



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

Facultad de Medicina

Estandarización de la técnica de técnica quirúrgica de Interposición Ileal en ratas Wistar macho.

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de:

Maestría en Ciencias en Neurometabolismo.

Presenta:

LN. Mariana Salgado Salgado

Dirigido por:

Dr. Hebert Luis Hernández Montiel

Dr. Hebert Luis Hernández Montiel
Presidente

M.C. María del Carmen Aburto Fernández
Secretario

Dr. Juan Carlos Solís Sáinz
Vocal

Dr. Nancy Georgina Hernández Chan
Suplente

Dra. Ma. Ana Gabriela Hernández
Suplente

Firma

Firma

Firma

Firma

Firma

Dr. Javier Ávila Morales
Director Facultad de Medicina UAQ

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Directora de Investigación y Posgrado
UAQ

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Noviembre 2017



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

Facultad de Medicina

Estandarización de la técnica de técnica quirúrgica de Interposición Ileal en ratas Wistar macho.

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de:

Maestría en Ciencias en Neurometabolismo.

Presenta:

LN. Mariana Salgado Salgado

Dirigido por:

Dr. Hebert Luis Hernández Montiel

Dr. Hebert Luis Hernández Montiel

Presidente

Firma

M.C. María del Carmen Aburto Fernández

Secretario

Firma

Dr. Juan Carlos Solís Sáinz

Vocal

Firma

Dr. Nancy Georgina Hernández Chan

Suplente

Firma

Dra. Ma. Ana Gabriela Hernández Puga

Suplente

Firma

Dr. Javier Ávila Morales
Director Facultad de Medicina UAQ

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Directora de Investigación y Posgrado
UAQ

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Noviembre 2017

RESUMEN

En pacientes sometidos a cirugía bariátrica se ha observado un aumento significativo en los niveles circulantes de la proteína *Glucagon-like peptide 1* (GLP-1) en el posquirúrgico inmediato en cirugías que anteriorizan al íleon, incluso antes de la pérdida de peso. Se ha demostrado que la cirugía de Interposición Ileal, que forma parte de las técnicas de la cirugía bariátrica y consiste en la transposición del segmento anterior del íleon a nivel del ligamento de Treitz, promueve el contacto temprano del bolo alimenticio con el íleon e incrementa la secreción de GLP-1. Esta proteína es sintetizada por las células L intestinales y por las neuronas preproglucagon en el cerebro, uniéndose a un receptor específico con localización ubicua, provocando múltiples efectos. Entre otras cosas, GLP-1 afecta la regulación la glucosa sanguínea, sin embargo, es rápidamente degradada por la dipeptidil péptidas 4 (DPP-4), lo cual dificulta su cuantificación. **Objetivo:** Estandarizar la técnica quirúrgica de Interposición Ileal en un modelo murino para posteriormente, determinar si se logra un incremento de GLP-1 respecto al nivel basal previo. **Metodología:** Fueron utilizadas ratas Wistar, con un peso >500 g, sometidas a interposición ileal mediante dos técnicas distintas: a) anastomosis íleon-yeyuno entero-entero latero-lateral en punto plano continuo y b) transposición ileal. **Resultados:** Con la técnica original de Interposición Ileal, las ratas sobrevivieron menos de 18 horas, lo cual impidió evaluar la funcionalidad del intestino. Por otro lado, la técnica modificada íleon-yeyuno entero-entero anastomosis latero-lateral en punto plano continuo, permitió una sobrevida del 20% mayor a 4 semanas. **Conclusión:** La técnica de anastomosis íleon-yeyuno entero-entero latero-lateral permitió obtener una mejor sobrevida respecto de la técnica original de Interposición Ileal por la disminución del número de anastomosis, lo cual permitió una mínima invasión, reduciendo el sangrado y disminuyendo la hipoxia intestinal en la anastomosis.

Palabras clave: interposición ileal, GLP-1, íleon, células L.

SUMMARY

In patients undergoing bariatric surgery, a significant increase in circulating levels of the Glucagon-like peptide 1 (GLP-1) protein has been observed in the immediate postoperative period in surgeries that precede the ileum, even before weight loss. It has been demonstrated that the Ileal Interposition Surgery, which is part of the bariatric surgery techniques and consists in the transposition of the anterior segment of the ileum at the level of the Treitz ligament, promotes the early contact of the alimentary bolus with the ileum and increases the GLP-1 secretion. This protein is synthesized by the intestinal L cells and by the neurons preproglucagon in the brain, joining a specific receptor with ubiquitous localization, causing multiple effects. Among other things, GLP-1 affects the regulation of blood glucose, however, it is rapidly degraded by dipeptidyl peptides 4 (DPP-4), which makes its quantification difficult. **Objective:** To standardize the surgical technique of Ileal Interposition in a murine model to later determine if an increase of GLP-1 is achieved with respect to the previous basal level. **Methodology:** Wistar rats weighing > 500 g were used, subjected to Ileal interposition by two different techniques: a) ileo-entero antero-jejunum entero-entero latero-lateral in continuous flat point and b) ileal transposition. **Results:** With the original technique of Ileal Interposition, the rats survived less than 18 hours, which prevented evaluating the functionality of the intestine. On the other hand, the modified ileo-jejunum-whole-latero-lateral anastomosis technique in continuous flat point, allowed a survival of 20% greater than 4 weeks. **Conclusion:** The latero-lateral ileum-entero-entero anastomosis technique allowed obtaining a better survival compared to the original technique of Ileal Interposition due to the decrease in the number of anastomosis, which allowed a minimal invasion, reducing bleeding and decreasing hypoxia intestinal in the anastomosis.

Key words: Ileal interposition, GLP-1, ileum, L-cells

AGRADECIMIENTOS

Le agradezco infinitamente a Dios por todas las bendiciones con las que llena mi vida, gracias a Él, he logrado terminar este proyecto. Él fue mi paz en mi peor tormenta y mi refugio en tiempos de adversidad.

Pero mi agradecimiento eterno a las personas que hicieron posible la realización de este proyecto: a la Mtra. María del Carmen Aburto Fernández por su incomparable tenacidad y destreza, al Médico Cirujano Luis Rodrigo Arteaga Villalba por su entrega y compromiso con el proyecto y al MVZ. Martín García Servín por su apoyo constante en todo momento; gracias por compartir conmigo sus conocimientos, su tiempo y por brindarme su apoyo y cariño.

Pero sin duda alguna a la persona más importante en este proceso, a mi director de tesis el Dr. Hebert L. Hernández Montiel, un gran ser humano, un gran hombre y un gran líder. Lo admiro y lo respeto profundamente no solo profesionalmente, también como persona. Me enseñó con el ejemplo, supo guiarme y alentarme cuando más lo necesité, le agradezco infinitamente que sin conocerme, creyera en mis capacidades y me brindara la oportunidad de realizar este proyecto tan ambicioso.

Ha sido un verdadero honor trabajar a su lado, gracias por cada reto que superamos como equipo y sobretodo, gracias por creer en mí.

Con cariño.

Mariana Salgado S.

“All things are difficult before they are easy”.

Chinese Proverb

TABLA DE CONTENIDOS	Página
1. INTRODUCCIÓN	7
Diabetes y Obesidad	7
Epidemiología de la Diabetes Mellitus tipo 2 en México	8
Cirugía Bariátrica	9
Interposición ileal	9
Incretinas	10
GLP-1	10
GLP-1 e Insulina	12
GLP-1 y cerebro	13
GLP-1 y Neurodegeneración	14
2. OBJETIVOS	16
Objetivo General	16
Objetivos Específicos	16
3. METODOLOGÍA	16
Criterios de inclusión	16
Criterios de eliminación	16
Material	17
Manejo de animales	17
Técnicas quirúrgicas	17
Primera técnica quirúrgica	17
Primera técnica quirúrgica simulada	18
Cuidado post-quirúrgico	19
4. RESULTADOS	19
Determinación de peso	19
Selección de la anestesia	20
Uso de fármacos	22
Selección de la técnica quirúrgica	22
Inicio de la Vía Oral	25
Presentación de cuadros	26
5. DISCUSIÓN	27
6. CONCLUSIÓN	30
7. REFERENCIAS	31

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.- Uso de anestésicos.....	26
Tabla 2.- Esquema farmacológico.....	26

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Selección de peso conforme a las características del intestino.....	20
Figura 2. Animales sometidos a diferentes anestésicos.....	21
Figura 3. Interposición ileal.....	24
Figura 4. Ileoyeyuno anastomosis laterolateral.....	24
Figura 5. Inicio temprano de la vía oral.....	25

1. INTRODUCCIÓN

Diabetes y Obesidad

La obesidad y sobrepeso representan un problema de salud pública a nivel mundial, siendo considerada como una pandemia que ubica a México en los primeros lugares a nivel mundial. La Organización Mundial de la Salud (OMS) define la obesidad (O) y sobrepeso (SP) como “una acumulación anormal o excesiva de grasa que representa un riesgo para la salud”. La obesidad es considerada una patología crónica degenerativa, multifactorial con efectos en la integridad de la persona que la padece, “desde un nivel molecular hasta la esfera psicosocial”, ya que afecta la autoestima del paciente, llevándolos incluso a la depresión (Aceves et al., 2016).

La OMS propone la estratificación de riesgo de la obesidad con la clasificación del índice de masa corporal (IMC). La Encuesta Nacional de Salud y Nutrición del 2016 (ENSANUT 2016) muestra que en México, 7 de cada 10 personas mayores de 20 años padecen sobrepeso u obesidad (72.5%) (Awasthi et al., 2017). La obesidad se considera un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades crónicas como la diabetes mellitus tipo 2 (DM2), enfermedades cardiovasculares, trastornos del aparato locomotor (osteoartritis) y algunos tipos de cáncer (Silveira et al., 2016).

Por su parte, la etiología de la DM2 es compleja y se asocia con factores de riesgo irreversibles tales como la edad, la genética y el origen étnico y con factores reversibles tales como la dieta, la actividad física y el tabaquismo. Los malos hábitos alimentarios y el sedentarismo conllevan al sobrepeso u obesidad y son los principales factores para aumentar rápidamente la incidencia de DM2 entre los países en desarrollo (Sami et al., 2017).

La DM2 se desarrolla cuando la insulina, la hormona que produce el páncreas y reguladora de los niveles de glucosa en sangre, no se produce en suficiente cantidad o cuando el organismo no utiliza eficazmente la que se produce. En su

etapa inicial, no produce síntomas, cuando se detecta tardíamente y/o no se lleva un tratamiento adecuado, ocasiona complicaciones graves a la salud como infarto cardíaco, ceguera, falla renal, amputación de las extremidades inferiores y muerte prematura (Nathan et al., 2013). La DM2 es de etiopatogenia multifactorial, caracterizada por la elevación postprandial de los niveles de glucosa sérica, así como por estar estrechamente asociada a la resistencia a la insulina (RI). En particular, los pacientes con DM2, tienen un alto riesgo cardiovascular que los predispone a desarrollar patologías como la enfermedad coronaria y la aterosclerosis precoz (Obirikorang et al., 2016).

Epidemiología de la DM2 en México

En México, la edad promedio de personas con DM2 en 2010, fue de 66.7 años. El Instituto Mexicano para la Competitividad A.C. (IMCO) menciona que México enfrenta una crisis de salud pública a causa del sobrepeso y la obesidad. Con un costo entre los 82 y 98 mil millones de pesos, equivalentes al 73% y 87% del gasto destinado en salud (2012), tan sólo considerando los costos atribuibles por diabetes (Rtveladze et al., 2014).

En la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) del 2012, reportó una prevalencia de DM2 en adultos del 9.17%, lo que equivale a 6.4 millones de personas (8.6% entre los hombres y 9.67% entre las mujeres). En la población mayor de 25 años, entre 1998 y 2012, se observó un incremento de la DM2 en un 4.7%, por lo que se estima que para el 2030, habrá una prevalencia del 37.8% (Figuroa et al., 2016; Hernández et al., 2012).

Debido a la estrecha relación entre los niveles de sobrepeso/obesidad y la implicación de la resistencia a la insulina subyacente, se han desarrollado tratamientos alternativos para contrarrestar la obesidad. Recientemente, el tratamiento con cirugía bariátrica ha mostrado resultados prometedores al inducir un aumento de la producción de GLP-1.

Cirugía bariátrica.

La cirugía bariátrica surgió como una herramienta para el tratamiento de la obesidad mórbida y ha mostrado beneficios metabólicos a largo plazo, no sólo en la pérdida de peso, sino también en la remisión parcial o completa de la resistencia a la insulina. Los pacientes mostraban con frecuencia una mejoría metabólica no asociada con la pérdida de peso que aparecía incluso, durante la primera semana del posoperatorio: normalización de los niveles séricos de glucosa, mejora de la presión arterial, la frecuencia cardíaca y una disminución de los niveles de insulina (Buchwald et al., 1981). Las cirugías bariátricas que involucraban cambios en el intestino delgado mostraron una mayor eficacia en la mejora del control de la DM2. A partir de estos hallazgos, se pudo identificar un cambio en la actividad de las hormonas entéricas, responsables de esta mejora (Rao et al., 2015).

Interposición ileal

Dentro de las técnicas de cirugía bariátrica, la interposición ileal (IT) es una técnica quirúrgica que inició en 1970, mostrando efectos inmediatos en la regulación metabólica de los niveles de glucosa e insulina, así como una función normal del intestino. Actualmente, se sabe que las hormonas involucradas en la resistencia a la insulina como CCK y leptina se excretan desde las partes iniciales del sistema digestivo, mientras que las hormonas con efecto incretina como GIP y GLP-1. Específicamente GLP-1 es liberado en la porción anterior del íleon que es la parte terminal del intestino delgado (Cummings et al., 2010). La IT consiste en anteponer el segmento distal del íleon hacia una zona anterior del intestino, por debajo del ligamento de Treitz, exponiendo al íleon al primer contacto con el quimo, estimulando así la secreción temprana de GLP-1, lo que provoca una mejoría en el metabolismo de la glucosa y la señalización de insulina (Payab et al., 2015).

Incretinas

La ingestión de alimentos induce la activación de múltiples respuestas fisiológicas que proporcionan señales neuronales y endocrinas, reguladoras de la digestión, absorción y asimilación de los nutrientes ingeridos. Esta acción fue atribuida a uno o varios factores humorales o neuronales que se denominaron incretinas. Las incretinas son hormonas secretados por células neuroendocrinas del intestino que responden aumentando la secreción de insulina, mejorando el índice glucémico y ante una carga excesiva de nutrientes rica en hidratos de carbono (Johannessen et al., 2013). Las concentraciones de estas hormonas se elevan entre los 5 y 15 minutos posteriores a la ingesta de alimento. Las dos incretinas más importantes son: el péptido insulínico dependiente de glucosa (GIP, por sus siglas en inglés) que es secretado por las células K en el duodeno y el yeyuno, y el péptido similar al glucagón-1 (GLP-1, por sus siglas en inglés) que es secretado por las células L, que predominan en el íleon terminal y el colon distal (Liu et al., 2012).

Péptido similar al glucagón-1 (GLP-1)

GLP-1 es un péptido que consta de una cadena de 30 aa y es producido a través del metabolismo del proglucagon. Tiene un receptor específico con localización ubicua en el organismo. Al igual que muchas prohormonas, el proglucagon se procesa de una manera específica según el tipo de célula. En las células α del páncreas, el proglucagon es procesado a glucagon por la enzima convertasa prohormona 2 (PC2), pero sufre un procesamiento alternativo en las células L del intestino por la convertasa prohormona 1 (PC1) para producir el péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP-1) y péptido similar al glucagón tipo 2 (GLP-2) (Holts, 2007). La expresión génica de proglucagon se potencia mediante la activación de la vía de proteína quinasa A (PKA). Ya que las células L han sido identificadas como células epiteliales de tipo abierto, estando en contacto directo con los nutrientes en el lumen intestinal. A partir de la ingestión de alimento y el contacto directo de éste con la mucosa intestinal, se estimula de forma directa la secreción de GLP-1 en un

patrón bifásico con un incremento rápido en los niveles circulantes en los 15 a 30 minutos posteriores a una comida, seguido de un segundo pico menor en los 90 a 120 minutos. Además, las células L están situadas muy cerca de neuronas entéricas y de la microvasculatura del intestino, lo que permite que la secreción de GLP-1 se vea afectada tanto por señales neuronales como hormonales (Amouyal et al., 2016).

Se sabe que la secreción de GLP-1 puede ser estimulada de forma indirecta por señales neuroendocrinas a través del asa duodeno-ileal y por la presencia de células inmunorreactivas propias en el duodeno (Harris et al., 2015), incrementándose rápidamente los niveles del péptido insulínico dependiente de la glucosa (GIP), jugando así un rol importante en la regulación proximal de la secreción de GLP-1. Esto podría explicar la rápida elevación postprandial a pesar de la localización distal de las células secretoras (Drucker et al., 2015).

El GLP-1 es metabolizado de forma extraordinariamente rápida, siendo inactivado por la enzima dipeptidil-peptidasa-4 (DPP-4). Estudios recientes han reportado que el GLP-1 circulante se une a un receptor específico de GLP-1 (GLP-1R), el cual es un receptor de la clase B, con 7 dominios transmembranales heterotriméricos, miembro de la súper familia de receptores acoplados a la proteína G y presenta una localización ubicua. La unión con su receptor causa una activación de la adenilato-ciclase a través de la proteína G, produciendo un incremento intracelular del AMP cíclico lo cual activa a la proteína quinasa-A (PKA) y al factor tipo II de intercambio del nucleótido de guanina regulado por AMPc (Epac2). Cerrando de los canales de K^+ sensibles a ATP (k-ATP), despolarización así la célula β , elevando del Ca^{2+} intracelular, inhibición de los canales de K^+ dependientes de voltaje y se da la exocitosis de los gránulos de insulina. Estos efectos dependen tanto de la unión del AMPc a la PKA y cAMP GEFII (Holst, 2007).

El GLP-1R activado promueve la síntesis y liberación de insulina, sin embargo en pacientes con DM2 este efecto se ve disminuido debido a una disminución de los

islotos pancreáticos y las líneas de células secretoras de insulina (NS-1), contribuyendo a una inadecuada acción de GLP-1. Además, se ha descrito que aumenta la masa de células beta-pancreáticas, estimulando la secreción de insulina dependiente de glucosa e inhibiendo la secreción de glucagon. En las células beta, promueve el crecimiento, la proliferación, diferenciación, regeneración y el factor antiapoptótico (Amao et al., 2015).

Los efectos extrapancreáticos del GLP-1 incluyen la estimulación del metabolismo de la glucosa en el hígado, disminuyendo la síntesis de glucosa hepática. Al unirse GLP-1 a su receptor, activa las neuronas sensoriales aferentes originadas en el ganglio nodoso (vago) que inervan la región hepato-portal o tejido hepático, que activan a las neuronas del núcleo del tracto solitario, generando reflejos en el hipotálamo (Trapp and Richards, 2013). También, reduce el vaciamiento gástrico, disminuye la secreción de ácido clorhídrico y reduce la ingesta de alimentos. Se conoce que el flujo de nutrientes en la zona distal del intestino delgado (íleon), produce la activación de un mecanismo neuroendocrino de retroalimentación negativa, denominado "freno ileal", que implica un aumento de la secreción de los péptidos: GLP-1 y el péptido YY (PYY). Este aumento contribuye a la pérdida de peso por un efecto anorexigénico por la estimulación de los nervios sensoriales aferentes que tienen afecto en el centro de apetito y saciedad integradas principalmente a nivel del núcleo arcuato o núcleo infundibular del hipotálamo y la mejora de metabolismo de la glucosa (Kota et al., 2012).

GLP-1 e Insulina

La activación de GLP-1R se asocia con aumento de la producción de AMPc que activa a su vez a PKA, estimulando la liberación de insulina pancreática. Esta estimulación en la célula beta en humanos es resultado de la capacidad de las incretinas para inhibir la actividad del canal de potasio ATP-dependiente en presencia de glucosa, aumentando el flujo de calcio a través de canales de calcio tipo L dependiente de voltaje, con aumento del calcio citosólico desde los

depósitos intracelulares. Se ha observado que el AMPc formado por acción de GLP-1 en los islotes activa a Epac, una familia de factores de intercambio nucleótido guanina regulada por AMPc (GEFs). Ésta a su vez, activa a la proteína G de bajo peso molecular de Rap (familia de proteínas asociada-rhoptry la cual activa señales para la secreción de insulina. El AMPc y GEFs también preparan a los gránulos secretorios de insulina, haciéndolos competentes para su posterior liberación. A su vez, GLP-1 estimula la exocitosis por la promoción de la transición de los gránulos almacenados dentro de su almacén intracelular (Leech et al., 2011).

De esta manera, la acción insulínica de GLP-1 involucra acciones dependientes e independientes de PKA. A la fecha, se desconoce el mecanismo por el cual ambas incretinas activan la secreción de insulina sólo a altas concentraciones de glucosa, pero se sabe que su efecto está acoplado a la adenilato-ciclasa, a un incremento del $[Ca^{2+}]_i$ y al flujo de ácido araquidónico. En su acción, se activan rutas dependientes de factores de crecimiento como la de las MAPKs (ERK 1 y 2), la PI3K o la PKB (AKT). Además de insulínico, GLP-1 muestra cierta acción proliferativa y antiapoptótica en las células beta de los islotes de Langerhans, mejorando la supervivencia de las células INS-1 de rata, expuestas a estreptozotocina (STZ), fármacos conocidos por su toxicidad a las células beta pancreáticas (Araujo, 2014).

GLP-1 y cerebro

Las hormonas intestinales han sido cada vez más implicadas en la función cerebral. GLP-1, además de ser derivado del intestino, también es sintetizado por las neuronas pre-proglucagon (PPG) en el cerebro. Estas neuronas están localizadas principalmente en una región discreta del tronco encefálico inferior. Se ha sabido durante más de 20 años que el GLP-1 se sintetiza en el cerebro de mamíferos. La mayoría de los informes publicados que analizan la distribución de las neuronas PPG son de rata y utilizan inmunocitoquímica para GLP-1 o GLP-2 o

hibridación *in situ* para localizar estas neuronas y sus terminales axonales (Plummer et al., 2013).

Algunas publicaciones han descrito que las neuronas PPG están localizadas en el núcleo caudal del tracto solitario (NTS), la formación reticular medular caudal y el bulbo olfatorio. Se ha descrito una proyección hacia el núcleo paraventricular (PVN) y el hipotálamo dorsomedial (DMH). La elevación de los niveles de GLP-1, mediante su aplicación intraventricular, induce la supresión de la ingesta de alimentos, con la administración simultánea de GLP-1 y GIP se aumenta la activación neuronal hipotalámica (c-fos) y la expresión del gen POMC anoréxico. La misma dosis de GLP-1 y GIP, administrados por separado, no ejercen ningún resultado significativo. Las neuronas activadas eran del núcleo arqueado del hipotálamo, una población neuronal distinta de las neuronas POMC (NamKoong C et al., 2017).

GLP-1 y Neurodegeneración

Atendiendo al efecto fisiológico normal de GLP-1 en el cerebro, ha sido importante tratar de determinar su papel durante los padecimientos neurodegenerativos. Estos padecimientos son una serie de condiciones hereditarias y/o esporádicas caracterizadas por daño neuronal y disfunción progresiva del sistema nervioso. En su fisiopatología se describen procesos como la inflamación, mutaciones genéticas, activación glial, disfunción mitocondrial y estrés oxidativo, provocando la muerte neuronal (Candeias et al., 2015).

Publicaciones recientes han mostrado el papel de las incretinas en la fisiología del sistema nervioso y su papel de riesgo en padecimientos como la DM2, ligándolas a padecimientos como la polineuropatía diabética, el accidente cerebrovascular, la Enfermedad de Alzheimer (EA) y Parkinson (EP) (Li et al., 2015). El estudio de los efectos neuroprotectores de las incretinas se ha centrado principalmente en modelos animales de enfermedades neurodegenerativas como la EA, EP y la

enfermedad de Huntington. Se ha relacionado con la mejoría en el trastorno bipolar (BD) y el trastorno depresivo mayor (MDD), así como con una serie de déficits cognitivos relacionados con la memoria, el aprendizaje y la función ejecutiva (Gudala et al., 2013).

Los receptores neuronales de GLP-1 en el cerebro humano, median un efecto neurotrófico, regulando la plasticidad y la supervivencia neuronal. Estudios histopatológicos en pacientes con EP muestran que los receptores de insulina están densamente expresados en las neuronas dopaminérgicas de la sustancia nigra *pars compacta* (Sridhar et al., 2015).

En modelos experimentales, el tratamiento con agonistas de los receptores a GLP-1, mostraron mejora de funciones cognitivas como el aprendizaje y la memoria, reduciendo además el comportamiento depresivo. Diversos estudios sugieren que GLP-1 actúa como neuroprotector en modelos animales, disminuyendo la inflamación, hipoxia, aumentando la proliferación celular, reduciendo la apoptosis e incrementando el crecimiento dendrítico (Park, 2011).

Debido a los efectos descritos de GLP-1 podría constituir una posibilidad de tratamiento en padecimientos neurodegenerativos. A pesar de que los niveles de GLP-1 no se alteran en la DM2, sí se reducen sus receptores celulares, produciendo defectos en la señalización pos-receptor, deteriorándose la liberación y acción de GLP-1 (Arab et al., 2011).

GLP-1 posee efectos tróficos y su administración intraventricular se asocia con mejora del aprendizaje en modelos murinos y mostrando a su vez, efectos neuroprotectores, siendo propuesto como un posible agente terapéutico para enfermedades neurodegenerativas (Stayte et al., 2014).

Estos antecedentes, aunado a la necesidad de encontrar terapias eficaces de tratamiento en los trastornos neurodegenerativos, colocan al GLP-1 como una molécula candidata. Por este motivo, la estimulación de la secreción de GLP-1

inducida por la transposición ileal constituye una estrategia para el posible tratamiento de modelos de lesión neuronal.

Por lo cual, éste proyecto está enfocado en dominar una técnica quirúrgica que podrá ser empleada como un tratamiento dual en pacientes con anomalías en el metabolismo de la glucosa que padezcan alteraciones neurodegenerativas.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General:

Estandarizar la técnica de Interposición Ileal en ratas Wistar macho, con la finalidad de lograr el aumento de GLP-1.

2.2 Objetivos Particulares:

- 2.2.1 Determinar la técnica quirúrgica que permita una mayor supervivencia de los animales operados.
- 2.2.2 Valorar la vía y dosis de anestesia que permita un suficiente tiempo quirúrgico con menores efectos adversos.

3. METODOLOGÍA

Criterios de inclusión

- Ratitas Wistar macho mayores de 450 grs de peso.

Criterios de eliminación

- Ratitas que no sobrevivieron al procedimiento quirúrgico.

Material

- Báscula, instrumental quirúrgico de microcirugía, guantes y cubrebocas estériles, gasas estériles, oxígeno, isodine, solución salina, manta térmica, ketorolaco, gentamicina, anestésicos (Pentobarbital, Xilazina, Ketamina y Sulflorano).
 - a. Mediciones y análisis
- Se seleccionó el peso adecuado para el mejor manejo del animal.
- Se realizó la recolección de muestras de sangre cada semanal.
- Se tomó el peso de las ratas operadas cada semana.

Manejo de animales

Los animales se mantuvieron en un ciclo invertido de luz-oscuridad a una temperatura de 21°C y se sometieron a un ayuno de 8 horas previas a la cirugía.

Técnicas quirúrgicas

Primera técnica quirúrgica

Previo a la cirugía, los animales fueron pesados, se calculó la dosis ponderal de anestesia; se utilizó pentobarbital (35mg/Kg IP Cheminova de México S.A de C.V) y xilazina al 2% (3mg/Kg IP Cheminova de México S.A de C.V). Posteriormente, se rasuró el abdomen para dejar limpia el área de incisión y se colocó al animal sobre una manta térmica en posición decúbito supino para realizar la asepsia del abdomen con isodine solución (Boehringer Ingelheim Promeco, S.A. de C.V). Se usó la técnica de Shannon A. Metcalfa (2011) modificada, ya que se tomó una menor cantidad de íleon (<5 cm).

Se realizó una incisión media de aproximadamente 3 cm y se disecó por planos hasta llegar a la cavidad abdominal en donde se identificó el íleon distal y yeyuno. Se cortó el segmento de íleon a 5 cm de la válvula ileocecal, cuidando mantener la irrigación del segmento, el cual varía en longitud de 5-6 cm. Se suturó el segmento distal con íleo-íleo anastomosis en un plano continuo con sutura Nylon 6'0 (Atramat de México S.A de C.V). Se hizo un corte a 10 cm del ligamento de Treitz para anastomosar el segmento de íleon en un plano continuo con sutura Nylon 6'0 (Atramat de México S.A de C.V) en una forma isoperistáltica.

Se revisaron las anastomosis y se limpió la cavidad abdominal para proceder al cierre por planos de la pared abdominal con sutura Nylon 3'0 (Atramat de México S.A de C.V). Aún anestesiado se le administró una dosis de analgésico Ketorolaco (0.75 mg/kg/8h IM).

Primera técnica quirúrgica simulada

Las ratas se anestesiaron con Pentobarbital (35 mg/Kg IP) y Xilazina 2% (3 mg/Kg IP). Se realizó la asepsia del abdomen con isodine y se realizó la incisión de 3 cm sobre la línea media, a la altura del diafragma. Posteriormente, se rasuró el abdomen para dejar limpia el área de incisión y se colocó al animal sobre una manta térmica en posición de cubito supino para realizar la asepsia del abdomen con isodine solución (Boehringer Ingelheim Promeco, S.A. de C.V).

Se usó la técnica de Shannon A. Metcalfa (2011) la cual consiste en tomar 10 cm de íleon y anteponerlo a 5 cm del ligamento de Treitz pero modificada, ya que se tomó una menor cantidad de íleon (<5 cm). Se realizó una incisión media de 3 cm y se disecó por planos hasta llegar a la cavidad abdominal en donde se identificó el íleon distal y yeyuno. Se cortó el segmento de íleon a 5 cm de la válvula ileocecal, cuidando mantener la irrigación del segmento, el cual varía en longitud de 5-6 cm. Se suturó sin anteponer el íleon en un plano continuo con sutura Nylon 6'0 (Atramat de México S.A de C.V).

Se realizó un corte a 10 cm del Treitz sin anastomosar el segmento de íleon en un plano continuo con sutura Nylon 6'0 (Atramat de México S.A de C.V) en una forma isoperistáltica. Se limpió la cavidad abdominal para proceder al cierre por planos de la pared abdominal con sutura Nylon 3'0 (Atramat de México S.A de C.V). Aún anestesiado se le administró una dosis de analgésico (Ketorolaco 0.75 mg/kg/8h IM).

Cuidado post-quirúrgico

Al término de la cirugía, se administraron analgésicos junto con el antibiótico Gentamicina (10mg/Kg/24h) durante 4 días. Al término de la cirugía se hidrató al animal con 10 mL de solución de Hartmann vía subcutánea (VSc), manteniendo restringida la Vía Oral (VO) por 12 horas. Se inició la VO administrando solución glucosada al 5% (1 mL/3h/2d) y se hidrata con solución de Hartmann 1 vez al día VSc (5mL). La dieta blanda se inició a las 48 horas, se colocó 1 pellet machacado y remojado con Ensure de fresa (suplemento alimentario batido nutricional sabor fresa) 5 mL/d por 48 horas, se empieza a dar agua por VO (2mL/5h). Al cuarto día se proporcionó agua *al libitum* y al quinto día, se restauró la alimentación normal.

4. RESULTADOS

Determinación de peso

Durante el inicio de la investigación se utilizaron ratas de pesos <300 g y se observó que los intestinos eran extremadamente delgados y su manipulación era muy difícil, por lo cual se optó por usar especímenes de un peso >400 g lo cual nos permitía tener intestinos más largos y su manipulación era más efectiva. Es así que se determinó usar ratas con pesos arriba de los 400 g.

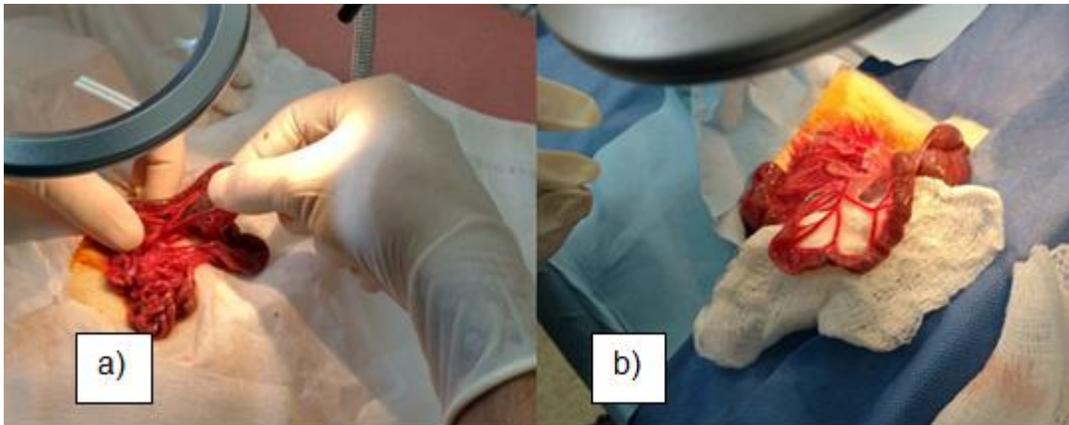


Figura 1. Selección de peso conforme a las características del intestino, a) rata de <400 g de peso, b) rata con un peso >400 g. El grosor del intestino es evidente.

Selección de la anestesia

Por la complejidad de la técnica, los tiempos quirúrgicos eran prolongados, aproximadamente de 70-90 minutos, por lo cual se requería de un anestésico que permitiera mantener anestesiado al animal por más tiempo. Esto nos llevó a seleccionar el Pentobarbital (40 mg/Kg/IP) induciendo previamente al animal con Xilazina al 2% (5 mg/Kg/IP).

Los animales empleados con estos anestésicos morían en un lapso menos a 10 horas, la recuperación postquirúrgica era prolongada, el animal tenía que recibir reanimación cardiopulmonar y masaje cardiaco continuo, tardaba mucho en presentar reflejos y al final caían en paro cardiorrespiratorio lo cual los conducía a la muerte.

Se probó otro tipo de anestesia con el fin de evitar las complicaciones en el postquirúrgico inmediato, se utilizó la combinación Ketamina-Xilazina (5 mg/Kg y 35 mg/Kg respectivamente IP) pero los resultados fueron más agresivos en este grupo. Las ratas se mantenían con suministro de oxígeno pero morían anestesiadas en un lapso de 2-3 horas por paro cardíaco.

Esto nos llevó al uso de la anestesia inhalatoria con Isoflorano al 3%, induciendo al animal previamente con Xilazina (5 mg/Kg/IP), los animales tratados con ésta anestesia no manifestaron complicaciones en el postquirúrgico inmediato, despertaban con buenos reflejos e iban recuperando la motricidad lentamente pero de ya conscientes. La sobrevida de los animales incrementó de manera notable, logrando sobrevivir más de 24 horas, algunas de ellas fallecieron por derrame pleural sin aparente relación con la técnica quirúrgica, lo cual puede ser asociado a complicaciones propias del animal o al metabolismo de la anestesia.

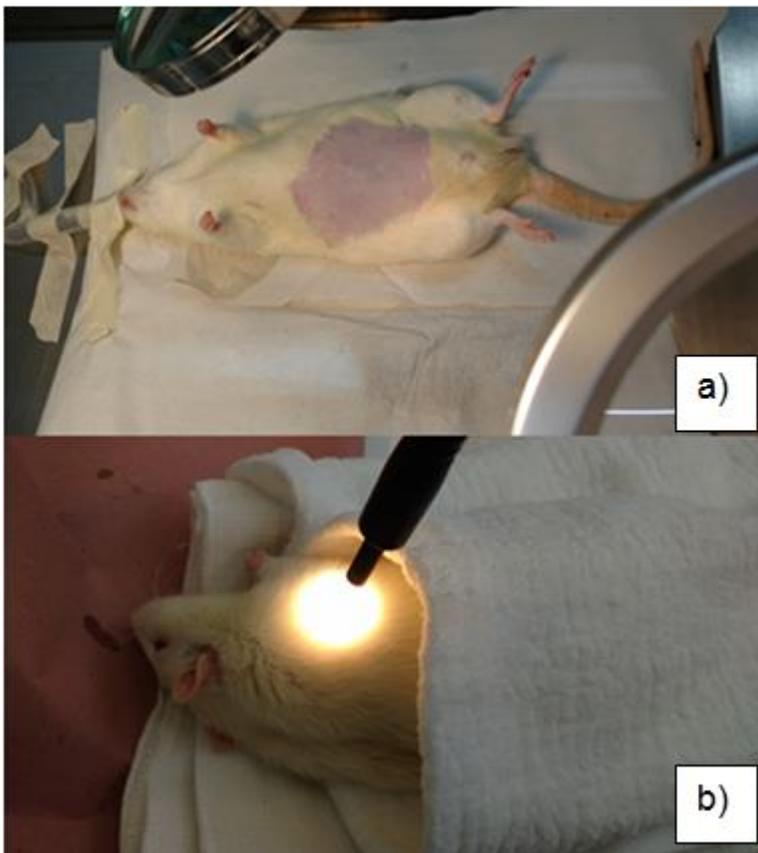


Figura 2. Animales sometidos a diferentes anestésicos. La imagen a) muestra la rata anestesiada con Sulflorano, con una mejor capacidad cardiopulmonar y la imagen b) muestra a la rata anestesiada con Pentobarbital, las cuales son vulnerables a complicaciones en el postoperatorio inmediato.

Uso de fármacos

Los cuidados en el postoperatorio prevenían el dolor causado por la cirugía y se enfocaban en evitar cualquier tipo de infección que pudiera incrementar el riesgo de mortalidad en el animal. Al inicio se empleó un tipo de AINES, el Ketorolaco (0.30 mg/Kg) cada 8 horas durante 3 días, siendo administrado IM.

Las ratas no manifestaban signos de dolor en el momento de recibir la dosis correspondiente ni durante los primeros 3 días que dura el esquema de tratamiento.

Ya que el Ketorolaco puede favorecer hemorragias asociadas a trastornos gastrointestinales se asoció como una posible variables que pudieran estar influyendo en la muerte de las ratas. Por lo cual se probó con un AINES diferente, el Metamizol (0.25 mg/Kg) cada 12 horas por 4 días, los animales que recibieron este tratamiento mostraron mucho dolor al momento de su administración y se mostraban agresivas. Se cambió la vía de administración de muscular a subcutánea, pero las reacciones de dolor eran las mismas y el área de su aplicación sufría necrosis, por lo cual se regresó al uso del ketorolaco.

El antibiótico empleado durante todos los procedimientos, fue Gentamicina (10 mg/Kg) cada 24 horas durante 4 días intramuscular, ninguno de los animales se enfermó y el esquema de tratamiento fue exitoso.

Selección de la técnica quirúrgica

La estandarización de las técnicas quirúrgicas es crucial para la intervención en estudios y la evaluación de terapias adyuvantes en diversas patologías como lo es la DM2 y Obesidad.

Se evaluaron las variables con el potencial de influir en el resultado de la cirugía. Se sometieron a cirugía a ratas Wistar macho (n=17) observando si el peso de la rata influía en el diámetro y grosor del intestino utilizando ratas de diversos pesos

pero, no se encontró una asociación directa. Es decir, el peso no influye en las características del intestino pero, las ratas con un peso >400 g resultan favorables para su manipulación y responden mejor a la anestesia.

La preparación del área quirúrgica se llevó a cabo de manera meticulosa, cuidando la esterilidad del instrumental quirúrgico, se usó la vestimenta correspondiente así como cubrebocas y guantes estériles. El animal se preparó para la cirugía en una área previa y ya listo se colocó en una cama térmica y se le administró oxígeno durante el procedimiento y en el transcurso del postquirúrgico.

La técnica de Interposición Ileal se llevó a cabo en 7 ratas en las cuales la mayor supervivencia fue de un máximo 20 horas, al momento de realizar las autopsias las todas las ratas mostraban isquemia en el tejido intestinal a la altura de la anastomosis posterior y fuga en la anastomosis. Las variables que pudieran estar implicadas en la mortalidad de las ratas es que con esta técnica se realizan 3 anastomosis, lo cual implica un mayor tiempo quirúrgico así como un mayor sangrado. Al momento de que la rata regresa a su posición cuadrúpeda, la posición de los órganos internos cambia y el peso del intestino recae sobre la anastomosis principal, lo cual disminuye el flujo sanguíneo ocasionando la hipoxia del tejido.

Ante estas complicaciones se optó por realizar una adaptación a la técnica dejando solo una anastomosis, lo cual disminuía notablemente el tiempo quirúrgico y el sangrado ocasionado al hacer tres anastomosis. La ileoyeyuno anastomosis latero-lateral al ser solo un corte longitudinal, es menos agresiva para el animal y los tiempos quirúrgicos se reducen notablemente, permitiendo que el animal tenga una mejor recuperación.

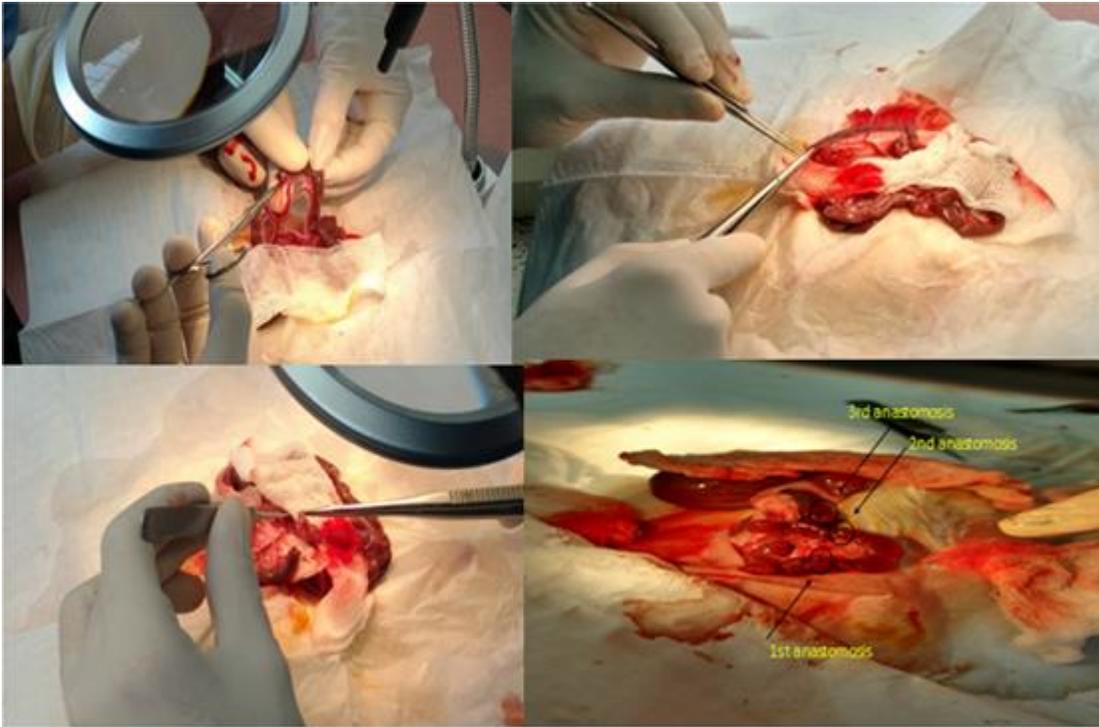


Figura 3. Interposición Ileal. Proceso de creación de las anastomosis, de izquierda a derecha son los cortes de los segmentos y la unión de ambos, en la ultima imagen de la esquina inferior derecha vemos las 3 anastomosis.



Figura 4. Ileoyeyuno anastomosis laterolateral. En la imagen del lado izquierdo observamos la apertura del segmento de ileon que será anastomosado al duodeno. En el lado derecho vemos la unión de ambos segmentos.

Inicio de la Vía Oral

Las ratas que terminaban el tratamiento iniciaban la vía oral a las 10 horas posteriores a la cirugía con el fin de dar reposo al órgano y evitar fuga en las anastomosis por un exceso de líquido.

La ingesta se realizó de forma controlada, recibiendo 1 mL de suero Electrolit a las 2 horas posteriores a la primera toma, después de incrementó la ingesta gradualmente en lapsos de 4 horas. Las primeras 72 horas son de crucial importancia para evitar fuga en las anastomosis, por lo cual el control de líquidos tiene que ser riguroso, supervisando siempre el estado de los animales, evitando que entren en letargo o/y hiporeactividad.

En el transcurso de este tiempo, los animales defecan y orinan de forma normal lo cual demuestra un buen movimiento peristáltico, las heces provienen de los remanentes de comidas posteriores al procedimiento.



Figura 5. Inicio temprano de la vía oral. Las consecuencias de empezar la VO antes de las 10 horas es una acumulación excesiva en el intestino que ocasiona la fuga en las anastomosis.

a. Presentación de cuadros

Anestésico	Dosis	Vía de administración
Pentobarbital	40 mg/Kg	IP
Xilazina 2%	5 mg/Kg	IP
Ketamina	35 mg/Kg	IP
Isoflurano	1-3 %	Inhalación

Tabla 1.- Uso de anestésicos.

Efecto farmacológico	Nombre	Dosis	Vía de administración	Posología
AINE	Ketorolaco	0.3 mg/Kg	IM	8h/3d
Antibiótico	Gentamicina	10mg/Kg	IM	24h/4d
	Metamizol	0.25mg/Kg	SC	24h/d

Tabla 2.- Esquema farmacológico.

5. DISCUSIÓN.

La cirugía bariátrica en individuos con obesidad mórbida revierte, elimina o mejora significativamente la diabetes, la hiperlipidemia, hipertensión y apnea obstructiva del sueño. Estos beneficios ocurren en la mayoría de los pacientes que se somete a cirugía respecto aquellos que solo presentan diabetes tipo 2, en donde más de tres cuartas partes de los pacientes presentan una remisión completa posterior a la cirugía bariátrica (Buchwald et al., 2004).

De aquellos pacientes que no experimentan completa remisión, más de la mitad mostró una mejora importante. Un artículo histórico sobre cirugía bariátrica fue publicado en 1995 titulado, "¿Quién hubiera pensado eso? Una operación demuestra ser la terapia más efectiva para la diabetes mellitus de inicio en adultos", inspiró más de 30 estudios que demuestran la resolución de la diabetes posterior a la cirugía bariátrica (Pories et al., 1995).

Por lo cual nos inspiró a nosotros a la realización de este proyecto, el cual permitirá la implementación de la técnica quirúrgica de Interposición Ileal no solo en modelos diabetes mellitus sino en modelos de neuroprotección en enfermedades neurodegenerativas.

La Interposición Ileal ha representado un desafío para todo el equipo de trabajo involucrado en la realización de este proyecto, hemos tenido que aprender a prueba y error las mejores alternativas que nos permitieran elevar la sobrevivencia de los animales y evaluar la realización de la técnica quirúrgica.

El uso adecuado de anestésicos que se adaptaran a las necesidades del protocolo y la dosis correcta fue uno de los problemas más importantes en éste proyecto, la que la literatura revisada reporta en su mayoría el uso de Ketamina+Xilazina mostrando resultado favorables (Metcalf, et al., 2011). A diferencia del publicado,

nosotros tuvimos diversas complicaciones derivadas del uso de ambos anestésicos, en su mayoría fueron paros cardiopulmonares que finalmente llevaban a la muerte al animal.

La realización del esquema de inicio de la vía oral fue otro de los retos a superar ya que todos los artículos revisados mencionan el inicio de la vía oral *al libitum* a las dos horas posteriores de la cirugía (Kota et al., 2012), intentamos replicar lo mismo en las primeras ratas pero, a diferencia de lo reportado las ratas fallecían en un lapso de tiempo menor y mostraban signos de hiperhidratación. Al realizar las exploraciones *post mortem* se encontraban una fuga importante de líquido por las anastomosis en las ratas.

Por lo cual decidimos crear nuestro esquema de inicio de vía oral a las 10 horas posteriores a la cirugía solo con líquidos pero las ratas se mostraban inquietas y hambrientas y comenzaban a roer el aserrín, iniciando así la dieta blanda a las 24 horas y dieta normal controlada a las 48 h. Ya que las ratas tienen un metabolismo muy acelerado no pueden permanecer en ayunos prolongados.

El dominio de la técnica quirúrgica requirió de un trabajo contante para lograr dominar y perfeccionar la destreza en la realización de las anastomosis. Al mismo tiempo, poder encontrar una alternativa que permitiera modificar la técnica quirúrgica logrando el mismo objetivo que es desviar el alimento a la parte proximal del intestino marco la pauta para lograr el éxito en este proyecto.

La Interposición ileal empleada en las primeras ratas se basó en la técnica original de Metcalf, et al., (2011) en la cual se realizan tres anastomosis y reportan un 90% de éxito en la realización de la misma. Al replicar la técnica reportada, nosotros no tuvimos el mismo resultado, las ratas operadas con ésta técnica morían en un lapso menor a 18 horas y mostraban hipoxia en las anastomosis.

La literatura no reporta complicaciones obtenidas con la Interposición Ileal, a las nos hemos enfrentado en la realización de este proyecto; mismas que se han descrito anteriormente. Por estos motivos y en busca de lograr la estimulación de GLP-1 con la cirugía, se modificó la técnica quirúrgica con la finalidad de incrementar la sobrevivencia de las ratas.

La técnica de Interposición Ileal modificada se realizó sin necesidad de seccionar el intestino pero permitiendo así el pronto contacto del alimento con el íleon. La ileoyeyuno anastomosis latero lateral ha sido usada hace más de 20 años en pacientes con cáncer gástrico (Barchi et al., 2016), reconstrucción del colon (Tamames et al., 1990. Hübner et al., 2012), en trasplante hepático (Shalloum et al., 2016), bypass cardiaco (Barra et al., 1991), entre otras.

La ileoyeyuno latero lateral disminuye el riesgo de hipoxia en comparación a la Interposición Ileal, al ser solo una incisión y de manera lateral se evita que el peso de la arteria mesentérica que irriga a todo el intestino caiga sobre la anastomosis. Como sucedía en la Interposición Ileal, el peso de la arca mesentérica inferior caía sobre la anastomosis principal (ileo-yeyuno) disminuyendo el transporte de oxígeno al tejido, teniendo como consecuencia la hipoxia del mismo y posteriormente la muerte del animal.

A pesar del número de publicaciones realizadas con la cirugía de Interposición Ileal en ratas, existe una importante falta de información que mantiene inconcluso el conocimiento en las pautas a seguir en la realización de ésta técnica quirúrgica.

Ninguna de las publicaciones revisadas para la realización de este proyecto reportan alguna de las complicaciones que nosotros tuvimos al momento del desarrollo del mismo. Por lo cual consideramos importante dar a conocer los desafíos que se presentan en cada etapa del proyecto con el fin de permitir el avance del conocimiento en las cirugías experimentales.

6. CONCLUSIÓN

A pesar los riesgos que conlleva la realización de una cirugía, la evidencia comprueba que son más los beneficios que se pueden obtener a partir de ellas. La cirugía bariátrica por medio de la cirugía metabólica ha permitido tener una amplia gama de temas de estudios que permiten deslumbrar el futuro de estos procedimientos como tratamiento aplicable a múltiples patologías relacionadas entre sí.

Es por eso que este proyecto representa la oportunidad replicar esta cirugía en modelos de neurodegeneración para evaluar el comportamiento de GLP-1 y su incremento, el cual se ve favorecido con esta técnica.

7. REFERENCIAS

- Aceves-Martins, M., Llauradó, E., Tarro, L., Solà, R., & Giralt, M. (2016). Obesity-promoting factors in Mexican children and adolescents: challenges and opportunities. *Global Health Action*, 9, 10.3402/gha.v9.29625. <http://doi.org/10.3402/gha.v9.29625>
- Awasthi, A1., Rao, CR2., Hegde, DS3., Rao, NK1. (2017). Association between type 2 diabetes mellitus and anthropometric measurements - a case control study in South India. *J Prev Med Hyg*, 58(1):E56-E62. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28515633>
- Hernández, M., Shamah, M., Cuevas, L., Rivera, J. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2016. (ENSANUT 2016).
- Da Silveira, E. A., Vieira, L. L., Jardim, T. V., & de Souza, J. D. (2016). Obesity and its Association with Food Consumption, Diabetes Mellitus, and Acute Myocardial Infarction in the Elderly. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 107(6), 509–517. <http://doi.org/10.5935/abc.20160182>
- Sami, W., Ansari, T., Butt, N. S., & Hamid, M. R. A. (2017). Effect of diet on type 2 diabetes mellitus: A review. *International Journal of Health Sciences*, 11(2), 65–71.
- Nathan, D. M., Bayless, M., Cleary, P., Genuth, S., Gubitosi-Klug, R., Lachin, J. M., ... for the DCCT/EDIC Research Group. (2013). Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Study at 30 Years: Advances and Contributions. *Diabetes*, 62(12), 3976–3986. <http://doi.org/10.2337/db13-1093>
- Obirikorang, Y., Obirikorang, C., Anto, E. O., Acheampong, E., Batu, E. N., Stella, A. D., ... Brenya, P. K. (2016). Knowledge of complications of diabetes mellitus among patients visiting the diabetes clinic at Sampa

Government Hospital, Ghana: a descriptive study. *BMC Public Health*, 16, 637. <http://doi.org/10.1186/s12889-016-3311-7>

- Rtveldze, K., Marsh, T., Barquera, S., Sanchez Romero, L., Levy, D., Melendez, G., Brown, M. (2014). Obesity prevalence in Mexico: Impact on health and economic burden. *Public Health Nutrition*, 17(1), 233-239. doi:10.1017/S1368980013000086
- Hernández, M., Shamah, M., Cuevas, L., Rivera, J. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. (ENSANUT 2012).
- Figueroa-Lara, A., Gonzalez-Block, M. A., & Alarcon-Irigoyen, J. (2016). Medical Expenditure for Chronic Diseases in Mexico: The Case of Selected Diagnoses Treated by the Largest Care Providers. *PLoS ONE*, 11(1), e0145177. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0145177>
- Buchwald, H., Rucker, RD. (1981). The history of metabolic surgery for morbid obesity and a commentary. *World J Surg*. Nov;5(6):781-7. PubMed PMID: 7043911.
- Rao, WS., Shan, CX., Zhang, W., Jiang, DZ., Qiu, M. (2015). A meta-analysis of short-term outcomes of patients with type 2 diabetes mellitus and BMI \leq 35 kg/m² undergoing Roux-en-Y gastric bypass. *World J Surg*. Jan; 39 (1): 223-30.
- Cummings, B.P, Strader, A.D, Stanhope, K.L, Graham, J.L, Lee, J, Raybould, H.E, Baskin, D.G, Havel, P.J. (2010). Ileal interposition surgery improves glucose and lipid metabolism and delays diabetes onset in the UCD-T2DM rat. *Gastroenterology*. Jun; 138 (7): 2437-46
- Payab, M., & Hasani-Ranjbar, S. (2015). Ileal interposition surgery for treatment of type 2 diabetes mellitus-pros and cons. *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders*, 14, 77. <http://doi.org/10.1186/s40200-015-0202-x>
- Johannessen, H., Kodama, Y., Zhao, CM., Sousa, MM., Slupphaug, G., Kulseng, B., Chen, D. (2013). Eating behavior and glucagon-like peptide-1-producing cells in interposed ileum and pancreatic islets in rats subjected to ileal interposition associated with sleeve gastrectomy. *Obes Surg*.

Jan;23(1):39-49. doi:10.1007/s11695-012-0750-9. PubMed PMID: 22949011.

- Liu, S., Zhang, G., Wang, L., Sun, D., Chen, W., Yan, Z., Sun, Y., Hu, S. (2012). The entire small intestine mediates the changes in glucose homeostasis after intestinal surgery in Goto-Kakizaki rats. *Ann Surg*. Dec;256(6):1049-58. doi:10.1097/SLA.0b013e31826c3866. PubMed PMID: 23001083.
- Harris, K. B., McCarty, D. J. (2015). Efficacy and tolerability of glucagon-like peptide-1 receptor agonists in patients with type 2 diabetes mellitus. *Therapeutic Advances in Endocrinology and Metabolism*, 6(1), 3–18. <http://doi.org/10.1177/2042018814558242>
- Drucker, DJ. (2015). Deciphering metabolic messages from the gut drives therapeutic innovation: the 2014 Banting Lecture. *Diabetes*. Feb;64(2):317-26. doi:10.2337/db14-1514. PubMed PMID: 25614665.
- Holst, J. J. (2007). The physiology of glucagon-like peptide 1. *Physiol Rev*. Oct;87(4):1409-39. Review. PubMed PMID: 17928588
- Amao, M., Kitahara, Y., Tokunaga, A., Shimbo, K., Eto, Y., Yamada, N. (2015). Simultaneous quantification of intracellular and secreted active and inactive glucagon-like peptide-1 from cultured cells. *Anal Biochem*. Mar 1;472:45-51. doi:10.1016/j.ab.2014.11.009. Epub 2014 Nov 20. PubMed PMID: 25461479.
- Kota, S. K., Ugale, S., Gupta, N., Naik, V., Kumar, K. V. S. H., Modi, K. D. (2012). Ileal interposition with sleeve gastrectomy for treatment of type 2 diabetes mellitus. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 16(4), 589–598. <http://doi.org/10.4103/2230-8210.98017>
- Leech, C. A., Dzhura, I., Chepurny, O. G., Kang, G., Schwede, F., Genieser, H.-G., & Holz, G. G. (2011). Molecular Physiology of Glucagon-Like Peptide-1 Insulin Secretagogue Action in Pancreatic β Cells. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 107(2), 236–247. <http://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2011.07.005>

- Lee, Y. S., Jun, H. S. (2013). Anti-diabetic actions of glucagon-like peptide-1 on pancreatic beta-cells. *Metabolism*. 2014 Jan;63(1):9-19. doi: 10.1016/j.metabol.2013.09.010. Epub Oct 17. Review. PubMed PMID: 24140094.
- Araújo, F. I., Rêgo, A. C., Azevedo, Í., Carvalho, M. D., Medeiros, A. C. (2014). Ileal interposition and viability of pancreatic islets transplanted into intramuscular site of diabetic rats. *J Invest Surg*. Aug;27(4):191-6. doi:10.3109/08941939.2013.870622. Epub 2013 Dec 30. PubMed PMID: 24377965.
- Plummer, M. P., Meier, J. J., Deane, A. M. (2013). The gut-brain axis in the critically ill: Is glucagon-like peptide-1 protective in neurocritical care? *Critical Care*, 17(4), 163. <http://doi.org/10.1186/cc12758>
- Yamamoto, H., Lee, C. E., Marcus, J. N., Williams, T. D., Overton, J. M., Lopez, M. E., Elmquist, J. K. (2002). Glucagon-like peptide-1 receptor stimulation increases blood pressure and heart rate and activates autonomic regulatory neurons. *The Journal of Clinical Investigation*, 110(1), 43–52. <http://doi.org/10.1172/JCI15595>
- Candeias, E. M., Sebastião, I. C., Cardoso, S. M., Correia, S. C., Carvalho, C. I., Plácido, A. I., Duarte, A. I. (2015). Gut-brain connection: The neuroprotective effects of the anti-diabetic drug liraglutide. *World Journal of Diabetes*, 6(6), 807–827. <http://doi.org/10.4239/wjd.v6.i6.807>
- Li, X., Song, D., Leng, S. X. (2015). Link between type 2 diabetes and Alzheimer's disease: from epidemiology to mechanism and treatment. *Clinical Interventions in Aging*, 10, 549–560. <http://doi.org/10.2147/CIA.S74042>
- Gudala, K., Bansal, D., Schifano, F., Bhansali, A. (2013). Diabetes mellitus and risk of dementia: A meta-analysis of prospective observational studies. *Journal of Diabetes Investigation*, 4(6), 640–650. <http://doi.org/10.1111/jdi.12087>

- Rizvi, S. M. D., Shaikh, S., Waseem, S. M. A., Shakil, S., Abuzenadah, A. M., Biswas, D., Kamal, M. A. (2015). Role of anti-diabetic drugs as therapeutic agents in Alzheimer's disease. *EXCLI Journal*, 14, 684–696. <http://doi.org/10.17179/excli2015-252>
- Sridhar, G. R., Lakshmi, G., Nagamani, G. (2015). Emerging links between type 2 diabetes and Alzheimer's disease. *World Journal of Diabetes*, 6(5), 744–751. <http://doi.org/10.4239/wjd.v6.i5.744>
- Park, S. A. (2011). A Common Pathogenic Mechanism Linking Type-2 Diabetes and Alzheimer's disease: Evidence from Animal Models. *Journal of Clinical Neurology* (Seoul, Korea), 7(1), 10–18. <http://doi.org/10.3988/jcn.2011.7.1.10>
- Arab, L., Sadeghi, R., Walker, D. ., Lue, L.-F., Sabbagh, M. . (2011). Consequences of Aberrant Insulin Regulation in the Brain: Can Treating Diabetes be Effective for Alzheimer's Disease. *Current Neuropharmacology*, 9(4), 693–705. <http://doi.org/10.2174/157015911798376334>
- Stayte, S., & Vissel, B. (2014). Advances in non-dopaminergic treatments for Parkinson's disease. *Frontiers in Neuroscience*, 8, 113. <http://doi.org/10.3389/fnins.2014.00113>
- Buchwald, H., Avidor, Y., Braunwald, E., et al. (2004). Bariatric Surgery: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA*; 292(14):1724-1737 (doi:10.1001/jama.292.14.1724).
- Pories, W.J., Swanson, M.S., MacDonald, K.G., et al. (1995). Who would have thought it? an operation proves to be the most effective therapy for adult-onset diabetes mellitus. *Ann Surg*; 222:339-352.
- Barchi, L. C., Jacob, C. E., Franciss, M. Y., Kappaz, G. T., Rodrigues Filho, E. D., and Zilberstein, B. (2016). Robotic digestive tract reconstruction after total gastrectomy for gastric cancer: a simple way to do it. *Int J Med Robotics Comput Assist Surg*, 12: 598–603. doi: 10.1002/rcs.1720

- Tamames, S. Jr., De Vega, DS., Furio, V., Tamames, S. (1990). Compensatory reaction of the ascending colon following jejuno-ileal bypass. Experimental study. *Rev Esp Enferm Dig.* Jul;78(1):14-22
- Hübner, M., Larson, D.W. & Wolff, B.G. (2012). “How I Do It”—Radical Right Colectomy with Side-to-Side Stapled Ileo-Colonic Anastomosis. *J Gastrointest Surg* 16: 1605. <https://doi.org/10.1007/s11605-012-1909-3>
- Salloum C, Lim C, Lahat E, Compagnon P, Azoulay D. (2016). The venovenous bypass in liver transplantation: an unfinished product. *HepatoBiliary Surg Nutr* ;5(3):269- 272. doi: 10.21037/hbsn.2016.02.03
- Barra, J.A., Mondine, P., Bezon, E., Mahlab, A., Rukbi, I., Braesco, J. (1991). Revascularization of coronary arteries. Reimplantation of the right internal mammary artery into the left in situ mammary artery. *Presse Med.* Mar 9;20(9):423-5. French. PubMed PMID: 1673239.