



Universitat Autònoma de Barcelona

**ADVERTIMENT.** L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  [http://cat.creativecommons.org/?page\\_id=184](http://cat.creativecommons.org/?page_id=184)

**ADVERTENCIA.** El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

**WARNING.** The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>



**CONSORCI SANITARI  
DEL MARESME**

**UAB**

**Universitat Autònoma  
de Barcelona**



# **Gana, sacietat i resposta integrada hormonal i motora del tracte gastrointestinal en l'ancià fràgil i l'obès mòrbid.**

**Tesi presentada per Esther Mans Muntwyler  
per a optar al grau de Doctora en Cirurgia.**

**HOSPITAL DE MATARÓ  
Servei de Cirurgia General i Digestiva**

**FACULTAT DE MEDICINA  
Programa de Doctorat en Cirurgia  
Departament de Cirurgia  
Universitat Autònoma de Barcelona  
2015**

**Tesi Doctoral dirigida pels Doctors:**

**Mateu Serra Prat  
Pere Clavé i Civit  
Xavier Rius i Cornadó**





**CONSORCI SANITARI  
DEL MARESME**



**PERE CLAVÉ i CIVIT**, Director Acadèmic, de Recerca i Innovació de l'Hospital de Mataró, Consorci Sanitari del Maresme i Professor associat del Departament de Cirurgia de la Universitat Autònoma de Barcelona; **MATEU SERRA i PRAT**, Metge epidemiòleg, Unitat de Suport a la Recerca i, **XAVIER RIUS i CORNADÓ**, Catedràtic del Departament de Cirurgia de la Universitat Autònoma de Barcelona

FEM CONSTAR

Que la memòria titulada "*Gana, sacietat i resposta integrada hormonal i motora del tracte gastrointestinal en l'ancià fràgil i l'obès mòrbid*" presentada per **ESTER MANS MUNTWYLER** per optar al grau de Doctor, portada a terme en el marc del Grup d'Investigació CIBEREHD-CSdM-UAB, s'ha realitzat sota la nostra direcció i, en considerar-la conclosa, autoritzem la seva presentació per a ésser jutjada pel Tribunal corresponent.

I per a que consti a tots efectes signem la present.

Hospital de Mataró, Novembre de 2015.

**Dr. Pere Clavé i Civit, MD, PhD.**  
Director de la Tesi

**Dr. Mateu Serra i Prat, PhD.**  
Director de la Tesi

**Prof. D. Xavier Rius i Cornadó MD, PhD.**  
Director de la Tesi



## **Agraïments**

---

A l'equip de geriatría de l'Hospital de Mataró i al Dr. Hinojosa per facilitar-nos la feina i ajudar-nos a localitzar ancians voluntaris per a l'estudi.

A l'equip d'infermeria que ha col·laborat amb nosaltres al llarg de l'estudi, Carles Mercader, Esther Aguirre, Lola Mayorga, Cristina Sánchez i, sobretot, a en Lluís Mundet per fer-me sempre un lloc al laboratori.

Per en Xavier Boquet del Servei de Laboratori de l'Hospital de Mataró i la Roser Casamitjana de l'Hospital Clínic.

A la Marta Pulido, la Jane Lewis i l'Ailish Maher pel seu ajut en l'edició i revisió dels manuscrits en anglès.

A la Cristina Mas, per la seva inestimable col·laboració, sempre amb un somriure, font de calma i tranquil·litat.

A l'Elisabet Palomera, pel seu suport, amb qui he retrobat l'estadística, la sintaxi del SPSS, les notes als marges dels pdf, vaja, que sense ella encara estaria perduda entre milers de dades.

A l'Omar i en Daniel pel seu inestimable ajut amb el bany d'òrgans, la teoria, calcular concentracions, etc. També a la Irene, la Clàudia i l'Àlicia, per preparar, penjar, banyar, comptar, és a dir, per la quantitat de coses que he après amb tots ells al laboratori. A en Jakub i la Diana, per les disquisicions i la ciència. Però per sobre de tot, a tots ells, pel *savoir faire* i el bon rotllo.

A en Xavier Suñol, el meu cap de servei, per fer un gran equip i haver-me donat suport amb temps i paciència.

A en Mateu Serra per tot, per ser-hi, per treballar en i amb mi, per la seva calma i confiança.

A en Pere Clavé per resistir i no tirar mai la tovallola, per les idees inacabables i per preguntar-me sempre per què, quan i com.

Sempre he reservat el més dolç per al final. Als meus fills Roger i Carlota i al meu home, l'Ernest, als qui espero retornar amb escreix el temps que els dec i la infinita paciència que han tingut amb mi. I, evidentment, als meus pares, Antoni i Irene, per que ells són el meu origen i han estat sempre al meu costat.

L'estudi s'ha pogut realitzar gràcies a la Beca de la Ministeri Espanyol de Ciència i Innovació, Fons d'Investigació Sanitària (PI 08/0478, INT 10/228), i l'Agència de Gestió d'Ajuts Universitaris i de Recerca (2009 SGR 708). Ciberehd té suport per part de l'Instituto de Salud Carlos III, Barcelona, Spain.

## **Llistat d'abreviatures**

---

<b>AF</b> .....	Ancians Fràgils
<b>AR</b> .....	Ancians Robustos
<b>BMI</b> .....	Body Mass Index
<b>CCK</b> .....	Colecistoquinina
<b>DM2</b> .....	Diabetis Mellitus tipus 2
<b>EVA</b> .....	Escala Analògica Visual
<b>GI</b> .....	Gastrointestinal
<b>GLM</b> .....	General Linear Model
<b>GLP-1</b> .....	Glucagon-like protein-1
<b>GV</b> .....	Gastrectomia Vertical
<b>HTA</b> .....	Hipertensió arterial
<b>IMC</b> .....	Index de Massa Corporal
<b>MLG</b> .....	Model General Lineal
<b>MO</b> .....	Morbidly Obese / Morbid Obesity
<b>OM</b> .....	Obesitat mòrbida / obès mòrbid
<b>OCTT</b> .....	Orocecal Transit Time
<b>RGE</b> .....	Reflux Gastroesofàgic
<b>SAHS</b> .....	Síndrome Apnea Hipopnea del Son
<b>SG</b> .....	Sleeve gastrectomy
<b>VAS</b> .....	Visual Analogic Scale
<b>TTOC</b> .....	Temsp de Trànsit Oro-cecal





## **Resum complet de la Tesi Doctoral**

L'objectiu d'aquesta tesi ha estat avaluar la gana i la sacietat en poblacions ben diferenciades pel seu fenotip i comparar-les amb un grup control. Aquesta avaluació s'ha realitzat mitjançant una anàlisi de factors hormonals perifèrics (ghrelina, colecistoquinina i GLP-1) i de la motilitat gastrointestinal que interactuen en la regulació de la gana i la sacietat. Hem estudiat el buidament gàstric i vesicular, així com el temps de trànsit oro-cecal (TTOC) mitjançant ecografia antral i vesicular, temps d'absorció del paracetamol (buidament gàstric) i test d'alè amb lactulosa (TTOC).

El **capítol 1** estudia "l'anorèxia de l'ancià" i mostra que els ancians, especialment els ancians fràgils, presenten menys gana en dejú, una recuperació més lenta de la gana post ingesta i canvis en la resposta de la CCK i la motilitat gàstrica: en dejú els ancians tenen un àrea antral més gran i una disminució de la seva capacitat de distensió. A nivell hormonal, els ancians tenen un pic de CCK més elevat que els joves, sense diferències significatives atribuïbles a la fragilitat, i els valors de GLP-1 són més alts en el període inicial amb una davallada progressiva postprandial. En els ancians fràgils hi ha, a més, una acceleració del buidament gàstric per als líquids. La fisiopatologia de l'anorèxia de l'ancià podria estar relacionada amb una elevació en les concentracions d'hormones anorexígenes i alteracions en la motilitat gàstrica, que afavoreixen una disminució en la gana. El nostre estudi mostra la severitat clínica associada a la fragilitat ja que els ancians fràgils estan en risc de malnutrició, tenen una capacitat funcional disminuïda i un major risc d'institucionalització, comorbiditats i mort.

En el **capítol 2** s'ha observat que els individus obesos mòrbids mostren una gana, sacietat, CCK i buidaments gàstric i vesicular similars als del grup control no obès, però menor concentració de ghrelina en dejú i postprandial i menor GLP-1 postprandial. Els individus després de la gastrectomia vertical tenen menys gana, menys ghrelina, més sacietat, un buidament gàstric més accelerat i pics més elevats de CCK i GLP-1 comparat amb els no obesos. En canvi, comparats amb els obesos mòrbids, tenen més sacietat en dejú i en el període postprandial inicial, menys ghrelina i majors pics postprandials de CCK i GLP-1. Així doncs, la gastrectomia vertical aconsegueix una davallada en el pes dels pacients mitjançant uns canvis de motilitat i hormonals que no mimetitzen l'individu "normal", però que aconsegueixen l'objectiu de la cirurgia: disminuir la gana, augmentar la sacietat i perdre pes.

En l'**annex 2** hem avaluat el TTOC objectivant que tant els ancians fràgils com els individus post-gastrectomia vertical tenen un trànsit accelerat, sense poder descartar però, que aquest sigui degut a l'acceleració del buidament gàstric que també mostren els dos.

En l'**annex 3** hem estudiat el patró de motilitat de fundus, antre i jejú d'individus obesos mòrbids. El fundus i l'intestí prim semblen tenir un únic marcapassos, mentre que l'antre en mostra dos. En quant a l'efecte de les hormones en el teixit, la ghrelina va augmentar l'AUC mitjà de les tires antrals, la CCK va augmentar l'AUC mitjà de tires de antre i fundus, i el GLP-1 va augmentar l'AUC mitjana en tires del fundus.

## **Whole summary of the Doctoral Thesis**

The aim of this thesis was to evaluate the appetite and satiation in distinct populations differentiated by their phenotype and to compare them to a control group. This evaluation was performed by analyzing various factors that interact in the regulation of appetite and satiation such as peripheral hormones (ghrelin, cholecystokinin and GLP-1) and gastrointestinal motility. We studied gastric and gallbladder emptying and oro-cecal transit time (OCTT) by means of antral and gallbladder ultrasound, the paracetamol absorption test (gastric emptying) and the lactulose breath test (OCTT).

**Chapter 1** of this thesis explores "the anorexia of aging" and shows that the elderly, especially the frail elderly, have less appetite at fast and a slower recovery after intake, changes in CCK gastric motility responses such as larger antral area at fast and a decrease in gastric antral distension. The elderly have a higher CCK peak compared to young people, with no significant differences attributable to frailty and GLP-1 values are higher in the initial postprandial period with a gradual posterior decrease. In the frail elderly, it seems they have also accelerated gastric emptying for liquids. The pathophysiology of anorexia in the elderly could be related to elevated concentrations of anorectic hormones and alterations in gastric motility, which favors a lower hunger sensation. Our study shows the clinical severity associated with frailty, as our frail elderly individuals are at risk of malnutrition, have a decreased functional capacity and increased risk of institutionalization, comorbidities and death.

**In Chapter 2** of this thesis it has been observed that morbidly obese individuals show similar appetite, satiation, CCK and similar gastric and gallbladder emptying compared to the non-obese control group, but lower ghrelin and postprandial GLP-1 concentrations. Individuals after sleeve gastrectomy are less hungry, have less ghrelin, show a faster gastric emptying and the highest peaks of CCK and GLP-1 compared to the non-obese. However, compared with morbidly obese, they feel more satiated at fast and during the first 90 minutes after intake, and also have less ghrelin and higher CCK and GLP-1 peaks.. Thus, sleeve gastrectomy may decrease patient's weight through motility and hormonal changes that do not mimic the "normal" individual, but in other ways achieves the surgery's goal: decreased appetite, increased satiation and postoperative weight loss.

In **Appendix 2** we evaluated the oro-cecal transit time objectifying that both the frail elderly group and the sleeve gastrectomy group have an accelerated transit. However, we are unable to rule out that this is due to the acceleration of gastric emptying both groups also show.

In **Appendix 3** we studied the motility pattern of the fundus, antrum and jejunum from morbidly obese individuals. Fundus and small intestine appear to have one pacemaker, whereas antrum shows two pacemakers. Regarding the effect of hormones in the tissue, ghrelin increased the AUC in antral strips, CCK increased the AUC in strips of antrum and fundus, and GLP-1 increased the average AUC of fundus strips.

## **Publicacions**

---

### Els estudis d'aquesta tesi han estat publicats en:

- Serra-Prat M, Mans E, Palomera E, Clavé P. Gastrointestinal peptides, gastrointestinal motility, and anorèxia of aging in frail elderly persons. *Neurogastroenterol Motil* 2013 April;25(4):2991-e245. doi: 10.1111/nmo.12055.
- Mans E, Serra-Prat M, Palomera E, Suñol X, Clavé P. Sleeve gastrectomy effects on hunger, satiation, and gastrointestinal hormone and motility responses after a liquid meal test. *Am J Clin Nutr* 2015 Sept;102(3):540-7. doi: 10.3945/ajcn.114.104307. Epub 2015 Jul 22.

### Els estudis d'aquesta tesi han estat presentats en els següents congressos:

- Comunicació oral nacional (O-162): *Alteraciones de la motilidad gastrointestinal asociadas a la anorexia del anciano*. E. Mans, M Serra-Prat, E. Aguirre, E Palomera, P. Clavé. XXVIII Congreso Nacional de Cirugía, Madrid, 9-11 de Noviembre de 2010,.
- Comunicació oral nacional (O4): *Alteracions de la motilitat gastrointestinal i de l'eix hormonal implicades en el control de la gana associades a l'anorèxia de l'ancià*. Mans Muntwyler E, Serra-Prat M, Palomera-Fanegas E, Suñol Sala X, Clavé Civit P. XXI Congrés de la Societat Catalana de Digestologia; en l'Auditori Palau de Congressos de Girona, a 26-28 de Gener de 2012,
- Comunicació oral nacional: *Efecte de la obesitat i la cirurgia bariàtrica restrictiva en la gana, la sacietat i la fisiologia gastrointestinal*. E Mans Muntwyler, E Palomera Fanegas, M Serra-Prat, X Suñol Sala i P Clavé Civit. XXII Congrés de la Societat Catalana de Digestologia, Palau de Congressos de Lleida, a 30 de Gener – 1 de Febrer de 2014.
- Presentació poster internacional (PP071-SUN): Menció d'*Outstanding abstract: Influence of gastrointestinal peptides and gastrointestinal motility on anorexia of*

*ageing in frail elderly persons*. Mans E, Serra M, Palomera E, Clavé P. **ESPEN** 2012 (European Society for Clinical Nutrition and Metabolism), Barcelona, Setembre 2012. doi: 10.1016/S1744-1161(12)70123-0.

- Comunicació oral nacional. *Alteracions de la motilitat gastrointestinal i de l'eix hormonal implicats en el control de la gana associades a l'anorèxia de l'ancià*. E Mans, M Serra-Prat, E Palomera, P Clavé, X Suñol. IX Jornada d'Actualitzacions en Nutrició. Tractaments coadjuvans del suport nutricional. Hospital de Mataró, 16/05/2013.
- Comunicació oral nacional: *Efecte de la obesitat i la cirurgia bariàtrica restrictiva en la gana, la sacietat i la fisiologia gastrointestinal*. E Mans Muntwyler, E Palomera Fanegas, M Serra-Prat, P Clavé Civit i X Suñol Sala. XVI Jornada: La Recerca Sanitària en el Maresme; a Calella, el 13/06/2013.
- Presentació pòster: *Estudi in vitro del patró motor gàstric i intestinal en la obesitat mòrbida. Resposta a colecistoquinina i ghrelina*. E Mans, O Ortega, J Rychter, M Serra-Prat, X Suñol i P Clavé. XVII Jornada. La Recerca Sanitària en el Maresme. Arenys de Mar, 5 de Juny de 2014.

Els estudis d'aquesta tesi han estat rebut els següents premis:

- Premi a la millor publicació científica de les Jornades Sanitàries del Maresme. Calella, 13 de Juny de 2013.
- Premi al millor treball de recerca científica en l'àmbit hospitalari presentat en la XVI Jornada de Recerca Sanitària en la comarca del Maresme: "*Efecte de la obesitat i la cirurgia bariàtrica restrictiva en la gana, la sacietat i la fisiologia gastrointestinal*". Calella, 13 de juny de 2013.

# ÍNDEX

---

<b>INTRODUCCIÓ</b> .....	<b>19</b>
1. Definició de gana i sacietat.....	19
2. Alteracions de la gana i la sacietat. Trastorns clínics associats.....	21
2.1. Anorèxia de l'ancià.....	21
2.1.1. Prevalença de l'anorèxia de l'ancià.....	21
2.1.2. Anorèxia, desnutrició i fragilitat. Causes i conseqüències.....	21
2.2. Hiperorèxia i obesitat.....	25
2.2.1. Prevalença de la obesitat mòrbida.....	25
2.2.2. Hiperorèxia i obesitat mòrbida. Causes i conseqüències.....	26
2.2.3. Comorbiditats associades a la obesitat mòrbida.....	28
3. Fisiologia de la gana i la sacietat.....	31
3.1. Factors centrals.....	31
3.2. Factors perifèrics hormonals i mecànics.....	35
3.2.1. Hormonals d'origen gastrointestinal.....	35
Ghrelina.....	36
CCK.....	38
GLP-1.....	39
3.2.2. Hormonals d'origen no gastrointestinal:.....	41
Leptina.....	41
3.2.3. Mecànics gastrointestinals. Motilitat del tracte gastrointestinal.....	43
3.2.3.1. Motilitat gàstrica.....	45
Buidament gàstric.....	48
3.2.3.2. Motilitat i trànsit intestinal.....	51
3.2.3.3. Buidament vesicular.....	53
4. Cirurgia bariàtrica. Gastrectomia vertical per laparoscòpia o <i>laparoscopic sleeve</i> <i>gastrectomy</i> .....	55
5. Justificació de la tesi.....	59
<b>HIPÒTESI:</b> .....	<b>61</b>
<b>OBJECTIUS:</b> .....	<b>63</b>

**CAPÍTOL 1..... 67**

***Gastrointestinal peptides, gastrointestinal motility and anorexia of aging in frail elderly persons***

Abstract.....	67
1. Introduction .....	68
2. Subjects and methods .....	69
Participants .....	69
Experimental Design .....	69
Measurements .....	70
Statistical Analysis .....	72
3. Results .....	73
3.1. Demographics, Health and Nutritional Status .....	73
3.2. Hunger Scores .....	75
3.3. Fasting Leptin .....	75
3.4. Postprandial Gastrointestinal Hormone and Glucose Response .....	76
Ghrelin .....	76
CCK .....	76
GLP-1 .....	76
Glucose and Insulin .....	78
3.5. Postprandial Gastrointestinal Motility .....	79
Gastric Motility .....	79
Gallbladder Motility .....	80
OCTT .....	80
4. Discussion.....	82

**CAPÍTOL 2..... 89**

***Sleeve gastrectomy effects on hunger, satiation and gastrointestinal hormone and motility responses after a liquid meal test***

Abstract.....	89
1. Introduction .....	90
2. Patients and Methods.....	91
Measurements .....	92
Statistical analyses .....	93
3. Results .....	95
3.1. Participant clinical characteristics.....	95

3.2. Hunger and satiation.....	95
3.3. Gastric and gallbladder motility.....	97
3.4. Gastrointestinal peptides.....	100
3.5. Glucose homeostasis.....	100
4. Discussion.....	102

**ANNEX 1..... 109**

***Mètodes de mesura del trànsit gastrointestinal i vesicular.***

1. Motilitat vesicular mesurada per ecografia.....	109
2. Buidament gàstric amb ecografia de l'antre gàstric.....	111
3. Buidament gàstric amb Test d'absorció del paracetamol.....	113

**ANNEX 2..... 117**

***Resultats test alè amb lactulosa per l'estudi del trànsit oro-cecal***

1. Introducció:.....	118
2. Objectius.....	119
3. Metodologia.....	119
Població a estudi.....	119
Disseny experimental.....	119
Estudi estadístic.....	120
Tècniques d'estudi del trànsit intestinal.....	120
4. Resultats.....	122
4.1. Temps de positivació del trànsit oro-cecal.....	122
4.2. Corbes del test d'alè amb lactulosa.....	124
4.3. Percentatge de no responedors i de sobrecreixement.....	125
5. Discussió:.....	126

**ANNEX 3..... 131**

***In vitro gastrointestinal motor patterns of morbidly obese patients***

1. Introduction:.....	132
Peripheral hormones controlling gastrointestinal motility.....	133
2. Methods.....	134
Tissue collection and dissection.....	134
Tension recordings and dose response experiments.....	137
3. Results.....	138



3.1. Representative tracings of spontaneous motility .....	138
3.2. Effect of peptides on spontaneous motility.....	139
3.2.1. Effect of Ghrelin.....	140
3.2.2. Effect of CCK.....	142
3.2.3. Effect of GLP-1 .....	144
<b>DISCUSSIÓ GENERAL .....</b>	<b>149</b>
1. Gana i sacietat.....	155
2. Motilitat del tracte GI. ....	157
2.1. Buidament gàstric .....	157
2.2. Buidament vesicular, CCK i mecanismes de control. ....	158
2.3. Trànsit intestinal .....	160
2.4. Valoració de l'efecte motor in vitro de les hormones gastrointestinals.....	162
3. Resposta hormonal a la ingesta .....	165
3.1. Ghrelina .....	165
3.2. CCK .....	167
3.3. GLP-1.....	167
3.4. Homeòstasi de la glicèmia. ....	168
<b>CONCLUSIONS .....</b>	<b>173</b>
<b>BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>177</b>
<b>ANNEX 4 .....</b>	<b>195</b>
<i>Article 1. Gastrointestinal peptides, gastrointestinal motility and anorexia of aging in frail elderly persons.</i>	
<i>Article 2. Sleeve gastrectomy effects on hunger, satiation and gastrointestinal hormone and motility responses after a liquid meal test</i>	

# **INTRODUCCIÓ**



## **INTRODUCCIÓ**

### **1. Definició de gana i sacietat**

La gana i la sacietat són dues sensacions subjectives que determinen el comportament de l'individu enfront del menjar, de manera que controlen la ingesta calòrica que es realitza en cada àpat.

La gana és la sensació de discomfort o debilitat causada per la manca de menjar, aparellada amb el desig de menjar. Aquesta sensació subjectiva pot ésser confosa amb altra simptomatologia, però és possible aprendre a identificar-la en el context d'una davallada de la glucosa en sang (1). La gana està influïda per una sèrie de senyals perifèrics que canvien en resposta a la ingesta calòrica o a la privació de menjar. Aquests senyals, que actuen a nivell cerebral alterant les sensacions de gana o plenitud per a dirigir el començament o finalització de la ingesta (2), poden també venir determinats per canvis o modificacions en el buidament gàstric o les secrecions digestives (3,4).

D'altra banda, la sacietat, definida com a sensació de plenitud postprandial, pot ser entesa de manera satisfactòria, o bé com a malestar després de l'àpat. (5).

Les alteracions límit en les percepcions de la gana i la sacietat poden conduir a dues situacions oposades com són l'anorèxia i la hiperorèxia. Ambdues poden conduir, en casos extrems, a un perfil patològic característic i de gran rellevància clínica: l'anorèxia de l'ancià i la obesitat mòrbida. Aquests dos perfils clínics s'associen a d'altres comorbiditats i a major mortalitat en els individus que les pateixen.

L'objectiu general d'aquesta Tesi Doctoral és aprofundir en els mecanismes perifèrics que poden participar en la regulació de la gana i la sacietat: les alteracions de la motilitat digestiva i les alteracions de l'alliberació dels pèptids gastrointestinals.



## 2. Alteracions de la gana i la sacietat. Trastorns clínics associats.

### 2.1. Anorèxia de l'ancià.

#### 2.1.1. Prevalença de l'anorèxia de l'ancià.

La gana i la ingesta disminueixen en l'envelliment normal. A la pèrdua fisiològica de la gana en la vellesa se l'ha anomenat anorèxia de l'ancià (6). L'anorèxia de l'ancià pot afectar un 15-20% dels ancians (7) i, fins al 30-65% dels ancians institucionalitzats (8).

Les causes relacionades amb l'aparició de l'anorèxia de l'ancià són múltiples i dispars, incloent tant factors socials, com psicològics (depressió), farmacològics i orgànics, veure taula 1. (6,9,10).

Dades prèvies del nostre grup (11) mostren que en el nostre entorn l'anorèxia és una condició clínica molt prevalent en les persones ancianes no institucionalitzades (37% dones i 18% homes) i que s'associa a un major risc de desnutrició, menor força muscular i pitjor capacitat funcional.

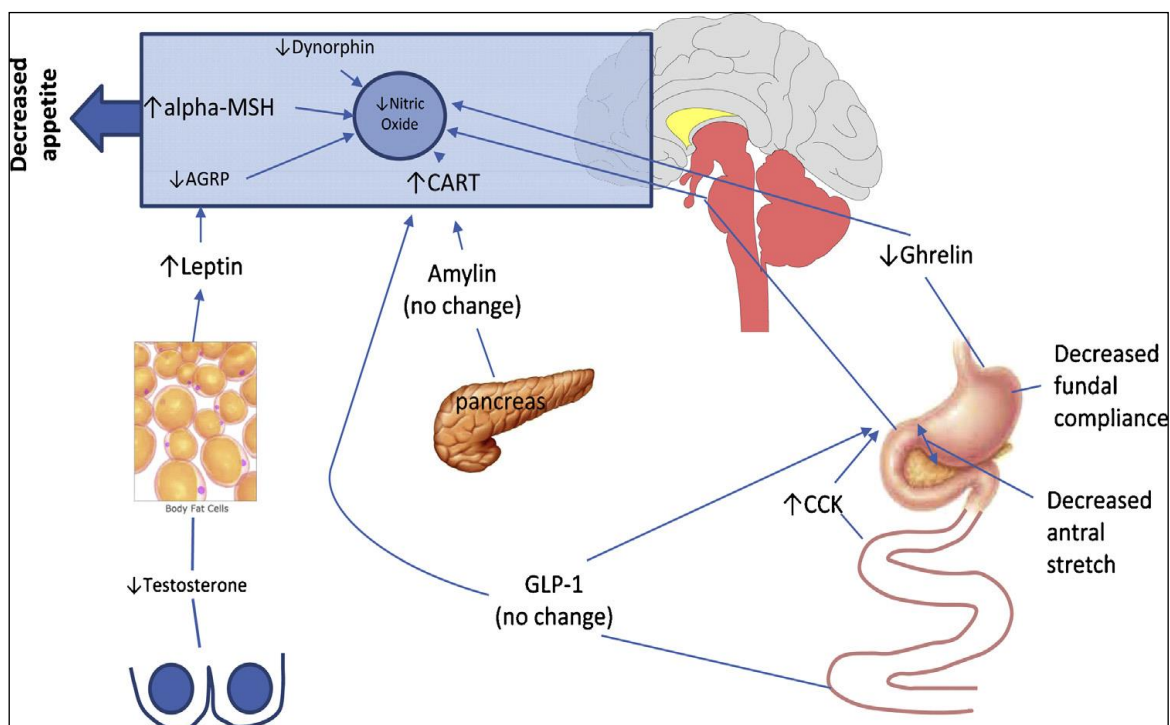
**Taula 1.** Causes principals de l'anorèxia de l'ancià (Morley et al 2010).

Dèficit de Zinc	Hipercalcèmia
Medicació	Malaltia d'Addison
Depressió	Càncer
Trastorns paranoics "late-life"	Colelitiasi
Problemes orals	Demència
Problemes deglució	Alcoholisme
Helicobacter pylori	Malaltia pulmonar obstructiva crònica
Elevació citoquines	Insuficiència cardíaca congestiva

#### 2.1.2. Anorèxia, desnutrició i fragilitat. Causes i conseqüències.

L'anorèxia té un origen multifactorial en el que es combinen factors socials, de l'entorn i mèdics. L'anorèxia fisiològica està envoltada de múltiples petits canvis com són el gust i

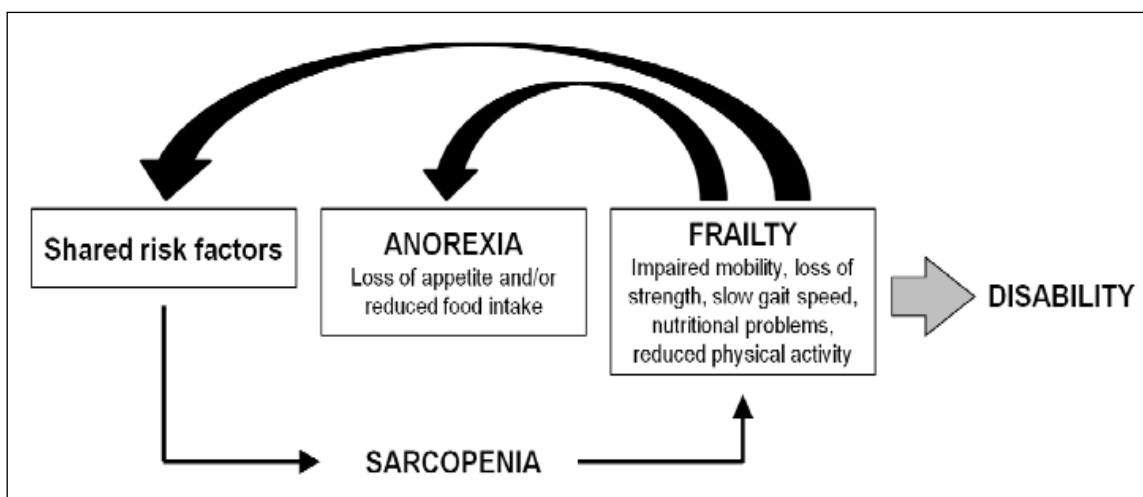
L'olfacte, alteracions del sistema nerviós autònom que de forma retroactiva envien informació cap al sistema nerviós central, on també hi ha canvis en resposta a la ingesta (12). La depressió és una altra important causa d'anorèxia relacionada amb la malaltia en gent gran (13). L'anorèxia de l'ancià es relaciona amb alteracions en els pèptids que influeixen en la gana i la sacietat, però també en alteracions pròpies de la vellesa a nivell de la motilitat gastrointestinal (14).



**Figura 1.** Rol dels pèptids en la modulació de l'anorèxia de l'ancià. (Morley 2015)

Els pèptids juguen un paper important en la regulació perifèrica i central de l'anorèxia de l'ancià (figura 1). Entre ells, els pèptids gastrointestinals també es veuen modificats, sembla que afavorint l'efecte d'hormones anorexígenes (10,15). Entre els pèptids d'origen no gastrointestinal, en homes, el descens dels nivells de testosterona participa de forma important en la fisiopatologia de l'anorèxia. Les citocines inflamatòries també actuen com a mediadors de l'anorèxia patològica i la sarcopènia (16,17). El tracte gastrointestinal també pateix alteracions amb l'envelliment, però a vegades és difícil diferenciar-les de quadres patològics d'identitat pròpia.

L'anorèxia de l'ancià s'ha relacionat amb el desenvolupament i la progressió de malalties cròniques que afecten els ancians de forma habitual, així com amb un augment de la seva mortalitat (18). La pèrdua de pes en l'anorèxia és un component principal de la fragilitat de l'ancià, altament predictiu de mortalitat futura. Dins d'aquesta pèrdua de pes, és característic un augment relatiu de l'adipositat junt amb una disminució de la massa muscular, el que s'anomena obesitat sarcopènica, que conduirà a una reducció en la capacitat de realitzar activitat física. La sarcopènia és una síndrome geriàtrica caracteritzada per la pèrdua progressiva de massa muscular i força, amb el risc d'aparició d'efectes indesitjables com són una disfunció física, mala qualitat de vida i mort (19). La disminució de la massa muscular i de la força estan implicats en el desenvolupament de la fragilitat. Més encara, la sarcopènia juga un important paper etiològic en la fragilitat i explica molts aspectes de l'estat de fragilitat en sí mateix. Ambdues síndromes es solapen (20). La relació sarcopènia - anorèxia és independent de la presència d'altres factors com la malnutrició (21). També hi ha una clara relació entre una baixa ingesta calòrica i proteica i l'aparició de fragilitat en ancians (22).



**Figura 2.** La interacció entre anorèxia de l'ancià, sarcopènia i fragilitat. (Martone et al; 2013 Nutrients).



La **fragilitat** és una síndrome geriàtrica (16) caracteritzada per la reducció de la reserva funcional i una capacitat disminuïda de mantenir l'homeòstasi, el que porta a una gran vulnerabilitat enfront problemes de salut i un major risc de mortalitat (23). *Fried et al* van definir l'ancià fràgil quan complia almenys tres dels cinc paràmetres següents:

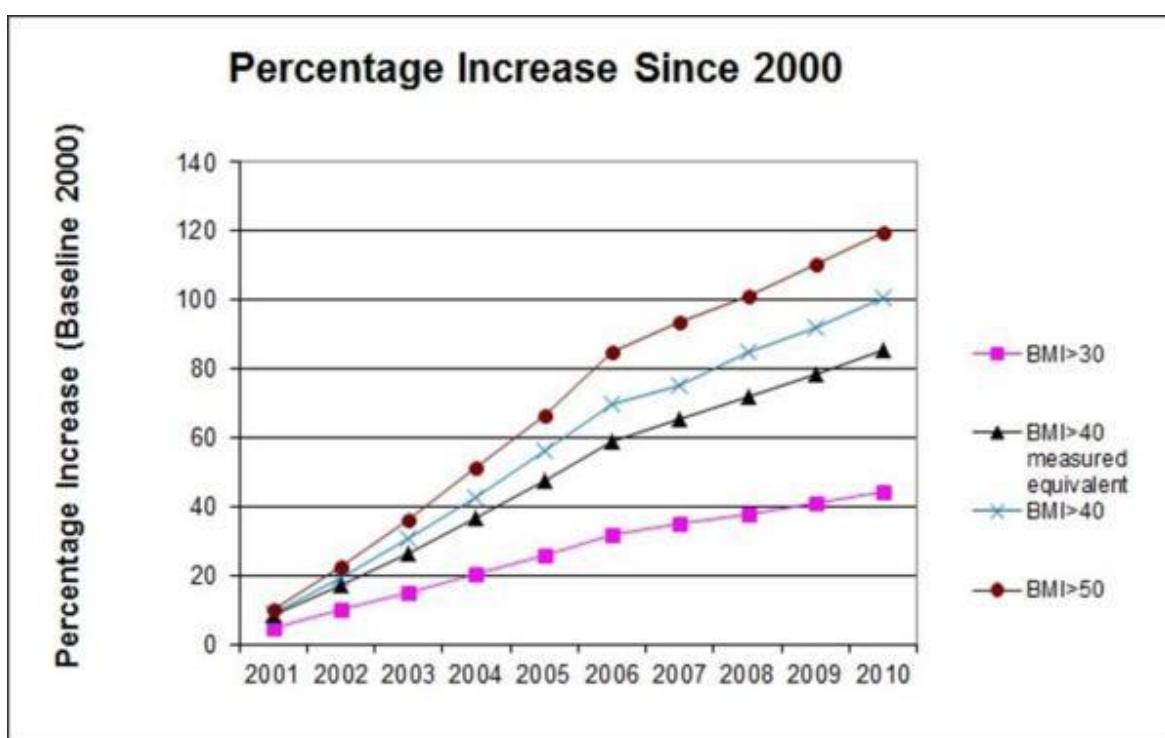
1. disminució força de la mà
2. fatiga subjectiva,
3. pèrdua de pes no intencionada d' almenys 4,5Kg en l'últim any,
4. reducció en l'activitat física i,
5. velocitat de marxa lenta, 0,75 m/s.

Donada la gran interconnexió existent entre pèrdua de pes, sarcopènia i fragilitat i, que l'anorèxia de l'ancià és un predictor independent de pobre qualitat de vida, morbiditat i mortalitat en l'edat avançada, un dels principals objectius en el maneig de l'envelliment i la fragilitat és optimitzar l'estat nutricional en els ancians (7).

## 2.2. Hiperorèxia i obesitat

### 2.2.1. Prevalença de la obesitat mòrbida

En els últims deu anys, la proporció de població amb sobrepès ha augmentat de forma considerable a la majoria dels Estats Membres de la Unió Europea. Actualment, més de la meitat de la població europea té sobrepès o obesitat. D'entre els 19 estats dels que es disposa d'informació a l'Eurostat, la proporció d'adults amb sobrepès i obesitat variava els anys 2008/09 entre el 36.9% i 56.7% en dones i, entre el 51% i 69.3% en homes. Si seguíssim aquesta tendència a l'alça de la prevalença de sobrepès i obesitat, l'any 2040 la totalitat de la població europea tindria sobrepès ([http://www.cdc.gov/nchs/data/series/sr\\_10/sr10\\_249.pdf](http://www.cdc.gov/nchs/data/series/sr_10/sr10_249.pdf)).



**Figura 3.** Prevalença dels diferents nivells d'obesitat entre els adults dels Estats Units d'Amèrica entre els anys 2000 i 2010 (R. Sturm and Hattori; 2012)

Als Estats Units, segons dades dels anys 2011-12, més d'un 6% dels adults té un IMC superior a 40 kg/m<sup>2</sup> i més de la tercera part (34.9%) de la població és obesa, amb un lent augment en la prevalença (24) tot i les agressives campanyes d'informació. Els costos anuals mèdics estimats de la obesitat als EUA van ser de \$147 bilions l'any 2008 i les

persones obeses van gastar \$1,429 més per persona que les no obeses l'any 2006 (OECD. Obesity Update 2012).

Segons dades recents de la OMS:

- L'any 2014 es va enregistrar que un 23,7% de la població a Espanya tenia un IMC superior a 30Kg/m<sup>2</sup>, quan la mateixa estadística per a l'any 2010 era de 22,1%, amb un lleuger predomini del sexe femení.
- L'any 2013 ja hi havia al món 42 milions de nens de menys de 5 anys que tenen sobrepès. Aquests nens tenen moltes més probabilitats de convertir-se en adults obesos i de patir diabetis i malalties cardiovasculars de joves.

A Espanya, segons "*l'Estudio de Nutrición y Riesgo Cardiovascular*" (25), l'excés de pès és un problema de salut molt freqüent (62%); en concret el 39% té sobrepès i el 23% obès. La freqüència d'obesitat augmenta amb l'edat i és superior en homes que en dones.

### **2.2.2. Hiperorèxia i obesitat mòrbida. Causes i conseqüències.**

La obesitat mòrbida és una malaltia crònica multifactorial fruit de la interacció entre el genotipus i l'ambient, que afecta un gran percentatge de la població de països desenvolupats i que es caracteritza per un excés del greix corporal. Els locus genètics coneguts fins a l'actualitat ens expliquen poc més d'un 2% de la variació individual de l'IMC, tot i que es creu que en són responsables de fins a un 40-70% (26). En general la selecció natural afavoreix els processos que maximitzen la reserva energètica quan hi ha accés als aliments.

Estudis d'associació del genoma complert (GWAS) han identificat més de 30 locus cromossòmics que influeixen en el pès corporal, destacant-ne el FTO (fat-mass and obesity related gene). El descobriment d'aquests locus estimula l'exploració dels mecanismes fisiopatològics subjacents en l'obesitat, que podrien facilitar noves estratègies terapèutiques.

La OM comporta un problema de salut important, degut a la seva elevada prevalença, a les comorbilitats associades i a l'augmentat risc de mortalitat que presenten els individus que

la pateixen (27). Segons la OMS, a nivell mundial, el sobrepès i la obesitat causen més morts que la insuficiència ponderal.

Un augment de l'IMC (Índex de Massa Corporal) de 5 Kg/m<sup>2</sup> pot suposar un augment en un 30% de mortalitat per qualsevol causa (28).

L'Índex de Massa Corporal (IMC) és l'indicador més usat a nivell internacional per a definir la presència d'obesitat. Es defineix com:

$$\text{IMC} = \text{Pes (Kg)} / \text{talla (m}^2\text{)}$$

Tipus d'obesitat	IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	Risc de comorbiditat segons:	
		IMC	Circumferència abdominal
Baix pes	<18	Augmentat	-
Normal	18 – 25	Baix	-
Sobrepès	25 – 30	Augmentat	Alt
Obesitat grau I	30 – 35	Alt	Molt alt
Obesitat grau II	35 – 40	Molt alt	Molt alt
Obesitat mòrbida	>40	Extremadament alt	Extremadament alt

**Taula 2.** Valors IMC segons tipus obesitat. (29).

Les patologies que s'associen amb més freqüència a la OM contribueixen a la disminució de l'esperança de vida dels individus i empitjoren la seva qualitat de vida, limiten la seva activitat, provoquen problemes d'autoestima i de relació social, laboral i sexual. L'edat, el grau d'obesitat i el temps d'evolució de la OM influeixen en el risc de patir aquestes comorbiditats i les seves complicacions. Quan es corregeix la OM, la majoria de malalties associades milloren o es curen (30,31).

### 2.2.3. Comorbiditats associades a la obesitat mòrbida.

**Alteracions cardiovasculars.** D'entre les més freqüents hi ha la cardiopatia isquèmica, afavorida per la dislipèmia de llarga evolució, la diabetis mellitus (DM) tipus II i la hipertensió arterial. Una alteració de petit vas els fa propensos a obstruccions coronàries en forma d'angor pectoris, infart de miocardi o mort sobtada. També presenten de forma precoç una estasi deguda a un alentiment de la circulació venosa al territori infradiafragmàtic i un estat d'hipercoagulabilitat amb elevació de les xifres de fibrinogen, que poden afavorir l'aparició de processos tromboembòlics.

**Diabetes Mellitus tipus 2 (DM2)** i altres alteracions endocrines. La DM2 és una de les patologies associada a la OM amb més freqüència, especialment si és de llarga evolució. Fins al 80% de pacients diabètics són obesos. La distribució regional del greix, l'acumulació visceral i l'esteatosi hepàtica es correlacionen amb la seva aparició, lligada a un augment de la insulinèmia. També és la que més aviat es corregeix després de la cirurgia bariàtrica. Prop del 90% dels pacients amb DM2 milloren o es curen després de la cirurgia bariàtrica (27).

La hipertrigliceridèmia i la hipercolesterolèmia són comunes i de probable causa mixta i multifactorial. També són freqüents les alteracions de les hormones sexuals amb augment de la producció androgènica i disfunció estrogènica en dones i, descens de testosterona total i a vegades hipogonadisme en homes. L'hipotiroidisme es pot trobar en fins a un 20% de casos, junt amb d'altres dèficits vitamínics.

La **síndrome metabòlica** és un estat metabòlic especial produït per un conjunt de patologies associades que confereixen un risc vital superior al que tindrien per la suma de cada una d'elles (factor de risc independent) (32,33). Es caracteritza per la resistència a la insulina, i es defineix per consens ([www.idf.org](http://www.idf.org)), que un pacient té la síndrome metabòlica si té una obesitat central, amb un perímetre de cintura superior a 94cm en homes i a 80cm en dones i, almenys dos dels següents factors (34):

- Hipertrigliceridèmia >150mg/dL.
- Colesterol-HDL <40mg/dL en homes o <50mg/dL en dones, o tractament específic.
- Pressió arterial elevada >130/85mmHg o tractament específic.
- Glicèmia elevada en dejú (>100mg/dL)

**Alteracions respiratòries.** La síndrome d'hipoventilació associada a la obesitat és secundària a la hiperpressió abdominal exercida sobre el diafragma que impedeix el seu descens complert limitant, per tant, la capacitat pulmonar. Aquests pacients, propensos a infeccions respiratòries s'han de tractar preoperatòriament. La síndrome d'apnea-hipopnea del son (SAHS) es defineix com un quadre clínic compost per somnolència, trastorns neuropsiquiàtrics i cardiorespiratoris secundaris a una alteració anatòmica i funcional de la via aèria superior que porta a patir episodis repetits d'obstrucció de la via durant el son (35). Això provoca desaturacions d'oxígen i despertars transitoris que no permeten un son reparador. Fins al 40% d'individus OM en tenen en algun grau, i s'ha de tractar amb un dispositiu de pressió positiva a la via aèria durant el son (CPAP) que evitarà les apnees.

**Alteracions en l'aparell digestiu.** Destaquem la presència d'una sèrie de desordres caracteritzats per una infiltració grassa de >5% dels hepatòcis que es pot valorar per refrigència ecogràfica o mitjançant biòpsia (36). La seva representació clínica inclou des de la malaltia hepàtica silent o esteatosi hepàtica fins a l'esteatohepatitis no alcohòlica que es pot desenvolupar en el 10-25% de pacients amb esteatosi hepàtica. El Reflux gastroesofàgic és més freqüent en pacients amb OM, sobretot en dones i, s'acostuma a relacionar amb una hèrnia de hiatus per lliscament (37). La litiasi biliar (colelitiasi) és freqüent en obesos, sobretot en dones, probablement per un augment en l'excreció biliar de colesterol, amb augment de microcristalls i sals biliars i, a una disminució de la contractilitat vesicular.

**Patologies que alteren la qualitat de vida.** Les més importants són: processos degeneratius osteoarticulars per sobrecàrrega; gota per hiperuricèmia mantinguda i dipòsits d'àcid úric; incontinença urinària per hiperpressió abdominal i hipotonia del sòl pèlvic; úlceres varicoses i insuficiència vascular als membres inferiors; paniculitis necrotitzant, especialment pel frec continu. Alteracions psicològiques, especialment síndrome depressiva.

**Obesitat i càncer.** La Societat Americana de Càncer va calcular que del mig milió d'individus que moren per càncer anualment, aproximadament un 20% estaven associats a la obesitat. Els individus obesos tendeixen a manifestar tumors mes localitzats, amb recidives més precoces i una supervivència global menor. Les més relacionades en dones són el càncer d'endometri, el de mama i el de bufeta biliar; en els homes són el càncer de

pròstata; i en ambdós sexes, el de colon i recte es donen amb major freqüència que en els individus no obesos (38). Tot i això, no es coneix amb exactitud la causa d'aquesta major incidència de càncer en els obesos mòrbids.

### 3. Fisiologia de la gana i la sacietat

#### 3.1. Factors centrals

Ja fa més de 50 anys que s'ha proposat que la regulació de la ingesta es basa en l'activitat de dos centres funcionals hipotalàmics. L'hipotàlem (HT) es divideix en diversos nuclis, d'entre els quals l'arquat és el més rellevant en el control de la gana. També hi ha altres nuclis que hi estan involucrats, anomenats àrea hipotalàmica lateral (LHA, "centre de la gana" i el nucli hipotalàmic ventromedial (VMN, "centre de la sacietat") (2,39).

Dins l'arquat s'hi integren dues subpoblacions neuronals ben diferenciades:

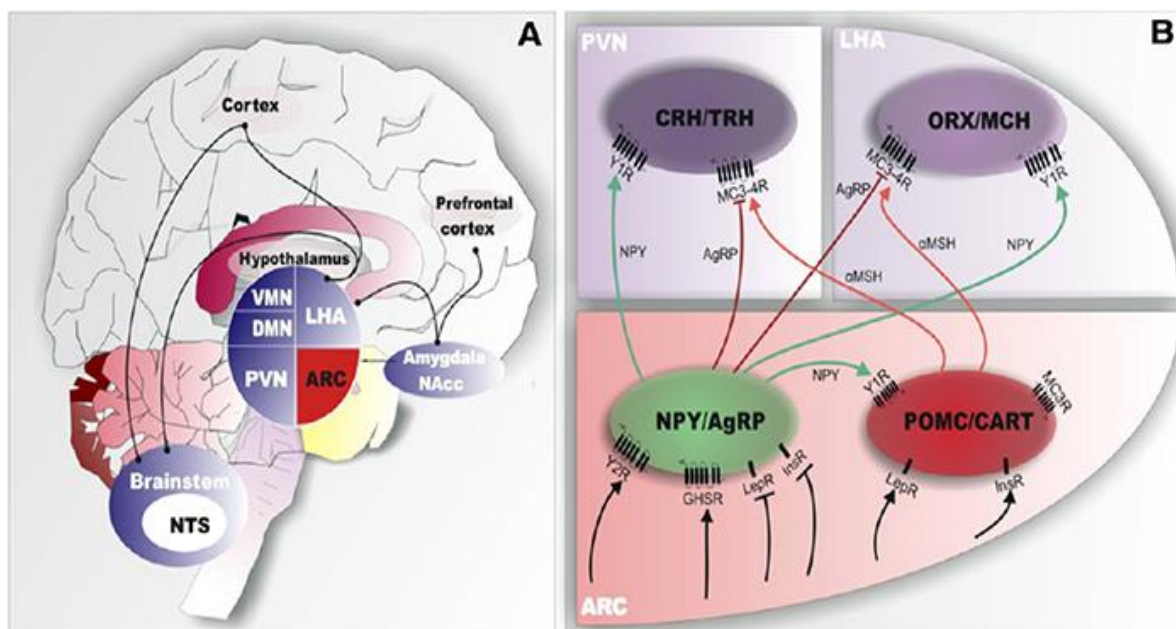
- a. Una primera subpoblació que coexpressa CART (Cocaine and Amphetamine – Related Transcript) i POMC (ProOpioMelanoCortin, via de la melanocortina) que inhibeix la ingesta, és a dir, és anorexígena.
- b. Una segona subpoblació que coexpressa NPY (NeuroPeptide Y) i AgRP (Agouti-Related Proteins), que estimula la ingesta, és a dir, és orexígena.

Ambdues poblacions es projecten cap a altres centres hipotalàmics i nuclis del sistema nerviós central involucrats en el control de la ingesta i del comportament enfront del menjar. De forma recíproca, aquesta informació projectada inhibeix les seves accions dependent de senyals perifèrics o centrals que interactuen amb els receptors respectius. (40). El balanç entre les activitats d'aquests circuits neuronals és crític per al manteniment del pes corporal.

Si anem descendint, dins el tronc encefàlic es troba el Complex Vagal Dorsal, que és crucial en la interpretació de senyals perifèrics com a aferències vagals que arriben del tracte gastrointestinal (GI) cap a l'hipotàlem. El Complex Vagal Dorsal està conformat pel nucli motor dorsal del Vague, l'àrea postrema i el nucli del tracte solitari (41). El Nervi Vague és el major enllaç neuro-anatòmic entre el tracte GI, del qual provenen els senyals perifèrics, i el sistema nerviós central. Les aferències vagals transmeten informació com distensió gàstrica, nivells hormonals i d'àcids grassos a centres superiors. S'ha trobat



receptors de la majoria d'aquestes hormones perifèriques a diferents localitzacions a nivell central, com als nuclis hipotalàmics (41).



**Figura 4.** Representació del sistema de control de la gana al cervell. (A) components estructurals del sistema incloent el nucli arquat (ARC), el paraventricular (PVN), l'àrea hipotalàmica lateral (LHA), nucli ventral medial (VMN) i el nucli dorsal medial (DMN). El nucli del tracte solitari (NTS) al tronc encefàlic, el nucli accumbens (NAcc) i l'amígdala al còrtex prefrontal i, el còrtex. (B) Imatge representativa del nucli arquat amb les poblacions neuronals (NPY/AgRP i POMC/CART). Diagrama de Schellekens et al 2012.

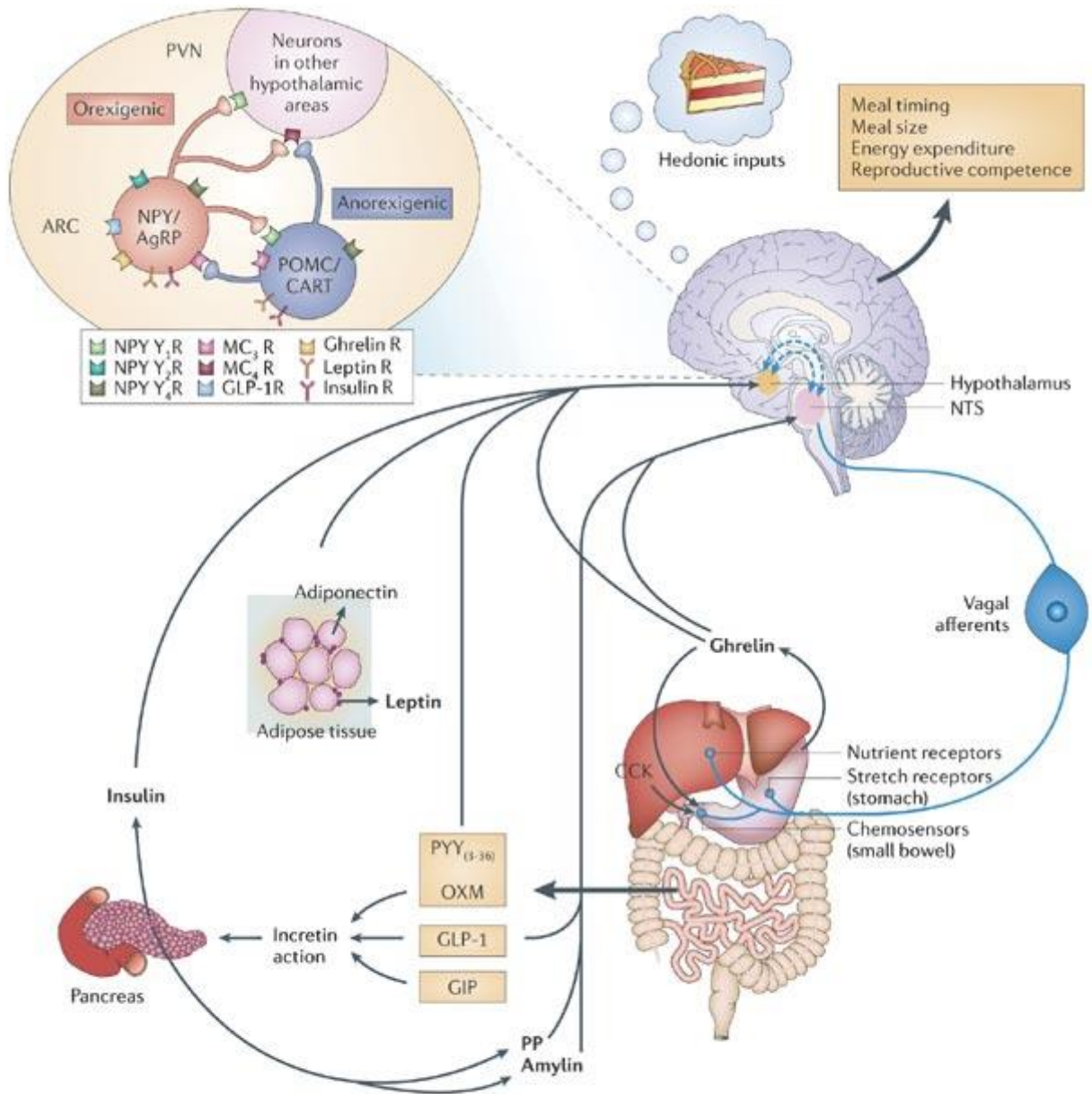
Un cop realitzada la ingesta, la informació sensorial del tracte gastrointestinal es dirigeix cap al sistema nerviós central per via vagal (fibres aferents somatosensorials) cap al nucli del tracte solitari dins el tronc encefàlic (42) o, per via hemàtica mitjançant les hormones enteroendocrines (43), que poden influir en determinades àrees en les que la barrera hemato-encefàlica és incompleta, com l'àrea postrema.

En aquest eix cervell-tracte GI hi intervenen també altres senyals com són el gust, l'olfacte, la visió i el contexte social del menjar, que exerceixen la seva influència a un nivell cognoscitiu superior (44).

En els ancians, s'ha apreciat alteracions en la regulació d'aquests pèptids orexígens centrals (NPY i AgRP) que poden contribuir en l'aparició de l'anorèxia de l'ancià (40).

En els obesos no s'ha descrit clares alteracions en la regulació de la homeostasi, però la informació entre els dipòsits energètics i la ingesta recent s'intercomuniquen entre l'hipotàlem i el tronc encefàlic influïnt en la percepció de gana i sacietat. El que sembla és, que la via de la melanocortina (POMC) assegura de forma fiable l'estabilitat del pes, protegint més eficaçment contra la pèrdua de pes, més que no pas contra el guany de pes (45). S'ha realitzat estudis d'imatge en obesos que mostren canvis en la resposta a la gana i la sacietat en comparació als individus no obesos. Aquests inclouen alteracions al còrtex prefrontal, ínsula, hipotàlem, hipocamp i amígdala (46).

En un recent estudi experimental (47) en rates obeses, els autors han descrit la presència d'una expressió hipotalàmica disminuïda de mRNA de NPY i significativament augmentada de POMC després d'haver-les sotmès a una gastrectomia vertical, en comparació a les que se'ls havia practicat un bypass gàstric, a les rates del grup control o inclús al grup aparellat per dieta.

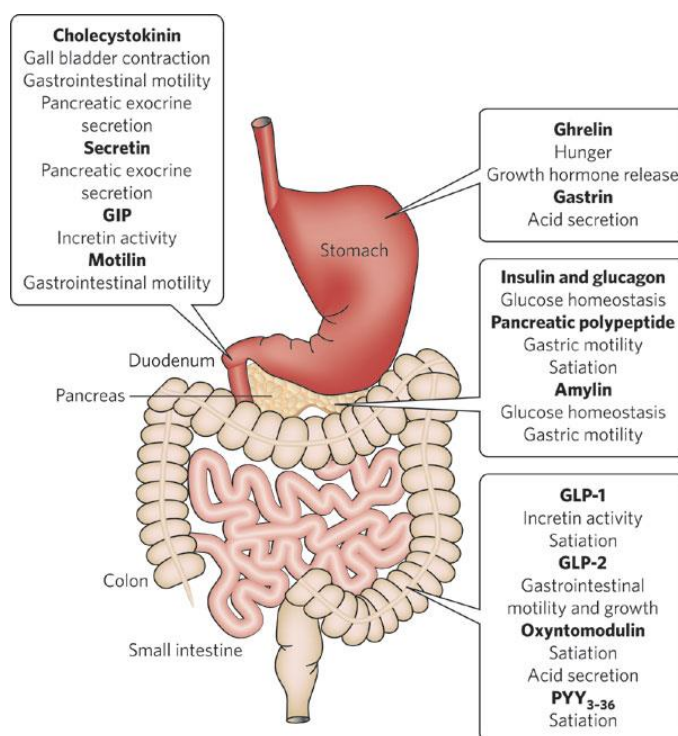


Copyright © 2006 Nature Publishing Group  
Nature Reviews | Drug Discovery

**Figura 5.** Regulació central de la gana i l'homeòstasi energètica (Cooke and Bloom; 2006)

### 3.2. Factors perifèrics hormonal i mecànics.

El tracte gastrointestinal allibera diverses hormones que actuen tant a nivell perifèric com al sistema nerviós central per a regular determinats processos biològics.



**Figura 6.** Imatge esquemàtica del tracte GI on certes hormones en particular es concentren i les seves funcions principals. (Murphy and Bloom; 2006; [http://www.nature.com/nrd/journal/v5/n11/box/nrd2136\\_BX2.html](http://www.nature.com/nrd/journal/v5/n11/box/nrd2136_BX2.html))

#### 3.2.1. Hormonals d'origen gastrointestinal.

Els senyals perifèrics de tipus hormonal originats al tracte GI consisteixen en una sèrie de pèptids que a part d'altres efectes inherents a cada una d'elles, tenen activitat orexígena o anorexígena.

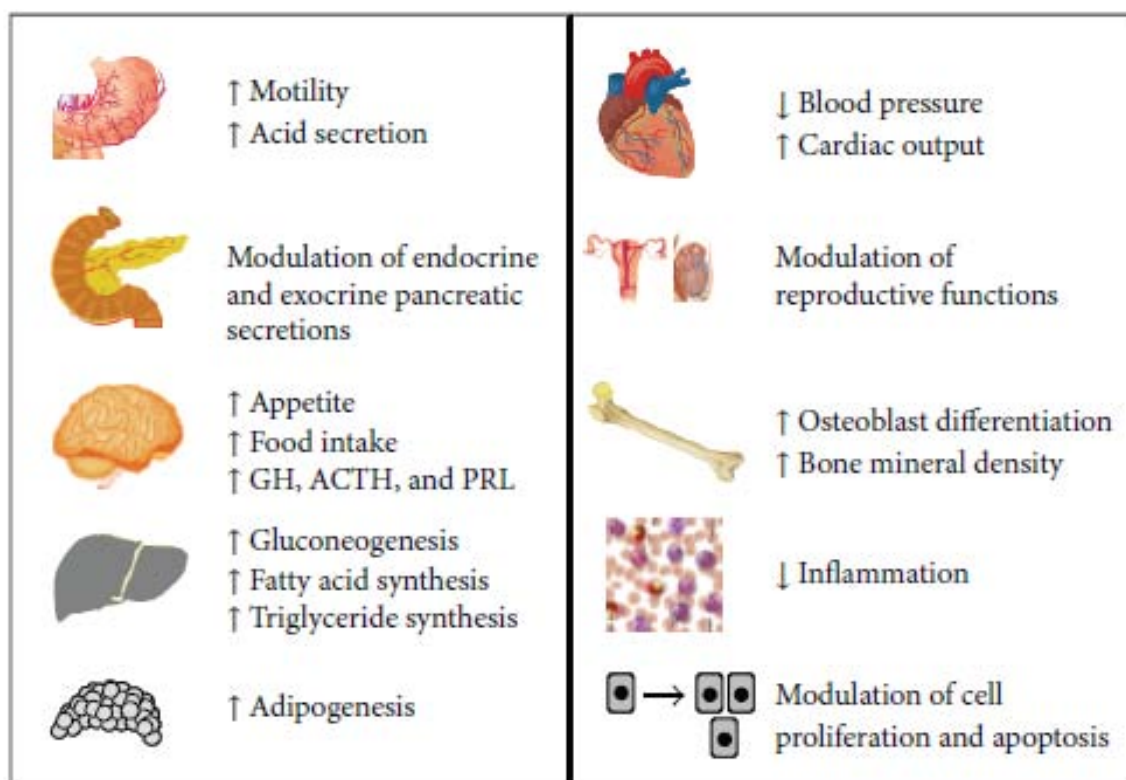
Com a única hormona orexígena perifèrica coneguda hi ha la ghrelina. D'hormones anorexígenes, que disminueixen la gana i estimulen la sacietat, n'hi ha diverses, com són CCK, GLP-1, PYY<sub>3-36</sub>, PP, OXM, la leptina, etc.

### **Ghrelina**

La Ghrelina és un pèptid de 28 aminoàcids produït per cèl·lules enteroendocrines de l'estómac, fonamentalment al fundus gàstric (75% de la producció). La seva producció està regulada per factors hormonals i nutricionals. Els seus nivells plasmàtics disminueixen amb la ingesta i tenen un patró diürn amb increment preprandial i un descens postprandial. Els seus nivells en sang es modifiquen segons el pes corporal, apreciànt-se així uns nivells de ghrelina baixos en les persones obeses i elevats en persones afectes d'anorèxia o caquèxia (48,49). A més, els seus valors tendeixen a normalitzar-se amb la normalització de l'IMC (50,51). Hi ha bàsicament dues formes circulants de ghrelina en sang. El 90% és ghrelina desacilada o inactiva, i un 10% acilada o activa. Alguns autors suggereixen que les cèl·lules productores de ghrelina responen a les concentracions plasmàtiques de glucosa, mentre d'altres creuen que és l'augment d'insulina el que suprimeix la ghrelina. Aquesta supressió és d'inici ràpid i acció curta, començant als 30 minuts de la ingesta i desapareixent en una hora aproximadament.

La seva acció més coneguda té relació amb el control de la gana. A l'hipotàlem la ghrelina activa les neurones centrals NPY i les AgRPn que són orexígenes i inactiva les anorexígenes POMCn en el nucli arquat. Contribueix a la gana preprandial i participa en l'inici de la ingesta (52) Disminueix la latència a menjar i augmenta el nombre d'ingestes sense afectar-ne la quantitat. Els carbohidrats i les proteïnes suprimeixen millor la ghrelina que no pas ho fan els lípids i, per a que es suprimeixi, no cal que hi hagi nutrients a la llum gàstrica o duodenal, ja que els senyals provenen de zones més distals i d'esdeveniments post absorptius. Hi contribueixen els canvis plasmàtics d'insulina, la osmolaritat intestinal i els senyals neuroentèrics.

En relació a la motilitat gastrointestinal, la ghrelina accelera el buidament gàstric i també estimula la secreció àcida. La seva administració exògena indueix complexos motors migratoris gàstric i intestinal en individus sans en dejú, augmenta el to fúndic en dejú i postprandial; també accelera el buidament gàstric en individus amb dispèpsia o gastroparèsia, i tot sense involucrar la via vagal (53).



**Figura 7.** Principals funcions fisiològiques de la ghrelina (Delporte, 2013).

En un estudi previ del nostre grup (15) es va observar un lleuger descens dels nivells de ghrelina en ancians, a l'igual que altres autors (54) i, una pèrdua del cicle pre- i postprandial en els ancians fràgils, tot i que la rellevància clínica encara no està aclarida. Altres autors propugnen que la taxa entre ghrelina acilada/desacilada podria influir en l'anorèxia de l'envelliment (10,55). En els ancians sembla que unes concentracions de ghrelina inferiors i una resposta inadequada poden contribuir al deteriorament de la ingesta associat a l'edat i a l'anorèxia de l'ancià (40). En un estudi de ritme circadiari durant 24h en humans, van trobar que la forma activa de la ghrelina era més baixa en ancians que en joves (55). En una revisió Morley et al (14) suggereixen que medicaments que actuen estimulants el seu receptor (com anamorelina) podrien tenir una funció orexígena excel·lent en persones amb anorèxia de l'ancià.

En els obesos, la ghrelina es suprimeix pitjor després de la ingesta (52), tot i que això podria dependre també del tipus d'àpat realitzat, presentant una major supressió amb ingesta proteica (56). Aquesta hormona està involucrada en la regulació del pes corporal a llarg termini i els seus valors plasmàtics es correlacionen negativament amb el pes. De fet,



els valors de ghrelina plasmàtica disminueixen amb el guany de pes en diferents situacions clíniques (sobreingesta, embaràs, dieta alta en greixos), i els nivells plasmàtics augmenten amb la pèrdua de pes secundària a diferents situacions com la restricció alimentària, malnutrició, exercici crònic de llarga evolució, estats de caquèxia induïts per anorèxia nerviosa, insuficiència cardíaca congestiva, càncer de pulmó, mama i/o colon.

Hi ha dades discrepants respecte dels nivells de ghrelina després de perdre pes posterior a un bypass gàstric. Aquestes diferències poden ser degudes a la diversitat inherent en el procediment quirúrgic. Després de la gastrectomia vertical s'han descrit habitualment nivells inferiors de ghrelina que en els individus obesos mòrbids (57–59)

### **CCK**

Les colecistoquinines (CCK) constitueixen una família de pèptids gastrointestinals dels quals hi ha diverses formes actives circulants en sang perifèrica i anomenades segons el nombre d'aminoàcids que les componen, com són: CCK-58, CCK-39, CCK-33, CCK-21, CCK-12, CCK-8, CCK-5, CCK-4. Les CCK són secretades per cèl·lules endocrines localitzades a la mucosa del duodè i del jejú en resposta a proteïnes i greixos de forma més específica i intensa (60). Tenen 2 receptors (CCK-1 i CCK-2). Els efectes sobre la contractilitat de la bufeta i la secreció i motilitat GI són mitjançades sobretot pel R CCK-1. Als 5-10 minuts de la ingesta augmenten els nivells plasmàtics de CCK fins arribar a un pic als 15 minuts i augmentant les concentracions fins a valors 5-6 cops superiors als basals. Aquests es mantenen elevats fins transcorregudes 2h de la ingesta (61). La principal acció fisiològica de la CCK és la contracció vesicular postprandial i la secreció pancreàtica exocrina, accions que alhora participen en la regulació de la secreció de la pròpia hormona. La capacitat de buidament vesicular és un dels principals factors que determina la concentració postprandial de CCK. Les sales biliars que arriben al duodè com a resultat de la contracció vesicular, inhibeixen l'alliberació postprandial de CCK, però si no hi ha una resposta biliar, es manté una secreció elevada de CCK (62). El nostre grup ja va descriure l'augment de la concentració de CCK després d'un àpat prova i que en afegir un quelant de les sals biliars, els nivells plasmàtics s'incrementen significativament de forma més intensa (63), el que hem confirmat posteriorment (64). També actua com a mediador de la sacietat i té un feedback negatiu a l'estómac retardant-ne el buidament mitjançant una relaxació fúndica i la inhibició antral (5). Sembla que la CCK actua inicialment per via paracrina al

budell prim i inhibeix les eferències vagals excitatòries sobre l'estómac distal i, estimula les eferències vagals inhibidores sobre l'estómac proximal (65).

En l'envelliment s'ha observat que els nivells circulants de CCK i la seva resposta a la ingesta són majors que en individus joves (9,66) i, es pensa, que uns nivells elevats de CCK són probablement la principal causa de l'anorèxia de l'ancià. Tot i això, hi ha molt pocs estudis que hagin demostrat que l'envelliment provoqui alteracions del buidament vesicular. Di Francesco (67) va proposar que el buidament estaria disminuït i seria, per tant, el responsable dels nivells elevats de CCK i, per tant, de la sacietat precoç i anorèxia que els són característics.

En la obesitat s'ha suggerit que l'efecte de la CCK sobre la sacietat està disminuït, acompanyat també d'una disminució en l'activació del NTS (68) el que podria col·laborar en una menor sacietat en els obesos. Estudis en ratolins obesos han mostrat que les fibres aferents jejunals s'estimulen menys, presentant una sensibilitat disminuïda en els mecanoreceptors i menor excitabilitat neuronal, pel que per a aconseguir una mateixa resposta inhibidora ascendent, l'estímul hauria de ser major (69).

### **GLP-1**

El Glucagon Like Protein-1 és una proteïna derivada del gen del pro glucagó, que s'expressa a diferents teixits incloent també en algunes neurones del NTS del tronc encefàlic. La majoria dels pèptids derivats del pro glucagó intestinal són secretats a les cèl·lules L, que tenen un procés citoplasmàtic que arriba a la llum intestinal i està equipat amb uns microvil·li, de manera que perceben la presència de nutrients a la llum i produeixen un estímul. La màxima quantitat de cèl·lules L es troba a l'íleon, però n'hi ha per tot el budell prim i també al colon.

La vida mitja del GLP-1 és curta (1-2 minuts), sols un 10-15% de la secreció de GLP-1 arriba a la circulació sistèmica intacte per que és molt susceptible a la DPP-IV que la degrada i la converteix en GLP-1<sub>9-36</sub> o GLP-1<sub>9-37</sub>, metabòlit inactiu i que podria actuar (tot i que no es veu així *in vivo*) com a antagonista del receptor del GLP-1.

La secreció de GLP-1 està clarament relacionada amb la ingesta, presentant nivells molt baixos en dejú, amb una secreció basal mínima. Als 10 minuts de la ingesta els seus nivells



en sang augmenten ràpidament. La resposta al menjar depèn de la mida de l'àpat i de la taxa de buidament gàstric, així doncs, en pacients amb buidament gàstric accelerat (p.e. gastrectomia o bypass gàstric) la secreció de GLP-1 està molt exagerada i pot ser la causa d'hipoglucèmia reactiva com a resultat d'una hiperinsulinèmia inapropiada. Els lípids n'estimulen la secreció. Es sap poca cosa dels mecanismes mitjançant els quals els nutrients estimulen la secreció de GLP-1, però sembla que hi ha involucrats mecanismes neurohormonals (innervació simpàtica, control paracrí, etc.) (70).

Els principals efectes del GLP-1 són a nivell de control de l'homeòstasi de la glucèmia, l'anomenat efecte incretínic, que designa l'amplificació de la secreció d'insulina provocada per les hormones del tracte GI. Assegura unes excursions de glucosa postprandials limitades i similars independentment de la càrrega d'hidrats de carboni. El GLP-1 inhibeix la secreció de glucagó per via paracrina estimulando la secreció de somatostatina pancreàtica que inhibeix la secreció de glucagó. També se li ha descrit efecte sobre les cèl·lules  $\beta$  pancreàtiques, amb activitat insulinoatròfica, estimulando la proliferació de cèl·lules  $\beta$  i la diferenciació de noves cèl·lules  $\beta$  a partir de cèl·lules progenitores a l'epiteli del conducte pancreàtic, així com tal vegada inhibint la seva apoptosi. En el tracte GI, inhibeix la secreció i la motilitat GI (buidament gàstric, secreció pancreàtica i gàstrica). Inhibeix la gana i la ingesta, i aquest efecte està preservat en obesos i obesos-diabètics. Juntament amb un altre pèptid d'origen intestinal, aboleixen la secreció estimulada per la gastrina, pel que podrien ser els mediadors del fre ileal (*ileal break effect*), que consisteix en el *feedback* negatiu establert per l'arribada de nutrients a l'íleon que inhibeix la secreció postprandial del tracte GI superior (3).

En l'envelliment s'ha apreciat supressió de GLP-1 en cas d'ancians diabètics, però no en ancians que no ho eren (14).

En la obesitat s'ha descrit una secreció reduïda de GLP-1, tant la secreció diürna com l'augment postprandial (71). Podria ser que el descens de la secreció de GLP-1 fos secundari al guany de pes, tot i que també contribueix a una manca de sacietat.

Després de la gastrectomia vertical pocs articles han avaluat el GLP-1 post ingesta en humans (72) trobant-lo habitualment augmentat en el període postprandial.

### 3.2.2. Hormonals d'origen no gastrointestinal:

Altres senyals perifèrics poden venir del teixit gras perifèric via leptina i, també probablement via TNF-alpha i via insulina. Els nivells circulants d'àcids grassos i glucosa també regulen de manera indirecta els centres de la gana i la sacietat.

#### **Leptina**

La leptina és una proteïna que forma part de la família d'adipocitoquines, produïda per principalment pel teixit adipós, però també se n'ha identificat produïda a l'estómac (73). Els seus receptors es troben a nivell central i perifèric i creua la barrera hematoencefàlica de manera controlada. Els seus nivells en sang estan en relació directa amb l'adipositat (nivells augmentats en individus amb obesitat mòrbida), però altres factors hi interactuen de manera que hi ha una elevada variabilitat individual. Aquests altres factors poden ser hormones sexuals, insulina, glucocorticoides, catecolamines, etc. En relació a l'envelliment, s'ha suggerit la presència d'una resistència a la leptina associada amb l'edat (40). Els individus obesos presenten concentracions elevades de leptina en plasma en relació a la quantitat de teixit adipós, però aquest senyal elevat de la leptina no comporta les respostes esperades (disminució ingesta i augment de consum energètic), el que suggereix una resistència als seus efectes (74).

La leptina té un efecte complex sobre la motilitat del tracte GI. S'han trobat receptors de la leptina tant a terminacions aferents com eferents del nervi Vague (73). En l'estómac, una deficiència en leptina condueix a una acceleració del buidament gàstric, augmenta el trànsit en el jejú i escurça el trànsit intestinal total. S'ha proposat que segons la presència o no de CCK, la leptina pot intercanviar el seu rol regulador entre comportament enfront la ingesta i motilitat. Tanmateix, la leptina potencia l'acció de la CCK a les neurones vagals aferents (68).

The effects of aging on gastrointestinal hormones

Hormone	Function	Aging effect
Gastrin	Gastric acid secretion	Increased
Ghrelin	Increased food intake and growth hormone	No change
Cholecystokinin	Satiation	Increased
	Gallbladder secretion	
	Pancreatic enzyme secretion	
Secretion	Pancreatic enzyme secretion	Unknown
	Bicarbonate secretion	
Gastric inhibitory peptide	Insulin secretion	No change
	Slows gastric emptying	
Glucagon-like peptide	Insulin secretion	No change
	Slows gastric emptying	
Pancreatic polypeptide	Inhibits pancreatic secretion	Increased
Somatostatin	Inhibits gut secretion, intestinal motility, and peptide hormone secretion	Increased
Motilin	Gastric emptying	Increased
	Migratory motor complexes	
Insulin	Glucose regulation	Increased
Amylin	Inhibits insulin	Increased above middle age levels
	Satiation	
Calcitonin gene-related peptide	Postprandial hypotension	No change or increased

**Taula 3.** Representació esquemàtica dels efectes de l'envelliment normal en les hormones gastrointestinals (75)

En la població obesa s'ha descrit diverses alteracions o canvis hormonaals com són un augment de CCK i insulina, i un descens de ghrelina i GLP-1 en dejú. En canvi, insulina i leptina són més elevades i, la ghrelina postprandial està disminuïda (5).

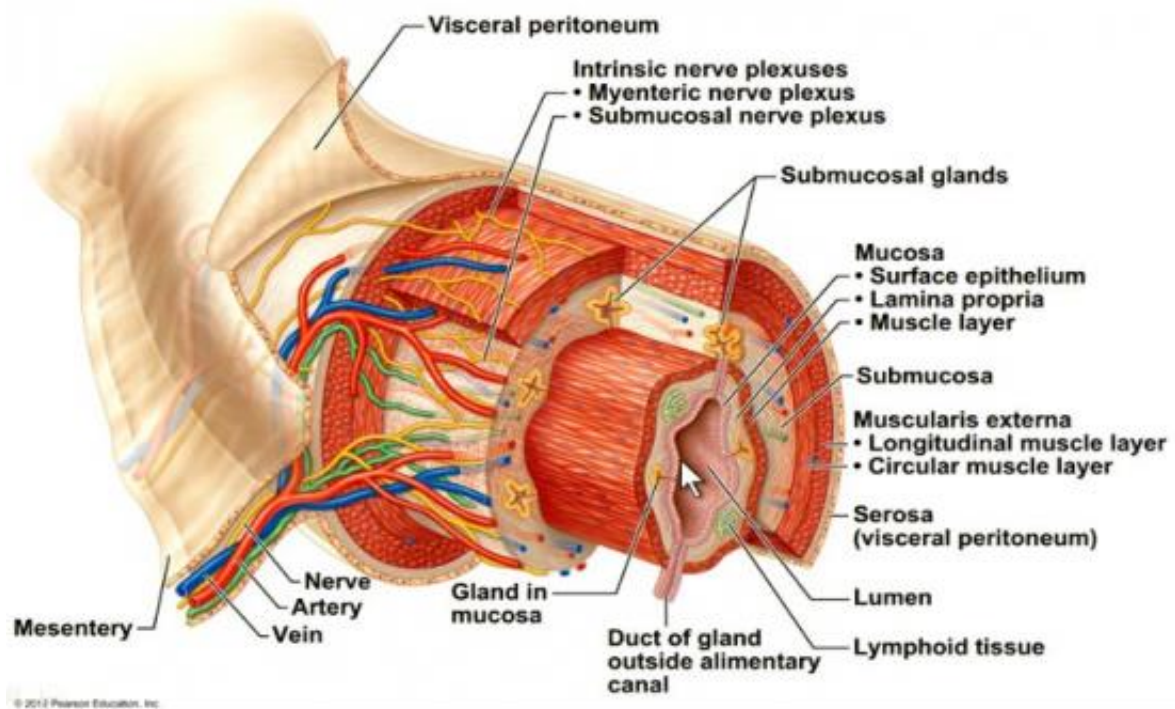
### 3.2.3. Mecànics gastrointestinals. Motilitat del tracte gastrointestinal.

El sistema perifèric de sacietat està regulat també per mecanismes motors gastrointestinals. Així, alguns mecano-receptors i quimiorceptors de l'estómac i el budell s'estimulen en entrar el bolus alimentari, alliberen certes hormones peptídiques gastrointestinals com la CCK, el glucagon-like peptide-1 (GLP-1) o el PYY i produeixen un alentiment del buidament gàstric i contribueixen a la sensació de sacietat.

La majoria d'aquestes hormones poden actuar sobre el nuclis del SNC (centres hipotalàmics de la gana i la sacietat) i alhora actuar sobre la motilitat gastrointestinal, que alhora també pot influir en la sensació de gana o sacietat (10).

#### **Regulació de la motilitat del tracte gastrointestinal (76).**

La regulació de la motilitat de l'estómac i del budell és resultat d'una interacció entre el sistema nerviós entèric (SNE), neurones extrínseques, pèptids reguladors i el múscul llis intestinal (77). Un nombre important de cèl·lules musculars llises del tracte GI presenten una activitat elèctrica espontània i activitat mecànica espontània a través d'una xarxa de cèl·lules especialitzades anomenades cèl·lules intersticials de Cajal (CIC), que generen l'activitat de marcapassos. Aquestes cèl·lules es localitzen a prop del plexe mientèric i generen canvis rítmics en el potencial de membrana que promouen la contracció de les cèl·lules circumdants, contraccions de baixa freqüència i llarga duració, anomenades *ones lentes*. Les CIC tenen un paper clau en la comunicació entre el SNE, l'autonòmic i el múscul llis de la paret. L'activitat mecànica també es pot modificar pels nervis autonòmics que arriben a les cèl·lules musculars (78,79). Hi ha diversos tipus de CIC segons la seva localització a la paret muscular, però les principals són la  $CIC_{my}$ , situades al plexe mientèric, que funcionen com a marcapassos gastro-entèric i activen les ones lentes. El segon tipus està dispers al gruix de les capes musculars, són les  $CIC_{im}$ , i són les encarregades de propagar l'ona d'activació. A través dels vasos que les irriga tenen receptors per a neurotransmissors i per a les hormones circulants com la CCK.



**Figura 8.** Representació de la histologia de la paret al llarg del tracte GI en una secció de les capes (<http://anatomyandphysiology.com/digestive-system-histology-alimentary-canal>).

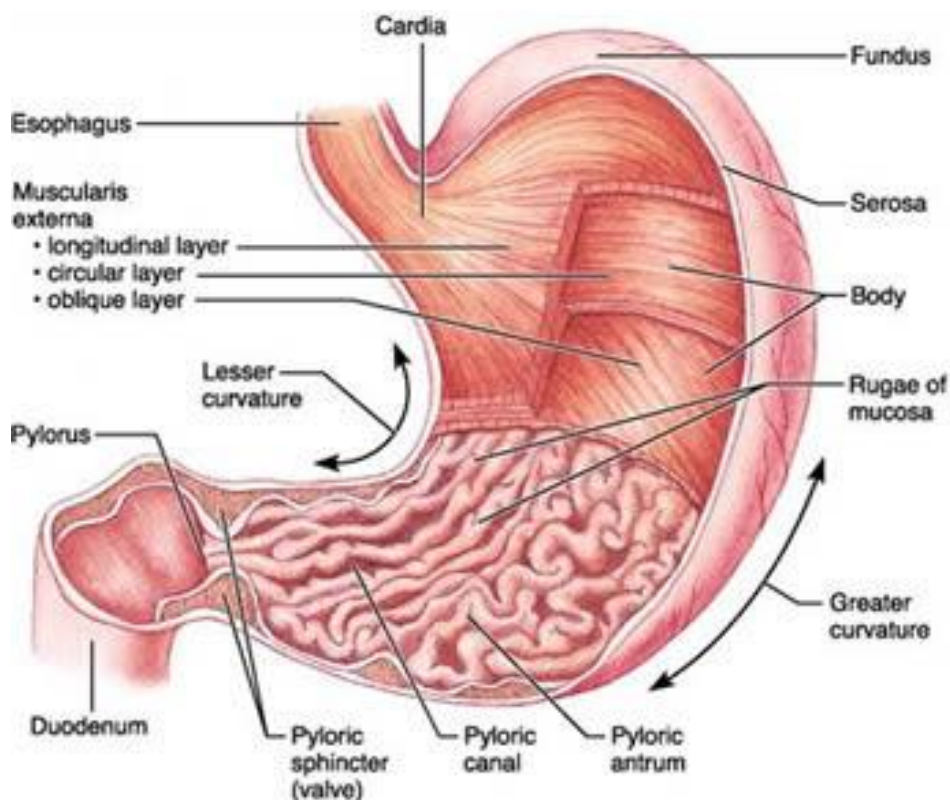
### **Patrons motors**

Segons si està en dejú o és després de la ingesta, el tracte GI mostra dos patrons motors: el Complex Motor Migratori Interdigestiu (CMMI) que està present en dejú i, el patró de contraccions intermitent fàsic que comença uns 5-10 minuts després de la ingesta.

El CMMI neteja el tracte GI superior dels residus i consta de tres fases. La primera (fase I, 4'-60% del temps) és quiescent, sense contraccions. La fase II presenta contraccions intermitents, irregulars de baixa amplitud. La fase III (10 minuts), consisteix en un període de contraccions intenses (40mmHg) regulars d'elevada amplitud i posteriorment hi ha un període de transició cap a la fase I de quiescència. En els següents apartats explicarem de manera més específica les característiques pròpies de l'estómac i al budell prim.

### 3.2.3.1. Motilitat gàstrica.

L'estómac es compon bàsicament per quatre zones ben diferenciades que són el fundus, el cos, l'antra i el pílor, en sentit cranio-caudal.



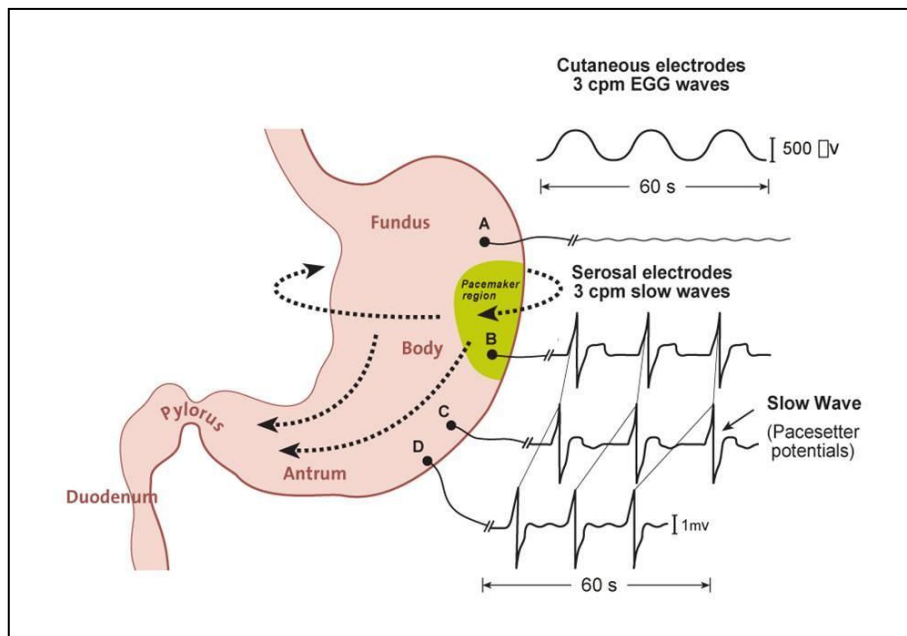
**Figura 9.** Il·lustració de l'anatomia gàstrica (www.healthgalleries.com)

L'estómac proximal o **fundus** acomoda i emmagatzema el bolus alimentari mitjançant una relaxació tònica del mateix, també regula la pressió intragàstrica i empeny el bolus cap a la part distal de l'estómac amb una contracció sostinguda i tònica semblant a l'èmbol d'una xeringa. El fundus està en una estat de contracció tònica parcial contínua i, a diferència de regions més distals, el seu potencial de membrana en repòs és més elevat que el llindar habitual per a la contracció gàstrica. Presenta dos perfils bàsics de contracció. El primer són unes contraccions lentes i sostingudes que duren fins a 6 minuts i determinen la pressió intragàstrica. Aquestes suposen el 80% de l'activitat motora del fundus. El segon perfil són unes contraccions fàsiques (tòniques) més ràpides que duren fins a 30 segons i que estan sobre imposades al primer patró. Per mantenir la pressió intragàstrica hi ha dos reflexes: la relaxació i l'acomodació gàstrica, i ambdós són mitjançats per arcs reflexos vago-vagals a



través del NTS. La relaxació per la recepció del bolus alimentari és la reducció del to fúndic que apareix amb l'acte de la deglució i, no cal que arribi cap bolus a l'estómac. L'acomodació gàstrica, en canvi, depèn de mecano-receptors gàstrics activats amb l'arribada del bolus, i permet que fins al 80% del bolus deglutit sigui retingut al fundus. Això provoca un descens de la pressió intragàstrica els primers 30 minuts després de l'inici de la ingesta i el to no torna a la normalitzat fins que els sòlids s'han buidat de l'estómac. Aquests dos reflexes són diferents segons el tipus d'àpat que es realitza, provocant superiors increments de volum gàstric l'àpat líquid que no pas el sòlid.

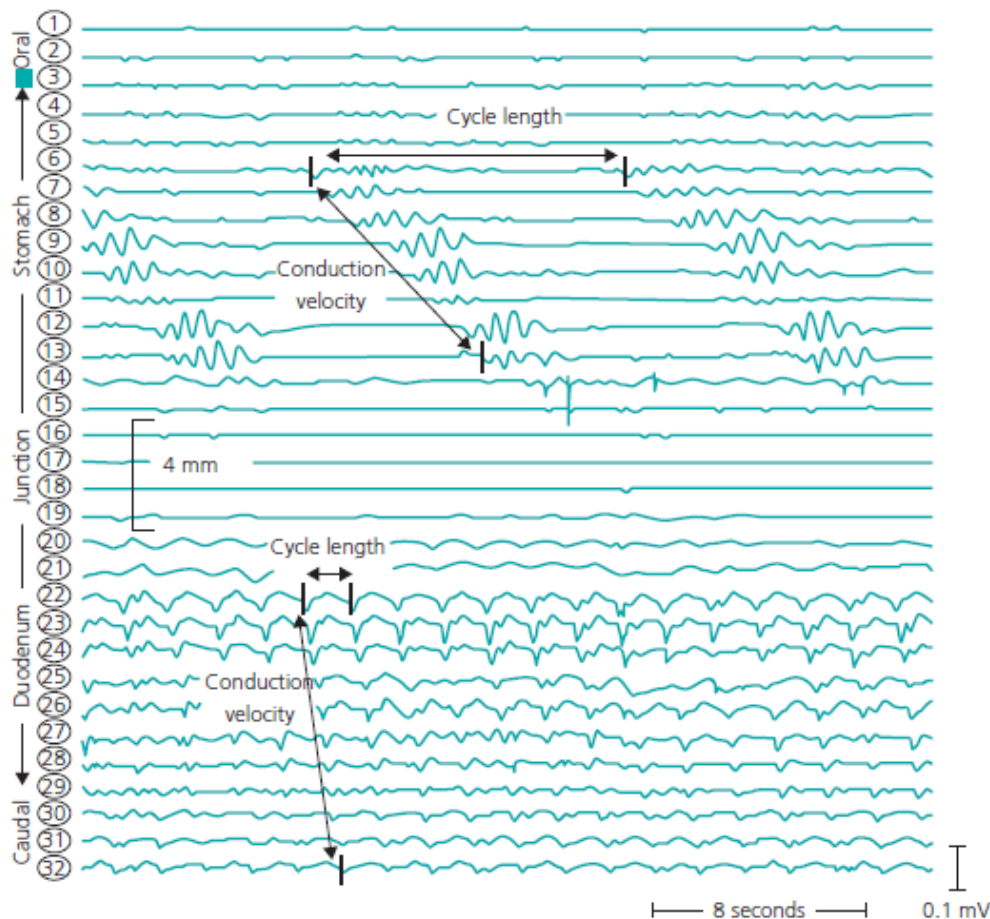
La relaxació del fundus està mitjançada per agents nitrèrgics (òxid nítric, ON). Hormones com CCK i GLP-1 (80) relaxen el fundus i n'augmenten la compliància.



**Figura 10.** Imatge representativa del marcapassos gàstric i les ones lentes (Wake Forest University-School of Medicine)

L'estómac distal o **antre** tritura i mol el menjar, regula el buidament gàstric dels sòlids i en menor mesura dels líquids. Aquesta regió és inactiva en dejú, sols presenta una activitat elèctrica espontània mitjançada per les cèl·lules intersticials de Cajal (CIC, cèl·lules de múscul llis especialitzades en control de l'activitat muscular), que provoca les ones lentes, és a dir, l'activitat basal del teixit, a una velocitat de 3 cpm (cicles per minut) i que no té prou amplitud per a provocar cap contracció significativa. Aquest perfil d'activitat basal d'ona lenta (patró motor bàsic al tracte GI) no està present al fundus. S'inicia normalment

en un marcapassos de la curvatura major gàstrica i difon cap a la resta de l'estómac (no al fundus).

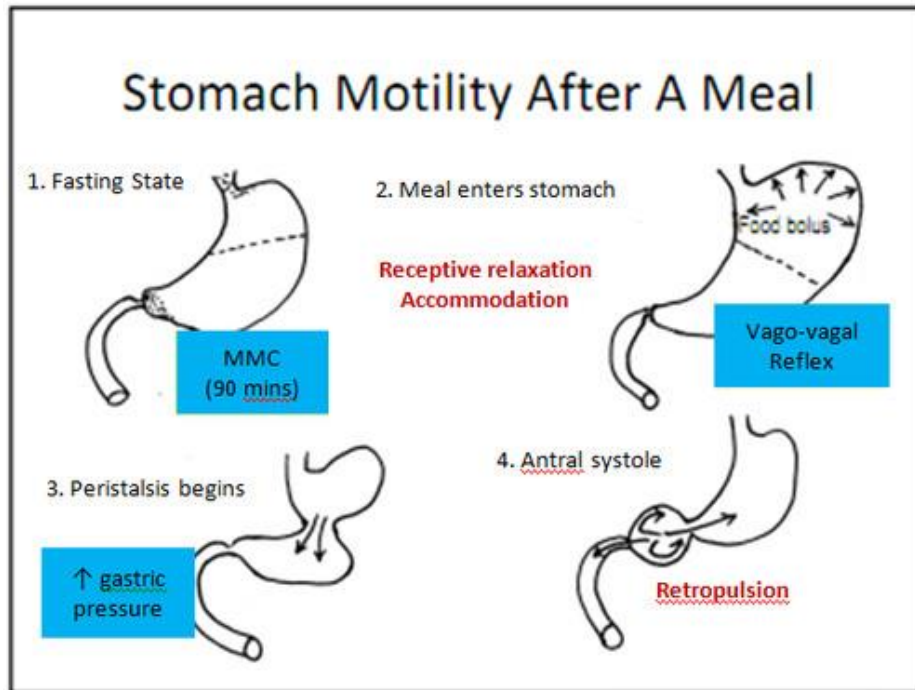


**Figura 11.** Imatge representativa de l'activitat en forma d'ones lentes de l'estómac, pílor i duodè. Aquestes són més freqüents i més ràpides al duodè. Hi ha una zona lliure d'ona lenta al pílor que probablement contribueix a la independència dels marcapassos de les diferents regions (Wang et al 2005)

En l'estómac, la fase III del CMMI propaga les contraccions cap a la resta de l'estómac (no cap al fundus) a la mateixa freqüència que les ones lentes.

En l'estat postprandial hi ha contraccions fàsiques intermitents amb una amplitud similar a les de la segona fase del CMMI que empenyen el contingut gàstric distalment per a que aquest pateixi una retropulsió endarrere cap a l'estómac proximal. Aquest estat s'associa amb un escurçament de la llargada gàstrica i una alteració de la configuració distal de l'estómac.





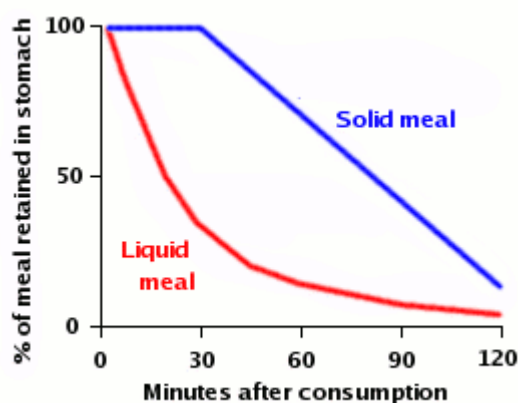
**Figura 12.** Imatge il·lustrativa de la motilitat gàstrica en les seves diverses fases: 1. en dejú; 2. reflexes de relaxació receptiva i acomodació gàstrica; 3. inici de la peristalsi; i 4. sistole o contracció antral (www.quizlet.com).

El **pílor** restringeix el pas de partícules alimentàries grans. Es relaxa amb l'estímul elèctric, pel que el seu to basal ve marcat per la inhibició neural. La seva activitat basal (ona lenta) ve arrossegada per la de l'estómac distal, però habitualment no passa cap al duodè, sinó que aquest pot generar les seves pròpies ones lentes.

### **Buidament gàstric**

El buidament gàstric és un procés molt complex i amb diferents mecanismes de control que consisteix en diferents fases ben definides com són la fase cefàlica (control pel nervi Vague) i les fases gàstrica i entèrica. En totes elles hi juga també un paper important la influència hormonal que coopera per tal d'aconseguir un buidament adequat del contingut de l'estómac al duodè per a la seva absorció al budell prim. S'ha descrit que tant la ghrelina com el GLP-1 tenen un impacte important, (81) essent la primera un gran estimulador de les contraccions gàstriques i accelera el buidament i, en canvi, tant la CCK com el GLP-1 inhibeixen el buidament en relaxar el fundus i l'antre i estimular la contracció pilòrica (5).

El buidament gàstric està influenciat per la qualitat de l'aliment. L'aigua (material inert) es buida seguint una corba exponencial (cinètica de primer ordre), mentre que el líquid que conté nutrients es buida aproximadament a un ritme de 200Kcal per hora des de l'estómac (5). El buidament dels sòlids és més complex i es divideix en tres fases. La primera fase, de latència, dura una hora aproximadament, i en ella es produeixen barreja i retropulsió per convertir l'aliment en fines partícules (veure fig. 12). La segona fase, lineal, segueix una cinètica d'ordre zero i es caracteritza per un lliurament controlat i lent del residu cap al duodè en una taxa constant i independent del volum residual gàstric. La tercera fase és molt lenta i acaba de buidar el residu gàstric (76).



**Figura 13.** Gràfic representatiu del buidament gàstric per líquids i sòlids. (<http://arbl.cvmb.s.colostate.edu/hbooks/pathphys/digestion/stomach/emptying.html>)

L'envelliment està associat a un moderat alentiment del buidament gàstric, les causes del qual són poc conegudes (Firth M. Gastroenterology, 2005). També s'ha postulat una disminució de la capacitat de distensió gàstrica sobretot amb ingestes copioses, especialment del fundus, de manera que el bolus alimentari arriba abans a l'antre provocant una relaxació precoç (82). Tant l'alentiment com la menor capacitat de distensió o compliància gàstrics poden participar a la fisiopatologia dels freqüents símptomes de dispèpsia i sacietat precoç que pateixen els ancians. Pocs estudis han descrit els canvis que apareixen en la motilitat gàstrica amb l'edat i la seva relació amb les alteracions neurendocrines i l'anorèxia dels ancians. En particular, es desconeix com la fragilitat afecta el buidament gàstric. Ja s'ha descrit prèviament la influència que poden tenir les variacions en les concentracions de diferents hormones, associades a l'envelliment, i que participen en el control del buidament gàstric. Tanmateix, les patologies associades a l'envelliment, com

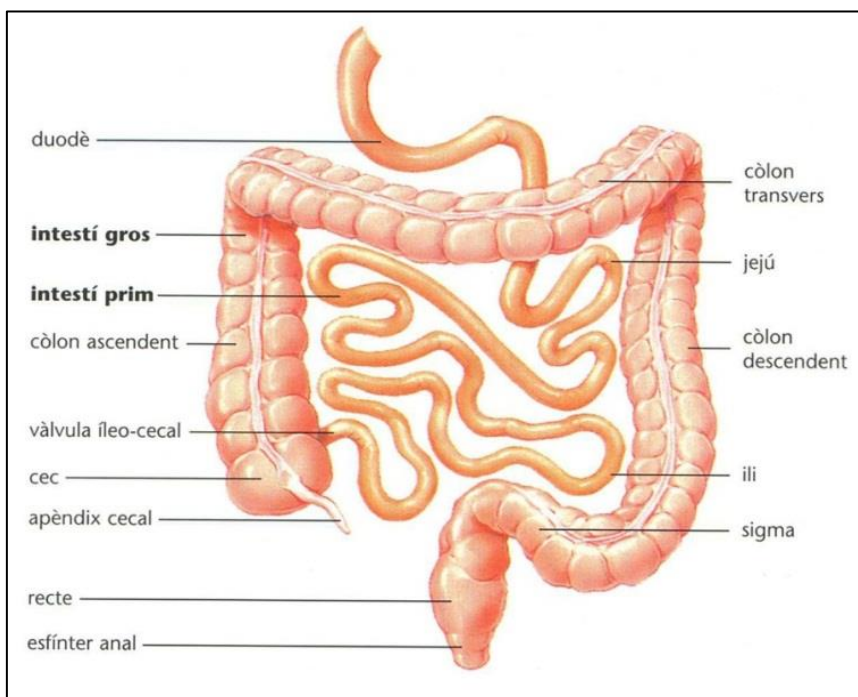
la diabetis mellitus, que n'és molt prevalent, pot col·laborar per sí mateixa a l'alentiment del buidament gàstric fins en un 50% (O'Mahony 02).

En la obesitat el buidament gàstric s'ha mesurat de diverses maneres i amb diferents àpats, sense que hi hagi grans canvis entre els diferents estudis (5). En un estudi entre individus sans, individus amb sobrepès i obesos, sols es va objectivar que aquests últims tenien un buidament més accelerat per als líquids, però no per als sòlids (Vázquez-Roque Gastroenterol 2006). En canvi això resulta controvertit en una altra revisió més recent (83) que aposta per una acceleració del buidament gàstric de sòlids en obesos. En la obesitat mòrbida, destaca una major prevalença de simptomatologia del tracte GI superior i inferior que la població normal (84).

Després de la gastrectomia vertical, la majoria d'estudis accepten que aquests pacients tenen un buidament gàstric més accelerat (72), però segueix essent controvertit, per que d'altres no obtenen aquests resultats atribuint les diferències a la forma del tub gàstric, a les diferències en l'àpat prova utilitzat o el mètode usat per a la determinació del buidament gàstric (85,86).

### 3.2.3.2. Motilitat i trànsit intestinal

L'intestí o budell prim és el tram de tracte digestiu comprès entre l'estómac i el colon, i mesura entre 6-8 metres. Les seves funcions principals són les de transport, digestió i absorció dels nutrients que hi arriben amb l'ajuda de components elementals provinents de la bilis i el suc pancreàtic, així com del mateix suc secretat per les cèl·lules intestinals. Consta de 3 parts ben diferenciades que són el duodè, el jejú i l'ili. El duodè és el primer i més curt, mesurant aproximadament 25-30cm. El jejú i l'ili conformen la part restant del budell, de manera que el jejú suposa 2/5 parts i l'ili 3/5 parts de la resta d'intestí. L'ili dona pas al colon a través de la vàlvula ileocecal. El trànsit intestinal normal és molt variable, essent majoritàriament al voltant dels 90 minuts (87). Altres estudis descriuen que la durada habitual del trànsit intestinal oscil·la entre els 78 i 264 minuts, essent més lent en dones especialment post menopàusiques o obeses (88).

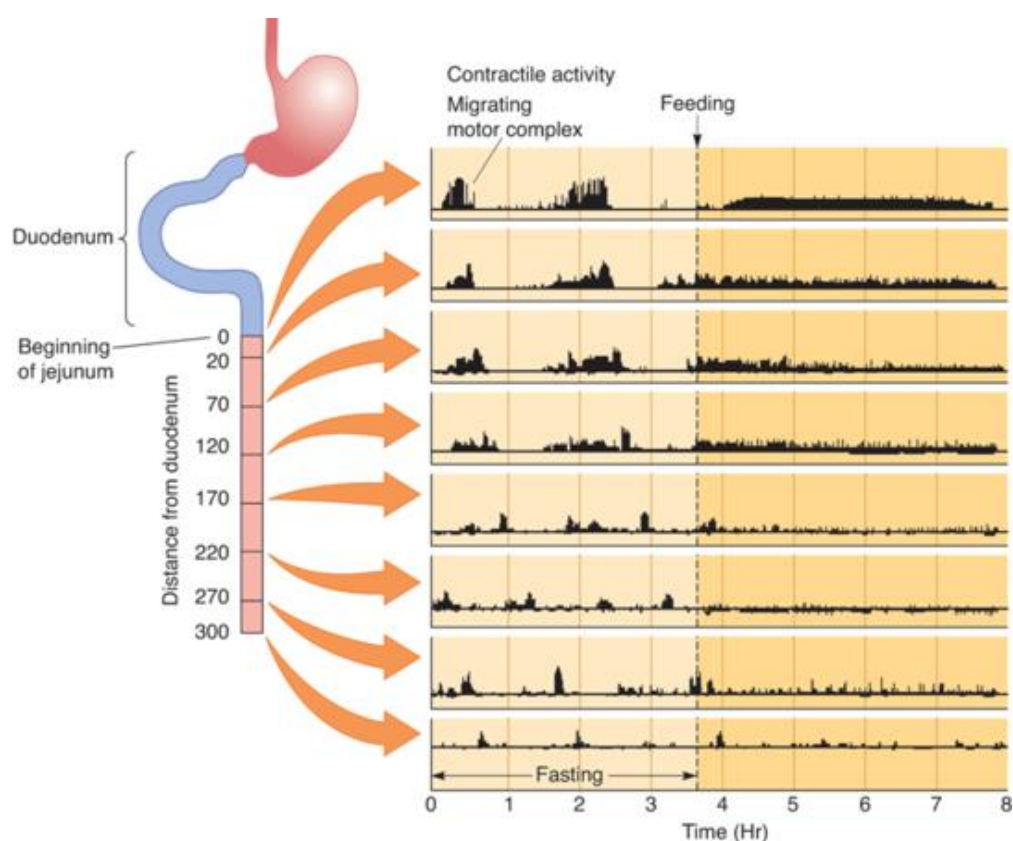


**Figura 14.** Imatge representativa dels diferents trams del budell prim i gruixut.

La distensió duodenal té un paper important en l'inici del CMMI gàstric. En el budell prim les ones lentes van a una freqüència de entre 11-12cpm al duodè i de 7-8cpm a l'ili distal. En dejú els CMMI actuen com s'ha descrit anteriorment, iniciant-se la majoria (71%) a

l'estómac. Tan sols el 50% es propaguen més enllà del jejú mig i arriben a l'íleum distal un 10%. Aquest patró de dejú s'interromp amb la ingesta. Després de la ingesta apareixen contraccions fàsiques a tots els nivells del budell prim.

Mitjançant aquest patró postprandial el buidament intestinal és més ràpid i fluctua menys. La duració de l'estat post ingesta dependrà del tipus i contingut del bolus alimentari. A part d'aquest patró més habitual, també es poden trobar les contraccions migratòries gegants i altres patrons de migració distal.



**Figura 15.** Representació gràfica del patró motor del budell prim (www.lookfordiagnosis.com)

Segons una revisió de trastorns del tracte GI en ancians (82), no s'ha apreciat alteracions clíniques respecte del trànsit intestinal (89), tot i que sí es sap que hi ha alteracions degeneratives amb pèrdua neuronal en el plexe mientèric al llarg del tracte GI tot i que de manera heterogènia (90). Respecte del buidament gàstric hi ha una major tendència a observar un alentiment del buidament (91) amb una disminució de la compliància gàstrica (82) encara que altres autors no han apreciat alteracions ni en el buidament gàstric ni en el

trànsit intestinal avaluats amb gamma càmera (89). En la obesitat mòrbida el trànsit intestinal s'ha descrit com a normal (92) o accelerat (93), existint per tant, certa controvèrsia en aquest tema. Sols en un estudi s'ha estudiat el trànsit intestinal després de la gastrectomia vertical i aquest s'ha trobat accelerat (94).

### **3.2.3.3. Buidament vesicular**

El buidament vesicular comprèn la contracció vesicular i buidament de la bilis de la bufeta biliar al duodè a través del conducte cístic i el colèdoc. El màxim estímul per a la contracció vesicular és l'elevació de la CCK en resposta a la ingesta de proteïnes i greixos i, alhora, aquesta alliberació s'inhibeix amb l'arribada de la bilis al duodè després de la contracció amb el que es coneix com a *feedback* o retroalimentació negativa (62,95,96).

En l'envelliment s'ha descrit una alteració de la funció vesicular que comporta l'aparició de colelitiasi en la gent gran. També s'ha apreciat una davallada en la concentració dels receptors de CCK de la bufeta biliar (97), i més recentment s'ha associat a alteracions a les vies de sensibilització de calci (98), que a més sembla que millora amb tractament amb melatonina. En la obesitat mòrbida ha estat poc avaluat, amb molt poques aportacions publicades i controvertides, que refereixen una contracció normal (99–101) o alterada (102) amb volums vesiculars basals grans.

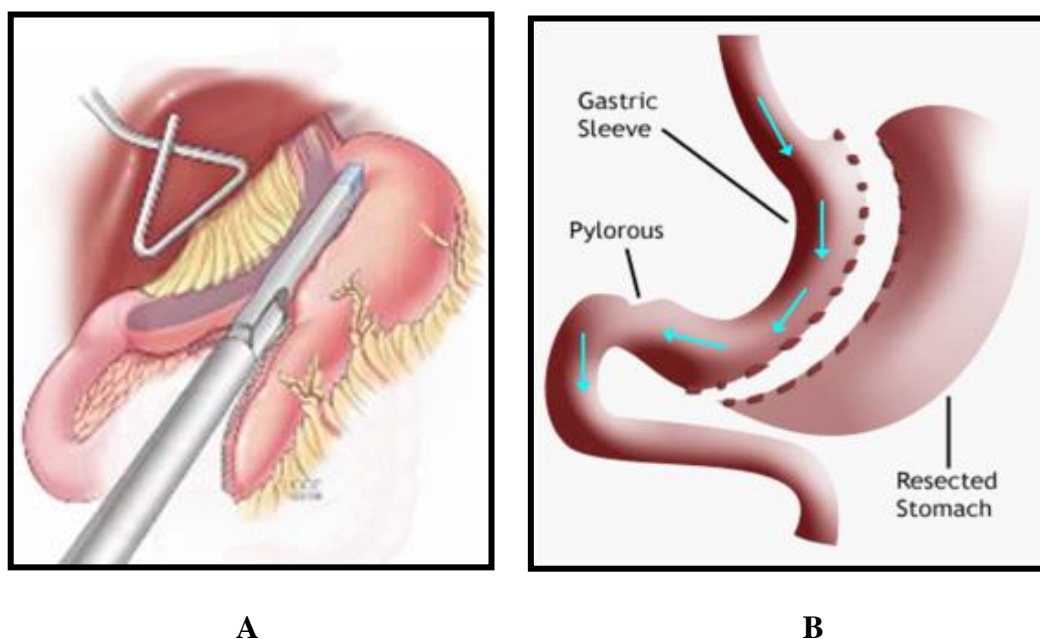
No hi ha estudis que avaluïn el buidament vesicular després de la gastrectomia vertical.



#### 4. Cirurgia bariàtrica. Gastrectomia vertical per laparoscòpia o *laparoscopic sleeve gastrectomy*.

La gastrectomia vertical o *sleeve gastrectomy* és una tècnica de cirurgia bariàtrica que consisteix en seccionar l'estómac al llarg del seu eix longitudinal mitjançant un dispositiu mecànic que realitza el grapat i la secció dels teixits al mateix temps i sobre una sonda de Foucher d'una determinada mida (42F en el nostre centre) per a ajustar-la en quant a la capacitat que tindrà posteriorment.

La línia de secció parteix des dels 5 cm proximals al pílor en sentit ascendent fins a l'angle de His, que s'ha dissecat prèviament, així com també s'ha seccionat la vasculatura de la corba major gàstrica per a poder-ne extreure la peça gàstrica sobrera.



**Figura 16.** Representació gràfica de (A) la secció gàstrica amb dispositiu de sutura mecànic lineal ([www.obesityinindia.com](http://www.obesityinindia.com)) i (B) el trànsit alimentari pel tub gàstric restant.

La gastrectomia vertical és un procediment relativament nou originat com a part d'una altra tècnica quirúrgica anomenada diversió bilio-pancreàtica amb creuament duodenal, de caire malabsortiu. Com a procediment inicial es va descriure el 2003 (103) en pacients als que posteriorment es practicava un bypass gàstric per a disminuir la morbiditat postoperatòria en pacients amb IMC superiors a 50 Kg/m<sup>2</sup>. Actualment és reconegut per la



societat americana de cirurgia metabòlica i bariàtrica com una opció acceptable com a procediment primari i únic (104).

Els estudis a 3-5 anys demostren pèrdues del sobrepès del 55-60%, xifres similars al bypass gàstric. Sembla ser la indicació d'elecció en pacients super-superobesos ( $IMC > 60 \text{ Kg/m}^2$ ) i en pacients d'edat avançada (>65a.) o amb molta comorbiditat ja que té un índex de morbiditat i de mortalitat molt baixos (<10% i <0,5% respectivament) i permet realitzar un bypass gàstric o un diversió bilio-pancreàtica (tipus creuament duodenal) en un segon temps quan el pacient ha perdut pes, si aquesta pèrdua no s'acaba considerant suficient o no han millorat prou les seves comorbiditats. En aquest cas, la gastrectomia vertical suposaria el primer pas d'una cirurgia en dos temps. En pacients d'edat avançada o amb comorbiditats severes es pot recomanar com a intervenció única (104).

Tant la gastrectomia vertical com la banda gàstrica estarien relativament contraindicades en pacients amb reflux gastroesofàgic sever, esofagitis o hèrnia de hiatus gran perquè els resultats respecte del reflux són controvertits en el postoperatori. En una recent meta-anàlisi sobre els resultats de la gastrectomia vertical sobre el reflux gastroesofàgic (105), els autors creuen que actualment sols es pot afirmar que sembla haver una lleugera tendència a una major prevalença de símptomes de reflux després de la cirurgia, però degut a l'heterogeneïtat dels estudis, no es pot concloure res. També apunten a una major prevalença de RGE *de novo* (105).

Per la manca d'estandardització de la tècnica quirúrgica i per la gran varietat de diferents mètodes utilitzats per a mesurar el reflux abans i després de la cirurgia, resulta impossible arribar a cap conclusió i calen estudis amb una anàlisi acurada i basada en mètodes de mesura objectius per a poder arribar a conclusions en un futur.

D'entre els mecanismes que s'estableixen per a la pèrdua de pes després de la cirurgia bariàtrica s'han definit els següents per als tres procediments realitzats amb major freqüència en un estudi recent (Miras-Le Roux 2013) i que es resumeixen en la següent taula.

Paràmetre	Bypass gàstric	Banda gàstrica ajustable	Gastrectomia vertical
Ingesta alimentària	↓	↓	↓
Buidament gàstric	↑ / ↓	↔	↑
Malabsorció macronutrients	Malabsorció greixos mínima	NE	NE
Expressió de pèptids a hipotàlem	NE	NE	↔
Senyalització vagal	Implicada	Implicada	NE
Nivells GLP-1	↑	↔	↑
Nivells PYY	↑	↔	↑
Nivells Ghrelina	↑ / ↓ / ↔	↑	↓
Nivells CCK	↔	NE	↔
Nivells Leptina	↓	↓	↓
Nivells àcids biliars plasmàtics	↑	↔	↑
Microbiota intestinal	Alterada	NE	NE
Consum energètic	↑ / ↓ / ↔	NE	↔
Preferència per aliment	↓ ingesta greix i HC	↔ o ↑ ingesta greix i HC	↔ o ↓ ingesta greix i HC
Freqüència ingesta	↑	↓ / ↔	NE
Recompensa per ingesta	↓	↔ / ↑	↔ / ↓
Aversió algun tipus gust	Demostrada per greixos	NE	Demostrada per greixos

**Taula 4.** Taula adaptada de l'article de Miras and LeRoux, 2013. En ella s'exposen els diversos mecanismes proposats per a la pèrdua de pes després de cirurgia bariàtrica. ↑: augmentat; ↓: disminuït; ↔: sense canvis; NE: No evidència disponible.



## 5. Justificació de la tesi

Els mecanismes fisiològics que controlen la gana i la sacietat són complexes i entrellacen diferents àrees i funcions centrals i perifèriques, de tipus hormonal i de tipus mecànic. Quan aquesta regulació no és l'adequada, poden arribar a produir tant un excés com un dèficit de gana i per tant d'ingesta. Quan aquesta alteració en la regulació és extrema –tan per excés com per defecte–, pot comportar riscos en la salut de les persones.

La prevalença de l'anorèxia de l'ancià (25-30%) i de la fragilitat són elevades, així com també ho és la obesitat mòrbida (6‰), considerada actualment com una epidèmia. No es coneix completament la fisiopatologia d'aquest trastorns. Els costos sanitaris associats a aquestes dues patologies és molt elevat.

En el cas de l'anorèxia de l'ancià, que fins a cert punt és fisiològica -donat que és una característica demogràfica de la nostra població-, si hi ha pèrdua ponderal i desnutrició, es desenvolupen mecanismes que condueixen a la sarcopènia i més enllà converteix l'individu en un ancià fràgil, molt més susceptible de patir malalties associades i una major mortalitat. Es sap que hi ha diferents respostes hormonals (ghrelina, CCK, GLP-1) i motores gastrointestinals (buidament gàstric, contracció vesicular) en els ancians que poden afavorir l'aparició d'aquesta fragilitat, però no queda clar si aquests senyals alterats es deuen a l'edat cronològica en sí o a la fragilitat (edat biològica) que han desenvolupat, donat que per ara els resultats de diferents estudis no són concordants. Una aproximació a l'estudi de l'anorèxia de l'ancià obliga a estudiar de forma simultània aquests canvis i a fer-ho des d'un punt de vista integrat.

La hiperorèxia i l'alteració en la sacietat són factors predisposants a la obesitat mòrbida, que comporta en molts casos una comorbiditat associada i una major mortalitat. Les alteracions hormonals i de la motilitat en aquest grup d'individus no està aclarida del tot i, en alguns casos és força controvertida. El fet que tant les hormones com la motilitat gàstrica i intestinal estiguin connectades de manera important en el control de la gana i la sacietat, fa que sigui important aprofundir en el seu coneixement, sobretot avaluant tots els factors de forma transversal.

En la cirurgia bariàtrica el coneixement més extens està en el bypass gàstric, ja que és la tècnica or en cirurgia bariàtrica i amb més anys d'experiència. En canvi, la gastrectomia vertical té una vida més limitada, tot just comencen a aparèixer estudis que ens parlen de resultats a més de 5 anys i, per tant, la seva fisiopatologia ha estat menys estudiada. Sí que es sap que en general hi ha una sèrie de canvis hormonaals (descens de ghrelina, elevació de GLP-1, elevació CCK), però respecte de la motilitat gàstrica les resultats són controvertits, i no hi ha estudis respecte de la motilitat vesicular que ens puguin donar una idea global de la fisiopatologia d'aquesta intervenció quirúrgica.

Per tot això, creiem que són necessaris més estudis que profunditzin en el coneixement dels mecanismes implicats en l'aparició de l'anorèxia de l'ancià, la fragilitat i la obesitat mòrbida, així com en l'efecte exercit de la gastrectomia vertical sobre aquests últims.

# **HIPÒTESI I OBJECTIUS**



## **HIPÒTESI:**

La sensació de gana i la de sacietat estan regulades de forma integrada per dos grups de factors perifèrics: hormones gastrointestinals i factors relacionats amb la motilitat digestiva. Aquests factors perifèrics es troben alterats en diverses situacions clíniques cada cop més prevalents, en els ancians -especialment en els fràgils-, i en la obesitat mòrbida, així com després d'una gastrectomia vertical com a tècnica quirúrgica bariàtrica.

## **OBJECTIUS:**

Aprofundir en el coneixement de la interrelació existent en els mecanismes fisiològics involucrats en l'anorèxia de l'ancià fràgil i la hiperorèxia de la obesitat mòrbida, especialment en aquells que tenen a veure amb la motilitat gastrointestinal i vesicular i, en aquells relacionats amb la resposta de diferents hormones perifèriques d'origen gastrointestinal, que juguen un paper important tant en el control de la gana i la sacietat, com en el control de la motilitat gastrointestinal, és a dir, la ghrelina, la colecistoquinina i el GLP-1.

### **Objectius específics de l'estudi 1**

1. Determinar si els valors en dejú i postprandials de gana, hormones gastrointestinals orexígenes i anorexígenes, leptina en dejú, resposta motora vesicular i gastrointestinal es veuen modificats per l'edat.
2. Determinar si els valors en dejú i postprandials de gana, hormones gastrointestinals orexígenes i anorexígenes, leptina en dejú, resposta motora vesicular i gastrointestinal es veuen modificats per la fragilitat.

### **Objectius específics de l'estudi 2**

3. Determinar els efectes de la obesitat mòrbida en la gana, sacietat, resposta hormonal gastrointestinal i motilitat gàstrica i vesicular com a resposta integrada després d'un àpat líquid.
4. Determinar els efectes de la gastrectomia vertical en la gana, sacietat, resposta hormonal gastrointestinal i motilitat gàstrica i vesicular com a resposta integrada després d'un àpat líquid.





# **CAPÍTOL 1**



## **CAPÍTOL 1.**

### ***Gastrointestinal Peptides, Gastrointestinal Motility and Anorexia of Ageing in Frail Elderly Persons***

---

#### **Abstract**

**Background:** The mechanisms involved in anorexia in frail elderly people remain unclear. The objective of this study was to establish whether fasting and postprandial levels of gastrointestinal peptides, gastrointestinal motility, and hunger are modified by age and frailty.

**Methods:** Three groups of subjects were studied: (a) frail elderly (>70 years) persons, (b) non-frail elderly (>70 years) persons, and (c) healthy adults (aged 25-65 years). After an overnight fast, participants ingested a 400 Kcal liquid meal and appetite, hormonal, and gastrointestinal responses were monitored during early (0-60min) and late (60-240min) postprandial periods.

**Key Results:** Frail persons showed poor nutritional status, sarcopenia, and almost absence of hunger during fasting and postprandial periods. Older persons presented higher levels of glucose and insulin during fasting, enhanced postprandial CCK release in early postprandial period and postprandial hyperglycemia and hyperinsulinemia, but similar ghrelin levels than younger adults. Ultrasound scan showed that the fasting antral area was higher and antral compliance lower in old persons. The paracetamol absorption test showed enhanced postprandial gastric emptying in the frail. Non-gallbladder contractors showed no CCK peak in younger and non-frail groups but the same high CCK peak as contractors in the frail.

**Conclusions:** Frailty was associated with anorexia, risk of malnutrition and sarcopenia. Frail persons showed impaired gastric motility (larger antral area at rest, impaired antral compliance, and enhanced postprandial emptying), impaired gallbladder motility, and fasting and/or postprandial alterations in CCK, glucose, and insulin release. Further studies are needed to determine if these factors may contribute to anorexia of ageing in frail persons.

## 1. Introduction

Malnutrition is a highly prevalent clinical condition in older populations and has a major impact on morbidity and mortality (8,12,106). Causes of malnutrition in elderly persons are multiple and, among them, alterations in the gastrointestinal tract's control of appetite are thought to play an important role. Changes in gastrointestinal motility and hormone release form the basis of anorexia of ageing (12,18), an independent predictor of mortality in elderly patients (107).

Although the mechanisms that regulate hunger and satiation are not well established, it is known that appetite is regulated at a central level in the hypothalamus (5,108). This central regulation is influenced by peripheral signals such as gut-derived gastrointestinal peptides including ghrelin, cholecystokinin (CCK), glucagon-like peptide-1 (GLP-1), or peptide YY (PYY); and blood levels of leptin, glucose, fatty acids or insulin (10,18,67). Food ingestion releases these hormones and activates gastrointestinal motility with powerful effects on gastrointestinal physiology, in addition to the central function on appetite. Ghrelin is an orexigenic hormone in the control of food intake that enhances gastric emptying (5,18). CCK is a major mediator of satiation at the central level and also delays gastric emptying. Some studies have found higher concentrations of CCK in the elderly than in younger persons (9,67). Recent studies suggest that two peptides released by the distal small intestine, GLP-1 and PYY, play a physiological role in the mediation of suppression of appetite by providing negative feedback to the stomach (5). Insulin has also been described as a satiety hormone (18) and Leptin, secreted from the adipose tissue, has also shown an anorexigenic effect. Increased satiety hormones and reduced ghrelin release might be major causes of anorexia in the frail (15). On the motility side, knowledge of the ageing GI tract and the mechanisms of impaired gastrointestinal motility in the elderly is also incomplete (90). Impaired relaxation of proximal stomach in the elderly might also cause accelerated antral filling and contribute to early satiation (109). Other studies found slow gastric emptying of solid foods, impaired gallbladder contraction and delay in intestinal transit in older populations (110).

Among the elderly, frailty is a specific syndrome of functional decline of multiple systems conferring high risk for falls, disability, hospitalization, and death (23). Nutritional status may be especially affected in the frail but very little is known on the regulation of hunger

and the changes in fasting and postprandial plasma levels of gut hormones or the patterns of gastrointestinal motility in frail elderly patients. We hypothesize that the physiological mechanisms of gastrointestinal hormone release and gastrointestinal motility that regulate appetite can be altered in older populations, especially frail ones, and might be responsible for anorexia which contributes to malnutrition (15,18,111). The aim of the present study was to determine whether fasting and postprandial levels of hunger, orexigenic (ghrelin) and anorexigenic (CCK, insulin and GLP-1) gut peptides, fasting leptin and gastric, gallbladder and intestinal postprandial motility responses are modified by age and frailty.

## 2. Subjects and methods

### Participants

Three study groups were assessed and compared: a) frail elderly (>70 years) persons (group A), b) non-frail elderly (>70 years) persons (group B), and c) non-obese (body mass index [BMI] <30 kg·m<sup>-2</sup>) younger adults (25-65 years of age) (group C). According to Fried criteria, a person was considered frail if he/she had three or more of the following five conditions: a) non-intentional weight loss (>4 kg or 5% of usual weight) or BMI < 19 kg·m<sup>-2</sup>, b) self-reported exhaustion (usual energy <3 in a 0-10 cm visual analogue scale [VAS]), c) poor muscle strength (hand grip measured by a hand held dynamometer <20th percentile: <7kg in women and <14 kg in men), d) slow walking speed (≥7 seconds to walk 4.5 m), and e) poor physical activity (no outdoor life or <0.5 h of outdoor walking daily) (23). Persons older than 70 years were recruited from the Maresme Health Consortium medical centers (Barcelona, Spain), and younger healthy adults were volunteers recruited among hospital workers. Exclusion criteria for any study group were the following: dementia or severe psychiatric disorders, total or partial gastrectomy, cholecystectomy, active neoplasm, anemia (serum hemoglobin level <12 g·dL<sup>-1</sup>), and severe dysphagia. The study protocol was approved by the institutional review board of the *Consorti Sanitari del Maresme*, Mataró, Barcelona (Spain), and all participants signed an informed consent form before inclusion.

### Experimental Design

After a 10 h overnight fast, all participants were given a 200 mL standard liquid preparation meal of 400 Kcal (T diet 20/2, Vegenat, Badajoz, Spain) containing 20.2 g proteins, 15.6 g fat, and 43.4 g carbohydrates. As in other published studies, the standard

meal test was not adjusted by body weight since gastrointestinal peptide response depends on the total meal amount arriving in the gut. Together with this preparation 1.5 g of paracetamol (Laboratorios Gelos, Barcelona, Spain) was given, as well as 10 g of lactulose (Duphalac, Abbot Laboratories, Madrid, Spain). A nurse ensured the complete ingestion of the preparation in less than 5 min. Just before meal intake (time 0) and at 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, and 240 min after meal ingestion, a 15 mL blood sample was obtained from a peripheral vein, and, at the same intervals, hunger was assessed, and gastric and gallbladder motility were studied by an abdominal ultrasound. Expiratory breath test samples were obtained at 15 min intervals since a positive result to assess orocecal transit time. Eating was not allowed during the 4 h postprandial period. Main study parameters were determined at all time intervals: a) hunger perception by means of a 0-10 cm visual analog scale (VAS) ranging from 0 (no hunger at all) to 10 (maximum hunger) (15), b) serum concentrations of ghrelin, CCK, GLP-1, insulin, glucose, and paracetamol, c) gallbladder volume, d) antral gastric area, and e) expiratory H<sup>+</sup> concentration. Fasting leptin was also determined.

### **Measurements**

All hormone measurements were determined using validated, commercialized kits. Total plasma ghrelin concentrations were measured with a human radioimmunoassay (RIA) kit (Linco Research Inc, St Charles, MO, USA). Plasma cholecystokinin (cholecystokinin 26–33) concentrations were measured with a validated commercial human RIA kit (Euro-Diagnostica, Malmö, Sweden). Active GLP-1 plasma levels (GLP-1 [7-36] amida) were determined by RIA (Millipore Corporation, Billerica, MA, USA). Plasma insulin levels were measured by chemiluminescence (Immulite 2000 DPC, Siemens Medical Solutions Diagnostics, Cornella, Spain) using sheep and mouse anti-insulin antibodies. Plasma leptin levels were measured by enzyme-linked immunosorbent assay method (DBC, Diagnostics Biochem Canada Inc). Serum glucose was measured with the commercially-available test kit Gluco-quant enzymatic Hexokinase (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany). Paracetamol was determined using an enzymatic method and colorimetric determinations (Cobas Integra 400 Plus, Roche Diagnostics, Sant Cugat, Spain).

Gallbladder and gastric motility were assessed by repeated ultrasound scans (Hitachi EUB-6500 Digital Ultrasound Scanner, Hitachi Medical Co, Tokyo, Japan). The length, width, and height of the gallbladder were measured in each scan and its volume was estimated according to a validated method that considers the gallbladder to be an ellipsoid cylinder

(95). Gastric compliance and emptying was assessed by two methods: a) by monitoring antral area by ultrasound scanning; and b) by the paracetamol absorption test. Ultrasound has been widely used to assess liquid gastric emptying (112,113) as it correlates well with scintigraphy (114) and is a simple, non-invasive, and well-tolerated method useful in the geriatric population. To measure the antral area (115), the transducer was positioned to obtain a sagittal image of the antrum with the left lobe of the liver, the superior mesenteric vein and the aorta as landmarks (116,117). The first measurement was performed during fasting and the second was performed 5 minutes after onset of meal ingestion and was followed by images at the study intervals. To avoid inter-individual variability in antral size, postprandial areas were normalized to those at basal time (with a value of 100). Ultrasound T50 was defined as the time when antral area decreased to half of its maximum (116). The paracetamol absorption test is also a widely-used technique based on the assumption that the paracetamol (acetaminophen) absorption rate represents the gastric emptying rate because it is rapidly absorbed from the small intestine, with little absorption from the stomach (118). This test has correlated well with scintigraphy when used with liquid meal tests (119). Previous studies have also correlated well between the half time of gastric emptying of liquids and serum paracetamol concentrations at 30 (C30) and 60 (C60) min. The areas under the curve (AUC) are also considered to be a useful index for the rate of drug absorption. Finally, hydrogen breath test was performed at 15 minutes intervals (Gastrolyzer, Bedford Scientific Ltd, Harrietsam, UK). Orocecal transit time (OCTT) reflecting integrated gastric and small bowel transit was defined as the time between ingestion and sustained increase (>5 parts per million, ppm) in expiratory H<sup>+</sup> concentration (120). High H<sup>+</sup> expiratory values before 30 minutes were considered bacterial overgrowth. In those cases breath test were continued at usual intervals and was considered positive when a second peak (increase >5ppm) was observed.

Other study variables included socio-demographic characteristics, comorbidities, functional capacity assessed by the Barthel score, and quality of life assessed by the Euro-QoL-5D<sup>TM</sup> as a measure of health outcome. Nutritional assessment included anthropometric measurements and the short form of Mini-Nutritional Assessment (MNA), a questionnaire validated in the geriatric population to screen for malnutrition (121). A bioelectrical impedance analysis to assess body composition and basal metabolism was also performed (Bioimpedance Analyzer Model BIA101, Akern Srl Florence, Italy); and



hand grip of the non-dominant hand was measured by a hand held dynamometer (Jamar Hand Dynamometer, Lafayette Instrument Co, Lafayette, IN). To complete the nutritional study, some laboratory parameters such as hemoglobin ( $\text{g}\cdot\text{dL}^{-1}$ ), creatinine ( $\text{mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ ), albumin ( $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ), cholesterol ( $\text{mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ ), and C-reactive protein ( $\text{mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ ) were collected.

### **Statistical Analysis**

Sample size was estimated considering paracetamol C60 as main outcome measure. Accepting an alpha risk of 0.05 and a beta risk of 0.2 in a two-sided test, 16 subjects are necessary in each group to recognize as statistically significant a difference greater than or equal to  $5\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  in paracetamol C60 between groups (a common standard deviation was assumed to be  $5\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ).

For the purpose of analysis, three main periods were established: a) fasting period, b) early postprandial phase (0-60 min), and c) late postprandial phase (60-240 min). The AUC during the two postprandial phases were calculated for all study variables. AUC for hunger scores were calculated with respect to the zero value indicating total amount of hunger during this period. Incremental areas under or over the baseline value were calculated for hormone and motility response, indicating a change in relation to base value. For the paracetamol test, the following were considered: increase in paracetamol concentration at 30 min (C30), and AUC at 30 and 60 min. For ultrasound measurements of gastric antrum, absolute and normalized areas were used as well as T50. To explore the feedback loop of CCK release, persons were defined as gallbladder contractors if they reached a postprandial gallbladder volume less than 50% of its fasting volume (97). The OCTT was estimated considering only persons with a positive breath test during the 4-hour study period. To assess the ileal brake, postprandial GLP-1 response was analyzed in those persons with a positive measurement of OCTT, to be sure of the arrival of nutritional load to the distal ileum within the study period.

An initial descriptive analysis of the main characteristics of the study sample was carried out using mean and standard deviation (SD) for continuous variables and percentages for categorical ones. A description of the hunger pattern, gastrointestinal peptides and gastric and gallbladder responses according to specified parameters was given for all groups. In order to assess the effect of age on these parameters, data from Groups A and B (elderly groups) were compared with Group C (younger group). To assess the effect of frailty, Group A was compared with Group B. The chi-square or the Fisher's exact tests were used

to compare proportions between groups. As most variables were not normally distributed and because of the small sample size, non-parametric tests were applied. The Mann-Whitney *U* test or the Kruskal-Wallis test was used to compare means between two or three groups, respectively. To compare the curves of repeated measures between study groups, the general linear model (GLM) was applied. A *p* value less than 0.05 was considered statistically significant.

### **3. Results**

#### **3.1. Demographics, Health and Nutritional Status**

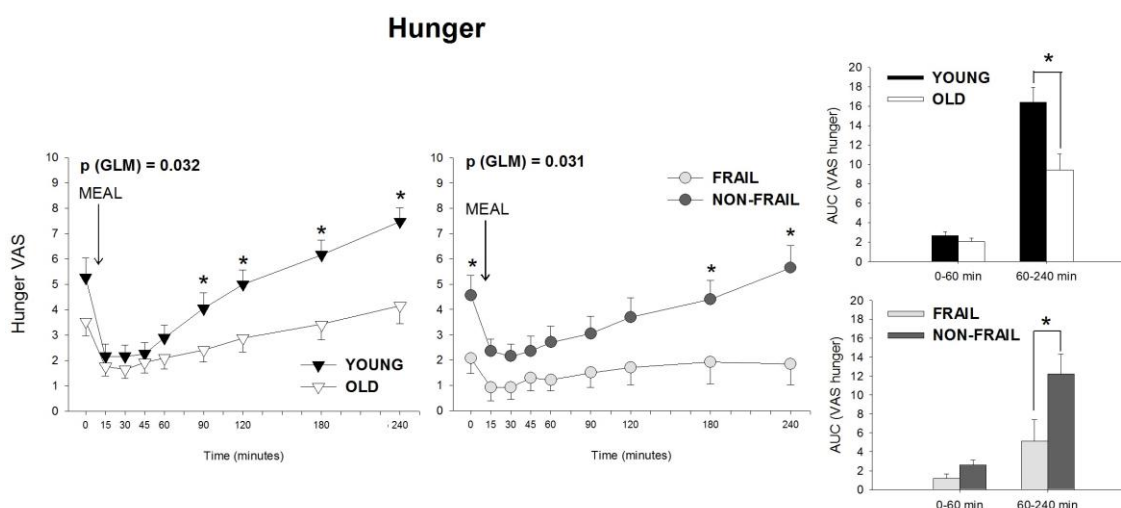
Fifty-three persons were recruited and distributed as follows: 14 in Group A (frail elderly), 20 in Group B (non-frail elderly), and 19 in Group C (younger adults). Table 1 shows main clinical and demographic characteristics of all groups. No elderly subject in the study showed cognitive impairment. No significant differences in main comorbidities were found between frail and non-frail persons, but significant differences were observed in functional capacity and nutritional status between these two groups of elderly persons. Frail elderly persons presented poorer muscle mass, strength, basal metabolism, functional capacity, nutritional status, and overall health status/quality-of-life than non frail elderly persons. No subject in the study was nursing home resident. On the other hand, the prevalence of heart disease, stroke, chronic bronchitis/chronic obstructive pulmonary disease (COPD), and diabetes was higher in the elderly groups as well as the use of benzodiazepines and omeprazole compared with the group of younger adults. Significant differences were also observed in the number of medications between young (0) and old (5.5) groups but not between frail (5.4) and non frail (5.5) groups. Regarding Ca-antagonists, 21.4% of frail subjects, 10% of non-frail subjects and 0 % of healthy young volunteers were taking this type of medication with no significant differences between groups. No other differences were observed in comorbidities and usual treatments between young adults and elderly groups.

**Table 1.** Main Characteristics of the Study Groups

	Group A Frail Elderly n=14	Group B Non-frail, Elderly n=20	Group C Younger Adults n=19	p A vs B	p A+B vs C
Age (years)	84.5 ±5.0	80.7±8.4	38.4±11.0	0.145	<0.001
Sex (% women)	11 (78.6)	7 (35.0)	12 (63.2)	0.012	0.472
Physical examination					
· Weight (kg): - Men	67.5±12.6	74.9±13.5	79.0±10.4	0.642	0.284
- Women	54.3±10.8	68.3±20.5	60.4±8.2	0.079	0.497
· Height (m): - Men	1.63±0.036	1.63±0.046	1.75±0.041	0.951	<0.001
- Women	1.51±0.035	1.54±0.068	1.63±0.077	0.510	<0.001
· BMI: - Men	25.3±4.0	27.8±4.1	25.6±3.4	0.459	0.285
- Women	23.8±4.7	28.3±6.3	22.6±2.4	0.160	0.176
· Walking speed	8.7±1.5	6.5±2.5)	4.6 ±0.9	0.030	<0.001
· Barthel score	63.2±17.3	96.0±8.8	100± 0	<0.001	<0.001
· Outdoor life (%)	5 (35.7)	18 (90.0)	19 (100)	0.002	0.004
· Hand grip: - Men	9.7±9.1	12.4±3.7	31.9±8.3)	0.416	<0.001
- Women	3.8±4.0	7.1±3.0	20.6±6.8	0.032	<0.001
· Nutritional status (MNA):					
- Well-nourished (%)	0 (0)	17 (85.0)	18 (94.7	<0.01	
- At risk of malnutrition (%)	14 (100)	3 (15.0)	1 (5.3)	<0.001	<0.05
· Euro-QoL (VAS)	44.3±24.7	66.0±15.4	89.2±7.5	0.007	<0.001
Body composition					
· % Fat mass	36.1±6.4	35.7±7.2	26.2±7.2	0.847	<0.001
· % Muscular mass	33.7±4.8	37.2±4.4	50.9±6.8	0.044	<0.001
· Basal metabolism (Kcal)	1177.9±131.9	1298.2±310.0	1559.0±221.1	0.006	<0.001
Biochemical					
· Creatinine	1.0 ±0.4	1.0±0.4	0.9±0.2	0.506	0.133
· Cholesterol	191.7± 39.5	175.8±35.6	192.5±23.8	0.270	0.179
· Albumin	4.0±0.5	4.1±0.5	4.5±0.3	0.738	<0.001
· C-reactive protein	1.0±1.0	1.9±3.3	0.2±0.3	1.000	<0.001

### 3.2. Hunger Scores

Fasting hunger scored  $2.1 \pm 2.2$  in frail elderly persons,  $4.6 \pm 3.5$  in non-frail elderly, and  $5.3 \pm 3.4$  in younger adults. Frail elderly persons showed significantly less fasting hunger when compared with the other two study groups, but no significant differences between non-frail elderly and younger adults were found. **Figure 1** shows the VAS curve for hunger in the three study groups. Younger adults experienced higher hunger recuperation than older groups and frail elderly showed poorer hunger recuperation in comparison to non-frail elderly persons. Significant differences were observed in the  $AUC_{60-240 \text{ min}}$  (hunger recuperation phase) between frail and non-frail ( $p=0.032$ ), and younger adults and elderly persons ( $p=0.007$ ) as well as in the overall  $AUC_{0-240 \text{ min}}$  of hunger with  $p=0.049$  and  $p=0.014$ , respectively. These results showed that frail elderly persons presented anorexia both in fasting and late postprandial periods.



**Figure 1.** Mean (SD) visual analog scale (VAS) hunger scores profile during fasting and 4h after a 400-kcal meal test in the study groups (left). Integrated AUC for hunger score during the early (0-60 min) and late (60-240 min) postprandial periods (right). \*  $p < 0.05$ . AUC, area under the curve (in comparison with zero value).

### 3.3. Fasting Leptin

Fasting leptin levels were some higher in elderly subjects in comparison to young adults ( $31.3 \text{ ng/mL} \pm 28.3$  vs  $17.7 \pm 16.4$ ;  $p=0.068$ ), but this difference completely disappeared when adjusting leptin levels for BMI in a multiple linear regression model ( $p < 0.001$  for BMI and  $p=0.489$  for age group). No significant differences in fasting leptin were observed between frail and non-frail subjects ( $24.6 \text{ ng/mL} \pm 28.1$  vs  $36.3 \pm 28.2$ ;  $p=0.101$ ), neither in the bivariate analysis nor when adjusting for BMI. Fasting leptin showed no significant correlation with fasting hunger (VAS) in any group, but showed a positive correlation in

the frail and non-frail groups with BMI ( $r_s=0.745$ ;  $p=0.002$ , and  $r_s=0.553$ ;  $p=0.014$ , respectively). In frail, non-frail and young groups leptin was positively correlated with fat mass ( $r_s=0.802$ ;  $p=0.001$ ,  $r_s=0.571$ ;  $p=0.011$ , and  $r_s=0.625$ ;  $p=0.007$ , respectively) and negatively correlated with percentage of fat free mass ( $r_s=-0.758$ ;  $p=0.002$ ,  $r_s=-0.472$ ;  $p=0.041$ , and  $r_s=-0.600$ ;  $p=0.011$ , respectively).

### **3.4. Postprandial Gastrointestinal Hormone and Glucose Response**

**Figure 2** shows the curves of ghrelin, CCK and GLP-1 and **Figure 3** the curves of insulin and glucose for the three study groups.

#### **Ghrelin**

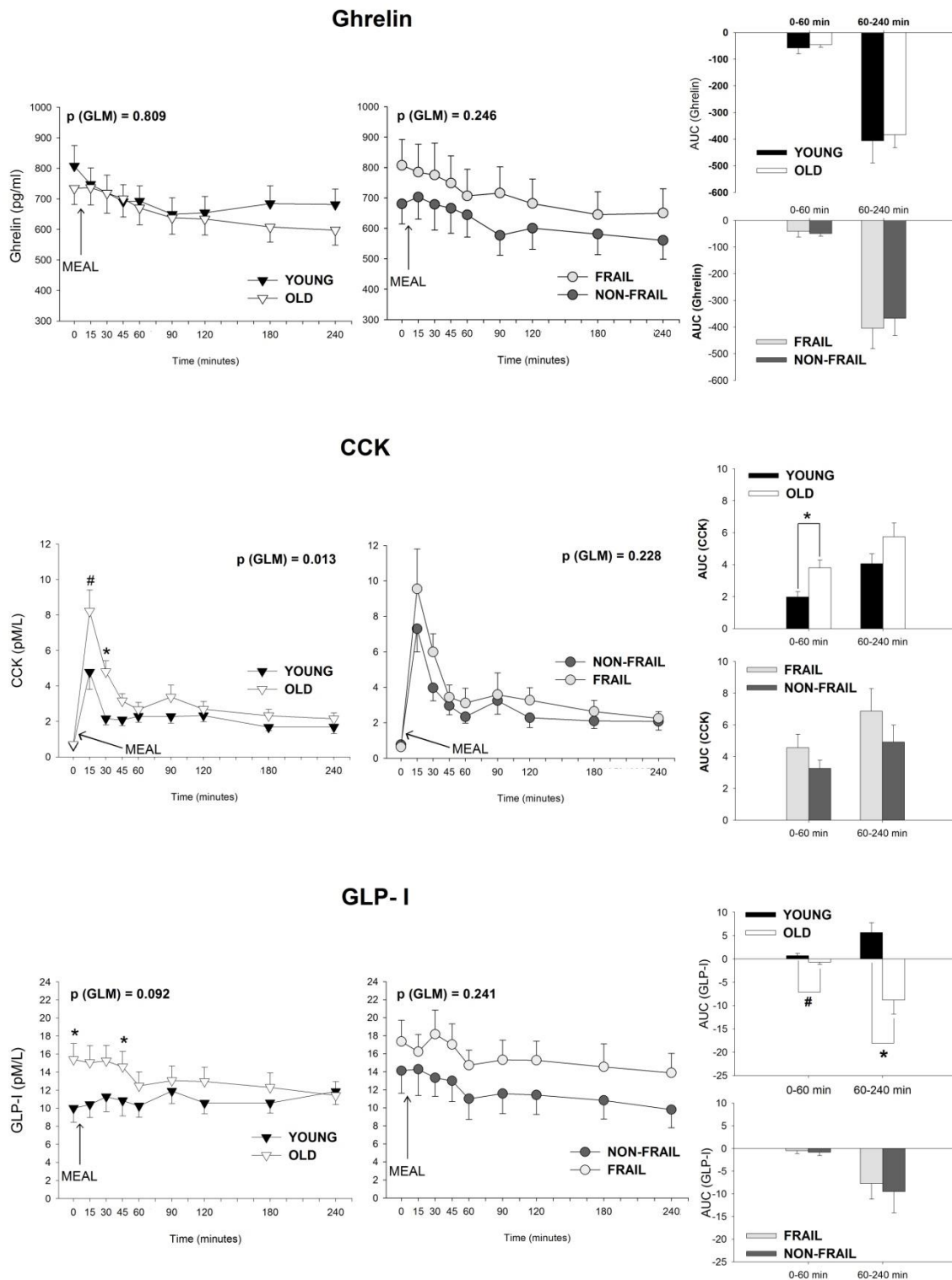
Fasting ghrelin levels were similar in all study groups, with mean values of  $807\pm 317$  pg/mL in frail persons,  $681\pm 286$  pg/mL in non-frail elderly, and  $807\pm 294$  pg/mL in younger adults. Ghrelin levels slightly decreased after meal ingestion in all groups but statistically significant differences were not observed between groups.

#### **CCK**

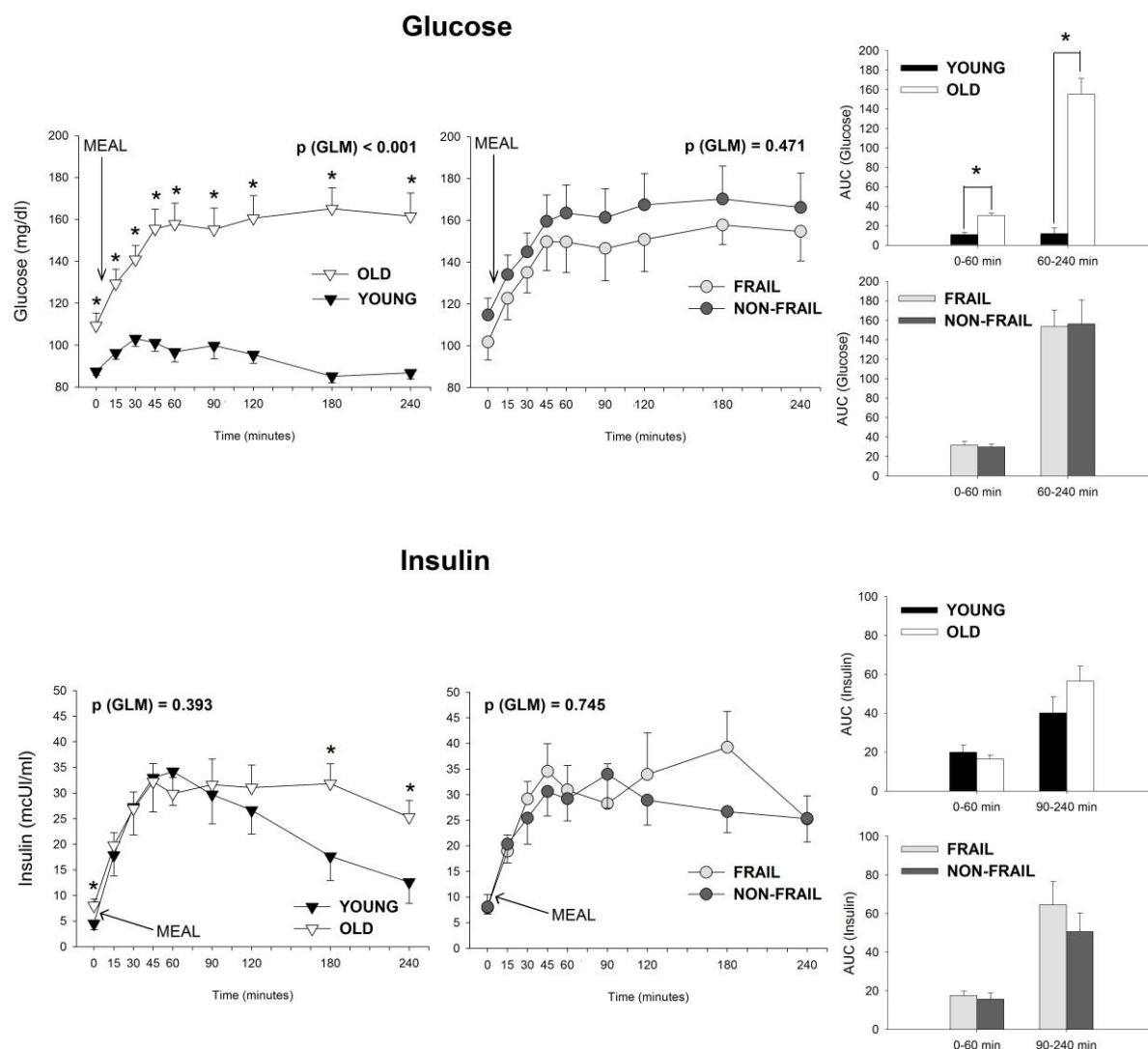
Fasting CCK levels were similar in all three study groups ( $<1$  pmol·L<sup>-1</sup>). A common profile with an early postprandial peak of CCK 15 min after ingestion and a rapid normalization during the first postprandial hour was observed in all groups (Figure 2). The GLM analysis and AUC<sub>0-60 min</sub> showed no differences between frail and non-frail elderly persons, but there were significantly increased postprandial CCK levels in elderly persons when compared to younger adults ( $p=0.013$  and  $p=0.006$ , respectively).

#### **GLP-1**

Fasting GLP-1 concentrations were 14.8 pM/L (7.9) in the frail vs 11.9 (7.9) in the non-frail ( $p=0.184$ ) and 13.1 (7.9) in the old groups vs 10.3 (6.4) in the younger group ( $p=0.197$ ). However, when considering those persons with a positive breath test within the study period, fasting and early postprandial GLP-1 levels were enhanced in the elderly in comparison to younger adults (Figure 2). Moreover, younger adults presented a slight increase of GLP-1 in the late postprandial period, whereas GLP-1 release remained suppressed in the elderly. No differences in fasting or postprandial GLP-1 profiles were found between frail and non-frail persons.



**Figure 2.** Gastrointestinal hormone response. Ghrelin, CCK and GLP-1 fasting levels and postprandial profiles (left); and integrated release during the early (0-60 min) and late (60-240 min) postprandial periods (right). For GLP-1, only persons with a positive breath test are considered. \*  $p < 0.05$ . AUC, area under the curve (as compared with baseline value).



**Figure 3.** Effect of age and frailty on fasting and postprandial glucose and insulin profiles (left) and on integrated release of insulin during the early (0-60 min) and late (60-240 min) postprandial periods (right). \* p<0.05. AUC, area under the curve (as compared with baseline value).

### Glucose and Insulin

Elderly individuals showed higher fasting glucose levels compared with younger adults (109.4±34.7 vs 87.5±7.9 mg/dL; p=0.005), and differences between frail and non-frail elderly were not observed (101.8±31.9 vs 114.7±36.3 mg/dL; p=0.151). Younger adults experienced a slight increase in serum glucose levels during the early postprandial period and a progressive decrease afterwards, maintaining postprandial levels below 110 mg/dL during the 4 h study period (**Figure 3**). In contrast, elderly persons showed a higher increase in glucose levels during the early postprandial period and a sustained



hyperglycemia (>150 mg/dL) during the late postprandial phase. No differences in glucose response was observed between the frail and non-frail elderly groups but very significant differences were found between younger adults and elderly persons in early and late postprandial periods. Elderly persons show significantly higher fasting insulin levels than younger adults ( $8.0 \pm 7.5$  vs  $4.5 \pm 5.3$  mcU·mL<sup>-1</sup>;  $p=0.034$ ), but no differences were observed between frail and non-frail elderly ( $7.9 \pm 9.4$  vs  $8.1 \pm 6.0$  mcU·mL<sup>-1</sup>;  $p=0.342$ ). After ingestion, insulin values peaked during the first postprandial hour in all groups and then decreased progressively during the late postprandial period (60-240 min) in younger adults but remained high in both groups of elderly persons. Insulin concentrations were significantly lower in younger adults than in elderly persons at 180 and 240 min, but no differences between the frail and non-frail elderly groups were found (Figure 3).

### 3.5. Postprandial Gastrointestinal Motility

#### Gastric Motility

Ultrasound showed reduced fasting antral area in younger adults ( $290.2 \pm 118.7$  mm<sup>2</sup>) when compared with elderly groups ( $379.5 \pm 111$  mm<sup>2</sup>,  $p=0.006$ ). Significant differences in gastric antral area were also observed between frail and non frail elderly ( $326 \pm 91$  vs  $418 \pm 110$  mm<sup>2</sup>;  $p=0.045$ , respectively). Following meal test ingestion, increase in antral area with respect to basal fasting state was higher in younger persons vs both groups of elderly in the early and late postprandial periods suggesting poor gastric compliance in older persons (Figure 4). Ultrasound T50 was  $28.8 \pm 23$  min in frail persons vs  $35.8 \pm 28$  min in non-frail persons ( $p=0.323$ ) and  $32.9 \pm 26$  min in elderly groups vs  $43.9 \pm 29$  min in younger adults ( $p=0.065$ ). Increased paracetamol concentration at 30 min (C30) was  $4.9 \pm 3$  µg·mL<sup>-1</sup> in the frail vs  $3.2 \pm 7$  in non-frail ( $p=0.017$ ) and  $3.9 \pm 6$  in the elderly vs  $2.8 \pm 3$  in the younger group ( $p=0.809$ ). C60 was  $9.0 \pm 10$  µg·mL<sup>-1</sup> in the frail vs  $3.1 \pm 4$  in non-frail ( $p=0.008$ ) and  $5.5 \pm 8$  in the elderly vs  $5.6 \pm 2$  in younger adults ( $p=0.303$ ). These results, together with the AUC<sub>0-60</sub> and AUC<sub>60-240</sub> presented in Figure 4, suggest an enhanced gastric emptying speed for liquids in the frail elderly in both early and late postprandial periods.

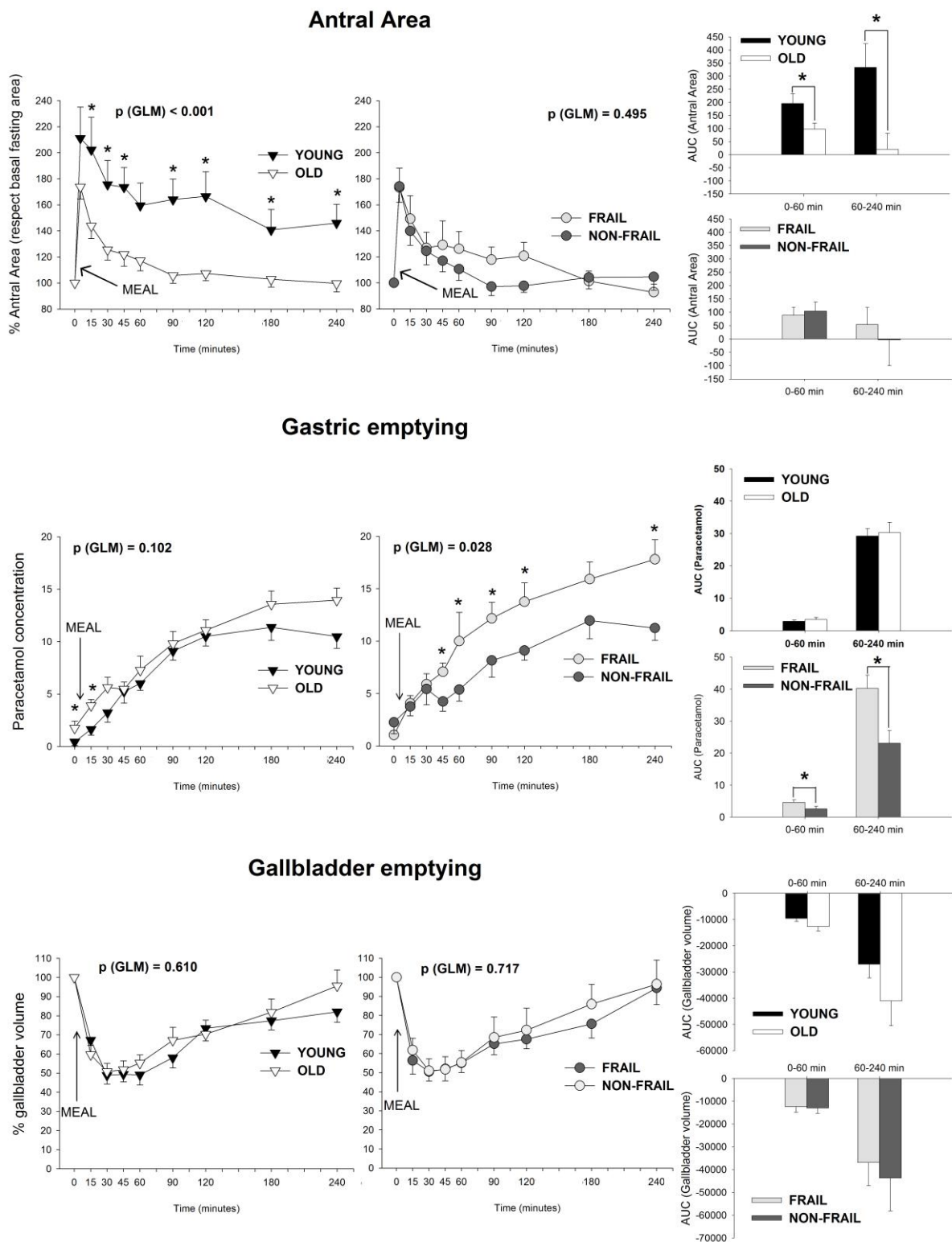


### **Gallbladder Motility**

No significant differences were observed in fasting gallbladder volume between groups: 38.4±5 mL in frail elderly, 44.9±3 mL in nonfrail elderly and 31.6±2 mL in younger adults. The GLM analysis and comparisons of AUCs show no differences in the gallbladder emptying curve between groups. Prevalence of persons with reduced gallbladder emptying (noncontractors, <50% of emptying) was also similar between groups; 23.1% in the frail, 35.0% in nonfrail and 32.1% in younger adults. However, the mechanisms of impaired gallbladder contraction in these persons differed among groups. Younger adults and non-frail elderly “noncontractors” showed a reduced CCK peak (1.4±0.7 and 4.0±3 pmol·L<sup>-1</sup>) when compared with that of “contractors” of the same groups (5.7±4 and 9.1±6 pmol·L<sup>-1</sup>) suggesting impaired gallbladder contraction secondary to poor CCK release. In contrast, frail elderly persons, both “contractors” and “non contractors,” presented higher and similar peaks of CCK (8.7±8 and 7.5±6 pmol·L<sup>-1</sup>, respectively) suggesting appropriate CCK release and impaired contraction caused by peripheral resistance to CCK in the gallbladder.

### **OCTT**

Time to a positive breath test (>5ppm H<sup>+</sup> increase) suggesting arrival of food to the cecum was similar among study groups; 114±48 min in frail elderly, 125±39 min in nonfrail elderly and 138±42 min in younger adults. High H<sup>+</sup> expiratory values in early stages with an early H<sup>+</sup> peak suggesting bacterial overgrowth was observed in 50.0% of cases in the older groups and in 35.3% in the younger group.



**Figure 4.** Gastrointestinal motility. The upper graphic shows gastric motility assessed by fasting and postprandial profiles of normalized antral areas; The middle graph shows gastric emptying assessed by the paracetamol absorption test; and the lower graph exhibits gallbladder emptying (% of initial volume) induced by the test meal. Right bars depict integrated motor responses during the early (0-60 min) and late (60-240 min) postprandial periods. \*  $p < 0.05$ . AUC, area under the curve (as compared with baseline value).

#### **4. Discussion**

Frail elderly patients presented anorexia characterized by diminished hunger during fasting and almost no hunger during the postprandial period. The pathophysiology of this anorexia in frail elderly patients might be related with increased gut satiety hormones and impaired gastrointestinal motility during fasting and postprandial periods. Frail elderly patients in the present study were at risk of malnutrition with reduced weight and muscular mass and impaired physical function, fulfilling all criteria of the frail phenotype (23), which are associated with increased likelihood of institutionalization, illness, and increased mortality (122). To our knowledge, this is the first study to explore the two main groups of peripheral gastrointestinal mechanisms -hormones and motility- related to appetite control during fasting and postprandial periods in frail elderly patients. Gastrointestinal motility simultaneously monitored in studies assessing the postprandial profiles of these gut regulatory peptides allows a better interpretation of their effects on hunger and satiety and only low invasive methods such as ultrasonography or breath tests selected in the present study should be used in these highly vulnerable patients (120). Non-frail older persons presented higher fasting and postprandial hunger values than frail persons, and younger adults showed greater hunger recuperation after ingestion in comparison to older persons, giving us the opportunity of analyzing three different hunger profiles in three phenotypes of patients differing by age and frailty. In relation to the differences observed between groups in body composition, our results agree with those in the scientific literature. A characteristic condition in ageing is loss of lean body mass while fat mass is preserved or even increased. Age-related changes in body composition usually include an increase in the percentage of fat mass which can be attributed to an accelerated decrease in lean or muscle mass, reduced physical activity, reduced GH secretion, diminished sex hormones release or decreased metabolic rate (55,123). All these factors are more accentuated in the frail.

In a previous study, we explored the effect of age and frailty on total ghrelin and CCK responses to a different meal test, and found low ghrelin concentrations in older persons and a loss of ghrelin postprandial response in frail elderly patients (15). In contrast, in the present study, no significant differences have been observed between frail and non-frail and between younger and old adults regarding total ghrelin levels, suggesting that ghrelin does not play a major role in determining fasting and postprandial hunger. It's known that

only acylated ghrelin acts as an orexygenic signal. Total and acylated ghrelin curves are quite parallel over a 4 hour postprandial period suggesting that acylated ghrelin remains a constant fraction over this short period of time. Thus, if no differences were found in total ghrelin between groups there will probably not be such differences in acylated-ghrelin, either. Studies have compared fasting and postprandial ghrelin levels in aged and younger populations with no concordant results (15,55,67,124–127). Discrepancies may be due to the use of different designs, analytical methods, patient profile (age, gender, BMI, frailty) or to the use of different study meals. Ghrelin seems to be a long term regulator of body weight rather than a short term orexygenic signal (52,128). In contrast, CCK is widely accepted as a strong anorexigenic gastrointestinal hormone and a major mediator of anorexia of ageing (9,67,129). In the present study, a higher postprandial peak of CCK was observed in elderly persons in comparison to younger adults and a trend for even higher peak values of CCK was observed in frail elderly persons. The enhanced CCK release observed in older persons might mediate the anorexia in the early postprandial period, but not in fasting or the late postprandial phases and its anorexigenic effect does not seem to be mediated by a delay in gastric emptying as this was faster in frail patients. CCK is mainly produced in the duodenum and proximal jejunum in response to the delivery of nutrients from the antrum, so enhanced gastric emptying may contribute to the higher peak of CCK observed in the present study in frail elderly patients. As bile concentration in the duodenum strongly inhibits CCK closing a feedback loop regulatory mechanism, gallbladder emptying capacity is also one of the main determinants of postprandial plasma CCK levels (130). A study from Di Francesco (67) reported elevated postprandial CCK levels that might inhibit hunger in a group of elderly persons showing impaired gallbladder contraction, a result very similar to that we found in our frail elderly patients. In the present study, frail elderly patients with impaired gallbladder emptying presented a higher postprandial CCK peak showing decreased gallbladder sensitivity to CCK probably caused by a reduction in the population of CCK receptors (97,131). Low affinity CCK-A receptors located at vagal afferent fibers transmit the peripheral CCK signals to the CNS to mediate satiety, as CCK cannot penetrate the blood brain barrier (132). Taken together these results suggest that high plasma CCK concentrations caused by enhanced gastric emptying and impaired gallbladder contraction and acting at vagal afferents might participate in the low early postprandial hunger values observed in frail older patients in our study. Hyperglycemia is another factor that could contribute to fasting and postprandial

anorexia (18). Blood levels of glucose directly regulate hunger and satiety control centers and can also impair gastrointestinal motility (10). The increased insulin levels of elders might be related to insulin resistance related to an increase in fatty mass or adiposity in older population (133–135). In physiological conditions, increased insulin concentrations refer the presence of a positive energy balance to the hypothalamus and cause direct central satiety sensation and/or amplify leptin and inhibit ghrelin pathways (10). Leptin, which is secreted by peripheral fat cells, might also play a central role in these mechanisms of anorexia in elderly persons (12). Finally, we found a trend towards elevated GLP-1 levels in fasting and early postprandial periods in elderly patients. GLP-1 is released by the distal intestine and increases in the late postprandial period in younger persons, as a part of the ileal brake. GLP-1 is considered a strong anorexigenic signal with its insulinotropic properties and direct action on satiety center in the brain and may be also involved in anorexia during these early phases in older persons (10) and contribute to fasting increase of the antral area (80).

Impaired gastric motility and disturbed gastric emptying might also play a relevant role in the anorexia of ageing by several complex mechanisms. First, enhanced fasting antral area –suggesting an increase in antral volume causing distention- might be involved in triggering fasting anorexia, as observed in patients with functional dyspepsia or diabetes (117). Second, impaired fundic NO synthesis leads to reduced adaptative relaxation in older persons causing satiation and also causing food to pass more rapidly from the fundus into the antrum and cause a more rapid antral filling (12). Third, reduced antral compliance also enhances gastric emptying of liquids, contributing to early postprandial anorexia (12). And finally, delayed gastric emptying of solids may also cause prolonged postprandial satiety (10). It is thought that these gastric mechanisms are very relevant in the postprandial anorexia of older people given that when nutrients are infused intraduodenally the decrease in hunger in older persons is less pronounced (12). The three main mechanisms of impaired gastric motility in the frail elderly patients were enhanced fasting antral area, poor postprandial antral compliance and enhanced gastric emptying rate during early postprandial period. Impaired antral accommodation might also contribute to satiation in our patients (117) as well as enhanced gastric emptying rate that causes fast delivery of nutrients to the small intestine, also causing postprandial anorexia. Finally, although OCTT were similar in all three study groups, 50% of older persons presented

intestinal bacterial overgrowth suggesting impaired intestinal clearance. This might be caused by decreased frequency of contractions after eating and reduced frequency of propagated clustered contractions described in older persons (136). The physiological significance of these intestinal findings in elders is uncertain although they are similar to those observed in dyspeptic patients and patients with IBS with early satiety (137). Moreover, the high prevalence of bacterial overgrowth in the elderly might be related with the high use of PPI in this group. The present study also presents some weaknesses such as a limited sample size and statistical power for some comparisons between groups, and the difficulty to adjust or control for a great number of possible socio-cultural, psychological, co-morbidities, medications and other factors that can also influence or determine hunger. Drugs were not considered exclusion criteria in order to avoid a “hyper-selected” and non-representative sample in aged groups, but some differences in medication were observed between young and old subjects in IPP or Ca-antagonists which may partially explain differences in gastrointestinal motility. Other limitations are the different sex distribution between frail and non-frail groups, the observer-dependent of ultrasound measurements and those limitations of the accuracy of breath test as a method to assess intestinal transit.

In summary, elderly subjects especially frail individuals present diminished hunger and also some alterations in gastrointestinal hormone release and motility. These alterations include enhanced postprandial gastric emptying for liquids and impaired gallbladder contraction in the frail and high levels of fasting glucose and insulin (and a trend for GLP-1) and increased fasting antral area, enhanced postprandial CCK release, postprandial hyperglycemia and hyperinsulinemia, and reduced antral compliance. Although all these changes in aged subjects may be related with the anorexia of ageing, still further efforts are needed to translate the observed changes in peripheral gastrointestinal signals into therapeutic strategies to help prevent anorexia and under-nutrition during ageing.



## **CAPÍTOL 2**





## **CAPÍTOL 2.**

### ***Sleeve gastrectomy effects on hunger, satiation and gastrointestinal hormone and motility responses after a liquid meal test.***

---

#### **Abstract**

**Background:** The relationship between hunger, satiation and integrated gastrointestinal motility and hormonal responses in morbidly obese patients after sleeve gastrectomy has not been determined.

**Objective:** To assess the effects of sleeve gastrectomy on hunger, satiation, gastric and gallbladder motility and gastrointestinal hormone response after a liquid meal test.

**Design:** Three groups were studied: morbidly obese patients (n=16), morbidly obese patients who had had sleeve gastrectomy (n=8), and non obese patients (n=16). The participants fasted for 10 hours then consumed a 200-mL liquid meal (400 kcal + 1.5 g of acetaminophen). Fasting and postprandial hunger, satiation and hormone levels and gastric and gallbladder emptying were measured several times over four hours.

**Results:** No differences were observed in hunger and satiation curves between morbidly obese and non obese groups; however, sleeve gastrectomy patients were less hungry and more satiated than the other groups. Antrum area during fasting in morbidly obese patients was significantly larger than in the non obese and sleeve gastrectomy groups. Gastric emptying was accelerated in the sleeve gastrectomy group compared to the other two groups (which had very similar results). Gallbladder emptying was similar in the three groups. Sleeve gastrectomy patients showed the lowest ghrelin concentrations and higher early postprandial cholecystokinin and glucagon-like peptide-1 peaks than the other participants. This group also showed an improved insulin resistance pattern compared to morbidly obese patients.

**Conclusion:** Sleeve gastrectomy seems to be associated with profound changes in gastrointestinal physiology that contribute to reducing hunger and increasing sensations of satiation. These changes include accelerated gastric emptying, enhanced postprandial cholecystokinin and glucagon-like peptide-1 concentrations and reduced ghrelin release, which together may help patients lose weight and improve their glucose metabolism following surgery.

## 1. Introduction

Morbid obesity constitutes a major health problem, given the growing prevalence, associated co-morbidities and increased risk of death (28). Bariatric surgery — currently the only effective approach to achieving major, long-term weight loss in morbidly obese individuals — ensures longer survival and resolution or better control of comorbidities (27). A commonly-used bariatric procedure is sleeve gastrectomy (SG), in which the fundus and a large part of the stomach are excised and stapled into the form of a vertical tube. How exactly this procedure affects hunger, food intake and satiation is unclear, although it is known to alter hormone responses (138) and gastrointestinal motility.

Subjective hunger sensation needs to be distinguished from food intake capacity, as obese people can ingest large quantities of calories and food yet not feel truly hungry (1). Satiation (5) has been associated with fasting gastric volume, gastric emptying and upper gastrointestinal motility (139). Although studies have suggested that SG accelerates gastric emptying (94,140,141), this is a controversial issue. Meanwhile, gallbladder motility in obese individuals is generally believed to be impaired, although few studies confirm this (99).

Regarding gastrointestinal hormones, three peptides in particular are of interest in morbidly obese (MO) patients before and after surgery: ghrelin, with an orexigenic effect, and cholecystokinin (CCK) and glucagon-like peptide-1 (GLP-1) with anorexigenic effects. Ghrelin stimulates gastrointestinal motility; mainly produced in the stomach, it plays a major role in long-term weight control and short-term meal initiation (142). In people with normal body mass index (BMI), blood concentrations of ghrelin rise and fall before and after eating (143), respectively; however, concentrations tend to remain high in underweight people and low in obese people (142). CCK is secreted in the duodenum and proximal jejunum in response to food intake. CCK delays gastric emptying, inhibits food intake and promotes gallbladder contraction and exocrine pancreatic secretion. Bile salts released by the gallbladder in the duodenum inhibit CCK production as negative feedback (62). GLP-1 is released primarily from the distal small bowel (L-cells). Its main function is regulation of plasma blood glucose concentrations, referred to as the incretin effect. It also inhibits gastric emptying and gastric and pancreatic secretions and is also thought to mediate the ileal brake (144). Glucose homeostasis is also frequently altered in morbidly obese persons, who tend to have high glucose and insulin concentrations mainly due to

insulin resistance. The effects of SG on some of these gastrointestinal peptides have been studied in humans (72,145) but, do not address how SG affects gallbladder motility nor the integrated relationship between post-procedure gastric motility and hormone responses.

Our aim was to assess the effects of SG on hunger, satiation, gastrointestinal hormone response and gastric and gallbladder motility as an integrated response after a liquid meal test.

## 2. Patients and Methods

Three groups were compared: a control group of non obese persons (NOB, with BMI < 30Kg/m<sup>2</sup>), a morbidly obese group (MO) of patients who fulfilled bariatric surgery criteria (29) and a group of patients who had undergone laparoscopic sleeve gastrectomy (SG) at least six months previously. All individuals were recruited at the Hospital de Mataró, Consorci Sanitari del Maresme, (Mataró, Barcelona, Spain) and the experiment was performed in our laboratory for four hours, after which patients were discharged. There was no further follow up except for the standard procedure for the SG group. The SG technique had been performed laparoscopically by dividing the vascular supply of the greater curvature of the stomach from a point measured at a distance of 5 cm from the pylorus to the left crus of the diaphragm; here the stomach was sectioned close to a 42 French bougie (inserted per orally by the anaesthetist) using a linear stapler. Exclusion criteria were previous cholecystectomy or partial gastrectomy.

Experimental design has been described by our group elsewhere (146). Briefly, after a 10-hour overnight fast, participants in all three groups were given 200 mL of a standard liquid 400-Kcal meal (T-Diet 20/2, Vegenat, Badajoz, Spain) containing 20.2 g proteins, 15.6 g fat and 43.4 g carbohydrates. Participants were also administered 1.5 g of paracetamol (Laboratorios Gelos, Barcelona, Spain) to monitor gastric emptying, and 10 g of lactulose (Duphalac, Abbot Laboratories, Madrid, Spain). A nurse ensured complete ingestion of the liquid meal in five minutes. Before food intake and at 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180 and 240 minutes after intake, hunger, satiation and gastric and gallbladder motility were assessed and blood was sampled to determine ghrelin, CCK, GLP-1, acetaminophen (the absorbed metabolite of paracetamol), glucose and insulin concentrations.

The study protocol was approved by the institutional review board of the Hospital de Mataró, Consorci Sanitari del Maresme (Mataró, Barcelona, Spain). All participants gave their written informed consent before inclusion.

### **Measurements**

Study variables included socio-demographic characteristics, comorbidities, body composition, baseline metabolism — assessed by bioelectrical impedance analysis (Bioimpedance Analyzer Model BIA101, Akern bioresearch Srl, Pontassieve, Florence, Italy) — and quality of life — assessed by the Euro-QoL-5D generic quality-of-life questionnaire ([www.euroqol.org](http://www.euroqol.org)). Hunger and satiation perceptions were measured by means of a 10-cm visual analogue scale, where 0 indicated no hunger/satiation and 10 indicated total hunger/satiation (146).

Hormone concentrations were measured using validated, commercialized, human radioimmunoassay kits as follows: total plasma ghrelin concentrations (Linco Research Inc); plasma CCK (cholecystokinin 26–33) concentrations (Euro-Diagnostica, Malmö, Sweden); and active GLP-1 plasma concentrations (GLP-1 [7-36] amide, Millipore Corporation, Billerica, MA, USA). Plasma insulin concentrations were measured by chemiluminescence (Immulite 2000 DPC, Siemens Medical Solutions Diagnostics, Cornella, Spain) using sheep and mouse anti-insulin antibodies. Serum glucose was measured with the commercially available Gluco-quant Enzymatic Hexokinase test kit (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany). Blood acetaminophen concentrations were determined using an enzymatic method and colorimetric determinations (Cobas Integra 400 Plus, Roche Diagnostics, Sant Cugat, Barcelona, Spain).

Gallbladder and gastric motility were both measured using ultrasound (Hitachi EUB-6500 Digital Ultrasound Scanner, Hitachi Medical Co, Tokyo, Japan). Gallbladder volume was calculated by measuring length, width and height of the gallbladder using a validated method that considers the gallbladder as an ellipsoid cylinder and evaluates gallbladder emptying by sequential volume measurements (146). The gastric antrum area (sagittal image) was measured by positioning the transducer in the epigastric area and using the left lobe of the liver, the superior mesenteric vein and the aorta as landmarks (116). The first ultrasound measurement was made during fasting, the second was made five minutes after the subject commenced meal ingestion, and further measurements were made at the same time points as for blood samples (15, 30, 45, 60, 90, 120, 180 and 240 minutes after

intake). Antral gastric compliance was defined as the percentage increase in the antral area five minutes after meal ingestion, with increases adjusted to a baseline value of 100 to account for inter-individual variability. Gastric emptying was assessed using the paracetamol absorption test, widely used because the absorption rate for acetaminophen — rapidly absorbed from the small intestine, with no absorption from the stomach — reflects the gastric emptying rate (118). Previous studies (119) have demonstrated a good correlation between gastric emptying half-times for liquids and serum acetaminophen concentrations at 30 and 60 minutes.

### **Statistical analyses**

For statistical analysis purpose, three main periods — fasting, early postprandial (0-60 min) and late postprandial (60-240 min) — were established. Area under the curve (AUC) for the two postprandial periods was calculated for all study variables (with respect to zero for hunger and satiation scores). Incremental areas under or over the baseline value were calculated for hormone and motility responses (146). Gastric emptying (paracetamol absorption test) was evaluated by measuring concentration increases at 30 minutes and AUC at 60 minutes. Absolute and relative percentage values were used for ultrasound measurements of the gastric antrum (146). To explore the CCK release feedback loop, gallbladder contractors were defined as individuals with a postprandial gallbladder volume below 50% of fasting volume in the first 60 minutes after food intake (96). Accepting an alpha risk of 0.05 and a beta risk of 0.2 in a one-sided test, 13 subjects are necessary in any group to recognize a difference greater than or equal to one unit as statistically significant in the satiation VAS score, assuming a common standard deviation of one unit and a 0% drop-out rate. Continuous variables were described using mean ( $\pm$ SD) values and categorical variables were expressed as percentages. Hunger, satiation, gastrointestinal peptide values and gastric and gallbladder responses were assessed by comparing groups as follows: the NOb and MO groups were compared to assess the effects of obesity; the MO and SG groups were compared to assess the effects of surgery; and the SG and NOb groups were compared to assess the extent to which parameters reverted to normal. The chi-square or Fisher's exact tests were used to compare proportions between groups. Non-parametric tests were used because of the non-normal distribution of the variables and the small sample size. The Mann-Whitney U test was used to compare medians between two groups. The general linear model was used to compare curves for repeated measurements between

the three study groups. We compared each variable in a paired manner (MO vs. NOb; MO vs. SG and NOb vs. SG) between the three different groups using the Mann Whitney U test. The Bonferroni correction for three groups was calculated ( $\alpha < 0.017$ ). P values of less than 0.017 were considered statistically significant in all cases. All analyses have been performed by the SPSS program, version 15.0 (SPSS Inc, <http://www.spss.com>).

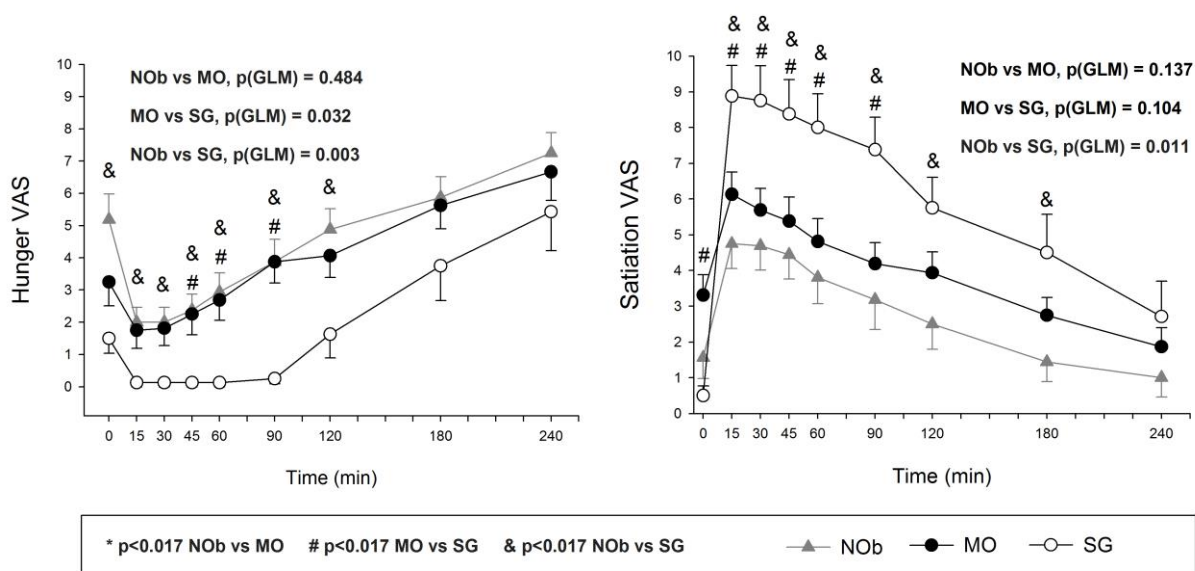
### 3. Results

#### 3.1. Participant clinical characteristics.

Forty persons were recruited: 16 to the NOb group, 16 to the MO group and eight to the SG group. **Table 1** summarizes the main characteristics and comorbidities for each group. The SG group was older on average than the NOb group, fat-free mass percentage and muscle mass percentage were higher in the NOb group than the MO group, while C-reactive protein was higher in the MO group compared to the other two groups.

#### 3.2. Hunger and satiation.

**Figure 1** shows visual analogue scale results for the three study groups, before and after liquid food intake (fasting and postprandial periods, respectively). SG patients showed less hunger and more satiation than persons in the NOb group (general linear model,  $p=0.003$  and  $p=0.011$ , respectively), and more satiation than the MO group during fast ( $p=0.008$ ) and the first 90 minutes after intake. Hunger was similar for MO and NOb participants throughout the study.



**Figure 1.** Mean ( $\pm$  SEM) hunger-VAS and satiation-VAS measurements in the four hours after a standard meal test for three groups. SG individuals consistently showed lower hunger and higher satiation than the other patients. NOb group ( $n=16$ ), MO group ( $n=16$ ), SG group ( $n=8$ ). NOb: non obese, MO: morbidly obese, SEM: standard error of the mean, SG: sleeve gastrectomy, GLM: general linear model, VAS: visual analogue scale. Curves between groups were compared by GLM. Comparisons between two groups at any point in time were made by the Mann-Whitney U test.



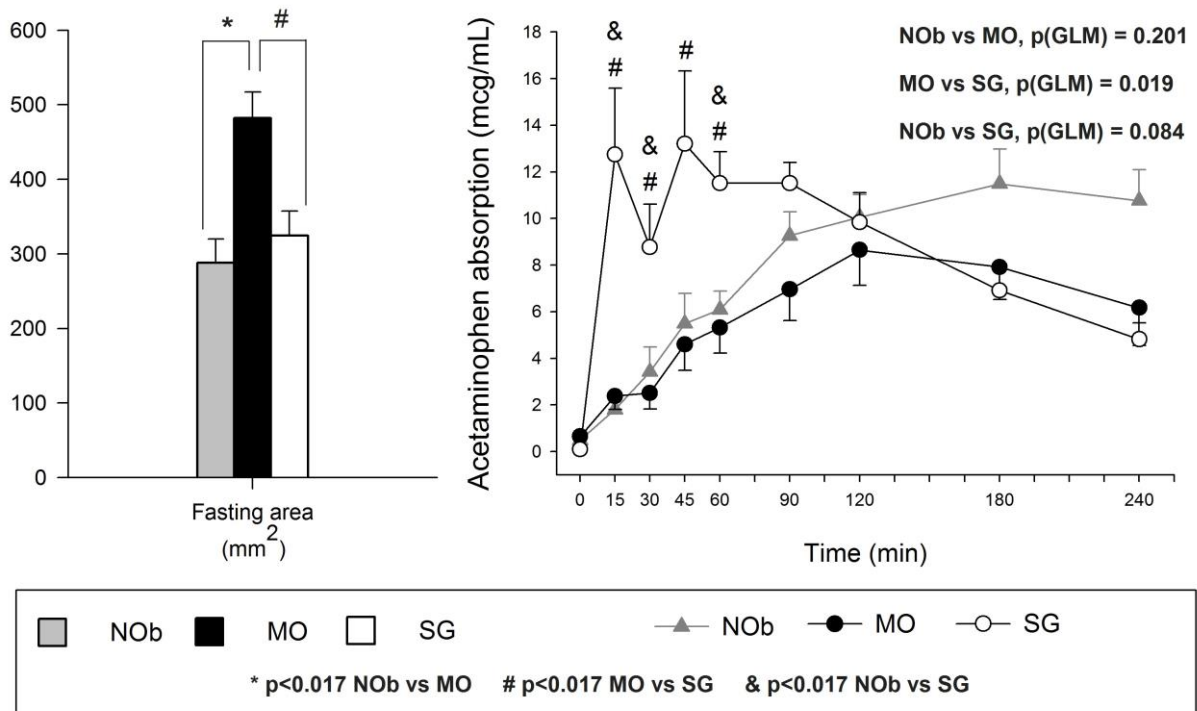
**Table 1.** Main characteristics of the study groups.

	Groups			P values		
	NOb (N=16)	MO (N=16)	SG (N=8)	NOb vs MO	MO vs SG	NOb vs SG
Age, y	40.6 ± 10.5	46.8 ± 9.4	54.5 ± 7.9	0.090	0.086	0.005
Female sex, %	62.5	62.5	62.5	1	1	1
BMI, Kg/m <sup>2</sup>	23.6 ± 2.3	46.9 ± 5.7	34.9 ± 4.3	0.001	0.001	0.001
Time after SG (months)			12.8 ± 3.5			
C-reactive protein, mg/dL	0.20 ± 0.20	0.69 ± 0.39	0.30 ± 0.18	0.001	0.015	0.047
Fat-free mass,%	72.8 ± 11.2	57 ± 7.9	67.5 ± 14.9	0.001	0.071	0.245
Muscle mass, %	50.9 ± 7.4	38.3 ± 7.0	41.8 ± 14.5	0.001	0.903	0.033
Metabolic rhythm	1558 ± 221	1910 ± 398	1691 ± 528	0.004	0.058	0.854
<b>Comorbidities</b>						
DM type 2	0 (0%)	3 (18.8%)	3 (37.5%)	0.226	0.362	0.028
GERD	1 (6.3%)	3 (18.8%)	4 (50%)	0.600	0.167	0.028
<b>Medication</b>						
Omeprazol	2 (12.5%)	8 (50%)	6 (75%)	0.054	0.388	0.005
NSAIDs	0 (0%)	5(31.3%)	1(12.5%)	0.043	0.621	0.330

DM: diabetes mellitus, GERD: gastroesophageal reflux disease, NOb: non obese, MO: morbidly obese, NSAIDs: non steroidal anti-inflammatory drugs. SG: sleeve gastrectomy. BMI: body mass index. Mann-Whitney U test was used to compare medians between two groups. Khi<sup>2</sup> or Fisher exact test was used to compare proportions between groups.

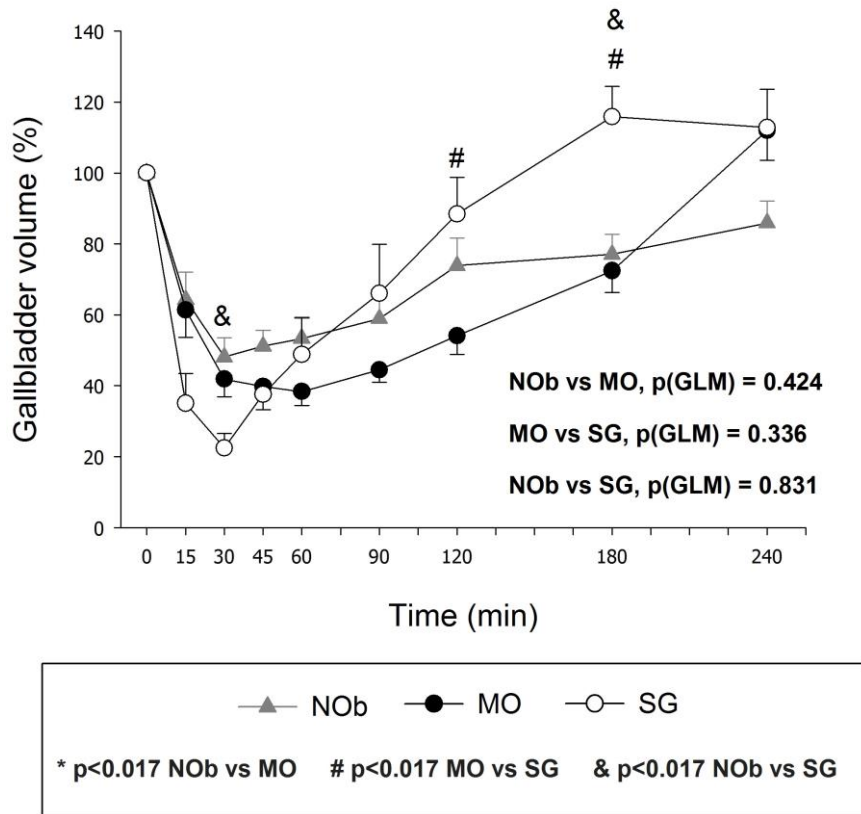
### 3.3. Gastric and gallbladder motility.

**Figure 2** shows antrum area during fasting and gastric emptying (measured using the acetaminophen absorption test). Antral compliance five minutes after intake was similar for all three groups ( $209.9 \% \pm 108.9$  vs  $181.2 \% \pm 92.4$  and  $164.2 \% \pm 43.5$ , for the NOb, MO and SG, respectively) whereas antrum area during fasting was greatest in the MO group. No gastric emptying differences were observed between the MO and NOb groups, whereas SG showed accelerated gastric emptying compared to the other groups ( $AUC_{0-60}$ ;  $p=0.002$  and  $p=0.005$ , respectively).

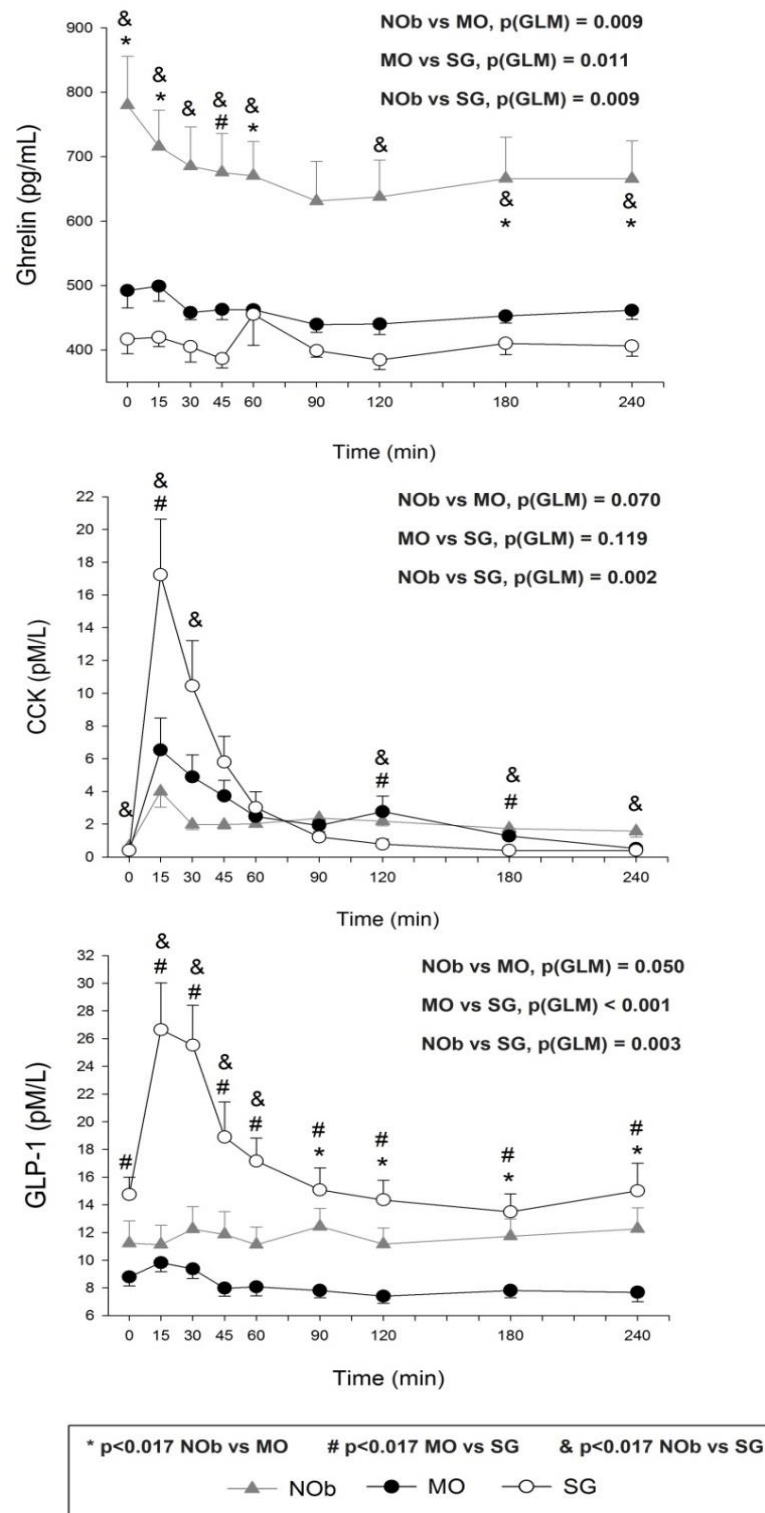


**Figure 2.** Antrum area (left) during fasting (mm<sup>2</sup>) and mean ( $\pm$  SEM) acetaminophen blood concentrations (right) in the four hours after a standard meal test by three groups. MO individuals had higher antrum area during fasting than the other patients. Gastric emptying for SG patients was faster than for the other patients. NOb group (n=16), MO group (n=16), SG group (n=8). NOb: non obese, MO: morbidly obese, SEM: standard error of the mean, SG: sleeve gastrectomy, GLM: general linear model. Curves between groups were compared by GLM. Comparisons between two groups at any point in time were made by the Mann-Whitney U test.

**Figure 3** shows that gallbladder emptying curves were similar for the three groups. All three groups had fairly similar contractor rates (75%, 87.5% and 100% for the NOb, MO and SG groups, respectively). Fasting gallbladder volume was lowest in the NOb group and highest in the SG group (32.5 mL ± 8.6, 59.9 mL ± 20.1 and 76.8 mL ± 39.5 for the NOb, MO and SG groups, respectively). These differences between SG and NOb groups and between MO and NOb groups were significant (p<0.017). MO fasting gallbladder volume was similar to SG (p=0.548). The SG group was fastest in reducing gallbladder volume to the minimum (27.9 min ± 10.3 versus 43.1 min ± 19.6 and 60.0 min ± 28.5 for the SG, NOb and MO groups, respectively), with significant differences between the SG and the MO groups (p=0.005).



**Figure 3.** Gallbladder volume (% of the baseline fasting volume set to 100) in the four hours after a standard liquid meal test by three groups. No differences in gallbladder contraction were observed between groups. NOb group (n=16), MO group (n=16), SG group (n=8). NOb: non obese, MO: morbidly obese, SG: sleeve gastrectomy, GLM: general linear model. Curves between groups were compared by GLM. Comparisons between two groups at any point in time were made by the Mann-Whitney U test.



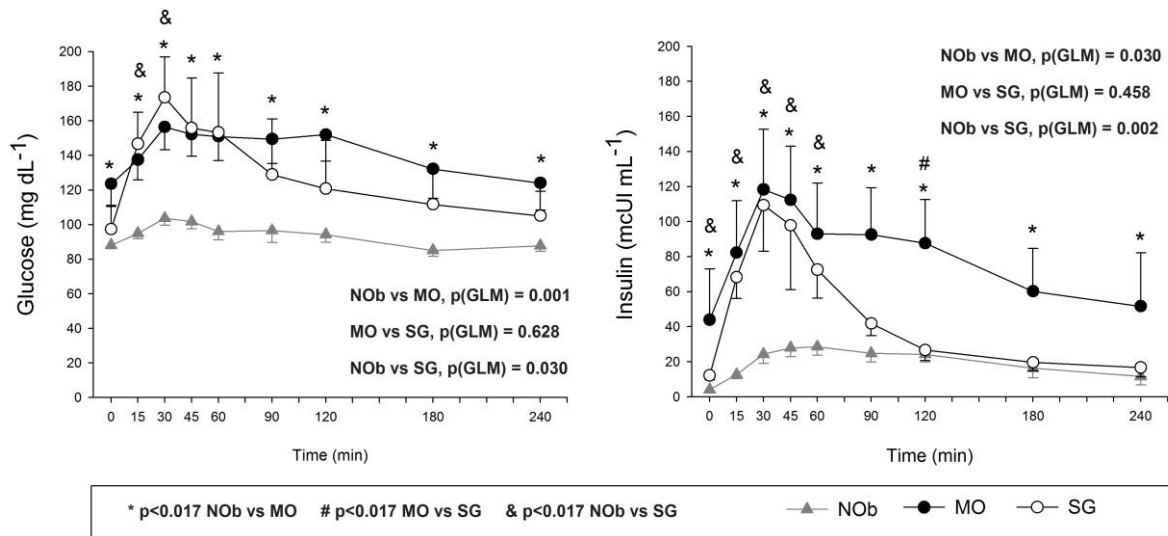
**Figure 4.** Mean ( $\pm$  SEM) ghrelin (top), CCK (middle) and GLP-1 (bottom) blood concentrations in the four hours after a standard liquid meal test by three groups. NOb group (n=16), MO group (n=16), SG group (n=8). NOb: non obese, MO: morbidly obese, SEM: standard error of the mean, SG: sleeve gastrectomy, CCK: cholecystokinin, GLP-1: glucagon-like peptide-1, GLM: general linear model. Curves between groups were compared by GLM. Comparisons between two groups at any point in time were made by the Mann-Whitney U test.

### 3.4. Gastrointestinal peptides.

**Figure 4** shows the ghrelin, CCK and GLP-1 curves for the three study groups. Compared to the NOb group, the MO group had significantly lower fasting ghrelin ( $p=0.003$ ), but showed no significant differences in fasting CCK ( $p=0.04$ ) and GLP-1 ( $p=0.123$ ) concentrations ( $p<0.017$  was significant). The drop in ghrelin observed in the NOb group after food intake was not observed in the other two groups. The SG group had lower fasting ghrelin ( $p=0.003$ ) concentration compared to the NOb group, and higher fasting GLP-1 concentrations than the MO ( $p=0.001$ ) group. In the postprandial period, the SG group had the lowest ghrelin (general linear model,  $p<0.017$ ) and highest CCK and GLP-1 peaks ( $AUC_{0-60}$ ,  $p<0.017$ ) compared to the other two groups.

### 3.5. Glucose homeostasis.

**Figure 5** shows, for the entire meal test period, higher glucose and insulin concentrations for the MO and SG groups compared to the NOb group. Fasting glucose for the SG group was similar to that for the NOb group ( $p=0.903$ ), whereas fasting insulin in the SG group was still higher than that for the NOb group ( $p=0.003$ ). In the early postprandial period, glucose and insulin concentrations were also higher in the SG ( $AUC_{0-60}$ ;  $p=0.008$  and  $p<0.001$ , respectively) and MO ( $AUC_{0-60}$ ;  $p<0.001$  and  $p<0.001$ , respectively) groups compared to the NOb. Insulin concentrations in the SG group normalized at 120 minutes after food intake ( $p>0.017$ ), whereas they remained high in the MO group even in the late postprandial period.



**Figure 5.** Mean ( $\pm$  SEM) glucose (left) and insulin (right) blood concentrations in the four hours after a standard liquid meal test by three groups. MO patients showed an insulin resistance pattern (with high insulin and glucose concentrations) that partially improved in SG patients. NOb group (n=16), MO group (n=16), SG group (n=8).

NOb: non obese, MO: morbidly obese, SEM: standard error of the mean, SG: sleeve gastrectomy, GLM: general linear model.

Curves between groups were compared by GLM. Comparisons between two groups at any point in time were made by the Mann-Whitney U test.

#### 4. Discussion

The main results of the study are that MO patients had similar hunger and satiation sensations and similar gastric emptying and gallbladder motility but lower fasting and postprandial ghrelin concentrations than NOb and, that SG was associated with reduced hunger and increased satiation, with faster gastric emptying, higher early postprandial peak concentrations of CCK and GLP-1 and reduced ghrelin concentrations. These different motility and hormone results for SG patients suggest that SG surgery may cause weight loss through several changes in gastrointestinal physiology that diminish hunger and enhance satiation. Our study suggests these different motility and hormonal responses interact after SG, therefore controlling hunger and satiation in these patients. This topic has not been fully addressed in humans, and rarely in animals (147).

Hunger and satiation are very subjective perceptions that are understood and interpreted in different ways by different people. Hunger can even be “taught”, as, when overweight patients are trained to correlate “true” hunger with low blood glucose concentrations, demonstrated by Ciampolini (1). Previous studies have described obese people to be hungrier than non-obese individuals (148,149). Regarding satiation, Delgado-Aros et al (150) reported that greater BMI and greater fasting gastric volumes were both independently associated with delayed satiation after a nutrient liquid test that intended to achieve maximum satiation. Surprisingly, the results in this study show that MO patients were no hungrier or no less satiated than NOb persons, and that SG patients had less hunger than MO and NOb patients, and felt more satiated than NOb patients. This finding corroborates some studies (151), but not others (152). These differences could be explained by the fact that this study tried to assess the effect of morbid obesity and sleeve gastrectomy on hunger and satiation after a standard liquid meal test, with just enough caloric intake to inhibit hunger and induce satiation, and did not try to assess maximal intake capacity.

The paracetamol absorption test was used to assess gastric emptying, as it has been reported to correlate well with scintigraphy— considered the gold standard — for liquid meal tests (119). Similar gastric emptying rates were observed for MO and NOb but a highly accelerated rate for SG patients; this result agrees with some studies (94,141,153), but contradicts others (85,86) which suggested that antrum size after SG could influence gastric emptying. Some authors have hypothesized that higher intragastric pressure (154)

with less peristalsis of the sleeve and faster propagation of antral propulsion waves (155) may play a role in this accelerated emptying. The larger fasting gallbladder in MO and SG patients compared to NOb described in this study is also corroborated by other authors (101). No differences in overall gallbladder emptying were found. This finding disagrees with previous studies that demonstrate that gallbladder contraction is impaired in obese patients (101,102).

Baseline and postprandial hormonal levels were also significantly modified in SG patients. Postprandial ghrelin concentrations were lowest in SG patients, agreeing with findings by other authors (59,145). Ghrelin differences between NOb and MO could be attributable to their different BMIs (128). Differences between MO and SG may be a consequence of the excision of the gastric body and fundus where most ghrelin is released. As generally accepted, fasting ghrelin concentrations were lower and postprandial suppression was decreased in MO compared to NOb (49,128).

The higher CCK peak observed in SG patients during the initial postprandial period may be explained by accelerated gastric emptying and the sudden arrival of nutrients to the duodenum (147), and might also contribute to greater satiation. The fact that gallbladder motility was not impaired explains the normal CCK drop after the peak, indicating a preserved bile salt feedback regulation. These results were similar to those of the few studies that have addressed this topic (57,58) and these high concentrations could be associated with the higher satiation scores reported for SG patients (147). Camilleri (5) suggested that CCK tended to relax the fundus and inhibit the antrum, and MO patients have been reported to be less sensitive to both CCK and GLP-1 (68). This sensitivity might be enhanced after bariatric surgery (4).

The finding that MO patients showed lower postprandial concentrations of GLP-1 corroborates those of previous studies (3,4,71). Likewise, the finding that higher concentrations of GLP-1 at 15 minutes for the SG group coincided with peak satiation corroborates the finding reported by Näslund et al (156), that the intravenous GLP-1 infusion caused a reduced gastric emptying rate, thus prolonging stimulation of receptors in the gastrointestinal tract and, therefore, inducing satiety. The accelerated gastric emptying in SG patients may be responsible for the higher peaks of anorexigenic hormones like CCK and GLP-1 in this study. These hormones, along with the low concentration of orexigenic hormone (ghrelin) (57,58) and the high intraluminal pressure resulting from the



relatively small volume, and the markedly reduced compliance of the sleeve (154), may also be responsible for early satiation in post-SG patients (57,58,147,154). SG patients felt more satiated in the first 60 minutes, after which they experienced a gradual drop in satiation. Whether this drop in satiation correlates with the drop in anorexigenic hormone concentrations will need further investigation.

Finally, glucose metabolism in MO patients was clearly characterized by insulin resistance. In SG patients, glucose concentrations were normal only in the fasting and late postprandial periods, whereas insulin concentrations — also normal in the late postprandial period — peaked in the early postprandial phase. These results, totally consistent with those reported elsewhere (72), point to improved glucose metabolism after SG. High glucose and insulin concentrations are known to contribute to a greater sensation of satiation (143). Low ghrelin concentrations may also contribute to the improved glucose homeostasis after SG, given that ghrelin stimulates insulin counter-regulatory hormones and inhibits insulin secretion (157). A recent review (142) indicates that numerous studies support a role for ghrelin in blood glucose homeostasis. The results for SG in this study tend to corroborate those of Rehfeld (158), who suggested that weight loss and response changes in hormones like CCK, combined with the (widely acknowledged) effect of GLP-1, favoured better glucose homeostasis control after bariatric surgery. However, Jimenez et al. (159)— in a study of patients who had received a Roux-en-Y gastric bypass — argued that this improvement was more the outcome of a better baseline beta-cell function rather than higher GLP-1 concentrations.

The main limitations of the study include: a) the small sample size, especially for the SG group which limits the statistical power for some comparisons or subgroup analysis, b) we did not use the same patients in the MO and SG groups, which would have reduced heterogeneity between groups and improved comparability, c) the use of ultrasonography to assess antral area could be considered imprecise due to the subjectivity of assessment, d) the study is descriptive and can only identify associations, and e) the present study has used a standard liquid meal test, so results must be interpreted with caution and cannot be generalised to semisolid or solids meals.

In conclusion, post-SG weight loss may be explained by a decline in ghrelin release, and high postprandial peaks of CCK and GLP-1 related to accelerated gastric emptying (as a consequence of the surgical alteration of stomach shape). All these changes may be

involved in the reduction of hunger and increase in satiation. However, the role played by these hormones and their relation to gastric and gallbladder motility after SG is not fully understood and requires further investigation.



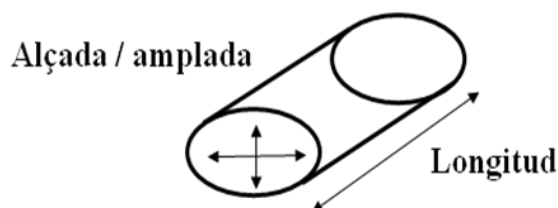
# **ANNEX 1**



**ANNEX 1.*****Mètodes de mesura del trànsit gastrointestinal i vesicular.*****1. Motilitat vesicular mesurada per ecografia**

En el present estudi s'ha analitzat la motilitat i el buidament vesicular mitjançant ecografia abdominal tal i com s'ha realitzat pel nostre grup en estudis previs (63). La morfologia de la bufeta biliar, el·lipsoide o similar a un cilindre, permet la mesura aproximada del seu volum emprant la següent fórmula on L és la longitud, Am és l'amplada i Al és l'alçada de la bufeta biliar:

$$V = \pi \times L \times (Am/2) \times (Al/2) = \pi \times L \times (Am \times Al) / 4$$

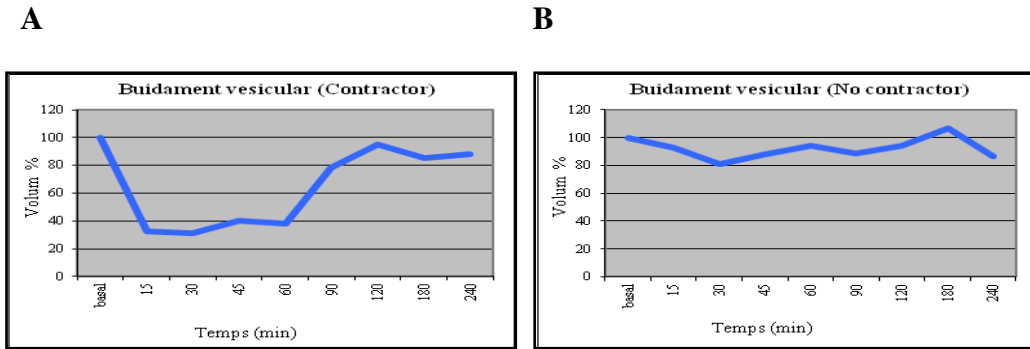


**Figura 1.** Imatge representativa d'una ecografia de la bufeta biliar amb la presa de mesura de la llargada vesicular.

Mitjançant un aparell d'ultra sonografia (Hitachi EUB-6500 Digital Ultrasound Scanner; Hitachi Medical Co, Tokyo, Japan) es van realitzar totes les preses de mides de la bufeta biliar. Es van mesurar: longitud, alçada i amplada abans de la ingesta i cada 15 minuts postprandials fins a finalitzar l'estudi (240 minuts). Es va marcar al principi la posició del transductor a la pell del pacient per a minimitzar-ne el desplaçament i es va comptabilitzar sempre el valor més alt observat en cada diàmetre. Aquest mètode de mesura ha estat emprat anteriorment (95,96,160,161) obtenint uns resultats reproduïbles.

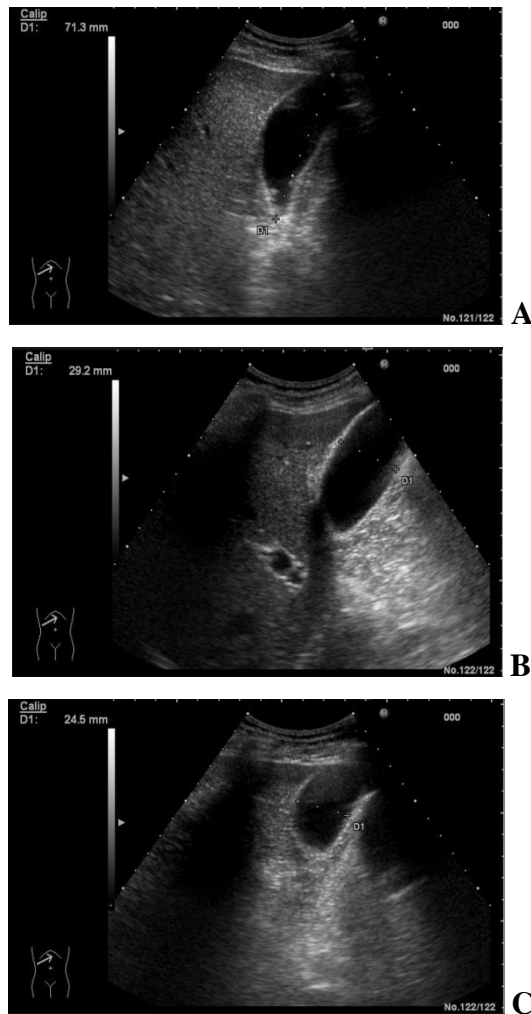


**Figura 1.** Imatge de l'aparell d'ultra sonografia utilitzat en l'estudi.



**Figura 2.** Representació d'exemples de gràfics d'individus amb buidament vesicular típic de contractor (A) i no contractor (B).

Es va definir com a "no contractor" a aquell individu que no disminuïa el seu volum vesicular inicial almenys en un 50% durant la primera hora de l'estudi.

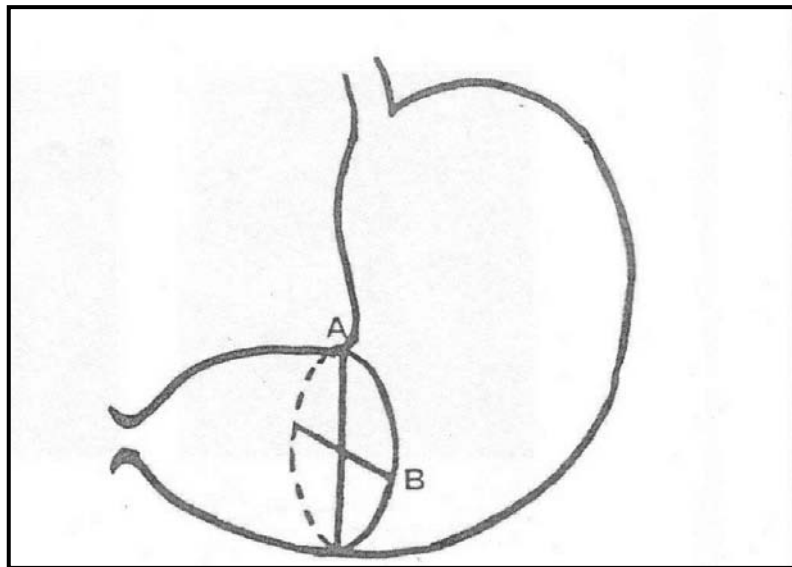


**Figura 3.** Il·lustració amb imatges de diferents moments als quals es va realitzar una ecografia vesicular per a calcular la llargada (A), amplada (B) i alçada (C).

## 2. Buidament gàstric amb ecografia de l'antre gàstric.

La mesura del buidament gàstric es pot realitzar de diverses maneres. La tècnica or és l'escintigrafia (116), però la seva aplicació és limitada donat el risc d'exposició a radiacions ionitzants, els seus elevats costos, i la dificultat de la seva realització en la pràctica clínica. L'ecografia és una tècnica que s'ha emprat de forma àmplia per a mesurar el buidament gàstric de líquids (112,115,162) i a més permet fer altres mesures com són avaluar la motilitat antral, el reflux duodeno-gàstric (113).

L'ecografia pot aportar informació qualitativa i quantitativa sobre motilitat gàstrica i antral, tant en dejú com després de la ingesta i tant per a sòlids com per a líquids (114), però la millor correlació amb l'escintigrafia s'ha descrit amb l'àpat líquid (117).

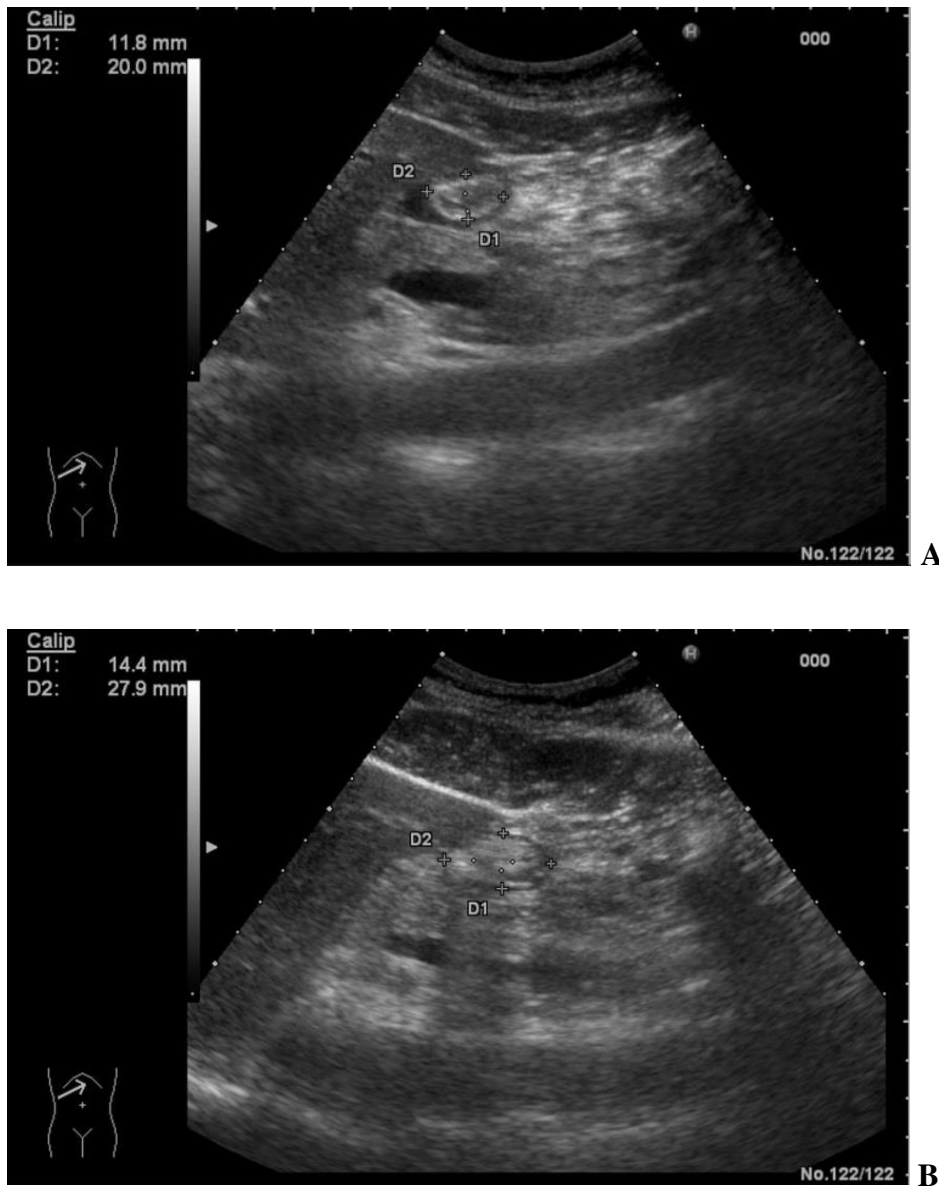


**Figura 4.** Il·lustració dels dos diàmetres mesurats amb l'ecografia antral per al càlcul de l'àrea antral (115).

Per a la realització de les mesures es col·locà el transductor a la regió epigàstrica localitzant, en un tall sagital, les següents referències anatòmiques: l'antre gàstric, el lòbul hepàtic esquerre, la vena mesentèrica superior i l'aorta. La primera mesura es va prendre en dejú, la següent als 5 minuts d'haver iniciat la ingesta i, posteriorment, en els intervals estipulats en el disseny experimental, és a dir, cada 15 minuts fins a la finalització del

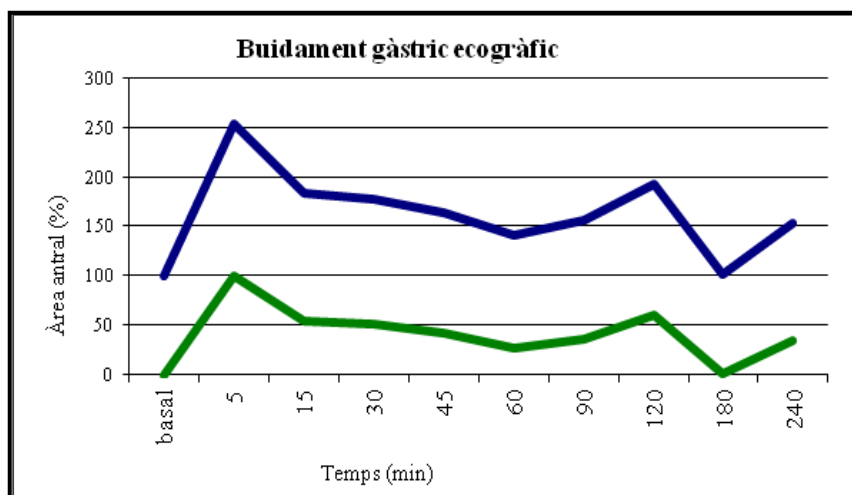


mateix (240 minuts). Per a evitar la variabilitat entre individus, les mesures es van normalitzar referint-les a la mesura basal donant-li el valor 100. Es van calcular l'àrea antral en dejú com a mesura de referència, àrea de màxima distensió post ingesta als 5 minuts i, la T50, temps al qual l'àrea antral havia disminuït fins a la meitat de la màxima postprandial immediata (5min).



**Figura 5.** Imatge que exemplifica la presa de la mesura antral mitjançant ecografia abdominal. Es pot apreciar el lòbul hepàtic esquerre a la part superior, l'aorta a la part més inferior i la vena mesentèrica superior sobre l'aorta, referències per a la correcta localització de l'antra gàstric. També s'aprecia els dos diàmetres marcats de l'antra gàstric. **A** en dejú i **B** als 5 minuts de la ingesta de l'àpat líquid de prova.

També es va realitzar un gràfic amb la corba representant les diferents mesures antrals a cada interval de temps de l'estudi.



**Figura 6.** Representació gràfica del buidament antral. Línia blava pren com a referència valor 100 de l'àrea antral basal. Línia verda pren com a referència el valor 0 per a l'àrea antral basal. Els següents valors són normalitzats com a percentatge respecte del valor basal.

### 3. Buidament gàstric amb Test d'absorció del paracetamol.

Aquest és un test utilitzat freqüentment per a estimar el buidament gàstric a partir de l'administració d'1,5gr de paracetamol junt amb l'àpat prova i la posterior determinació de la concentració plasmàtica d'acetaminofè, el seu metabòlit. Es basa en el fet que el paracetamol gairebé no s'absorbeix fins que no arriba al duodè, pel que pot fer una estimació de la velocitat de buidament gàstric. És un test relativament econòmic, fàcil de posar en pràctica, però que requereix de temps per a la seva realització. En una revisió de la literatura es va estudiar la validitat del test d'absorció del paracetamol com a mesura del buidament gàstric comparat amb l'escintigrafia (tècnica or) (119). Van concloure que aquest mètode es correlacionava bé amb l'escintigrafia en el buidament dels líquids. Els paràmetres que s'avaluen són la concentració màxima ( $C_{max}$ ), el temps a la concentració màxima ( $t_{max}$ ) i l'àrea sota la corba (118,119).



## **ANNEX 2**



## ANNEX 2.

### ***Resultats test alè amb lactulosa per l'estudi del trànsit oro-cecal***

#### RESUM

El budell prim té un paper bàsic en l'absorció de nutrients. El temps que el nutrient està en contacte amb les vellositats intestinals determinarà quantitativament i qualitativament aquesta absorció. Diferents factors relacionats amb el trànsit intestinal poden modificar l'absorció de nutrients o causar alteracions –per exemple sobrecreixement bacterià- que podrien tenir relació amb la malnutrició de l'ancià fràgil o en la obesitat mòrbida.

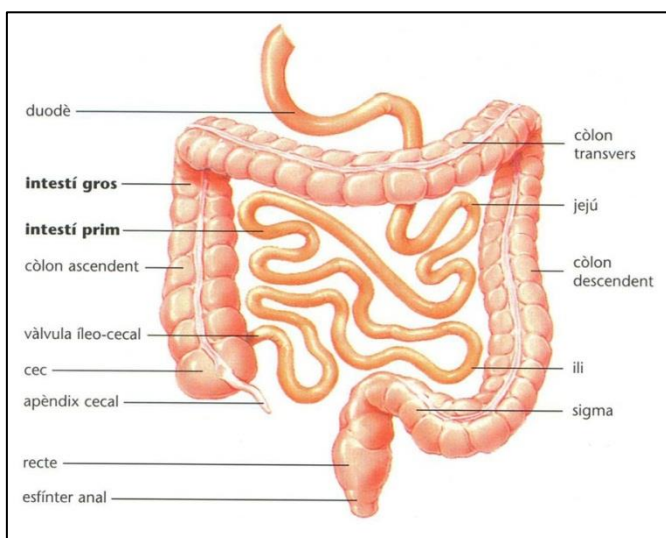
L'objectiu d'aquest estudi és caracteritzar el trànsit oro-cecal en diferents poblacions d'individus que pateixen anorèxia o hiperorèxia com són els ancians i els obesos mòrbids. Alhora, la fragilitat i la cirurgia bariàtrica poden per sí mateixes alterar aquest trànsit, tot i que fins a l'actualitat pocs estudis n'han definit les característiques. Així doncs, hem mesurat el trànsit intestinal en ancians fràgils, robustos, individus control joves, obesos mòrbids, pacients sotmesos a gastrectomia vertical i en un grup control no obès mitjançant el test d'alè amb lactulosa (10gr) administrada conjuntament amb un àpat líquid de 400Kcal i, prenent mesures cada 15 minuts de l'H<sub>2</sub> exhalat fins als 240 minuts.

**Resultats:** a) En el primer estudi amb ancians robustos i fràgils, comparats amb un grup control jove no es van trobar diferències en els temps de positivació a 5ppm i les corbes de l'exhalació d'H<sub>2</sub> van ser similars. En aquest estudi destaca l'elevat percentatge d'ancians amb patró exhalatori suggestiu de sobrecreixement bacterià. b) En el segon estudi amb obesos mòrbids, individus portadors de gastrectomia vertical i un grup control no obès, es va apreciar un trànsit oro-cecal molt accelerat per al grup de la gastrectomia vertical.

**Conclusió.** En l'avaluació del TTOC s'aprecia una clara acceleració del trànsit després de la gastrectomia vertical i una absència d'alteracions en el trànsit en els ancians. L'elevat percentatge de no responedors i de sobrecreixement en el grup d'ancians fràgils planteja la possibilitat per optar per altres mètodes de mesura del TTOC en aquesta població.

## 1. Introducció:

L'intestí o budell prim és el tram de tracte digestiu comprès entre l'estómac i el colon, i mesura entre 6-8 metres. Les seves funcions principals són les de transport, digestió i absorció dels nutrients que hi arriben amb l'ajuda de components elementals provinents de la bilis i el suc pancreàtic, així com del mateix suc secretat per les cèl·lules intestinals. Consta de 3 parts ben diferenciades que són el duodè, el jejú i l'ili. El duodè és el primer i més curt, mesurant aproximadament 25-30cm. El jejú i l'ili conformen la part restant del budell, de manera que el jejú suposa 2/5 parts i l'ili 3/5 parts de la resta d'intestí. L'ili dona



pas al colon a través de la vàlvula ileocecal. El trànsit intestinal normal és molt variable, essent majoritàriament al voltant dels 90 minuts (87). Altres estudis descriuen que la durada habitual del trànsit intestinal oscil·la entre els 78 i 264 minuts, essent més lent en dones especialment post menopàusiques o obeses (88).

**Figura 1.** Imatge representativa dels diferents trams del budell prim i gruixut.

Segons una revisió de trastorns del tGI en ancians (82), no s'ha apreciat alteracions clíniques respecte del trànsit intestinal (89), tot i que sí es sap que hi ha alteracions degeneratives amb pèrdua neuronal en el plexe mientèric al llarg del tGI tot i que de manera heterogènia (90). Respecte del buidament gàstric hi ha una major tendència a observar un alentiment del buidament (91) amb una disminució de la compliància gàstrica (82) encara que altres autors no han apreciat alteracions ni en el buidament gàstric ni en el trànsit intestinal avaluats amb gamma càmera (89). En la obesitat mòrbida el trànsit

intestinal s'ha descrit com a normal (92) o accelerat (93), existint per tant, certa controvèrsia en aquest tema. Sols en un estudi s'ha estudiat el trànsit intestinal després de la gastrectomia vertical i aquest s'ha trobat accelerat (94).

## 2. Objectius

Estudi 1. Avaluar el trànsit intestinal en ancians i l'efecte de la fragilitat.

Estudi 2. Avaluar el trànsit intestinal en obesos mòrbids i l'efecte de la cirurgia bariàtrica (gastrectomia vertical).

## 3. Metodologia

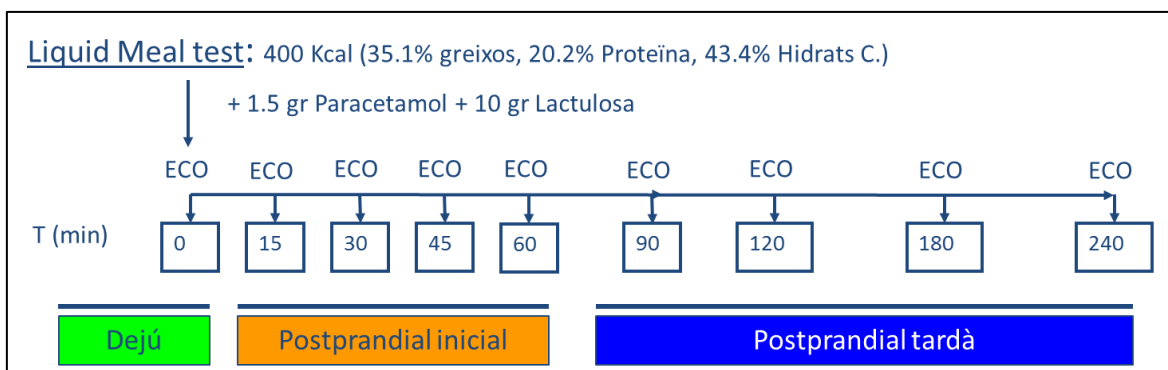
### Població a estudi.

Estudi 1. Individus joves (n=19), individus ancians robustos (n=20) i individus ancians fràgils (n=14).

Estudi 2. Individus no obesos mòrbids (n=16), individus obesos mòrbids que compleixen criteris per a cirurgia bariàtrica (NIH) (n=16) i, pacients als que s'ha practicat una gastrectomia vertical per laparoscòpia com a tècnica bariàtrica (n=8).

### Disseny experimental

Després d'estar en dejú un mínim de vuit hores des de la nit anterior els pacients arriben al laboratori on se'ls pren mesures basals de totes les determinacions que es realitzen durant l'estudi. Després d'ingerir l'àpat prova líquid i, als intervals de temps indicats al diagrama inferior, se'ls practica tant la ecografia abdominal com la medicació de l'H<sup>2</sup> en l'alè exhalat amb el Gastrolyzer.



**Figura 2.** Disseny experimental.



Conjuntament amb l'àpat líquid de 400Kcal (Vegenat T-Diet 20/2, 200mL, amb 20,2gr de proteïnes, 15,6 gr de greixos i 43,4gr d'hidrats de carboni), se'ls administra 1.5g de paracetamol líquid (per a l'estudi del buidament gàstric) i 10g de lactulosa. Es va considerar positiu el resultat del test d'alè quan s'aprecià un augment en 5 ppm respecte del basal. Es considerà presència de sobrecreixement bacterià quan aquesta positivació apareixia en els primers 30 minuts post ingesta (163). Es van excloure de l'anàlisi els individus en els que no es va apreciar positivació del test i aquells en els que els valors basals elevats (>10ppm) no permetien avaluar correctament el segon pic causat per la degradació de la lactulosa en arribar al colon.

### **Estudi estadístic**

Mitjançant el test Kruskal-Wallis hem comparat les mitjanes de temps de positivació dels tres grups per a cada llinar i s'ha considerat significatius valors de  $p < 0,017$  (correcció de Bonferroni). Per a la comparació de les corbes dels valors de l'exhalació d'H<sup>2</sup> s'ha utilitzat el model general lineal (MLG) considerant significativa una  $p < 0,017$  (correcció de Bonferroni).

### **Tècniques d'estudi del trànsit intestinal.**

Diferents tècniques es poden emprar per a l'estudi de la motilitat i el trànsit intestinal. els que s'han emprat amb més freqüència són els tests d'alè i l'escintigrafia. El bari (87) també s'ha utilitzat i permet veure de manera objectiva el moment en el qual el contrast baritat arriba al cec.

Factor	Breath tests	Scintigraphy	Wireless motility capsule
Validated	++	++	+
Standardized	+	++	+++
Provides accurate and quantitative results	++	++	+++
Availability	++	+	++
Test performance & need for specialized personnel	++	++	++
Patient inconvenience	++	++	++
Patient tolerance	++	+++	+++
Radiation exposure	-	++	- or +**
Expense	+	++	++

\*Depends on whether capsule retention is suspected.

**Taula 1.** Avantatges i desavantatges de diversos tests per a mesurar el trànsit intestinal al budell prim (120).

El test d'alè amb lactulosa és una eina que s'ha emprat des de fa anys per a la mesura indirecta del trànsit intestinal. La lactulosa és un hidrat de carboni no digerible que es metabolitza pels gèrmens del colon i produeix diferents gasos ( $H^2$ , metà...), que són absorbits i eliminats del cos dins l'aire exhalat i es mesura en partícules per milió mitjançant un aparell (Gastrolyzer; Bedfont Scientific Ltd, Harrietsam, UK) que analitza l'alè exhalat per cromatografia i dóna un valor en partícules per milió (ppm).



**Figura 3.** Bedfont Gastrolyzer, aparell mesurador de l'alè exhalat utilitzat en aquest estudi.

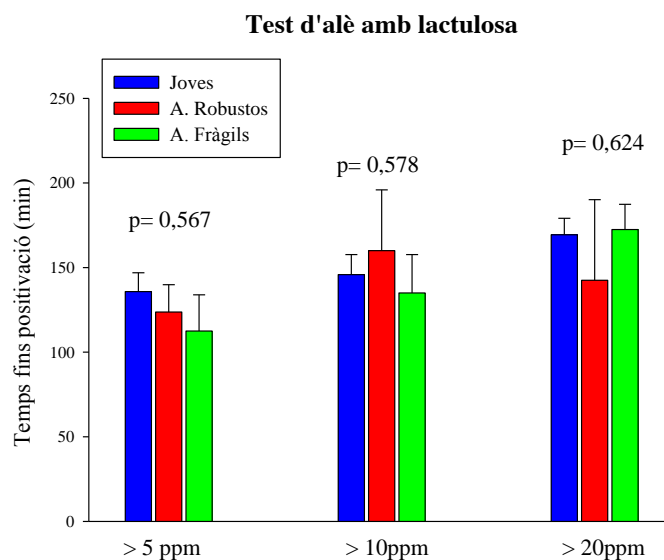
Després de l'administració de lactulosa s'ha publicat un coeficient mig de variabilitat entre individus del 18,5% amb l'administració de 10 gr de lactulosa (major variabilitat amb majors quantitats), que podia disminuir fins a <10% si la lactulosa s'administrava amb un àpat líquid (164).

Entre els avantatges d'aquest mètode destaca el fet que és d'aplicació senzilla, econòmica, no invasiva i de fàcil utilització en l'àmbit clínic (165). Les seves limitacions són la dificultat a la identificació d'un pic; la difícil atribució de la significació del pic en cas de sobrecreixement bacterià o de valors alts inicials que poden emascarar la producció d'hidrogen del colon, amb el que no es pot determinar el temps de trànsit. En quant a la lactulosa en sí, aquesta pot accelerar el trànsit del budell prim i alentir del buidament gàstric (120). El test de lactulosa pot presentar major nombre de falsos positius per a avaluar el sobrecreixement respecte dels tests d'alè realitzats amb glucosa (166), però l'objectiu en el nostre estudi ha estat avaluar el trànsit intestinal i, per això, s'ha optat per la lactulosa.

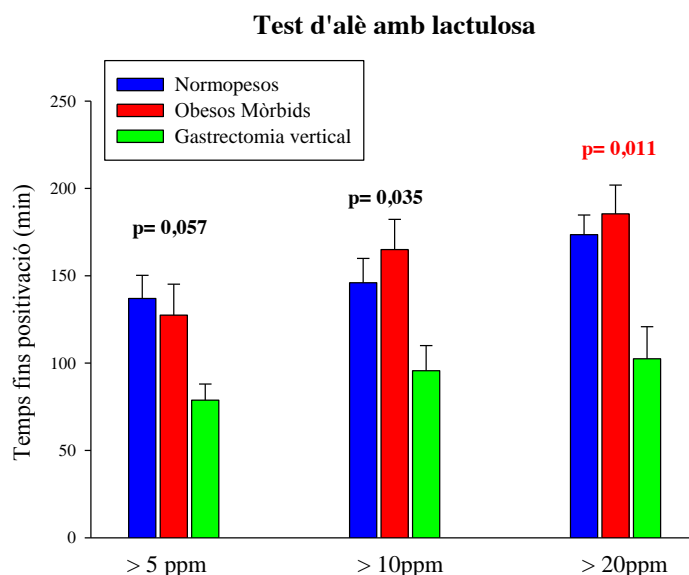
La seva validesa com a test de trànsit oro-cecal s'ha avaluat de diverses maneres, com per exemple comparant els seus resultats amb el pas de bari fins al cec (167). En aquest estudi van considerar positivació o arribada de la lactulosa al cec un augment de 5 o 10 ppm en les xifres de concentració d'hidrogen mesurades pel dispositiu. La seva correlació amb els resultats del trànsit mesurat amb bari eren similars, però més acurats fent servir el límit de 5ppm.

## 4. Resultats

### 4.1. Temps de positivació del trànsit oro-cecal.



**A**



**B**

**Figura 4.** Resultats del test de l'alè. Histograma representatiu del temps de positivació (mitjana  $\pm$  EEM) de cada grup segons els llindars de 5ppm, 10ppm i 20ppm fets servir com a punt de tall per a considerar positivació una elevació dels valors d'H<sup>2</sup> exhalat. **(A)** Primer grup amb individus joves, ancians robustos i ancians fràgils i, **(B)** en individus amb normopès, obesos mòrbids i pacients sotmesos a gastrectomia vertical gàstrica. Han estat exclosos tots aquells individus no responedors i aquells amb segon pic del colon no identificable independentment del valor basal inicial.

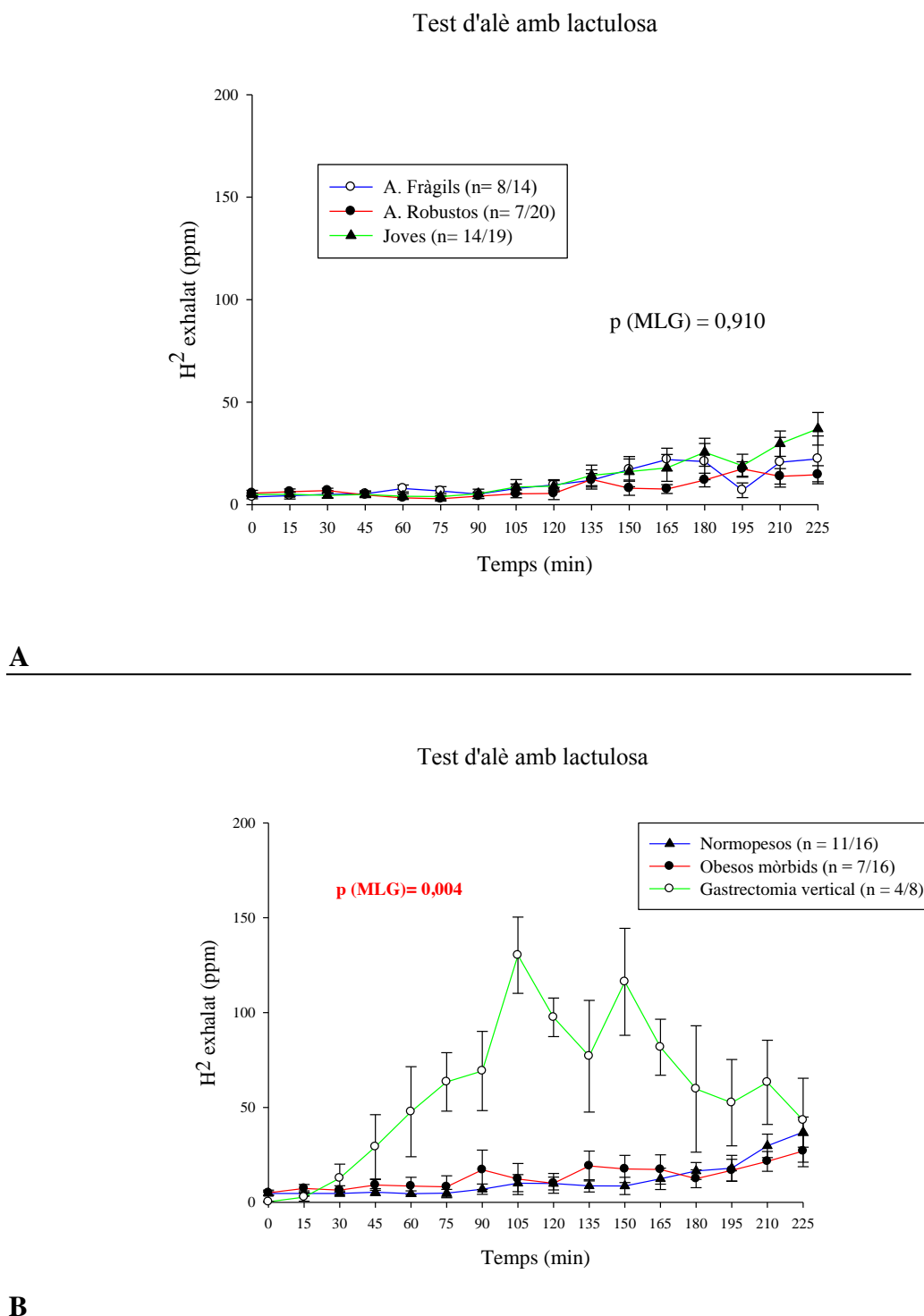
## a) Estudi 1.

En la primera anàlisi (ancians i fragilitat) no s'ha apreciat diferències entre els tres grups en quant a la mitjana del temps de trànsit oro-cecal per cap punt de tall (5, 10 o 20ppm). El temps de trànsit oro-cecal (augment d'H<sup>2</sup> exhalat >5ppm) ha estat similar entre els tres grups del primer estudi; 114±48 minuts als fràgils, 125±39 minuts als robustos i 138±42 minuts als adults joves.

## b) Estudi 2.

En la segona anàlisi (obesos vs gastrectomia vertical) s'ha trobat diferències significatives entre els tres grups d'individus quan s'ha emprat un punt de tall de 20ppm (p= 0,011) aplicant la configuració de Bonferroni per comparacions de més de 2 grups (significatiu si p<0,017), amb un temps de positivació molt més curt per al grup de la gastrectomia vertical. Emprant els llindars de 5 i 10ppm (p=0,057 i 0,035 respectivament) el grup de la GV també ha mostrat una tendència a tenir uns TTOC més curts que els altres dos grups, però sense arribar a la significació estadística.

## 4.2. Corbes del test d'alè amb lactulosa.



**Figura 5.** Resultats del test de l'alè. Corba de la mitjana de valors d'exhalació al test d'alè en els dos grups d'anàlisi. (A) Primer grup amb individus joves, ancians robustos i ancians fràgils i, (B) en individus amb normopès, obesos mòrbids i pacients sotmesos a gastrectomia vertical gàstrica. Han estat exclòs tots aquells individus amb valors basals alts (>10ppm), no responedors i aquells amb pic del colon no identificable.

### 4.3. Percentatge de no responedors i de sobrecreixement.

En tots els grups s'ha trobat diferents percentatges d'individus que no eren responedors i que per tant no mostraven una elevació o pic exhalatori, o també individus en els que s'apreciava un patró de sobrecreixement bacterià identificat amb una positivació molt precoç que vam definir com a límit fins als 30 minuts post ingesta (168). La presència de sobrecreixement no exclou la participació de l'individu afecte sempre i quan la visualització d'un segon pic del colon sigui visible amb claredat.

<b>Grup</b>	<b>No responedors (no augmenta H<sup>2</sup>)</b>	<b>Sobrecreixement Bacterià</b>	<b>Valors elevats (basal &gt;10ppm)</b>
<b>Joves (J; n=19)</b>	1 (5,3%)	1 (5,23%)	4 (21,1%)
<b>Ancians robustos (AR, n= 19)</b>	2 (10,5%)	4 (21%)	8 (42,1%)
<b>Ancians fràgils (AF, n=14)</b>	5 (35,7%)	4 (28,6%)	1 (7,1%)
<b>No obesos (NOB, n=16)</b>	1 (6,3%)	1 (6,3%)	5 (31,3%)
<b>Obesos mòrbids (OM, n= 16)</b>	4 (25%)	2 (12,5%)	5 (31,3%)
<b>Gastrectomia vertical (GV, n=8)</b>	0 (0%)	2 (25%)	4 (50%)

El grup d'ancians fràgils presenta un elevat percentatge de no responedors (35,7%) i un molt alt percentatge de pacients amb sobrecreixement bacterià (28.6%). En els ancians fràgils la corba d'exhalació es va practicar doncs amb 8/14 individus.

En el grup jove la corba d'exhalació es va practicar amb 14/19 individus.

En els ancians robustos es va excloure un individu per mal funcionament de l'aparell. La corba d'exhalació es va practicar amb 7/20 individus.

En els individus No obesos la corba d'exhalació es va practicar amb 11/16 individus.

En els individus obesos mòrbids la corba d'exhalació es va practicar amb 7/16 individus.

En els individus operats (GV) la corba d'exhalació es va practicar amb 4/8 individus. En aquest grup destaca que els seus valors (ppm) d'H<sup>2</sup> exhalat són clarament superiors als altres grups (figura 5).

## 5. Discussió:

En el primer estudi no trobem diferències en el temps de trànsit oro-cecal que ens permetin diferenciar entre cap alteració al trànsit intestinal per l'envelliment o degut a la fragilitat. Sí és cert que els individus ancians fràgils tenien un buidament gàstric més accelerat en l'estudi d'absorció del paracetamol, pel que aquesta normalitat en el temps oro-cecal podria suggerir un alentiment del trànsit purament intestinal, que acabés compensant un trànsit oro-cecal normal. Els ancians fràgils tenen un alt percentatge de no responedors que podria ser atribuït a la dificultat en la realització de la prova en sí mateix. La seva capacitat de retenció de l'aire al final de la inspiració i la posterior espiració de l'alè per a mesurar l'exhalació d'H<sup>2</sup> va ser realment difícil per les pròpies condicions dels pacients, de manera que podria ser que algunes exhalacions realitzades no fossin del tot acurades. Probablement s'ha de plantejar altres mètodes per avaluar de forma aïllada el temps de trànsit intestinal en els ancians i els ancians fràgils. Aquesta població fràgil mostra també un alt percentatge de sobrecreixement bacterià. Tot i que no s'ha descrit canvis significatius en l'absorció en l'envelliment (75), sí és conegut que els ancians tenen més predisposició a patir malabsorció i diarrees de causa tractable com són malalties inflamatòries, insuficiència pancreàtica, celiaquia i sobrecreixement bacterià com a possibles etiologies (169).

En el segon estudi, els pacients sotmesos a gastrectomia vertical mostraren un trànsit oro-cecal més accelerat que els individus amb normopès, però altre cop, degut a que aquest mètode mesura de forma conjunta el buidament gàstric i intestinal, és possible que la diferència fos deguda a la major velocitat en el buidament gàstric dels pacients portadors de gastrectomia vertical.

En l'estudi s'ha observat també la presència d'un percentatge elevat d'individus que tenen uns valors basals elevats d'H<sub>2</sub> que podria estar en relació a consum d'hidrats de carboni d'absorció incompleta el dia previ a la realització de l'estudi, tot i les hores de dejú establertes o, a la presència de bacteris orofarínjics (Zhao et al., 2014). Altres causes com l'hàbit tabàquic, l'exercici o la hiperventilació es van evitar durant l'estudi. L'ús d'inhibidors de bomba de protons (d'ús relativament freqüent en ancians i en els individus després de gastrectomia vertical) s'havia postulat com a una possible causa de positivació dels test

d'alè amb lactulosa, però en un article recent (171) es suggereix que aquesta associació no és present, almenys en la població japonesa, en comparar els resultats del test d'alè en tres grups d'individus que prenen IBP, antihistamínics o cap de les dues medicacions.





## **ANNEX 3**



**ANNEX 3.*****In vitro gastrointestinal motor patterns of morbidly obese patients.*****ABSTRACT**

The main function of the gastrointestinal tract is to propel the digested food at a determined rhythm, thus expediting nutrient's absorption by the digestive enzymes. Regulation of gastrointestinal motility is a complex process involving collaboration of different cell types such as enteric neurons, interstitial cells of Cajal and smooth muscle cells, all of which conform the Enteric Nervous System (ENS). Interstitial cells of Cajal and enteric neurons are involved in the non-neural control of the gastric motility.

The aim of the present study is to characterise in vitro gastric and jejunum motor patterns in circular muscle strips of fundus, antrum and jejunum of morbidly obese patients as well as the effect of three hormones related to satiety, hunger and motility, namely Ghrelin (Ghr), Cholecystinin (CCK) and Glucagon Like Peptide-1 (GLP-1) on these in vitro motor patterns.

Strips were studied with the organ bath technique and their motility was analysed by the Acqknowledge software. Concentration-response curves (10<sup>-10</sup> M to 10<sup>-6</sup>M) for each hormone were compared by two-way ANOVA with group (hormone or control) as one factor, and concentration of each hormone as the other factor. The effect of the hormones was analysed as the percentage of the mean area under the curve during the 10 minute incubation period with increasing concentration and normalised to the control period before addition of the hormone. All controls developed spontaneous RPCs and a stable tone.

Ghrelin increased the mean AUC of antrum strips, but had no effect in fundus and small bowel. CCK increased the mean AUC of antrum and fundus strips, and showed no effect in small bowel. GLP-1 increased the mean AUC in fundus strips, but had no effect in antrum nor in small bowel strips.

## 1. Introduction:

One of the main functions of the gastrointestinal tract is to mix and propel the ingested food at regulated speed for optimal nutrient absorption and exposure to the digestive enzymes. Regulation of motility involves collaboration of different cell types such as enteric neurons, interstitial cells of Cajal (ICC) and smooth muscle cells, all of which are located within the intestinal wall. The presence of various neurotransmitters indicates also the complexity of regulation of digestive motor activity.

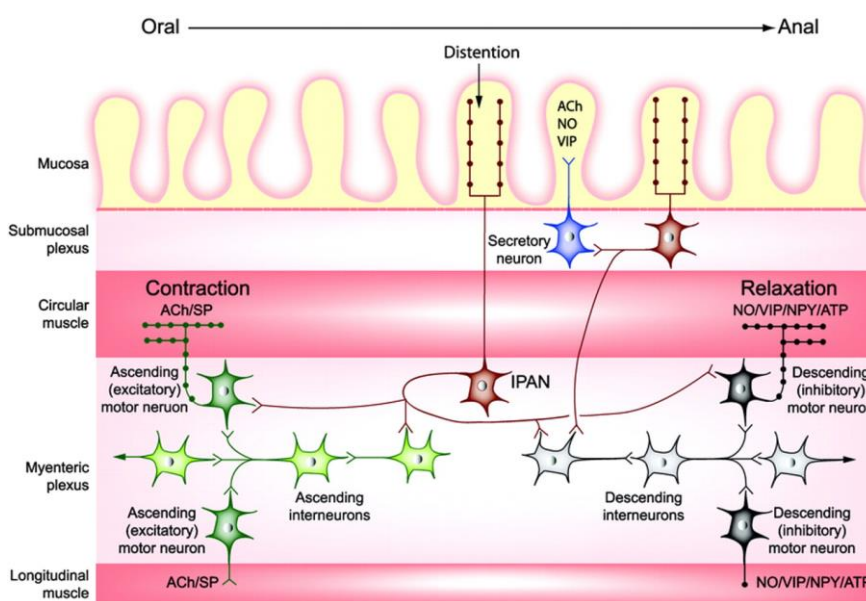


Figure 1. Structural and neuronal relationship of the components from the enteric nervous system responsible for the control of the motility of the digestive tract. Adapted from Enteric nervous system, (Benarroch 2007).

The extrinsic neural control of the gut is mediated mainly by two components of the autonomous nervous system, which are the sympathetic and parasympathetic nervous systems. Both systems influence smooth muscle cells indirectly by acting on specialized neurons of the Enteric Nervous System (ENS). This ENS contains afferent neurons, interneurons and motor neurons, and can initiate many programmed motor patterns in the absence of extrinsic input. Smooth muscle cells within the intestinal wall produce the contractile motor response after receiving stimulatory or inhibitory signals from the ENS. One of the main cells participating in digestive motor control are the interstitial cells of Cajal (specialized cells) which are not smooth muscle cells nor neurons, and have different sub cell types. The ICC<sub>MY</sub> (in the myenteric plexus), the ICC<sub>IM</sub> (intramuscular) and the

ICC<sub>SM</sub> (in the submucosal plexus). The ICC<sub>MY</sub> provides a basal pacemaker stimulatory activity in the stomach, as well as in other parts of the gastrointestinal tract, which results in regulated rhythm and coordinated motility. ICC<sub>IM</sub> facilitates enteric neurotransmission.

The rhythmic slow waves are spontaneous waves in smooth muscle cells generated by the ICC<sub>MY</sub>, at different frequencies in different segments of the gastrointestinal tract, which form the pacemaker activity.

This local system is also regulated by input from the central nervous system and from several non-neural systems such as blood borne hormones and inflammatory mediators, the local immune system, the intestinal flora and the composition of the ingested food itself.

#### **Peripheral hormones controlling gastrointestinal motility.**

Some digestive hormones are released before and after food intake. Their actions involve gastrointestinal motility even though this is not their main known effect in some of these hormones.

**Ghrelin**, the unique peripheral orexigenic peptide, is mainly secreted in gastric fundus. It potentiates in vivo gastric emptying maintaining oro-cecal and colonic transits unaffected in humans (172), whereas ghrelin stimulates motility in the small intestine of rats in vivo and in vitro (173). In humans it mainly acts through neural cholinergic and tachykinergic neurotransmission in the stomach (174). Ghrelin infusion induced premature gastric phase III of the migrating motor complex (MMC) and increased proximal stomach tone (175).

**CCK** is an anorexigenic peptide hormone released at the duodenum basically in response to fat and protein ingestion. It regulates gastric and pancreatic secretion, gallbladder bile emptying and slows gastric emptying by relaxing the gastric fundus and inhibiting the antrum (5). CCK increases antral contractions of longitudinal muscle layer and, is postulated to mediate the inhibition of proximal tone during duodenal delivery of lipids and amino acids and also showed induced contractions of the pylorus (176) in humans. Our group previously showed endogenous CCK delays gastric emptying and enhanced the rate of postprandial transient lower oesophageal relaxations in healthy subjects (64).

**GLP-1** is another peripheral anorexigenic hormone released at the small bowel in response to the presence of nutrients in the small intestine. It is mostly known for its incretin effect, by which it potentiates glucose induced insulin release from pancreatic beta cells. **GLP-1** increases fasting and postprandial gastric volumes and delays gastric emptying for solids

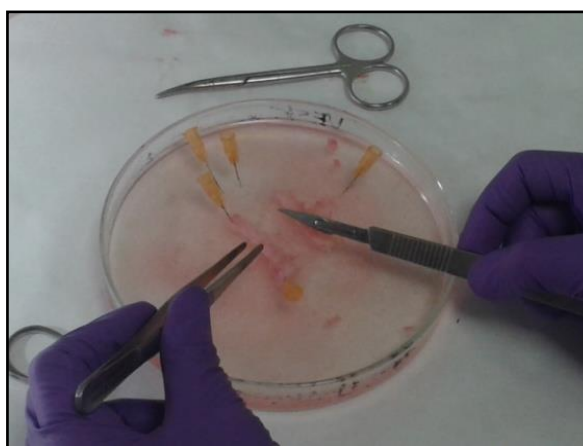
and liquids (80), reduces antral and small bowel motility, increases pyloric tone and reduces acid secretion. It's shown also to be a dose-dependent inhibitor of transpyloric flow with inhibition of antral pumping and stimulation of pyloric braking mechanisms (177).

The aim of the present study is to characterise in vitro gastric and jejunum motor patterns and neuromuscular transmission in circular muscle strips of fundus, antrum and jejunum of morbidly obese patients as well as the effect of three hormones related to satiation, hunger and motility, namely Ghrelin (Ghr), Cholecystokinin (CCK) and Glucagon Like Peptide-1 (GLP-1) on these in vitro motor patterns.

## 2. Methods

### **Tissue collection and dissection**

Tissue was obtained from patients undergoing bariatric surgery, either by laparoscopic gastric bypass (from whom a segment of jejunum was obtained) or sleeve gastrectomy (from whom a segment of fundus and antrum was obtained) at the Hospital of Mataró. The Ethical Review Board of the Hospital of Mataró approved the experimental protocol (CEIC code 14/15) and an informed consent was obtained from each patient before the usage of the tissue.



**Figure 2.** This image was taken during mucosal dissection off the strip.

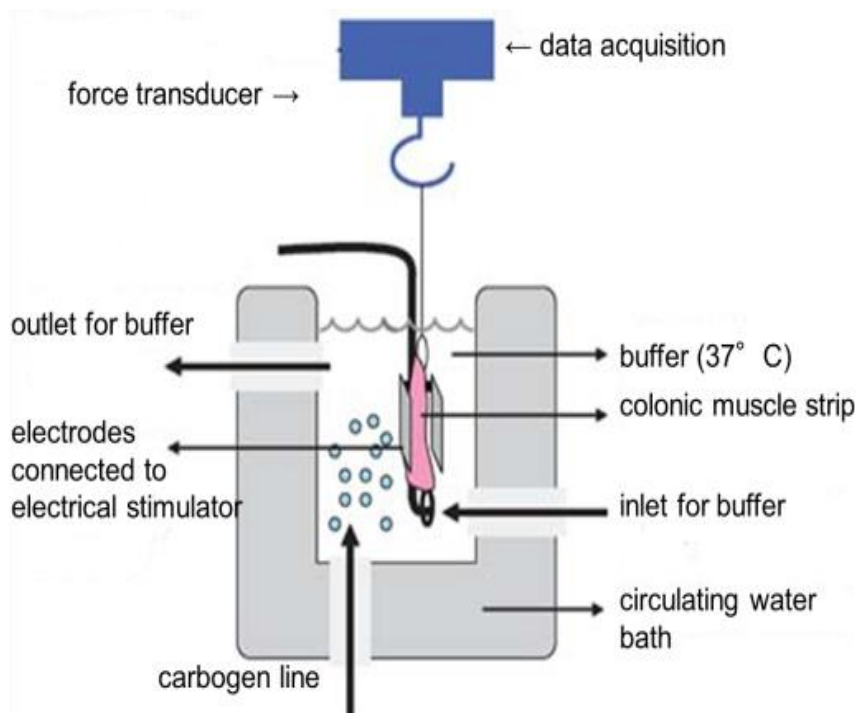
Only healthy tissue was used in the experiments. This was verified macroscopically by a pathologist after excluding any lesions at the level of the sample.

After the extraction, the tissue was preserved overnight in Krebs solution at 0°C. The mucosa and submucosa from the fundus, antrum and jejunum were excised, leaving only the muscularis and serosa layers which contain the myenteric plexus that provides motor innervation to muscular fibers. In a circular direction segments of 3x10mm were cut. All strips were attached on both ends with suture thread to an electrode and to a strain gauge transducer (model 03 Force Transducer, Grass Instruments Co.) and introduced in glass cups filled with 10mL of Krebs solution aerated with 5% CO<sub>2</sub>, 95% O<sub>2</sub>, pH 7.4 at 37°C (178–180).

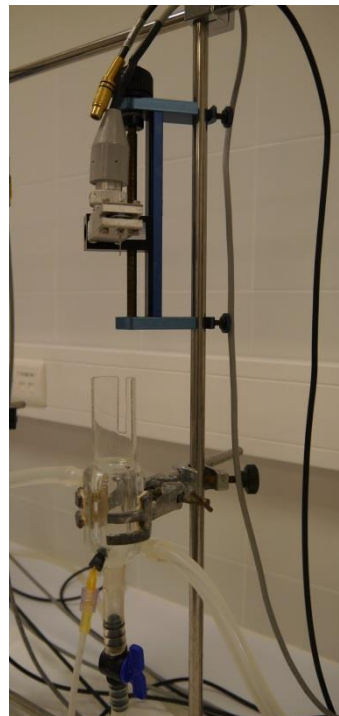


**Figure 3.** Circular muscle strips disposed on one end and attached to a strain gauge transducer.





**Figure 4.** Representative illustration of the organ bath (in this case with colonic muscle strip).



**Figure 5.** Image of a single organ bath from our laboratory.

Isometric tension was recorded by a chart recorder (*model 7 Series Polygraph, Grass Instruments Co.*) and digitalized by the Acqknowledge software (*Acqknowledge, PM100, Biopac Systems, Inc.*). Tissue strips were initially stretched to 4 g and then allowed to equilibrate for 1 hour. The strips that failed to develop a stable tone were excluded from the analysis.

### **Tension recordings and dose response experiments**

Strips were studied with the organ bath technique and their motor patterns were analysed by the AcqKnowledge software. Concentration-response curves ( $10^{-10}$  M to  $10^{-6}$  M) for each hormone were compared by two-way ANOVA with group (hormone or control) as one factor, and concentration of each hormone as the other factor. The effect of the hormones was analysed as the percentage of the mean area under the curve (AUC) during the 10 minute incubation period with increasing concentration and normalised to the control period before addition of the hormone. All controls developed spontaneous RPCs and a stable tone



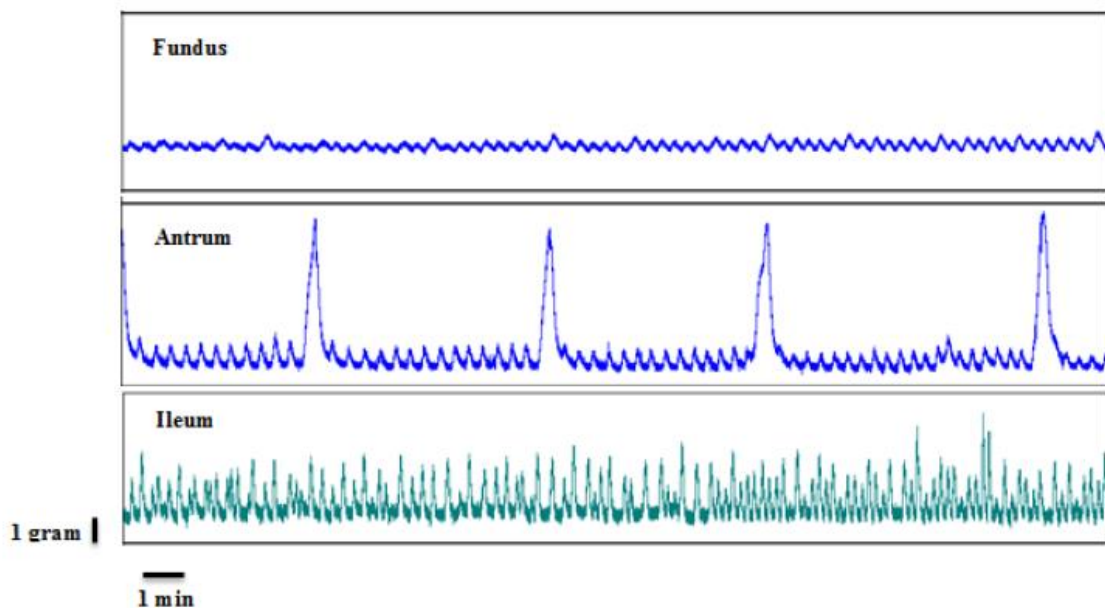
**Figure 6.** Illustration showing the laboratory with the organ bath chambers, the polygraph and the computer.

### 3. Results

#### 3.1. Representative tracings of spontaneous motility

Amplitude, frequency and area under de curve (AUC) of spontaneous contraction (rhythmic phasic contractions, RPCs) were studied in strips of morbidly obese fundus, antrum and jejunum. The parameters studied in dose-response curve experiments on RPCs were quantified as tone, frequency and AUC. Tone was calculated as the average of the minimal of each RPC; frequency of spontaneous RPCs as the average of contractions per period of time (contraction \*  $\text{min}^{-1}$ ); AUC as the mean force development per period of time ( $\text{g} * \text{min}^{-1}$ ).

Fundus and small intestine appear to have one pacemaker, whereas antrum shows two pacemakers.



**Figure 7.** Representative organ bath traces showing spontaneous RPCs in control strips of the fundus, antrum and jejunum.

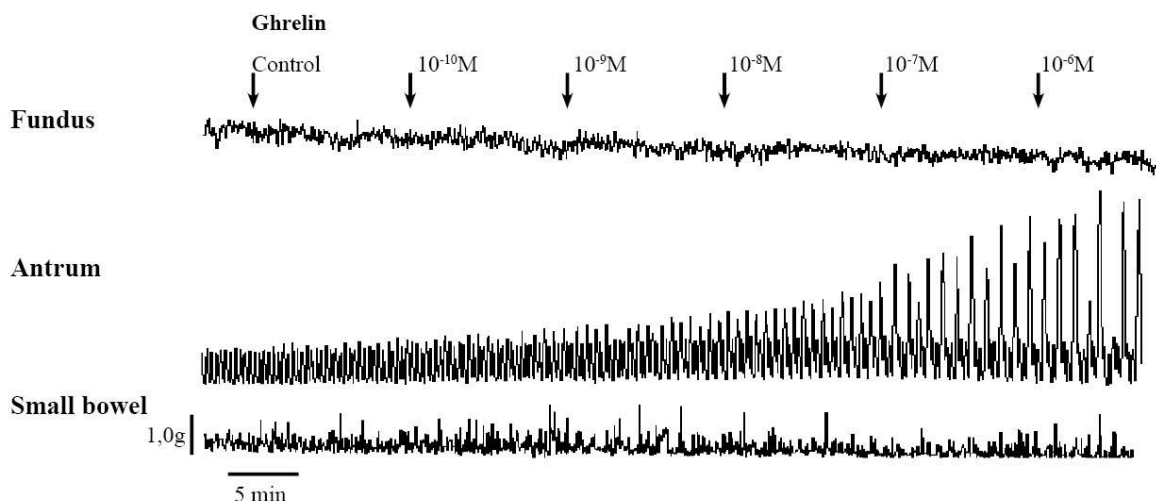
### **3.2. Effect of peptides on spontaneous motility**

In dose-response experiments, strips were incubated during 15 minutes with increasing concentrations of each hormone, or with Krebs buffer for control strips.

The spontaneous motor response, consisting of RPCs, was quantified during the last 10 minutes for each incubation. To analyse the motor response, the following parameters were used: Tone, defined as the average base-line tension during each incubation, and Area Under Curve (AUC)/min defined as the total area under the curve in gram per minute. Data was normalised by using each individual strip as its own control, and response parameters were expressed as a percentage of the response respect to the control period, before the addition of any hormone (Gallego et al 2008). High variability might be expected in gastric or intestinal strips from human origin as compared to animal studies due to the surgery itself and the handling of the tissue, which are not performed in a controlled environment. Concentration-response curves for each individual hormone were compared by a two-way ANOVA with group (control or hormone) as one factor and concentration of each hormone as the other factor. A  $p < 0.05$  was considered significant. A dose-response curve was constructed for each hormone using a sigmoidal dose-response curve fit, and an  $EC_{50}$  was calculated from this curve fit. Statistical and graphical analysis was performed using the statistical software (GraphPad; Prism 6, and SPSS 17.0 statistical software).

### 3.2.1. Effect of Ghrelin

Ghrelin increased the mean AUC of antrum strips (mainly increasing the amplitude), but had no effect in fundus and small bowel.



**Figure 8.** Ghrelin traces.

Mechanical recordings showing the motor pattern of spontaneous rhythmic phasic contractions obtained from fundus, antrum and jejunum of morbidly obese human patients. Responses to human ghrelin are shown in fundus, antrum and jejunum's circular muscle. Arrows indicate progressive Ghrelin concentration, every 10 minutes. One gram is approximately 10mN of tension generated by the strips.

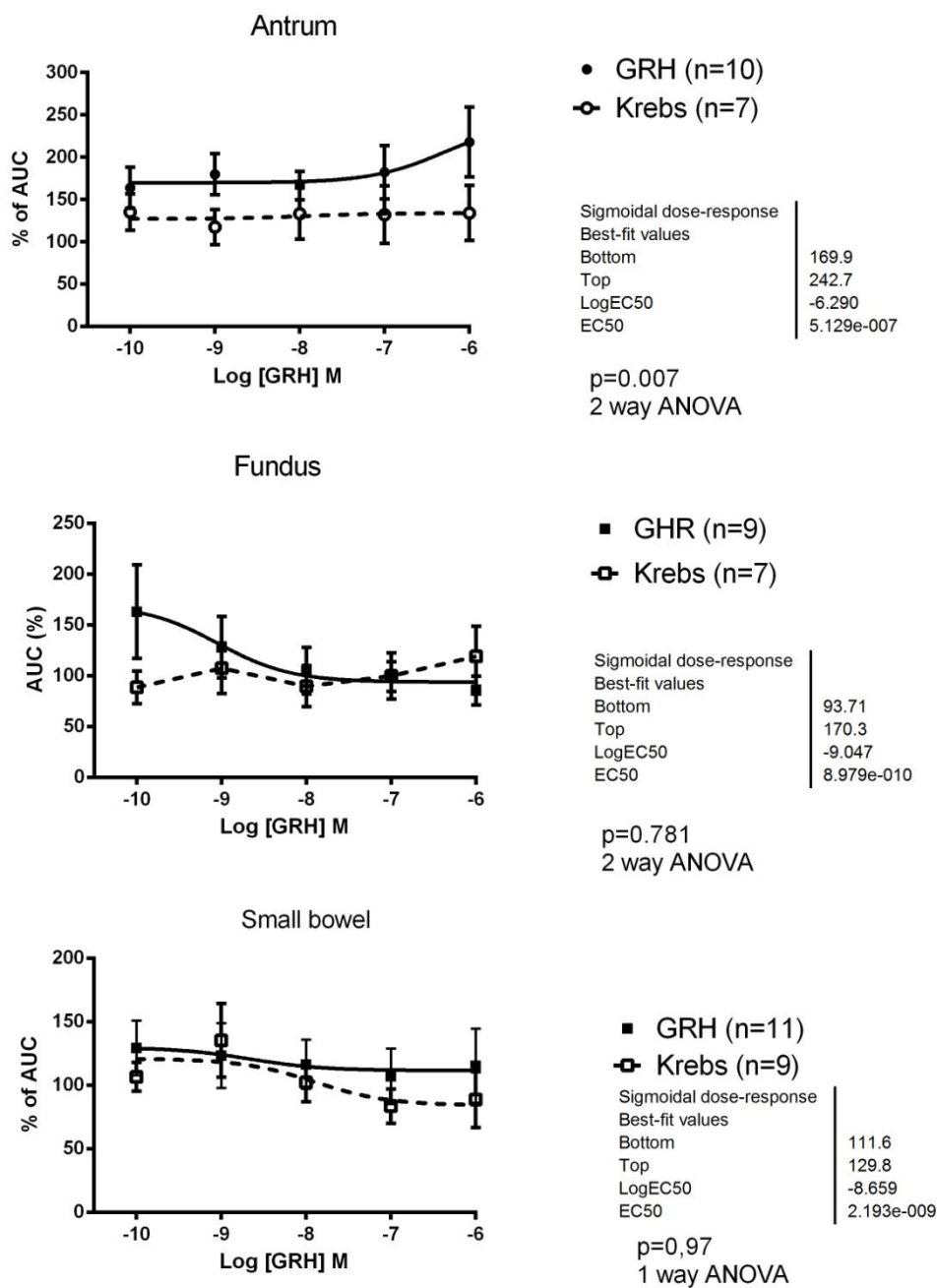
When added to human fundus strips (n=9) GHR did not cause any significant difference in the mean AUC vs control strips. Sigmoidal dose-response curve fit revealed an EC<sub>50</sub> of  $8.979 \cdot 10^{-10}$ M.

When added to the antrum strips (n=10) GHR caused a slight increase in the mean AUC in a dose-dependent manner, with a statistically significant difference between control and CCK-exposed strips. Sigmoidal dose-response curve fit revealed an EC<sub>50</sub> of  $5.129 \cdot 10^{-7}$ M.

When added to the jejunum (n=11), GHR did not show any effect on the mean AUC even at high concentrations. Sigmoidal dose-response curve fit revealed an EC<sub>50</sub> of  $2.193 \cdot 10^{-9}$ M.

See figure 9.

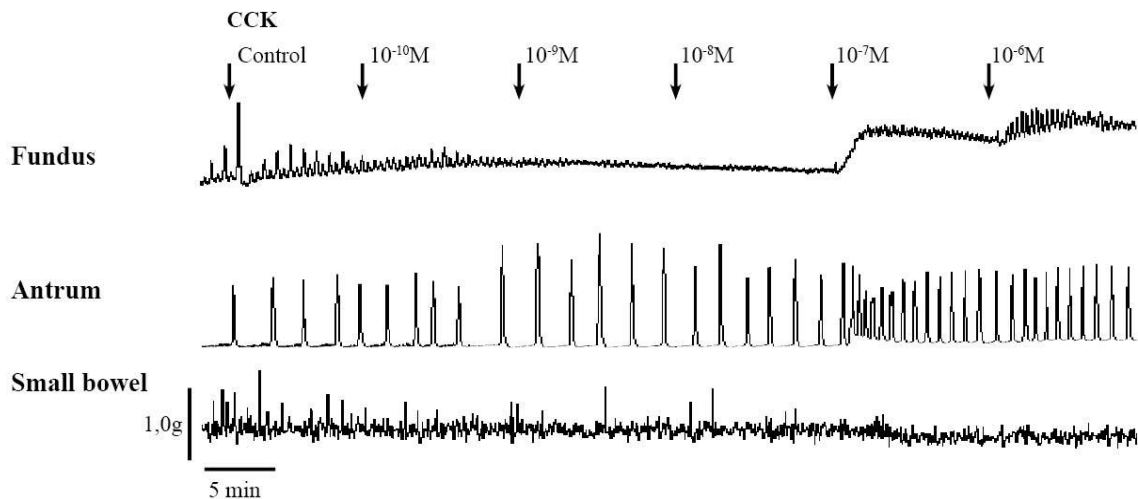
## GHR concentration response curves



**Figure 9.** Ghrelin concentration dose-response curve.

### 3.2.2. Effect of CCK

CCK increased the mean AUC of antrum and fundus strips, and showed no effect in small bowel.



**Figure 10.** CCK traces.

Mechanical recordings showing the motor pattern of spontaneous rhythmic phasic contractions obtained from fundus, antrum and jejunum of morbidly obese human patients. Responses to human CCK are shown in fundus, antrum and jejunum's circular muscle. Arrows indicate progressive CCK concentration, every 10 minutes. One gram is approximately 10mN of tension generated by the strips.

When added to human fundus (n=16) and antrum (n=9) strips CCK caused an increase in the mean AUC in a dose-dependent manner, with a statistically significant difference between control and CCK-exposed strips. Sigmoidal dose-response curve fit revealed an  $EC_{50}$  of  $1.868 \times 10^{-8}M$  for fundus strips and an  $EC_{50}$  of  $7.411 \times 10^{-9}M$  for antrum strips.

When added to the jejunum (n=6), CCK showed no significant difference to the control strips but a slight decrease of the AUC. Sigmoidal dose-response curve fit revealed an  $EC_{50}$  of  $1,095 \times 10^{-7}M$ .

See figure 11.

## CCK concentration response curves

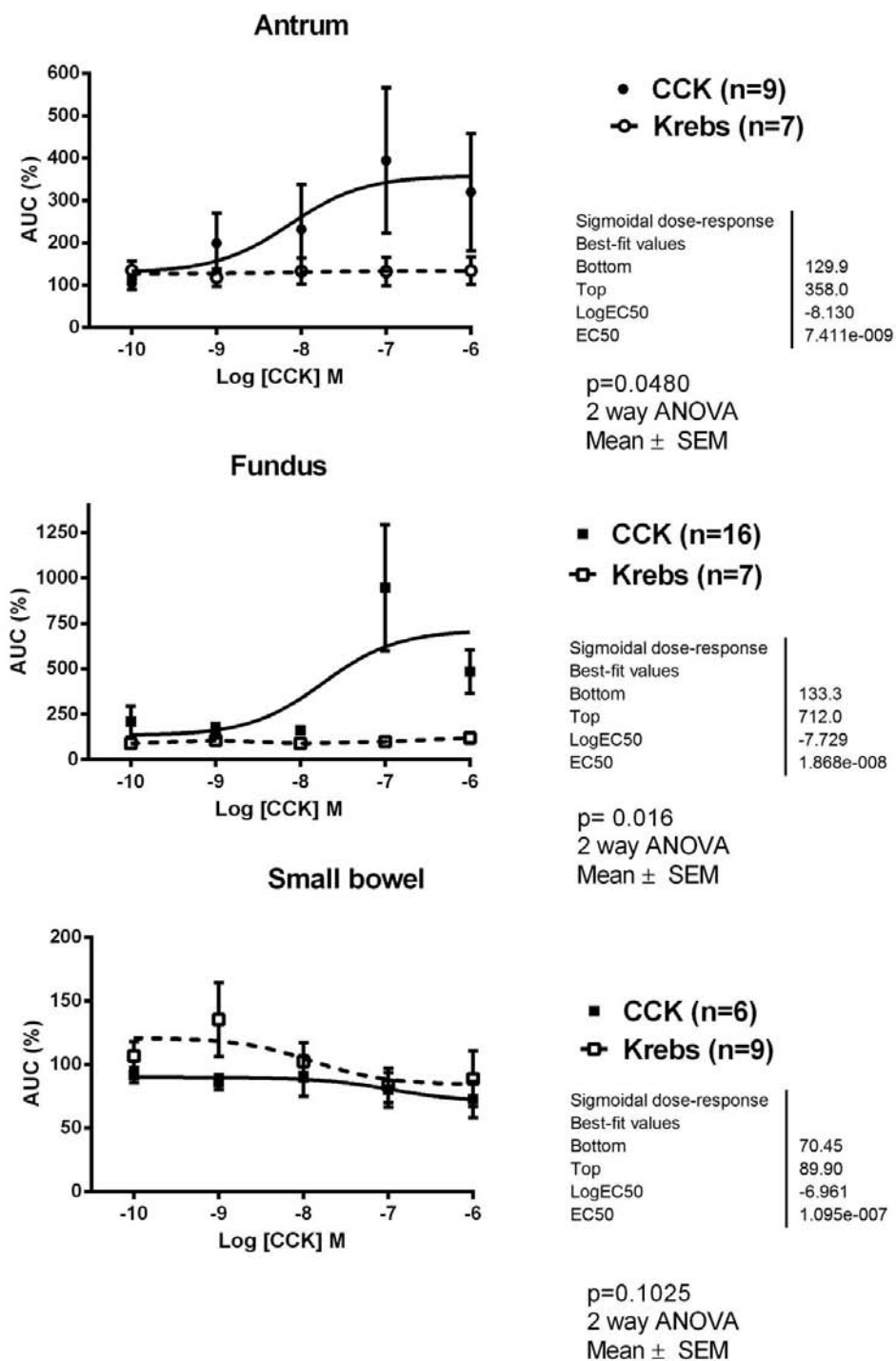
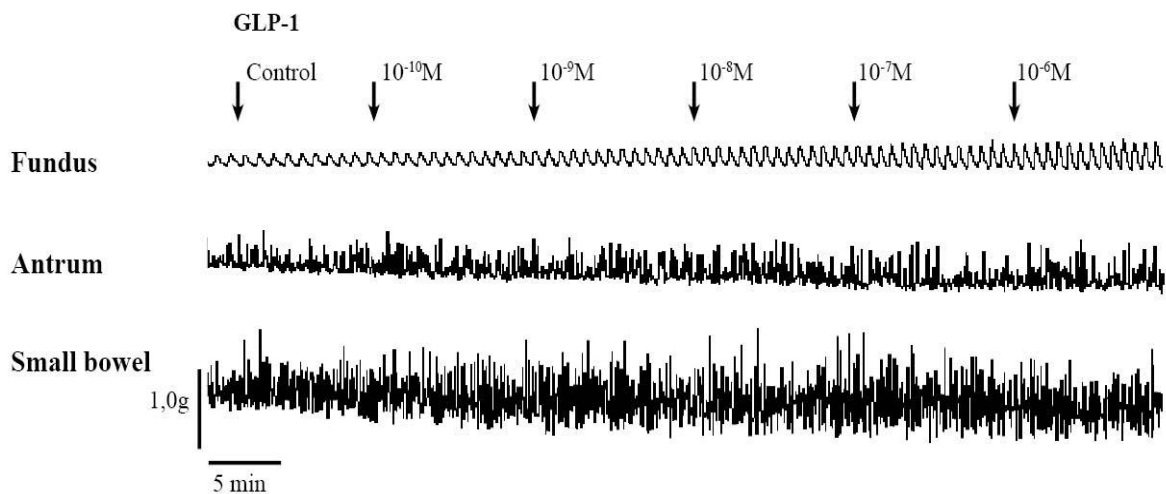


Figure 11. CCK concentration dose-response curve.



### 3.2.3. Effect of GLP-1

GLP-1 increased the mean AUC in fundus strips, but had no effect neither in antrum nor in small bowel strips.



**Figure 12.** GLP-1 traces.

Mechanical recordings showing the motor pattern of spontaneous rhythmic phasic contractions obtained from fundus, antrum and jejunum of morbidly obese human patients. Responses to human GLP-1 are shown in fundus, antrum and jejunum's circular muscle. Arrows indicate progressive GLP-1 concentration, every 10 minutes. One gram is approximately 10mN of tension generated by the strips.

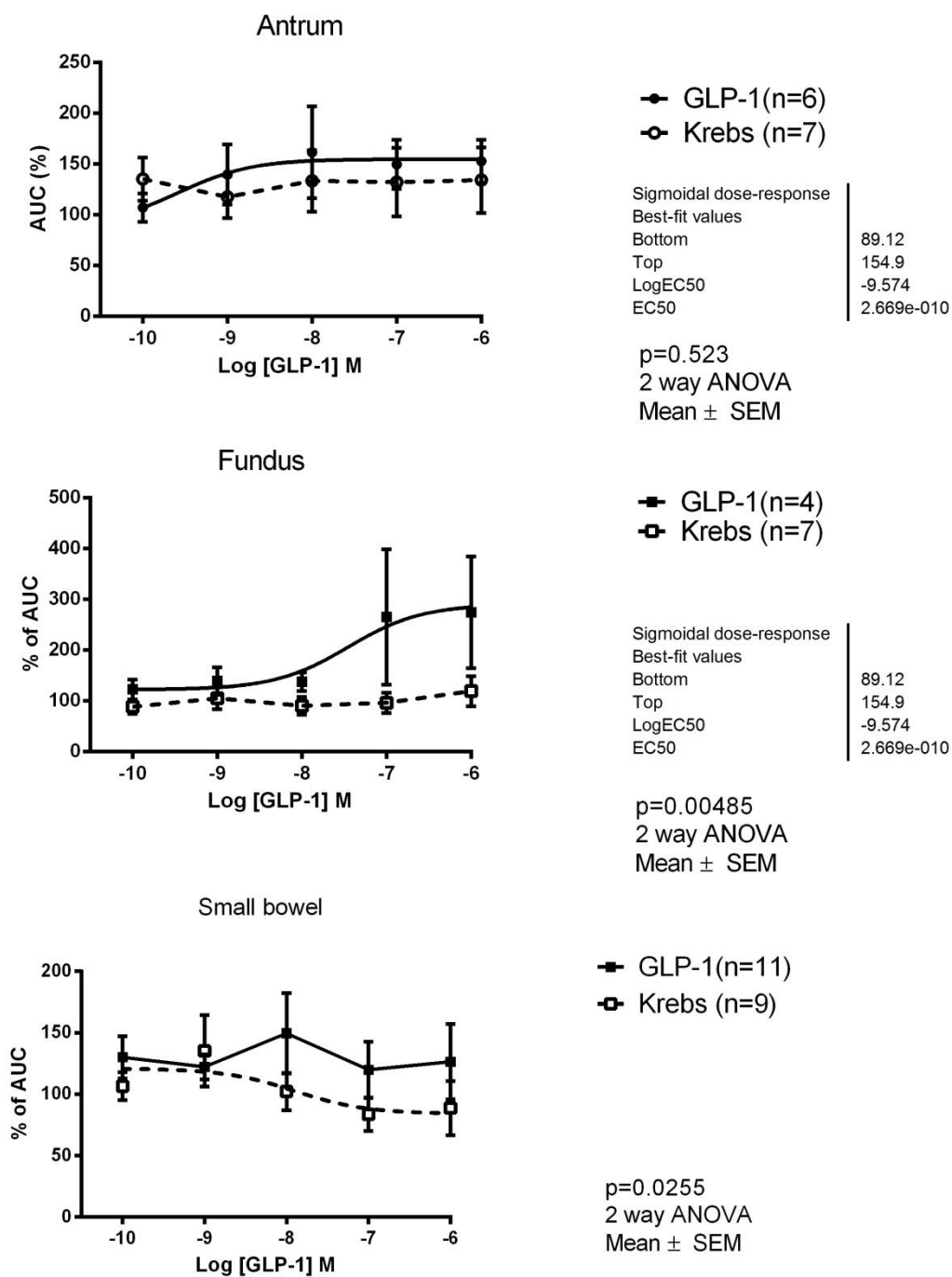
When added to fundus strips (n=6) GLP-1 caused a statistically significant increase in the mean AUC vs control strips. Sigmoidal dose-response curve fit revealed an EC50 of  $2.669 \cdot 10^{-10} \text{M}$ .

When added to the antrum strips (n=4) GLP-1 did not cause a different response respect to the controls strips. Sigmoidal dose-response curve fit revealed an EC50 of  $2.669 \cdot 10^{-10} \text{M}$ .

When added to the jejunum (n=11), GLP-1 showed no different response respect to the control strips and also did not show a sigmoid dose-response curve, probably because of the control tissue's tone decline.

See figure 13.

## GLP-1 concentration response curves



**Figure 13.** GLP-1 concentration dose-response curve.



# **DISCUSSIÓ GENERAL**



## **DISCUSSIÓ GENERAL**

L'objectiu principal d'aquesta tesi és avaluar dos grups de factors perifèrics com són la motilitat gastrointestinal (buidament gàstric, vesicular i trànsit intestinal) i les hormones digestives que participen en els mecanismes de control de la gana i de la sacietat de diferents fenotips d'individus caracteritzats per un teòric excés o disminució d'aquestes dues sensacions. En aquesta tesi, la gana i la sacietat han estat avaluades abans i després d'un àpat líquid en quatre poblacions específiques que observem freqüentment a la pràctica clínica (ancians robustos, ancians fràgils, obesos mòrbids i obesos mòrbids ja intervinguts als qui s'ha practicat una gastrectomia vertical) i comparades amb un grup control (adults joves no obesos) tant en la primera anàlisi (capítol 1: model anorèxia de l'ancià) com en la segona anàlisi (capítol 2: model obesitat mòrbida). A més, se'ls ha realitzat un estudi de la seva motilitat gàstrica, intestinal i vesicular en resposta a un menjar líquid de prova, alhora que s'ha mesurat els nivells hormonals d'un grup de pèptids gastrointestinals que per una banda participen de la regulació de la gana i la sacietat i per l'altra modulen la motilitat gastrointestinal i vesicular. La metodologia emprada ha estat similar en els dos estudis. El monitoratge postprandial simultani de la motilitat gastrointestinal i del perfil hormonal d'una sèrie d'hormones que participen en el control de la gana, la glicèmia i la insulinèmia i, també de la motilitat, ajuda a una millor interpretació dels seus efectes en la gana i la sacietat.

En el primer estudi hem comparat persones joves amb ancians robustos i ancians fràgils, el que ens ha permès avaluar l'efecte de l'edat i la fragilitat sobre la gana, la sacietat i els mecanismes perifèrics que les regulen per tal d'aprofundir en el coneixement de la fisiopatogènia del que s'ha denominat "anorèxia de l'ancià". En el segon estudi hem comparat individus joves no obesos amb persones obeses mòrbides en espera de cirurgia bariàtrica i, amb un grup de pacients ja intervinguts als quals s'havia practicat una gastrectomia vertical aproximadament 12 mesos abans de l'estudi, amb la intenció d'estudiar, per una banda, els mecanismes del control de la gana en obesos mòrbids i, per l'altra, els mecanismes perifèrics que participen en l'efecte terapèutic de la cirurgia bariàtrica. Això ens ha permès avaluar l'efecte de la obesitat i alhora valorar si la cirurgia bariàtrica promou un retorn dels paràmetres estudiats cap a la "normalitat" de les persones no obeses. La tesi es complementa amb l'estudi del temps de trànsit intestinal oro-cecal en

tots els fenotips de pacients i, amb un estudi in vitro sobre l'efecte dels pèptids en segments de fundus, antre i jejú d'obesos mòrbids per a caracteritzar el seu mecanisme d'acció directe al tub digestiu.

**a) Característiques clíniques i fenotípiques dels participants en els estudis.**

En el **capítol 1** d'aquesta tesi hem estudiat el fenotip ancià fràgil (AF) definit segons els criteris de fragilitat de Fried (23) i el comparem amb ancians no fràgils o robustos (AR) i un grup control adult jove (J).

La fragilitat és una síndrome geriàtrica caracteritzada per una disminució de les reserves de l'organisme i de la capacitat de resistència a les agressions externes, ja siguin físiques o psicològiques, que resulta en un declinar de la funció de diversos òrgans i sistemes (181) i, que comporta una major vulnerabilitat per patir malalties, discapacitat, resultats adversos en salut o, fins i tot, la mort (16,107). El perfil de l'ancià fràgil es caracteritza per: a) un major predomini en el sexe femení, b) un baix nivell d'estudis, c) un major nombre de comorbiditats, especialment artrosi, ictus, demència, depressió, càncer, diabetis i dispèpsia, d) la polimediació, e) la presència d'altres síndromes geriàtriques, f) la pèrdua de gana, alteracions en l'estat nutricional i de la composició corporal amb pèrdua de massa muscular (sarcopènia), g) una pobre capacitat funcional amb pèrdua de força muscular i h) alteracions en alguns paràmetres bioquímics com nivells baixos d'hemoglobina (major prevalença d'anèmia) o elevats de marcadors pro-inflamatoris (PCR, IL-6). Segons l'experiència del nostre grup, la prevalença de fragilitat a la població general de  $\geq 75$  anys no institucionalitzada és del 29,4% (182). La prevalença de fragilitat augmenta amb l'edat i és lleugerament major en les dones que en els homes (183).

L'anorèxia i el risc de malnutrició són característiques de la fragilitat. Per altra banda, l'element clau del fenotip fràgil proposat per Fried és la pèrdua de massa muscular (ítem principal de la sarcopènia), que segons la nostra experiència és present en el 70% dels ancians pre-fràgils i en el 97% dels ancians fràgils. La prevalença de síndromes geriàtriques com la fragilitat i la sarcopènia és elevada, i ambdues normalment es solapen

(20). La prevalença de sarcopènia publicada en una revisió recent orienta cap a un 1-29% de sarcopènia en adults grans, que pot augmentar fins al 43% en cas d'estar institucionalitzats (184), però no està categoritzada per edats. Els nostres AF són sarcopènics en un 35,7% segons els criteris del consens europeu (20), per que tenen un descens de la massa muscular junt amb disminució de la força i/o de la velocitat de la marxa. La sarcopènia pot tenir múltiples causes i a vegades no se'n pot filiar cap, però una d'elles és la malnutrició, secundària a l'anorèxia, i tots els nostres AF estan en risc de malnutrició segons el test emprat (MNA) en la seva avaluació (185). El nostre estudi mostra la severitat clínica associada a la fragilitat, amb una capacitat funcional disminuïda i un major risc d'institucionalització, comorbiditats i mort (23). Per evitar o endarrerir l'aparició de la fragilitat i la discapacitat és necessari comprendre millor els mecanismes i factors de risc implicats en el seu desenvolupament i progressió, entre els quals hi ha la disminució de la ingesta i la malnutrició, que afecta moltes persones grans. A més, la fragilitat i la discapacitat que pot comportar s'han associat a un increment del consum de recursos sanitaris i socio-sanitaris a mig termini (186). Per la seva prevalença, les greus conseqüències i pels costos sanitaris i socio-sanitaris que pot comportar, la fragilitat s'hauria de considerar avui dia un veritable problema de salut pública, especialment per que la fragilitat és potencialment reversible (23). Hi ha una necessitat urgent d'abordar des de les administracions públiques la fragilitat i les seves conseqüències, així com de planificar la prevenció, tractament i cura de les persones grans fràgils si es vol evitar la discapacitat i la dependència que el ràpid procés d'envelliment de la població comporta i si es vol promoure un sistema de salut i socio-sanitari més eficient i sostenible.

En el **capítol 2** estudiem un grup d'individus obesos mòrbids i un grup als quals se'ls ha practicat una gastrectomia vertical com a procediment bariàtric almenys 6 mesos abans (mitja 12m). La obesitat és una altra epidèmia dels països desenvolupats que afecta tots els segments d'edat, des dels infants fins a les persones grans. A l'estat espanyol hi ha més d'un 24% de persones amb  $IMC > 30 \text{Kg/m}^2$  (OMS) i la prevalença ha anat en augment en l'última dècada (187,188). La obesitat està relacionada amb una resistència a la insulina i diabetis, amb un perfil lipídic desfavorable, hipertensió arterial, sedentarisme i pobra activitat física que comporten un procés de sarcopenització (obesitat sarcopènica). També amb la malaltia coronària i la mortalitat cardiovascular, amb un increment d'adipoquines



(leptina, IL-6, TNF-alpha, ...) amb activitat inflamatòria i catabòlica, infiltració grassa de vísceres i múscul, problemes respiratoris (SAHS, etc), problemes psicològics i de relació, etc. S'ha publicat que els costos associats a la obesitat són molt elevats. Un individu obès mòrbid genera un 25% més de costos sanitaris que un de pes normal i, la obesitat és responsable d'entre l'1-3% dels costos en salut en la majoria de països de la OECD, arribant a ser del 5-10% en els EUA (189).

En el segon capítol la diferència principal entre els grups es deu a l'IMC que en determina el fenotipus principal. El grup GV té un IMC inferior al grup dels OM, però no arriba al del grup dels NOb. Els individus del grup GV són més grans que els NOb i en això hi pot tenir a veure el temps en llista d'espera per a la cirurgia bariàtrica. Els OM tenen significativament un menor percentatge de massa muscular i major percentatge de massa grassa que els NOb. En el grup de la GV aquests percentatges milloren, de manera que són similars als del grup NOb. Aquestes millores però, no suposen un canvi estadísticament significatiu dels GV respecte dels OM. Respecte de les comorbiditats, no hi ha diferències estadísticament significatives entre els grups OM i GV, ni tampoc en la presa de medicació a excepció de l'omeprazol, que el prenien un 75% de pacients després de la GV. En el protocol inicial s'enretiraven els inhibidors de bomba de protons als 12 mesos de la intervenció, actualment es mantenen sols fins als 6 mesos i s'enretiren definitivament en el pacient asimptomàtic.

El programa d'obesitat mòrbida a l'Hospital de Mataró es va iniciar l'Octubre de 2006, i més de 375 individus han estat intervinguts amb la intenció de disminuir el seu pes, curar les seves comorbiditats i disminuir l'excés de risc de morbimortalitat associats a la obesitat mòrbida. Els procediments practicats majoritàriament són el *bypass* gàstric i la gastrectomia vertical en més del 95% de casos, amb una tendència superior a fer *bypass*, considerat la tècnica "or". Els resultats en quant a pèrdua de pes dels individus després de la gastrectomia vertical en la mostra d'aquesta tesi compleixen amb el criteri-objectiu de pèrdua d'un excés de pes >50% en més del 75% dels pacients operats.

**b) Fisiologia avaluada de les diferents poblacions.**

El **capítol 1** d'aquesta tesi estudia "l'anorèxia de l'ancià" i mostra que els ancians presenten menys gana en dejú, una recuperació més lenta de la gana post ingesta respecte dels adults joves, i també canvis en la resposta de la CCK i en la motilitat gàstrica: en dejú els ancians tenen un àrea antral més gran i una disminució de la capacitat de distensió o compliància antral gàstrica. A nivell hormonal, els ancians tenen un pic de CCK més elevat que els joves, sense diferències significatives atribuïbles a la fragilitat, i els valors de GLP-1 són més alts en el període inicial amb una davallada progressiva postprandial, diferent a la del grup jove control, en la que el GLP-1 s'estimula i augmenta després de l'àpat prova. En els ancians fràgils sembla haver-hi, a més, una pitjor recuperació de la gana postprandial tardana que en els robustos i, una acceleració del buidament gàstric per als líquids, que es contraposa amb estudis previs en ancians (67,110). A la vista dels resultats, la fisiopatologia de l'anorèxia de l'ancià podria estar relacionada amb una elevació en les concentracions d'hormones anorexígenes, especialment de la CCK i alteracions en la motilitat gàstrica, com són una àrea antral en dejú augmentada i una disminució de la compliància antral post ingesta, que poden afavorir una major sacietat.

En el **capítol 2** d'aquesta tesi s'ha observat que els individus obesos mòrbids mostren una gana, sacietat, CCK i buidaments gàstric i vesicular similars als del grup control no obès, però menor concentració de ghrelina en dejú i postprandial i menor GLP-1 postprandial. Els individus després de la gastrectomia vertical tenen menys gana, menys ghrelina, més sacietat, un buidament gàstric més accelerat i pics més elevats de CCK i GLP-1 comparat amb els no obesos. En canvi, comparats amb els obesos mòrbids, després de la GV tenen més sacietat tan sols en dejú i durant els primers 90 minuts post ingesta, menys ghrelina i uns pics postprandials de CCK i GLP-1 més elevats. Així doncs, la gastrectomia vertical aconsegueix una davallada en el pes dels pacients mitjançant uns canvis de motilitat i hormonals que no mimetitzen l'individu "normal", però que aconsegueixen l'objectiu de la cirurgia de disminuir la gana, augmentar la sacietat de l'individu i perdre pes en el postoperatori.



## 1. Gana i sacietat.

En el primer capítol hem observat que els ancians tenen globalment menys gana que els joves i els fràgils tenen menys gana que els robustos, confirmant així el que s'ha anomenat anorèxia de l'ancià. En dejú els ancians fràgils tenien molt poca gana, però els robustos puntuaven una gana similar a la dels joves. La recuperació de la gana en el període postprandial va ser molt escassa en el grup fràgil. Aquests resultats remarquen la diferència de la fragilitat vers l'envelliment robust, descrivint el concepte anorèxia de l'ancià, en aquest cas associada a la fragilitat. La sacietat no va ser descrita en el primer capítol donada la dificultat que van tenir els individus ancians per valorar la sensació de sacietat o de plenitud. Els investigadors van considerar que aquestes valoracions presentaven una validesa dubtosa. Tot i així, no es va trobar diferències significatives en la sacietat en comparar ancians i joves, ni tampoc ancians robustos i fràgils. Sembla que el més important en la seva resposta fisiopatològica ve marcat per la manca de gana i no pas per una major sacietat.

L'anorèxia en l'ancià és molt prevalent, aproximadament un 20% d'ancians en tenen i els ancians amb anorèxia tenen major predisposició a ser fràgils i desenvolupar discapacitats (190). La pèrdua de gana contribueix a una menor ingesta i a un deteriorament de l'estat nutricional o malnutrició (191). La pèrdua de pes és un signe de malnutrició i, malgrat no ser un dels criteris més sensibles de fragilitat, n'és el més específic (23). Així, doncs, l'anorèxia de l'ancià pot contribuir a la malnutrició, aquesta a la sarcopènia i a la fragilitat i, aquesta, a un major risc de discapacitat, caigudes, institucionalització i, fins i tot, de mort (107,192). Altres autors han revisat aquests factors característics de la fragilitat arribant a la conclusió que un objectiu important en el maneig del pacient ancià és la optimització del seu estat nutricional i, que l'anorèxia de l'ancià no s'ha de considerar un efecte secundari de l'envelliment donat que molts factors de risc es poden identificar i reconduir (7) intentant optimitzar sobretot la ingesta alimentària en l'envelliment.

En el segon capítol, amb els pacients obesos mòrbids, no hem trobat diferències en la gana i la sacietat en els individus amb OM i els control sans a l'igual que Brennan (56). En el seu estudi els obesos van puntuar igual en gana i sacietat que els individus de pes normal

amb la majoria d'àpats, però en oferir-los posteriorment una prova d'ingesta calòrica *ad libitum*, els obesos van menjar més, el que els va portar a suggerir que els obesos són menys sensibles a senyals interns de gana i sacietat i són més reactius a senyals externs i altres esdeveniments relacionats amb factors socials. Altres autors suggereixen això mateix (193,194) i, alguns fan èmfasi en l'alteració en les vies de recompensa en els obesos per alteracions a l'hipocamp secundàries a la mateixa dieta (195). Els senyals ambientals, cognitius, emocionals i factors de recompensa juguen un paper tan important en la ingesta d'aliments que poden anul·lar els senyals de regulació homeostàtics (44). En altres estudis s'ha postulat que els individus obesos tenen una major capacitat d'ingesta per que el seu llindar de sacietat és superior, relacionant-lo de forma independent amb l'Índex de Massa Corporal (IMC) i amb el volum gàstric en dejú (150). Per tant, tot i que les persones obeses mengen més, això no vol dir que tinguin més gana (195). També la composició dels àpats pot influir en la quantitat ingerida (56).

Tot i així, la sensació de gana i de sacietat són subjectives i cada individu les percep o viu de manera diferent. La nostra intenció va ser avaluar la resposta a un àpat líquid amb calories i composició suficients per a provocar una resposta hormonal adequada, disminuir la gana i augmentar la sacietat de la població no obesa com així ha estat demostrat.

Els individus del grup de pacients post gastrectomia vertical (GV) es van sentir més saciats durant la primera hora post ingesta i posteriorment aquesta va anar descendint. La major sacietat d'aquests individus concorda amb altres estudis (94) que van apreciar una sacietat precoç i que podria estar en relació als pics elevats d'hormones anorexígenes que presenten aquest grup (138) junt amb les pròpies alteracions morfològiques i mecàniques gàstriques secundàries a la cirurgia (154). Segons alguns autors part important de la modulació de la sacietat en la gastrectomia vertical es relaciona amb factors mecànics de distensió gàstrica i factors de nutrients promovent un estímul al budell prim (196).

## **2. Motilitat del tracte GI.**

### **2.1. Buidament gàstric**

En l'estudi en ancians, l'àrea antral en dejú dels ancians és més gran, a diferència del que va apreciar Di Francesco en ancians sans (67), però la seva compliància (capacitat de distensió) està disminuïda comparat amb el grup control jove. El fet de tenir una àrea antral més gran o distesa pot estimular la sensació de sacietat a través de fibres aferents vagals (117,197). S'ha avaluat més freqüentment i amb més detall les alteracions que succeeixen al fundus amb l'envelliment, així es sap que la compliància del fundus gàstric en ancians està disminuïda i que podria ser degut al descens de l'activitat de l'òxid nítric a la paret fúndica per les motoneurons inhibidores del plexe mientèric fúndic (12,198). Les causes són poc conegudes, però estudis en animals han apreciat una disminució significativa del nombre de neurones del plexe mientèric amb l'edat (199). També s'ha vist que la resposta mioelèctrica de la paret de l'estómac pot ser diferent segons l'edat i el tipus d'aliment ingerit (66). El buidament gàstric de líquids en els ancians fràgils sembla més accelerat en el nostre estudi. Tot i que hi ha estudis que propugnen un alentiment del buidament gàstric en aquesta població (7,14,82), aquest segueix sent un tema controvertit segons una revisió de Salles et al (91) en la que analitza diferents estudis que amb diversos àpats i diferents mètodes de mesura del buidament gàstric, arriben a conclusions dispars. Alguns autors però, han relacionat més l'alentiment del buidament gàstric en els ancians amb la quantia de l'àpat (110). El buidament accelerat dels líquids que descrivim en el nostre estudi concorda amb una disminució de la compliància antral observada en aquests pacients i amb la disminució de la relaxació fúndica relatada per altres autors. Ambdós fenòmens poden col·laborar a augmentar la sensació de sacietat.

En el segon capítol, els pacients OM tenen una àrea antral en dejú més gran que els NOB i que els GV, tot i que aquest últim grup no és comparable pel fet de portar una cirurgia associada que inclou, almenys de manera parcial, l'antra gàstric. El buidament gàstric en el segon capítol s'ha avaluat mitjançant el test d'absorció del paracetamol apreciant que el grup GV té un buidament accelerat, mentre que els OM i els NOB presenten un buidament similar. Aquest fet segueix sent controvertit per que en quant al buidament gàstric en OM els resultats són molt diversos segons el tipus d'àpat emprat i el mètode de mesura utilitzat.

Hi ha encara controvèrsia en quant a l'avaluació del buidament gàstric després de la GV, sobretot relacionada amb variacions en la metodologia emprada en l'anàlisi del buidament i en la tècnica quirúrgica, donat que alguns autors apunten que la quantitat de resecció d'antre gàstric pot influir en els resultats del buidament (85,86).

Tot i així, l'alteració morfològica i mecànica provocada per la cirurgia, augmenta la pressió intragàstrica (154) i disminueix la compliància i la peristalsi del tub gàstric (155), el que afavoreix l'acceleració del buidament, especialment de líquids. D'aquesta manera es promou l'arribada precoç de l'aliment al duodè, que estimularia de manera potent l'alliberament de les hormones anorexígenes com són la CCK en el mateix duodè i el GLP-1 a les cèl·lules del jejú proximal (70), de forma similar a com succeeix en l'anomenat "fre ileal" que promou la sacietat i inhibeix el buidament gàstric. De fet, el GLP-1 és una de les hormones majorment implicades en aquest mecanisme.

El "fre ileal" és el mecanisme de retroalimentació intestinal que modula tant les secrecions com la motilitat del tracte GI, però també la gana i la sacietat com a resultat de l'estímul de nutrients en una localització específica de l'intestí (200). Aquest estímul del nutrient (actualment es sap que tant poden ser lípids com proteïnes com hidrats de carboni) provoca una resposta com la del fre ileal també després d'una infusió duodenal (201,202), promovent alteracions en les hormones anorexígenes com són la CCK estimulada en el mateix duodè i el GLP-1 a les cèl·lules del jejú proximal (70), així com en la motilitat GI dels individus normals. La CCK també pot ser estimulada amb una infusió purament ileal sense pas previ duodenal (200). Les hormones estimulades pel nutrient a l'intestí prim (GLP-1, CCK, PYY) acaben promovent un "fre" al buidament gàstric i a la ingesta, i estimulant la sacietat. S'ha anomenat ileal per que les hormones implicades s'alliberen - produeixen majorment a nivell ileal.

## **2.2. Buidament vesicular, CCK i mecanismes de control.**

En relacionar el resultat de la CCK amb la contracció vesicular (fenomen de retroalimentació negativa de la CCK amb el buidament vesicular (95) observem que no

hem trobat diferències en les corbes de buidament vesicular ni en els percentatges de contractors tant entre els grups del primer capítol (AF 76% vs AR 65% vs J 76%) com del segon capítol (NOB 75% vs OM 87,5% vs GV 100%).

En el primer capítol veiem que els joves i els ancians robustos no contractors tenen un pic de CCK baix, que pot justificar la manca de contracció de la bufeta degut a la poca alliberació de CCK, mentre que els ancians fràgils no contractors tenen un pic alt, el que suggereix que la patologia pot recaure en la mateixa bufeta biliar, incapaç de mostrar una contracció normal malgrat uns bons nivells de CCK. Hi ha algunes hipòtesis com són una resistència o menor sensibilitat a la CCK amb l'edat (203), o a la reducció en la quantitat de receptors a la paret vesicular (204). Segons estudis tissulars de la bufeta biliar, la seva menor contractilitat en l'envelliment podria estar relacionada amb alteracions de les vies de sensibilització del calci (98). Di Francesco (67) va publicar resultats similars al nostre en quant a gana i sacietat, però no respecte del buidament gàstric o vesicular, ni de l'àrea antral avaluant ancians sans comparat amb un grup de joves. L'àrea antral era similar a la dels joves, la contracció vesicular màxima estava disminuïda i el buidament gàstric alentit en els ancians. En aquest estudi però, no van avaluar per separat els valors de CCK segons la contractilitat dels individus. En un altre estudi després d'un àpat líquid que avaluava el buidament gàstric i vesicular amb ecografia en homes i dones, menors i majors de 50 anys tampoc van trobar diferències atribuïbles a l'edat (204). Per tant, els ancians fràgils no contractors (24%) en el nostre estudi sembla que tenen alguna patologia a la paret vesicular ja que la CCK és elevada i no contrauen, just el contrari del que succeeix en el grup robust i en el control jove. La majoria però, contrauen adequadament la bufeta en una proporció igual a la del grup control jove.

En el segon capítol, els individus no contractors del grup NOB i OM també tenen una CCK més baixa que el grup contractor, que pot explicar la manca de contracció de la bufeta per una manca d'estímul hormonal. Tan sols dos dels OM no eren contractors. També destaca el volum de la bufeta en dejú, que és molt superior en els grups de la GV i els OM en comparació amb els NOB. Això concorda amb estudis previs que han avaluat les mesures vesiculars en OM (101,160), però no ho van correlacionar amb la resposta de la CCK. Masclee va trobar que els únics obesos que tenien una alteració en el buidament vesicular



eren aquells que tenien bufetes biliars molt grans en dejú (>40cm<sup>3</sup>). El grup d'OM del present estudi té un volum vesicular en dejú mig de 59,9mL. Tots els obesos mòrbids tenen una bufeta biliar significativament més gran que el grup control NOb, però la gran majoria, han mostrat un buidament adequat. Aquest augment en els volums vesiculars en els obesos ja ha estat descrit a l'edat pre-adolescent, però no està present en els nounats obesos (205). Vezina va avaluar els volums vesiculars en dejú i postprandials (sense valorar si eren o no contractors) en persones de mides grans, fossin aquestes obeses mòrbides o no, i comparant-les amb individus de talla normal, conclouent que ambdós grups tenien volums elevats i que el volum vesicular és proporcional a la mida corporal (102).

No hem trobat cap individu del grup GV que no sigui contractor, tot i que està descrit que el buidament vesicular després d'alguns tipus de cirurgies bariàtriques empitjora (160,161). En el nostre coneixement, aquest és el primer estudi que avalua la bufeta biliar i la seva capacitat contràctil en individus després d'una GV. La bona contracció vesicular promourà una adequada supressió de la CCK després d'un elevat pic postprandial immediat.

### **2.3. Trànsit intestinal**

En el primer estudi no trobem diferències en el temps de trànsit oro-cecal que ens permetin diferenciar entre cap alteració al trànsit intestinal per l'envelliment o degut a la fragilitat, d'acord amb publicacions prèvies que descarten alteracions motores en l'envelliment per se (82). Sí és cert, que els individus ancians fràgils han mostrat un buidament gàstric més accelerat en l'estudi d'absorció del paracetamol, pel que aquesta normalitat en el temps oro-cecal podria suggerir un alentiment del trànsit purament intestinal, que acabés compensant un trànsit oro-cecal normal. Els ancians fràgils del nostre estudi tenen un alt percentatge d'individus que no mostren elevació de l'H<sup>2</sup> exhalat (no responedors) que podria ser atribuït a la dificultat en la realització de la prova en sí mateix i que no hem detectat en altres estudis. La seva capacitat de retenció de l'aire al final de la inspiració i la posterior espiració de l'alè per a mesurar l'exhalació d'H<sup>2</sup> va ser realment difícil per les pròpies condicions dels pacients, de manera que podria ser que algunes exhalacions realitzades no fossin del tot acurades. Probablement s'ha de plantejar altres mètodes com la càpsula endoscòpica que també es pot utilitzar de forma ambulatoria (120) per avaluar de forma aïllada el temps de trànsit oro-cecal en els ancians i els ancians fràgils. Aquesta població

fràgil mostra també un alt percentatge de sobrecreixement bacterià. Tot i que no s'han descrit canvis significatius en l'absorció en l'envelliment (75), sí és conegut que els ancians tenen una major predisposició a patir malabsorció i diarrees de causa tractable de diverses etiologies com són malalties inflamatòries, insuficiència pancreàtica, celiaquia i sobrecreixement bacterià (169). En això hi pot influir el fet que hi ha canvis fisiològics en la microbiota intestinal amb l'edat, amb una davallada de bifidobacteris, un augment en la diversitat d'espècies, amb una tendència a augmentar els fongs i les enterobactèries segons una revisió feta per Morley (75). L'anàlisi de la microbiota intestinal podria ajudar a discernir la normalitat o no de la flora bacteriana en relació als símptomes o malalties i, d'aquesta manera, ajudar al diagnòstic del sobrecreixement bacterià d'una manera menys controvertida i més eficaç (206).

En el segon estudi, en els pacients sotmesos a gastrectomia vertical hem observat un trànsit oro-cecal més accelerat que en els individus amb normopès, però altre cop, degut a que aquest mètode mesura de forma conjunta el buidament gàstric i intestinal, és possible que la diferència fos deguda a la major velocitat en el buidament gàstric dels pacients portadors de gastrectomia vertical. Tot i això, hi ha estudis que mencionen que la contractilitat del budell prim està augmentada en la obesitat (93) o, fins i tot, que les contraccions en “cluster” o agrupades del budell prim són una troballa freqüent en individus OM (168).

S'ha apreciat un percentatge elevat d'individus en tots els grups avaluats que tenen uns valors basals elevats d'H<sup>2</sup>. Aquesta alteració podria estar en relació a un consum d'hidrats de carboni d'absorció incompleta el dia previ a la realització de l'estudi, tot i les hores de dejú establertes o, a la presència de bacteris oro faringis (Zhao et al., 2014). Altres causes com el tabaquisme, l'exercici o la hiperventilació s'han evitat durant l'estudi. L'ús d'inhibidors de bomba de protons (d'ús relativament freqüent en ancians i en els individus després de gastrectomia vertical) s'havia postulat com a una possible causa de positivació dels test d'alè amb lactulosa, però en un article recent (171) es suggereix que aquesta associació no és present, almenys en la població japonesa, en comparar els resultats del test d'alè en tres grups d'individus que prenen IBP, antihistamínics o cap de les dues medicacions.

En els individus obesos mòrbids s'ha descrit ocasionalment la presència de sobrecreixement bacterià (168), i s'ha observat també una alteració en la microbiota intestinal respecte de la dels individus amb pes normal, especialment en aquells obesos mòrbids amb comorbiditat associada (207), el que ha portat a suggerir una associació entre alteracions del microbioma intestinal amb l'aparició de la mateixa obesitat mòrbida. En la nostra mostra d'OM s'ha apuntat a la presència de sobrecreixement bacterià en un 6,25% dels OM, però també en un 6,25% dels NOB i en un 25% dels individus sotmesos a gastrectomia vertical.

#### **2.4. Valoració de l'efecte motor in vitro de les hormones gastrointestinals**

En l'anàlisi de la motilitat in vitro al bany d'òrgans, hem apreciat que:

La ghrelina augmenta l'AUC de les tires antrals de manera que augmenta l'amplitud de les contraccions fàsiques (contraccions rítmiques espontànies) de les cèl·lules musculars circulars, però no té cap efecte al fundus ni en el jejú. No s'ha pogut reproduir els resultats observats en altres estudis (en rates) que van mostrar que la ghrelina causava contraccions dosi-depenents de segments de jejú en rates (173).

La CCK augmenta l'AUC de les tires de fundus i antra, augmentant el to del múscul circular del teixit fúndic i l'amplitud de les contraccions de les fibres circulars antrals, però no hem vist cap efecte en el jejú. En un estudi recent en rates s'ha apreciat que la CCK augmenta la compliància fúndica en part per activació de les fibres vagals pre-gangliòniques inhibidores i inhibeix les excitadores distals en temps diferents, és a dir, primer s'activen les distals probablement per via paracrina intestinal i, després, amb nivells elevats de CCK en sang, les proximals (65). En un estudi previ en esòfag humà ja havíem caracteritzat aquest efecte contràctil de la CCK es produïa per un efecte contràctil directe a les cèl·lules musculars llises circulars(63).

El GLP-1 augmenta l'AUC a les tires fúndiques a expenses d'augmentar l'amplitud de les contraccions, sense augmentar-ne la freqüència. No hem apreciat cap efecte sobre les tires

de l'antre ni les del jejú. Tot i que no hi ha estudis previs en jejú humà, sí que n'hi ha en duodè i colon, i suggereixen que l'acció del GLP-1 s'exerceix disminuint la neurotransmissió colinèrgica a través de receptors presinàptics que modulen l'alliberació d'òxid nítric (208), de manera que disminueix l'estímul excitatori i inhibeix la motilitat.

**Perspectives de l'estudi *in vitro*.**

Respecte de l'annex 3, s'estan realitzant en l'actualitat més estudis amb estímul de camp elèctric que reproduïx la motilitat induïda per l'estimulació del plexe mientèric i poder apreciar les respostes dels teixits amb i sense hormones gastrointestinals per a estudiar en major profunditat aquest aspecte de la motilitat en el teixit gàstric i jejunal en obesos mòrbids. La comparació de l'efecte dels pèptids sobre la activitat motora espontània i sobre la activitat motora *in vitro* induïda per l'estimulació del plexe mientèric permetrà millorar el nostre coneixement sobre l'efecte perifèric de les hormones i les potencials dianes farmacològiques per modular el seu efecte.



### **3. Resposta hormonal a la ingesta**

#### **3.1. Ghrelina**

La ghrelina és la principal hormona orexígena i única perifèrica, que intervé en la regulació de la gana de l'individu. El seu rol en el control de la ingesta a curt termini està àmpliament acceptat, de manera que els seus pics de concentració es relacionen amb els patrons d'ingesta i augmenten com a anticipació de la ingesta (49,209).

En el model d'anorèxia, els ancians no han mostrat diferències en la corba de ghrelina comparat amb el grup control jove i no s'ha evidenciat diferències en relació a la fragilitat. Això no concorda amb un estudi previ realitzat pel nostre grup (15) en el que els ancians tenien menors concentracions de ghrelina i, a més, els fràgils no feien la supressió postprandial mentre que en l'actual sí tendeix a disminuir. La diferència principal entre els dos estudis va ser l'àpat prova utilitzat, que en el present estudi ha estat líquid i en l'anterior va ser mixt i més calòric. La resposta de la ghrelina en el grup control jove de l'estudi actual mostra una discreta recuperació postprandial tardana que contrasta amb la marcada recuperació que es va veure en el grup control de l'estudi previ. Podríem plantejar també si els AF de l'estudi present estan malnodrits i no sols en risc de malnutrició, el que podria justificar que la seva ghrelina fos més elevada per la malnutrició. Un altre factor que pot afectar els resultats és la quantitat de greixos de l'àpat, que poden alterar la resposta hormonal (210) com a mínim de ghrelina i GLP-1 en els ancians.

En els últims anys cada cop més estudis orienten cap a l'estudi de la ghrelina desacilada, descrita com a una hormona amb efectes independents de la ghrelina acilada, fins al punt que podria actuar-hi com a inhibidor (211). El fet d'haver mesurat ghrelina total pot influir en els resultats i tampoc hem avaluat la taxa de ghrelina acilada/desacilada. Aquests estudis recents ens indiquen que probablement sigui necessari afegir l'anàlisi de la ghrelina desacilada i la taxa entre les dues en properes investigacions per a identificar possibles influències d'una vers l'altra. D'altra banda, sembla que la ghrelina acilada està més disminuïda en ancians i que la seva supressió postprandial és menor respecte dels joves segons va descriure Morley en una revisió de pèptids i envelliment (Morley 2015).

En vista dels resultats obtinguts, probablement la ghrelina no influeix de manera crucial en el control de la ingesta en els ancians i en canvi hi poden influir més les hormones anorexígenes.

Per últim, restaria pendent fer estudis en els que s'inclogués la ghrelina desacilada ja que es creu que la taxa ghrelina acilada/desacilada pot modular molts efectes fisiològics, més que no pas les concentracions de cada una de les hormones per separat (142,211). Fins i tot s'ha descrit que la ghrelina desacilada pot millorar el control glicèmic en individus obesos diabètics en promoure la disminució de la ghrelina acilada. (212).

En els estudis en obesos, l'aplanament de la corba de ghrelina en els OM i, de manera encara més acusada després de la gastrectomia vertical, concorden amb estudis previs (4,71,145). En el cas dels OM l'explicació va acord amb la relació dels nivells de ghrelina segons l'IMC (128). En el cas de la GV l'explicació més plausible és la important resecció gàstrica, origen de la major part de la hormona. Tot i així, en un estudi recent, no s'ha trobat relació entre els nivells de ghrelina i la pèrdua de pes després de la GV a l'any i als cinc anys de la intervenció (213). També en la població OM podria ser interessant la inclusió de la ghrelina desacilada en l'avaluació de la gana.

Acció motora descrita per a la ghrelina: acceleració del buidament gàstric (172) sense afectar el trànsit oro-cecal (214) i estímulo del CMM o complex motor migratori:

En els ancians probablement no influeix tant el fet de tenir uns nivells normals de ghrelina total per que probablement és més important la influència de la distensió antral i la manca de relaxació fúndica descrits que interfereixen augmentant la sacietat d'aquest grup d'individus junt amb l'elevació de les hormones anorexígenes. En el grup d'OM la ghrelina està disminuïda, però les hormones anorexígenes no són diferents respecte dels NOB, per tant, tampoc haurien de causar una influència determinada en el buidament gàstric d'aquest grup. Com ja hem dit prèviament, diferents estudis han trobat resultats controvertits en quant al buidament gàstric en OM. En el grup de GV la gran davallada de la ghrelina durant tot l'estudi no influirà en augmentar el buidament gàstric, precisament per que està baixa, i probablement la causa del buidament accelerat és de tipus morfològic i mecànic.

### 3.2. CCK

En el segon estudi hem trobat que els ancians tenen significativament més CCK que els joves i, que els fràgils tendeixen a tenir-la encara més alta, però sense arribar a tenir significació estadística, com sí que s'ha vist en altres estudis en ancians amb anorèxia (215). Els ancians amb respostes de CCK més elevades poden percebre secundàriament una major sacietat, pels seus valors elevats en sí mateix i, alhora, per la seva major sensibilitat a la CCK (66).

En el model de la obesitat, els nivells de CCK en OM són similars als dels NOB, en canvi, el grup GV té un pic de CCK significativament superior al període postprandial inicial probablement explicable per l'acceleració del buidament gàstric que presenten, a l'igual que els ancians fràgils. S'ha descrit una menor sensibilitat a la CCK i al GLP-1 dels individus OM (Dockray 2012), el que afavoriria el seu estat d'obesitat en no estimular tant la sacietat, però aquesta menor sensibilitat no afecta la resposta vesicular. També s'ha suggerit que aquesta sensibilitat podria millorar després de la cirurgia bariàtrica (Peterli 2012).

L'arribada de nutrients al duodè i l'estímul precoç d'hormones anorexígenes poden estimular igualment l'anomenat "fre ileal" amb la conseqüent major sacietat i inhibició posterior de la motilitat gastrointestinal que el caracteritza (200–202). Aquesta resposta hormonal i motora gastrointestinal podria produir-se no tan sols en els individus normals com en els estudis anteriors, sinó també en les poblacions que hem avaluat, especialment en les que el buidament gàstric està més accelerat, però per a saber-ho de manera veraç, s'hauria d'estudiar el trànsit intestinal pur aïllat del buidament gàstric i relacionar-ho amb els temps de resposta hormonal i motora després d'estímuls directes duodenals i ileals.

### 3.3. GLP-1

En el primer capítol en ancians, no apreciem diferències en els nivells de GLP-1 en dejú ni postprandials, però la corba postprandial en els joves té una tendència ascendent, mentre que en ambdós grups d'ancians aquesta tendència és descendent. Altres estudis concorden



amb el nostre i han vist també que el GLP-1 no està disminuït en ancians, en aquest cas especificant que no eren diabètics (66).

En el segon capítol, els OM tenen menors concentracions de GLP-1 postprandials que els NOb, el que corrobora alguns estudis (4,71), però està en desacord amb d'altres (72) en els que el GLP-1 d'obesos mòrbids i individus amb normopès són similars tant en dejú com postprandials.

El pic de GLP-1 que s'aprecia al grup de GV als 15min post ingesta també ha estat reportat prèviament (72) i podria influir en la sacietat més prominent en el període postprandial més inicial d'aquest grup. Si la disminució posterior de la sacietat en el període postprandial tardà té relació amb el descens de les hormones anorexígenes està per determinar encara per que sabem que hormones anorexígenes com el GLP-1 es poden estimular de forma força proximal i també que la CCK, d'origen bàsicament duodenal es pot estimular directament a nivell ileal.

### **3.4. Homeòstasi de la glicèmia.**

#### **Glucosa i insulina**

En el capítol 1, la prevalença de diabetis en els grups d'estudi és baixa i sense diferències entre els grups d'ancians (1/14 dels AF és diabètic i requereix insulina vs 2/20 dels AR que es controlen amb antidiabètics orals vs 0/19 en els joves). La glicèmia en dejú i postprandial és més elevada en els ancians sense diferències atribuïbles a la fragilitat. En canvi, respecte de la insulinèmia, els ancians en conjunt tenen una insulinèmia basal i postprandial tardana més elevada que el grup control, mentre que la insulinèmia és similar en el període postprandial inicial. El grup control disminueix els nivells d'insulina postprandial tardana, però això no s'aprecia en els ancians, i no s'objectiva una diferència atribuïble a la fragilitat en sí mateixa.

En el capítol 2, els OM mostren un patró de resistència a la insulina, essent sols el 18,8% pacients diabètics. En el grup de GV, aquest percentatge és més elevat (37,5%), ja que són un grup de persones diferent, però tot i així, el seu perfil glicèmic ha millorat, amb glicèmies en dejú normalitzades, insulinèmies basals millorades i postprandials tardanes

normals. La insulinèmia postprandial inicial del grup GV encara està molt elevada. Nivells elevats de glucosa en sang i d'insulina estimulen la sacietat (143)

Diferents hormones poden col·laborar en la regulació de l'homeòstasi de la glicèmia. Així com sembla que la ghrelina hi pot contribuir (142,157), altres canvis hormonals apreciats en el nostre grup d'ancians (elevació CCK) i del nostre grup de GV (CCK i GLP-1) afavoririen també el millor control de les excursions de la glicèmia (158). Cada cop hi ha una major evidència de que l'elevació del GLP-1 després de la cirurgia bariàtrica no justifica per sí sola la milloria del control glicèmic tant després de bypass gàstric (159) com després de la GV (216) tal i com s'havia plantejat inicialment i que pot dependre entre d'altres coses, d'un mínim de funcionalitat basal de les cèl·lules beta pancreàtiques.



## **CONCLUSIONS**



## **CONCLUSIONS**

### **En relació a l'efecte de l'edat:**

1. Les persones grans tenen menys gana en dejú i mostren una recuperació de la gana post ingesta més lenta que els adults joves.
2. L'edat no té un efecte sobre la resposta postprandial de ghrelina, però s'ha observat un major pic de CCK postprandial, uns nivells més elevats de GLP-1 en dejú i en el període postprandial immediat i un increment de la corba postprandial de glicèmia en les persones ancianes respecte dels adults joves.
3. Les persones grans tenen una àrea antral gàstrica en dejú més gran i una capacitat de distensió antral post ingesta inferior a la dels adults joves, però no s'observen diferències en la contractilitat de la vesícula biliar entre ancians i adults joves.

### **En relació a l'efecte de la fragilitat:**

4. La fragilitat s'associa amb l'anorèxia, el risc de malnutrició i la sarcopènia, però no s'ha observat cap efecte significatiu de la fragilitat sobre la resposta postprandial de les hormones gastrointestinals estudiades (ghrelina, CCK, GLP-1, insulina).
5. Els ancians fràgils presenten un buidament gàstric a líquids més accelerat que els ancians no fràgils.

### **En relació a l'efecte de la obesitat mòrbida:**

6. Les persones obeses mòrbides no tenen més gana ni menys sacietat que les persones no obeses.
7. No s'han observat diferències significatives en el patró de motilitat gàstrica ni vesicular entre els adults obesos mòrbids i els no obesos.
8. Les persones obeses mòrbides tenen uns nivells en dejú i postprandials de ghrelina més baixos i uns nivells postprandials de GLP-1 més baixos en relació a les persones no obeses.

**9.** Les persones obeses mòrbides tenen un perfil glicèmic suggestiu de resistència insulínica amb hiperglucèmia i hiperinsulinèmia.

**En relació a l'efecte de la gastrectomia vertical:**

**10.** Les persones intervingudes de gastrectomia vertical tenen menys gana i més sacietat que els obesos mòrbids i els adults no obesos.

**11.** Les persones intervingudes de gastrectomia vertical tenen un buidament gàstric a líquids més accelerat respecte dels obesos mòrbids i els adults no obesos, però la seva motilitat vesicular no es veu alterada.

**12.** Les persones intervingudes de gastrectomia vertical tenen uns nivells de ghrelina en dejú i postprandial més baixos, un pic postprandial de CCK més elevat i uns nivells en dejú i postprandials més elevats de GLP-1 que els obesos mòrbids i els adults no obesos.

**13.** Les persones intervingudes de gastrectomia vertical mostren una glicèmia basal i una insulinèmia postprandial tardana normal, suggestives de millora en el perfil glicèmic.

**14.** Les diferents respostes hormonals i de motilitat gastrointestinal interactuen en el control de la gana i la sacietat d'aquests pacients per a promoure un bon resultat de la intervenció quirúrgica en forma de pèrdua de pes.

## **BIBLIOGRAFIA**





**BIBLIOGRAFIA**

1. Ciampolini M, Lovell-smith HD, Kenealy T, Bianchi R. Hunger can be taught : Hunger Recognition regulates eating and improves energy balance. *Int J Gen Med.* 2013;6:465–78.
2. Goldstone AP. The hypothalamus, hormones, and hunger: alterations in human obesity and illness. *Prog Brain Res.* 2006;153:57–73.
3. Näslund E, Grybäck P, Backman L, Jacobsson H, Holst JJ, Theodorsson E, et al. Distal small bowel hormones: Correlation with fasting antroduodenal motility and gastric emptying. *Dig Dis Sci.* 1998;43(5):945–52.
4. Verdich C, Toubro S, Buemann B, Lysgård Madsen J, Juul Holst J, Astrup A. The role of postprandial releases of insulin and incretin hormones in meal-induced satiety--effect of obesity and weight reduction. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2001;25(8):1206–14.
5. Camilleri M, Grudell ABM. Appetite and obesity: a gastroenterologist's perspective. *Neurogastroenterol Motil.* 2007;19(5):333–41.
6. Morley JE. Anorexia, weight loss, and frailty. *J Am Med Dir Assoc.* 2010;11(4):225–8.
7. Martone AM, Onder G, Vetrano DL, Ortolani E, Tosato M, Marzetti E, et al. Anorexia of aging: a modifiable risk factor for frailty. *Nutrients.* 2013;5(10):4126–33.
8. Vellas B, Lauque S, Andrieu S, Nourhashemi F, Rolland Y, Baumgartner R, et al. Nutrition assessment in the elderly. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2001;4(1):5–8.
9. Sturm K, MacIntosh CG, Parker BA, Wishart J, Horowitz M, Chapman IM. Appetite, food intake, and plasma concentrations of cholecystokinin, ghrelin, and other gastrointestinal hormones in undernourished older women and well-nourished young and older women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(8):3747–55.
10. Di Francesco V, Fantin F, Omizzolo F, Residori L, Bissoli L, Bosello O, et al. The anorexia of aging. *Dig Dis.* 2007;25(2):129–37.
11. Serra Prat M, Fernández X, Ribó L, Palomera E, Papiol M, Serra P. [Loss of appetite in elderly people in the community and its relationship with functional capacity]. *Med Clin (Barc).* 2008;130(14):531–3.
12. Morley JE. Anorexia of aging: physiologic and pathologic. *Am J Clin Nutr.* 1997;66(4):760–73.
13. Thakur M, Blazer DG. Depression in long-term care. *J Am Med Dir Assoc.*

- Elsevier; 2008 Feb 2;9(2):82–7.
14. Morley JE. Peptides and aging: Their role in anorexia and memory. *Peptides*. 2015;
  15. Serra-Prat M, Palomera E, Clave P, Puig-Domingo M. Effect of age and frailty on ghrelin and cholecystokinin responses to a meal test. *Am J Clin Nutr*. 2009;89(5):1410–7.
  16. Morley JE. Anorexia of aging: A true geriatric syndrome. *J Nutr Health Aging*. 2012;16(5):422–5.
  17. Soenen S, Chapman IM. Body weight, anorexia, and undernutrition in older people. *J Am Med Dir Assoc*. Elsevier; 2013 Sep 9;14(9):642–8.
  18. Chapman IM. Endocrinology of anorexia of ageing. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2004;18(3):437–52.
  19. Delmonico MJ, Harris TB, Lee J-S, Visser M, Nevitt M, Kritchevsky SB, et al. Alternative definitions of sarcopenia, lower extremity performance, and functional impairment with aging in older men and women. *J Am Geriatr Soc*. 2007 May;55(5):769–74.
  20. Cruz-Jentoft AJ, Baeyens JP, Bauer JM, Boirie Y, Cederholm T, Landi F, et al. Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis: Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People. *Age Ageing*. 2010;39(4):412–23.
  21. Landi F, Liperoti R, Russo A, Giovannini S, Tosato M, Barillaro C, et al. Association of anorexia with sarcopenia in a community-dwelling elderly population: results from the ilSIRENTE study. *Eur J Nutr*. 2013;52(3):1261–8.
  22. Bartali B, Frongillo EA, Bandinelli S, Lauretani F, Semba RD, Fried LP, et al. Low nutrient intake is an essential component of frailty in older persons. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2006;61(6):589–93.
  23. Fried LP, Tangen CM, Walston J, Newman AB, Hirsch C, Gottdiener J, et al. Frailty in older adults: evidence for a phenotype. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2001;56(3):M146–56.
  24. Sturm R, Hattori a. Morbid obesity rates continue to rise rapidly in the United States. *Int J Obes*. 2012;(May):1–3.
  25. Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, Sanofi, Social M de S y P, Hospital Clínic de Barcelona, Social P, Española A, et al. Estudio De Nutrición Y Riesgo Cardiovascular En España (ENRICA). Madrid: Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública. Universidad Autónoma de Madrid; 2011.
  26. Cheung WW, Mao P. Recent advances in obesity: genetics and beyond. *ISRN Endocrinol*. 2012 Jan;2012:536905.

27. Sjöström L. Swedish Obese Patients Study Scientific Group. Lifestyle, diabetes and cardiovascular risk factors 10 years after bariatric surgery. *N Engl J Med.* 2004;351(26):2683–93.
28. Prospective Studies Collaboration. Body-mass index and cause-specific mortality in 900 000 adults: collaborative analyses of 57 prospective studies. *Lancet.* 2009;373(9669):1083–96.
29. NIH conference. Gastrointestinal surgery for severe obesity. Consensus Development Conference Panel. *Ann Intern Med.* 1991;115(12):956–61.
30. Plecka Östlund M, Marsk R, Rasmussen F, Lagergren J, Näslund E. Morbidity and mortality before and after bariatric surgery for morbid obesity compared with the general population. *Br J Surg.* 2011 Jun;98(6):811–6.
31. Christou N V, Sampalis JS, Liberman M, Look D, Auger S, McLean APH, et al. Surgery decreases long-term mortality, morbidity, and health care use in morbidly obese patients. *Ann Surg.* 2004 Sep;240(3):416–23; discussion 423–4.
32. Fernández-Bergés D, Cabrera de León A, Sanz H, Elosua R, Guembe MJ, Alzamora M, et al. Metabolic Syndrome in Spain: Prevalence and Coronary Risk Associated With Harmonized Definition and WHO Proposal. DARIOS Study. *Rev Española Cardiol (English Ed.)* 2012;65(x):241–8.
33. Wildman RP, Mcginn AP, Lin J, Wang D, Muntner P, Hillel W, et al. Cardiovascular disease risk of abdominal obesity versus metabolic abnormalities. *Obesity.* 2011;19(4):853–60.
34. Alberti KGMM, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International . *Circulation.* 2009 Oct 20;120(16):1640–5.
35. Polotsky VY, Patil SP, Savransky V, Laffan A, Fonti S, Frame LA, et al. Obstructive sleep apnea, insulin resistance, and steatohepatitis in severe obesity. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009 Feb 1;179(3):228–34.
36. Milić S, Lulić D, Štimac D. Non-alcoholic fatty liver disease and obesity: biochemical, metabolic and clinical presentations. *World J Gastroenterol.* 2014 Jul 28;20(28):9330–7.
37. Mion F, Dargent J. Gastro-oesophageal reflux disease and obesity: pathogenesis and response to treatment. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2014 Aug;28(4):611–22.
38. Katzmarzyk PT, Reeder BA, Elliott S, Joffres MR, Pahwa P, Raine KD, et al. Body mass index and risk of cardiovascular disease, cancer and all-cause mortality. *Can J Public Health.* 2012 Jan;103(2):147–51.

39. Chaudhri OB, Salem V, Murphy KG, Bloom SR. Gastrointestinal satiety signals. *Annu Rev Physiol.* 2008 Jan;70:239–55.
40. Kmiec Z. Aging and peptide control of food intake. *Curr Protein Pept Sci.* 2011;12(4):271–9.
41. Suzuki K, Simpson K a, Minnion JS, Shillito JC, Bloom SR. The role of gut hormones and the hypothalamus in appetite regulation. *Endocr J.* 2010;57(5):359–72.
42. Suzuki K, Jayasena CN, Bloom SR. Obesity and appetite control. *Exp Diabetes Res.* 2012 Jan;2012:824305.
43. Murphy KG, Bloom SR. Gut hormones and the regulation of energy homeostasis. *Nature.* 2006 Dec;444(7121):854–9.
44. Berthoud H-R. Homeostatic and non-homeostatic pathways involved in the control of food intake and energy balance. *Obesity (Silver Spring).* 2006 Aug;14 Suppl 5:197S – 200S.
45. Schwartz MW, Woods SC, Seeley RJ, Barsh GS, Baskin DG, Leibel RL. Is the energy homeostasis system inherently biased toward weight gain? *Diabetes.* 2003;52(2):232–8.
46. Del Parigi A, Gautier J-F, Chen K, Salbe AD, Ravussin E, Reiman E, et al. Neuroimaging and obesity: mapping the brain responses to hunger and satiation in humans using positron emission tomography. *Ann N Y Acad Sci.* 2002;967:389–97.
47. Kawasaki T, Ohta M, Kawano Y, Masuda T, Gotoh K, Inomata M, et al. Effects of sleeve gastrectomy and gastric banding on the hypothalamic feeding center in an obese rat model. *Surg Today.* 2015 Feb 28;
48. Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, Schmidova K, Wisse BE, Weigle DS. A Preprandial Rise in Plasma Ghrelin Levels Suggests a Role in Meal Initiation in Humans. *Diabetes.* 2001;50(August):1714–9.
49. Tschöp M, Wawarta R, Riepl RL, Friedrich S, Bidlingmaier M, Landgraf R, et al. Post-prandial decrease of circulating human ghrelin levels. *J Endocrinol Invest.* 2001;24(6).
50. Tolle V, Kadem M, Bluet-Pajot MT, Frere D, Foulon C, Bossu C, et al. Balance in Ghrelin and leptin plasma levels in anorexia nervosa patients and constitutionally thin women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(1):109–16.
51. Soriano-Guillén L, Barrios V, Campos-Barros Á, Argente J. Ghrelin levels in obesity and anorexia nervosa: Effect of weight reduction or recuperation. *J Pediatr.* 2004;144(1):36–42.

52. Cummings DE. Ghrelin and the short- and long-term regulation of appetite and body weight. *Physiol Behav.* 2006;89(1):71–84.
53. Sallam HS, Chen JDZ. The prokinetic face of ghrelin. *Int J Pept.* 2010;2010.
54. Yin X, Li Y, Xu G, An W, Zhang W. Ghrelin fluctuation , what determines its production ? Transcriptional Regulation of Ghrelin Post-translational Modification of Ghrelin Precursor Protein. *Acta Biochim Biophys Hung.* 2009;41(3):188–97.
55. Bauer JM, Haack A, Winning K, Wirth R, Fischer B, Uter W, et al. Impaired postprandial response of active ghrelin and prolonged suppression of hunger sensation in the elderly. *Journals Gerontol - Ser A Biol Sci Med Sci.* 2010;65 A(3):307–11.
56. Brennan IM, Luscombe-Marsh ND, Seimon R V., Otto B, Horowitz M, Wishart JM, et al. Effects of fat, protein, and carbohydrate and protein load on appetite, plasma cholecystokinin, peptide YY, and ghrelin, and energy intake in lean and obese men. *AJP: Gastrointestinal and Liver Physiology.* 2012. p. G129–40.
57. Peterli R, Steinert RE, Woelnerhanssen B, Peters T, Christoffel-Courtin C, Gass M, et al. Metabolic and hormonal changes after laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass and sleeve gastrectomy: A randomized, prospective trial. *Obes Surg.* 2012;22(5):740–8.
58. Lee WJ, Chen CY, Chong K, Lee YC, Chen SC, Lee SD. Changes in postprandial gut hormones after metabolic surgery: A comparison of gastric bypass and sleeve gastrectomy. *Surg Obes Relat Dis.* 2011;7(6):683–90.
59. Bohdjalian A, Langer FB, Shakeri-Leiden Mühler S, Gfrerer L, Ludvik B, Zacherl J, et al. Sleeve gastrectomy as sole and definitive bariatric procedure: 5-Year results for weight loss and ghrelin. *Obes Surg.* 2010;20(5):535–40.
60. Strader AD, Woods SC. Gastrointestinal hormones and food intake. *Gastroenterology.* 2005 Jan;128(1):175–91.
61. Liddle R a., Goldfine ID, Rosen MS, Taplitz R a., Williams J a. Cholecystokinin bioactivity in human plasma. Molecular forms, responses to feeding, and relationship to gallbladder contraction. *J Clin Invest.* 1985;75:1144–52.
62. Gomez G, Upp JR, Lluís F, Alexander RW, Poston GJ, Greeley GH, et al. Regulation of the release of cholecystokinin by bile salts in dogs and humans. *Gastroenterology.* 1988;94:1036–46.
63. Clavé P, González a, Moreno a, López R, Farré a, Cussó X, et al. Endogenous cholecystokinin enhances postprandial gastroesophageal reflux in humans through extrasphincteric receptors. *Gastroenterology.* 1998;115:597–604.
64. Hidalgo L, Clavé P, Estorch M, Rodríguez-Espinosa J, Rovati L, Greeley GH, et al. Effect of cholecystokinin-A receptor blockade on postprandial insulinaemia and

- gastric emptying in humans. *Neurogastroenterol Motil.* 2002;14(May):519–25.
65. Okano-Matsumoto S, McRoberts J a., Taché Y, Adelson DW. Electrophysiological evidence for distinct vagal pathways mediating CCK-evoked motor effects in the proximal *versus* distal stomach. *J Physiol.* 2011;589(2):371–93.
66. MacIntosh CG, Horowitz M, Verhagen MA, Smout AJ, Wishart J, Morris H, et al. Effect of small intestinal nutrient infusion on appetite, gastrointestinal hormone release, and gastric myoelectrical activity in young and older men. *Am J Gastroenterol.* 2001;96(4):997–1007.
67. Di Francesco V, Zamboni M, Dioli A, Zoico E, Mazzali G, Omizzolo F, et al. Delayed postprandial gastric emptying and impaired gallbladder contraction together with elevated cholecystokinin and peptide YY serum levels sustain satiety and inhibit hunger in healthy elderly persons. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2005;60(12):1581–5.
68. Dockray GJ. Cholecystokinin. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2012;19(1):8–12.
69. Daly DM, Park SJ, Valinsky WC, Beyak MJ. Impaired intestinal afferent nerve satiety signalling and vagal afferent excitability in diet induced obesity in the mouse. *J Physiol.* 2011 Jun 1;589(Pt 11):2857–70.
70. Holst JJ. The physiology of glucagon-like peptide 1. *Physiol Rev.* 2007 Oct;87(4):1409–39.
71. Ranganath LR, Beety JM, Morgan LM, Wright JW, Howland R, Marks V. Attenuated GLP-1 secretion in obesity: cause or consequence? *Gut.* 1996;38(6):916–9.
72. Dimitriadis E, Daskalakis M, Kampa M, Peppe A, Papadakis J a., Melissas J. Alterations in Gut Hormones After Laparoscopic Sleeve Gastrectomy. *Ann Surg.* 2012;257(4):1.
73. O’Connor A, O’Moráin C. Digestive Function of the Stomach. *Dig Dis.* 2014;32(3):186–91.
74. Jéquier E. Leptin signaling, adiposity, and energy balance. *Ann N Y Acad Sci.* 2002 Jun;967:379–88.
75. Morley JE. The aging gut: physiology. *Clin Geriatr Med.* 2007;23(4):757–67, v – vi.
76. Hasler WL. The physiology of gastric motility and gastric emptying. In: Yamada T, Alpers DH, Kalloo AN, Kaplowitz N, Owyang C, Powell DW, editors. *Textbook of Gastroenterology.* Fifth. Wiley-Blackwell; 2009. p. 207–30.
77. Soffer EE. Small bowel motility: ready for prime time? *Curr Gastroenterol Rep.* 2000;2(5):364–9.

78. Yazigi R. Rincones olvidados de la gastroenterología : Las células intersticiales de Cajal. *Gastr Latinoam*. 2006;17(1):35–42.
79. Hasler WL. Motility of the small intestine and colon. In: Yamada T, Alpers DH, Kalloo AN, Kaplowitz N, Owyang C, Powell DW, editors. *Textbook of Gastroenterology*. Wiley-Blackwell; 2009. p. 231–63.
80. Delgado-Aros S, Kim D-Y, Burton DD, Thomforde GM, Stephens D, Brinkmann BH, et al. Effect of GLP-1 on gastric volume, emptying, maximum volume ingested, and postprandial symptoms in humans. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2002;282(3):G424–31.
81. Hellström PM, Grybäck P, Jacobsson H. The physiology of gastric emptying. *Best Practice and Research: Clinical Anaesthesiology*. 2006. p. 397–407.
82. Britton E, McLaughlin JT. Ageing and the gut. *Proc Nutr Soc*. 2013;72(01):173–7.
83. Gallagher TK, Geoghegan JG, Baird a. W, Winter DC. Implications of altered gastrointestinal motility in obesity. *Obes Surg*. 2007;17(10):1399–407.
84. Fysekidis M, Bouchoucha M, Bihan H, Reach G, Benamouzig R, Catheline J-M. Prevalence and co-occurrence of upper and lower functional gastrointestinal symptoms in patients eligible for bariatric surgery. *Obes Surg*. 2012 Mar;22(3):403–10.
85. Bernstine H, Tzioni-Yehoshua R, Groshar D, Beglaibter N, Shikora S, Rosenthal RJ, et al. Gastric emptying is not affected by sleeve gastrectomy-scintigraphic evaluation of gastric emptying after sleeve gastrectomy without removal of the gastric antrum. *Obes Surg*. 2009;19(3):293–8.
86. Michalsky D, Dvorak P, Belacek J, Kasalicky M. Radical resection of the pyloric antrum and its effect on gastric emptying after sleeve gastrectomy. *Obes Surg*. 2013;23(4):567–73.
87. Kim SK. Small intestine transit time in the normal small bowel study. *Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med*. 1968;104(3):522–4.
88. Sadik R, Abrahamsson H, Stotzer PO. Gender differences in gut transit shown with a newly developed radiological procedure. *Scand J Gastroenterol*. 2003 Jan;38(1):36–42.
89. Madsen JL. Effects of gender, age, and body mass index on gastrointestinal transit times. *Dig Dis Sci*. 1992 Oct;37(10):1548–53.
90. Wade PR. Aging and neural control of the GI tract. I. Age-related changes in the enteric nervous system. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2002;283(3):G489–95.



91. Salles N. Basic mechanisms of the aging gastrointestinal tract. *Dig Dis.* 2007;25(2):112–7.
92. Delgado-Aros S, Camilleri M, Garcia MA, Burton D, Busciglio I. High body mass alters colonic sensory-motor function and transit in humans. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2008 Aug;295(2):G382–8.
93. Gallagher TK, Baird AW, Winter DC. Constitutive basal and stimulated human small bowel contractility is enhanced in obesity. *Ann Surg Innov Res.* 2009 Jan;3:4.
94. Shah S, Shah P, Todkar J, Gagner M, Sonar S, Solav S. Prospective controlled study of effect of laparoscopic sleeve gastrectomy on small bowel transit time and gastric emptying half-time in morbidly obese patients with type 2 diabetes mellitus. *Surg Obes Relat Dis.* 2010;6(2):152–7.
95. Wiener I, Inoue K, Fagan CJ, Lilja P, Watson LC, Thompson JC. Release of cholecystokinin in man: correlation of blood levels with gallbladder contraction. *Ann Surg.* 1981 Sep;194(3):321–7.
96. Thompson JC, Fried GM, Ogden WD, Fagan CJ, Inoue K, Wiener I, et al. Correlation between release of cholecystokinin and contraction of the gallbladder in patients with gallstones. *Ann Surg.* 1982;195(5):670–6.
97. Upp JR, Nealon WH, Singh P, Fagan CJ, Jonas AS, Greeley GH, et al. Correlation of cholecystokinin receptors with gallbladder contractility in patients with gallstones. *Ann Surg.* 1987;205(6):641–8.
98. Macias B, Gomez-Pinilla PJ, Camello-Almaraz C, Pascua P, Tresguerres JA, Camello PJ, et al. Aging impairs Ca<sup>2+</sup> sensitization pathways in gallbladder smooth muscle. *Age (Omaha).* 2012;34(4):881–93.
99. Sari R, Balci MK, Coban E, Karayalcin U. Sonographic evaluation of gallbladder volume and ejection fraction in obese women without gallstones. *J Clin Ultrasound.* 2003;31(7):352–7.
100. Sari R, Balci MK. Relationship between weight loss and gallbladder motility in obese women. *J Natl Med Assoc.* 2006;98(10):1670–6.
101. Masclee AA, Gielkens HA, Lieverse RJ, Penning C, Schipper J, Lamers CB. Gallbladder motility in response to sham feeding and cholecystokinin in lean and obese subjects. *Digestion.* 1997;58(1):43–9.
102. Vezina WC, Paradis RL, Grace DM, Zimmer RA, Lamont DD, Rycroft KM, et al. Increased volume and decreased emptying of the gallbladder in large (morbidly obese, tall normal, and muscular normal) people. *Gastroenterology.* 1990;98(4):1000–7.
103. Regan JP, Inabnet WB, Gagner M, Pomp A. Early Experience with Two-Stage Laparoscopic Roux-en-Y Gastric Bypass as an Alternative in the Super-Super Obese

- Patient. *Obes Surg.* 2003;13(6):861–4.
104. ASMBS Clinical Issues Committee. Updated position statement on sleeve gastrectomy as a bariatric procedure. *Surg Obes Relat Dis.* 2012;8(3):e21–6.
  105. Oor JE, Roks DJ, Ünlü Ç, Hazebroek EJ. Laparoscopic sleeve gastrectomy and gastroesophageal reflux disease: a systematic review and meta-analysis. *Am J Surg.* 2015;
  106. Chapman IM. Nutritional Disorders in the Elderly. *Medical Clinics of North America.* 2006. p. 887–907.
  107. Cornali C, Franzoni S, Frisoni GB, Trabucchi M. Anorexia as an independent predictor of mortality. *J Am Geriatr Soc.* 2005 Feb;53(2):354–5.
  108. Morton GJ, Cummings DE, Baskin DG, Barsh GS, Schwartz MW. Central nervous system control of food intake and body weight. *Nature.* 2006 Sep;443(7109):289–95.
  109. Morley JE. Decreased food intake with aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2001 Oct;56 Spec No:81–8.
  110. Clarkston WK, Pantano MM, Morley JE, Horowitz M, Littlefield JM, Burton FR. Evidence for the anorexia of aging: gastrointestinal transit and hunger in healthy elderly vs. young adults. *Am J Physiol.* 1997;272(1 Pt 2):R243–8.
  111. Serra Prat M, Fernandez X, Burdoy E, Mussoll J, Casamitjana R, Puig Domingo M. The role of ghrelin in the energy homeostasis of elderly people: a population-based study. *J Endocrinol Invest* 2007 Jun; 2007;30(6):484–90.
  112. Holt S, Cervantes J, Wilkinson AA, Wallace JH. Measurement of gastric emptying rate in humans by real-time ultrasound. *Gastroenterology.* 1986 Apr;90(4):918–23.
  113. Haruma K, Kusunoki H, Manabe N, Kamada T, Sato M, Ishii M, et al. Real-time assessment of gastroduodenal motility by ultrasonography. In: *Digestion.* 2008. p. 48–51.
  114. Gilja OH, Hatlebakk JG, Odegaard S, Berstad A, Viola I, Giertsen C, et al. Advanced imaging and visualization in gastrointestinal disorders. *World J Gastroenterol.* 2007;13(9):1408–21.
  115. Bolondi L, Bortolotti M, Santi V, Calletti T, Gaiani S, Labò G. Measurement of gastric emptying time by real-time ultrasonography. *Gastroenterology.* 1985;89(4):752–9.
  116. Hveem K, Jones KL, Chatterton BE, Horowitz M. Scintigraphic measurement of gastric emptying and ultrasonographic assessment of antral area: relation to appetite. *Gut.* 1996;38(6):816–21.

117. Jones KL, Doran SM, Hveem K, Bartholomeusz FD, Morley JE, Sun WM, et al. Relation between postprandial satiation and antral area in normal subjects. *Am J Clin Nutr.* 1997 Jul;66(1):127–32.
118. Sanaka M, Kuyama Y, Yamanaka M. Guide for judicious use of the paracetamol absorption technique in a study of gastric emptying rate of liquids. *J Gastroenterol.* 1998;33(6):785–91.
119. Willems M, Otto Quartero A, Numans ME. How useful is paracetamol absorption as a marker of gastric emptying? A systematic literature study. *Dig Dis Sci.* 2001;46(10):2256–62.
120. Rao SSC, Camilleri M, Hasler WL, Maurer AH, Parkman HP, Saad R, et al. Evaluation of gastrointestinal transit in clinical practice: position paper of the American and European Neurogastroenterology and Motility Societies. *Neurogastroenterol Motil.* 2011 Jan;23(1):8–23.
121. Guigoz Y. The Mini Nutritional Assessment (MNA) review of the literature--What does it tell us? *J Nutr Health Aging.* 2006;10(6):466–85; discussion 485–7.
122. Morley JE. Sarcopenia: diagnosis and treatment. *J Nutr Health Aging.* Jan;12(7):452–6.
123. Ding J, Kritchevsky SB, Newman AB, Taaffe DR, Nicklas BJ, Visser M, et al. Effects of birth cohort and age on body composition in a sample of community-based elderly. *Am J Clin Nutr.* 2007;85(2):405–10.
124. Di Francesco V, Fantin F, Residori L, Bissoli L, Micciolo R, Zivelonghi A, et al. Effect of age on the dynamics of acylated ghrelin in fasting conditions and in response to a meal. *J Am Geriatr Soc.* 2008;56(7):1369–70.
125. Schneider SM, Al-Jaouni R, Caruba C, Giudicelli J, Arab K, Suavet F, et al. Effects of age, malnutrition and refeeding on the expression and secretion of ghrelin. *Clin Nutr.* 2008 Oct;27(5):724–31.
126. Yukawa M, Cummings DE, Matthys CC, Callahan HS, Frayo RS, Spiekerman CF, et al. Effect of aging on the response of ghrelin to acute weight loss. *J Am Geriatr Soc.* 2006 Apr;54(4):648–53.
127. Rigamonti AE, Pincelli AI, Corrà B, Viarengo R, Bonomo SM, Galimberti D, et al. Plasma ghrelin concentrations in elderly subjects: comparison with anorexic and obese patients. *J Endocrinol.* 2002 Oct;175(1):R1–5.
128. Cummings DE, Weigle DS, Frayo RS, Breen P a., Ma MK, Dellinger EP, et al. Plasma Ghrelin Levels after Diet-Induced Weight Loss or Gastric Bypass Surgery. *N Engl J Med.* 2002;346(21):1623–30.
129. MacIntosh CG, Andrews JM, Jones KL, Wishart JM, Morris H a., Jansen JBMJ, et al. Effects of age on concentrations of plasma cholecystokinin, glucagon- like

- peptide 1, and peptide YY and their relation appetite and pyloric motility. *Am J Clin Nutr.* 1999;69:999–1006.
130. Gomez G, Lluís F, Guo YS, Greeley GH, Townsend CM, Thompson JC. Bile inhibits release of cholecystokinin and neurotensin. *Surgery.* 1986 Aug;100(2):363–8.
  131. Poston GJ, Draviam EJ, Yao CZ, Townsend CM, Thompson JC. Effect of age and sensitivity to cholecystokinin on gallstone formation in the guinea pig. *Gastroenterology.* 1990 Apr;98(4):993–9.
  132. Smith GP, Jerome C, Norgren R. Afferent axons in abdominal vagus mediate satiety effect of cholecystokinin in rats. *Am J Physiol.* 1985 Nov;249(5 Pt 2):R638–41.
  133. Colman E, Toth MJ, Katzel LI, Fonong T, Gardner AW, Poehlman ET. Body fatness and waist circumference are independent predictors of the age-associated increase in fasting insulin levels in healthy men and women. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1995 Nov;19(11):798–803.
  134. Kong MF, Horowitz M. Gastric emptying in diabetes mellitus: relationship to blood-glucose control. *Clin Geriatr Med.* 1999 May;15(2):321–38.
  135. O’Mahony D, O’Leary P, Quigley EMM. Aging and intestinal motility: a review of factors that affect intestinal motility in the aged. *Drugs Aging.* 2002 Jan;19(7):515–27.
  136. Orr WC, Chen CL. Aging and neural control of the GI tract: IV. Clinical and physiological aspects of gastrointestinal motility and aging. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2002 Dec;283(6):G1226–31.
  137. Firth M, Prather CM. Gastrointestinal motility problems in the elderly patient. *Gastroenterology.* 2002 May;122(6):1688–700.
  138. Papailiou J, Albanopoulos K, Toutouzas KG, Tsigris C, Nikiteas N, Zografos G. Morbid obesity and sleeve gastrectomy: How does it work? *Obes Surg.* 2010;20:1448–55.
  139. Delgado-Aros S, Camilleri M, Castillo EJ, Cremonini F, Stephens D, Ferber I, et al. Effect of gastric volume or emptying on meal-related symptoms after liquid nutrients in obesity: A pharmacologic study. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2005;3(10):997–1006.
  140. Melissas J, Daskalakis M, Koukouraki S, Askoxylakis I, Metaxari M, Dimitriadis E, et al. Sleeve gastrectomy-a “food limiting” operation. *Obes Surg.* 2008;18(10):1251–6.
  141. Braghetto I, Davanzo C, Korn O, Csendes A, Valladares H, Herrera E, et al. Scintigraphic evaluation of gastric emptying in obese patients submitted to sleeve gastrectomy compared to normal subjects. *Obes Surg.* 2009;19(11):1515–21.

142. Delporte C. Structure and physiological actions of ghrelin. *Scientifica (Cairo)*. 2013 Jan;2013(Figure 1):518909.
143. Cummings D, Overduin J. Gastrointestinal regulation of food intake. *J Clin Invest*. 2007;117(1):13–23.
144. Schirra J, Göke B. The physiological role of GLP-1 in human: Incretin, ileal brake or more? *Regul Pept*. 2005;128:109–15.
145. Anderson B, Switzer NJ, Almamar A, Shi X, Birch DW, Karmali S. The impact of laparoscopic sleeve gastrectomy on plasma ghrelin levels: A systematic review. *Obes Surg*. 2013;23:1476–80.
146. Serra-Prat M, Mans E, Palomera E, Clavé P. Gastrointestinal peptides, gastrointestinal motility, and anorexia of aging in frail elderly persons. *Neurogastroenterol Motil*. 2013;25(4):291–e245.
147. Chambers AP, Smith EP, Begg DP, Grayson BE, Sisley S, Greer T, et al. Regulation of gastric emptying rate and its role in nutrient-induced GLP-1 secretion in rats after vertical sleeve gastrectomy. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2014;306(4):E424–32.
148. Oh S, Kim B, Choue R. Appetite sensations and eating behaviors to complete fasting in obese and non-obese individuals. *Eur J Clin Nutr*. 2002;75(May 2001):86–9.
149. Slyper AH, Kopfer K, Huang W-M, Re'em Y. Increased hunger and speed of eating in obese children and adolescents. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2014;27(5-6):413–7.
150. Delgado-Aros S, Cremonini F, Castillo JE, Chial HJ, Burton DD, Ferber I, et al. Independent Influences of Body Mass and Gastric Volumes on Satiation in Humans. *Gastroenterology*. 2004;126:432–40.
151. Karamanakos SN, Vagenas K, Kalfarentzos F, Alexandrides TK. Weight loss, appetite suppression, and changes in fasting and postprandial ghrelin and peptide-YY levels after Roux-en-Y gastric bypass and sleeve gastrectomy: a prospective, double blind study. *Ann Surg*. 2008;247(3):401–7.
152. Gras-Miralles B, Haya JR, Moros JMR, Goday Arnó A, Torra Alsina S, Ilzarbe Sánchez L, et al. Caloric intake capacity as measured by a standard nutrient drink test helps to predict weight loss after bariatric surgery. *Obes Surg*. 2014;24(12):2138–44.
153. Melissas J, Leventi A, Klinaki I, Perisinakis K, Koukouraki S, de Bree E, et al. Alterations of Global Gastrointestinal Motility After Sleeve Gastrectomy: A Prospective Study. *Ann Surg*. 2012;00(00):1–7.
154. Yehoshua RT, Eidelman L a, Stein M, Fichman S, Mazor A, Chen J, et al. Laparoscopic sleeve gastrectomy--volume and pressure assessment. *Obes Surg*.

- 2008;18(9):1083–8.
155. Baumann T, Kuesters S, Grueneberger J, Marjanovic G, Zimmermann L, Schaefer AO, et al. Time-resolved MRI after ingestion of liquids reveals motility changes after laparoscopic sleeve gastrectomy-preliminary results. *Obes Surg.* 2011;21(1):95–101.
  156. Näslund E, Gutniak M. Glucagon-like peptide 1 increases the period of postprandial satiety and slows gastric emptying in obese men. *Am J ...* 1998;68:525–30.
  157. Wortley KE, Del Rincon JP, Murray JD, Garcia K, Iida K, Thorner MO, et al. Absence of ghrelin protects against early-onset obesity. *J Clin Invest.* 2005;115(12):3573–8.
  158. Rehfeld JF. Incretin physiology beyond glucagon-like peptide 1 and glucose-dependent insulinotropic polypeptide: Cholecystokinin and gastrin peptides. *Acta Physiol.* 2011;201(4):405–11.
  159. Jimenez A, Casamitjana R, Flores L, MD P, Delgado S, Lacy A, et al. GLP-1 and the Long-Term Outcome of Type 2 Diabetes Mellitus After Roux-en-Y Gastric Bypass Surgery in Morbidly Obese Subjects. *Ann Surg.* 2013;257(5):894–9.
  160. Al-Jiffry BO, Shaffer EA, Saccone GTP, Downey P, Kow L, Toouli J. Changes in gallbladder motility and gallstone formation following laparoscopic gastric banding for morbid obesity. *Can J Gastroenterol.* 2003 Mar;17(3):169–74.
  161. Bastouly M, Arasaki CH, Ferreira JB, Zanoto A, Borges FGHP, Del Grande JC. Early changes in postprandial gallbladder emptying in morbidly obese patients undergoing Roux-en-Y gastric bypass: Correlation with the occurrence of biliary sludge and gallstones. *Obes Surg.* 2009;19(1):22–8.
  162. Bateman DN, Whittingham TA. Measurement of gastric emptying by real-time ultrasound. *Gut.* 1982 Jun;23(6):524–7.
  163. Braun-Moscovici Y, Braun M, Khanna D, Balbir-Gurman A, Furst DE. What tests should you use to assess small intestinal bacterial overgrowth in systemic sclerosis? *Clin Exp Rheumatol.* 33 Suppl 9(4):117–22.
  164. La Brooy SJ, Male PJ, Beavis AK, Misiewicz JJ. Assessment of the reproducibility of the lactulose H<sub>2</sub> breath test as a measure of mouth to caecum transit time. *Gut.* 1983 Oct;24(10):893–6.
  165. Clegg M, Shafat A. Gastric emptying and oro-caecal transit time of meals containing lactulose or inulin in men. *Br J Nutr.* 2010 Aug;104(4):554–9.
  166. Khanna D, Furst DE, Braun M, Balbir-gurman A, Furst DE. What tests should you use to assess small intestinal bacterial overgrowth in systemic sclerosis ? 2014;(November).

167. Hirakawa M, Iida M, Kohrogi N, Fujishima M. Hydrogen breath test assessment of oro-cecal transit time: comparison with barium meal study. *Am J Gastroenterol*. 1988;83(12):1361–3.
168. Madrid AM, Poniachik J, Quera R, Defilippi C. Small intestinal clustered contractions and bacterial overgrowth: a frequent finding in obese patients. *Dig Dis Sci*. 2011 Jan;56(1):155–60.
169. Hoffmann JC, Zeitz M. Small bowel disease in the elderly: diarrhoea and malabsorption. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2002;16(1):17–36.
170. Zhao J, Zheng X, Chu H, Zhao J, Cong Y, Fried M, et al. A study of the methodological and clinical validity of the combined lactulose hydrogen breath test with scintigraphic oro-cecal transit test for diagnosing small intestinal bacterial overgrowth in IBS patients. *Neurogastroenterol Motil*. 2014;26(6):794–802.
171. Fujiwara Y, Watanabe T, Muraki M, Yamagami H, Tanigawa T, Shiba M, et al. Association between chronic use of proton pump inhibitors and small- intestinal bacterial overgrowth assessed using lactulose hydrogen breath tests. *Hepatogastroenterology*. 2015 Jan;62(138):268–72.
172. Levin F, Edholm T, Schmidt PT, Grybäck P, Jacobsson H, Degerblad M, et al. Ghrelin stimulates gastric emptying and hunger in normal-weight humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91(9):3296–302.
173. Edholm T, Levin F, Hellström PM, Schmidt PT. Ghrelin stimulates motility in the small intestine of rats through intrinsic cholinergic neurons. *Regul Pept*. 2004;121:25–30.
174. Avau B, Carbone F, Tack J, Depoortere I. Ghrelin signaling in the gut, its physiological properties, and therapeutic potential. *Neurogastroenterol Motil*. 2013;25:720–32.
175. Tack J, Depoortere I, Bisschops R, Delporte C, Coulie B, Meulemans a, et al. Influence of ghrelin on interdigestive gastrointestinal motility in humans. *Gut*. 2006;55:327–33.
176. Lüdtke FE, Golenhofen K, Köhne C. Direct effects of cholecystokinin on human gastric motility. *Digestion*. 1988 Jan;39(4):210–8.
177. Anvari M, Paterson CA, Daniel EE, McDonald TJ. Effects of GLP-1 on gastric emptying, antropyloric motility, and transpyloric flow in response to a nonnutrient liquid. *Dig Dis Sci*. 1998;43(6):1133–40.
178. Alvarez-Berdugo D, Espín F, Arenas C, López I, Clavé P, Gallego D. Changes in the response to excitatory antagonists, agonists, and spasmolytic agents in circular colonic smooth muscle strips from patients with diverticulosis. *Neurogastroenterol Motil*. 2015 Aug;27(11):1600–12.



179. Rychter J, Ortega O, Berdun S, Arenas C, Lopez I, Espin F, et al. Mast cell degranulation inhibits motor patterns of human ileum and sigmoid colon in vitro: relevance for postoperative ileus. *Neurogastroenterol Motil.* 2015;27(8):1098–109.
180. Espín F, Rofes L, Ortega O, Clavé P, Gallego D. Nitroergic neuro-muscular transmission is up-regulated in patients with diverticulosis. *Neurogastroenterol Motil.* 2014;26(10):1458–68.
181. Vermeulen J, Neyens JCL, van Rossum E, Spreeuwenberg MD, de Witte LP. Predicting ADL disability in community-dwelling elderly people using physical frailty indicators: a systematic review. *BMC Geriatr.* 2011 Jan;11:33.
182. Serra-Prat M, Papiol M, Monteis R, Palomera E, Cabré M. Relationship between Plasma Ghrelin Levels and Sarcopenia in Elderly Subjects: A Cross-Sectional Study. *J Nutr Health Aging.* 2015 Jun;19(6):669–72.
183. Collard RM, Boter H, Schoevers RA, Oude Voshaar RC. Prevalence of frailty in community-dwelling older persons: a systematic review. *J Am Geriatr Soc.* 2012;60(8):1487–92.
184. Cruz-Jentoft AJ, Landi F, Schneider SM, Zuniga C, Arai H, Boirie Y, et al. Prevalence of and interventions for sarcopenia in ageing adults: a systematic review. Report of the International Sarcopenia Initiative (EWGSOP and IWGS). *Age Ageing.* 2014;43(6):748–59.
185. Kaiser MJ, Bauer JM, Rämsch C, Uter W, Guigoz Y, Cederholm T, et al. Frequency of malnutrition in older adults: A multinational perspective using the mini nutritional assessment. *J Am Geriatr Soc.* 2010;58(9):1734–8.
186. Robinson TN, Wu DS, Stiegmann G V, Moss M. Frailty predicts increased hospital and six-month healthcare cost following colorectal surgery in older adults. *Am J Surg.* 2011;202(5):511–4.
187. Garcia-Goñi M, Hernandez-Quevedo C. The evolution of obesity in Spain. *Eurohealth Syst Policies.* 2012;18(1):22–5.
188. Basterra-Gortari FJ, Beunza JJ, Bes-Rastrollo M, Toledo E, García-López M, Martínez-González M a. Increasing trend in the prevalence of morbid obesity in Spain: from 1.8 to 6.1 per thousand in 14 years. *Rev Española Cardiol.* 2011;64(5):424–6.
189. OECD. Obesity Update 2012. Update. 2012.
190. Landi F, Russo A, Liperoti R, Tosato M, Barillaro C, Pahor M, et al. Anorexia, physical function, and incident disability among the frail elderly population: results from the iLSIRENTE study. *J Am Med Dir Assoc.* 2010;11(4):268–74.
191. Rémond D, Shahar DR, Gille D, Pinto P, Kachal J, Peyron M-A, et al. Understanding the gastrointestinal tract of the elderly to develop dietary solutions



- that prevent malnutrition. *Oncotarget*. 2015;6(17):13858–98.
192. Landi F, Liperoti R, Lattanzio F, Russo A, Tosato M, Barillaro C, et al. Effects of anorexia on mortality among older adults receiving home care: an observation study. *J Nutr Health Aging*. 2012;16(1):79–83.
193. Blundell JE, Gillett A. Control of food intake in the obese. *Obes Res*. 2001 Nov;9 Suppl 4:263S – 270S.
194. Keogh JB, Luscombe-Marsh ND, Noakes M, Wittert GA, Clifton PM. Long-term weight maintenance and cardiovascular risk factors are not different following weight loss on carbohydrate-restricted diets high in either monounsaturated fat or protein in obese hyperinsulinaemic men and women. *Br J Nutr*. 2007 Mar;97(2):405–10.
195. Kanoski SE, Davidson TL. Western diet consumption and cognitive impairment: Links to hippocampal dysfunction and obesity. *Physiol Behav*. 2011 Apr 18;103(1):59–68.
196. Powley TL, Phillips RJ. Gastric satiation is volumetric, intestinal satiation is nutritive. *Physiol Behav*. 2004 Aug;82(1):69–74.
197. Sturm K, Parker B, Wishart J, Feinle-Bisset C, Jones KL, Chapman I, et al. Energy intake and appetite are related to antral area in healthy young and older subjects. *Am J Clin Nutr*. 2004 Sep;80(3):656–67.
198. Wudel LJ, Wright JK, Debelak JP, Allos TM, Shyr Y, Chapman WC. Prevention of gallstone formation in morbidly obese patients undergoing rapid weight loss: results of a randomized controlled pilot study. *J Surg Res*. 2002;102(1):50–6.
199. Phillips RJ, Powley TL. As the gut ages: timetables for aging of innervation vary by organ in the Fischer 344 rat. *J Comp Neurol*. 2001 Jun 4;434(3):358–77.
200. van Avesaat M, Troost FJ, Ripken D, Hendriks HF, Masclee a a M. Ileal brake activation: macronutrient specific effects on eating behavior? *Int J Obes*. 2015;39:235–43.
201. Ryan AT, Luscombe-Marsh ND, Saies AA, Little TJ, Standfield S, Horowitz M, et al. Effects of intraduodenal lipid and protein on gut motility and hormone release, glycemia, appetite, and energy intake in lean men. *Am J Clin Nutr*. 2013 Aug;98(2):300–11.
202. Pilichiewicz AN, Chaikomin R, Brennan IM, Wishart JM, Rayner CK, Jones KL, et al. Load-dependent effects of duodenal glucose on glycemia, gastrointestinal hormones, antropyloroduodenal motility, and energy intake in healthy men. *AJP Endocrinol Metab*. 2007 Jun 19;293(3):E743–53.
203. Khalil T, Walker JP, Wiener I, Fagan CJ, Townsend CM, Greeley GH, et al. Effect of aging on gallbladder contraction and release of cholecystokinin-33 in humans.

- Surgery. 1985 Sep;98(3):423–9.
204. Wedmann B, Schmidt G, Wegener M, Coenen C, Ricken D, Althoff J. Effects of age and gender on fat-induced gallbladder contraction and gastric emptying of a caloric liquid meal: a sonographic study. *Am J Gastroenterol*. 1991;86(12):1765–70.
  205. Di Ciaula A, Wang DQH, Portincasa P. Gallbladder and gastric motility in obese newborns, pre-adolescents and adults. *J Gastroenterol Hepatol*. 2012;27(8):1298–305.
  206. Quigley EMM. Small intestinal bacterial overgrowth: what it is and what it is not. *Curr Opin Gastroenterol*. 2014 Mar;30(2):141–6.
  207. Ley RE, Bäckhed F, Turnbaugh P, Lozupone C a, Knight RD, Gordon JI. Obesity alters gut microbial ecology. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(31):11070–5.
  208. Amato a., Cinci L, Rotondo a., Serio R, Fausone-Pellegrini MS, Vannucchi MG, et al. Peripheral motor action of glucagon-like peptide-1 through enteric neuronal receptors. *Neurogastroenterol Motil*. 2010;22:664–72.
  209. Frecka JM, Mattes RD. Possible entrainment of ghrelin to habitual meal patterns in humans. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2008 Mar;294(3):G699–707.
  210. Di Francesco V, Barazzoni R, Bissoli L, Fantin F, Rizzotti P, Residori L, et al. The quantity of meal fat influences the profile of postprandial hormones as well as hunger sensation in healthy elderly people. *J Am Med Dir Assoc*. 2010;11(3):188–93.
  211. Delhanty PJD, Neggers SJ, van der Lely AJ. Should we consider des-acyl ghrelin as a separate hormone and if so, what does it do? *Front Horm Res*. 2014 Jan;42:163–74.
  212. Özcan B, Neggers SJ, Miller AR, Yang H-C, Lucaites V, Aribat T, et al. Does des-acyl ghrelin improve glycemic control in obese diabetic subjects by decreasing acylated ghrelin levels? *Eur J Endocrinol*. 2014 Jun;170(6):799–807.
  213. Braghetto I, Taladriz C, Lanzarini E, Romero C. [Plasma ghrelin levels in the late postoperative period of vertical sleeve gastrectomy]. *Rev médica Chile*. 2015 Jul;143(7):864–9.
  214. Falkén Y, Hellström PM, Sanger GJ, Dewit O, Dukes G, Grybäck P, et al. Actions of prolonged ghrelin infusion on gastrointestinal transit and glucose homeostasis in humans. *Neurogastroenterol Motil*. 2010;22(6):192–201.
  215. Martinez M, Hernanz A, Gómez-Cerezo J, Peña JM, Vazquez JJ, Arnalich F. Alterations in plasma and cerebrospinal fluid levels of neuropeptides in idiopathic senile anorexia. *Regul Pept*. 1993 Dec 10;49(2):109–17.
  216. Jiménez A, Mari A, Casamitjana R, Lacy A, Ferrannini E, Vidal J. GLP-1 and

Glucose Tolerance After Sleeve Gastrectomy in Morbidly Obese Subjects with Type 2 Diabetes. *Diabetes*. 2014;63(October):3372–7.

## **ANNEX 4**