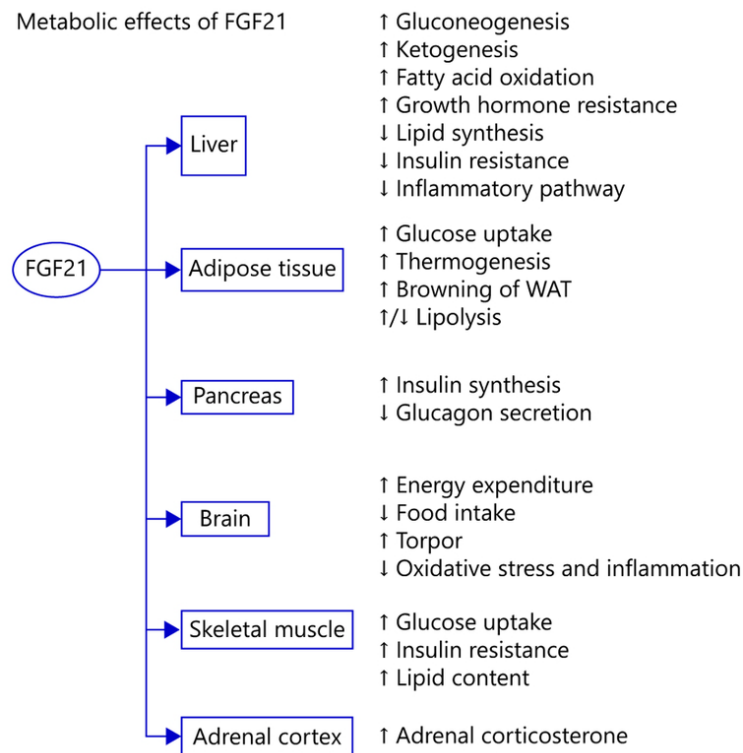


Figura 4. Funciones metabólicas de FGF21 (Patton et al., 2017).

En respuesta a la inanición, FGF21 media los efectos de PPAR α sobre la oxidación de lípidos hepáticos y la cetogénesis, y la inhibición de la lipólisis en el TAB. En el estado alimentado, la expresión de FGF21 se induce en el TAB donde regula la absorción de glucosa independiente de la insulina y la oxidación mitocondrial. La regulación de FGF21 mediante señales de ayuno y alimentación ha llevado a sugerir que es un factor de adaptación nutricional. FGF21 está elevado en obesidad y DM2, pero no existe consenso en la actualidad sobre si los niveles de FGF21 aumentan o disminuyen con la pérdida de peso y/o la normalización de los niveles de insulina (Lips et al., 2014).

A pesar del incremento en el interés sobre la función de FGF21 en el metabolismo, la relación entre la señalización de FGF21 y diferentes estados fisiológicos no está completamente dilucidada. Por ello, nos planteamos llevar a cabo este estudio en el que tratamos de contribuir a la comprensión de la expresión y funciones fisiológicas de FGF21 tras la normalización del peso corporal inducida por la cirugía bariátrica.

Objetivos

Actualmente, la cirugía bariátrica es una intervención terapéutica segura y eficaz para el tratamiento de la obesidad y sus comorbilidades. Su eficiencia, en efectos y durabilidad, es superior a otros tratamientos (como la dieta y el ejercicio) aun consiguiendo pérdidas de peso similares. Sin embargo, cuáles son los procesos que contribuyen a este hecho continúan sin estar completamente esclarecidos. FGF21 se ha sugerido como un posible candidato a mediar estos efectos.

Si tenemos en cuenta que FGF21 puede regular la síntesis de adiponectina, una hormona antidiabética, y además estimular el pardeamiento, y la absorción de glucosa en el tejido adiposo, al mismo tiempo que inhibe la lipólisis, y que tanto FGF21 como sus receptores se expresan en el tejido adiposo, el órgano que sufre una mayor remodelación tras la cirugía bariátrica, en este proyecto nos planteamos los siguientes objetivos:

1. Analizar los niveles de expresión de *FGF21* en el tejido adiposo subcutáneo de pacientes obesos antes y después de la cirugía bariátrica.
2. Analizar los niveles de expresión de los receptores de *FGF21*, *FGFR1* y *KLB*, en el tejido adiposo subcutáneo de pacientes obesos antes y después de la cirugía bariátrica.
3. Comparar los niveles de expresión tanto de *FGF21* como de *FGFR1* y *KLB*, entre los tejidos adiposos subcutáneo y visceral durante la obesidad.

Nota: Uno de nuestros objetivos era analizar los niveles circulantes de FGF21 en pacientes obesos antes y después de la cirugía bariátrica. A causa de la crisis sanitaria de la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19), no se pudo llevar a cabo este objetivo.

Material y métodos

PACIENTES

Los participantes en el estudio fueron pacientes obesos voluntarios reclutados en la consulta externa del servicio de Endocrinología del Complejo Hospitalario Universitario de A Coruña (CHUAC) que cumplían los criterios establecidos por la Sociedad Española de Cirugía de la Obesidad (SECO) para ser sometidos a cirugía bariátrica como tratamiento de su obesidad.

Todos los pacientes que participaron en este estudio recibieron la hoja de información en la que se indicaban las características del estudio y el consentimiento informado (Anexo). Los aspectos éticos de este estudio se adhieren a los principios de la VII Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial (2002) y a los criterios establecidos por el Convenio de Oviedo (1997-2000), así como la legislación española, Ley 14/2007 de Investigación Biomédica. Además, fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) de Galicia (2014/135).

Los parámetros antropométricos obtenidos para el fenotipado de los pacientes fueron el peso, IMC y porcentaje de masa grasa.

Las muestras analizadas en este estudio corresponden únicamente a 13 pacientes debido a la dificultad de conseguir biopsias de grasa una vez que normalizan su peso corporal tras la cirugía bariátrica. En total, para llevar a cabo este trabajo analizamos 13 muestras de grasa subcutánea recogidas el día que los pacientes se sometieron a la operación de cirugía bariátrica. De algunos de estos pacientes también pudimos recoger muestras de grasa visceral durante la operación de cirugía bariátrica.

Una vez que estos pacientes perdieron peso, y su IMC alcanzó valores inferiores a 30 kg/m², se sometieron a operaciones de abdominoplastia,

donde se recogieron muestras de grasa subcutánea; sin embargo, no se obtuvo grasa visceral ya que no se puede alterar el protocolo de las cirugías. En resumen, para llevar a cabo este estudio analizamos un total de 33 muestras:

- Muestras de grasa subcutánea durante la obesidad mórbida: 13 muestras de las cuales 10 pertenecen a mujeres obesas y 3 a hombres obesos.
- Muestras de grasa subcutánea de pacientes que se sometieron a abdominoplastia una vez que normalizaron su peso corporal debido a la cirugía bariátrica: exactamente los mismos pacientes de antes, pero una vez que se normalizó su IMC.
- Muestras de grasa visceral durante la obesidad mórbida: 7 muestras, de las cuales 5 son mujeres obesas y 2 son hombres obesos. Estas 7 muestras se corresponden con pacientes de los cuales obtuvimos muestras de grasa subcutánea. Estas biopsias también se recogieron durante el transcurso de la cirugía bariátrica. Como ya se ha mencionado, tras la pérdida de peso no tenemos muestras de grasa visceral, puesto que esto supondría alterar el protocolo de operación de la abdominoplastia, lo cual no es posible.

Tras la extracción, las muestras se colocaron en hielo seco y se almacenaron a -80 °C hasta su procesamiento para la extracción del ácido ribonucleico (ARN).

EXTRACCIÓN DE ARN

El ARN total se extrajo con el reactivo TRIzol siguiendo las especificaciones del fabricante con ligeras modificaciones:

1. Homogeneizamos 100 mg de tejido graso con 1 ml de TRIzol. Para ello introducimos la muestra y el TRIzol en un microtubo de 2 ml

con dos bolas de zirconio y todo ello se puso en un homogeneizador (*Qiagen Tissue Lyser*), a una frecuencia de 25 Hz, durante 20 minutos.

2. Centrifugamos las muestras a 12000 x g y 4 °C durante 10 minutos, y aspiramos la fase intermedia, eliminando la fase superior (rica en lípidos) y el pellet con restos celulares.
3. Para la fase de separación, añadimos 230 µl de cloroformo (*Sigma-Aldrich*). Mezclamos con el *vortex* durante 1 minuto e incubamos las muestras, a temperatura ambiente, hasta que las fases estuvieron bien diferenciadas. Es de destacar que la extracción de ARN de tejido adiposo (y más en personas con obesidad mórbida) se ve dificultada por el alto contenido de grasa en este tejido, haciendo que el proceso de separación de fases sea más complicado, motivo por el cual realizamos la centrifugación previa explicada en el paso 2.
4. Centrifugamos las muestras a 12000 x g y 4 °C, durante 15 minutos. Transferimos, a un tubo limpio la fase acuosa, con precaución de no contaminarla con la fase intermedia.
5. Para precipitar el ARN, añadimos 500 µl de 2-isopropanol (*Sigma-Aldrich*) y mezclamos por inversión e incubamos durante 30 minutos a -20 °C.
6. Centrifugamos las muestras a 12000 x g y 4 °C durante 10 minutos.
7. Retiramos el sobrenadante y lavamos el pellet con 1 ml de etanol al 75 % (*Merck*).
8. Centrifugamos las muestras a 8000 x g y 4 °C, durante 5 minutos. Retiramos completamente el sobrenadante. Resuspendemos el pellet de ARN en 20 µl de agua estéril libre de ribonucleasas (*Becton Dickinson and Company Sparks*).
9. Finalmente, para resuspender las muestras de ARN, las incubamos a 50 °C, durante 5 minutos y posteriormente las agitamos con un *vortex*.

Tras la extracción, cuantificamos y comprobamos la integridad del ARN. Para la cuantificación empleamos un espectrofotómetro *NanoDrop-200* (*Thermo Scientific*) a 260 nm, verificando las ratios 260/280 y 260/230 para comprobar si existe contaminación con proteínas y fenoles, respectivamente. Examinamos la integridad del ARN mediante geles de agarosa (*Sigma-Aldrich*) al 1,5 % en tampón tris-acetato-ácido etilendiaminotetraacético (TAE) 1X (*Thermo Fisher*).

Diluimos el ARN para obtener un stock de trabajo de 100 ng/ μ l. Almacenamos el ARN diluido a -80 °C hasta su uso.

RETROTRANSCRIPCIÓN

La generación de ácido desoxirribonucleico (ADN) complementario (ADNc) o retrotranscripción (RT) se realizó en un termociclador (*Veriti 96-Well Thermal Cycler Applied Biosystems*) mediante el uso del kit comercial *SuperScript IV Reverse Transcriptase* (*Invitrogen*), siguiendo las instrucciones del fabricante con modificaciones. Además, llevamos a cabo un control de retrotranscripción (RT-), sustituyendo el ARN por el mismo volumen de agua, y un control de ADN genómico (Gen-), sustituyendo la *SuperScript IV reverse transcriptase* por el mismo volumen de agua estéril y empleando una mezcla de las muestras de ARN diluido. El protocolo de la RT se detalla a continuación:

1. Mezclamos los reactivos y el ARN especificados en la Tabla II, obteniendo la mezcla inicial de la RT.
2. Calentamos la mezcla inicial a 65 °C.
3. Retiramos la mezcla inicial del termociclador e incubamos en hielo durante 1 minuto.
4. Incorporamos la mezcla final (Tabla III) a la mezcla inicial obtenida en el paso anterior.
5. El programa final para la síntesis de ADNc fue:
 - 23 °C durante 10 minutos.

- 55 °C durante 20 minutos.
- 80°C durante 10 minutos.

Tabla II. Mezcla inicial de la RT para la síntesis de ADNc.

Reactivos/ARN	Volumen (µl)
<i>Random hexamers</i> (50µM, <i>Invitrogen</i>)	1
dNTP (10 mM, <i>Invitrogen</i>)	1
Agua estéril	3
ARN (100 ng/µl)	8

dNTP, desoxirribonucleótidos trifosfato; ARN, ácido ribonucléico.

Tabla III. Mezcla final de la RT para la síntesis de ADNc.

Reactivos/ARN	Volumen (µl)
<i>5x SSIV Buffer</i>	4
DTT (100 mM, <i>Invitrogen</i>)	1
<i>RNAse out</i> (40 U/µl, <i>Invitrogen</i>)	1
<i>SuperScript IV reverse transcriptase</i> (200 U/µl)	1

Finalizado el proceso, las muestras, el Gen- y el RT- se diluyeron con agua estéril en proporción 1:3. Almacenamos el ADNc a -80 °C hasta su uso.

RT-qPCR

Para analizar la expresión de los genes objeto de estudio, *FGF21*, *KLB* y *FGFR1*, se usó la técnica reacción en cadena de polimerasa cuantitativa en tiempo real (RT-qPCR), con tecnología *SYBR Green*. Los reactivos y el volumen por reacción empleados se especifican en la Tabla IV.

Para llevar a cabo la RT-qPCR usamos el termociclador *LightCycler® 480 II* (*Roche*). El programa empleado para llevar a cabo los estudios de expresión se muestra en la Figura 5.

Tabla IV. Mezcla de la RT-qPCR para SybrGreen.

Reactivos/ADNc	Volumen (µl)
<i>Power SybrGreen PCR Master Mix (Applied Biosystems)</i>	8,5
Cebador sentido	0,068
Cebador antisentido	0,068
Agua estéril	6,4
ADNc	2

ADNc, ácido desoxirribonucleico complementario.

Programs

Program Name	Incubacion						
Cycles	1	Analysis Mode	None				
Target (°C)	Acquisition Mode	Hold (hh:mm:ss)	Ramp Rate (°C/s)	Acquisitions (per °C)	Sec Target (°C)	Step size (°C)	Step Delay (cycles)
95	None	00:10:00	4.40		0	0	0

Program Name	Amplificacion						
Cycles	40	Analysis Mode	Quantification				
Target (°C)	Acquisition Mode	Hold (hh:mm:ss)	Ramp Rate (°C/s)	Acquisitions (per °C)	Sec Target (°C)	Step size (°C)	Step Delay (cycles)
95	None	00:00:10	4.40		0	0	0
60	None	00:00:45	2.20		0	0	0
72	Single	00:00:04	4.40		0	0	0

Program Name	Melting						
Cycles	1	Analysis Mode	Melting Curves				
Target (°C)	Acquisition Mode	Hold (hh:mm:ss)	Ramp Rate (°C/s)	Acquisitions (per °C)	Sec Target (°C)	Step size (°C)	Step Delay (cycles)
95	None	00:00:05	4.40		0	0	0
65	None	00:01:00	2.20		0	0	0
95	Continuous		0.03	20	0	0	0

Program Name	enfriamiento						
Cycles	1	Analysis Mode	None				
Target (°C)	Acquisition Mode	Hold (hh:mm:ss)	Ramp Rate (°C/s)	Acquisitions (per °C)	Sec Target (°C)	Step size (°C)	Step Delay (cycles)
40	None	00:00:10	1.50		0	0	0

Figura 5- Programa de RT-qPCR.

Además de los genes de interés, *FGF21*, *FGFR1* y *KLB*, incluimos varios genes control o *housekeeping*: *F-Box* y proteína repetida rica en leucina 10 (*FBXL10*), hipoxantina guanina fosforribosiltransferasa 1 (*HPRT1*), importina 8 (*IPO8*) y ciclofilina A (*PPIA*) para normalizar los resultados.

HPRT1-1 y *HPTR1-2* son dos cebadores diferentes de *HPRT1*. Las secuencias de los cebadores empleados en la RT-qPCR, y diseñados por el grupo, se muestran en la Tabla V.

Tabla V. Secuencias de los cebadores.

Gen	Secuencia cebador (5'-3')	Número de acceso
<i>FBXL10</i>	Sen- TACGACGAGAACGAGGACTT As- AGGCATCTTAATTCCCAGTCCA	NM_032590.4
<i>FGF21</i>	Sen- CCCTCCATTGAAAGGACCCC As- CCCATTTGGCAGGAGCTACA	NM_019113.3
<i>FGFR1</i>	Sen- GACTCCGGCCTCTATGCTTG As- GAGGAGGGGAGAGCATCTGA	NM_001174063.2
<i>HPRT1-1</i>	Sen- ATGACCAGTCAACAGGGGACA As- GCTTGCGACCTTGACCATCT	NM_000194.2
<i>HPRT1-2</i>	Sen- TTGAGTTTGGAAACATCTGGAG As- GCCCAAAGGGAAGTATGATGTC	NM_000194.2
<i>IPO8</i>	Sen- ACAATGTGTCTCCGTGCCAT As- AGCTTGCACTGCTCTGTGAT	NM_006390.3
<i>KLB</i>	Sen- CTTGGCATGGGTATGGGACA As- TCTGATGTGGGCGGAAATGT	NM_175737.4
<i>PPIA</i>	Sen- TGCTGGACCCAACACAAATG As- AACACCACATGCTTGCCATC	NM_021130.4

Sen, cebador sentido; As, cebador antisentido; *FBXL10*, *F-Box* y proteína repetida rica en leucina 10; *FGF21*, factor de crecimiento de fibroblastos 21; *FGFR1*, receptor 1 del factor de crecimiento de fibroblastos; *HPRT1*, hipoxantina guanina fosforribosiltransferasa 1; *IPO8*, importina 8; *KLB*, *klotho* beta; *PPIA*; ciclofilina A.

Los valores de expresión relativa de los genes de interés se calcularon en base a los genes de referencia y a su media geométrica siguiendo el método de Pfaffl (Pfaffl, 2001).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se calcularon las medias y el error estándar de la media (EEM) de cada grupo. Las diferencias estadísticas se evaluaron mediante el análisis de la varianza (ANOVA) de una vía con pruebas *post hoc* Holm-Sidak, para

datos distribuidos normalmente, y mediante ANOVA de una vía con pruebas *post hoc* de Kruskal-Wallis, para datos no distribuidos normalmente. Se consideraron significativas las diferencias con un p-valor < 0,05. Las gráficas y los análisis estadísticos se realizaron con el programa SigmaPlot, versión 11 (Systat Software, Inc.).

Resultados y Discusión

CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES

Las características de los pacientes participantes en el estudio se muestran en la Tabla VI. El peso, el IMC y el porcentaje de masa grasa entre los pacientes de quienes se analizaron muestras de tejido adiposo subcutáneo antes de la cirugía bariátrica (TAS-preB) y después de la cirugía bariátrica y tras la pérdida de peso (TAS-postB) muestran diferencias estadísticamente significativas. También se encontraron diferencias entre el grupo de pacientes de los que se obtuvieron muestras de tejido adiposo visceral antes de la cirugía bariátrica (TAV-preB) y los TAS-postB. El grupo de pacientes TAV-preB es un subgrupo de los pacientes TAS-preB, por ello no existen diferencias entre ambos grupos.

Tabla VI. Características de los pacientes (media \pm EEM)

Pacientes	TAS-preB	TAS-postB	TAV-preB	p-valor
n	13	13	7	
Edad (años)	46,09 \pm 3,40	48,85 \pm 3,34	46,45 \pm 4,27	0,632
Peso (kg)	125,03 \pm 6,95	79,40 \pm 3,00	126,91 \pm 11,77	< 0,05*#
IMC (kg/m ²)	46,83 \pm 2,28	29,85 \pm 1,22	47,35 \pm 3,57	< 0,05*#
Masa grasa (%)	49,43 \pm 1,24	34,33 \pm 2,66	49,22 \pm 1,56	< 0,05*#

EEM, error estándar de la media; TAS-preB, tejido adiposo subcutáneo antes de la cirugía bariátrica; TAS-postB, tejido adiposo subcutáneo después de la cirugía bariátrica y tras la pérdida de peso; TAV-preB, tejido adiposo visceral antes de la cirugía bariátrica. IMC, índice de masa corporal. Se evaluaron las diferencias estadísticas para datos distribuidos normalmente mediante ANOVA de una vía y ANOVA de una vía con pruebas *post hoc* de Kruskal-Wallis para datos no distribuidos normalmente, y ANOVA. *, $p < 0,05$ entre TAS-preB y TAS-postB; #, $p < 0,05$ entre TAV-preB y TAS-postB.

EXPRESIÓN DE LOS GENES DE REFERENCIA EN EL TEJIDO ADIPOSO

Los genes control, de referencia o *housekeeping* se deben caracterizar, entre otras cosas, por tener niveles de expresión estables entre los

estados fisiológicos relevantes y/o tratamientos objeto de estudio. Esto es, en nuestro estudio no deben variar entre el tejido adiposo subcutáneo y el visceral antes de la cirugía bariátrica y tejido adiposo subcutáneo después de la pérdida de peso.

La expresión de los genes control empleados muestran, en general, un aumento en el TAS tras la pérdida de peso respecto a los niveles que presentaban en TAS antes de la pérdida de peso (datos no mostrados). La dificultad en la extracción de ARN del tejido adiposo de los pacientes obesos, como ya se indicó anteriormente, puede producir estas alteraciones y no deberse a diferencias en el gen control entre los diferentes grupos de estudio. Por ello, y para aumentar la robustez de los resultados obtenidos, empleamos varios *housekeeping* y su media geométrica para normalizar la expresión de los genes de interés. Mostramos los resultados obtenidos para cada uno de los genes control para demostrar la importancia de una adecuada elección de los genes de referencia para la obtención de resultados fiables en los análisis de la expresión de los genes a estudiar.

EXPRESIÓN DE *FGF21* EN EL TEJIDO ADIPOSO SUBCUTÁNEO ANTES Y DESPUÉS DE LA CIRUGÍA BARIÁTRICA.

El análisis de la expresión génica de *FGF21* se normalizó usando los genes de referencia *HPRT1*, *FBXL10*, *IPO8*, *PPIA* y la media geométrica de todos ellos.

La expresión de *FGF21* muestra las mismas diferencias independientemente del gen de referencia empleado en la normalización de los resultados (Figura 6A-6F). *FGF21* disminuye significativamente en el tejido adiposo subcutáneo después de la pérdida de peso inducida por la cirugía bariátrica (Figura 6A-6F).

FGF21 se produce principalmente en el hígado y promueve la oxidación de ácidos grasos, mejora la sensibilidad a la insulina y aumenta el gasto

energético (Lewis, Ebling, Samms, & Tsintzas, 2019; Patton et al., 2017). Se ha demostrado que su administración exógena tiene multitud de efectos beneficiosos tanto en roedores como en pacientes con desórdenes metabólicos asociados a la obesidad, tales como la pérdida de peso, el aumento de la sensibilidad a insulina o la disminución de los niveles de glucosa y triglicéridos en sangre (Lewis et al., 2019; Xie & Leung, 2017).

Paradójicamente, FGF21 aumenta en la obesidad, lo que sugiere que la obesidad es un estado resistente a FGF21 (Lewis et al., 2019; Owen, Mangelsdorf, & Kliewer, 2015). Otros tejidos, como el tejido adiposo blanco y marrón, el músculo esquelético y el músculo cardíaco, bajo ciertas circunstancias también expresan FGF21 en humanos. Sin embargo, si estos tejidos contribuyen a las concentraciones circulantes de FGF21, y en qué condiciones, está menos claro (Lewis et al., 2019; Tezze, Romanello, & Sandri, 2019).

A diferencia de lo indicado por Fjeldborg y col. en el que no detectaron expresión de *FGF21* ni en el tejido adiposo subcutáneo (TAS) ni en el visceral (TAV) humano (Fjeldborg, Pedersen, Møller, & Richelsen, 2017), nuestros resultados muestran que *FGF21* sí se expresa en ambos depósitos adiposos, sin embargo, no podemos demostrar si esto significa que el tejido adiposo libera FGF21 a la circulación. Sin embargo, estudios *in vitro*, sí demostraron que adipocitos humanos son capaces de secretar FGF21 (Zhang et al., 2008), pero estudios en ratones sugieren que aunque *FGF21* se expresa en el tejido adiposo, FGF21 actúa localmente de un modo autocrino o paracrino, en vez de liberarse a la circulación (BonDurant & Potthoff, 2018; Dutchak et al., 2012). En un artículo publicado en el año en curso, Van Baak y col., tras analizar los niveles de FGF21 tanto en sangre arterial como venosa del tejido adiposo subcutáneo, sugirieron que incluso si FGF21 se produce en el tejido adiposo no se secreta a la circulación, y por lo tanto, solamente actuaría de modo paracrino (van Baak et al., 2020).

En relación a los niveles circulantes de FGF21 tras la pérdida de peso (bien sea por cirugía o por restricción calórica), existen resultados contradictorios. Lips y col. constataron un aumento de los niveles circulantes de FGF21 a las 3 y 12 semanas tras la cirugía bariátrica, sin embargo, en pacientes sometidos a una restricción calórica estricta durante el mismo período de tiempo, observaron un descenso en los niveles circulantes de esta hormona. Así mismo, en pacientes con DM2 los niveles hormonales de FGF21 aumentan considerablemente con respecto a controles normoglucémicos (Lips et al., 2014). Crujeiras y col. encontraron resultados muy similares con niveles circulantes de FGF21 mayores durante la obesidad, un descenso tras la restricción calórica y un aumento 1 mes después de la cirugía bariátrica (Crujeiras et al., 2017).

Otros autores encontraron niveles sistémicos de FGF21 disminuidos 12 meses después del RYGB (Fjeldborg et al., 2017). Se han postulado varias causas como motivo del aumento tanto de la expresión génica como de los niveles circulantes de FGF21 en personas con obesidad y/o DM2. Una causa podría ser que la producción de FGF21 tanto en el hígado como en tejidos extrahepáticos actúa en respuesta al estrés celular y mitocondrial (BonDurant & Potthoff, 2018; Jelenik et al., 2018; Xu et al., 2018); otra que los niveles elevados de FGF21 endógeno serían un mecanismo de defensa frente a la resistencia a la insulina sistémica (H. Li et al., 2018), ya que es conocida la capacidad de FGF21 de inducir la captación de glucosa en las células del tejido adiposo blanco (BonDurant & Potthoff, 2018). En base a todos estos resultados, y lo observado en nuestro estudio, nosotros sugerimos que el TAS puede producir FGF21 que actúa de modo local para contrarrestar los efectos producidos por la resistencia a la insulina que presentan los pacientes obesos mórbidos participantes en nuestro estudio, sin embargo, tras la normalización del peso corporal inducida por la cirugía bariátrica, aumenta la sensibilidad a la insulina, tanto a nivel local (del TAS) como a nivel sistémico (disminución de los niveles de glucosa, insulina e índice de resistencia a

la insulina (HOMA-IR), datos no mostrados), lo que provoca que la expresión de *FGF21*, y por lo tanto su producción, disminuya, sin embargo son necesarios más estudios para confirmar este punto.

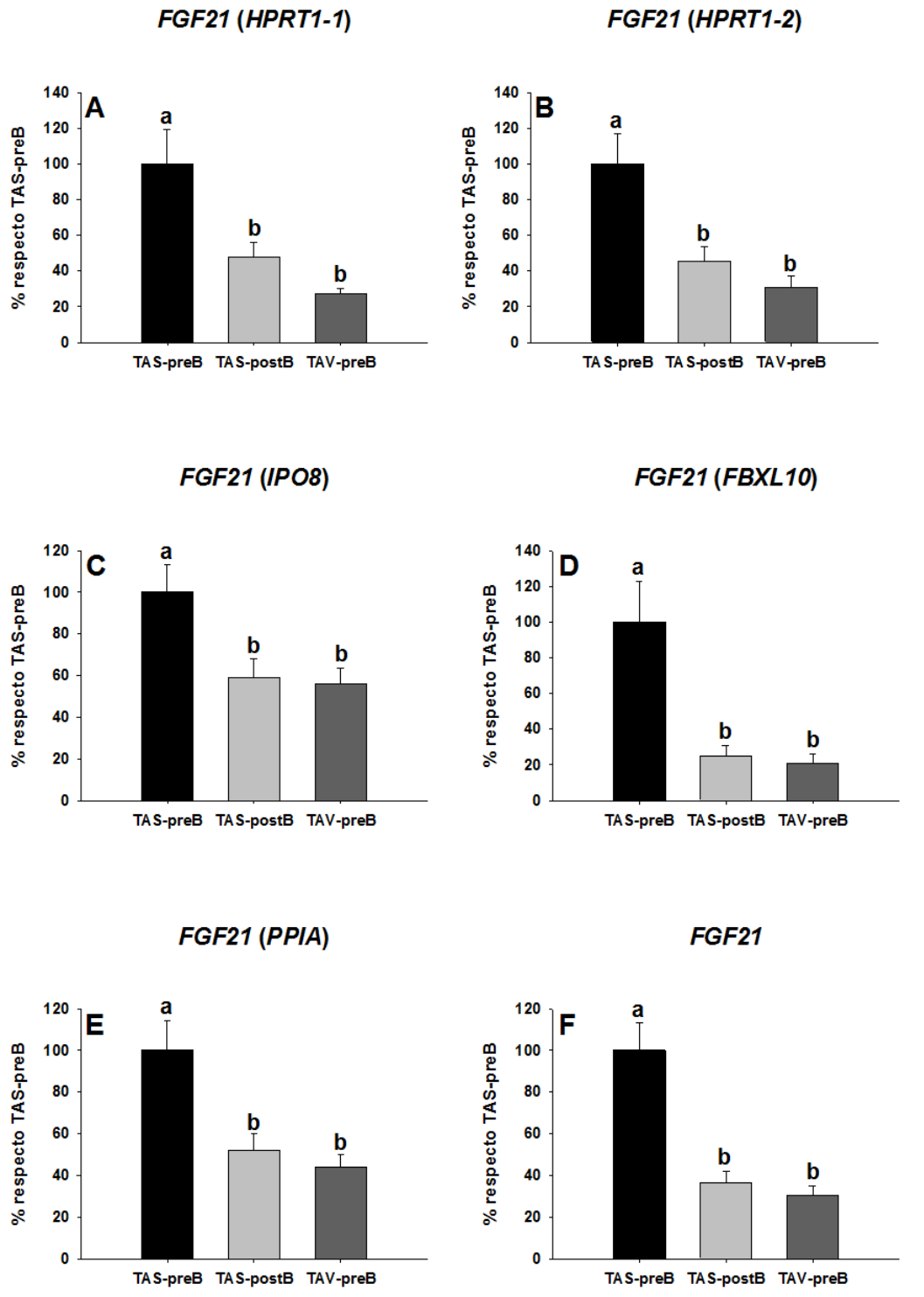


Figura 6. Expresión de *FGF21* normalizado por (A) *HPRT1-1*, (B) *HPRT1-2*, (C) *IPO8*, (D) *FBXL10*, (E) *PPIA* y (F) la media geométrica de los genes control. TAS-preB, tejido

adiposo subcutáneo antes de la cirugía bariátrica; TAS-postB, tejido adiposo subcutáneo después de la cirugía bariátrica tras la pérdida de peso; TAV-preB, tejido adiposo visceral antes de la cirugía bariátrica, *FGF21*, factor de crecimiento de fibroblastos 21; *HPRT1*, hipoxantina guanina fosforribosiltransferasa 1; *IPO8*, importina 8; *FBXL10*, *F-Box* y proteína repetida rica en leucina 10; *PPIA*; ciclofilina A. n = 7 – 13. Las diferencias se evaluaron mediante ANOVA de una vía con pruebas *post hoc* Holm-Sidak, para datos distribuidos normalmente, y mediante ANOVA de una vía con pruebas *post hoc* de Kruskal-Wallis, para datos no distribuidos normalmente. Letras distintas sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas. $p < 0,05$ se considera estadísticamente significativo.

Según algunos autores el tipo de cirugía bariátrica puede influir en la variación de los niveles de *FGF21* (Patton et al., 2017), siendo ciertos tipos concretos de cirugía los que restauran tanto la sensibilidad a *FGF21* como su ruta de señalización, aunque existe controversia sobre cuáles serían estas cirugías (Liu et al., 2019), por lo que sería de gran interés ampliar este trabajo para estudiar las variaciones de *FGF21* según el tipo de cirugía bariátrica a la que se hayan sometido los pacientes.

EXPRESIÓN DE *FGFR1* Y *KLB* EN EL TEJIDO ADIPOSO SUBCUTÁNEO ANTES Y DESPUÉS DE LA CIRUGÍA BARIÁTRICA.

Los niveles de expresión de *FGFR1* no presenta diferencias estadísticamente significativas en el tejido adiposo subcutáneo (Figura 7A-7F), independientemente del gen utilizado para normalizar los resultados.

Sin embargo, los niveles de expresión de *KLB* aumentan tras la pérdida de peso inducida por la cirugía, independientemente del gen de referencia por el que se normalicen los datos, aunque este aumento no llega a ser siempre estadísticamente significativo. La expresión génica de *KLB* aumenta significativamente tras la pérdida de peso inducida por la cirugía bariátrica normalizada por *IPO8* (Figura 8C) y *PPIA* (Figura 8E) y muestra la misma tendencia pero sin significación estadística cuando la normalización se lleva a cabo por *HPRT1-1* (Figura 8A), *HPRT1-2* (Figura 8B) y *FBXL10* (Figura 8D). Asimismo, los niveles de expresión de *KLB*

normalizados por la media geométrica de todos los genes de referencia aumenta significativamente tras la cirugía bariátrica en el TAS (Figura 8F).

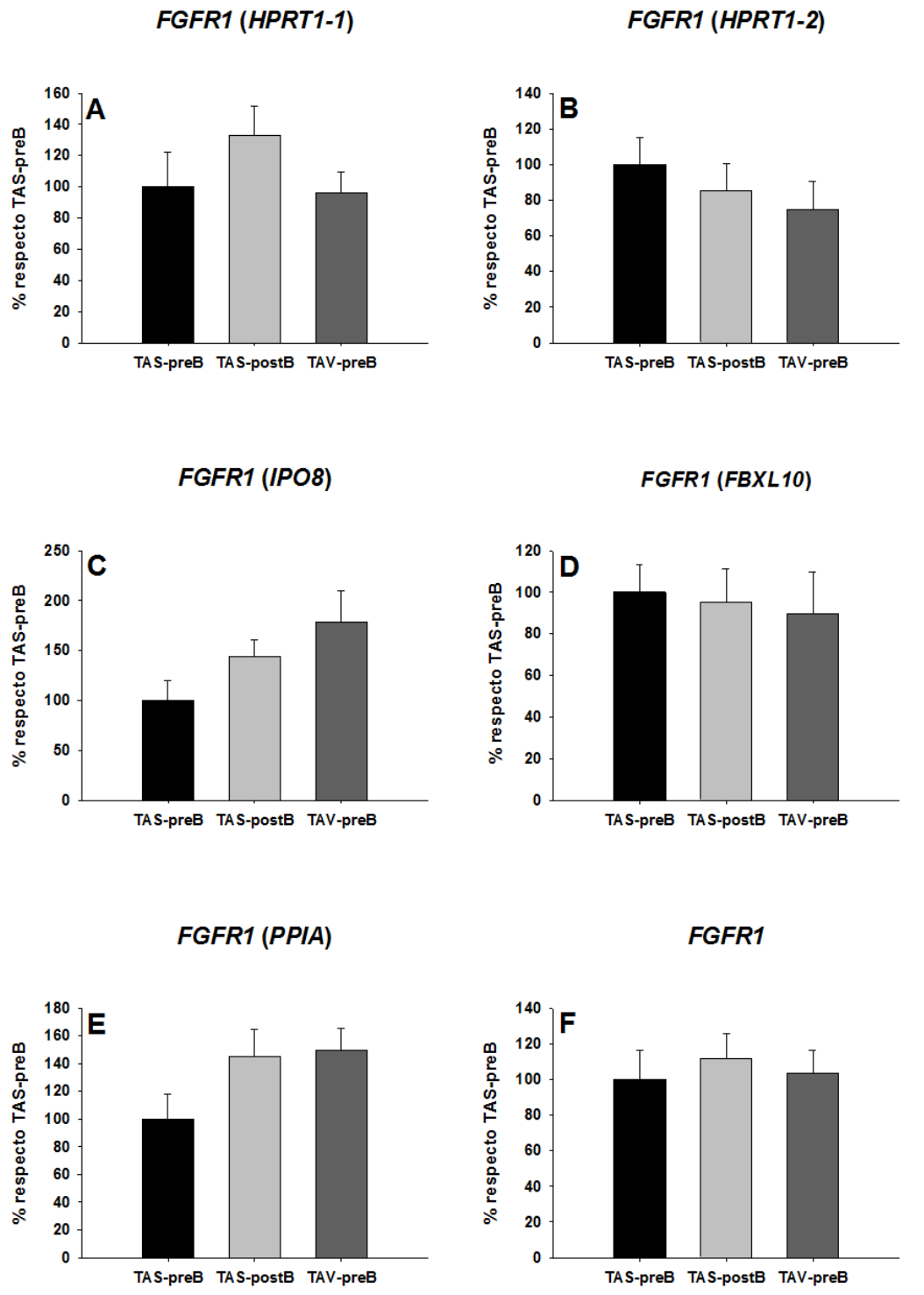


Figura 7. Nivel de expresión génica de FGFR1 normalizado por (A) *HPRT1-1*, (B) *HPRT1-2*, (C) *IPO8*, (D) *FBXL10*, (E) *PPIA* y (F) la media -geométrica de los genes control. TAS-preB, tejido adiposo subcutáneo antes de la cirugía bariátrica; TAS-postB, tejido adiposo subcutáneo después de la cirugía bariátrica tras la pérdida de peso; TAV-

preB, tejido adiposo visceral antes de la cirugía bariátrica, *FGFR1*, receptor 1 del factor de crecimiento de fibroblastos; *HPRT1*, hipoxantina guanina fosforribosiltransferasa 1; *IPO8*, importina 8; *FBXL10*, *F-Box* y proteína repetida rica en leucina 10; *PPIA*; ciclofilina A. n = 7 – 13. Las diferencias se evaluaron mediante el análisis de la varianza (ANOVA) de una vía con pruebas *post hoc* Holm-Sidak, para datos distribuidos normalmente, y mediante ANOVA de una vía con pruebas *post hoc* de Kruskal-Wallis, para datos no distribuidos normalmente

A diferencia de los resultados obtenidos en este trabajo, Fjeldborg y col. observaron que la expresión génica tanto de *FGFR1* como de *KLB* aumenta en el tejido adiposo subcutáneo de pacientes obesos con respecto a controles normopeso y sus valores aumentan aún más 12 meses después del RYGB (Fjeldborg et al., 2017). Estas divergencias pueden deberse únicamente al tamaño muestral de nuestro estudio, que es relativamente pequeño, aunque diferencias debidas al sexo, edad o IMC de los participantes, así como a las técnicas quirúrgicas empleadas y al tiempo transcurrido tras la cirugía bariátrica no pueden descartarse.

La diferencia en la significación de la expresión de los receptores de *FGF21*, aún con la misma tendencia ascendente en ambos receptores, podría indicar que, en el TAS, *KLB* tiene una mayor implicación en la regulación metabólica tras la cirugía bariátrica que *FGFR1*. Aunque son necesarios más estudios para poder confirmarlo.

Tal y como se ha comentado anteriormente, los pacientes obesos con comorbilidades asociadas pueden desarrollar resistencia a FGF21 y esta resistencia podría estar mediada, al menos parcialmente, por una disminución en la expresión de los receptores de *FGF21*, *FGFR1* y *KLB*, en hígado, tejido adiposo subcutáneo y páncreas durante la obesidad (Liu et al., 2019).

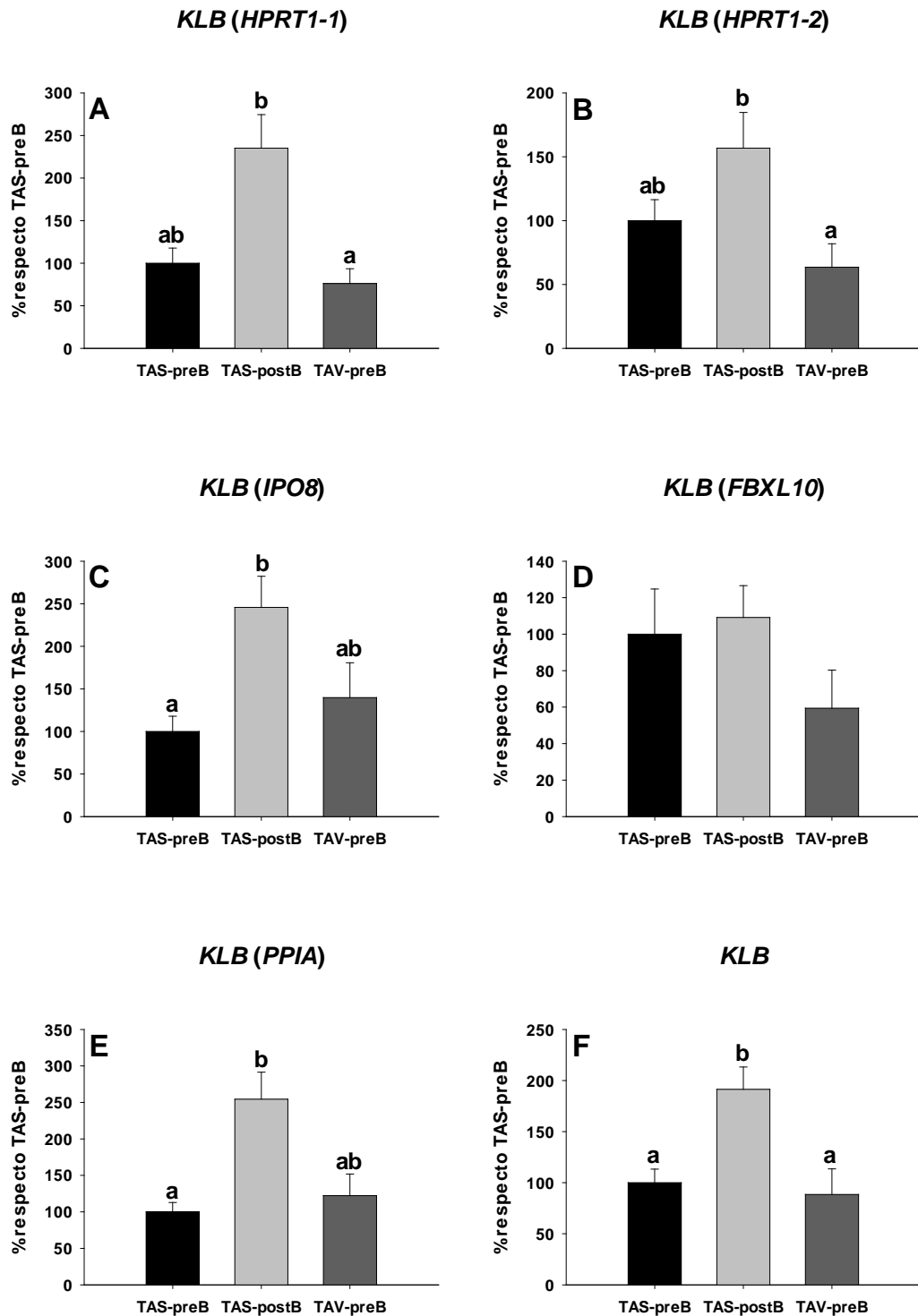


Figura 8. Expresión de KLB normalizado por (A) *HPRT1-1*, (B) *HPRT1-2*, (C) *IPO8*, (D) *FBXL10*, (E) *PPIA* y (F) la media geométrica de los genes control. TAS-preB, tejido adiposo subcutáneo antes de la cirugía bariátrica; TAS-postB, tejido adiposo subcutáneo después de la cirugía bariátrica tras la pérdida de peso; TAV-preB, tejido adiposo visceral antes de la cirugía bariátrica; *KLB*, *klotho* beta; *HPRT1*, hipoxantina guanina fosforribosiltransferasa 1; *IPO8*, importina 8; *F-Box* y proteína repetida rica en leucina 10; *PPIA*; ciclofilina A. n = 7 – 13. Las diferencias estadísticas se evaluaron mediante

ANOVA de una vía con pruebas *post hoc* Holm-Sidak para datos distribuidos normalmente y mediante ANOVA de una vía con pruebas *post hoc* de Kruskal-Wallis, para datos no distribuidos normalmente. Letras distintas sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas. $p < 0,05$ se considera estadísticamente significativo.

Sin embargo, en este estudio no podemos confirmar esta teoría, puesto que no tenemos muestras de grasa de pacientes normopeso, para poder compararlas con las muestras de pacientes obesos, si bien, teniendo en cuenta nuestros resultados, es posible que efectivamente, la obesidad disminuya el número de receptores para FGF21 en el tejido adiposo, y la pérdida de peso restaure estos valores. Lo cual, además sería compatible con el descenso observado en la expresión génica de *FGF21* tras la cirugía bariátrica. Al aumentar la cantidad de receptores en el tejido adiposo para FGF21, este aumentaría su sensibilidad lo cual sería compatible con un descenso local de su producción.

COMPARACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE *FGF-21*, *FGFR1* Y *KLB* ENTRE EL TEJIDO ADIPOSO SUBCUTÁNEO Y VISCERAL

Al analizar la expresión de *FGF21* en el tejido adiposo subcutáneo y visceral de pacientes obesos mórbidos antes de la cirugía bariátrica, observamos que está significativamente disminuida en el tejido adiposo visceral respecto al subcutáneo (Figura 6A-6F).

Con respecto a los receptores de FGF21, *FGFR1* y *KLB*, se puede observar que no hay ningún tipo de diferencia entre los distintos depósitos adiposos estudiados durante la obesidad mórbida (Figura 7 y Figura 8, respectivamente).

Aunque anteriormente otros autores han intentado analizar la expresión de *FGF21* en el tejido adiposo humano, no detectaron su expresión, como indicamos anteriormente (Fjeldborg et al., 2017), por lo que, y según

nuestra revisión, es el primer trabajo en el que se compara la expresión de *FGF21* entre el TAS y el TAV humano.

Nuestros resultados son coincidentes con los obtenidos en otros estudios, en los que tampoco encuentran diferencias en la expresión de *FGFR1* (Fjeldborg et al., 2017; H. Li et al., 2018) ni en la de *KLB* entre el tejido adiposo subcutáneo y el visceral antes de la cirugía bariátrica (Fjeldborg et al., 2017). Sin embargo, al comparar la expresión de *KLB* entre el TAS y el TAV de obesos sensibles o resistentes a la insulina, Li y col. encontraron diferencias entre ambos grupos; *KLB* no presenta diferencias en condiciones de resistencia a la insulina, pero sí es significativamente mayor en el TAS que en el TAV de pacientes obesos sensibles a la insulina, sugiriendo que la sobrerregulación de *KLB* en el TAS en las fases tempranas de la obesidad junto con el aumento de *FGF21* se traduce en beneficios metabólicos (H. Li et al., 2018).

Este estudio tiene dos limitaciones. Una de ellas es el reducido número de muestras analizadas, ya que es complicado obtener muestras de grasa subcutánea después de la pérdida de peso. Otra limitación es que carecemos de muestras de grasa de pacientes controles normopeso, por lo tanto no sabemos los cambios que ocurren en la obesidad, y si la cirugía bariátrica normaliza, o no, esos cambios (en caso de existir). En este estudio sólo podemos hablar de los cambios que ocurren tras la pérdida de peso inducida por la cirugía bariátrica.

Además, como ya hemos indicado anteriormente, no se pueden obtener muestras de tejido adiposo visceral tras la pérdida de peso inducida por la cirugía bariátrica, por lo que no es posible saber si la expresión de *FGF21* y sus receptores, *FGFR1* y *KLB*, se alteran en el TAV en el mismo sentido que en el TAS.

Aún así, este trabajo sugiere que la cirugía bariátrica modifica los niveles de expresión génica de *FGF21* y *KLB* en el TAS, variaciones que probablemente contribuyen a la sensibilidad a la insulina que se observa a nivel local y sistémico en estos pacientes. Además, durante la obesidad, la regulación de la expresión génica de *FGF21* es diferente en la grasa localizada a nivel central en función de si hablamos del depósito subcutáneo o visceral.

Conclusiones

1. La expresión de *FGF21* disminuye en el tejido adiposo subcutáneo tras la pérdida de peso inducida por la cirugía bariátrica. Esta disminución podría indicar una mejora en la resistencia a FGF21 que se sabe que presentan los pacientes obesos.
2. La expresión de *FGFR1* no muestra cambios significativos en el tejido adiposo subcutáneo tras la pérdida de peso, mientras que en la expresión de *KBL* aumenta significativamente, lo que podría contribuir a la sensibilización de *FGF21*.
3. Durante la obesidad, la expresión de *FGF21* es superior en el tejido adiposo subcutáneo que, en el visceral, siendo la expresión de sus receptores similar en ambos depósitos adiposos.

Referencias Bibliográficas

- Arrizabalaga, J. J., Calañas-Continente, A., Vidal, J., Masmiquel, L., Díaz-Fernández, M. J., García-Luna, P. P., . . . Cordido, F. (2003). Clinical practice guideline for the management of overweight and obesity in adults. *Endocrinol Nutr*, *50*(Supl 4), 1-38.
- Bartelt, A., & Heeren, J. (2014). Adipose tissue browning and metabolic health. *Nat Rev Endocrinol*, *10*(1), 24-36. doi:10.1038/nrendo.2013.204
- Basain-Valdés, J., Valdés-Alonso, M., Pérez-Martínez, M., Marrero-Rodríguez, R., Martínez-Izquierdo, A., & Mesa-Martín, I. (2017). [Influence of the regulating factors of short-term control of appetite and satiety on energy balance]. *Rev Cubana Pediatr*, *89*(2), 187-202.
- BonDurant, L. D., & Potthoff, M. J. (2018). Fibroblast Growth Factor 21: A Versatile Regulator of Metabolic Homeostasis. *Annu Rev Nutr*, *38*, 173-196. doi:10.1146/annurev-nutr-071816-064800
- Bray, G. A., Heisel, W. E., Afshin, A., Jensen, M. D., Dietz, W. H., Long, M., . . . Inge, T. H. (2018). The Science of Obesity Management: An Endocrine Society Scientific Statement. *Endocr Rev*, *39*(2), 79-132. doi:10.1210/er.2017-00253
- Chooi, Y. C., Ding, C., & Magkos, F. (2019). The epidemiology of obesity. *Metabolism*, *92*, 6-10. doi:10.1016/j.metabol.2018.09.005
- Córdoba García, R., Camaralles Guillem, F., Muñoz Seco, E., Gómez Puente, J. M., Ramírez Manent, J. I., José Arango, J. S., . . . López Santiago, A. (2016). Recomendaciones sobre el estilo de vida. *Aten Primaria*, *48 Suppl 1*, 27-38. doi:10.1016/s0212-6567(16)30186-x
- Crujeiras, A. B., Gomez-Arbelaes, D., Zulet, M. A., Carreira, M. C., Sajoux, I., de Luis, D., . . . Casanueva, F. F. (2017). Plasma FGF21 levels in obese patients undergoing energy-restricted diets or bariatric surgery: a marker of metabolic stress? *Int J Obes (Lond)*, *41*(10), 1570-1578. doi:10.1038/ijo.2017.138

- Dietz, W. H., Baur, L. A., Hall, K., Puhl, R. M., Taveras, E. M., Uauy, R., & Kopelman, P. (2015). Management of obesity: improvement of health-care training and systems for prevention and care. *Lancet*, *385*(9986), 2521-2533. doi:10.1016/s0140-6736(14)61748-7
- Díez, I., Martínez, C., Sánchez-Santos, R., Ruiz, J. C., De-la-Cruz, F., & Torres, A. J. (2015). Recomendaciones de la SECO para la práctica de la cirugía bariátrica y metabólica (Declaración de Vitoria-Gasteiz, 2015). *BMI*, *5*(3), 842-845.
- Dolegowska, K., Marchelek-Mysliwiec, M., Nowosiad-Magda, M., Slawinski, M., & Dolegowska, B. (2019). FGF19 subfamily members: FGF19 and FGF21. *J Physiol Biochem*, *75*(2), 229-240. doi:10.1007/s13105-019-00675-7
- Dutchak, P. A., Katafuchi, T., Bookout, A. L., Choi, J. H., Yu, R. T., Mangelsdorf, D. J., & Kliewer, S. A. (2012). Fibroblast growth factor-21 regulates PPAR γ activity and the antidiabetic actions of thiazolidinediones. *Cell*, *148*(3), 556-567. doi:10.1016/j.cell.2011.11.062
- Esteve Rafols, M. (2014). Adipose tissue: cell heterogeneity and functional diversity. *Endocrinol Nutr*, *61*(2), 100-112. doi:10.1016/j.endonu.2013.03.011
- Fasshauer, M., & Bluher, M. (2015). Adipokines in health and disease. *Trends Pharmacol Sci*, *36*(7), 461-470. doi:10.1016/j.tips.2015.04.014
- Fjeldborg, K., Pedersen, S. B., Møller, H. J., & Richelsen, B. (2017). Reduction in serum fibroblast growth factor-21 after gastric bypass is related to changes in hepatic fat content. *Surg Obes Relat Dis*, *13*(9), 1515-1523. doi:10.1016/j.soard.2017.03.033
- Ghaben, A. L., & Scherer, P. E. (2019). Adipogenesis and metabolic health. *Nat Rev Mol Cell Biol*, *20*(4), 242-258. doi:10.1038/s41580-018-0093-z
- González-Jiménez, E., & Schmidt Río-Valle, J. (2012). [Regulation of dietary intake and energy balance: factors and mechanisms

- involved]. *Nutr Hosp*, 27(6), 1850-1859.
doi:10.3305/nh.2012.27.6.6099
- Goossens, G. H. (2017). The Metabolic Phenotype in Obesity: Fat Mass, Body Fat Distribution, and Adipose Tissue Function. *Obes Facts*, 10(3), 207-215. doi:10.1159/000471488
- Guyenet, S. J., & Schwartz, M. W. (2012). Clinical review: Regulation of food intake, energy balance, and body fat mass: implications for the pathogenesis and treatment of obesity. *J Clin Endocrinol Metab*, 97(3), 745-755. doi:10.1210/jc.2011-2525
- Heymisfield, S. B., & Wadden, T. A. (2017). Mechanisms, Pathophysiology, and Management of Obesity. *N Engl J Med*, 376(15), 1492. doi:10.1056/NEJMc1701944
- Jelenik, T., Dille, M., Müller-Lühlhoff, S., Kabra, D. G., Zhou, Z., Binsch, C., . . . Castañeda, T. R. (2018). FGF21 regulates insulin sensitivity following long-term chronic stress. *Mol Metab*, 16, 126-138. doi:10.1016/j.molmet.2018.06.012
- Kojta, I., Chacińska, M., & Błachnio-Zabielska, A. (2020). Obesity, Bioactive Lipids, and Adipose Tissue Inflammation in Insulin Resistance. *Nutrients*, 12(5). doi:10.3390/nu12051305
- Lechea, E., et al. (2019). The Impact of Bariatric Surgery on Diabetes and Other Cardiovascular Risk Factors. *Chirurgia*, 114(6), 725-731.
- Lecube, A., Monereo, S., Rubio, M. A., Martinez-de-Icaya, P., Marti, A., Salvador, J., . . . Casanueva, F. F. (2017). Prevention, diagnosis, and treatment of obesity. 2016 position statement of the Spanish Society for the Study of Obesity. *Endocrinol Diabetes Nutr*, 64 Suppl 1, 15-22. doi:10.1016/j.endonu.2016.07.002
- Lewis, J. E., Ebling, F. J. P., Samms, R. J., & Tsintzas, K. (2019). Going Back to the Biology of FGF21: New Insights. *Trends Endocrinol Metab*, 30(8), 491-504. doi:10.1016/j.tem.2019.05.007
- Li, H., Wu, G., Fang, Q., Zhang, M., Hui, X., Sheng, B., . . . Jia, W. (2018). Fibroblast growth factor 21 increases insulin sensitivity through

- specific expansion of subcutaneous fat. *Nat Commun*, 9(1), 272. doi:10.1038/s41467-017-02677-9
- Li, X. (2019). The FGF metabolic axis. *Front Med*, 13(5), 511-530. doi:10.1007/s11684-019-0711-y
- Lips, M. A., de Groot, G. H., van Klinken, J. B., Aarts, E., Berends, F. J., Janssen, I. M., . . . Pijl, H. (2014). Calorie restriction is a major determinant of the short-term metabolic effects of gastric bypass surgery in obese type 2 diabetic patients. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 80(6), 834-842. doi:10.1111/cen.12254
- Liu, Q., Wang, S., Wei, M., Huang, X., Cheng, Y., Shao, Y., . . . Hu, S. (2019). Improved FGF21 Sensitivity and Restored FGF21 Signaling Pathway in High-Fat Diet/Streptozotocin-Induced Diabetic Rats After Duodenal-jejunal Bypass and Sleeve Gastrectomy. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 10, 566. doi:10.3389/fendo.2019.00566
- Murawska-Ciałowicz, E. (2017). Adipose tissue - morphological and biochemical characteristic of different depots. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*, 71(0), 466-484. doi:10.5604/01.3001.0010.3829
- Organización Mundial de la Salud. (2020, 05 11). *Obesidad y sobrepeso*. Retrieved from <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/>.
- Owen, B. M., Mangelsdorf, D. J., & Kliewer, S. A. (2015). Tissue-specific actions of the metabolic hormones FGF15/19 and FGF21. *Trends Endocrinol Metab*, 26(1), 22-29. doi:10.1016/j.tem.2014.10.002
- Patton, A., Khan, F. H., & Kohli, R. (2017). Impact of Fibroblast Growth Factors 19 and 21 in Bariatric Metabolism. *Dig Dis*, 35(3), 191-196. doi:10.1159/000450910
- Pfaffl, M. W. (2001). A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res*, 29(9), e45. doi:10.1093/nar/29.9.e45
- Scheele, C., & Nielsen, S. (2017). Metabolic regulation and the anti-obesity perspectives of human brown fat. *Redox Biol*, 12, 770-775. doi:10.1016/j.redox.2017.04.011

- Tezze, C., Romanello, V., & Sandri, M. (2019). FGF21 as Modulator of Metabolism in Health and Disease. *Front Physiol*, 10, 419. doi:10.3389/fphys.2019.00419
- van Baak, M. A., Vink, R. G., Roumans, N. J. T., Cheng, C. C., Adams, A. C., & Mariman, E. C. M. (2020). Adipose tissue contribution to plasma fibroblast growth factor 21 and fibroblast activation protein in obesity. *Int J Obes (Lond)*, 44(2), 544-547. doi:10.1038/s41366-019-0433-x
- Vegiopoulos, A., Rohm, M., & Herzig, S. (2017). Adipose tissue: between the extremes. *Embo j*, 36(14), 1999-2017. doi:10.15252/emj.201696206
- Wolfe, B. M., Kvach, E., & Eckel, R. H. (2016). Treatment of Obesity: Weight Loss and Bariatric Surgery. *Circ Res*, 118(11), 1844-1855. doi:10.1161/circresaha.116.307591
- Xie, T., & Leung, P. S. (2017). Fibroblast growth factor 21: a regulator of metabolic disease and health span. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 313(3), E292-e302. doi:10.1152/ajpendo.00101.2017
- Xu, X., Krumm, C., So, J. S., Bare, C. J., Holman, C., Gromada, J., . . . Lee, A. H. (2018). Preemptive Activation of the Integrated Stress Response Protects Mice From Diet-Induced Obesity and Insulin Resistance by Fibroblast Growth Factor 21 Induction. *Hepatology*, 68(6), 2167-2181. doi:10.1002/hep.30060
- Zhang, X., Yeung, D. C., Karpisek, M., Stejskal, D., Zhou, Z. G., Liu, F., . . . Xu, A. (2008). Serum FGF21 levels are increased in obesity and are independently associated with the metabolic syndrome in humans. *Diabetes*, 57(5), 1246-1253. doi:10.2337/db07-1476

Anexo



HOJA DE INFORMACIÓN PARA EL PARTICIPANTE

TITULO PROYECTO: *Evolución de las hormonas gastrointestinales y microARNs tras la disminución de la adiposidad y la modificación de los niveles GH. El eje cerebro-intestino*

IDENTIDAD RESPONSABLE: *Dr. Fernando Cordido Carballido*

SERVICIO MÉDICO / GRUPO DE INVESTIGACIÓN: *Servicio de Endocrinología. Hospital Universitario A Coruña. Xerencia Xestión Integrada A Coruña (XXIAC)*

D. / Dña.:

.....
.....

(Espacio para colocar la etiqueta con los datos del donante muestra)

INTRODUCCIÓN.-

Le proponemos participar en el proyecto de investigación titulado “*Evolución de las hormonas gastrointestinales tras la disminución de la adiposidad y la modificación de los niveles GH. El eje cerebro-intestino*”. Este proyecto tiene como finalidad aumentar el conocimiento de la enfermedad que usted padece y por la que va a ser tratado.

Toda investigación biomédica sobre enfermedades requiere recoger datos y muestras biológicas de personas afectadas por la patología a estudiar y de personas no afectadas por dicha enfermedad para analizarlas y obtener conclusiones para conocer mejor y avanzar en el diagnóstico y/o tratamiento de las enfermedades que se van a investigar. Las muestras obtenidas para el diagnóstico o control de las enfermedades, una vez utilizadas con esta finalidad, resultan también útiles y necesarias para la investigación.

Siguiendo lo establecido por la Ley 14/2007, de Investigación Biomédica, la Ley Orgánica 15/1999, de Protección de Datos Personales, y sus normas de desarrollo, le solicitamos que lea detenidamente este documento de información y el consentimiento informado que se le adjunta al final para su firma.

Este documento se le proporciona con el fin de darle información suficiente para que pueda entender los posibles riesgos y beneficios derivados de su participación en esta línea de investigación, decidiendo si desea ser incluido o no en la misma. Antes de tomar su decisión, lea atentamente este documento y haga tantas preguntas como desee hasta asegurarse de que lo ha entendido y desea participar.

Su participación en este proyecto de investigación es totalmente voluntaria. Si firma el consentimiento informado, confirmará que desea participar. Puede negarse a participar o retirar su consentimiento en cualquier momento posterior a la firma sin tener que explicar los motivos. Su no-participación o retirada posterior del consentimiento no afectará en modo alguno a su atención sanitaria presente o futura.

El objetivo de este proyecto de investigación es estudiar la evolución de una serie de hormonas en diferentes grupos de pacientes afectados de obesidad y pacientes no afectados de obesidad, observando igualmente su relación en cuanto a los niveles de glucosa. Por tanto, dichas muestras serán utilizadas en el proyecto de investigación antes mencionado cuyo investigador principal es el Dr. Fernando Cordido Carballido del grupo de investigación del Servicio de Endocrinología y serán recogidas bajo su supervisión.

Debe saber que la realización de este proyecto de investigación en el que se utilice estas muestras, será previamente autorizada por el Comité de Ética competente.

La finalidad principal de este proyecto, es progresar en el conocimiento de las hormonas relacionadas con el sobrepeso y en la obesidad y en su prevención, diagnóstico, pronóstico y tratamiento médico. Para ello y, dentro de la propia labor asistencial que realizamos con pacientes como usted, obtendremos diferentes muestras biológicas para analizar y estudiar. Las muestras obtenidas para el diagnóstico o control de las enfermedades, una vez utilizadas con esta finalidad, resultan también útiles y necesarias para la investigación. De hecho, muchos de los avances científicos obtenidos en los últimos años en medicina son fruto de este tipo de estudios. Sin embargo, hay ocasiones en que estas muestras sobrantes son insuficientes y es necesario obtener alguna pequeña muestra adicional.

El tiempo aproximado de duración total de este estudio de investigación es de tres años, a lo largo de los cuales seleccionaremos a los candidatos idóneos para el desarrollo de la investigación, obtendremos las muestras biológicas y los datos necesarios y realizaremos los análisis de los resultados para obtener conclusiones referentes al objeto del estudio.

Lo que le solicitamos es AUTORIZACIÓN para obtener, dentro del proyecto de investigación que le hemos descrito:

- **UNA MUESTRA DE SANGRE ADICIONAL** a la que se le deba extraer en las analíticas de rutina que se le deban realizar en este servicio de endocrinología, como parte de la atención sanitaria de seguimiento y control de la enfermedad que padece.
- **Si por la patología concreta que usted padece, va a ser sometido a una intervención**

quirúrgica abdominal, necesitaríamos que nos autorice a derivar a investigación **PARTE DEL TEJIDO ADIPOSEO (GRASA) Y ESTÓMAGO QUE SE LE VA A EXTRAER** como parte de la cirugía que es necesario realizarle.

- **INFORMACIÓN CLÍNICA** que nos permita analizar conjuntamente los resultados clínicos y los resultados derivados de las técnicas con las que se analicen las muestras.

Para el buen desarrollo de los estudios de investigación, es necesario obtener datos clínicos relativos al donante de las muestras, por lo que necesitaremos acceder a su historia clínica para recabar la información que será conservada junto a la muestra.

Las condiciones de conservación y uso de dicha información serán las indicadas en el apartado de Confidencialidad de este documento.

Las muestras y la información asociada a las mismas se almacenarán en las áreas establecidas para tal fin, dentro de las instalaciones de la XXIAC, bajo la responsabilidad del **Dr. Fernando Cordido Carballido**.

Es muy importante subrayar que, **para la obtención de las muestras, no se le someterá a ninguna prueba ni riesgo adicional al inherente al proceso asistencial al que va a ser sometido.**

La donación de estas muestras no impedirá que usted o su familia puedan usarlas cuando sea necesario por motivos de salud, siempre que estén disponibles.

RIESGOS.-

La obtención de las muestras antes descritas se realizará durante el proceso asistencial que se le proporciona en este centro. Usted no sufrirá ningún riesgo adicional por donar estas muestras a investigación.

COMPENSACIÓN Y BENEFICIOS.-

Usted no obtendrá ningún beneficio económico directo por su participación en los estudios de investigación que se lleven a cabo con sus muestras, ni tendrá derechos sobre posibles beneficios comerciales de los descubrimientos que puedan conseguirse como resultado de la investigación biomédica.

La posibilidad de estudiar sus muestras, puede beneficiar en el futuro a pacientes con la misma enfermedad que usted padece o enfermedades relacionadas con la misma. No obstante, dado que las investigaciones pueden durar años, es posible que usted no obtenga un beneficio directo de los resultados.

CONFIDENCIALIDAD.-

Toda la información que se obtenga de analizar sus muestras, así como toda la información clínica referente a usted utilizada en esta línea de investigación, será considerada confidencial y tratada en consecuencia, de acuerdo con lo establecido en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de Diciembre, de

Protección de Datos de Carácter Personal (LOPD), la Ley 14/2007, de 3 de Julio de Investigación Biomédica (LIBM) y las normas de desarrollo de ambas leyes.

Para garantizar la confidencialidad de su identidad (asegurar que la información de su muestra no se relaciona con su identidad), su muestra sólo irá identificada desde su entrada en el proyecto de investigación, con un código. Sólo este código, y nunca su identidad aparecerá en el material con el que se trabaje. La relación entre su código y su identidad, quedará custodiada por el personal autorizado del Grupo de Investigación del Servicio de Endocrinología de la XXIAC, INIBIC, en una base de datos de gestión de información que cumple todos los requisitos legales exigidos, tanto por la LOPD como por la LIBM y las normativas que las desarrollan. En base a todo ello, le informamos que se adoptarán todas las medidas necesarias para que tal información, no esté disponible salvo para el personal autorizado, el cual tiene el **deber legal de guardar secreto**. De esta manera podemos asegurar que cualquier información que se obtenga a partir de sus muestras, permanezca confidencial pero pueda ser asociada a sus datos, por si fuera información de interés clínico.

Es importante que entienda, que es posible que sus muestras y los datos asociados a las mismas sean cedidas a otros investigadores, nacionales o internacionales, que colaboren en nuestras investigaciones; o que algunas de las técnicas necesarias para el análisis de sus muestras se realicen en otros centros colaboradores, ubicados en ocasiones en territorio nacional y en otras en el extranjero. En todo caso, le informamos que dichas cesiones siempre se efectuarán de un modo no identificable, es decir, sólo se cederá la muestra asociada a datos genéricos (sexo, patología, peso, edad,...) y codificados, que evitarán que el receptor de la muestra pueda conocer su identidad. A todos ellos se les exigirá que nos garanticen que trabajarán con el mismo nivel de protección de datos exigido por la normativa española de protección de datos de carácter personal, y que, nos proporcionen información referente a la trazabilidad de la muestra y, nos notifiquen la destrucción o devolución de la muestra sobrante, una vez finalizados los estudios que a ellos les correspondan hacer. Usted puede autorizarnos o no a realizar las cesiones aquí indicadas, indicando su decisión en el apartado correspondiente de la hoja de firma del consentimiento informado.

Por otro lado, es posible que los resultados de las investigaciones sean publicados en la literatura científica, pero entendiendo estos resultados como los obtenidos de la totalidad de las muestras, no los resultados individuales. Si este fuera el caso, su identidad permanecerá completamente confidencial y nunca formará parte de ninguna publicación.

Con su aceptación a participar en este estudio de investigación, usted accede a que esta información pueda ser transferida en las mencionadas condiciones.

Puede ejercitar los **DERECHOS ACCESO, RECTIFICACIÓN, CANCELACIÓN Y/O OPOSICIÓN(DERECHOS ARCO)** que le reconoce la normativa española de protección de datos, dirigiendo su solicitud por escrito junto a una copia de su DNI (con el fin de garantizar que el ejercicio de estos derechos es realizado por la persona autorizada para ello) a:

- **ENTREGA EN PERSONA**, en la Secretaría del Servicio de Endocrinología de la XXIAC, a la atención de **Dr. Fernando Cordido Carballido**
- **CORREO POSTAL:**
Dr. Fernando Cordido Carballido
 Servicio de Endocrinología.
 Planta tercera, Hospital A Coruña
 XerenciaXestión Integrada A Coruña
 As Xubias, 84. A Coruña. 15006

Si usted decide **REVOCAR SU CONSENTIMIENTO**, deberá hacernos llegar a la *Secretaría del Servicio Endocrinología de la XXIAC*, a la atención del **Dr. Fernando Cordido Carballido** la hoja de revocación totalmente cubierta y firmada que aparece al final de este documento.

Una vez cubiertos todos los campos nos la puede hacer llegar de cualquiera de las maneras descritas anteriormente.

INFORMACIÓN ADICIONAL.- Usted puede contactar con el médico responsable de este estudio, si le surge cualquier duda sobre su participación en esta línea de investigación o sobre sus derechos como paciente, en el **Teléfono: 981 17 81 27**. En todo momento se pondrán los medios necesarios para facilitarle la información más adecuada.

NUEVOS HALLAZGOS Y RESULTADOS.-

La evaluación de los resultados se hará sólo por grupos (por ejemplo, hombres / mujeres, grupos de edad, diagnósticos, etc.) y no de forma individual. Debe comprender que los resultados de valor que se pudieran obtener provendrían del estudio de múltiples muestras, y en ningún caso de la suya exclusivamente.

Las implicaciones médicas de los resultados de las distintas pruebas, si es que los hay, sólo serán conocidas cuando se haya completado la investigación.

Usted debe saber que, en cumplimiento de la LIBM, tiene derecho a conocer o no, la información obtenida con el análisis de sus muestras.

En el caso de que usted decida no ser informado, la ley establece que cuando la información obtenida sea necesaria para evitar un grave perjuicio para la salud de sus familiares biológicos, un Comité de expertos estudiará el caso y deberá decidir entre la conveniencia o no de informar a los afectados o a sus representantes legales.

DESTINO DE LA MUESTRA UNA VEZ FINALIZADO EL PROYECTO DE INVESTIGACION.-

El remanente de su muestra y de las muestras derivadas del estudio de la misma será almacenado en **la Colección de muestras para la investigación de enfermedades endocrinas, metabólicas y**

nutricionales creada por el Dr. Fernando Cordido Carballido en el Servicio de Endocrinología de la XXIAC y cuya finalidad es utilizar, las muestras almacenadas, en las distintas investigaciones que este grupo de investigación realice en referencia al estudio de distintas enfermedades endocrinas, metabólicas y nutricionales tales como la obesidad, la diabetes, etc. Por tanto, dichas muestras serán utilizadas en los distintos proyectos de investigación en los que participe la responsable de la colección, el Dr. Fernando Cordido Carballido y el Grupo de Investigación del Servicio de Endocrinología de la XXIAC. Debe saber que la realización de todos estos proyectos de investigación en los que se utilicen estas muestras, será previamente autorizada por el Comité de Ética competente.

En una segunda fase, cuando así lo estime conveniente el investigador responsable de la custodia de su muestra, el Dr. Fernando Cordido Carballido, y siempre en el supuesto de que las muestras no se hubiesen agotado, el remanente será almacenado en el **Biobanco A Coruña (XXIAC)**.

El Biobanco es un banco de almacenamiento de muestras de origen humano bajo criterios de calidad, para su utilización en investigaciones nacionales o internacionales dentro del campo de la biomedicina. Su funcionamiento se centra en gestionar, bajo criterios de seguridad, calidad y eficiencia; la recepción, procesamiento, almacenamiento y posterior cesión de muestras a los investigadores solicitantes, para que utilicen las mismas en sus proyectos de investigación; siempre y cuando, éstos cumplan todos los requisitos éticos y legales exigibles para este tipo de prácticas, tal y como establece la LIBM y la normativa que la complementa.

El remanente de sus muestras será enviado al Biobanco A Coruña, para ser almacenadas en las instalaciones de dicho Banco de Muestras y, posteriormente, ser cedidas a los investigadores que hayan pasado la aprobación del Comité de Ética y del Comité Científico del Biobanco. A los estudios de investigación para los que se quieran utilizar las muestras almacenadas en el Biobanco A Coruña, se les exigirá tener la aceptación del Comité de Ética correspondiente, tal y como se establece en la normativa aplicable. Las cesiones de muestras para su utilización en un proyecto de investigación internacional se realizarán siguiendo las pautas establecidas para estos supuestos en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de protección de datos de carácter personal y en el Real Decreto 1720/2007, de 21 de diciembre, por el que se aprueba el Reglamento de desarrollo de la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de protección de datos de carácter personal.

Para garantizar la confidencialidad de su identidad, su muestra sólo irá identificada desde su entrada en el Biobanco con un código. Sólo este código, y nunca su identidad aparecerá en el material con el que se trabaje. La relación entre su código y su identidad quedará custodiada por el personal autorizado del Biobanco en una base de datos de gestión de información que cumple todos los requisitos legales exigidos tanto por la LOPD como por la LIBM y las normativas que las desarrollan, en base a todo ello le informamos que se adoptarán todas las medidas necesarias para que tal información no esté disponible salvo para el personal autorizado, el cual tiene el deber legal de guardar secreto. De esta manera podemos asegurar que cualquier información que se obtenga a partir de sus muestras permanezca confidencial pero pueda ser asociada a sus datos por si fuera información de interés clínico.

Es importante que entienda que la cesión de las muestras a los investigadores que nos las soliciten, siempre se efectuará de un modo no identificable, es decir, sólo se cederá la muestra asociada a datos genéricos (sexo, patología, peso, edad,...) y codificados que evitarán que el investigador receptor de la muestra pueda conocer su identidad. A todos ellos se les exigirá que nos garanticen que trabajarán con el mismo nivel de protección de datos exigido por la normativa española de protección de datos de carácter personal, y que, nos proporcionen información referente a la trazabilidad de la muestra y, nos notifiquen la destrucción o devolución de la muestra sobrante, una vez finalizada la investigación para la que se le autorizó a usar la muestra. Usted puede autorizarnos o no a realizar las cesiones aquí indicadas, indicando su decisión en el apartado correspondiente de la hoja de firma del consentimiento informado.

La donación de estas muestras no impedirá que usted o su familia puedan usarlas cuando sea necesario por motivos de salud, siempre que estén disponibles.

RESTRICCIONES DE USO.-

Usted puede indicarnos si quiere establecer algún tipo de restricción sobre sus muestras y datos, en relación a su posible uso en determinados proyectos de investigación o en cuanto a determinadas cesiones. Para ello dispone de un apartado específico en la hoja de firma del consentimiento informado.

INFORMACIÓN DISPONIBLE PARA EL PARTICIPANTE.-

El Biobanco y/o la persona responsable del proyecto de investigación tendrán a disposición de los participantes la información sobre los proyectos de investigación en los que se utilicen las muestras y datos.

En determinadas circunstancias el Comité de Ética competente podrá decidir si es necesario contactar con el participante para facilitarle información de manera individualizada.

De producirse un eventual cierre del biobanco o revocación de la autorización para su constitución y funcionamiento, la información sobre el destino de las muestras estará a su disposición en la página web de la XXIAC y del INIBIC, www.hospitalcoruna.es, www.inibic.es y en el Registro Nacional de Biobancos para Investigación Biomédica del Instituto de Salud Carlos III (ISC III), con página web www.isciii.es, con el fin de que pueda manifestar su conformidad o disconformidad con el destino previsto para las muestras.



CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL PARTICIPANTE MAYOR DE EDAD

Nombre y apellidos del

participante:.....

..

(Espacio para colocar la etiqueta con los datos del donante muestra)

Si ha comprendido la información que se le ha proporcionado, ha resuelto cualquier duda que pudiese tener y decide colaborar con el Proyecto de Investigación titulado: *Evolución de las hormonas gastrointestinales tras la disminución de la adiposidad y la modificación de los niveles GH. El eje cerebro-intestino*, en los términos indicados en el documento informativo que se le entrega junto con este consentimiento, por favor, lea y firme a continuación esta hoja.

Si no está de acuerdo con alguno de los apartados nos lo puede indicar marcando la casilla NO correspondiente.

Si firma esta hoja sin marcar ningún NO, entenderemos que acepta todo lo aquí indicado.

Presto libremente mi conformidad para participar el Proyecto de Investigación titulado: *Evolución de las hormonas gastrointestinales tras la disminución de la adiposidad y la modificación de los niveles GH. El eje cerebro-intestino*.

- Autorizo a que obtengan las muestras antes indicadas en la Hoja de Información que me han facilitado: NO
- Autorizo a que consulten y obtengan información de mis datos clínicos: NO
- Acepto que contacten conmigo cuando sea necesario: NO
- Quiero ser informado de los resultados de las investigaciones que sean de interés para mi salud: NO

Teléfono / E-mail de

contacto.....

CESIONES: Autorizo a que mis muestras y datos sean cedidas, en las condiciones indicadas, para la realización de este proyecto de investigación: COMUNITARIAS NO

EXTRACOMUNITARIAS NO

Autorizo a que mis muestras y datos sean depositados en *Colección de muestras para la investigación de enfermedades endocrinas, metabólicas y nutricionales*, en las condiciones indicadas. NO

Autorizo a que mis muestras y datos sean cedidos al *Biobanco A Coruña*, en las condiciones indicadas, para su utilización en cualquier investigación biomédica. NO

Firma del participante responsable

Firma del profesional

Identidad del participante:
responsable:

Identidad del

Firma del testigo

Da fe del consentimiento verbal del participante, el cual lo autoriza a firmar en su nombre

Identidad del testigo: **DNI:**

.....

Solo se firmará en aquellos casos en los que el participante no pueda leer y/o escribir y delegue la firma en el testigo.

Firma del representante legal

Identidad representante legal: **DNI:**

.....

Solo se firmará en aquellos casos en los que el participante esté incapacitado legalmente.

En, **a** **de** **de**

Le agradecemos su desinteresada colaboración con el avance de la ciencia y la medicina.



REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO

Yo, D./Dña.....con DNIrevoco el consentimiento prestado en fecha.....de.....de 20..... Y no deseo proseguir la donación voluntaria, que doy con esta fecha por finalizada.

- SOLICITO ELIMINACIÓN SOLO DE LAS MUESTRAS.
- SOLICITO ELIMINACIÓN SOLO DE MIS DATOS PERSONALES.

La muestra quedará anonimizada irreversiblemente y podrá ser utilizada en proyectos de investigación.

- SOLICITO ELIMINACIÓN TOTAL DE MIS DATOS Y MUESTRAS.

Fdo.:

En.....a.....de.....de 20.....

Yo, D./Dña.....con DNI.....

Como representante legal de D/Dña....., con DNI.....,

Revoco el consentimiento prestado en fecha.....de.....de 20.....y no deseo proseguir la donación voluntaria, que doy con esta fecha por finalizada.

- SOLICITO ELIMINACIÓN SOLO DE LAS MUESTRAS.
- SOLICITO ELIMINACIÓN SOLO DE SUS DATOS PERSONALES.

La muestra quedará anonimizada irreversiblemente y podrá ser utilizada en proyectos de investigación.

- SOLICITO ELIMINACIÓN TOTAL DE SUS DATOS Y MUESTRAS.

Fdo.:

En.....a.....de.....de 20.....