

Tesis Doctoral

**Ácidos biliares circulantes como marcadores tempranos de obesidad y
salud cardiometabólica de adultos jóvenes**



PROGRAMA DE DOCTORADO EN BIOMEDICINA
DEPARTAMENTO DE EDUCACIÓN FÍSICA Y DEPORTIVA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL DEPORTE
UNIVERSIDAD DE GRANADA

José Rubio López

2021

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales
Autor: José Rubio López
ISBN: 978-84-1117-232-5
URI: <http://hdl.handle.net/10481/72880>



**Ácidos biliares circulantes como marcadores tempranos de obesidad y salud
cardiometabólica de adultos jóvenes.**

José Rubio López

Directores de la Tesis Doctoral [Doctoral Thesis Supervisors]

Jonatan Ruiz Ruiz

PhD

Profesor Titular de Universidad

Universidad de Granada

España

Borja M. Martínez Téllez

PhD

Investigador Postdoctoral

Hospital Universitario de Leiden

Países Bajos

Granada 30 de Noviembre de 2021

ÍNDICE

Proyectos y financiación

Abreviaturas

Tablas

Figuras

Resumen

1. Introducción:

1.1. La Obesidad, el principal problema

1.1.1. Origen

1.1.2. ¿Qué es?

1.1.3. ¿Por qué se considera una pandemia?

1.1.4. ¿Cuánta población está afectada?

1.2. El problema 2: La enfermedad cardiovascular:

1.2.1. Origen: el problema asociado a la sociedad

1.2.2. ¿Qué es?

1.2.3. ¿Cuánta población está afectada?

1.3. Tratamientos:

1.3.1. Quirúrgico

1.3.2. Farmacológico

1.3.3. Problemas: reganancia de peso

1.3.4. Marcadores sanguíneos, biomarcadores

1.4. Ácidos biliares como solución:

1.4.1. Origen

1.4.2. ¿Qué son? Funciones en el metabolismo

1.4.3. Ácidos biliares primarios y secundarios

1.5. ¿Existen diferencias por sexo en los ácidos biliares?

1.6. Ácidos biliares y su relación con la obesidad

1.6.1. Mecanismos biológicos que explican la relación entre los ácidos biliares y la obesidad

1.6.2. Asociación entre ácidos biliares y obesidad

1.7. Ácidos biliares y su relación con la salud cardiometabólica

1.7.1. Mecanismos biológicos que explican la relación entre los ácidos biliares y la enfermedad cardiometabólica

2. Hipótesis y objetivos

3. Material y Métodos

4. Resultados

5. Discusión

6. Conclusiones y futuras perspectivas

7. Referencias

8. Curriculum Vitae

9. Agradecimientos

Proyectos y financiación

La presente Tesis Doctoral está enmarcada dentro del proyecto nacional *Activating Brown adipose tissue through Exercise* (ACTIBATE, <http://profith.ugr.es/actibate>).

Dicho estudio ha sido financiado por:

- Ministerio Español de Economía y Competitividad (PTA 12264), Fondo de Investigación Sanitaria del Instituto de Salud Carlos III (PI13/01393).
- Retos de la Sociedad (DEP2016-79512-R), Fondos Estructurales de la Unión Europea (FEDER).
- Ministerio Español de Educación (FPU 13/04365, 14/04172, 15/04059, 16/05159, 16/028028 and 17/01523).
- Fundación Iberoamericana de Nutrición (FINUT).
- Redes temáticas de investigación cooperativa RETIC (Red SAMID RD16/0022).
- AstraZeneca HealthCare Foundation.
- Vegenat S.A.
- Universidad de Granada, Plan Propio de Investigación 2016, acciones de excelencia: Unidad de Excelencia de Ejercicio y Salud (UCEES).

Abreviaturas

¹⁸F-FDG: 18F-fluorodesoxiglucosa

AB: ácidos biliares

ACV: Accidente cerebro vascular

ANOVA: Análisis de varianza

APOA1: apolipoproteína A1

APOB: apolipoproteína B

ATP III: Programa Nacional para la educación sobre el tratamiento del colesterol para adultos panel III

BPGYR: bypass gástrico en Y de Roux

CA: ácido cólico

CAR: receptor androstano constitutivo

CC: control de calidad

CDCA: ácido quenodesoxicólico

ChEBI: entidades químicas de interés biológico

COSI: Childhood Obesity Surveillance Initiative

CT: colesterol total

DCA: ácidos desoxicólico

DMT2: Diabetes Mellitus tipo 2

DXA: absorciómetro de rayos X de energía dual

EHGNA: enfermedad de hígado graso no alcohólico

EMA: agencia europea del medicamento

FA: fosfatasa alcalina

FDA: Administración de Medicamentos y Alimentos

FGF19: factor de crecimiento de fibroblastos 19

FID: Federación Internacional de la Diabetes

FXR: receptor X Farsenoide nuclear

GCA: ácido glicólico

GCDCA: ácido glicoquenodesoxicólico

GDCA: ácido glicodesoxicólico

GLCA: ácido glicolítico

GLP1: glucagón tipo 1

GTP: glutámico pirúvico transaminasa

GTT: gamma-glutamyltransferasa

GUDCA: ácido glicoursodesoxicólico

HaBA1C: hemoglobina glicosilada

HDL-L: colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad

IFN- γ : interferón gamma

IL-10: interleucina 10

IL-17a: interleucina 17a

IL-22: interleucina 22

IL-4: Interleucina 4

IL-6: Interleucina 6

IL-7: Interleucina 7

IL-8: interleucina 8

IMC: índice de masa corporal

IMCM: índice de masa corporal magra

IUPAC: Unión internacional de química pura y aplicada

LC-MS / MS: cromatografía líquida-espectrometría de masas en tándem

LCA: ácido litocólico

LDL-C: lipoproteína de baja densidad

MCG: masa corporal grasa

MCM: índice de masa magra

MCM: masa corporal magra

MG%: porcentaje de masa magra

NHR: receptores de hormonas nucleares

OB: obesos

OMS: organización mundial de la salud

PAD: presión arterial diastólica

PAS: presión arterial sistólica

PET/TAC: tomografía por emisión de positrones / tomografía computarizada

PXR: receptor X de Pregnane

RSD: desviaciones estándar relativas

SMRM: reacción múltiple selectivo

SP: sobrepeso

SPSS: programa estadístico

SUV: valor de aceptación estandarizado

TAP: tejido adiposo pardo

TAV: tejido adiposo visceral

TG: triglicéridos

TG: triglicéridos

TGR5: receptor acoplado a la proteína Takeda G 5

TNF α : Factor de necrosis tumoral alfa

UCP1: proteína desacoplante 1

UDCA: ácido ursodesoxicólico

VDR: receptor de vitamina D3

Tablas

- **Tabla 1.** Estudios que describen la asociación entre ácidos biliares y la obesidad.
- **Tabla 2.** Datos descriptivos sobre la relación de los ácidos biliares con el perfil cardiometabólico en humanos.
- **Tabla 3.** Listado de ácidos biliares analizados con LC-MS/MS.
- **Tabla 4.** Edad, antropometría, composición corporal y perfil cardiometabólico de los sujetos incluidos en el estudio (n=133).
- **Tabla 5.** Concentración de ácidos biliares circulantes primarios y secundarios divididos en hombres y mujeres (n=133).
- **Tabla 6.** Asociación entre concentración de ácidos biliares circulantes y factores de riesgo cardiometabólico ajustados por índice de masa magra y porcentaje de masa grasa.

Figuras

- **Figura 1.** Regresiones lineales divididas por sexo entre las concentraciones de ácidos biliares circulantes y la masa magra corporal.
- **Figura 2.** Correlaciones entre las concentraciones de ácidos biliares circulantes con la composición corporal y los parámetros de tejido adiposo pardo en adultos jóvenes sanos (n=133).
- **Figura 3.** Correlaciones entre la concentración de ácidos glicodeoxicólico y los parámetros de captación de ^{18}F -FDG en los diferentes tejidos.
- **Figura 4.** Correlaciones entre la concentración de ácidos glicolítico y los parámetros de captación de ^{18}F -FDG en los diferentes tejidos.
- **Figura 5.** Correlaciones entre las concentraciones de ácidos biliares circulantes con factores de riesgo cardiometabólico en adultos jóvenes sanos (n=133).
- **Figura 6.** Correlaciones entre los niveles plasmáticos de ácidos biliares circulantes y niveles plasmáticos de citoquinas proinflamatorias y antiinflamatorias de adultos jóvenes (n=133).

RESUMEN

La obesidad y las enfermedades cardiovasculares son las mayores causas de mortalidad en la sociedad occidental. Los ácidos biliares circulantes (AB) han surgido como moduladores de la obesidad y de la salud cardiometabólica ya que están involucrados en la homeostasis de la glucosa, lípidos y gasto energético a través de varios receptores entre los que destacan el receptor X Farnenoide nuclear (FXR) y receptor acoplado a la proteína Takeda G 5 (TGR5). Sin embargo, sigue sin estar bien definidos los mecanismos subyacentes ni la caracterización de los AB circulantes en cuanto a afectación de la salud cardiovascular en humanos. Los objetivos de la presente tesis doctoral fueron i) estudiar las diferencias entre los niveles circulantes de AB en hombres y mujeres, y ii) estudiar la asociación de los niveles circulantes de AB circulantes con marcadores de obesidad y salud cardiometabólica en adultos jóvenes. Métodos: Se midieron los AB circulantes, factores de riesgo cardiovascular, antropometría y composición corporal, así como la actividad y volumen del tejido adiposo pardo (TAP) en una cohorte de 136 adultos jóvenes (45 hombres y 91 mujeres). Resultados: Los niveles de CDCA y GUDCA fueron mayores en hombres que en mujeres, aunque estas diferencias desaparecieron tras ajustar por masa grasa. Los niveles de CA, CDCA, DCA y GDCA, se asociaron de manera positiva, aunque débil, con los niveles de masa magra, mientras que los niveles de GDCA y GLCA se asociaron negativamente con la captación de ¹⁸F-fluorodesoxiglucosa por el TAP. Curiosamente, GCA, GCDCA y GUDCA, se asociaron positivamente con los niveles de insulina, el índice HOMA, los niveles de colesterol e inflamación pero se asociaron negativamente con los niveles de HDL-C y adinopenectina, sin embargo, estas correlaciones, desaparecieron parcialmente al introducir la masa magra como covariable. Conclusiones: Los resultados de la presente Tesis Doctoral demuestran que los niveles circulantes de AB podrían depender del sexo y considerarse marcadores tempranos de la

salud cardiometabólica además de estar asociados a factores inflamatorios en personas jóvenes y sanas. Aunque algunos AB circulantes se relacionan con la masa magra, no se demostró que los AB circulantes pudieran ser considerados marcadores de adiposidad. Además, la presente Tesis Doctoral, pone de manifiesto el papel de la masa magra, ya que la asociación entre los niveles circulantes de AB y el perfil cardiometabólico desapareció parcialmente al ajustar por dicha variable, aunque se necesitan más estudios para confirmar este novedoso hallazgo.

Abstract

Obesity and cardiovascular diseases are the major causes of mortality in Western society. Circulating bile acids (BA) have emerged as modulators of obesity and cardiometabolic health since they are involved in the homeostasis of glucose, lipids and energy expenditure through several receptors such as the nuclear X-pharsenoid receptor (FXR) and Takeda G 5 protein coupled receptor (TGR5). However, the underlying mechanisms and the characterization of circulating BAs in the human metabolism remains poorly understood. The main aims of this doctoral thesis are i) to study whether there are differences between circulating levels of BA in men and women, and ii) to study the association of circulating levels of BA with markers of obesity and cardiometabolic health in young adults. Methods: Circulating BA, cardiovascular risk factors, body composition, as well as brown adipose tissue activation (BAT) were measured in a cohort of 136 young adults (45 men and 91 women). Results: Plasma levels of CDCA and GUDCA levels were higher in men than in women, although these differences disappeared after adjusting for fat mass. Plasma levels of CA, CDCA, DCA, and GDCA were positively, although weakly, associated with lean body mass, whereas plasma levels of GDCA and GLCA were negatively associated with 18F-fluorodeoxyglucose uptake (¹⁸F-FDG) by BAT. Interestingly, GCA, GCDCA and GUDCA were positively associated with serum levels of insulin, HOMA index, cholesterol levels and inflammation but were negatively associated with HDL-C and adiponectin, however, these correlations partially disappeared after adjusting for lean mass.

Conclusions: The results of the present Doctoral Thesis show that the circulating levels of BA could be different between males and females, and could be considered early markers of the inflammatory and cardiometabolic health in young adults. In addition, this Doctoral Thesis highlights the role of lean mass, since the association between circulating

BA levels and the cardiometabolic profile partially disappeared when adjusting for lean mass, however, further studies are needed to elucidate this new role.

1. INTRODUCCIÓN

La obesidad, principal problema.

El constante aumento de prevalencia de sobrepeso y obesidad en todos los países ha provocado que a día de hoy se consideren una pandemia global, constituyendo un problema de salud pública en la mayoría de los países con altos ingresos y una seria amenaza en los sectores más ricos de países en desarrollo^{1,2}. En 2016, más de 1900 millones de adultos, de 18 o más años, tenían sobrepeso, de los cuales, más de 650 millones eran obesos³. Alrededor de 3,4 millones de muertes se atribuyeron a obesidad y sobrepeso en 2010². Estamos ante una verdadera crisis global ya que el 65% de la población vive en países donde hay más mortalidad por sobrepeso que por insuficiencia ponderal⁴. En el año 2010, alrededor del 19,3% de los niños europeos de seis años padecían de obesidad y sobrepeso según COSI (Childhood Obesity Surveillance Initiative)^{5,6} y en el año 2016, 41 millones de niños menores de 5 años tenían sobrepeso o eran obesos, y había más de 340 millones de niños y adolescentes (de 5 a 19 años) con sobrepeso y obesidad³. Se trata de un hecho con importantes consecuencias, puesto que estos niños con sobrepeso tienen tendencia a convertirse en adultos con sobrepeso⁷.

La obesidad es una acumulación anormal o excesiva de grasa que supone un riesgo para la salud⁴. Se relaciona con múltiples enfermedades como la hipertensión, infarto de miocardio, accidente cerebro vascular (ACV), Diabetes Mellitus tipo 2 (DMT2), cáncer y apnea del sueño⁸⁻¹³. La obesidad no discrimina en cuanto a geografía, nivel económico, sexo y edad e induce un proceso inflamatorio con afectación metabólica multiorgánica¹⁴. Existen diferencias metabólicas dependiendo de la ubicación de las células grasas, como la grasa intra abdominal (i.e., acumulación de grasa en tejido adiposo visceral) asociada con un mayor riesgo para la salud con respecto al acúmulo de grasa subcutánea y en

extremidades¹⁵. Para evaluar la relación de la adiposidad con la enfermedad cardiovascular, se utilizan diferentes medidas antropométricas de adiposidad como la circunferencia de la cintura o el índice cintura:altura^{16,17}.

Nos encontramos ante una epidemia global de obesidad y de enfermedades crónicas asociadas, subestimada si solo tenemos en cuenta el Índice de Masa Corporal (IMC) y que se propaga a medida que la industrialización y la mejora de vida se extienden hacia los centros urbanos¹⁸. En los países con bajos ingresos, la obesidad afecta principalmente a los adultos de mediana edad, en cambio, en los países con altos ingresos afecta a todas las edades y a ambos sexos¹⁹. El aumento continuo de tasas de obesidad, está generando una gran carga económica para los países²⁰. Se estima que el sobrepeso y la obesidad alcanzarán niveles de 89% y 85% en hombres y mujeres respectivamente para el año 2030²¹ lo que se traducirá en un aumento de la prevalencia de enfermedades coronarias relacionadas con la obesidad en un 97%, varios tipos de cáncer en un 61% y DMT2 en un 21%²².

La enfermedad cardiovascular y cardiometabólica

Históricamente, la enfermedad cardiometabólica se ha interpretado como un trastorno que abarca un gran abanico de factores de riesgo fuertemente asociados con el desarrollo de DMT2 y que finalmente desarrolla una enfermedad cardiovascular²³. Durante las últimas tres o cuatro décadas, se han conseguido avances importantes en la prevención y tratamiento de las enfermedades cardiovasculares. Los principales factores de riesgo son el tabaquismo, hipercolesterolemia e hipertensión arterial, aunque sus niveles han disminuido durante las últimas décadas según estudios en los países con altos ingresos económicos²⁴. Este hecho se ha visto reflejado en un descenso notable de las muertes

inducidas por enfermedades cardiovasculares, superando el cáncer como causa de muerte²⁵. Por el contrario, las tasas de obesidad han aumentado notablemente en las últimas décadas, al igual que la prevalencia de DMT2^{26,27}. En países desarrollados se observa una menor tasa de casos no diagnosticados lo que supone una mayor supervivencia y longevidad de los pacientes diabéticos²⁴. La DMT2 es una enfermedad que afecta a más del 30% de los adultos estadounidenses²⁸, y guarda una relación directamente proporcional con la obesidad. La morbimortalidad asociada a la enfermedad cardiometabólica se debe principalmente a enfermedad cardiovascular y DMT2, que juntas son las principales causas de muerte en EEUU²⁹. Un manejo agresivo de los factores de riesgo puede mejorar el pronóstico de la enfermedad cardiometabólica³⁰, pero el continuo descubrimiento de las nuevas vías de afectación a los diversos órganos que conlleva, destaca la necesidad de buscar y encontrar nuevos métodos diagnósticos que las evalúen.

Tratamiento de la obesidad

Son muchos los mecanismos que subyacen en la regulación de la homeostasis energética, por lo que el tratamiento de la obesidad y el consecuente mantenimiento de pérdida ponderal, han demostrado ser un reto tanto para médicos, investigadores, así como para el propio paciente. La promoción de hábitos alimenticios saludables y el ejercicio son la primera línea de tratamiento pero no logran producir una pérdida de peso sostenida de más del 10% debido a los procesos adaptativos que ocurren para prevenir un estado de inanición, tal y como la una disminución del gasto energético y un aumento del apetito³¹. La farmacoterapia se utiliza como tratamiento complementario a los cambios de comportamiento, especialmente cuando dichos cambios de estilo de vida no logran

alcanzar la pérdida de peso deseada, siendo la elección del fármaco en función de las comorbilidades del paciente. La cirugía bariátrica (bypass en Y de Roux o gastrectomía vertical) y los dispositivos implantables (Banda gástrica ajustable®, banda gástrica Realize®, o el sistema recargable Maestro®) son opciones para pacientes con obesidad que presentan un $IMC \geq 35 \text{ kg/m}^2$ con una o más comorbilidades. La cirugía bariátrica ha demostrado que produce una pérdida ponderal profunda durante un año pero con cierta recuperación de peso en los años siguientes³²⁻³⁴. La cirugía bariátrica puede disminuir el riesgo de desarrollar comorbilidades relacionadas con la obesidad pero conlleva un gran coste y riesgos significativos que limitan su aplicación generalizada³⁵. Gracias al desarrollo de la farmacoterapia en las últimas décadas disponemos de tratamientos vía oral para la obesidad³⁶. En 2012, los únicos medicamentos aprobados en EEUU para el tratamiento de la obesidad eran, i) Fentermina, un derivado de la anfetamina, que estimula la liberación de norepinefrina y ii) Orlistat (tetrahidrolipstatina), un inhibidor de la lipasa pancreática. En cambio, en Europa, sólo está aprobado el Orlistat, y no así la Fentermina. Tras 2012, se aprobaron 4 nuevos medicamentos en EEUU, con eficacias diferentes³¹. La lorcaserina (Belviq®) y la liraglutida (Saxenda®) son monoterapias dirigidas a los receptores 5-HT_{2c} y al receptor del péptido 1 similar al glucagón (GLP-1) respectivamente. La fentermina / topiramato de liberación prolongada (Qsymia®) y natrexona / bupropion (Contrave™)^{36,37}, son 4 medicamentos aprobados por la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA), pero solo la liraglutida y natrexona / bupropion (Mysimba™) han sido aprobados por la Agencia Europea de Medicamentos (EMA).

Son muchos los enfoques existentes en la actualidad para que los pacientes puedan obtener una pérdida de peso a corto plazo sin embargo menos del 20% de esos pacientes logran mantener una pérdida de peso del 10% durante un año ya que la mayoría lo

recuperan a los 3-5 años³⁸⁻⁴⁰. Debido a esta reganancia ponderal, los individuos vuelven a tener una recaída en las comorbilidades médicas relacionadas con el peso contribuyendo nuevamente a los costos socioeconómicos⁴¹. La pérdida de peso induce adaptaciones en varios factores humorales que han sido identificados y diversos estudios de laboratorio apoyan que tales adaptaciones promueven una recuperación de peso⁴². En los humanos, la concentración de adiposidad se mide con leptina e insulina: (que normalmente se elevan con la adiposidad excesiva) se reducen sustancialmente durante la restricción calórica y con la posterior pérdida de peso⁴³⁻⁴⁸. Estas reducciones son desproporcionadamente bajas en relación a la masa grasa con un peso estable⁴², lo que hace probable que el sistema nervioso central interprete como un agotamiento de energía importante que debe corregirse⁴⁹. El mantenimiento de un bajo peso corporal, se ha relacionado con una actividad neuronal de la leptina de manera reversible en la región cerebral responsable de la homeostasis energética⁵⁰. La administración de leptina en sujetos que han bajado peso, mejora la saciedad⁵¹, y además, la restricción calórica junto a la pérdida de peso inducen un aumento considerable en la concentración de grelina⁵², definida como una potente hormona orexigénica⁵³. Cabe destacar un reciente estudio sobre la Interleucina-22 (IL-22) que demuestra que el sexo masculino, el tabaquismo y un colesterol unido a lipoproteína de alta densidad (HDL-C) bajo entre otros factores de riesgo cardiovascular, se asocian con niveles más altos de IL-22, aunque concluyen que son necesarios más estudios para poder usarlo como biomarcador de enfermedades cardiovasculares⁵⁴.

Los Ácidos biliares

Los ácidos biliares circulantes (AB) son moléculas endocrinas sintetizadas en el hígado a partir de colesterol que además de facilitar la absorción de nutrientes liposolubles, regulan numerosos procesos metabólicos entre los que se encuentran la glucosa, los lípidos y la homeostasis energética, a través de la activación de receptores de los AB⁵⁵. Estos receptores no solo se expresan en tejidos dentro de la circulación enterohepática como el hígado y el intestino, sino también en otros órganos donde los AB median sus acciones sistémicas⁵⁶. Los principales receptores de AB que regulan el metabolismo son el receptor X Farnenoide nuclear (FXR) y el receptor acoplado a la proteína Takeda G 5 (TGR) unido a la membrana, ambos, considerados de gran importancia en el desarrollo de enfermedades metabólicas⁵⁷. La síntesis, el metabolismo y la distribución de los AB circulantes en el cuerpo están regulados a través de una intrigante interacción entre los AB, sus receptores TGR5 y FXR y la microbiota intestinal⁵⁸.

La relación entre los AB circulantes y la nutrición es estrecha y bidireccional⁵⁹. La síntesis, secreción y ciclo de los AB circulantes se rigen por el tiempo y contenido de la ingesta, siendo la señalización de los AB quien regula el metabolismo posterior del “combustible” disponible⁵⁹. El interés por la biología de los AB circulantes y su uso como biomarcadores se ha incrementado en los últimos años debido a la gran crisis de salud pública mundial de la obesidad y los trastornos metabólicos asociados.

Entre los AB circulantes, destacan el ácido cólico (CA) y quenodesoxicólico (CDCA), como los AB primarios más importantes en el ser humano, sintetizados a partir de colesterol en los hepatocitos por dos vías diferentes; i) la vía clásica o neutra y ii) la vía alternativa o ácida, mucho menos importante, contribuyendo a menos del 10% de la

síntesis de los AB⁵⁶. Los AB primarios se conjugan con glicina y taurina en el hígado, con la consiguiente secreción hacia la bilis y almacenada en la vesícula biliar. Tras la ingesta de alimentos, el duodeno secreta colecistoquinina que estimula la contracción y liberación de la bilis hacia el intestino. En la luz intestinal, los AB primarios, interactúan con la microbiota intestinal, produciendo los AB secundarios (ácidos desoxicólico (DCA) y ácido litocólico (LCA)) facilitando la absorción de los lípidos de la dieta y vitaminas liposolubles⁶⁰. El 95% de los AB circulantes se reabsorben en el íleon terminal y son transportados nuevamente al hígado a través de la circulación portal⁶¹. Sólo el 5% de los AB son excretados con las heces, el cual es suplido por la neoformación de los mismos a nivel hepático⁶¹.

Se han observado tanto alteraciones cuantitativas como cualitativas de los AB circulantes en la obesidad, resistencias a la insulina, DMT2 y enfermedad de hígado graso no alcohólico (EHGNA)⁶²⁻⁶⁴. Los AB circulantes han sido propuestos como biomarcadores de riesgo de resistencia a la insulina y DMT2 aunque su utilidad clínica no ha sido realmente evaluada.

¿Existen diferencias por sexo en los niveles de AB circulantes?

El sexo ha sido reconocido como un importante modulador de las enfermedades cardiovasculares y hepáticas^{65,66}. Las diferencias en composición corporal, estado hormonal y la distribución de grasa, dificultan la interpretación de los datos, pero está demostrado que las mujeres premenopáusicas con respecto a los hombres de la misma edad, tienen un menor riesgo de desarrollar enfermedades hepáticas y cardiovasculares no relacionadas con la toxinas, incluidas las relacionadas con el colesterol sérico elevado^{67,68}. El perfil lipídico de las mujeres premenopáusicas es menos aterogénico, y

presentan concentraciones más altas de lipoproteínas de alta densidad que contienen colesterol⁶⁹. Los dimorfismos sexuales afectan también a nivel hepático, donde también se observan diferencias sexuales tanto en el tamaño y composición de los AB circulantes⁷⁰. Los estrógenos, más presentes en el sexo femenino, están emergiendo como importantes reguladores de la producción AB circulantes debido a un mecanismo de retroalimentación y a niveles de colesterol sérico⁷¹. Aunque generalmente las diferencias entre sexo existentes entre hombres y mujeres se les achacan a efectos hormonales, a veces existen hechos contradictorios. Alrededor del 50% de las mujeres que se les administraron antagonista del receptor de estrógeno, como tratamiento de cáncer de mama, desarrollan esteatosis hepática en los dos años posteriores del inicio del tratamiento⁷², pero curiosamente, en las mujeres embarazadas, los niveles elevados de estrógenos se asocian con el desarrollo de colestasis, en probable relación con la inhibición del transporte de AB circulantes al hígado desde el intestino en lugar de un aumento de su síntesis⁷³.

Relación de los ácidos biliares con la obesidad

Cada vez más se postulan los AB como importantes moduladores de la obesidad, y se relacionan con trastornos metabólicos como el desarrollo de la DMT2⁵⁶. Los AB afectan a la homeostasis de glucosa, lípidos y gasto energético a través de la activación de receptores de AB en el hígado, intestino y otros tejidos⁷⁴. Los dos principales receptores de AB que regulan el metabolismo son: i) FXR y ii) TGR5, ambos reconocidos y relacionados en el desarrollo de trastornos metabólicos⁵⁶. Aunque FXR y TGR5 se expresan en varios tejidos, se han estudiado principalmente sus funciones hepáticas e intestinales, siendo FXR expresado en gran medida en el hepatocitos, enterocitos de íleon distal y colon, mientras que TGR5 se expresa en células enteroendocrinas, células

epiteliales de la vesícula biliar y conducto biliar⁷⁴. La unión de esos receptores de AB con fármacos agonistas, podrían ser un tratamiento para prevenir la obesidad y las enfermedades relacionadas, replicando la actividades de estos receptores (como por ejemplo la activación del metabolismo), sin embargo, tanto FXR como TGR5, regulan una amplia gama de procesos⁷⁴.

Si bien es cierto que aún falta mucho por estudiar y descubrir, todo parece insinuar una estrecha relación entre los AB y la obesidad (**Tabla 1**).

Tabla 1. Estudios que describen la asociación entre ácidos biliares y obesidad.

Autor	AB total	AB conjugado glicina	AB conjugado taurina	AB no conjugado	CA	DCA	CDCA	AB fecal
Ginos et al. 2018 ⁷⁵	↑*	↑*	↓*					
Straniero et al. 2017 ⁷⁶	↑*							
Lei et al. 2017 ⁷⁷					↑*	↓*	↑*	
Haeusler et al. 2016 ⁷⁸	↑				↓*	↑*	↑*	
Xie et al. (grupo masculino) 2015 ⁷⁹	↑	↑	↑	↑	↑*	↑*	↑*	
Xie et al. (grupo femenino) 2015 ⁷⁹	↑*	↑	↓	↑	↑*	=	↑*	
Prinz et al. 2015 ⁸⁰	↑*							
Osto et al. 2015 ⁸¹	↓*							
Yu et al. 2015 ⁸²	↓							↑*
Renner et al. 2014 ⁸³	=				=	↑*	↓*	
Lips et al. 2014 ⁸⁴	↓							
Steinert et al. 2013 ⁸⁵	↓*							
Ahmad et al. 2013 ⁸⁶	↓*	↓*	↓*	↓*				
Haluzikova et al. 2013 ⁸⁷	↓*							
Cariou et al. 2011 ⁶⁴	↑*				↑*	↑*	↑*	
Glicksman et al. 2010 ⁸⁸	↑							
Miettinen et al. 2000 ⁸⁹								↑*
Nestel et al. 1974 ⁹⁰								↑*
Miettinen et al. 1971 ⁸⁹								↑*

AB: Ácidos Biliares; AC: ácido cólico; DCA: ácido desoxicólico; CDCA: ácido quenodesoxicólico; Los asteriscos (*) indican una asociación positiva. Las flechas sin asterisco indican que las asociaciones no fueron estadísticamente significativas. El símbolo igual (=) se traduce en que no hubo cambios estadísticamente significativos.

Autores como Ginos et al.,⁷⁵ en un estudio con 80 adultos sanos, (50% obesos y 50% delgados) vio una asociación positiva entre GCA, UDCA y GDCA con Índice HOMA. Straneiro et al.,⁷⁶ en un estudio de 64 participantes (todas mujeres) donde 10 de ellas presentaban obesidad mórbida observó que las pacientes obesas tenía una mayor concentración de AB totales, similar a Haeusler et al.,⁷⁸ donde en un estudio transversal con 32 obesos y 11 delgados, vio también que la concentración AB totales eran mas altos en los obesos en comparación con las personas delgadas. En cambio, hay otros autores como Ahmad et al.,⁸⁶ en un estudio con 5 pacientes obesos mórbidos pendientes de cirugía y 8 controles, Haluzikova et al.,⁸⁷ en un estudio de 32 mujeres, 17 de ellas con obesidad mórbida y Steinert et al.,⁸⁵ con 14 obesos mórbidos y 6 pacientes en el grupo control, describen una menor concentración AB totales en el grupo de obesos. Ginos et al.,⁷⁵ y Xie et al.,⁷⁹ en una población de 502 participantes sanos, han estudiado más a fondo la relación entre la obesidad y las diferentes sub especies de AB encontrado una relación positiva entre la concentración AB conjugados con glicina y la obesidad. En contraposición, Ahmad et al.,⁸⁶ encuentra una relación negativa entre los AB con glicina y la obesidad. El creciente interés en los AB ha ido más allá, relacionando la obesidad con diferentes subtipos de AB, tanto primarios como secundarios. Cariou et al.,⁶⁴ en una población de 14 voluntarios sanos, 20 pacientes con DMT2 y 22 participantes no diabéticos obesos, describe una relación positiva entre la concentración de varios AB (CA, DCA y CDCA) y la obesidad. Xie et al.,⁷⁹ encuentra estos mismos resultados con la excepción de que en el grupo de las mujeres, no haya diferencias en la concentración de DCA. Lei et al.,⁷⁷ en un estudio con dos cohortes, (una cohorte con 199 voluntarios sanos, 78 con sobrepeso y 66 con sobrepeso y DMT2; y otra cohorte con 38 participantes obesos pendientes de cirugía metabólica) relacionan la obesidad con una mayor concentración de CA y CDCA pero en cambio una menor concentración de DCA.

¿Puede el tratamiento de la obesidad modular el metabolismo de los ácidos biliares?

El tratamiento más común de la obesidad es la cirugía metabólica, y entre ellas cabe destacar el bypass gástrico en Y de Roux y la gastrectomía vertical. Existen otras técnicas menos invasivas como la banda gástrica pero su uso es cada vez menor. Entre los tratamientos menos invasivos estarían, la dieta baja en calorías, cambios de estilo de vida y la farmacoterapia. Los procedimientos quirúrgicos logran una reducción de peso sostenida de hasta el 50% del exceso de peso corporal en la mayoría de los pacientes y son más efectivos que los procedimientos no quirúrgicos⁹¹. Tanto la restricción gástrica, como una leve malabsorción, alteraciones de señales neurales, exclusión duodenal como expulsión temprana de nutrientes al intestino delgado son algunos de los posibles mecanismos que influyen en la pérdida de peso⁹². Curiosamente los mecanismos específicos que median la pérdida de peso y un mejor control de la diabetes siguen sin comprenderse completamente, achacando un posible rol de los AB. Un reciente metanálisis concluye en que la cirugía bariátrica tiene un efecto a largo plazo sobre los AB, aumentando su concentración significativamente en ayunas (concentración total en AB) y que podrían ser estos la base de los efectos beneficiosos del tratamiento⁹³.

Relación de los ácidos biliares con la salud cardiometabólica

Los datos más recientes, impulsan cada vez más el papel de los AB en la homeostasis de la glucosa y los lípidos al activar tanto FXR, como TGR5^{64,94-96}. Los AB son ligando para FXR, un receptor nuclear altamente expresado en hígado, intestino, riñón y glándulas suprarrenales^{97,98}. FXR se activa de manera diferente por cada AB (CDCA >DCA> LCA >CA), por lo que las alteraciones en la composición de la reserva de AB podrían conducir a diferentes tasas de producción y secreción de AB^{99,100}. Un adecuado mantenimiento del

“pool” de AB en el cuerpo está determinada por su síntesis a nivel hepático, la concentración y contracción de la vesícula biliar, la secreción biliar, tránsito intestinal, biotransformación microbiana, reabsorción intestinal y excreción fecal¹⁰¹. Las bacterias, juegan un papel principal en el metabolismo de los AB, porque son responsables de la transformación de los AB primarios a secundarios¹⁰¹. Por tanto, es lógico pensar que diferente composición de la microbiota intestinal, también sería responsable de los diferentes perfiles de AB, ya que estos mismos son metabolizados por la microbiota¹⁰². Con respecto a la activación de TGR5 por parte de los AB, se trata de un receptor de membrana acoplado a la proteína G y que a su vez también se expresan en muchos órganos y tejidos con alta expresión en macrófagos, monocitos, placenta, vesícula biliar, hígado e intestino^{103,104}. A través de TGR5, se le atribuye a los AB el papel de activar el gasto energético en el tejido adiposo marrón, y del músculo esquelético⁹⁶. Cariou et al.,⁶⁴ en una población de 14 voluntarios sanos, 20 con DMT2 y 22 obesos no diabéticos, encuentra una relación positiva entre algunos AB (DCA, CDCA y CA) y varios factores de riesgo cardiovascular como el Índice HOMA, la glucosa o la insulina (**Tabla 2**). Resultados similares encuentra Ginos et al.,⁷⁵ en un estudio con 80 adultos sanos, 50% obesos y 50% delgados encontrando una asociación positiva entre la concentración plasmática de ácidos biliares (GCA, UDCA, GDCA) e Índice HOMA; Ginos et al.,⁷⁵ realiza una estratificación por IMC y sexo observando varias relaciones entre obesos/sobrepeso y mujeres/hombres con diferentes AB (**Tabla 2**).

Tabla 2. Datos descriptivos sobre la relación de los ácidos biliares con el perfil cardiometabólico en humanos.

Referencias	Estudio poblacional (n=cantidad) Rango de composición corporal. Sexo	¿Estudiaron la interacción de sexo?	¿Estudiaron la relación entre los AB y TAP?	¿Estudiaron la relación entre los AB y el perfil cardiometabólico?
Ginos et al. 2018 ⁷⁵	(n=80) 40 mujeres, 40 hombres	No. Estratifican. (IMC y Género)	No	Si Asociación positiva entre la concentración de AB plasmáticos y Índice HOMA: GCA, UDCA, GDCA Estratificado por IMC: CDCA, CA, UDCA; asociación positiva entre Índice HOMA y sobrepeso respecto grupo obesos. Estratificado por Género: Índice HOMA y mujeres; GCA, CDCA, CA, UDCA, GDCA, GLCA (positiva) Índice HOMA y hombres: CDCA, GDCA, GLCA (positiva).
Cariou et al. 2017 ⁶⁴	(n=56) Controles, Obesos y DMT2 hombres=37; mujeres= 19	Si. CDCA y CA mayor en hombres. Sin diferencias en DCA.	No	Si. DCA positivamente relacionado con Índice HOMA, glucosa e insulina. CDCA positivamente relacionado con Índice HOMA e insulina. CA positivamente relacionado con insulina. DCA, CDCA y CA no relacionado con TG, LDL-C y HaBA1C.
Straneiro et al. 2017 ⁷⁶	(n=64) Solo mujeres 10 obesas 54 control	No.	No.	No
Lei et al. 2017 ⁷⁷	(n=381) 2 estudios independientes 199 sujetos sanos 78 sobrepeso/obesos 66 SP/OB con DMT2 Segundo estudio: 38 pacientes obesos tras BPGYR	No.	No.	Ratio DCA, disminuye DMT2. Correlación negativa entre IMC, CT, TG.

Haeusler et al. 2016 ⁷⁸	(n=43). 4 hombres 32 mujeres	No.	No.	No.
Broeders et al. 2016 ¹⁰⁵	(n=12) Mujeres	No	Si.	No.
Xie et al. 2015 ⁷⁹	(n=502) 138 mujeres 364 hombres	Si. CA,CDCA,UDCA, GLCA,GUDCA: asociado con género. GCDCA,GUDCA, CDCA, CA: menor en mujeres vs hombres. GDCA, DCA, GCA: aumento en mujeres vs hombres.		No.
Prinz et al.2015 ⁸⁰	(n=203) Sólo mujeres. 3 Cohortes.	No.	No.	No. (AB plasmáticos & composición corporal) Los AB plasmáticos muestran una correlación positiva con IMC.
Renner et al. 2014 ⁸³	(n=168) (no descrito)	No.	No.	No.
Ahmad et al. 2013 ¹⁰⁶	(n=13) 8 hombres 5 mujeres	No.	No.	No.

AB: ácidos biliares; BPGYR: bypass gástrico en Y de Roux; CA: ácido cólico; CDCA: ácido quenodesoxicólico; CT: colesterol total; DCA: ácido desoxicólico; DMT2: Diabetes Mellitus tipo 2; GCA: ácido glicocólico; GCDCA: ácido glicoquenodesoxicólico GDCA: ácido glicodesoxicólico; GLCA: ácido glicolítico; GUDCA: glicoursodesoxicólico; HaBA1C: hemoglobina glicosilada; IMC: índice de masa corporal; LDL-C: lipoproteína de baja densidad; OB: obesos; SP: sobrepeso; TAP: tejido adiposo pardo; TG: triglicéridos; UDCA: ácido ursodesoxicólico.

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Hipótesis:

La principal hipótesis de la presente Tesis doctoral fue: i) existen diferencias por sexo en cuanto a los niveles circulantes de ácidos biliares, y ii) los niveles circulantes de ácidos biliares se relacionan de forma positiva con marcadores de obesidad y salud cardiometabólica en adultos jóvenes.

Objetivo general:

Estudiar la asociación de los niveles circulantes de ácidos biliares con marcadores de obesidad y salud cardiometabólica en adultos jóvenes.

Objetivos específicos:

- Estudiar si existen diferencias en los niveles circulantes de ácidos biliares en hombres y mujeres.
- Estudiar si los niveles circulantes de ácidos biliares se relacionan con marcadores de obesidad en adultos jóvenes.
- Estudiar si los niveles circulantes de ácidos biliares se relacionan con marcadores del perfil cardiometabólico e inflamatorio en adultos jóvenes.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

MATERIAL Y MÉTODOS

Participantes

Se incluyeron un total de 136 adultos jóvenes (45 hombres y 91 mujeres) como se indica en la **Tabla 4** encuadrado dentro del proyecto ACTIBATE (ClinicalTrials.gov, ID: NCT02365129)¹⁰⁷. Todos los participantes fueron reclutados a través de anuncios en medios electrónicos y folletos informativos. Los criterios de inclusión fueron: edad de 18 a 25 años; ser sedentario (realizar menos de 20 min de actividad física moderada o vigorosa en <3 días a la semana); no fumar; peso corporal estable durante los últimos tres meses (cambios <3 Kg); no padecer ninguna enfermedad cardiometabólica (por ejemplo; hipertensión o DMT2); no tomar ningún medicamento que pueda afectar a su salud cardiovascular; ausencia de antecedentes de cáncer entre familiares de primer grado.

Antropometría y composición corporal

El peso corporal y la estatura se midieron utilizando una báscula electrónica de columna modelo 799 de SECA y un estadiómetro (SECA, Hamburgo, Alemania). La masa corporal magra (MCM) y el tejido adiposo visceral (TAV) se determinaron con un absorciómetro de rayos X de energía dual (DEXA) Halologic Discovery Wi (Halologic, Marlborough, MA, EEUU). El IMC, el índice de masa corporal magra (IMCG) y el índice de masa grasa (IMG) se calcularon dividiendo el peso corporal, la MCM y la masa corporal grasa (MCG) (en kg) por el cuadrado de la altura respectivamente. El porcentaje de masa grasa (%MG) se calculó como la masa corporal grasa dividida por la masa corporal total y multiplicada por 100. La circunferencia de la cintura se midió en el

perímetro mínimo de la cintura, al final de una espiración normal de la respiración, con los brazos relajados a ambos lados del cuerpo. Cuando no se pudo tomar el perímetro mínimo, como en personas con sobrepeso u obesidad, las medidas se tomaron por encima del ombligo, siguiendo un plano horizontal.

Activación y determinación del Tejido Adiposo Pardo

La activación del tejido adiposo pardo (TAP) se llevó a cabo mediante un protocolo de enfriamiento personalizado para cada participante, dividido en dos días independientes, siguiendo un protocolo de enfriamiento descrito en otro lugar¹⁰⁸. Los participantes fueron expuestos al principio durante un breve periodo de 30 minutos en una habitación cálida para permitir la aclimatación antes del traslado a una habitación con un frío suave. Posteriormente, los participantes usaron un chaleco refrigerante (Polar Products Inc., Stow, OH, EEUU) realizando una bajada de la temperatura paulatina hasta alcanzar el estado de escalofríos. Entre 48-72h después, los participantes fueron al hospital donde fueron expuestos al mismo protocolo de enfriamiento durante 2h a $\sim 4^{\circ}\text{C}$ por encima de su umbral de escalofríos. Tras 1h de exposición al frío, se inyectó un bolo de $\sim 185\text{Mbq}$ de 18F-fluorodesoxiglucosa (^{18}F -FDG) antes de la tomografía por emisión de positrones / tomografía computarizada (PET/TAC) (Siemens Biograph 16 PET/TAC, Siemens Healthcare, Erlangen, Alemania), realizada 2h después. Las exploraciones de ^{18}F -FDG-PET / TAC se analizaron utilizando el complemento de código abierto Beth Israel para el programa FIJI¹⁰⁹. La determinación del volumen de TAP se basó en criterios de umbral individuales para volumen de TAP y cuantificación de actividad metabólica, cuyo efecto ha sido ampliamente estudiado^{110,111}. Se aplicó brevemente un valor de absorción estandarizado individualizado (SUV) de $[1.2 / (\text{masa corporal magra} / \text{masa corporal})]$ 18

¹¹²con un rango de unidades Hounsfield de -190 a -10. El volumen de TAP se determinó como el número de píxeles en el rango anterior con un valor SUV por encima del umbral de SUV. La actividad del TAP se determinó usando el SUV medio, es decir, la media de los tres contenidos más altos de ¹⁸F-FDG en tres píxeles dentro de un volumen de <1cm³.

Factores de riesgo cardiometabólico

Se tomaron muestras de sangre por la mañana tras 10h de ayuno¹⁰⁷. Se midieron los niveles de glucosa sérica, colesterol total (CT), lipoproteína colesterol de alta densidad (HDL-C), apolipoproteína A y B, enzimas hepáticas [glutámico pirúvico transaminasa (GTP), gamma-glutamyltransferasa (GTT) y fosfatasa alcalina (FA)] y triglicéridos (TG) siguiendo métodos estándar utilizando un analizador automático AU5832 (Beckman Coulter Inc., Brea CA, EEUU). La evaluación del modelo homeostático para el índice de resistencia a la insulina (HOMA) se calculó como (insulina (μU/mL) x glucosa (mmol/L) /22.5¹¹³, mientras que el índice de hígado graso se calculó como se describe comúnmente¹¹⁴. La proteína C reactiva se midió mediante un ensayo inmunoturbidimétrico utilizando el analizador automático AU5832. Las concentraciones de Leptina y adiponectina se midieron utilizando el MILLIPLEX MAG Human Adipokine Magnetic Bead Panel 2 (Catalogo # HADK2MAG-61K) y el MILLIPLEX MAP Human Adipokine Magnetic Bead Panel 1 (Catalogue # HADK1MAG-61K) respectivamente (Luminex Corporation, Autin, TX, EEUU). La prevalencia de síndrome metabólico se calculó siguiendo las clasificaciones del Programa Nacional para la educación sobre el tratamiento del colesterol para adultos panel III (ATP III)¹¹⁵ y de la Federación Internacional de la Diabetes (FID)¹¹⁶. Se utilizó un tensiómetro de brazo Omron M6 (Omron Healthcare Europe BV, Hoofddorp, Países Bajos) para determinar la

presión arterial sistólica (PAS) y presión arterial diastólica (PAD), con los sujetos sentados y relajados. Las mediciones se tomaron en tres puntos de tiempo utilizando la media en los análisis posteriores. Las interleucinas (IL), Interleucina 2 (IL-2), Interleucina 4 (IL-4), Interleucina 6 (IL-6), Interleucina 7 (IL-7), Interleucina 8 (IL-8), Interleucina 10 (IL-10), Interleucina 17a (IL-17a), interferón gamma (IFN- γ) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) se determinaron utilizando un panel de citocinas de alta sensibilidad humana, MILLIPLEX MAP de Luminex (Catálogo # HSCYTMAG-28SK).

Determinación de ácidos biliares

Los AB primarios, [ácido cólico (CA), ácido quenodesoxicólico (CDCA), ácido glicocólico (GCA), ácido glicoquenodesoxicólico (GCDCA)] y AB secundarios [(glicodesoxicólico (GDCA), ácido desoxicólico (DCA), ácido glicolitocólico (GLCA), glicoursodesoxicólico (GUDCA)] se midieron en plasma utilizando un método de extracción líquido-líquido y cromatografía líquida-espectrometría de masas en tándem (LC-MS / MS). El método fue validado con base en las pautas de validación de métodos bioanalíticos de FDA¹¹⁷.

Preparación de la muestra

La preparación de la muestra se realizó como se describió anteriormente. En resumen, se transfirieron muestras de plasma de 150 μ l a tubos Eppendorf de 1,5 ml, se les añadió 5 μ l de hidroxitolueno butilado (0,4 mg / ml) y 10 μ l de mezcla de patrón interno deuterado, seguido de la adición de 150 μ l de solución tampón compuesta de ácido cítrico 0,2 M y Fosfato de hidrógeno disódico 0,1 M. Luego, se añadieron 1000 μ l de extractante

compuesto de metil terc-butil éter y butanol (50:50, v / v). Los tubos se mezclaron durante 5 min usando un mezclador de bala (Next Advance), seguido de una etapa de centrifugación (16.000 g, 10 min, 4 ° C). A continuación, se transfirieron 900 µl de la capa superior a tubos Eppendorf limpios de 1,5 ml. Las muestras se secaron en un SpeedVac seguido de reconstitución en 50 µL de metanol: acetonitrilo (70:30, v / v). Las muestras reconstituidas se centrifugaron (16.000 g, 10 min, 4 C), luego se transfirieron 40 µL a viales de vidrio.

Análisis de ácidos biliares con cromatografía líquida-espectrometría de masa

El análisis de cromatografía líquida-espectrometría de masas (LC-MS / MS) se realizó como se describió anteriormente¹¹⁸. Brevemente, la separación se realizó con una columna BEH C18 (50 mm x 2,1 mm, 1,7 µm) mantenida a 40 ° C. La fase móvil estaba compuesta por ácido acético al 0,1% en agua (A), MeCN / ácido acético al 0,1% en MeOH (90:10, v / v, B) y ácido acético al 0,1% en isopropanol (C). Se utilizó ionización por electropulverización y un modo de reacción múltiple selectivo (sMRM). Las transiciones de MRM optimizadas individualmente utilizando sus estándares sintéticos para compuestos objetivo y estándares internos se describen en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Listado de ácidos biliares analizados con LC-MS/MS.

Abreviatura	Nombre IUPAC	ChEBI ID	RSD CCs
CA	3 α ,7 α ,12 α -trihydroxy-5 β -cholan-24-oic acid	16359	7.1%
GCA	N-(3 α ,7 α ,12 α -trihydroxy-5 β -cholan-24-oyl)-glicina	17687	6.6%
DCA	3 α ,12 α -Dihydroxy-5 β -cholan-24-oic acid	28834	8.3%
GDCA	N-(3 α ,12 α -dihydroxy-5 β -cholan-24-oyl)-glycine	27471	6.0%
CDCA	3 α ,7 α -Dihydroxy-5 β -cholan-24-oic acid	16755	7.0%
GCDCA	N-(3 α ,7 α -dihydroxy-5 β -cholan-24-oyl)-glycine	3593	5.8%
GLCA	N-[(3 α ,5 β)-3-hydroxy-24-oxocholan-24-yl]-glicina	37998	7.4%
GUDCA	N-(3 α ,7 β -dihydroxy-5 β -cholan-24-oyl)-glycine	89929	7.0%

ChEBI: Entidades químicas de interés biológico. IUPAC: Unión internacional de química pura y aplicada. RSD: desviaciones estándar relativas CC: control de calidad.

Procesamiento de datos

La relación de área de pico se obtuvo con el software SCIEX OS-MQ y se preprocesó como se describió anteriormente¹¹⁸. En resumen, se utilizaron muestras de control de calidad (CC) para evaluar la calidad de los datos y para corregir variaciones entre lotes, utilizando el flujo de trabajo mzQuality desarrollado internamente (disponible en <http://www.mzQuality.nl>)¹¹⁹. Se calcularon las desviaciones estándar relativas (RSD) para el analito presente en las muestras de CC. Se excluyeron los metabolitos que mostraban RSD superiores al 30% en las relaciones de área de pico en muestras de CC. Los metabolitos con $15\% \leq \text{RSD} < 30\%$ se trataron con precaución (**Tabla 3**).

Análisis estadístico

Se utilizaron variables categóricas y continuas para describir las características clínicas de los participantes del estudio. Dado que las proporciones de las áreas de los picos de los AB circulantes, así como los parámetros inflamatorios y cardiometabólicos sanguíneos no siguieron una distribución normal, se transformaron en log10 para lograr

una distribución normal. Estudiamos si había diferencias de género entre las concentraciones de AB circulante primarias y secundarias mediante Análisis de varianza (ANOVA). Sin embargo, dado que los parámetros de composición corporal no fueron similares entre sexos, realizamos ANOVA, ajustados por varias covariables. Los datos se presentaron como media \pm desviación estándar a menos que se indique lo contrario. Dado que no se observó interacción de género (todos $P > 0.05$), ambos géneros se combinaron para todos los análisis estadísticos. Las correlaciones de Pearson de las concentraciones de AB circulantes con la composición corporal, TAP y factores de riesgo cardiometabólico e inflamatorio se realizaron utilizando el software R. Se utilizó regresión lineal múltiple para probar estas asociaciones entre las concentraciones de AB circulantes y los factores de riesgo cardiometabólicos ajustados por el índice de masa corporal magra (IMCM) y el porcentaje de masa grasa (% MG). Los gráficos de correlación de AB se crearon utilizando el paquete R "corrplot". Se realizaron pruebas estadísticas adicionales con SPSS (v. 22.0, IBM SPSS Statistics, IBM), con un nivel de significancia establecido en $P < 0.05$.

4. RESULTADOS

RESULTADOS

Características de los participantes

La **Tabla 4** muestra las características de los participantes. Observamos que las mujeres tenían una mayor acumulación de grasa (MG%; $38,3 \pm 5,9$ vs. $29,7 \pm 7,6$; $P < 0,001$) niveles más bajos de HDL-C y PAS en comparación con los hombres (HDL-C: 56 ± 11 mg/dL vs. $52,8 \pm 1$ mg/dL; $P < 0,001$; y PAS: $112,5 \pm 9,5$ mmHg vs. $116,7 \pm 11,6$ mmHg; $P < 0,001$). No encontramos diferencias significativas en otros parámetros cardiometabólicos (todas las $P \geq 0,05$, **Tabla 4**).

Tabla 4. Edad, antropometría, composición corporal y perfil cardiometabólico de los sujetos incluidos en el estudio (n=133).

	Todos (n)	Media	DE	Hombres (n)	Media	DE	Mujeres (n)	Media	DE	P valor (sexo)
Edad (años)	136	22,1	± 2,2	45	22,3	± 2,3	91	21,9	± 2,2	0,319
ANTROPOMETRÍA Y COMPOSICIÓN CORPORAL										
Perímetro de cintura (cm)	130	81,0	± 13,8	43	89,9	± 15,2	87	76,5	± 10,5	<0,001
IMC (kg/m ²)	136	24,9	± 4,6	45	26,8	± 5,5	91	23,9	± 3,7	0,002
IMCM (kg/m ²)	136	14,7	± 2,4	45	17,2	± 2,1	91	13,5	± 1,4	<0,001
IMG (kg/m ²)	136	8,8	± 3,0	45	8,1	± 3,6	91	9,1	± 2,7	0,063
MG (%)	136	35,5	± 7,6	45	29,7	± 7,6	91	38,3	± 5,9	<0,001
TAV masa (g)	136	336,4	± 174,1	45	417,9	± 175,9	91	296,1	± 159,2	<0,001
PERFIL CARDIOMETABÓLICO										
Glucosa (mg/dL)	132	87,6	± 6,6	43	88,9	± 7,4	89	87,0	± 6,1	0,134
Insulina (µIU/MI)	132	8,3	± 4,9	43	9,1	± 6,4	89	8,0	± 4,0	0,638
Colesterol Total (mg/dL)	132	165,1	± 32,2	43	160,1	± 30,9	89	167,6	± 32,7	0,183
Lipoproteína de alta densidad de colesterol	132	52,8	± 11,0	43	46,0	± 7,4	89	56,0	± 11,0	<0,001
Lipoproteína de baja densidad de colesterol	132	96,0	± 25,3	43	96,5	± 26,2	89	95,8	± 25,0	0,990
Triglicéridos (mg/dL)	132	82,5	± 44,6	43	88,2	± 47,2	89	79,7	± 43,2	0,313
Índice HOMA	132	1,8	± 1,2	43	2,1	± 1,6	89	1,7	± 1,0	0,523
Proteína C reactiva (mg/L)	132	2,4	± 3,4	43	2,1	± 2,3	89	2,5	± 3,8	0,937
Presión sistólica (mm Hg)	134	116,7	± 11,6	44	125,3	± 10,9	90	112,5	± 9,5	<0,001
Presión diastólica (mm Hg)	134	70,9	± 7,6	44	72,2	± 9,2	90	70,3	± 6,7	0,185
Fuerza Muscular (kg)	117	62,2	± 15,5	37	79,8	± 13,5	80	54,1	± 7,7	<0,001
Fitness cardiorespiratorio (mL/kg/min)	132	41,4	± 8,1	42	45,5	± 9,2	90	39,6	± 6,8	<0,001
Prevalencia de Síndrome Metabólico (%. ATP III)	128	0,5	± 0,9	42	1,0	± 1,3	86	0,2	± 0,5	0,001

Los datos se presentan como media y desviación estándar (DE). Los valores *P* son obtenidos por un ANOVA de un solo factor. ATP III: Programa Nacional para la educación sobre el tratamiento del colesterol para adultos panel III. IMCM: índice masa corporal magra; IMG: índice de masa grasa; MG%: porcentaje de masa grasa. HOMA: homeostatic model assessment; IMM: índice de masa muscular; TAV: tejido adiposo visceral. Todos los parámetros sanguíneos introducidos en esta tabla fueron transformados por log10.

Los niveles plasmáticos de ácido quenodesoxicólico y de ácido glicoursodesoxicólico fueron mayores en hombres que en mujeres

La **Tabla 5** muestra la comparación entre hombres y mujeres en las concentraciones de AB circulantes primarios y secundarios. Tan solo observamos que los niveles de CDCA y GUDCA fueron significativamente más altos en hombres que en mujeres ($0,726 \pm 0,9$ frente a $0,507 \pm 0,7$; $P = 0,039$ y $1,351 \pm 7,1$ frente a $16,2442 \pm 0,3$; $P = 0,01$, respectivamente). A partir de las diferencias que encontramos entre género en los parámetros de composición corporal (**Tabla 5**), repetimos el análisis ajustando por diferentes covariables (IMC, IMCM y MG total) en modelos separados y las principales diferencias se mantuvieron. Sin embargo, cuando los análisis se ajustaron por MG%, las diferencias en las concentraciones de ácidos biliares entre sexos desaparecieron ($P = 0,119$ y $P = 0,141$).

Tabla 5. Concentración de ácidos biliares circulantes primarios y secundarios divididos en hombres y mujeres (n=133).

	Ácido biliar	Hombres (n=43)		Mujeres (n=90)		Modelo 1 (no ajustado)	Modelo 2 (IMC)	Modelo 3 (IMCM)	Modelo 4 (MG %)	Modelo 5 MG total
		Media	DE	Media	DE	Valor P	Valor P	Valor P	Valor P	Valor P
PRIMARIOS (CA)	CA	36,503	± 61,7	23,461	± 40,8	0,131	0,207	0,846	0,255	0,134
	GCA	2,803	± 3,3	1,944	± 1,9	0,136	0,232	0,960	0,230	0,140
SECUNDARIOS (CA)	DCA	21,678	± 18,2	16,892	± 19,2	0,075	0,105	0,576	0,221	0,076
	GDCA	2,594	± 2,4	1,959	± 2,1	0,067	0,094	0,755	0,288	0,068
PRIMARIOS (CDCA)	CDCA	0,726	± 0,9	0,507	± 0,7	0,039	0,060	0,339	0,119	0,040
	GCDCA	7,257	± 5,4	5,412	± 3,8	0,072	0,092	0,660	0,303	0,072
SECUNDARIOS (CDCA)	GLCA	5,081	± 4,6	4,563	± 4,3	0,374	0,334	0,840	0,976	0,363
	GUDCA	21,315	± 17,1	16,244	± 20,3	0,010	0,005	0,024	0,141	0,009

Los datos se presentan como media y desviación estándar. Los valores *P* se obtienen del análisis de la varianza (sin variables de ajuste, Modelo 1) y del análisis de la covarianza ajustado por diferentes covariables. Modelo 2: ajustando por índice masa corporal (IMC). Modelo 3: ajustado por índice de masa corporal magra (IMCM). Modelo 4: ajustado por porcentaje de masa grasa (MG %). Modelo 5: ajustado por masa grasa total (MG total). CA: ácido cólico; CDCA: ácido quenodesoxicólico. DCA: ácidos desoxicólico; GCA: ácido glicólico; GCDCA: ácido glicoquenodesoxicólico; GDCA: ácido glicodesoxicólico; GLCA: ácido glicolítico; GUDCA: ácido glicoursodesoxicólico. Para el análisis de ANOVA, los valores de las concentraciones de ácidos biliares se transformaron en \log_{10} .

Correlación entre los niveles de ácidos biliares circulantes con composición corporal y parámetros de tejido adiposo pardo

Dado que no encontramos una interacción de género en los siguientes análisis (**Figura 1**), realizamos los análisis principales, incluyendo hombres y mujeres. Encontramos que CA, GCA, CDCA, GCDCA, DCA y GDCA se correlacionaron positiva y significativamente al menos con masa corporal magra (MCM) o IMCM (todos $r \geq 0,17$; $p \leq 0,049$, **Figura 2**), mientras que observamos que los niveles de GUDCA eran negativa y significativa correlacionado con FM% ($r = -0,22$; $P = 0,01$). Curiosamente, observamos que GDCA y GLCA se correlacionaron negativamente con el volumen de TAP de captación de ^{18}F -FDG ($r = -0,23$; $P = 0,009$ y $r = -0,25$; $P = 0,0035$), TAP SUV medio (r

= -0,22; P = 0,012 y $r = -0,26$; P = 0,0029) y TAP SUV Pico ($r = -0,17$; P = 0,048 y $r = -0,21$; P = 0,016) (**Figura 2**). Para comprender mejor el significado biológico de estas correlaciones, estudiamos la correlación entre los AB circulantes con la captación de ^{18}F -FDG por otros tejidos (**Figuras 3 y 4**). No se encontraron asociaciones entre los niveles circulantes de AB y la captación de ^{18}F -FDG por el músculo esquelético, la aorta descendente (tejido de referencia) o el tejido adiposo subcutáneo en las áreas dorsocervical y tricipital (**Figuras 3 y 4**).

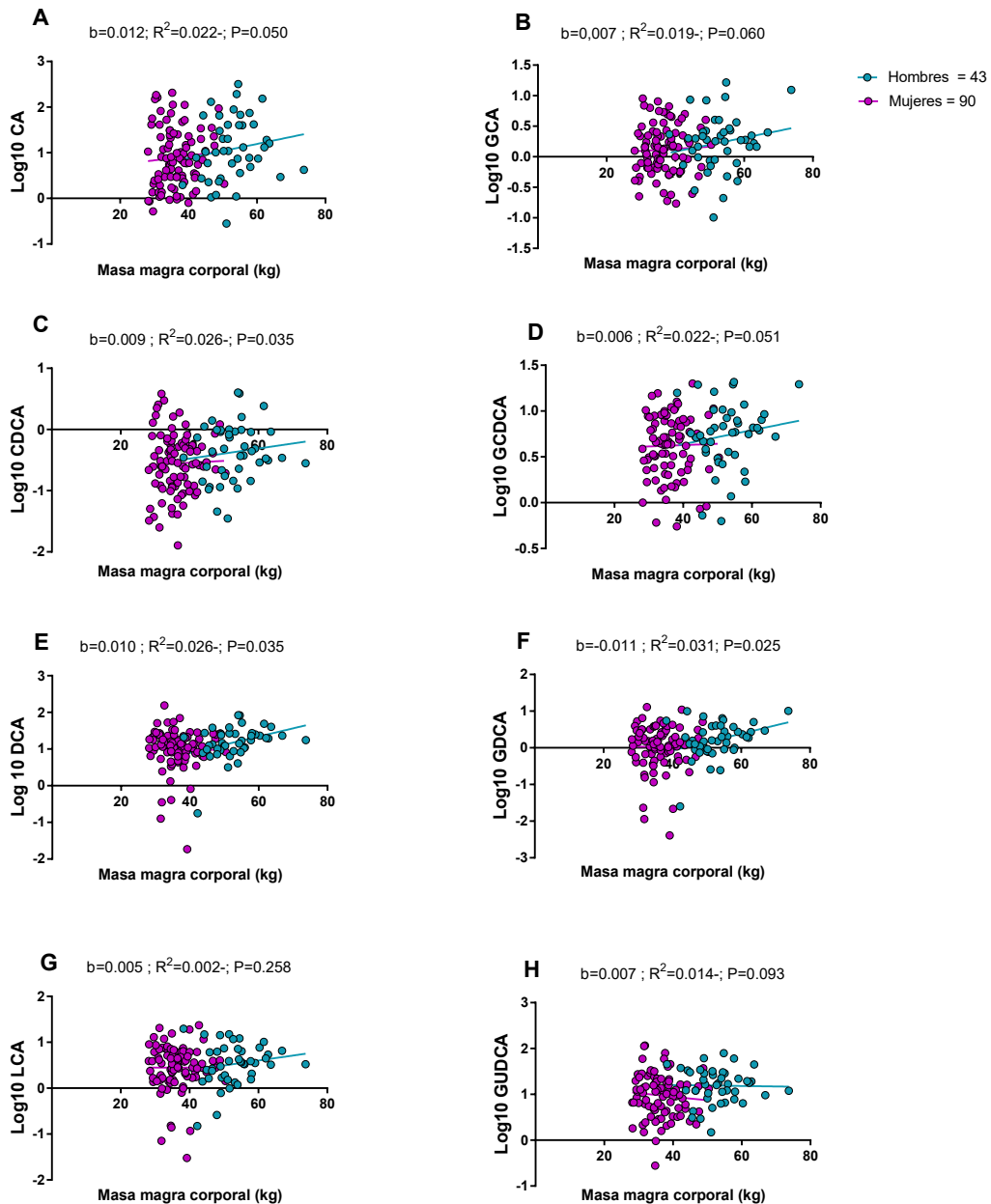


Figura 1. Regresiones lineales divididas por sexo entre las concentraciones de ácidos biliares circulantes y la masa magra corporal. Los paneles A-H, muestra valores de β , R^2 , y P no estandarizados del análisis de regresión lineal simple (n=133). CA: ácido cólico; CDCA: ácido quenodesoxicólico. DCA: ácidos desoxicólico; GCA: ácido glicólico; GCDCA: ácido glicokenodesoxicólico; GDCA: ácido glicodesoxicólico; GLCA: ácido glicolítocólico; GUDCA: glicoursodesoxicólico. Para el análisis de regresión simple, los valores de las concentraciones de ácidos biliares circulantes se transformaron en log10.

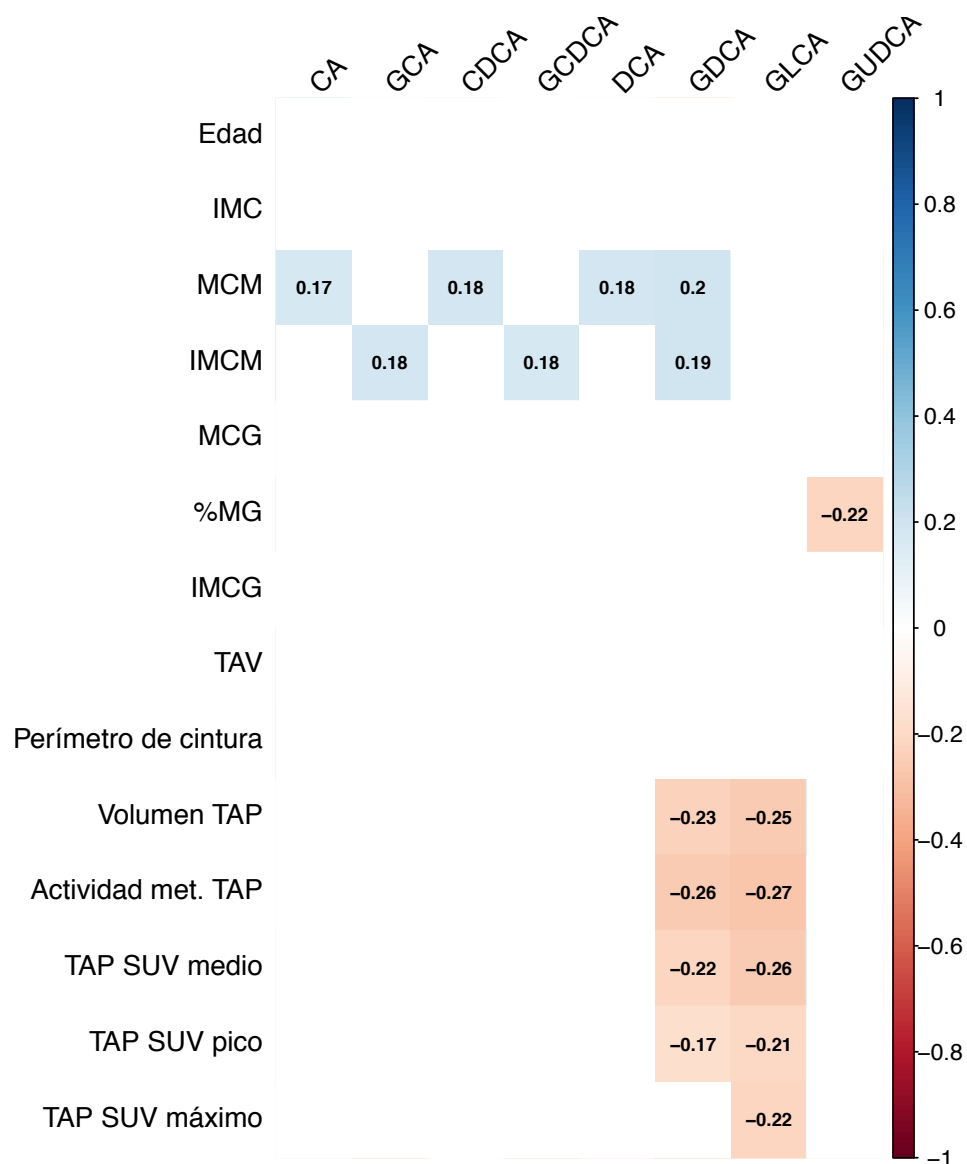


Figura 2. Correlaciones entre las concentraciones de ácidos biliares circulantes con la composición corporal y los parámetros de tejido adiposo pardo en adultos jóvenes sanos (n=133). Cada cuadro representa el coeficiente de correlación significativo ($P < 0,05$). Los cuadros blancos representan correlaciones no significativas. Los valores dentro de los cuadros representan la r del coeficiente de Pearson. %MG: % masa grasa; CA: ácido cólico; CDCA: ácido quenodesoxicólico; DCA: ácidos desoxicólico; GCA: ácido glicólico; GCDCA: ácido glicoquenodesoxicólico; GDCA: ácido glicodesoxicólico; GLCA: ácido glicolítocólico; GUDCA: glicoursodesoxicólico; IMC: índice de masa corporal; IMCM: índice de masa corporal magra; MCG: masa corporal grasa; MCM: masa corporal magra; SUV: valor de aceptación estandarizado; TAP: tejido adiposo pardo; TAV: tejido adiposo visceral. Los valores de las concentraciones de ácidos biliares fueron transformados por \log_{10} .

Ácido glicodeoxicólico (GDCA)

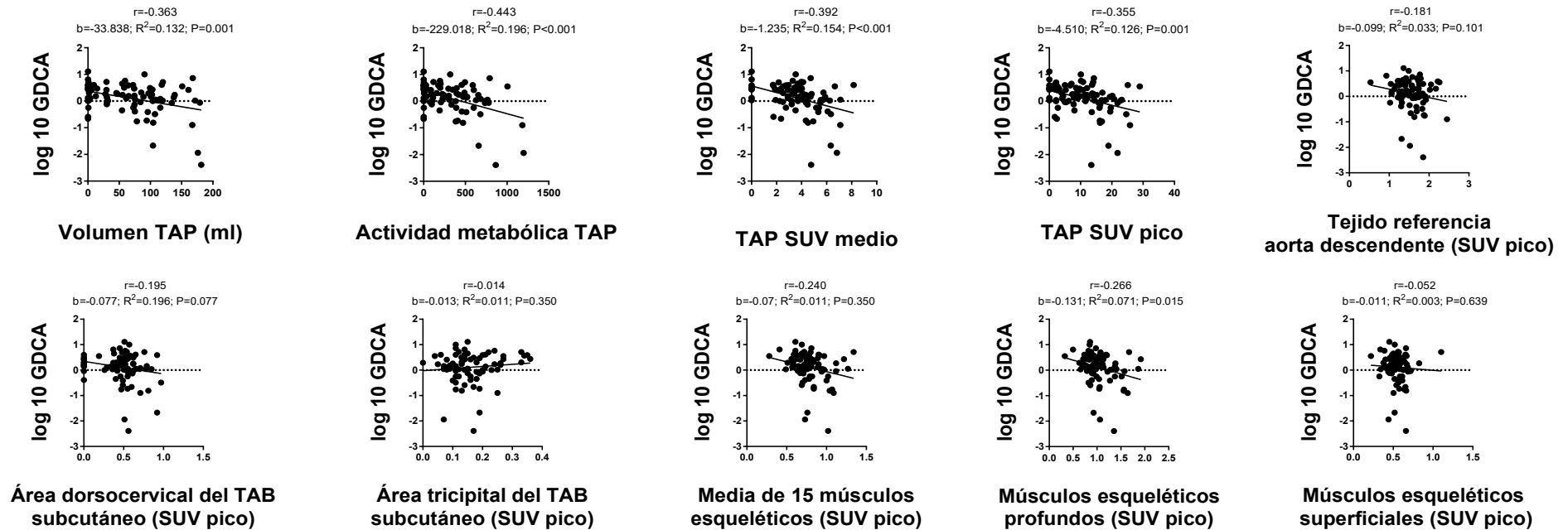


Figura 3. Correlaciones entre la concentración de ácidos glicodeoxicólicos y los parámetros de captación de ^{18}F -FDG en los diferentes tejidos. Los coeficientes de Pearson y los valores de β , R^2 y P no estandarizados, provienen del análisis de regresión lineal simple ($n = 133$). SUV: valor de aceptación estandarizado. Para el análisis de regresión lineal múltiple, los valores de concentración de ácidos glicodeoxicólicos, se transformó en \log_{10} .

Ácido glicolítico (GLCA)

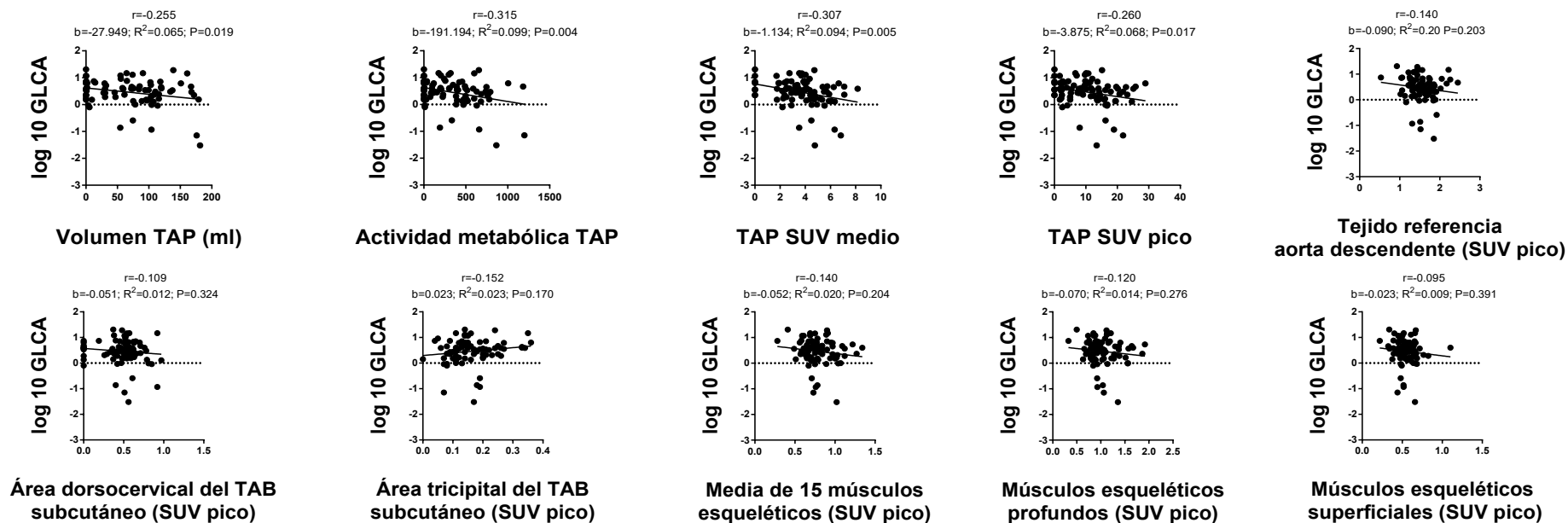


Figura 4. Correlaciones entre la concentración de ácidos glicolítico y los parámetros de captación de ^{18}F -FDG en los diferentes tejidos. Los coeficientes de Pearson y los valores de β , R^2 y P no estandarizados, provienen del análisis de regresión lineal simple ($n = 133$). SUV: valor de aceptación estandarizado. Para el análisis de regresión lineal múltiple, los valores de concentración de ácidos glicolítico, se transformó en \log_{10} .

Correlación entre los niveles de ácidos biliares circulantes y factores de riesgo cardiometabólico

Observamos que GCA y GCDCA se correlacionaron positiva y significativamente con FA, glucosa, insulina e Índice HOMA (todos $r \geq 0,17$), mientras que los niveles de GUDCA se correlacionaron positiva y significativamente con glucosa ($r = 0,10$; $P = 0,031$) (**Figura 5**). Curiosamente, encontramos que GCA, GCDCA y GUDCA se correlacionaron negativa y significativamente con HDL-C y APOA1 (todos $r \leq 0,02$). También hemos visto que GCA y GCDCA se correlacionaron positiva y significativamente con la adiponectina ($r = -0,21$; $P = 0,018$ y $r = 0,18$ $P = 0,045$).

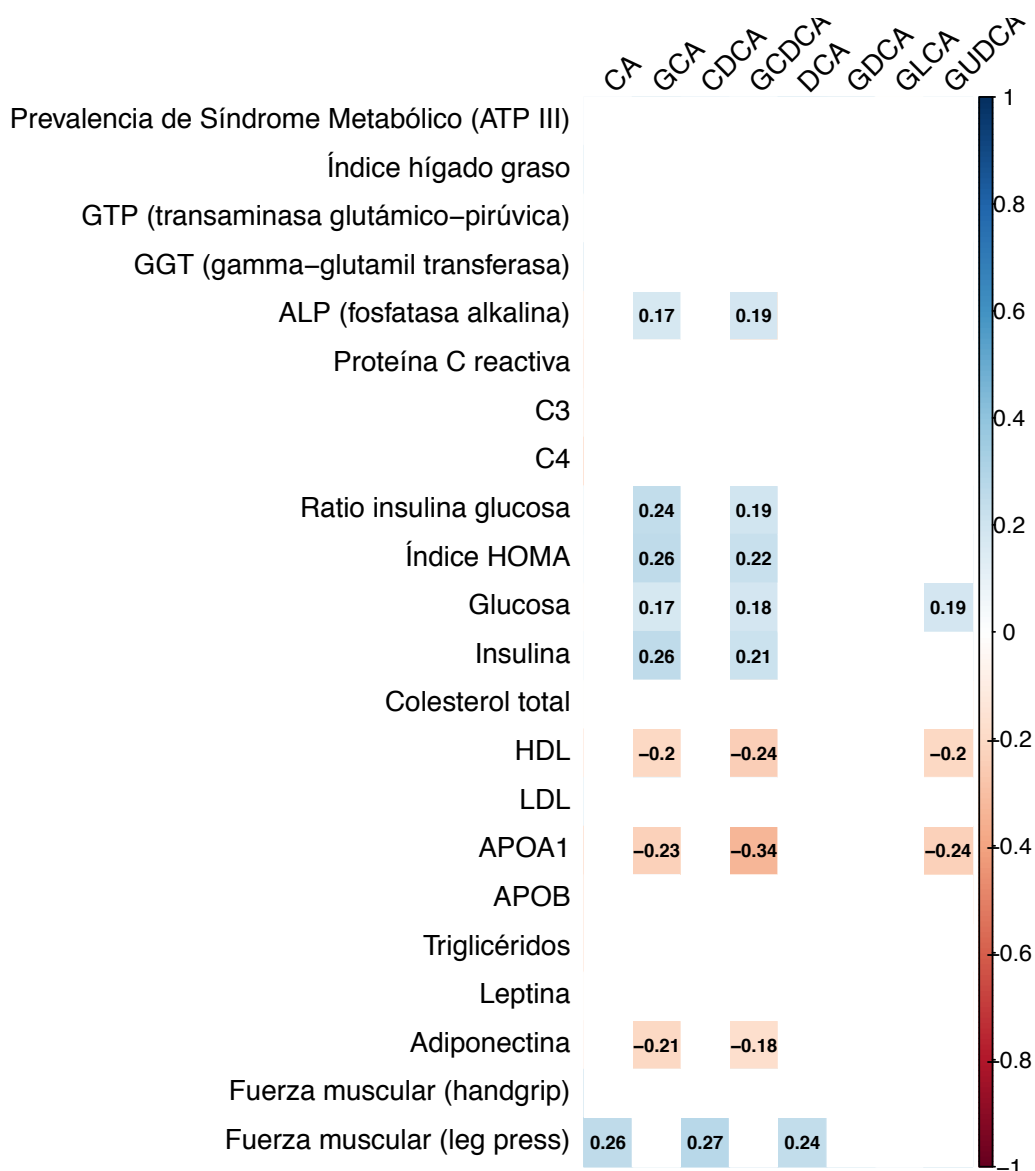


Figura 5. Correlaciones entre la concentración de ácidos biliares circulantes con factores de riesgo cardiometabólico en adultos jóvenes sanos (n=133). Cada cuadro representa el coeficiente de correlación significativo ($P < 0,05$). Los cuadros blancos representan correlaciones no significativas. Los valores dentro de los cuadros representan la r del coeficiente de Pearson. APOA1: apolipoproteína A1; APOB: apolipoproteína B; CA: ácido cólico; CDCA: ácido quenodesoxicólico; DCA: ácidos desoxicólico; GCA: ácido glicólico; GCDCA: ácido glicoquenodesoxicólico; GDCA: ácido glicodesoxicólico; GLCA: ácido glicolítocólico; GUDCA: ácido glicoursodesoxicólico; HDL-C: colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad; LDL-C: colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad. Todos los parámetros sanguíneos fueron transformados (incluidas las concentraciones de ácidos biliares) por log10.

Asociación entre los niveles de ácidos biliares circulantes y factores de riesgo inflamatorios y cardiometabólico ajustado por covariables

Encontramos que los niveles plasmáticos de GCA y GCDCA se correlacionaron positivamente con la concentración sérica de FA, glucosa e insulina, así como del índice HOMA ($0.17 \leq r \leq 0.26$; $P < 0.05$, **Figura 5**). Por otro lado, los niveles plasmáticos de GCA, GCDCA y GUDCA se correlacionaron de negativamente con los niveles séricos de HDL-C y ApoA1 ($-0.34 \leq r \leq -0.20$; $P < 0.05$, **Figura 5**). Además, los niveles plasmáticos de GCA y GCDCA se correlacionaron negativamente con los niveles plasmáticos de adiponectina ($r = -0.21$; $P = 0.018$ and $r = -0.18$; $P = 0.045$, respectivamente **Figura 5**). Por otra parte, también encontramos, que los niveles de GCA se correlacionaron positivamente con los niveles plasmáticos de citoquinas proinflamatorias interleucina 8 (IL-8) y Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF- α) ($r = 0.23$; $P = 0.015$ and $r = 0.21$; $P = 0.027$, **Figura 6**) mientras que los niveles plasmáticos de GCDCA se relacionaron positivamente con IL-2 e IL-8 ($r = 0.22$; $P = 0.025$ and $r = 0.21$; $P = 0.048$, **Figura 6**). Dado que la concentración de AB circulantes se correlacionaron débilmente con la MCM en esta cohorte (**Figura 2**), realizamos un análisis de sensibilidad mostrando que la mayoría de las correlaciones significativas entre los niveles circulantes de AB y los factores de riesgo cardiometabólicos desaparecieron después de ajustar por MCM, mientras que dichas correlaciones si se mantuvieron significativas cuando se incluyó en el modelo la MG% (**Tabla 6**). Las correlaciones entre la concentración de AB circulantes y marcadores inflamatorios, persistieron tras ajustar por MCM y MG% (datos no mostrados).

Tabla 6. Asociación entre concentración de ácidos biliares circulantes y factores de riesgo cardiometabólico ajustados por índice de masa magra porcentaje de masa grasa.

	FA			Índice HOMA			Glucosa			Insulina			HDL-C			ApoA1			Adiponectina			
	β	R ²	<i>p</i>	β	R ²	<i>p</i>	β	R ²	<i>p</i>	β	R ²	<i>p</i>	β	R ²	<i>p</i>	β	R ²	<i>p</i>	β	R ²	<i>p</i>	
MODELO 1: MCM	CA	-0,190	0,072	0,173	-0,003	0,052	0,932	-0,003	0,041	0,502	0,000	0,031	0,996	-0,001	0,239	0,927	-0,004	0,203	0,694	0,016	0,189	0,629
	GCA	0,034	0,063	0,121	0,131	0,089	0,008	0,011	0,057	0,109	0,120	0,082	0,009	-0,027	0,244	0,097	-0,025	0,220	0,112	-0,086	0,204	0,113
	DCA	-0,033	0,083	0,064	0,031	0,056	0,454	-0,001	0,038	0,895	0,031	0,036	0,406	0,001	0,227	0,912	0,006	0,203	0,634	-0,013	0,188	0,774
	GDCA	0,002	0,058	0,900	0,050	0,051	0,177	0,003	0,042	0,496	0,047	0,045	0,174	-0,011	0,232	0,393	-0,009	0,209	0,425	-0,039	0,194	0,338
	CDCA	0,002	0,058	0,917	0,057	0,065	0,182	0,006	0,047	0,277	0,051	0,043	0,201	-0,009	0,230	0,53	-0,010	0,206	0,465	-0,014	0,188	0,757
	GCDCA	0,046	0,092	0,087	0,131	0,072	0,032	0,014	0,057	0,096	0,117	0,078	0,038	-0,042	0,258	0,035	-0,055	0,267	0,004	-0,076	0,196	0,250
	GLCA	-0,009	0,060	0,644	-0,035	0,042	0,415	-0,013	0,073	0,029	-0,023	0,048	0,572	-0,012	0,231	0,419	-0,008	0,204	0,550	0,023	0,189	0,621
	GUDCA	0,029	0,073	0,159	0,065	0,052	0,158	0,011	0,063	0,067	0,054	0,043	0,207	-0,027	0,246	0,074	-0,027	0,227	0,064	-0,027	0,189	0,588
MODELO 2: MG%	CA	-0,012	-0,005	0,394	0,240	0,140	0,423	0,000	0,011	0,96	0,024	0,148	0,380	-0,012	0,008	0,314	-0,016	0,001	0,145	-0,018	-0,014	0,630
	GCA	0,043	0,018	0,054	0,166	0,220	< 0,001	0,014	0,046	0,033	0,152	0,226	< 0,001	-0,043	0,027	0,019	-0,043	0,038	0,013	-0,141	0,029	0,012
	DCA	-0,024	0,003	0,190	0,076	0,162	0,047	0,003	0,014	0,535	0,072	0,171	0,039	-0,014	-0,009	0,356	-0,008	-0,015	0,538	-0,061	-0,003	0,211
	GDCA	0,010	-0,009	0,552	0,096	0,187	0,006	0,007	0,027	0,138	0,089	0,195	0,005	-0,025	0,011	0,069	-0,022	0,011	0,074	-0,088	0,015	0,049
	CDCA	0,011	-0,008	0,566	0,104	0,180	0,009	0,011	0,037	0,068	0,093	0,185	0,011	-0,026	0,004	0,111	-0,029	0,014	0,063	-0,064	-0,003	0,206
	GCDCA	0,057	0,021	0,039	0,201	0,220	< 0,001	0,020	0,059	0,016	0,181	0,223	0,001	-0,064	0,045	0,005	-0,077	0,100	< 0,001	-0,150	0,018	0,042
	GLCA	-0,005	-0,011	0,806	0,007	0,136	0,871	-0,009	0,030	0,113	0,016	0,144	0,670	-0,021	-0,002	0,196	-0,017	-0,006	0,255	-0,007	-0,016	0,892
	GUDCA	0,035	0,010	0,098	0,133	0,196	0,002	0,017	0,065	0,008	0,116	0,197	0,004	-0,042	0,029	0,016	-0,042	0,041	0,011	-0,075	-0,002	0,187

Valores de β , R², y P no estandarizados de regresión lineal múltiple entre concentraciones de ácidos biliares circulantes y diferentes factores de riesgo cardiometabólico. Modelo 1: ajustado por índice de masa magra MCM; Modelo 2: ajustado por porcentaje de masa magra (MG %). FA: fosfatasa alcalina. HDL: colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad CA: ácido cólico; GCA: ácido glicólico; GCDCA: ácido glicoquenodesoxicólico; CDCA: ácido quenodesoxicólico. DCA: ácidos desoxicólico; GDCA: ácido glicodesoxicólico; GLCA: ácido glicolítico; GUDCA: glicoursodesoxicólico. Para el análisis de la regresión lineal múltiple, los valores de las concentraciones de ácidos biliares se transformaron en log10.

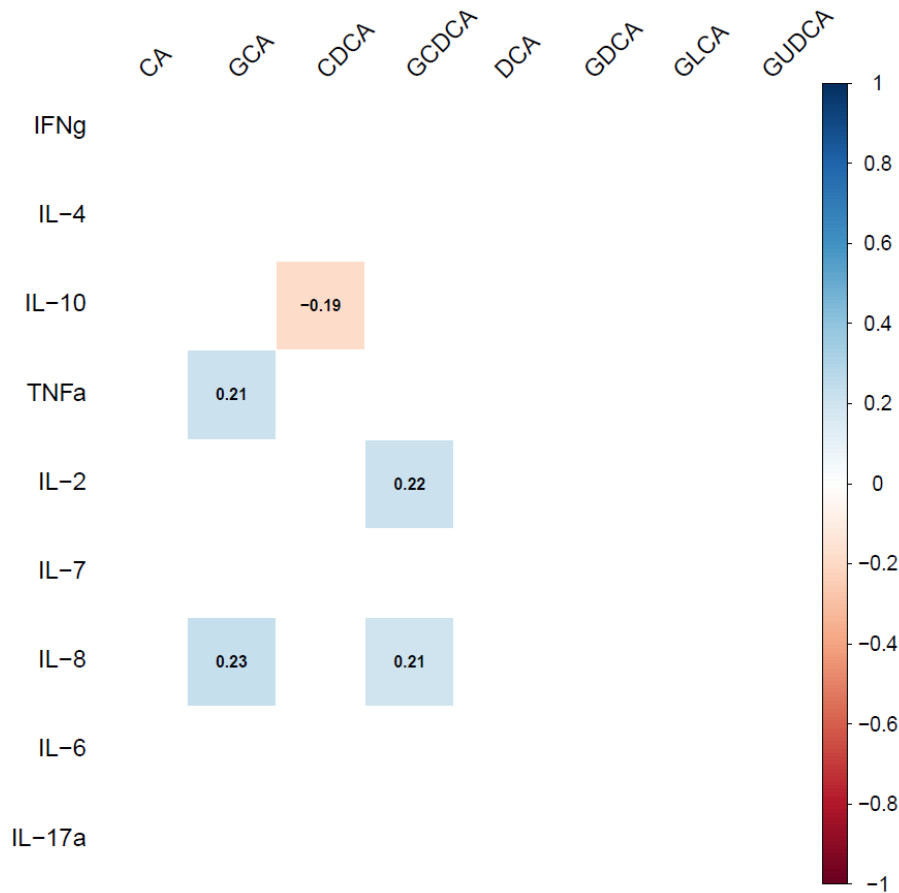


Figura 6. Correlaciones entre los niveles plasmáticos de ácidos biliares circulantes y niveles plasmáticos de citoquinas proinflamatorias y antiinflamatorias de adultos jóvenes (n=133). Cada cuadro de color representa un coeficiente de correlación significativo (todos $P < 0.05$), mientras que los cuadros invisibles (blancos) representan correlaciones no significativas. Los valores dentro de las Casillas representan la r de coeficiente de Pearson. IFN γ : interferón gamma; IL: interleucina; TNF α : factor de necrosis tumoral alfa. Todos los parámetros sanguíneos se transformaron en \log_{10} .

5. DISCUSIÓN

DISCUSIÓN

Los resultados de nuestro estudio muestran que los niveles de CDCA y GUDCA fueron más altos en hombres que en mujeres, pero dichas diferencias desaparecieron cuando se ajustó por MG%. Sorprendentemente, encontramos que los niveles circulantes de AB no estaban relacionados con parámetros de adiposidad, sin embargo, los niveles de CA, CDCA, DCA y GDCA se relacionaron positivamente (aunque débilmente) con la cantidad de masa magra. Curiosamente, observamos que los niveles de GDCA y GLCA estaban relacionados negativamente con la captación de ^{18}F -FDG en el TAP. Por último, detectamos que GCA, GCDCA y GUDCA se relacionaron con un peor perfil cardiometabólico e inflamatorio, aunque, la significancia de estas asociaciones desapareció cuando se ajustó por MCM.

El porcentaje de masa grasa como posible responsable en las diferencias de género en la composición de ácidos biliares circulantes

Los niveles plasmáticos de CDCA y GUDCA fueron más altos en hombres que en mujeres, coincidiendo con otros estudios^{79,120}. Cariou et al.,⁶⁴ encontró en 56 varones de mediana edad que tenían una mayor concentración de CDCA y CA en comparación con mujeres, aunque los niveles de DCA fueron similares. Del mismo modo, Xie et al.,⁷⁹ encontró en 502 individuos sanos entre 20 y 70 años, que los niveles de CA, CDCA, UDCA, y GUDCA también eran más altos en hombres que en mujeres, al igual que Trottier et al.,¹²⁰ en un estudio con adultos (53 ± 15 años) encontraron que los niveles de CA y CDCA fueron más altos en hombres que en mujeres. En la presente Tesis Doctoral, las diferencias plasmáticas de CDCA y GUDCA entre hombres y mujeres desaparecieron

cuando ajustamos por MG%. Sin embargo, ninguno de los estudios citados previamente consideró las diferencias en la composición de grasa corporal entre hombres y mujeres en su análisis. Por otro lado, existen otros estudios que no encontraron diferencias en niveles circulantes de AB entre hombres y mujeres como Lei et al.,⁷⁷ y Haeusler et al.,⁷⁸ en un estudio de 381 y 43 participantes de mediana edad, respectivamente. Aunque se desconoce cuál podría ser la explicación fisiológica que pudiera causar estas diferencias entre sexo, son varias la hipótesis que pudieran explicar tales diferencias entre sexo, tal y como: i) existen grandes diferencias hormonales (ej. Estrógenos vs. Testosterona) , ii) consumo de medicamentos (como las estatinas), iii) cantidad de colesterol total o iv) la distribución de la grasa corporal⁷⁹. De especial interés, son las diferencias en los niveles de estrógenos y progesterona en las mujeres, ya que sus niveles circulantes experimentan variaciones significativas durante la etapa de premenopáusica, menopausia y posmenopausia¹²¹. El grupo de mujeres incluidos en los estudios de Xie et al.,⁷⁹ y Trottier et al.,¹²⁰ difirió significativamente en las etapas de la menopausia, motivo por el cual nuestros resultados, podrían no ser comparables a las cohortes con mujeres en diferentes etapas de la menopausia. Estudios futuros deberían de incluir los estrógenos y la progesterona como posibles factores de confusión en sus análisis, así como otros factores que puedan tener un impacto sobre estas hormonas (ej. píldoras anticonceptivas)¹²². Como mostramos en la presente Tesis Doctoral, observamos que existen diferencias en la distribución de la grasa corporal entre hombres y mujeres. Las mujeres generalmente tienen un mayor porcentaje de grasa corporal ya que son más propensas a acumular grasa vía subcutánea y en las extremidades inferiores con respecto a los hombres¹²³. Estas diferencias podrían estar explicando, parcialmente, las diferencias en la concentración de AB circulantes. Además, los hombres suelen ser más grandes que las mujeres, con un hígado consecuentemente mayor, por lo que estos podrían secretar una mayor cantidad

de AB; no obstante, esta hipótesis no puede confirmarse en el presente estudio. Los estudios de Cariou et al.,⁶⁴ y Xie et al.,⁷⁹ no estudiaron si las diferencias en los niveles circulantes de AB que observaron entre hombres y mujeres desaparecían tras ajustar por variables de composición corporal, sin embargo cabe destacar que Xie et al.,⁷⁹ encontró que los niveles circulantes de algunos AB (concentración total de AB, AB no conjugados, AB conjugados con taurina y AB conjugados con glicina) fueron mayores en obesos que en delgados. En la presente Tesis Doctoral, la cohorte de hombres y mujeres no son similares en términos de composición corporal, lo que hace que la interpretación de los presentes resultados no sea muy precisa. Para estudios futuros, se necesitan cohortes de hombres y mujeres igualadas en composición corporal para poder determinar si realmente existe una diferencia en los niveles circulantes de AB sanguíneos entre hombres y mujeres. Teniendo esto en mente, realizamos análisis de sensibilidad, estudiando si las diferencias entre los niveles circulantes de AB entre género desaparecían tras ajustar por variables de composición corporal (es decir IMC, MCM y MG%). Curiosamente observamos que las diferencias observadas en los niveles plasmáticos de CDCA y GUDCA entre hombres y mujeres desaparecieron parcialmente tras ajustar por el MG%, sugiriendo que la grasa corporal podría estar jugando un papel crucial.

Los niveles circulantes de ácidos biliares no se asocian con la obesidad

Nuestro estudio no encontró asociación entre los niveles circulantes de AB y la adiposidad (**Figura 2**). Sin embargo, Prinz et al.,⁸⁰ mostró que los niveles circulantes de AB eran mayores en obesos (mayor adiposidad) en comparación con los de participantes de peso normal, encontrando una correlación positiva entre los niveles de AB circulantes totales y el IMC. Sin embargo, un reciente metanálisis no encontró diferencias

significativas en las concentración AB circulantes de los individuos delgados y obesos, aunque si hallaron una mayor excreción de AB circulantes en las heces de participantes obesos⁹³. Este hecho podría explicar la falta de asociación entre la concentración de AB circulantes plasmáticos o séricos y la adiposidad observada en nuestro estudio, ya que podría ser la concentración de AB fecales (eliminación de AB) la verdaderamente relacionada con la adiposidad y no la concentración plasmática o sérica como nosotros hipotetizamos previamente.

Los niveles de ácidos biliares circulantes se asocian con un peor perfil inflamatorio y cardiometabólico

Nuestros resultados revelaron que los niveles circulantes de AB (GCA, GCDCA y GUDCA) se relacionaron con un peor perfil cardiometabólico (un mayor LDL-C, índice HOMA, glucosa e insulina y menor HDL-C, APOA1 y adiponectina) e inflamatorio (mayor TNF α , IL-8 e IL-2). Sin embargo, cuando introducimos el MCM en el modelo, algunas de estas asociaciones desaparecieron. Por el contrario, Cariou et al.,⁶⁴ en un estudio de casos y controles de 56 personas de mediana edad (grupo control “saludable”, grupo de obesos y grupo de participantes con DMT2) observó que los niveles circulantes de CDCA, DCA y CA fue mayor en las cohortes de obesos y participantes con DMT2. De manera similar Ginos et al.,⁷⁵ en un ensayo controlado aleatorizado y cruzado de 80 adultos sanos, describió como los niveles circulantes de GCA, GUDCA y GDCA se asociaron positivamente con el índice HOMA. En consonancia, se sabe que los AB circulantes, pueden actuar como moléculas proinflamatorias cuando están desreguladas¹²⁴ y puede inducir la expresión de genes proinflamatorios en los hepatocitos¹²⁵, hechos, que debería de estudiarse más a fondo. Estos datos apoyan la hipótesis de un posible papel de

los niveles circulantes de los AB en algunos de los trastornos cardiometabólicos e inflamatorios. Pocos estudios preclínicos han evaluado si estas asociaciones son causales o no. Sin embargo, parece ser que la secreción de la insulina, la homeostasis de la glucosa y la respuesta inmune, podrían afectar los niveles circulantes de AB a través de la activación de los receptores TGR5 y de FXR^{96,100}, lo cual, respalda que la activación de estos receptores por AB circulantes, puede ser una posible terapia para combatir enfermedades cardiometabólicas. Curiosamente, ninguno de los estudios previos investigó si esas correlaciones significativas eran independientes de parámetros de composición corporal. En la presente Tesis Doctoral realizamos unos análisis de sensibilidad donde observamos que la asociación entre los niveles circulantes de AB y parámetros del perfil cardiometabólico desaparecieron tras ajustar por masa corporal magra sugiriendo que el músculo podría estar jugando un papel crucial en la relación entre los niveles de AB y el perfil cardiometabólico e inflamatorio. El significado biológico de este hallazgo, no está muy claro, pero sugerimos que podría deberse a que la medición de la masa corporal magra la realizamos con el escáner DEXA. Esto significaría que a mayor masa magra, el DEXA también detectaría un mayor volumen hepático, y por lo tanto mayor secreción de AB al torrente sanguíneo. Nuestra cohorte está compuesta de voluntarios jóvenes y sanos, por lo que no debemos esperar encontrar trastornos cardiometabólicos en la población estudiada, sin embargo, detectamos que los niveles circulantes de GCA y GCDCA podrían ser biomarcadores tempranos del inicio de la enfermedad cardiometabólica.

Posible relación del tejido adiposo pardo por los ácidos biliares circulantes

En la presente Tesis Doctoral encontramos que los niveles plasmáticos de CDCA y CA no estaban relacionados con el TAP, mientras que los niveles plasmáticos de GDCA y GLCA se relacionaron negativamente con el TAP. Cabe destacar que el TAP podría estar jugando un papel importante en la salud cardiometabólica del ser humano¹²⁶ a través de los AB. Recientemente, varios estudios preclínicos han demostrado que existe un vínculo entre los niveles circulantes de AB y la activación del TAP pero sus hallazgos son controvertidos^{96,105,127,128}. Watanabe et al.,⁹⁶ mostró cómo en ratones la inyección de CA aumentó el gasto energético a través de la activación del receptor TGR5 presente en el TAP y musculo esquelético. No obstante, existe controversia, dado que un reciente estudio en humanos no respalda el papel de los AB circulantes en el control del metabolismo energético humano¹²⁹ y otro estudio mostró que los beneficios cardiometabólicos tras la inyección de CA eran independientes de la activación del TAP en ratones obesos inducidos por la dieta¹²⁷. Alternativamente, Teodoro et al.,¹²⁸ hallaron un aumento en los niveles de expresión del gen de la proteína desacoplante 1 (UCP1) en TAP, un sello molecular de la actividad de TAP, en ratones alimentados con CDCA. Broeders et al.,¹⁰⁵ observaron que una sola administración de 15mg/kg de CDCA durante dos días aumentó la captación de ¹⁸F-FDG por TAP y el gasto de energía en mujeres. No obstante, la mayoría de los estudios que investigaron el efecto de los AB circulantes sobre el TAP, utilizaron la administración oral de AB, motivo por cual hace imposible la comparación de sus hallazgos con los de la presente Tesis Doctoral^{96,127,128}. Aunque los resultados de la presente Tesis Doctoral no apoyan completamente los hallazgos anteriores, el vínculo entre los niveles de CA, CDCA, GDCA y GLCA con la activación del TAP debería de establecerse en condiciones basales, que probablemente difieran de

la respuesta a una administración aguda de AB. Queda por explorar más a fondo la relación de los AB circulantes con el TAP en humanos ya que el TAP es un órgano potencial para combatir la salud cardiometabólica.

La microbiota intestinal modula la cantidad de ácidos biliares circulantes

La microbiota intestinal influye en el metabolismo de la glucosa, lípidos y homeostasis energética, además de procesos de carcinogénesis, en parte, regulando el metabolismo de los niveles circulantes de AB y afectando a múltiples vías de señalización de los mismos¹³⁰. En humanos, el tracto gastrointestinal está colonizado por una amplia gama de bacterias cohabitantes junto con otros microorganismos conocidos colectivamente como microbiota intestinal^{131,132}. El genoma y el microbioma del huésped, producen una gran variedad de metabolitos que sirven como importantes factores de señalización y sustrato energético¹³³. Los AB primarios, producidos en el hígado, una vez secretados, van a ser metabolizados y transformados a AB secundarios, gracias a la microbiota intestinal. Los AB secundarios, además de, algunos neurotransmisores y ácidos grasos de cadena corta entre otros, modulan la composición de la microbiota e influyen en la fisiología colónica además de ser fuente de energía para las células del huésped y de la microbiota intestinal¹³⁴⁻¹³⁷. La interacción entre este metaboloma y el huésped, modula el sistema inmunológico, regula los fenotipos metabólicos e influye en los factores de riesgo de enfermedades y respuesta a terapias^{138,139}. Aunque nuestra tesis doctoral no estudió la asociación entre los niveles circulantes de AB y la composición de la microbiota intestinal, este tipo de estudio quizás pueda explicar algunas de las asociaciones que estamos observando en la presente tesis doctoral.

Implicación clínica

En 1938, el premio Nobel Philip Hench observó que los pacientes con síntomas reumáticos mejoraban cuando estos presentaban ictericia (aumento de bilirrubina en sangre), atribuyendo dicha responsabilidad, a un incremento de los niveles circulantes de AB. Desde entonces, se iniciaron muchos estudios, que junto el descubrimiento de los receptores con afinidad por los AB, han dado lugar al desarrollo de fármacos⁷⁴. Los AB requieren de proteínas de transporte para una permeabilidad celular eficiente que confinan en gran medida la señalización intracelular en los órganos donde se expresan dichos transportadores. No fue hasta la década de los 90 cuando se descubrieron varios factores de transcripción activados por ligandos de la familia de receptores de hormonas nucleares (NHR), y el consiguiente reconocimiento de los AB como sus ligandos endógenos^{140,141}. El descubrimiento de los receptores de AB junto a la investigación consecuente, han definido múltiples vías de señalización de los AB que afectan tanto a la síntesis de los mismos, síntesis de los lípidos, gluconeogénesis, inflamación, fibrosis hepática y cáncer⁷⁴.

Los NHR para los AB son ligandos relevantes, incluyen FXR¹⁴⁰, receptor X de pregnane (PXR)¹⁴², receptor de vitamina D3 (VDR)¹⁴³ y el receptor androstano constitutivo (CAR)¹⁴⁴. Además de estos receptores intracelulares, está el TGR5, un receptor de superficie celular de la familia de los receptores acoplados a la proteína G que se une y es activado por los AB^{103,145}. El CDCA y el LCA son los activadores endógenos más potentes de FXR y TGR5 respectivamente, siendo CA el activador menos potente de ambos¹⁴⁶. Tanto las investigaciones como la farmacología actual, van encaminadas a modificar esos receptores para poder así afectar de una manera indirecta a la producción de los AB. La mayoría de las investigaciones van encaminadas sobretodo a modificar

tanto FXR como TGR5, puesto que son de estos de los que se conocen mejor su fisiopatología. Estos dos receptores (FXR y TGR5), tienen distribuciones celulares superpuestas y a la vez diferentes. FXR se expresa principalmente en el hígado (sólo en hepatocitos), intestino riñón y glándulas suprarrenales¹⁴⁷ mientras que TGR5 tiene un patrón de expresión más amplio que incluye vesícula biliar, intestino delgado, TAP, bazo, macrófagos y cerebro^{74,148}. TGR5 a nivel hepático, sólo se expresa en las células endoteliales sinusoidales, células de Kupffer y los macrófagos residentes hepáticos, pero no así en los hepatocitos¹⁴⁹.

La activación de TGR5 mejora tanto la homeostasis energética como la de glucosa e inhibe la aterogénesis al inducir la secreción de péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP1) en el intestino y genes termogénicos en el TAP y músculo esquelético^{96,150} además de suprimir la acción de los macrófagos¹⁵¹.

Después de la cirugía del bypass gástrico en Y de Roux, los alimentos parcialmente digeridos y los AB se mezclan en íleon distal. Tras una digestión incompleta, los AB llegan al colon donde activan tanto TGR5 como VDR y como resultado envían señales al hígado (factor de crecimiento de fibroblastos 19 (FGF19)) y al páncreas (GLP-1) para reducir la lipogénesis hepática y mejorar la sensibilidad a la insulina y secreción de la misma, aunque la reducción de peso se obtiene principalmente por la absorción incompleta de nutrientes por el intestino delgado. Este hecho, con el aumento de FGF19 y GLP-1 tras un bypass gástrico en Y de Roux, hace de este procedimiento un posible tratamiento efectivo para la EHGNA en pacientes con obesidad importante^{152,153}.

Llegados a este punto podríamos decir que pacientes obesos (por ejemplo) a los que les realizamos un análisis sanguíneo y determinamos las concentraciones y perfil de AB, podrían darnos información muy valiosa de cómo podría evolucionar su enfermedad y de esta manera poder actuar en consecuencia. Sabiendo que CDCA y LCA son los AB que

más activan estos receptores, si en el perfil de AB del obeso, se presenta unos mayores niveles circulantes de CA (que es el que menos activa los receptores) podríamos bloquear los receptores de la síntesis de CA o administrar CDCA. Los AB actúan como importantes moléculas de señalización celular que puede activar varias vías de señalización de cara a regular multitud de procesos biológicos. La EHGA, es una de las enfermedades más favorecida de estos descubrimientos, sugiriéndose que tanto de FXR como de TGR5 parecen proteger contra la misma, aunque los mecanismos subyacentes de protección contra la esteatosis hepática por FXR o TGR5 no terminan de estar totalmente claros.

Limitaciones de la presente tesis doctoral:

La presente Tesis Doctoral es pionera ya que estudia por primera vez, en una cohorte bastante bien fenotipada, la relación entre los niveles circulantes de AB y la composición corporal y perfil cardiometabólico. Además, se estudia por primera vez la relación que existe entre los niveles circulantes de AB con la activación del TAP medido con la técnica de referencia.

Sin embargo, esta Tesis Doctoral, tiene de una limitación inherente a todos los estudios transversales la cual radica en no poder establecer causalidad. Nuestra población de estudio, solo incluye a adultos jóvenes y sanos, motivo por el cual puede que no sea extrapolable a personas más mayores, más jóvenes o enfermas. En los seres humanos, el 90% del “pool” de AB está formado por CA, CDCA y DCA con sus conjugados, siendo el LCA y UDCA en menos del 5%¹⁵⁴, los cuales no fueron identificados por su complejidad por ser medidos por el LC/MS-MS. En la conjugación de los AB, en los humanos, la mayoría son conjugados con glicina, quedando los conjugados con taurina un porcentaje menor¹⁵⁴. Al no medir el resto de AB, hace que la visión general del rol de

los AB en el metabolismo no se termine de entender bien. Además, las mediciones de PET/TAC con ^{18}F -FDG fue estática (una limitación en la estimación de la actividad metabólica del TAP inducida por el frío¹⁵⁵), y aunque la captación de ^{18}F -FDG es el método más utilizado, también padece de las limitaciones en la evaluación de la actividad metabólica del TAP¹⁵⁶.

6. CONCLUSIONES Y FUTURAS PERSPECTIVAS

CONCLUSIÓN

La conclusión general de la presente Tesis Doctoral es que los niveles circulantes de algunos ácidos biliares (GCA, GCDCA y GUDCA) podrían considerarse marcadores tempranos de la salud cardiometabólica de personas jóvenes y relativamente sanas. Sin embargo, los niveles circulantes de estos AB no podrían considerarse marcadores de los niveles de adiposidad.

Las conclusiones específicas de la presente Tesis doctoral son las siguientes:

- i. Los niveles circulantes de ácidos biliares entre hombres y mujeres son similares una vez considerado el porcentaje de masa grasa.
- ii. Los niveles circulantes de CA, CDCA, DCA y GDCA se relacionaron de forma positiva, aunque débilmente, con la cantidad de masa magra, sin embargo, no se detectó relación entre los niveles de ácidos biliares circulantes y la adiposidad.
- iii. Los niveles circulantes de GCA, GCDCA y GUDCA se relacionaron con un peor perfil inflamatorio y cardiometabólico (mayor LDL-C, índice HOMA, glucosa, insulina y menor HDL-C, APOA1 y adiponectina) aunque esta asociación desapareció parcialmente tras ajustar por masa corporal magra, insinuando que la asociación entre los niveles circulantes de ácidos biliares y el perfil cardiometabólico podría depender de la cantidad de masa muscular.

Futuras líneas

La presente Tesis Doctoral responde a una serie de preguntas de investigación, pero a la misma vez, plantea otras preguntas las cuales deberían ser estudiadas en el futuro a corto o medio plazo:

1. Es de clínica relevancia medir los niveles circulantes de ácidos biliares conjugados con taurina y ver así sus valores y cambios en personas con obesidad vs delgados.
2. Replicar el estudio con una mayor población. Esto nos permitiría realizar el estudio de manera estratificada por edad, lo cual podría ser clave de cara a elucidar si realmente la MCM está relacionada con la concentración de ácidos biliares circulantes. No obstante, podría darnos la clave para estudiar si hay verdaderas diferencias entre sexo.
3. Hay evidencia preclínica que demuestra que una hepatectomía parcial por cualquier motivo (ej. cáncer, metástasis, traumatismo, enfermedad benigna), la cual consiste en extirpación parcial de parénquima hepático, podría afectar a los niveles de ácidos biliares circulantes. Sin embargo, esto aún no está demostrado en humanos.
4. El síndrome constitucional, es una sintomatología frecuente en pacientes oncológicas de pronóstico grave. Debido al mismo, los enfermos pierden gran

cantidad de masa corporal (sin causa justificada como el deporte o el ayuno).

¿Están relacionados los ácidos biliares circulantes en este proceso?, ¿se podría tratar con ácidos biliares o inhibidores de sus receptores?

5. Cuantificar el TAP con otros marcadores. En futuros estudios se podrían usar otros radiotrazadores como el oxígeno marcado con ^{15}O , el acetato de ^{11}C o el ácido ^{18}F -fluoro-6-tia-heptadecanoico para obtener una medición mas precisa del TAP humano.
6. Al someterse a una cirugía bariátrica, o a un tratamiento médico para pérdida de peso, se produce un cambio en el perfil lipídico y con respecto a los ácidos biliares circulantes. No existe aún ningún estudio que compare si los niveles circulantes de ácidos biliares se ven modificados a través de una cirugía clásica vs. Tratamiento no agresivo (agonistas vs. bloqueadores de receptores).
7. Un reciente metanálisis concluye que pudieran ser los ácidos biliares excretados en heces estuvieran relacionados con la obesidad y no los ácidos biliares circulantes en sangre. Estudios futuros debería de considerar incluir ambos de cara a poder despejar dudas respecto a este hecho.
8. El perfil de ácidos biliares circulantes se modifica por múltiples vías y causas. Hay relativamente pocos estudios sobre la modificación de estos por medio de la dieta. ¿Influyen los alimentos ultraprocesados sobre el perfil de ácidos biliares circulantes hacia un peor perfil? ¿Qué ácidos biliares circulantes se modifican? ¿Ayudaría ello para apoyar el hecho de que hay unos ácidos biliares circulantes

que se relacionan con un peor perfil cardiometabólico?.

9. Los ácidos biliares circulantes podrían estar relacionados con moléculas pro inflamatorias y estas a su vez involucradas en la fisiopatología de algunos tipos cáncer. Futuros estudios deberían de incluir estos marcadores de cara a intentar comprender la biología tumoral de algunos tipos de cáncer. Estos marcadores también podrían ser la clave de enfermedades no cancerosas tipo DMT2 y la enfermedad Cardiovascular.
10. Los estudios hasta la fecha abogan a que la activación de los receptores TGR5 y FXR afecta a la secreción de la insulina, la homeostasis de la glucosa y la respuesta inmune, siendo los ácidos biliares circulantes moléculas intermediarias. Futuros estudios deberían corroborar este hecho comprobando los efectos tras el uso de agonistas y antagonistas de dichos receptores.
11. Futuros estudios deberían de cuantificar la expresión de receptores involucrados en los ácidos biliares circulantes, mediante con una biopsia de tejido adiposo, tanto de tejido celular subcutáneo como de la grasa intra abdominal.

7. REFERENCIAS

REFERENCIAS

1. Stevens GA, Singh GM, Lu Y, Danaei G, Lin JK, Finucane MM, et al. National, regional, and global trends in adult overweight and obesity prevalences. *Popul Health Metr.* 2012;10:1.
2. Ng M, Fleming T, Robinson M, Thomson B, Graetz N, Margono C, et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980-2013: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet.* 2014;384:766-81.
3. WHO. Obesity and overweight. *World Heal Organ.* 2021:1.
4. WHO. Obesity and overweight. 2013.
5. Wijnhoven TMA, van Raaij JMA, Spinelli A, Starc G, Hassapidou M, Spiroski I, et al. Iniciativa de Vigilancia de la Obesidad en la Infancia Europea de la OMS: índice de masa corporal y nivel de sobrepeso entre los niños de 6-9 años desde el año escolar 2007/2008 hasta el año escolar 2009/2010. *BMC Public Health.* 2014;14:806.
6. Wijnhoven TMA, Van Raaij JMA, Spinelli A, Rito AI, Hovengen R, Kunesova M, et al. Who european childhood obesity surveillance initiative 2008: Weight, height and body mass index in 6-9-year-old children. *Pediatr Obes.* 2013;8:79-97.
7. Deshmukh-Taskar P, Nicklas TA, Morales M, Yang SJ, Zakeri I, Berenson GS. Tracking of overweight status from childhood to young adulthood: The Bogalusa Heart Study. *Eur J Clin Nutr.* 2006;60:48-57.
8. Calabrese Donihi A, Raval D, Saul M, Korytkowski MT, DeVita MA. Prevalence and predictors of corticosteroid-related hyperglycemia in hospitalized patients. *Endocr Pract.* 2006;12:358-62.

9. Ceschi M, Gutzwiller F, Moch H, Eichholzer M, Probst-Hensch NM. Epidemiology and pathophysiology of obesity as a cause of cancer. *Swiss Med Wkly*. 2007;137:50-6.
10. Hubert HB, Feinleib M, McNamara PM, Castelli WP. Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: A 26-year follow-up of participants in the Framingham Heart Study. *Circulation*. 1983;67:968-77.
11. Piegas LS, Avezum Á, Pereira JCR, Rossi Neto JM, Hoepfner C, Farran JA, et al. Risk factors for myocardial infarction in Brazil. *Am Heart J*. 2003;146:331-8.
12. Resta O, Foschino-Barbaro MP, Legari G, Talamo S, Bonfitto P, Palumbo A, et al. Sleep-related breathing disorders, loud snoring and excessive daytime sleepiness in obese subjects. *Int J Obes*. 2001;25:669-75.
13. Walker SP, Rimm EB, Ascherio A, Kawachi I, Stampfer MJ, Willett WC. Body size and fat distribution as predictors of stroke among US men. *Am J Epidemiol*. 1996;144:1143-50.
14. Gregor MF, Hotamisligil GS. Inflammatory mechanisms in obesity. *Annu Rev Immunol*. 2011;29:415-45.
15. Hermsdorff HHM, Zulet MÁ, Puchau B, Martínez JA. Central adiposity rather than total adiposity measurements are specifically involved in the inflammatory status from healthy young adults. *Inflammation*. 2011;34:161-70.
16. Wormser D, Kaptoge S, Di Angelantonio E, Wood AM, Pennells L, Thompson A, et al. Separate and combined associations of body-mass index and abdominal adiposity with cardiovascular disease: Collaborative analysis of 58 prospective studies. *Lancet*. 2011;377:1085-95.
17. Ashwell M, Gunn P, Gibson S. Waist-to-height ratio is a better screening tool

- than waist circumference and BMI for adult cardiometabolic risk factors: Systematic review and meta-analysis. *Obes Rev.* 2012;13:275-86.
18. Heber D. An integrative view of obesity. *Am J Clin Nutr.* 2010;91:280-3.
 19. Swinburn BA, Sacks G, Hall KD, McPherson K, Finegood DT, Moodie ML, et al. The global obesity pandemic: Shaped by global drivers and local environments. *Lancet.* 2011;378:804-14.
 20. Rtveladze K, Marsh T, Barquera S, Sanchez Romero LM ari., Levy D, Melendez G, et al. Obesity prevalence in Mexico: impact on health and economic burden. *Public Health Nutr.* 2014;17:233-9.
 21. Keaver L, Webber L, Dee A, Shiely F, Marsh T, Balanda K, et al. Application of the UK foresight obesity model in Ireland: The health and economic consequences of projected obesity trends in Ireland. *PLoS One.* 2013;8:1-8.
 22. Engin A. The Definition and Prevalence of Obesity and Metabolic Syndrome. *Adv Exp Med Biol.* 2017;960:1-17.
 23. Castro JP, El-Atat FA, McFarlane SI, Aneja A, Sowers JR. Cardiometabolic syndrome: Pathophysiology and treatment. *Curr Hypertens Rep.* 2003;5:393-401.
 24. Sattar N, Gill JMR, Alazawi W. Improving prevention strategies for cardiometabolic disease. *Nat Med.* 2020;26:320-5.
 25. Dagenais GR, Leong DP, Rangarajan S, Lanas F, Lopez-Jaramillo P, Gupta R, et al. Variations in common diseases, hospital admissions, and deaths in middle-aged adults in 21 countries from five continents (PURE): a prospective cohort study. *Lancet.* 2020;395:785-94.
 26. Danaei G, Finucane MM, Lu Y, Singh GM, Cowan MJ, Paciorek CJ, et al. National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: Systematic analysis of health examination surveys and

- epidemiological studies with 370 country-years and 2·7 million participants. *Lancet*. 2011;378:31-40.
27. Blüher M. Obesity: global epidemiology and pathogenesis. *Nat Rev Endocrinol*. 2019;15:288-98.
 28. Mozumdar A, Liguori G. Persistent increase of prevalence of metabolic syndrome among U.S. adults: NHANES III to NHANES 1999-2006. *Diabetes Care*. 2011;34:216-9.
 29. Kochanek KD, Murphy SL, Xu J, Tejada-Vera B. Deaths: Final data for 2014. *Natl Vital Stat Reports*. 2016;65.
 30. Bozkurt B, Aguilar D, Deswal A, Dunbar SB, Francis GS, Horwich T, et al. Contributory Risk and Management of Comorbidities of Hypertension, Obesity, Diabetes Mellitus, Hyperlipidemia, and Metabolic Syndrome in Chronic Heart Failure: A Scientific Statement from the American Heart Association. vol. 134. 2016.
 31. Jackson VM, Breen DM, Fortin JP, Liou A, Kuzmiski JB, Loomis AK, et al. Latest approaches for the treatment of obesity. *Expert Opin Drug Discov*. 2015;10:825-39.
 32. Cooper TC, Simmons EB, Webb K, Burns JL, Kushner RF. Trends in Weight Regain Following Roux-en-Y Gastric Bypass (RYGB) Bariatric Surgery. *Obes Surg*. 2015;25:1474-81.
 33. Tessier DJ, Eagon JC. Surgical Management of Morbid Obesity. *Curr Probl Surg*. 2008;45:68-137.
 34. Suter M. Results of Roux-en-Y Gastric Bypass in Morbidly Obese vs Superobese Patients. *Arch Surg*. 2009;144:312.
 35. Pories WJ. Bariatric surgery: Risks and rewards. *J Clin Endocrinol Metab*.

- 2008;93:89-96.
36. Jackson VM, Price DA, Carpino PA. Investigational drugs in Phase II clinical trials for the treatment of obesity: Implications for future development of novel therapies. *Expert Opin Investig Drugs*. 2014;23:1055-66.
 37. Aronne LJ, Wadden TA, Peterson C, Winslow D, Odeh S, Gadde KM. Evaluation of phentermine and topiramate versus phentermine/topiramate extended-release in obese adults. *Obesity*. 2013;21:2163-71.
 38. Kraschnewski JL, Boan J, Esposito J, Sherwood NE, Lehman EB, Kephart DK, et al. Long-term weight loss maintenance in the United States. *Int J Obes*. 2010;34:1644-54.
 39. Anderson JW, Konz EC, Frederich RC, Wood CL. Long-term weight-loss maintenance : a meta-analysis of 2001.
 40. Weiss EC, Galuska DA, Kettel Khan L, Gillespie C, Serdula MK. Weight Regain in U.S. Adults Who Experienced Substantial Weight Loss, 1999-2002. *Am J Prev Med*. 2007;33:34-40.
 41. Velapati SR, Shah M, Kuchkuntla AR, Abu-dayyeh B, Grothe K, Hurt RT, et al. Weight Regain After Bariatric Surgery: Prevalence, Etiology, and Treatment. *Curr Nutr Rep*. 2018;7:329-34.
 42. Strohacker K, McCaffery JM, Maclean PS, Wing RR. Adaptations of leptin, ghrelin or insulin during weight loss as predictors of weight regain: A review of current literature. *Int J Obes*. 2014;38:388-96.
 43. Capel F, Klimčáková E, Viguerie N, Roussel B, Vítková M, Kováčiková M, et al. Macrophages and adipocytes in human obesity: Adipose tissue gene expression and insulin sensitivity during calorie restriction and weight stabilization. *Diabetes*. 2009;58:1558-67.

44. de Luis DA, Sagrado MG, Conde R, Aller R, Izaola O. The effects of two different hypocaloric diets on glucagon-like peptide 1 in obese adults, relation with insulin response after weight loss. *J Diabetes Complications*. 2009;23:239-43.
45. Lien LF, Haqq AM, Arlotto M, Slentz CA, Muehlbauer MJ, McMahon RL, et al. The STEDMAN project: Biophysical, biochemical and metabolic effects of a behavioral weight loss intervention during weight loss, maintenance, and regain. *Omi A J Integr Biol*. 2009;13:21-35.
46. Rosenbaum M, Nicolson M, Hirsch J, Murphy E, Chu F, Leibel RL. Effects of weight change on plasma leptin concentrations and energy expenditure. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82:3647-54.
47. Straznicky NE, Grima MT, Eikelis N, Nestel PJ, Dawood T, Schlaich MP, et al. The effects of weight loss versus weight loss maintenance on sympathetic nervous system activity and metabolic syndrome components. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96:503-8.
48. Gibbons C, Blundell JE, Caudwell P, Webb DL, Hellström PM, Näslund E, et al. The role of episodic postprandial peptides in exercise-induced compensatory eating. *J Clin Endocrinol Metab*. 2017;102:4051-9.
49. MacLean PS, Bergouignan A, Cornier MA, Jackman MR. Biology's response to dieting: The impetus for weight regain. *Am J Physiol - Regul Integr Comp Physiol*. 2011;301.
50. Rosenbaum M, Sy M, Pavlovich K, Leibel RL, Hirsch J. Leptin reverses weight loss-induced changes in regional neural activity responses to visual food stimuli. *J Clin Invest*. 2008;118:2583-91.
51. Kissileff HR, Thornton JC, Torres MI, Pavlovich K, Mayer LS, Kalari V, et al.

- Leptin reverses declines in satiation in weight-reduced obese humans. *Am J Clin Nutr.* 2012;95:309-17.
52. Cummings DE, Weigle DS, Scott Frayo R, Breen PA, Ma MK, Patchen Dellinger E, et al. Plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss or gastric bypass surgery. *N Engl J Med.* 2002;346:1623-30.
53. Date Y, Kojima M, Hosoda H, Sawaguchi A, Mondal MS, Suganuma T, et al. Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinology.* 2000;141:4255-61.
54. Herder C, Kannenberg JM, Carstensen-Kirberg M, Huth C, Meisinger C, Koenig W, et al. Serum levels of interleukin-22, cardiometabolic risk factors and incident type 2 diabetes: KORA F4/FF4 study. *Cardiovasc Diabetol.* 2017;16:1-8.
55. Vitek L, Haluzik M. The role of bile acids in metabolic regulation. *J Endocrinol.* 2016;228:R85-96.
56. Molinaro A, Wahlström A, Marschall HU. Role of Bile Acids in Metabolic Control. *Trends Endocrinol Metab.* 2018;29:31-41.
57. Han CY. Update on FXR biology: Promising therapeutic target? *Int J Mol Sci.* 2018;19.
58. Wahlström A, Sayin SI, Marschall HU, Bäckhed F. Intestinal Crosstalk between Bile Acids and Microbiota and Its Impact on Host Metabolism. *Cell Metab.* 2016;24:41-50.
59. McGlone ER, Bloom SR. Bile acids and the metabolic syndrome. *Ann Clin Biochem.* 2019;56:326-37.
60. Ramírez-Pérez O, Cruz-Ramón V, Chinchilla-López P, Méndez-Sánchez N. The Role of the Gut Microbiota in Bile Acid Metabolism. *Ann Hepatol.* 2017;16:S21-

- 6.
61. Li T, Chiang JYL. Bile acid signaling in metabolic disease and drug therapy. *Pharmacol Rev.* 2014;66:948-83.
62. Chávez-Talavera O, Haas J, Grzych G, Tailleux A, Staels B. Bile acid alterations in nonalcoholic fatty liver disease, obesity, insulin resistance and type 2 diabetes: What do the human studies tell? *Curr Opin Lipidol.* 2019;30:244-54.
63. Chávez-Talavera O, Wargny M, Pichelin M, Descat A, Vallez E, Kouach M, et al. Bile acids associate with glucose metabolism, but do not predict conversion from impaired fasting glucose to diabetes. *Metabolism.* 2020;103:1-7.
64. Cariou B, Chetiveaux M, Zar Y, Pouteau E, Disse E, Guyomarc'H-Delasalle B, et al. Fasting plasma chenodeoxycholic acid and cholic acid concentrations are inversely correlated with insulin sensitivity in adults. *Nutr Metab.* 2011;8:48.
65. Groban L, Lindsey SH, Wang H, Alencar AK. Sex and Gender Differences in Cardiovascular Disease. *Sex Differ Physiol.* 2016:61-87.
66. Spence JD, Pilote L. Importance of sex and gender in atherosclerosis and cardiovascular disease. *Atherosclerosis.* 2015;241:208-10.
67. Lloyd-Jones DM, Larson MG, Beiser A, Levy D. Lifetime risk of developing coronary heart disease. *Lancet.* 1999;353:89-92.
68. Guy J, Peters MG. Liver disease in women: The influence of gender on epidemiology, natural history, and patient outcomes. *Gastroenterol Hepatol.* 2013;9:633-9.
69. Wang X, Magkos F, Mittendorfer B. Sex differences in lipid and lipoprotein metabolism: It's not just about sex hormones. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96:885-93.
70. Gälman C, Angelin B, Rudling M. Pronounced variation in bile acid synthesis in

- humans is related to gender, hypertriglyceridaemia and circulating levels of fibroblast growth factor 19. *J Intern Med.* 2011;270:580-8.
71. Phelps T, Snyder E, Rodriguez E, Child H, Harvey P. The influence of biological sex and sex hormones on bile acid synthesis and cholesterol homeostasis. *Biol Sex Differ.* 2019;10:1-12.
72. Murata Y, Ogawa Y, Saibara T, Nishioka A, Fujiwara Y, Fukumoto M, et al. Unrecognized hepatic steatosis and non-alcoholic steatohepatitis in adjuvant tamoxifen for breast cancer patients. *Oncol Rep.* 2000;7:1299-304.
73. Simon FR, Fortune J, Iwahashi M, Gartung G, Wolkoff A, Sutherland E. Ethinyl estradiol cholestasis involves alterations in expression of liver sinusoidal transporters. *Am J Physiol.* 1996;271.
74. Schaap FG, Trauner M, Jansen PLM. Bile acid receptors as targets for drug development. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2014;11:55-67.
75. Ginos BNR, Navarro SL, Schwarz Y, Gu H, Wang D, Randolph TW, et al. Circulating bile acids in healthy adults respond differently to a dietary pattern characterized by whole grains, legumes and fruits and vegetables compared to a diet high in refined grains and added sugars: A randomized, controlled, crossover feeding stud. *Metabolism.* 2018;83:197-204.
76. Straniero S, Rosqvist F, Edholm D, Ahlström H, Kullberg J, Sundbom M, et al. Acute caloric restriction counteracts hepatic bile acid and cholesterol deficiency in morbid obesity. *J Intern Med.* 2017;281:507-17.
77. Lei S, Huang F, Zhao A, Chen T, Chen W, Xie G, et al. The ratio of dihomo- γ -linolenic acid to deoxycholic acid species is a potential biomarker for the metabolic abnormalities in obesity. *FASEB J.* 2017;31:3904-12.
78. Haeusler RA, Camastra S, Nannipieri M, Astiarraga B, Castro-Perez J, Xie D,

- et al. Increased bile acid synthesis and impaired bile acid transport in human obesity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016;101:1935-44.
79. Xie G, Wang Y, Wang X, Zhao A, Chen T, Ni Y, et al. Profiling of serum bile acids in a healthy chinese population using UPLC-MS/MS. *J Proteome Res.* 2015;14:850-9.
80. Prinz P, Hofmann T, Ahnis A, Elbelt U, Goebel-Stengel M, Klapp BF, et al. Plasma bile acids show a positive correlation with body mass index and are negatively associated with cognitive restraint of eating in obese patients. *Front Neurosci.* 2015;9.
81. Osto E, Doytcheva P, Corteville C, Bueter M, Dörig C, Stivala S, et al. Rapid and body weight-independent improvement of endothelial and high-density lipoprotein function after Roux-en-Y gastric bypass role of glucagon-like peptide-1. *Circulation.* 2015;131:871-81.
82. Yu H, Ni Y, Bao Y, Zhang P, Zhao A, Chen T, et al. Chenodeoxycholic acid as a potential prognostic marker for Roux-en-Y gastric bypass in Chinese obese patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100:4222-30.
83. Renner O, Harsch S, Matysik S, Lütjohann D, Schmitz G, Stange EF. Upregulation of hepatic bile acid synthesis via fibroblast growth factor 19 is defective in gallstone disease but functional in overweight individuals. *United Eur Gastroenterol J.* 2014;2:216-25.
84. Lips MA, De Groot GH, Berends FJ, Wiezer R, Van Wagenveld BA, Swank DJ, et al. Calorie restriction and Roux-en-Y gastric bypass have opposing effects on circulating FGF21 in morbidly obese subjects. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2014;81:862-70.
85. Steinert RE, Peterli R, Keller S, Meyer-Gerspach AC, Drewe J, Peters T, et al.

- Bile acids and gut peptide secretion after bariatric surgery: A 1-year prospective randomized pilot trial. *Obesity*. 2013;21.
86. Ahmad MS, Alsaleh M, Kimhofer T, Ahmad S, Jamal W, Wali SO, et al. Metabolic Phenotype of Obesity in a Saudi Population. *J Proteome Res*. 2017;16:635-44.
87. Haluzíková D, Lacinová Z, Kaválková P, Drápalová J, Křížová J, Bártlová M, et al. Laparoscopic sleeve gastrectomy differentially affects serum concentrations of FGF-19 and FGF-21 in morbidly obese subjects. *Obesity*. 2013;21:1335-42.
88. Glicksman C, Pournaras DJ, Wright M, Roberts R, Mahon D, Welbourn R, et al. Postprandial plasma bile acid responses in normal weight and obese subjects. *Ann Clin Biochem*. 2010;47:482-4.
89. Miettinen TA, Gylling H. Cholesterol absorption efficiency and sterol metabolism in obesity. *Atherosclerosis*. 2000;153:241-8.
90. Nestel PJ, Hunter JD. Differences in Bile Acid Excretion in Subjects with Hypercholesterolaemia, Hypertriglyceridaemia and Overweight. *Aust N Z J Med*. 1974;4:491-6.
91. O'Brien PE, Dixon JB, Laurie C, Skinner S, Proietto J, McNeil J, et al. Treatment of mild to moderate obesity with laparoscopic adjustable gastric banding or an intensive medical program: A randomized trial. *Ann Intern Med*. 2006;144:625-33.
92. Moo TA, Rubino F. Gastrointestinal surgery as treatment for type 2 diabetes. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2008;15:153-8.
93. So SSY, Yeung CHC, Schooling CM, El-Nezami H. Targeting bile acid metabolism in obesity reduction: A systematic review and meta-analysis. *Obes Rev*. 2020:1-17.

94. Chiang JYL. Bile acid metabolism and signaling. *Compr Physiol*. 2013;3:1191-212.
95. Houten SM, Watanabe M, Auwerx J. Endocrine functions of bile acids. *EMBO J*. 2006;25:1419-25.
96. Watanabe M, Houten SM, Matakai C, Christoffolete MA, Kim BW, Sato H, et al. Bile acids induce energy expenditure by promoting intracellular thyroid hormone activation. *Nature*. 2006;439:484-9.
97. Sinal CJ, Tohkin M, Miyata M, Ward JM, Lambert G, Gonzalez FJ. Targeted disruption of the nuclear receptor FXR/BAR impairs bile acid and lipid homeostasis. *Cell*. 2000;102:731-44.
98. Lefebvre P, Cariou B, Lien F, Kuipers F, Staels B. Role of bile acids and bile acid receptors in metabolic regulation. *Physiol Rev*. 2009;89:147-91.
99. Kuipers F, Bloks VW, Groen AK. Beyond intestinal soap - Bile acids in metabolic control. *Nat Rev Endocrinol*. 2014;10:488-98.
100. Ma H, Patti ME, Endocrinologist A. Bile acids, obesity, and the metabolic syndrome. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2014;28:573-83.
101. Di Ciaula A, Garruti G, Baccetto RL, Molina-Molina E, Bonfrate L, Wang DQH, et al. Bile acid physiology. *Ann Hepatol*. 2017;16:s4-14.
102. De Aguiar Vallim TQ, Tarling EJ, Edwards PA. Pleiotropic roles of bile acids in metabolism. *Cell Metab*. 2013;17:657-69.
103. Maruyama T, Miyamoto Y, Nakamura T, Tamai Y, Okada H, Sugiyama E, et al. Identification of membrane-type receptor for bile acids (M-BAR). *Biochem Biophys Res Commun*. 2002;298:714-9.
104. Vassileva G, Golovko A, Markowitz L, Abbondanzo SJ, Zeng M, Yang S, et al. Targeted deletion of Gpbar1 protects mice from cholesterol gallstone formation.

- Biochem J. 2006;398:423-30.
105. Broeders EPM, Nascimento EBM, Havekes B, Brans B, Roumans KHM, Tailleux A, et al. The bile acid chenodeoxycholic acid increases human brown adipose tissue activity. *Cell Metab.* 2015;22:418-26.
 106. Ahmad NN, Pfalzer A, Kaplan LM. Roux-en-Y gastric bypass normalizes the blunted postprandial bile acid excursion associated with obesity. *Int J Obes.* 2013;37:1553-9.
 107. Sanchez-Delgado G, Martinez-Tellez B, Olza J, Aguilera CM, Labayen I, Ortega FB, et al. Activating brown adipose tissue through exercise (ACTIBATE) in young adults: Rationale, design and methodology. *Contemp Clin Trials.* 2015;45:416-25.
 108. Martinez-Tellez B, Sanchez-Delgado G, Garcia-Rivero Y, Alcantara JMA, Martinez-Avila WD, Muñoz-Hernandez M V., et al. A new personalized cooling protocol to activate brown adipose tissue in young adults. *Front Physiol.* 2017;8:1-10.
 109. Schindelin J, Arganda-Carreras I, Frise E, Kaynig V, Longair M, Pietzsch T, et al. Fiji: An open-source platform for biological-image analysis. *Nat Methods.* 2012;9:676-82.
 110. Martinez-Tellez B, Sanchez-Delgado G, Boon MR, Rensen PCN, Llamas-Elvira JM, Ruiz JR. Distribution of Brown Adipose Tissue Radiodensity in Young Adults: Implications for Cold [18F]FDG-PET/CT Analyses. *Mol Imaging Biol.* 2019.
 111. Martinez-Tellez B, Nahon KJ, Sanchez-Delgado G, Abreu-Vieira G, Llamas-Elvira JM, Van Velden FHP, et al. The impact of using BARCIST 1.0 criteria on quantification of BAT volume and activity in three independent cohorts of adults.

- Sci Rep. 2018;8:1-8.
112. Chen KY, Cypess AM, Laughlin MR, Haft CR, Hu HH, Bredella MA, et al. Brown Adipose Reporting Criteria in Imaging Studies (BARCIST 1.0): Recommendations for Standardized FDG-PET/CT Experiments in Humans. *Cell Metab.* 2016;24:210-22.
 113. Matthews JC. Instability of brain synaptosomal membrane preparations to repeated ultracentrifugation in isoosmotic density gradients. *Life Sci.* 1985;37:2467-73.
 114. Bedogni G, Bellentani S, Miglioli L, Masutti F, Passalacqua M, Castiglione A, et al. The fatty liver index: A simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population. *BMC Gastroenterol.* 2006;6:1-7.
 115. Lipsy RJ. The National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines. *J Manag Care Pharm.* 2003;9:2-5.
 116. Carracher AM, Marathe PH, Close KL, Concerns C. A Healthcare Information Company Focused Exclusively On Diabetes And Obesity Care 2017.
 117. FDA F and DA. Bioanalytical Method Validation Guidance. *Food Drug Adm.* 2018;1043:25.
 118. Ahmad S, Orellana A, Kohler I, Frölich L, De Rojas I, Gil S, et al. Association of lysophosphatidic acids with cerebrospinal fluid biomarkers and progression to Alzheimer's disease. *Alzheimer's Res Ther.* 2020;12:1-13.
 119. Van Der Kloet FM, Bobeldijk I, Verheij ER, Jellema RH. Analytical error reduction using single point calibration for accurate and precise metabolomic phenotyping. *J Proteome Res.* 2009;8:5132-41.
 120. Trottier J, Caron P, Straka RJ, Barbier O. Profile of serum bile acids in noncholestatic volunteers: Gender-related differences in response to fenofibrate.

- Clin Pharmacol Ther. 2011;90:279-86.
121. Santoro N, Randolph JF. Reproductive Hormones and the Menopause Transition. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2011;38:455-66.
 122. Berg EG. The chemistry of the pill. *ACS Cent Sci.* 2015;1:5-6.
 123. Power ML, Schulkin J. Sex differences in fat storage, fat metabolism, and the health risks from obesity: Possible evolutionary origins. *Br J Nutr.* 2008;99:931-40.
 124. Chen ML, Takeda K, Sundrud MS. Emerging roles of bile acids in mucosal immunity and inflammation. *Mucosal Immunol.* 2019;12:851-61.
 125. Allen K, Jaeschke H, Copple BL. Bile acids induce inflammatory genes in hepatocytes: A novel mechanism of inflammation during obstructive cholestasis. *Am J Pathol.* 2011;178:175-86.
 126. Becher T, Palanisamy S, Kramer DJ, Eljalby M, Marx SJ, Wibmer AG, et al. Brown adipose tissue is associated with cardiometabolic health. *Nat Med.* 2021;27.
 127. Fromme T, Hüttinger K, Maurer S, Li Y, Gantert T, Fiamoncini J, et al. Bile acid supplementation decreases body mass gain in C57BL/6J but not 129S6/SvEvTac mice without increasing energy expenditure. *Sci Rep.* 2019;9:1-11.
 128. Teodoro JS, Zouhar P, Flachs P, Bardova K, Janovska P, Gomes AP, et al. Enhancement of brown fat thermogenesis using chenodeoxycholic acid in mice. *Int J Obes.* 2014;38:1027-34.
 129. Brufau G, Bahr MJ, Staels B, Claudel T, Ockenga J, Böker KHW, et al. Plasma bile acids are not associated with energy metabolism in humans. *Nutr Metab.* 2010;7:1-5.
 130. Liu T, Song X, Khan S, Li Y, Guo Z, Li C, et al. The gut microbiota at the

- intersection of bile acids and intestinal carcinogenesis: An old story, yet mesmerizing. *Int J Cancer*. 2020;146:1780-90.
131. Nicholson JK, Holmes E, Kinross J, Burcelin R, Gibson G, Jia W, et al. Host-gut microbiota metabolic interactions. *Science (80-)*. 2012;336:1262-7.
 132. Jia W, Li H, Zhao L, Nicholson JK. Gut microbiota: a potential new territory for drug targeting. *Nat Rev Drug Discov*. 2008;7:123-9.
 133. Jia W, Li H, Zhao L, Nicholson JK. Gut microbiota: a potential new territory for drug targeting. *Nat Rev Drug Discov*. 2008;7:123-9.
 134. Musso G, Gambino R, Cassader M. Interactions between gut microbiota and host metabolism predisposing to obesity and diabetes. *Annu Rev Med*. 2011;62:361-80.
 135. Swann JR, Want EJ, Geier FM, Spagou K, Wilson ID, Sidaway JE, et al. Systemic gut microbial modulation of bile acid metabolism in host tissue compartments. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108:4523-30.
 136. Monte MJ, Marin JJG, Antelo A, Vazquez-Tato J. Bile acids: Chemistry, physiology, and pathophysiology. *World J Gastroenterol*. 2009;15:804-16.
 137. Corrêa-Oliveira R, Fachi JL, Vieira A, Sato FT, Vinolo MAR. Regulation of immune cell function by short-chain fatty acids. *Clin Transl Immunol*. 2016;5:1-8.
 138. Iida N, Dzutsev A, Stewart CA, Smith L, Bouladoux N, Weingarten RA, et al. Commensal bacteria control cancer response to therapy by modulating the tumor microenvironment. *Science (80-)*. 2013;342:967-70.
 139. Jia W, Zheng X, Zhao A, Xie G, Chi Y, Zhao L, et al. Melamine-induced renal toxicity is mediated by the gut microbiota. *Sci Transl Med*. 2013;5.
 140. Forman BM, Goode E, Chen J, Oro AE, Bradley DJ, Perlmann T, et al.

- Identification of a nuclear receptor that is activated by farnesol metabolites. *Cell*. 1995;81:687-93.
141. Seol W, Choi HS, Moore DD. Isolation of proteins that interact specifically with the retinoid X receptor: Two novel orphan receptors. *Mol Endocrinol*. 1995;9:72-85.
142. Dumas B, Harding HP, Choi HS, Lehmann KA, Chung M, Lazar MA, et al. A new orphan member of the nuclear hormone receptor superfamily closely related to Rev-Erb. *Mol Endocrinol*. 1994;8:996-1005.
143. Makishima M, Lu TT, Xie W, Whitfield GK, Domoto H, Evans RM, et al. Vitamin D receptor as an intestinal bile acid sensor. *Science* (80-). 2002;296:1313-6.
144. Choi HS, Chung M, Tzamelis I, Simha D, Lee YK, Seol W, et al. Differential transactivation by two isoforms of the orphan nuclear hormone receptor CAR. *J Biol Chem*. 1997;272:23565-71.
145. Kawamata Y, Fujii R, Hosoya M, Harada M, Yoshida H, Miwa M, et al. A G protein-coupled receptor responsive to bile acids. *J Biol Chem*. 2003;278:9435-40.
146. Li Y, Jadhav K, Zhang Y. Bile acid receptors in non-alcoholic fatty liver disease. *Biochem Pharmacol*. 2013;86:1517-24.
147. Lee FY, Lee H, Hubbert ML, Edwards PA, Zhang Y. FXR, a multipurpose nuclear receptor. *Trends Biochem Sci*. 2006;31:572-80.
148. Pols TWH, Noriega LG, Nomura M, Auwerx J, Schoonjans K. The bile acid membrane receptor TGR5 as an emerging target in metabolism and inflammation. *J Hepatol*. 2011;54:1263-72.
149. Pellicciari R, Gioiello A, Macchiarulo A, Thomas C, Rosatelli E, Natalini B,

- et al. Discovery of 6 α -ethyl-23(S)-methylcholic acid (S-EMCA, INT-777) as a potent and selective agonist for the TGR5 receptor, a novel target for diabetes. *J Med Chem.* 2009;52:7958-61.
150. Vallim TQ de A, Edwards PA. Bile Acids Have the Gall to Function as Hormones. *Cell Metab.* 2009;10:162-4.
151. Pols TWH, Nomura M, Harach T, Lo Sasso G, Oosterveer MH, Thomas C, et al. TGR5 activation inhibits atherosclerosis by reducing macrophage inflammation and lipid loading. *Cell Metab.* 2011;14:747-57.
152. Jansen PLM, Van Werven J, Aarts E, Berends F, Janssen I, Stoker J, et al. Alterations of hormonally active fibroblast growth factors after Roux-en-Y gastric bypass surgery. *Dig Dis.* 2011;29:48-51.
153. Peterli R, Wölnerhanssen B, Peters T, Devaux N, Kern B, Christoffel-Courtin C, et al. Improvement in glucose metabolism after bariatric surgery: Comparison of laparoscopic roux-en-Y gastric bypass and laparoscopic sleeve gastrectomy: A prospective randomized trial. *Ann Surg.* 2009;250:234-41.
154. AF H. The continuing importance of bile acids in liver and intestinal disease. *Arch Intern Med.* 1999;159:2647-58.
155. Schilperoort M, Hoeke G, Kooijman S, Rensen PCN. Relevance of lipid metabolism for brown fat visualization and quantification. *Curr Opin Lipidol.* 2016;27:242-8.
156. Carpentier AC, Blondin DP, Virtanen KA, Richard D, Haman F, Turcotte ÉE. Brown adipose tissue energy metabolism in humans. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2018;9:1-21.

8. CURRICULUM VITAE

Datos personales:

Nombre: José Rubio López

DNI: 77349677x

Fecha de nacimiento: 09/06/1987

Domicilio: C/ Doctor José Montilla Bono, 21, 23009, Jaén

Teléfono: 661226535

Correo electrónico: drrubiolopez@gmail.com

FORMACIÓN ACADÉMICA

- | | |
|-----------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 2017-Actualidad | FEA Cirugía General y del Ap. Digestivo.
Complejo Hospitalario de Jaén. |
| 2020-2021 | Máster Propio ASECMA/SCCMA de Cirugía Mayor Ambulatoria. Universidad Francisco de Vitoria. |
| 2017-2018 | Máster Propio en actualización en Cirugía General y del Ap. Digestivo.
Universidad CEU Cardenal Herrera. |
| 2017-2018 | Experto Universitario en Cirugía Hepatobiliar Pancreática.
Universidad CEU Cardenal Herrera. |
| 2017-2018 | Experto Universitario en Cirugía Colorrectal. Universidad CEU Cardenal Herrera. |

- 2017-2018 **Experto Universitario en Cirugía General.**
Universidad CEU Cardenal Herrera.
- 2017-2018 **Experto Universitario en Cirugía Esofagogastrica y bariátrica.**
Universidad CEU Cardenal Herrera.
- 2012-2017 **Residencia de Cirugía General y del Ap. Digestivo.**
Hospital Clínico San Cecilio.
- 2014-2015 **Máster en Ingeniería Tisular.**
Universidad de Granada.
- 2005-2011 **Licenciado en Medicina.**
Universidad de Navarra.

FORMACIÓN INVESTIGADORA

A. Programas y proyectos de investigación.

- I. Activation brown adipose tissue through exercise (ACTIBATE) in young adults: Rationale, design and methodology.** Universidad de Granada. Fondo de Investigación Sanitaria del Instituto de Salud Carlos III. Expediente PI13/01393. Fecha inicio 2014. Director: Jonatan Ruiz Ruiz. Como especialista en cirugía, mi función trata de realizar todas las biopsias en tejido muscular y tejido adiposo blanco para cuantificar tanto, la expresión génica, así como a los marcadores involucrados en la termogénesis. Parque Tecnológico de la Salud Instituto Mixto de Investigación Deporte y Salud (iMUDS). Parque Tecnológico de la Salud. Universidad de Granada.

- II. Circulating basal bile acids levels are related with a worse cardiometabolic profile in young adults.** Universidad de Leiden (Holanda). Proyecto de Tesis Doctoral.

B. Publicaciones internacionales.

- I. *Plasma Level of bile acids are related to cardiometabolic risk factors in young adults.* Francisco J Osuna-Prieto*, José Rubio-Lopez*, Xinyu Di, Wei Yang, Isabelle Kohler, Patrick C N Rensen, Jonatan R Ruiz, Borja Martínez-Téllez. J Clin Endocrinol Metab 2021 * Contribución similiar.
- II. *The relative abundance of species belonging to the Firmicutes and Bacteroidetes phyla is related to plasma levels of bile acids in young adults.* Huiwen Xu, Francisco J. Osuna-Prieto, Lourdes Ortiz-Alvarez, Xinyu Di, Isabelle Kohler, Lucas Jurado-Fasoli, José Rubio-López, Julio Plaza-Díaz, Ramiro Vilchez-Vargas, Alexander Link, Angel Gil, Jonatan R. Ruiz, Patrick CN Rensen, Borja Martínez-Téllez (artículo mandado a revista).
- III. *Activating brown adipose tissue through exercise (ACTIBATE) in young adults: Rationale, design and methodology.* Guillermo Sánchez Delgado; Borja Martínez Téllez; Josune Olza; Aguilera CM; Labayen I; Ortega FB; Chillón P; Fernández-Reguera C; Alcántara JM, Martínez-Ávila WD; Muñoz-Hernández V; Acosta FM; Prados-Ruiz J; Amaro-Gahete FJ; Hidalgo-García L; Rodríguez L; Ruiz YA; Ramírez-Navarro A; Muros-de Fuentes MA; García-Rivero Y; Sánchez-Sánchez R; de Dios Beas Jiménez J; de Teresa C; Navarrete S; Lozano R; Esther Brea

Gómez; José Rubio López; Ruíz MR; Cano-Nieto A; Llamas-Elvira JM; José Antonio Jiménez Ríos; Gil A; Jonatan Ruiz Ruiz.

- IV. *Isquemia Intestinal Transitoria por espasmo aórtico*. Alejandro J. Pérez Alonso, José Rubio López, Carmen Pérez Duran, Patrizio Petrone. Cirugía Española 2015;30:112-118.
- V. *Adenomiomatosis de la vía biliar: incidencia en 10 años y revisión de la bibliografía*. Alejandro J. Pérez Alonso, Ángela Ximena Argote Camacho, José Rubio López, Patricio Petrone. Revista Colombiana de Cirugía 2015;30:112-18.

I. PUBLICACIONES NACIONALES

- I. Aneurisma gigante de la arteria esplénica con afectación pancreática. Gómez Sánchez J, de Castro Monedero P, José Rubio López, Álvarez Conde JL. RAPD Online. 2020;43(4):156-58.
- II. Gist rectal sincrónico a adenocarcinoma de colon, una asociación inusual. M Alcaide-Lucena, José Rubio López, M.Á. García-Martínez, M.S. Zurita-Saavedra, C. González-Callejas, P. De Castro-Monedero, B. Mirón Pozo. Julio 2019. Cirugía Andaluza 30(3):419:422
- III. Todani Ic cystic dilatation of the bile duct. Javier Gómez Sánchez, José Rubio López, Beatriz Pérez Cabrera, Benito Mirón Pozo. Rev Esp Enferm Dig. 2019 Feb;111(2):155-156.
- IV. Duodenectomía parcial como opción terapéutica de un tumor del estroma gastrointestinal duodenal múltiple, asociado a neurofibromatosis tipo 1. Antonio Palomeque Jiménez, José Rubio López, Beatriz Pérez Cabrera, José Antonio Jiménez Ríos. Gastroenterol Hepatol. 2017 Oct;40(8):534-536.

- V. Colecistitis aguda por *Listeria Monocytogenes* en paciente inmunocompetente. Antonio Palomeque Jiménez, José Rubio López, José Antonio Jiménez Ríos, Beatriz Pérez Cabrera. Gastroenterol Hepatol. 2017 Jan;40(1):31-33.

VI.

J. COMUNICACIONES INTERNACIONALES

- I. Intestinal obstruction secondary to renal polycystosis. A case report. Rubén Ortega Higuieruelo, José Rubio López, Raquel Cobos Cuesta et al., 19th European Congress of Trauma and Emergency Surgery. Valencia 2018.
- II. Obstrucción intestinal por enfermedad de Crohn endometriosis intestinal simultánea. Estefanía García Fernández, José Rubio López et al., 26 Jornadas de Proctología. Baiona 2018.
- III. Metástasis de adenocarcinoma de sigma en malla sintética de pared abdominal: a propósito de un caso y revisión de la literatura. Inmaculada Lendínez Romero, María Dolores Hernández García, José Rubio López et al., Jornadas Quirúrgicas Internacionales. Almería 2015
- IV. Oma hepático, una neoplasia primitiva de difícil diagnóstico. Francisco Navarro Freire, José Rubio López, Patricia Navarro Sánchez et al., Jornadas Quirúrgicas Internacionales. Almería 2015
- V. Colecistitis aguda por *Listeria Monocytógenes*: presentación de un caso y revisión de la literatura. José Rubio López, Antonio Palomeque Jiménez, Inmaculada Lendínez Romero et al., Jornadas Quirúrgicas Internacionales. Almería 2015
- VI. Tumoración en cabeza de páncreas debido a pancreatitis crónica de origen alcohólico con episodios de agudización. José Rubio López, Patricia

- Navarro Sánchez, Benito Mirón Pozo et al., Jornadas Quirúrgicas Internacionales. Almería 2015
- VII. Vólvulo de sigma gigante en paciente con estreñimiento crónico. José Rubio López, Antonio Palomeque Jiménez, Marisol Zurita Saavedra et al., Jornadas Quirúrgicas Internacionales. Almería 2015
- VIII. Hernia traumática del triángulo de Petit. Verónica Aranaz Ostáriz, Antonio Cózar Ibáñez, José Rubio López et al., Jornadas Quirúrgicas Internacionales. Almería 2014
- IX. Tumor desmoplásico de células redondas pequeñas peritoneal. Sandra Cecilio Alonso García, Antonio Palomeque Jiménez, José Rubio López et al., Jornadas Quirúrgicas Internacionales. Almería 2014
- X. Cirugía transanal mínimamente invasiva Tamis frente a Teo: diferencias, ventajas e inconvenientes de las variantes técnicas. José Rubio López, Ana Allegue Alonso, Benito Mirón Pozo et al., Jornadas Quirúrgicas Internacionales. Almería 2014
- XI. Manejo de la perforación colónica por endoscopia. Ángela Ximena Argote Camacho, Antonio Palomeque Jiménez, José Rubio López, Jesús García Rubio, José Antonio Jiménez Ríos. Jornadas Quirúrgicas Internacionales, Almería 2014.

K. COMUNICACIONES NACIONALES

- I. Implante de catéter de diálisis peritoneal en régimen de CMA: un método seguro durante la pandemia. Eva Antonaya Rubia, Carmen María Ruíz Marín, José Rubio López et al., IX Congreso Ibérico de Cirugía Mayor Ambulatoria 2021.
- II. Cirugía oncológica en Cirugía Mayor Ambulatoria: revisión de la bibliografía. Carmen María Ruíz Marín, José Rubio López, Rocío Molina Barea et al., IX Congreso Ibérico de Cirugía Mayor Ambulatoria 2021.
- III. Cirugía Mayor Ambulatoria: seguridad en tiempos de Covid. Carmen María Ruiz Marín, José Rubio López, Rocío Molina Barea et al., IX Congreso Ibérico de Cirugía Mayor Ambulatoria 2021.
- IV. Asociación inusual Gist Rectal sincrónico a adenocarcinoma de sigma. Miriam Alcaide Lucena, José Rubio López, Estefanía García Fernández et al., Reunión Nacional de Cirugía. Bilbao 2018.
- V. Adenopatías generalizadas en paciente añoso: la importancia de una buenas muestras. José Luis García-Fojeda, Javier Gómez Sánchez, José Rubio López et al., Congreso Nacional de la Sociedad Española de Medicina Interna. Madrid 2017.
- VI. Ileostomía virtual en el cáncer de recto. Inés Capitán del Río, José Rubio López, Benito Mirón Pozo et al., Reunión Nacional de Cirugía. Málaga 2017.
- VII. Hematoma retrorrectal como complicación de la terapia anticoagulante. Miriam Alcaide Lucena, José Rubio López, Benito Mirón Pozo et al., Reunión nacional de Coloproctología. Elche 2016.

- VIII. Duodenectomía parcial como tratamiento del Gist Múltiple de localización duodenal. Verónica Aranaz Ostáriz, Antonio Palomeque Jiménez, José Rubio López et al., Congreso Nacional de Cirugía 2015.
- IX. Gist gástrico: hematemesis en paciente con neurofibromatosis, un comportamiento infrecuente de la enfermedad. José Rubio López, Ana Patricia Martínez Domínguez, Carmen Pérez Durán. Congreso Nacional de Cirugía. Granada 2015.
- X. Traumatismo genital: una causa infrecuente de gangrena de Fournier. Ángela Ximena Argote Camacho, Carlos Garde Lecumberri, José Rubio López et al., Congreso Nacional de Cirugía. Granada 2015.

L. COMUNICACIONES REGIONALES

- I. Diverticulitis apendicular como etiología de abdomen agudo. A propósito de un caso. Eva Antonaya Rubia, José Rubio López, Carmen Cantero González et al., Congreso de la Asociación Andaluza de Cirujanos. Sevilla 2019.
- II. Tumores colorrectales sincrónicos de baja incidencia: a propósito de un caso. Miriam Alcaide Lucena, María Ángeles García Martínez, José Rubio López et al., Reunión de la Asociación Andaluza de Cirujanos. Málaga 2018.
- III. Porocarcinoma apocrino una rara y agresiva entidad. Presentación de un caso y revisión de la literatura. Javier Gómez Sánchez, José Rubio López, Juan Alfredo Ubiña Martínez et al., Congreso Andaluz de Cirugía. Málaga 2017.

- IV. Dilatación congénita de la vía biliar. Presentación en adulto de dilatación quística Todani IC. Javier Gómez Sánchez, José Rubio López, Juan Alfredo Ubiña Martínez et al., Congreso Andaluz de Cirugía. Málaga 2017.
- V. Disfagia progresiva en varón joven. Presentación de un caso de divertículo de Zenker. Javier Gómez Sánchez, José Rubio López, Miriam Alcaide Lucena et al., Congreso Andaluz de Cirugía. Málaga 2017.
- VI. Diagnóstico incidental de adenocarcinoma de ciego en el contexto de una eventración incarcerada. A propósito de un caso. Estefanía García Fernández, José Rubio López, Ana Lucía Romera López et al., Congreso Andaluz de Cirugía. Baeza 2016.
- VII. Miofibroblastoma epitelioides de mama masculina: presentación de un caso y revisión de la literatura. José Rubio López, Inmaculada Lendínez Romero, Carmen Pérez Durán et al., Congreso Andaluz de Cirugía. Málaga 2015.
- VIII. Testículo en ascensor como diagnóstico diferencial infrecuente de la hernia inguinal en el adulto. Inés Capitán del Río, José Rubio López, Carmen Pérez Durán et al., Congreso Andaluz de Cirugía. Málaga 2015.
- IX. Resolución mediante abordaje laparoscópico de las complicaciones de la banda gástrica. Esther Brea Gómez, José Rubio López, Benito Mirón Pozo et al., Congreso Andaluz de Cirugía. Málaga 2015.
- X. Perforación cecal secundaria a hernia inguinal izquierda con contenido sigmoideo. Esther Brea Gómez, Antonio Palomeque Jiménez, José Rubio López et al. Congreso Andaluz de Cirugía. Málaga 2015.

- XI. Cáncer de glándula de paratiroides como causa de hiperparatiroidismo primario. Presentación de un caso y revisión de la literatura. *José Rubio López*, Rocío Molina Barea, Tania Gallart Aragón et al., Congreso Andaluz de Cirugía. Málaga 2013.
- XII. Dificultad en el diagnóstico diferencial de neumomediastino espontáneo. *José Rubio López*, Rocío Molina Barea, Alejandro J. Pérez Alonso et al., Congreso Andaluz de Cirugía. Málaga 2013.
- XIII. Hernia de Petit primaria en el adulto. Descripción de un caso y revisión de la literatura. *José Rubio López*, Rocío Molina Barea, Carmen Pérez Durán et al., Congreso Andaluz de Cirugía. Málaga 2013.
- XIV. Adenomas paratiroides intratorácicos. Alejandro J. Pérez Alonso, Esther Brea Gómez, *José Rubio López*. Congreso Andaluz de Cirugía. Málaga 2013.

M. CURSOS

- VI Curso de Tratamiento Nutricional en Paciente Quirúrgico. 2019
- 27th International Congress of the European Association for Endoscopic surgery. 2019
- V Jornada Científica Temas de actualidad en Cáncer Digestivo: cáncer de páncreas y vía biliar. 2019
- Actualización de las bases de coloproctología Abaco 5. Actualización en cáncer de recto. 2018
- Actualización de las bases de coloproctología Abaco 5. Síndrome de poliposis intestinal. 2018

- Actualización de las bases de coloproctología Abaco 5. Fuga anastomótica en cirugía colorrectal. 2018
- Compendio de Cursos de Urgencia de la Asociación Española de Cirujanos. Complicaciones urgentes en Cirugía General. 2017
- Compendio de Cursos de Urgencia de la Asociación Española de Cirujanos. Intervenciones urgentes en Cirugía General. 2017
- Compendio de Cursos de Urgencia de la Asociación Española de Cirujanos. Generalidades para la urgencia en Cirugía General. 2017
- Compendio de Cursos de Urgencia de la Asociación Española de Cirujanos. Recursos en las Urgencias en Cirugía general. 2017
-

N. Docencia

- Tutor Clínico del Rotatorio de Cirugía. Universidad de Granada. 2021
- Tutor Clínico del Rotatorio de Cirugía. Universidad de Córdoba. 2021
- Tutor Clínico del Rotatorio de Cirugía. Universidad de Córdoba. 2020
- Tutor Clínico del Rotatorio de Cirugía. Universidad de Granada. 2020
- Tutor Clínico del Rotatorio de Cirugía. Universidad de Córdoba. 2019
- Tutor Clínico del Rotatorio de Cirugía. Universidad de Granada. 2016
- Colaborador docente en el Plan Tutorial de Prácticas Clínicas de la Facultad de Medicina. Universidad de Granada. 2015
- Colaborador docente en el Plan Tutorial de Prácticas Clínicas de la Facultad de Medicina. Universidad de Granada. 2014
- Colaborador docente en el Plan Tutorial de Prácticas Clínicas de la Facultad de Medicina. Universidad de Granada. 2013

- Colaborador docente en el Plan Tutorial de Prácticas Clínicas de la Facultad de Medicina. Universidad de Granada. 2012

O. Libros y Capítulos de Libro

- Adenopatías generalizadas en paciente añoso: la importancia de una buena muestra. ISBN:978-84-697-7820. Capítulo de libro. 2017
- Fundamentos de la patología del suelo pélvico. ISBN: 978-84-18772-24-5 . Autor de libro.

P. OTROS

Premio Real Academia de Medicina y Cirugía de Andalucía Oriental: Eficacia y resultados de una nueva técnica para la escisión de tumores rectales en estadios precoces. Cirugía transanal mínimamente invasiva. Colegio Médicos de Málaga. 2016.

9. AGRADECIMIENTOS
