



UNIVERSITAT DE  
BARCELONA

## Estudi de l'oncostatina M i de la termogènesi del teixit adipós marró, abans i després de la cirurgia bariàtrica

Irene Piquer García



Aquesta tesi doctoral està subjecta a la llicència **Reconeixement- NoComercial – Compartir Igual 4.0. Espanya de Creative Commons.**

Esta tesis doctoral está sujeta a la licencia **Reconocimiento - NoComercial – Compartir Igual 4.0. España de Creative Commons.**

This doctoral thesis is licensed under the **Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0. Spain License.**



**Estudi de l'oncostatina M  
i de la termogènesi del teixit adipós marró,  
abans i després de la cirurgia bariàtrica**

**Tesi doctoral  
Irene Piquer García**





**Programa Doctorat en Biomedicina  
Universitat de Barcelona**











A la meva família,  
A la meva germana,  
A tots i totes que m'han fet créixer.





Quan, encara a Lleida, les nits estrellades mirava el cel,  
en una època que, tot i no ser massa llunyana,  
encara teníem temps per recrear-nos en activitats  
tan senzilles com aquesta,  
em preguntava què hi devia haver més enllà del nostre planeta.  
M'inquietava el pensament que potser en algun d'aquells astres  
que jo veia únicament com petits puntets en la celèstia,  
hi pogués haver algú que potser en aquell moment  
es feia una pregunta similar”.

- *Joan Oró*









No podria començar aquest apartat sense l'ajuda que m'ha brindat la Laura Herro des de l'inici de tot, quan encara la idea d'una tesi era molt i molt llunyana, i per ficar-me en contacte amb el David. Agraïr als meus directors de tesi al David i al Carles el suport, l'aprenentatge i la direcció de la present tesi, especialment en els moments més difícils.

Al Dr. Manel Puig Domingo per acollir-me a la Fundació Institut d'Investigació Germans Trias i Pujol i al Servei d'Endocrinologia del Hospital Germans Trias i Pujol.

A tot el grup de recerca en Endocrinologia i Nutrició de la fundació institut d'investigació Germans Trias i Pujol, primerament a les meves companyes: Siri i Iciar ("The fat team"), per tota l'ajuda que han proporcionat al grup i per tots els moments viscuts plegades and her contributed to improving my english skills...

A la resta de companys de les altres línies de recerca, Mireia Jordà, Lorenzo, Núria, Helena, Esmeralda, Joan, Mireia Ramos, Marc, Richard i Bea, gràcies per tots els moments viscuts i el suport al llarg d'aquest 3 anys, (la de coses que he après sobre epigenètica!!). Al grup d'immunologia, Marta Vives, Silvia, David i Adrián, per tot el suport rebut especialment en els moments més difícils, us estic molt i molt agraïda! A la resta de personal que he tingut el plaer de treballar i tractar; biobanc (Edurne i Vero), Lab manager, David, Eli, personal de seguretat i administratiu; Maribel, Emi, Oliver i Irina gràcies per recepcionar totes les mostres i avisar-me!. A la plataforma de citometria, Marco, moltes gràcies pel temps dedicat en introduir-me en el món de la citometria!

No podria continuar sense donar les gràcies a tots els professionals sanitaris amb els quals he tingut el plaer de compartir aquesta experiència del Hospital Germans Trias i Pujol. Especialment

## AGRAÏMENTS

tot el personal de la Unitat d'Obesitat Mòrbida i al servei d'Endocrinologia i Nutrició del mateix. La seva implicació ha estat important al llarg d'aquests gairebé 3 anys; Sílvia, Eva, Mariona i Rocío, però també a la resta de professionals que en algun que altre moment han aportat el seu gra de sorra. Al col·lectiu d'infermeria: Maribel, Eva i Montse, als meus companys dietistes: José, Maria José, Montse i la resta d'estudiants en pràctiques a qui he tingut el plaer de conèixer. A la resta de metges endocrins: Dídac, Eva, Núria, Clara, Carlos, Jordi, Anna. Als professionals de la unitat Polivalent en Investigació Clínica (UPIC): Fede, Montse, Sandra i administratives. També a la unitat de cirurgia digestiva; Jordi i Pau i també Ernest, però també a tots els residents que he tingut el plaer de coincidir com Miquel, Carlota, Andrea, Ibra i ja no recordo més! Però a tots els professionals implicats en l'equip quirúrgic (Metges residents, anestesistes, infermeres i cel·ladors) moltes gràcies per aquestes mostres de greix i sang!

També agrair al equip de quiròfan de cirurgia plàstica Paloma, David, Carmen i tota la resta de cirurgians (que no sou pocs), infermeres i celadors moltes gràcies per aquestes mostres de teixit mamari i per aquests divertits moments d'espera de teixit!

A tots els pacients participats de l'estudi prospectiu, els hi voldria agrair no només la seva paciència i espera per la realització de les imatges tèrmiques sinó també oportunitat que m'ha donat d'escoltar les seves vivències i experiències així com les seves pors abans de la CB. M'han ajudat a canviar la perspectiva de patologia i comprendre-la d'una manera més humana.

Als gestors del circuit de mostres de l'hospital però especialment a la Carol...moltes gràcies per fer possible que les mostres poguessin viatjar entre instituts sense volatilitzar-se!

Tot i que encara ha quedat molt projecte al tinter, agrair a la unitat d'endocrinologia pediàtrica les experiències viscudes, Maria i Miriam gràcies!

Al grup de recerca en Endocrinologia de la Fundació Sant Joan de Déu per tot el suport i tardes de sucre que m'han donat al final d'aquesta etapa: Carles, Josep, Cesc, Marcela, Cristina i la resta de personal del grup d'investigació en endocrinologia de la 4a planta! També agrair les hores dedicades al projecte d'estudi del Síndrome de Prader-Willi en el qual he tingut el plaer de participar; estic molt i molt agraïda d'haver compartit aquest temps amb vosaltres; Montse Amat, Sonica i Marta Ramón, així com la resta de personal sanitari; infermeres de l'hospital de dia de diabetis i de les consultes externes d'endocri.

Al grup de Biologia vascular i metabolisme del Institut de Recerca del Vall d'Hebron, per totes les hores d'estabulari (i tot el que m'han ensenyat) i algun que altre berenar; Pep, Maria i Rosi, moltes gràcies!

Agrair al meu tutor, en Francesc tot el assessorament i l'ajuda en el treball rebuda així com a tot el grup de biologia del teixit adipós de la Universitat de Barcelona; Anna Planavila, Rubén, Aleix, Montse, Laura, Gemma, Tania, i tota la resta que al llarg d'aquest temps m'heu ajudat a tots els nivells! Gràcies!

Agrair també a la Dolors Serra i al grup de Biologia i bioquímica molecular per facilitar-me la càmera tèrmica durant els gairebé més de la meitat del projecte i a tot el seu grup, al Kevin i al Sebastian per facilitar l'organització de la mateixa, sense ells el projecte no hagués estat possible.

A David Jimenez y al grupo de fisiología de Didáctica de la Educación Física, plástica y Musical de la Universidad de Cádiz por la acogida que me brindaron durante el periodo de estancia especialmente a Juan y a Fatima! Tardes de helado después de un buen entreno! Muchas muchas gracias!



L'obesitat ha estat un problema que continua acompanyant a part de la meua família a dia d'avui. Voldria agrair a tiets, cosins i família política per proporcionar-me la motivació i inspiració per dur a terme aquesta tesi.

Als meus pares i germana per tot i estar lluny han estat molt presents i m'han donat suport, estima i algun que altre tupper.

A l'Andreu, per la seva paciència i suport especialment en la part final d'aquesta tesi, però sobretot per animar-me a descobrir noves inquietuds...a viure!

**Gràcies a tothom!!**









• <b>Abreviatures</b>	23
• <b>Llistat de taules</b>	33
• <b>Llistat de figures</b>	35
• <b>Introducció</b>	39
•• <b>1. L'obesitat</b>	41
<i>1.1 Situació actual: Epidemiologia</i>	42
1.1.1 Mundial	42
1.1.2 Europa	43
1.1.3 Catalunya	43
<i>1.2 Implicacions de l'Obesitat</i>	44
1.2.1 Principals alteracions associades	45
1.2.2 Cost de l'obesitat	47
<i>1.3 Fisiopatologia de l'Obesitat</i>	48
1.3.1 Diagnòstic	48
1.3.2 Factors determinants de l'obesitat	51
1.3.3 Tractament obesitat	52
•• <b>2. Teixit adipós</b>	60
<i>2.1 Teixit adipós blanc</i>	61
2.1.1 Estructura	61
2.1.2 Funcions generals	62
2.1.3 Funció endocrina	64
2.1.4 Funció immunomoduladora	66

<i>2.2 Teixit adipós marró</i>	69
2.2.1 Estructura	69
2.2.2 Funció termogènica	70
2.2.3 Funció endocrina	73
2.2.4 Funció immunomoduladora	75
<i>2.3 Teixit adipós beix o brite</i>	76
2.3.1 Estructura	76
2.3.2 Funció termogènica	76
<b>•• 3. Oncostatina m</b>	78
<b>•• 4. Mètodes de detecció del teixit adipós marró</b>	80
<i>4.1 Exposició al fred com a estímul inductor per a la seva detecció</i>	81
4.1.1 Mètodes estandaritzats	81
4.1.2 Mètodes Individualitzats	82
<i>4.2 Mètodes de imatge per a la detecció i quantificació del teixit adipós marró</i>	82
4.2.1 Mètodes Invasius	82
4.2.2 Mètodes no invasius	82
<i>4.3 Termografia Infraroja</i>	84
4.3.1 Fonament de la termografia infraroja	84
4.3.2 Termografia infraroja i teixit adipós marró	86

• <b>Hipòtesi i Objectius</b>	<b>89</b>
<hr/>	
• <b>Publicacions</b>	<b>91</b>
<hr/>	
•• <i>Oncostatin m impairs brown adipose tissue thermogenic function and the browning of subcutaneous white adipose tissue</i>	95
•• <i>Opposite changes in meteorin-like and oncostatin m levels are associated with metabolic improvements after bariatric surgery</i>	107
•• <i>A role for Oncostatin M in the development of insulin resistance in obesity</i>	115
•• <i>Use of infrared thermography to estimate brown fat activation after a cooling protocol in patients with severe obesity that underwent bariatric surgery</i>	145
• <b>Discussió Global</b>	<b>163</b>
<hr/>	
•• <i>Discussió OSM</i>	169
•• <i>Discussió termografia</i>	169
<hr/>	
• <b>Conclusions</b>	<b>171</b>
<hr/>	
• <b>Referències</b>	<b>175</b>
<hr/>	









## ABREVIATURES

• 12,13-diHome	àcid 12,13-Dihidroxi-9Z-Octadecanoic
• AGL	Àcids grassos lliures
• ALADINO	Estudio de vigilancia del crecimiento, alimentación, actividad física, desarrollo infantil i obesidad
• ANGPTL8	Angiopoietin like protein o Lipasina
• aP2	Adipocyte Protein 2
• ASMBS	American Society for Metabolic and Bariatric Surgery
• ATP	Adenosin trifosfat
• BMPs	Bone morphogenetic proteins
• BPG	Bypass gàstric
• CB	Cirurgia bariàtrica
• CLC	Citoquina unida a la cardiotrofina
• CNTF	Ciliary neurotrophic factor
• CT-1	Cardiotrofina 1
• CXCL14	Chemokine (C-X-C motif) ligand 14
• DA	Dislipèmia aterogènica
• DM2	Diabetes Mellitus tipus 2
• EMA	European Medicine agency
• ESCA	Enquesta de Salut a Catalunya
• FGF-2	Fibroblast grow factor 2
• FGF-21	Fibroblast grow factor 21
• FTO	Fat mass and obesity-associated protein
• GDF8	Growth differentiation factor 8 o Miostatina
• gp130	Glicoproteina 130
• H2O2	Peròxid d'Hidrogen
• HbA1c	Hemoglobina glicosilada

## ABREVIATURES

• HDL	Colesterol d'alta densitat "High density lipoprotein"
• HSL	Hormona sensible a la lipasa
• HTA	Hipertensió arterial
• IFN- $\gamma$	Interferon gamma
• IGF-1	Insulin-like growth factor-1
• IL-10	Interleuquina 10
• IL-13	Interleuquina 13
• IL-17	Interleuquina 17
• IL-27	Interleuquina 27
• IL-30	Interleuquina 30
• IL-31	Interleuquina 31
• IL-4	Interleuquina 4
• IL-6	Interleuquina 6
• iTreg	Cèl·lules T inductores de la regulació
• LDL	Colesterol de baixa densitat "Low density lipoprotein"
• LIF	Leukemia inhibitory factor
• LIFR $\beta$ /LIF	Complex receptor beta del factor inhibitori de leucèmia i factor inhibitori de leucèmia
• LPL	Lipoproteïna lipasa
• LPS	Lipopolisacàrid
• M1	Macrofag tipus 1
• M2	Macrofag tipus 2
• MCP-1	Monocyte Chemoattractant Protein-1
• MTRNL	Meteorina-like

## ABREVIATURES

• NAOS	Nutrición, Actividad física y prevención de la Obesidad
• NGF	Nerve Growth Factor
• NK	Natural Killer
• NKT	Cel·lules T natural killer
• NO	Òxid Nítric
• NP	Neuropoietina
• NST	Non Shivering thermogenesis
• OSM	Oncostatina M
• OSMR $\beta$	Oncostatin M beta receptor
• PAI-1	Inhibidor del activador del plasminògen 1
• PC	Perímetre de cintura
• PCR	Proteína C reactiva
• PM20D1	Peptidasa M20 Domain containing 1
• PPAR- $\gamma$	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma
• RBP-4	Retinol binding protein tipus 4
• ROI	Region of Interest
• SAOS	Síndrome d'Apnea Obstructiva Crònica
• SEEDO	Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad
• SG	Gastrectomia vertical
• SLIT2-G	Fragment Slit-2C
• SLR11	Forma soluble del receptor de lipoproteines de baixa densitat
• SM	Síndrome metabòlica
• ST	Shivering thermogenesis
• SVF	Stromovascular fraction

## ABREVIATURES

• TA	Teixit adipós
• TAB	Teixit adipós blanc
• TABs	Teixit adipós blanc subcutàni
• TAB <sub>v</sub>	Teixit adipós blanc visceral
• TAG	Triacilglicèrids
• TAM	Teixit adipós marró
• TCA	Transtorns de la conducta alimentaria
• TFG-β1	Transforming Growth Factor Beta 1
• Th1	Cèl·lules T helper tipus 1
• Th2	Cèl·lules T helper tipus 2
• ThermoTRP	Thermosensation Transient receptor potential channels
• TNF-α	Tumor necrosis factor alpha o caxectina
• Tr1	Cèl·lules reguladores tipus 1
• UCP	Uncoupling proteins
• UCP-1	Uncoupling protein1
• ZAG	Zinc-α2-glicoproteïna
• NIH	National Institute of Health
• IRT	Infra red Thermography
• PET-CT	Positron emission tomography-computed tomography
• MRI	Imatge per Resonància magnètica
• EMG	Electromiograma
• 1H MRS	Espectroscòpia de resonància magnètica de protons
• NIRS	Near infrared thermography
• CU	Contrast d'ultrasó

## ABREVIATURES

• IGFBP-2	Insulin-like growth factor- binding protein 2
• NRG4	Neuregulina tipus 4
• T3	Triiodotironina
• TNFR	Tumor necrosis factor receptor
• GET	Despesa energètica total
• GER	Despesa energètica en repós
• W	Despesa energètica atribuïble a l'activitat física
• MB	Metabolisme basal
• ADE	Acció dinàmica energètica
• IL-1 $\beta$	Interleuquina 1 beta
• VEGF-A	Vascular endothelial growth factor A









**LLISTAT DE TAULES**

---

- **Taula 1:**  


---

 Patologies associades descrites a l'excès de pes i obesitat classificades segons el sistema que afecten al organisme.
  
- **Taula 2:**  


---

 Criteri de classificació de l'estat nutricional en funció del valor de IMC.
  
- **Taula 3:**  


---

 Fàrmacs aprovats per la EMA per al tractament a mig i llarg termini de l'obesitat.
  
- **Taula 4:**  


---

 Plans d'actuació disponibles en funció del IMC del pacient per tal de revertir l'obesitat.
  
- **Taula 5:**  


---

 Criteris d'inclusió dels pacients candidats a la CB.
  
- **Taula 6:**  


---

 Principals adipoquines descrites en el TAB i el seu principal efecte en l'organisme.
  
- **Taula 7:**  


---

 Factors autocrins descrites del tipus peptídics i no peptídics en els adipòcits marrons i beixe.
  
- **Taula 8:**  


---

 Factors paracrins secretats pels adipòcits marrons i beixe descrites.
  
- **Taula 9:**  


---

 Factors endocrins secretats pels adipòcits marrons i beixe, descrites.
  
- **Taula 10:**  


---

 Molècules inductors de la termogènesi en adipòcits marrons i beixe, descrites.



**LLISTAT DE FIGURES**

---

- **Figura 1:**  
 .....  
 Distribució de la prevalença d'obesitat mundial en adults majors de 18 anys, l'any 2016.
  
- **Figura 2:**  
 .....  
 Gràfica de l'evolució de la prevalença de sobrepès i obesitat a nivell mundial i europeu per anys en adults majors de 18 anys.
  
- **Figura 3:**  
 .....  
 Gràfica de la prevalença de sobrepès i l'obesitat total a Catalunya entre l'any 2006-2017.
  
- **Figura 4:**  
 .....  
 Gràfica de la despesa sanitària, en %, de les diferents àrees hospitalàries en funció del IMC del pacient.
  
- **Figura 5:**  
 .....  
 Esquema representatiu de les dues principals tipologies d'obesitat en funció de la seva distribució: A) Ginoide o perifèrica i B) Androide o central.
  
- **Figura 6:**  
 .....  
 Representació gràfica de les principals tècniques quirúrgiques aplicades en cirurgia bariàtrica. A) Banda gàstrica ajustable, B) Gastrectomia vertical C) Derivació biliopancreàtica de Scopinaro i D) Bypass gàstric.
  
- **Figura 7:**  
 .....  
 Esquema de l'estructura cel·lular de les diferents tipologies d'adipòcits presents en l'organisme humà.
  
- **Figura 8:**  
 .....  
 Esquema dels diferents components de la despesa energètica total i el balanç energètic.



- **Figura 9:**

---

Representació gràfica dels canvis en la SVF del TAB durant l'expansió i hipertròfia del mateix en l'obesitat.

- **Figura 10:**

---

Esquema del mecanisme fisiològic d'activació de la termogènesi i els principals òrgans i teixits implicats en la transmissió del estímulo de fred.

- **Figura 11:**

---

Representació de l'espectre electromagnètic. En funció de la longitud d'ona (en nanòmetres i en mil·límetres). L'IRT es basa en la utilització d'aquelles radiacions inferiors al canal visible entre 700nm i 1 mm de longitud d'ona.









## • 1. L'OBESITAT

L'obesitat s'ha convertit en les darreres dècades en un dels principals problemes de salut pública a nivell mundial<sup>1,2</sup>. L'accés a aliments de poca qualitat nutricional i hipercalòrics<sup>3</sup> juntament amb un augment del sedentarisme es presenten com els dos principals factors contribuents a aquesta epidèmia. La ciència dels aliments en els darrers anys ha assolit un màxim desenvolupant una multitud d'innovacions que han permès facilitar l'accés i la rapidesa als aliments però en molts d'ells amb una manca de qualitat nutricional. Les darreres dades de l'Organització mundial de la Salut mostren que la malnutrició a nivell mundial sobrepassa la desnutrició<sup>4</sup> fet que podria justificar entre altres, que hi ha un accés al aliments però la selecció d'aquests que se n'efectua per part de la població no és l'adequat. D'altra banda, la manca d'exercici físic i mobilitat en general no milloren la situació. L'automatització de processos i l'augment de les tecnologies informàtiques, els desplaçaments en automòbils, han incrementat el sedentarisme<sup>3</sup> i, per tant, això fa que la despesa d'energia en el còmput global del dia és redueixi. Tots dos factors porten a un balanç d'energia positiu que es traduirà en un augment del pes corporal en forma de greix<sup>5,6</sup>. L'excés de teixit adipós pot donar lloc a una disfunció del propi teixit. Alhora l'acumulació de greix ectòpic al voltant dels òrgans com el fetge, el múscul o el cor, és un factor de risc molt important en el desenvolupament d'altres malalties cròniques greus<sup>7</sup>. Aquest context ha portat que en els darrers anys es produeixi un augment de la prevalença de l'obesitat<sup>8</sup> i en conseqüència un augment de la prevalença de les principal patologies associades com: la diabetis Mellitus tipus II (DM2)<sup>9</sup> la hipertensió arterial (HTA)<sup>10</sup> les dislipèmies (DL)<sup>11</sup> la síndrome d'apnea obstructiva crònica (SAOS)<sup>12,13</sup> o la síndrome metabòlica (SM)<sup>14,15</sup> també s'hagin vist incrementades no només en l'edat adulta sinó algunes d'elles en l'edat infantil<sup>16,17</sup>.



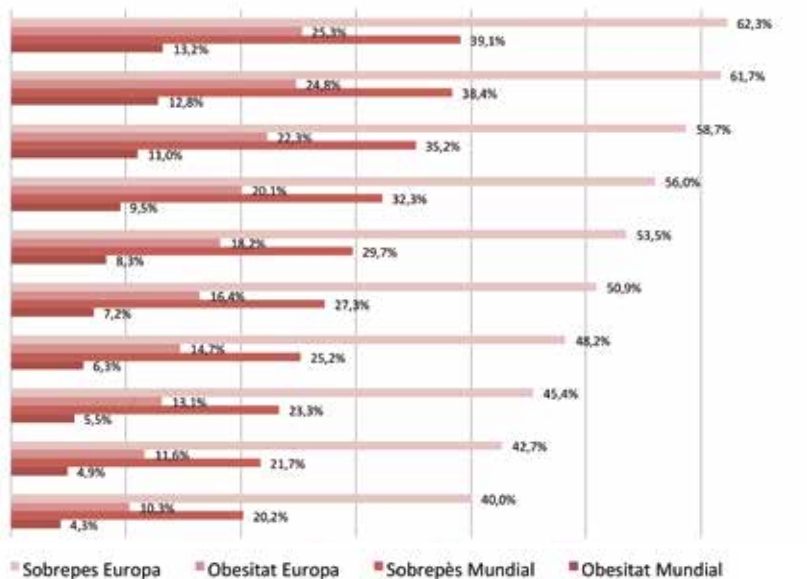
• *Figura 1: Prevalença d'obesitat en adults majors de 18 anys, 1975-2016. (Dades obtingudes del informe de la OMS 2016).*

## • 1.1 Situació actual: Epidemiologia

### •• 1.1.1 Mundial

El darrer informe publicat per la OMS l'any 2016 mostra que la prevalença d'obesitat gairebé s'ha triplicat des de l'any 1975<sup>2</sup>. Les darreres dades referents al mateix any situen el sobrepès (amb un valor d'IMC superior a 25 kg/m<sup>2</sup>) en població adulta major de 18 anys al voltant del 39% (més de 1900 milions) amb una distribució del 39% homes i 40% en dones. D'aquest 30% de sobrepès, el 13% representa la població amb obesitat (IMC 30 kg/m<sup>2</sup>) (més de 650 milions) amb una distribució 11% en homes i un 15 % en dones. Cal afegir, que la majoria de la població mundial resideix en països on actualment la mortalitat per sobrepès i obesitat és superior a la mortalitat per desnutrició.

Tot i que inicialment el sobrepès i l'obesitat es consideraven un problema propi dels països amb un ingrés promig elevat, actualment l'excés de pes en general ja es troba en països amb un nivell d'ingressos mitjà i baix, especialment en els entorns urbans més que en els rurals<sup>19,20</sup>. El nombre de lactants i infants menors de 5 anys a tot el món amb obesitat i sobrepès va augmentar de 32 milions, l'any 1990 a 41 milions l'any 2016. Un exemple, d'aquest fenomen es dona en el continent africà on el nombre de nens menors de 5 anys amb sobrepès ha augmentat de 5,4 a 10,3 milions entre 1990 i 2016<sup>22</sup>.



• **Figura 2** Evolució de la prevalença de sobrepès (IMC superior a 25 kg/m<sup>2</sup>) i obesitat promig mundial i a Europa per anys en adults (+18 anys). (Dades obtingudes del informe de la OMS 2016).

Els països amb economies emergents, la prevalença d'obesitat i sobrepès infantil es troba al voltant del 30% en l'edat preescolar. Si es mantenen les tendències actuals, el nombre de nens entre 5-17 anys amb sobrepès assoliria valors del 15,8% (268 milions) dels quals el 5,4% (91 milions) serien obesos per a l'any 2025<sup>23</sup>.

### •• 1.1.2 Europa

Els valors de prevalença a nivell Europeu es presenten més crítics respecte als mundials. L'any 2016, el percentatge de població amb sobrepès a Europa es trobava al voltant del 62,3% on la distribució era del 66% en homes i 58,8 % en dones, dels qual un 25,3% corresponia a població amb obesitat 23,4% homes i 27,1% dones. Entre els anys 1990-2010, la contribució de l'obesitat i el sobrepès en la mortalitat va augmentar fins al 39%. La prevalença d'obesitat infantil a Europa entre els anys 2007-2008 indicaven uns valors de 6-26,6% en nens i 4,6-17,3% en nenes respectivament. Cal esmentar que la prevalença va ser més elevada en els països del sud d'Europa que els del nord.

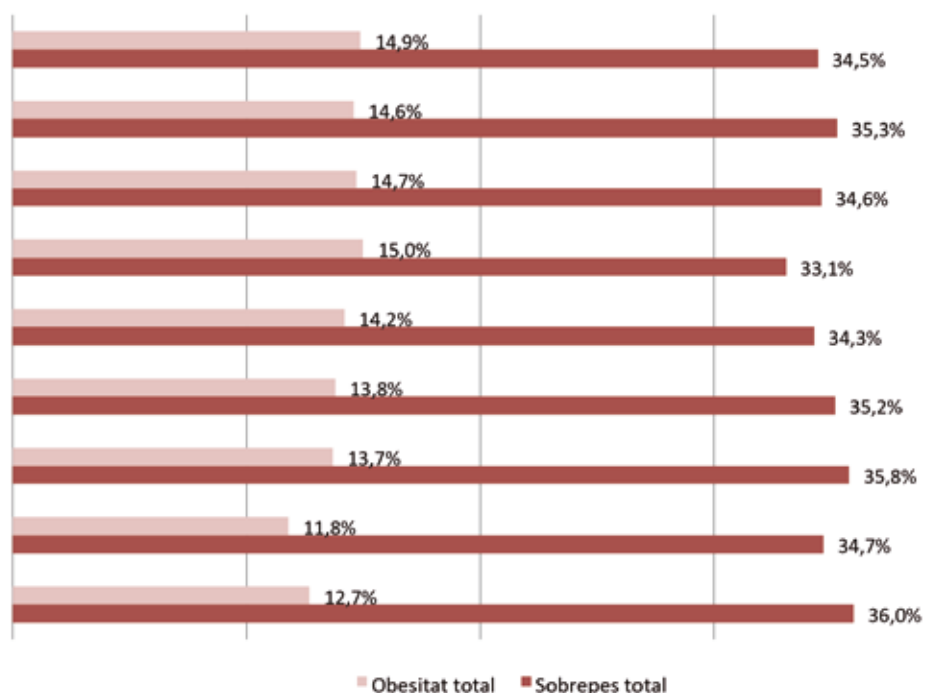
Les dades obtingudes en la darrera enquesta de salut 2016-2017 mostren que la prevalença de sobrepès a Espanya és del 39,8%, d'obesitat del 31,2 % i 3,2% obesitat mòrbida, en població infantil de 6 a 9 anys d'edat<sup>24</sup>. Els valors obtinguts del recent estudi ALADINO 2015 mostren que el percentatges de sobrepès i obesitat es troben al voltant del 23,2% (22,4% en nens i 23,9% en nenes) i 18% (20,4% en nens i 15,8 en nenes), respectivament<sup>25</sup>. Entre els resultats del estudi cal destacar que a partir dels 7 anys les prevalences de sobrepès i obesitat són significativament superiors que en la resta d'edats com ja s'havia observat en els primer resultats del estudi de 2011<sup>25,26</sup>.

### •• 1.1.3 Catalunya

A Catalunya, el 49,2% de la població entre 18-74 anys presentava excés de pes del qual 34,8% amb sobrepès i 14,4 % obesitat, segons les dades de l'enquesta de Salut referent a l'any 2016. Mentre que el sobrepès afecta més als homes (42,8%) que a les dones (26,9%), els percentatges d'obesitat són similars en tots dos sexes (14,7% en homes i 14,2% en dones). Tant en homes com en dones la prevalença del sobrepès i obesitat augmenta amb l'edat<sup>27</sup>. L'any 2016, en la població menor de 19 anys, la prevalença d'excés de pes era del 32,9% dels qual 18,6% referiria a sobrepès i el 14,3% a l'obesitat.

El sobrepès en edat infantil es distribueix de la mateixa manera en nens (18,8%) i nenes (18,3%), mentre que l'obesitat afecta més als nens (17,4%) que a les nenes (11,1%).

Cal esmentar que l'obesitat infantil presenta un clar gradient social<sup>28</sup>. El nivell socioeconòmic del nucli familiar de l'infant hi influeix molt presentant valors del 8% en classes socials benestants i arribant fins al 15,9% en famílies amb dificultats econòmiques<sup>24</sup>.



• *Figura 3: Dades de prevalença de sobrepès i obesitat a Catalunya des de 2006-2017 segons l'enquesta de salut<sup>24</sup>.*

### • 1.2 Implicacions de l'Obesitat

La preocupació de l'emergent epidèmia de l'obesitat és l'augment directament proporcional que s'està produint en altres malalties cròniques on l'excés de pes és el principal factor desencadenant<sup>29,30</sup>. La complexitat doncs de tractament en pacients amb obesitat i altres patologies és més gran del que inicialment pot suposar. Tot i que s'ha vist que es poden produir diverses alteracions<sup>29</sup>, el desenvolupament de cada una d'elles dependrà fonamentalment del pacient i del temps d'evolució d'aquest excés

de pes. Per aquest motiu la prevenció en l'edat infantil és clau<sup>16,31,32</sup> per no només reduir l'epidèmia sinó endarrerir al màxim l'aparició d'aquestes complicacions en cas de que es produeixi el sobrepès<sup>32,33</sup>.

### •• 1.2.1 Principals alteracions associades

#### a) Resistència a la insulina i diabetis Mellitus tipus 2

L'insulina és una hormona produïda pel pàncreas que contribueix a que la glucosa procedent de la ingesta d'aliments, pugui ser adsorbida per les cèl·lules amb la finalitat que en puguin obtenir energia per realitzar els processos fisiològics necessaris. En l'obesitat, l'estat inflamatori que es desencadena també pot produir alteracions en altres òrgans com el pàncreas interferint en la producció i secreció d'hormones<sup>29,34,35</sup>, especialment la insulina, la qual veurà reduïda la seva efectivitat. Aquesta disrupció podrà generar dues situacions que, mantingudes en el temps, esdevindran l'aparició de la DM2<sup>34</sup>. L'efectivitat de la insulina es pot veure alterada o bé perquè l'organisme no produeix suficient hormona causant una acumulació de la glucosa en la sang degut a la impossibilitat de que les cèl·lules puguin incorporar-la o bé, que es produeixi més insulina de l'habitual en resposta a nivells elevats de glicèmia però les cèl·lules no responen als seus efectes esdevenint també un acumulació de glucosa en sang<sup>36</sup>.

#### b) Hipertensió arterial

L'HTA es produeix quan la pressió de la sang que circula per les artèries és massa elevada de manera continuada, i augmenta la pressió contra les parets. Afecta al voltant del 25% de la població mundial i s'estima que l'any 2025 aquest valor serà proper al 60% segons les tendències actuals<sup>37</sup>. A Espanya la prevalença en població adulta és del 42,6%<sup>38</sup> i un 18,2% en edat infantil (4-6 anys)<sup>39</sup> i és una de les malalties més abundants en les societats industrialitzades essent una de les primeres causes de morbimortalitat<sup>40</sup>. La hipertensió arterial és el factor de risc cardiovascular més important ja que incrementa el risc de patir malalties com l'ictus o l'infart agut de miocardi<sup>40</sup>. No es coneixen les causes de l'HTA, però hi ha alguns factors que s'hi relacionen. El tabac<sup>41,41,42</sup>, l'excés de pes<sup>43,44</sup>, la ingesta de sal i alcohol<sup>37,45,46</sup>, el sedentarisme<sup>47,48</sup> o la presència d'estrès<sup>49</sup> hi estan relacionats en el seu desenvolupament. El risc però s'incrementa si alhora es troben en presència de patologies com hipercolesterolèmia<sup>50</sup>, malaltia cardiovascular<sup>51</sup> o renal<sup>52</sup>, i /o presència d'antecedents familiars d'hipertensió<sup>53</sup>.

### c) *Dislipèmia aterogènica*

La dislipèmia aterogènica (DA) és una alteració lipídica i lipoproteica associada a un risc cardiovascular elevat i es troba caracteritzada per l'associació d'uns nivells de colesterol d'alta densitat (HDL) reduïts, uns nivells de triacilglicèrids (TAG) elevats<sup>54</sup> així com una concentració elevada de partícules de colesterol de baixa densitat (LDL) (fenotip lipoproteic aterogènic) amb o sense increment moderat de LDL<sup>54</sup>. La DA, tot i que és especialment prevalent en pacient amb antecedents d'episodis cardiovasculars, freqüentment s'associa amb la presència d'altres patologies com la DM<sup>2</sup>, l'obesitat, el SM i la hiperlipèmia familiar combinada, situacions en totes elles molt lligades a la resistència a la insulina. El desenvolupament d'aquesta alteració produeix una hipertrigliceridèmia causada per l'augment de la síntesi hepàtica de TAG i la disminució del catabolisme perifèric que també expliquen altres alteracions lipoproteiques associades.

### d) *Altres alteracions associades a l'obesitat*

L'excès de pes també s'ha associat amb el desenvolupament d'altres patologies i trastorns en l'organisme. En la taula 1 s'indiquen alguns d'ells.

ALTERACIÓ	PATOLOGIES
<ul style="list-style-type: none"> <li>• METABÒLIQUES</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Resistència a la insulina i DM2</li> <li>• Dislipèmies (hipercolesterolèmia i triacilgliceridèmia)</li> <li>• Hiperuricèmia</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• CARDÍAQUES I RESPIRATÒRIES</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Malaltia cardiovascular i arterioscleròtica</li> <li>• Cardiopatia isquèmica</li> <li>• Malaltia cerebrovascular</li> <li>• HTA</li> <li>• Insuficiència cardíaca congestiva</li> <li>• Insuficiència venosa perifèrica</li> <li>• Malaltia tromboembòlica</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• GINECOLÒGIQUES</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• SAOS</li> <li>• Disfunció menstrual</li> <li>• Síndrome d'ovari poliquístic</li> <li>• Infertilitat</li> <li>• Augment del risc perinatal</li> <li>• Incontinència urinària</li> </ul>

<ul style="list-style-type: none"> <li>• DIGESTIVES</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Colelitiasi</li> <li>• Esteatosi hepàtica</li> <li>• Esteatohepatitis no alcohòlica</li> <li>• Cirrosi</li> <li>• Reflux gastroesofàgic</li> <li>• Hernia hiatal</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• MUSCOLO ESQUELÈTIQUES</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Artrosi</li> <li>• Lesions articulars</li> <li>• Deformitats òssies</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• ALTRES</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Càncer (mama, endometri, còlon i ronyó)</li> <li>• Cutànies (Acantosi nigricans)</li> <li>• Psicològiques i emocionals</li> <li>• TCA</li> </ul>

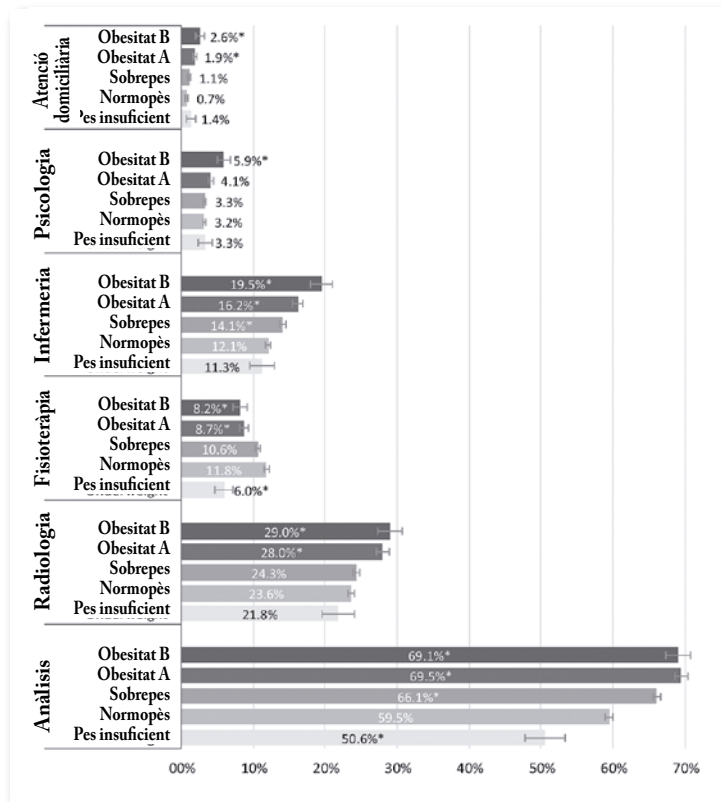
• *Taula 1: Patologies associades descrites a l'excés de pes i l'obesitat classificades segons el sistema en l'organisme que afecten.*

#### • • 1.2.2 Cost de l'obesitat

La repercussió de les conseqüències de l'obesitat a nivell poblacional es tradueixen en un increment de la despesa sanitària tant dels costos directes i com dels indirectes de la patologia, que s'ha estimat que representen entre un 2 i un 7% del cost total sanitari en països desenvolupats <sup>55</sup>. Diferents estudis han observat que aquesta despesa augmenta a mesura que augmenta l'índex de massa corporal (IMC), especialment quan aquest valor es superior a 35 kg/m<sup>2</sup> que correspon a l'obesitat grau II i majors. Aquesta situació és molt similar a l'observada en altres estudis internacionals <sup>56,57</sup>.

Segons les aproximacions realitzades per Espallardo et al, la probabilitat de que una persona amb obesitat de grau II o superior acudeixi a un metge d'atenció primària o rebi visites d'atenció domiciliaria és gairebé el doble que una persona amb normopès<sup>55</sup>. En la figura 4 es representa el ús que realitzen els diferents usuaris en les diferents àrees hospitalàries segons el seu IMC. A Espanya, els costos mèdics augmenten un 26% en pacients amb obesitat extrema (IMC 50 kg/m<sup>2</sup>)<sup>58</sup>. També s'ha demostrat que els costos derivats de l'obesitat són superiors si es tenen en compte les principals comorbiditats associades<sup>59</sup>. Aquests representen entre el 41-46% dels costos totals. Els costos indirectes restants es troben relacionats amb les pèrdues de productivitat laboral<sup>60</sup>. En la figra 4 s'observa la despesa sanitària per cada area de salut i IMC. S'enten per obesitat A, obesitat mòrbida i Obesitat B, l'obesitat extrema.





• **Figura 4:** Despesa sanitària en % de les diferents àrees de tractament hospitalari segons el IMC del pacients. (Figura editada<sup>55</sup>).

### • 1.3 Fisiopatologia de l'Obesitat

L'obesitat és una malaltia inflamatòria crònica produïda per un excés de pes en forma de greix esdevingut per un desequilibri en el balanç d'energia ingerida i consumida<sup>35,61-64</sup>. Quan aquest desequilibri energètic és positiu s'afavoreixen en l'organisme els processos d'emmagatzematge d'energia (Adenosin trifostat (ATP)) en forma de TAG a l'interior dels adipòcits i produint un augment en el teixit adipós blanc<sup>62,65</sup>.

#### •• 1.3.1. Diagnòstic

A nivell d'atenció primària el diagnòstic de l'obesitat s'efectua poc tot i l'augment de la prevalença de la malaltia<sup>66,67</sup>. Habitualment és motiu d'atenció i diagnòstic quan alguna de les principals comorbiditats s'hi troben presents (DM2, HTA, SAOS, DL o SM) i són motiu de consulta a l'especialista metge endocrí. Tot i així, les eines de les que es disposa a nivell de la pràctica clínica per a l'avaluació

del grau adipositat del pacient són escasses. L'índex de massa corporal (IMC)<sup>66,68,69</sup> o el perímetre de cintura (PC)<sup>68,69</sup> són les dues mesures més utilitzades actualment per al seu diagnòstic clínic<sup>70,71</sup>.

**a) Índex de massa corporal**

Tot i que hi ha disponibles tècniques avançades d'imatge en la pràctica clínica l'indicador més utilitzar per la seva simplicitat és l'IMC. Aquest índex es defineix com el quocient entre el pes corporal en kilograms dividit per l'alçada en metres al quadrat. El valor resultant serà classificat en una de les 8 categories establertes que es traduirà en una aproximació del estat nutricional del pacient. L'obesitat és diagnòstica quan aquest valor es superior a 30 kg/m<sup>2</sup> (taula 2) i en valors superiors categoritza el tipus d'obesitat en I,II,III o mòrbida i IV o extrema. Aquest valor però cal prendre'l amb compte ja que es una estimació del pes respecte l'alçada de cada individu i en ocasions, aquesta proporcionalitat no és manté ja que no es diferència entre el pes procedent de la massa magra (múscul) de la massa adiposa. Un exemple d'aquesta no proporcionalitat és dona en individus que practiquen el culturisme els quals poden presentar un valor elevat, arribant a ser de més de 30 però degut a un augment i hipertròfia de la massa muscular i no de teixit adipós.

VALOR D'IMC	CLASSIFICACIÓ
• <18,5	• Pes insuficient
• 18,5-24,9	• Normopès
• 25-26,9	• Sobrepès grau I
• 27-29,9	• Sobrepès grau II (preobesitat)
• 30-34,9	• Obesitat de tipus I
• 35-39,9	• Obesitat de tipus II
• 40-49,9	• Obesitat de tipus III (mòrbida)
• >50	• Obesitat de tipus IV (extrema)

• *Taula 2: Criteri de classificació del estat nutricional en funció del valor de IMC. (Dades extretes de la SEEDO 2017)*

### *b) Perímetre de cintura*

Cada cop més i de manera complementària al IMC s'efectua la mesura del perímetre de cintura (PC)<sup>72</sup>. Aquesta proporciona una idea de la distribució corporal del greix i permet contribuir a la classificació del tipus d'obesitat. Els valors de referència de perímetre de cintura en homes és de 102 cm i en dones de 88 cm<sup>73</sup>. Valors superiors a aquests, segons el sexe del pacient, indicarien un increment del risc cardiovascular i una distribució central de l'obesitat<sup>74</sup>. Categoritzar el tipus d'obesitat permet proporcionar una idea en la distribució d'aquest excés de pes i per tant establir el possible risc cardiovascular i metabòlic del pacient<sup>75</sup>. Principalment hi ha dos tipus d'obesitat segons la distribució del teixit adipós: la ginoide o de pera (figura 5.A) i l'androide o de poma (figura 5.B). En el primer cas, l'acumulació majoritària de greix es dona en les extremitats sobretot en la regió dels malucs i en les cames<sup>75</sup>. També s'anomena obesitat perifèrica i presenta conseqüències per a salut, però en menor grau que l'androide. Contribueix però a l'aparició d'insuficiència venosa o artrosi entre d'altres. En el segon cas, l'acumulació del greix es produirà en la zona abdominal, pit i regió lumbar. També anomenada obesitat central és la més associada a la aparició de les principals comorbiditats associades a l'obesitat com les malalties cardiovasculars, HTA, SAOS o DM2<sup>75</sup>. Això succeeix ja que aquesta adipositat es produeix en la zona visceral i per tant de manera molt propera als òrgans. Tot i que tots dos tipus pot afectar als dos sexes, l'obesitat androide és més freqüent en homes i la ginoide en dones. En la figura 5 es troben representats les dues tipologies.



• *Figura 5: Representació de les dues principals tipologies d'obesitat. A) Ginoide o perifèrica i B) Androide o central.*

### •• 1.3.2 Factors determinants de l'obesitat

A diferència d'altres patologies endocrines, l'obesitat poligènica és una malaltia multifactorial<sup>64</sup> i és la forma d'obesitat més prevalent. Aquesta es troba probablement establerta com a resultat d'una interacció entre els factors genètics, epigenètics i ambientals<sup>76</sup>. En contraposició a aquesta, existeix el que s'anomena obesitat monogènica i obesitat sindròmica les quals no es troben influenciades per l'entorn<sup>77</sup> i representen una prevalença molt baixa de la patologia (2-3%)<sup>76</sup>. En aquesta fracció s'han descrit fins a l'actualitat<sup>79</sup> síndromes diferents on els més caracteritzats són la síndrome de Prader-Willi, la síndrome de Bardet-Biedl, osteodistrofia hereditaria Albright i la síndrome Wilms-Tumor Aniridia<sup>76</sup>.

En obesitat poligènica, els factors que hi intervenen es poden englobar en dos grans grups: el primer d'ells es troba format pels factors d'origen endogen i que formen part del pacient i en segon lloc, els exògens els quals venen donats i/o produïts del entorn del pacient. Els factors endògens que influeixen en el desenvolupament de la obesitat són: l'edat, el sexe, l'ètnia i la càrrega genètica i epigenètica parenteral. L'edat és un dels factors que s'ha observat que presenta una correlació positiva amb la prevalença d'obesitat<sup>27,78</sup>. D'altra banda, el sexe també influeix en el desenvolupament de la malaltia essent més prevalent en homes que en dones en el qual presenta una tipologia diferent com s'ha descrit anteriorment. La ètnia ha esdevingut també un factor que hi pot contribuir. Informes publicats per la *American Diabetes Association* l'any 2015 expliquen que determinades ètnies tendeixen a augmentar de pes i aquestes diferències poden ser observades des de l'edat infantil<sup>78-80</sup>. Així doncs, als Estats Units la prevalença de sobrepès i obesitat en hispans, afroamericans i indis americans és més elevada que en caucàsics. Dades d'estudis recents mostren la possible associació entre obesitat i gens en determinades cohorts. L'any 2007 es va demostrar la primera associació entre el gen FTO i les característiques de l'obesitat<sup>81</sup>. L'efecte d'aquest l'al·lel creixent de l'IMC era lleugerament menor en poblacions d'ascendència no europea (Africans i asiàtics). Tot i així encara es coneix poc, i encara menys la forma en com influeixen els al·lels de risc en la formació de la proteïna FTO<sup>81</sup>. En relació a l'obesitat monogènica, també s'han pogut associar variants dels gens leptina (LEP), el receptor de la leptina (LEPR), el receptor de la melanocortina (MC4R)<sup>2</sup>, la proteïna coartasa subtiisina/kexina tipus 1 (PCSK1) i la pro-opimelancortina (POMC)<sup>83</sup>. Respecte a la transmissió de fenotips adquirits,

aquesta podria estar regulada pels mecanismes epigenètics denominada herència epigenètica transgeneracional<sup>84</sup> que refereix a la transmissió d'un fenotip a la següent línia generacional<sup>85</sup>. Estudis realitzats en ratolins per tal d'establir mecanismes epigenètics de l'obesitat, mostren que la malnutrició intrauterina produeix canvis en les cèl·lules germinals que posteriorment seran transmeses i mantingudes en les cèl·lules somàtiques, el que influirà tant en la salut com en el risc de patir certes malalties en la descendència<sup>86</sup>.

Els factors exògens engloben el tipus d'alimentació, el grau d'activitat física i la condició de la mateixa, la presència de estrès<sup>87</sup> o les hores de son<sup>88</sup>, els hàbits nocius del pacient com el consum de alcohol<sup>89-91</sup> o tabac<sup>92</sup> i/o la presència de altres malalties i/o medicaments<sup>93</sup>. Cal destacar que tots ells jugaran un paper clau en el desenvolupament de la malaltia. L'analogia de que els factors endògens són l'arma carregada i els exògens són els que la disparen és un bon exemple per entendre que la predisposició no marca tenir o no una malaltia però si que ho farà si no la prevenim com es degut en el cas d'evitar els exògens. Així doncs, la prevenció i tractament inicial de l'obesitat es focalitzarà principalment en educació nutricional per tal de que el pacient tinigui eines per modificar la seva alimentació, en recomanar incrementar l'activitat física i evitar el sedentarisme, en realitzar un correcte descans que garanteixi la recuperació de l'organisme, en portar a terme una vida lliure de estrès en qualsevol dels seus àmbits (laboral, familiar, etc.) i evitar conductes dependents de substàncies com alcohol o el tabac, les quals contribueixen no només en l'aparició de l'obesitat sinó altres malalties associades com les cardiovasculars<sup>41,42,94</sup> o el càncer<sup>95,96</sup>.

### •• 1.3.3 *Tractament obesitat*

Donades les dades epidemiològiques de l'obesitat i el sobrepès mundials és d'imminent prioritat establir una estratègia que permeti refrenar aquest augment actual i desenvolupar un tractament eficaç per tal de combatre la malaltia ja instaurada en pacients. Malgrat aquesta necessitat, avui en dia les eines de que es disposen són escasses i poc efectives<sup>97</sup>. Per aquest motiu la prevenció es presenta com una bona alternativa per refrenar la creixent epidèmia i evitar-ne l'aparició<sup>98</sup>. Efectuar intervencions en plans de salut a nivell de promoció de la salut no només en termes d'alimentació i prescripció d'exercici físic sinó també en altres aspectes com garantir un bon

descans i evitar la aparició de l'estrès podria contribuir-hi. Tot i que en el tractament actual és inefectiu<sup>97</sup>, la dieta i l'exercici físic també contribueixen a la seva millora de manera sinèrgica<sup>97</sup>. Programes com l'estudi ALADINO (2011,2013, 2015) o l'estratègia NAOS són alguns exemples d'intervencions poblacionals enfocats en l'edat infantil i juvenil per tal de millorar l'estil de vida mitjançant l'adopció d'hàbits saludables. Els resultats d'aquestes intervencions s'ha vist que són efectives en la cohort de estudi en la qual s'apliquen però aquests beneficis no s'observen en la població general degut a la complexitat del problema. Contràriament, s'ha vist que mesures més globals i especialment des de un punt de vista econòmic tenen un efecte pràcticament immediat. Un exemple que actualment ha estat aplicat en països com Mèxic<sup>99</sup> el Regne Unit<sup>100</sup> o recentment també a Catalunya és l'increment dels impostos en les begudes ensucrades. Els primers resultats obtinguts a Catalunya des de la seva implantació en maig de 2017 mostren una reducció del 22% en el consum total de begudes ensucrades respecte abans de la entrada en vigor març de 2017<sup>101</sup>. Aquesta mesura, a més es troba promoguda per l'OMS<sup>102</sup>. L'organització Mundial de la Salut va recomanar en el seu darrer informe de 2016, incrementar fins a un 20% els impostos sobre aquestes begudes per tal de reduir la ingesta de sucres afegits<sup>63</sup>. En el mateix informe també es proposaven mesures per tal de millorar la dieta de la població abaratint els preus de fruites i verdures fresques entre un 10-30% de l'actual i un increment dels impostos dels aliments amb un elevat contingut de greixos saturats, greixos hidrogenats i sal, així com incrementar el preu del tabac.

#### *a) Tractament de l'obesitat: abordatge clínic*

##### **a. Pla d'alimentació i nutrició**

El tractament dietètic en l'obesitat inclou diverses mesures enfocades a revertir l'excés de pes del teixit adipós. Aquestes modificacions poden ser de tipus quantitatiu (reduint les racions dels aliments i per tant l'aportació total d'energia), o de tipus qualitatiu (variant la proporció dels diferents nutrients), o bé de tipus mixta que combina totes dues estratègies. El canvi en l'alimentació del pacient obès ha d'anar dirigit a la disminució del greix corporal, preservant la massa magra a llarg termini, prevenint el guany de pes i englobar-se en un canvi d'hàbits que aconseguixin alhora reduir i millorar les comorbiditats incrementant la qualitat de vida del pacient.

## b. Pla d'exercici físic

Actualment encara no esta clar el grau d'implicació que podria tenir l'exercici físic en patologies com l'obesitat. La seva pràctica de manera regular aporta no només un a millora de la condició física del pacient sinó també una millora psicològica que principalment tindran un efecte a nivell de reducció d'estrès i millora del autoestima. En un metaanàlisi es va observar que tot i la incorporació d'exercici físic no incrementava significativament la pèrdua de pes, si que contribuïa a llarg termini (més de 6 mesos) en el manteniment del pes.

## c. Pla de tractament farmacològic

Els fàrmacs en l'obesitat es troben indicats en pacients amb un IMC superior a 28 kg/m<sup>2</sup> amb presència de comorbiditats majors<sup>66</sup> i quan no s'han assolit els objectius de pèrdua de pes. Des de 2015 a Espanya es disposa, a banda del Orlistat<sup>®</sup> aprovat l'any 1998, de Liraglutida 3,0 (Saxenda<sup>®</sup>) i una combinació de bupropion (360 mg) amb maltrexona (16-32 mg) (Mysimba<sup>®</sup>) per al tractament de l'obesitat. La informació detallada de cada un d'aquests fàrmacs es recull en la taula 3:

FAMÍLIA DOSI FORMULACIÓ	INHIBIDORS DE LA LIPASA PANCREÀTICA	COMBINACIÓ DE ANTAGONISTES OPIOIDES / ANTIDEPRESIU "AMINOCETONA"	AGONISTES DEL RECEPTOR GLP-1 HUMÀ
• Nom genèric	• Orlistat 60 mg i 120 mg	• Naltrexona / bupropion 8 mg / 90 mg tabletes	• Liraglutida 6mg/ml
• Mesura de pes perdut en comparació amb el placebo	• 2,5 kg (60 mg) • 3,4 kg (120 mg)	• 2,0-4,1 kg (32 mg / 360 mg)	• 5,8-5,9 kg

• *Taula 3: Fàrmacs aprovats per la EMA (European Medicine Agency) per al tractament a mig i llarg termini de l'obesitat (Dades obtingudes de la SEEDO 2017).*

**b) Protocol d'actuació clínic**

L'adopció d'un estil de vida saludable serà clau i necessari no només durant el procés de tractament sinó al llarg de la vida dels pacients. Cal esmentar però que aquesta modificació d'hàbits no es exclusiva per a l'obesitat ja que s'ha vist que la seva adopció contribueix a garantir un bon estat de salut general prevenint l'aparició d'altres patologies. Freqüentment en pacients amb obesitat, els plans d'alimentació i exercici físic són inefectius per a la pèrdua de pes<sup>1,61</sup>. En aquests casos, en pacients no respondedors es decideix la administració de fàrmacs. L'adherència però a aquests tractaments és molt baixa degut a la presència d'efectes secundaris, fet que produeix l'abandonament del tractament. Tot i així, en els casos favorables, en els quals es produeixi una bona adherència al tractament tant farmacològic com d'estil de vida saludable, la pèrdua de pes habitualment no serà suficient. En aquests casos i ja complint amb les característiques dels pacients es planteja com a darrera via per a la pèrdua de pes; la cirurgia bariàtrica (CB) (Taula 4).

	IMC 24,9 - 26,9 kg/m <sup>2</sup>	IMC 27 - 29,9 kg/m <sup>2</sup>	IMC 30- 34,9 kg/m <sup>2</sup>	IMC 35- 39,9 kg/m <sup>2</sup>	IMC > 40kg/m <sup>2</sup>
DIETA					
EXERCICI FÍSIC					
FÀRMACS					
CIRURGIA BARIÀTRICA				*	

• **Taula 4:** Plans d'actuació disponibles en funció del IMC del pacient per tal de revertir l'obesitat.

(\*si hi ha presència de comorbiditats).



### •• 1.3.4.1 *Cirurgia bariàtrica*

En un conjunt ampli de tècniques restrictives, malabsortives o mixtes destinades a reduir el volum físicament de la ingesta o reducció física de la absorció de determinats nutrients per tal de produir una pèrdua de pes i una millora metabòlica<sup>1,103</sup>. Els mecanismes d'acció de la CB són complexes i involucren múltiples senyals neuroendocrines que exerceixen efectes tant en el sistema nerviós central com en òrgans perifèrics. La selecció d'un tipus de tècnica dependrà en gran part de les condicions fisiològiques del pacient i de les seves comorbiditats presents, i de la preferència del metge cirurgià<sup>1</sup>. En la figura 6 s'observen les principals tècniques quirúrgiques aplicades.

#### •• 1.3.4.1.1 *Tècniques restrictives*

Les tècniques restrictives són procediments quirúrgics que porten a una reducció del volum de la cavitat gàstrica induint d'aquesta manera la pèrdua de pes ja que es produeix una limitació dràstica de la ingesta d'aliments<sup>104</sup>. En aquest grup s'inclouen diverses tècniques com la banda gàstrica ajustable o la gastroplàstia tubular plicada, però la més utilitzada es la gastrectomia vertical<sup>105</sup>.

##### *a) Gastrectomia vertical laparoscòpia*

La gastrectomia vertical laparoscòpica (SG) es reconeguda com una de les tècniques estàndard per al tractament de l'obesitat mòrbida<sup>103,105,106</sup> i s'ha convertit en un procediment molt comú degut al seus avantatges enfront del bypass gàstric<sup>107</sup>. La gastrectomia vertical és una tècnica senzilla, efectiva, reproduïble i de baixa morbimortalitat<sup>106</sup>. Això fa que sigui la primera opció mèdica que es prengui per al tractament de l'obesitat mòrbida amb presència alhora de certs trastorns metabòlics. Aquesta tècnica consisteix en extirpar 2/3 parts del estómac i adaptar-lo a una morfologia en forma de tub o mànega. La pèrdua de pes es podrà produir a través de 3 mecanismes relacionats amb el canvi de morfologia:

••• *Menor capacitat de l'estómac per contenir aliments*

••• *Eliminació parcial o total de les cèl·lules epitelials gàstriques productores de l'hormona grbelina, implicada en el mecanisme de la sacietat i la gana.*

••• *Enlentiment del buidatge gàstric*

•• *1.3.4.1.2 Tècniques malabsortives*

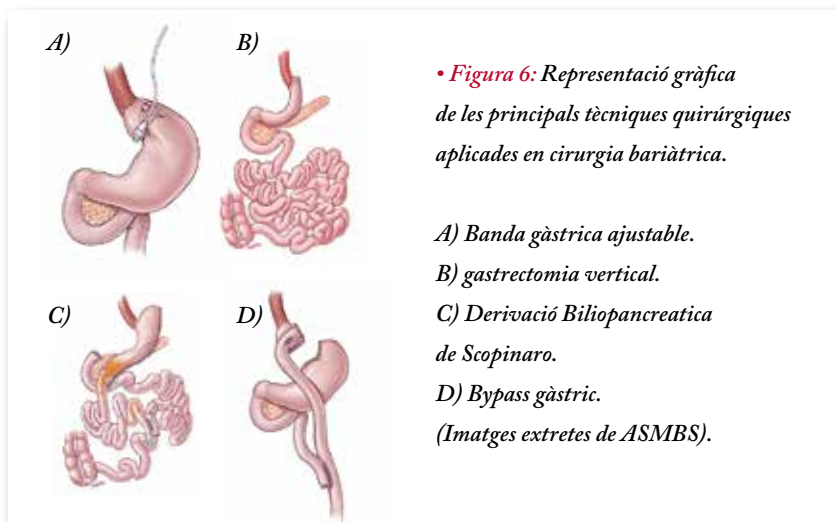
A diferència de les anteriors, les tècniques malabsortives consisteixen en realitzar modificacions en els tracte intestinal per tal d'alterar la absorció dels nutrients ingerits<sup>108</sup>. Aquestes són rarament aplicades individualment i és habitual que es combinin amb tècniques restrictives com el SG. Aquest conjunt de procediments presenta una sèrie de desavantatges que generalment porten a deficiències vitamíniques com la A, D<sup>109</sup>, E i K i minerals com el ferro<sup>110</sup> i el calci<sup>109</sup>, principalment, el que porta a suplementar<sup>111</sup> de per vida els pacients sotmesos a aquests procediments. En aquest grup, cal destacar la derivació biliopancreàtica de Scopinaro la qual principalment consisteix en efectuar una intensa malabsorció de greix<sup>112</sup>, el bypass duodenoileal generalment aplicat en anastomosi generalment d'una SG habitualment aplicada a cirurgies de revisió<sup>113</sup>.

•• *1.3.4.3 Tècniques mixtes*

Consisteix en la combinació de tècniques dels dos grups anteriors per tal de generar sinèrgies en la pèrdua de pes. Inicialment es realitza la restricció del estómac (SG) i posteriorment es porta a terme el component malabsortiu que consistirà la majoria dels casos en la modificació del transit intestinal, saltant les primeres regions del intestí prim obligant als nutrients a circular en la zona més distal la qual presenta menys capacitat d'absorció especialment de carbohidrats i lípids així com alguns micronutrients com el ferro o el zinc.

*a) Bypass Gàstric*

El bypass gàstric o el Roux en Y bypass (BPG) és la tècnica de cirurgia bariàtrica més utilitzada arreu del món, arribant a representar el 45%<sup>114</sup> dels procediments quirúrgics d'obesitat<sup>105</sup>. Es considera d'elecció prioritària degut a la seva baixa morbimortalitat, i per presentar bons resultats a llarg termini<sup>115</sup> juntament amb una bona qualitat de vida dels pacients i està especialment indicat en pacients amb presència de reflux gastroesofàgic<sup>116</sup> i DM2<sup>115</sup>. Aquesta tècnica consisteix en efectuar no només una reducció del estómac mitjançant una SG sinó que alhora es realitza una modificació del trànsit intestinal evitant el duodè (primera part del intestí prim) o el jejú (segona part del intestí prim)<sup>103,117</sup> produint una malabsorció de la majoria dels nutrients, limitant així la quantitat de calories absorbides en l'organisme, entre altres mecanismes<sup>103,117,118</sup>



### • Justificació de la Cirurgia bariàtrica

El tractament dietètic juntament amb les modificacions de l'estil de vida, exercici i teràpia conductual, així com el tractament farmacològic, es poden assolir pèrdues de pes del 10%<sup>1,119</sup>, que sense cap mena de dubte contribueixen a la millora de les principals comorbiditats associades<sup>120</sup>. A llarg termini però, aquests tractaments acostumen a tenir resultants desalentadors. Els estudis mostren que la major part dels pacients amb obesitat mòrbida que han intentat perdre pes, el tornen a recuperar en un període superior a 5 anys posteriors a la intervenció. En aquesta situació, s'ha vist la necessitat de trobar un tractament efectiu per tal de revertir l'obesitat ja instaurada en el pacient així com les principals comorbiditats donat que el compliment i el seguiment dietètic i farmacològic no són suficients. Fins al moment, la CB és l'únic tractament que pot millorar aquestes expectatives a llarg termini en pacients amb obesitat mòrbida<sup>103,121</sup>. Una comparativa entre els procediments quirúrgics i no quirúrgics (fàrmacs, dieta i exercici físic) mostra que la CB és un tractament cost-efectiu en termes de pèrdua de pes i reducció de les comorbiditats presents com la malaltia cardiovascular, les complicacions associades a la DM2, reducció de l'aparició d'aquestes a llarg termini i en definitiva una reducció de la morbidimortalitat en general<sup>1,122-124</sup>.

### C) Indicacions de la cirurgia bariàtrica

Inicialment, els criteris d'indicació de la CB per al tractament de l'obesitat es van establir per quan el pes corporal excedia uns 45 kg o el 100% del pes ideal del pacient. A partir de l'any 1991, un comitè d'expert del *National Institutes of Health* (NIH) estatunidenc va considerar que un pacient amb obesitat era candidat a la cirurgia bariàtrica quan el valor de IMC igual o superior a 40 kg/m<sup>2</sup> o 35 kg/m<sup>2</sup><sup>1</sup> i que alhora presentessin

problemes mèdics com malalties cardiovasculars, DM<sup>2</sup>, esteatosi hepàtica, SAOS, alteracions respiratòries, osteoartritis, alteracions gastrointestinals o problemes renals, entre altres<sup>1</sup>. A banda d'aquestes consideracions mínimes, diverses societats científiques han establert que els pacients han de reunir una sèrie de requisits addicionals que garanteixin l'èxit a llarg termini de la cirurgia. Alvarado et al va observar que la pèrdua de pes quirúrgica es trobava associada a una major pèrdua ponderal del pes l'any posterior a la cirurgia<sup>125-127</sup>. En la taula 6 es mostren els criteris de selecció que els pacients amb obesitat mòrbida que haurien de complir per a ser candidats a la CB. No obstant existeixen situacions que a raó del risc-benefici s'han de plantejar de manera individual en el context de l'equip multidisciplinari, com seria per exemple el tractament de l'obesitat mòrbida en adolescents<sup>128-130</sup> o aquells altres casos que superen el líndar màxim d'edat (65 anys)<sup>131-133</sup>.

<b>CRITERIS GENERALS DE SELECCIÓ PER A LA CB</b>
• Edat del pacient entre 18-60 anys.
• Valor de IMC igual o superior a $\geq 40 \text{ kg/m}^2$ o $\geq 35 \text{ kg/m}^2$ si hi ha presència de comorbiditats majors associades, susceptibles de millorar després de la pèrdua ponderal de pes.
• Obesitat mòrbida establerta en $\geq 5$ anys.
• Fracassos recorrents als tractaments conservadors del estil de vida degudament supervisats.
• Absència de trastorns endocrins que siguin causa d'obesitat. <ul style="list-style-type: none"> <li>•• Estabilitat psicològica</li> <li>•• Absència d'abús d'alcohol o drogues</li> <li>•• Absència d'alteracions psiquiàtriques majors (esquizofrènia, psicosi), retràs mental, TCA).</li> <li>•• Capacitat per a comprendre els mecanismes a través dels quals es perd pes amb la cirurgia i entendre que no sempre s'assoleixen bons resultats.</li> <li>•• Capacitat per comprendre que l'objectiu de la cirurgia no es assolir el pes ideal.</li> <li>•• Compromís d'adhesió a les normes de seguiment després de la cirurgia, amb la capacitat personal de portar-les a terme o suport social i familiar que contribueixi a garantir una adequada adherència.</li> <li>•• Consentiment informat després d'haver rebut tota la informació necessària (oral i escrita).</li> </ul>
• Evitar la gestació durant al menys el primer any post cirurgia en el cas de les dones en edat fèrtil.

• **Taula 5:** Criteris d'inclusió dels pacients candidats a la CB<sup>120</sup>.

La mortalitat de la CB realitzada per equips experimentats actualment és inferior a l'1% i la

morbiditat quirúrgica inferior al 10%<sup>22,120,134</sup>. Cal remarcar que es tracta d'una cirurgia funcional no reversible que altera l'anatomia natural del aparell digestiu i que en la majoria dels casos es produeix una malabsorció intestinal. Tot i que els beneficis estètics són importants no són el objectiu de la CB així com l'assoliment del pes ideal, ja que aquest darrer només hi arriben la meitat dels casos.

Les alteracions nutricionals poden arribar a ser importants segons el tipus de tècnica aplicada de manera que el seguiment mèdic posterior a la CB serà calu per tal de poder detectar possibles trastorns que puguin aparèixer, com la deficiència de vitamines i/o alguns minerals)<sup>135,136</sup>. A partir dels 60 anys, la realització de la CB en pacients amb obesitat està destinada a aquells que clarament puguin beneficiar d'una millora en la qualitat de vida<sup>131-133</sup>.

### ***D) Cirurgia i diabetis amb IMC entre 30-35 kg/m<sup>2</sup>***

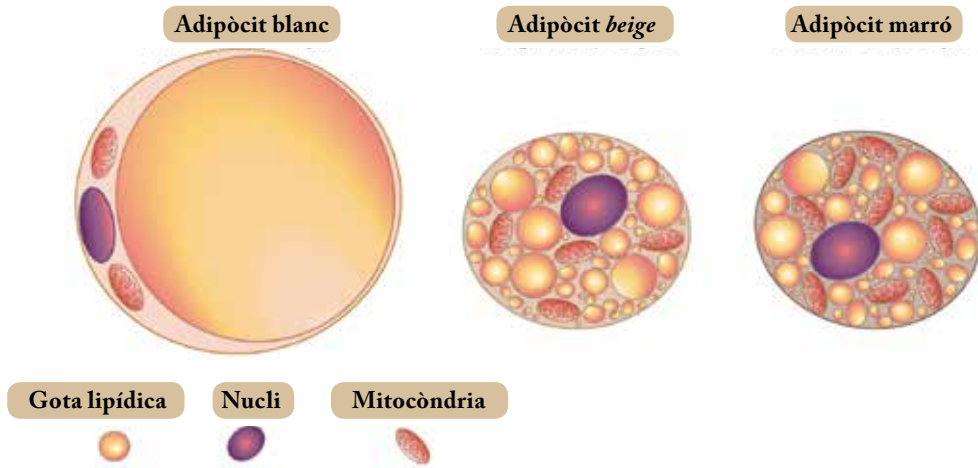
La CB contribueix a la remissió parcial o total de la DM2<sup>1,22,137</sup> entre un 50-80% dels casos en funció dels criteris escollits (diferents punts de tall de HbA1c) i quan el IMC és > 35 kg/m<sup>2</sup><sup>120</sup>.

Tot i que no existeix una unanimitat en recomanar la cirurgia bariàtrica per sota de un IMC de 35 kg/m<sup>2</sup>, algunes societats científiques consideren que la cirurgia podria ser indicada en pacients amb un difícil control metabòlic<sup>138</sup> després d'haver optimitzar el tractament mèdic<sup>139</sup>, especialment quan coexisteixin altres comorbiditats que incrementin el risc cardiometabòlic del pacient.

## **• 2. TEIXIT ADIPÓS**

---

**E**n l'organisme d'humans i altres mamífers el teixit adipós (TA) es pot classificar en tres tipologies principals segons la seva aparença: el teixit adipós blanc (TAB), teixit adipós beige o *brite* i el teixit adipós marró (TAM)<sup>140-142</sup>. En la figura 7 es troben representades esquemàticament les tipologies existents.



• **Figura 7:** Esquema de l'estructura cel·lular de les diferents tipologies d'adipòcits presents en l'organisme humà. (Figura adaptada de Chalmers et al 2018)

### • 2.1 Teixit adipós blanc

En els humans aquests dipòsits de TAB es produeixen en varies regions, però principalment es defineixen la subcutània (TAB<sub>s</sub>) i la visceral (TAB<sub>v</sub>) o també anomenada intrabdominal<sup>140,143-145</sup>. Tot i aquesta simplificació, cal esmentar que hi ha distincions clares entre els dipòsits viscerals que es poden classificar en perigonadals, mesentèrics i retroperitoneals<sup>143,144</sup>. El dipòsits de TAB<sub>s</sub> representen un 80% del greix corporal i es troben de manera continua sota la pell generant regions de major acumulació com els glutis i maluc<sup>140</sup>, la zona craneofacial (periorbital) i l'abdoment<sup>143</sup>. Cal destacar però que les característiques metabòliques i endocrines de cada dipòsit són diferents<sup>140,146</sup> per exemple, els dipòsits de glutis i mames són més sensibles a l'acció del estrògens, en canvi els de l'esquena i coll són més sensibles als glucocorticoides, els dipòsits TAB<sub>v</sub> (intrabdominals o ectòpics) presenten una major secreció d'adipoquines relacionat amb l'obesitat i la DM<sup>2</sup> mentre que el TAB<sub>s</sub> presenta una menor secreció d'adipoquines pro inflamatòries<sup>140</sup>.

#### •• 2.1.1 Estructura

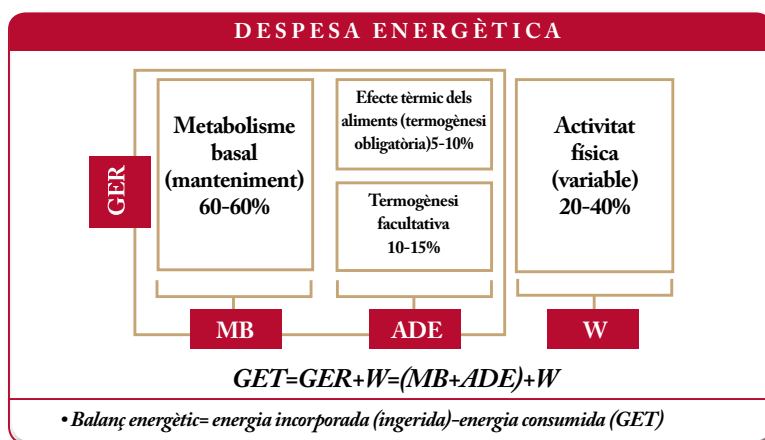
La unitat funcional principal del TAB són els adipòcits blancs. Aquestes estructures cel·lulars emmagatzemen l'excedent d'energia en forma de TAG exercint una funció de reserva energètica de l'or-

ganisme que podrà ser alliberada en situacions de dèficit energètic, ja sigui per un augment de les necessitats energètiques, un augment del increment dels requeriments, o un dèficit d'ingesta com els períodes de dejuni. Contràriament, en aquelles situacions les quals esdevinguin un excés d'energia afavoriran la síntesi de TAG i per tan la seva acumulació en l'interior de les cèl·lules d'aquest teixit. L'acumulació de TAG es produeix en una única vesícula lipídica de gran mida i de morfologia unilocular ubicada en el citoplasma del adipòcit; això farà que per l'augment de volum de la reserva de lípids, la resta d'òrgans cel·lulars es trobin desplaçats.

Tot i que la principal unitat funcional del TAB és l'adipòcit blanc no és la única unitat cel·lular que s'hi troba present ni tampoc la més abundant<sup>140</sup>. S'ha descrit presència d'altres tipus com les cèl·lules mare, preadipòcits (adipòcits immadurs), macròfags, limfòcits i cèl·lules endotelials<sup>144,147,148</sup>. Per tant, la proporció dels diferents tipus cel·lulars presents en aquesta fracció poden variar segons la situació fisiològica i la localització del dipòsit.

### • • 2.1.2 Funcions generals

Principalment els adipòcits blancs actuaran com a mecanisme esmorteïdor del balanç energètic<sup>144</sup> : emmagatzemaran energia (lipogènesi) i efectuaran la mobilització de les reserves energètiques quan aquestes siguin demandades per l'organisme (lipòlisi)<sup>149,150</sup>. Aquestes dues funcions tant oposades es troben regulades pel balanç de l'organisme en funció de la ingesta calòrica que realitza el subjecte i de l'activitat física que desenvolupa l'individu. L'energia consumida pot desglossar-se en diferents parts: la taxa metabòlica basal, l'acció dinàmica i l'activitat física<sup>151,152</sup> tal i com es representa esquemàticament en la figura 8.



• *Figura 8: Esquema sobre la composició de la despesa energètica total.*

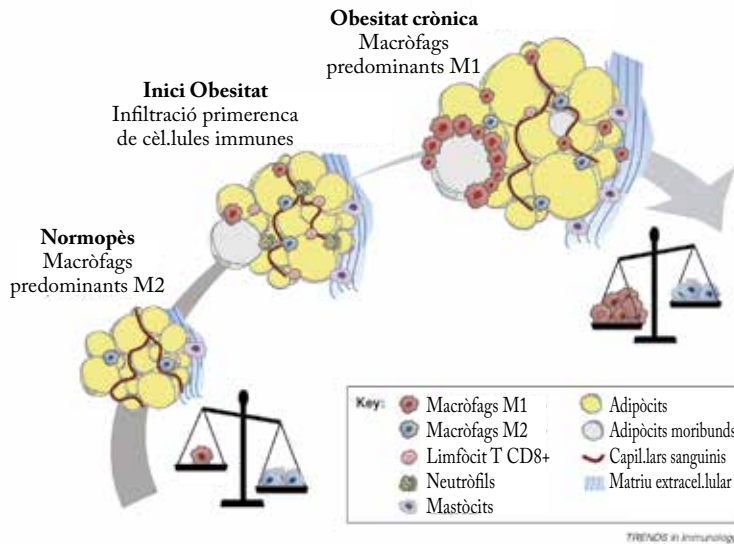
Un resultat positiu en el balanç d'energia causat per exemple per una ingesta excessiva de carbohidrats i en una situació en la qual les reserves de glicogen es trobin plenes o bé una manca d'activitat física faran que aquest excés d'energia s'emmagatzemi en forma de TAG. A curt termini el fetge i el múscul podran emmagatzemar aquest excendent en forma de glicogen però si la ingesta ha estat elevada i les reserves es troben saturades, l'encarregat de guardar aquesta energia serà el TA. Aquesta situació mantinguda en el temps conduirà a una hipertrofia (augment de la mida dels adipòcits) i a una hiperplàsia (augment del nombre d'adipòcits diferenciats) del TAB<sup>144,147</sup> que finalment es traduirà en un augment del pes corporal de l'individu. Per contra, si el balanç energètic resultant és negatiu, el TAB mobilitzarà les reserves de TAG per tal de que l'organisme pugui utilitzar els àcids grassos lliures (AGL) com a substrat en el procés de la  $\beta$ -oxidació i obtenir-ne energia en forma d'ATP.

La societat actual afavoreix que en la major part de població tingui tendència a presentar un resultat positiu d'aquest balanç. L'elevat consum de productes processats d'elevada densitat calòrica, un augment del sedentarisme i manca d'activitat física, manca d'hores de son i un entorn el qual ha esdevingut confortable especialment en els mesos de baixes temperatures són algunes de les causes que influeixen en aquest resultat<sup>152-155</sup> que porten a que la majoria de la població porti a terme una ingesta calòrica superior a la necessària i a que l'activitat física sigui inferior a la necessària per tal de poder compensar aquest excendent i alhora, la termostabilitat en la que vivim contribueix a que la termogènesi facultativa o basal, sigui inferior. Aquesta situació mantinguda en el temps acaba generant un excés de pes<sup>156,157</sup>. En la patologia de l'obesitat, el TAB pot arribar a representar al voltant del 50% del pes corporal del pacient<sup>158</sup> i com a conseqüència d'aquest excés d'adipositat, la seva funcionalitat es podrà veure alterada contribuint a l'aparició d'altres alteracions fisiològiques habitualment presents en la patologia<sup>75,159</sup>.

El TAB per tant de pacients amb obesitat presenta una morfologia i un funcionament diferent a un individu sa i amb normopès<sup>160</sup>. Això es degut a la adaptació dels processos de l'organisme a un balanç energètic positiu entre els quals s'agrupen en: expansió del teixit adipós a través de la regulació del adipòcit a través dels processos d'hiperplàsia i d'hipertrofia, un augment de la infiltració de les cèl·lules immunitàries en el TA i una modificació de la matriu extracel·lular que permeti adaptar de manera adequada aquestes modificacions en el teixit<sup>160,161</sup>. Actualment, està àmpliament estès el concepte de que l'obesitat és una malaltia inflamatòria crònica produïda per la alteració d'aquests mecanismes homeostàtics que finalment portaran a una disfuncionalitat



del teixit<sup>159,162</sup> caracteritzada principalment per; 1) una alteració de la secreció de citoquines (adipoquines)<sup>159,163</sup> que en aquestes circumstàncies seran fonamentalment proninflatòries<sup>2</sup>) un excés en l'emmagatzemament de lípids i adipogènesi, així com una 3) angiogènesi hipòxia local<sup>164</sup>, i 4) fibrosi del TA<sup>160</sup>. La lipotoxicitat resultats d'aquestes alteracions i la limitació en l'expandibilitat del TAB portaran a una disrupció en l'homeostasi del metabolisme del organisme<sup>162</sup>.



• **Figura 9:** Esquema de les diferències en la SVF present en el TAB segons la progressió de la inflamació del teixit adipós blanc en l'obesitat.

### • • 2.1.3 Funció endocrina

El teixit adipós juga un paper important en l'homeòstasi de lípids del organisme<sup>163</sup>. Tal i com s'ha comentat anteriorment, en situacions d'abundància calòrica el teixit adipós emmagatzemarà els AGL a través de la seva esterificació amb una molècula de glicerol per formar TAG i aquests seran alliberats del teixit en situacions de escassetat energètica. L'any 1995 amb el descobriment de la leptina i de les seves funcions biològiques es va originar el concepte del paper del teixit adipós blanc com a òrgan endocrí<sup>165</sup>. La seva funció reguladora en el metabolisme ve determinada per la producció de molècules i compostos bioactius també anomenades adipoquines, les quals presenten una acció autocrina i paracrina<sup>166</sup>. L'adipòcit segrega diverses citoquines i substàncies bioactives que presentaran una acció local i sistèmica degut a la circulació sanguínia del teixit, i contribuirà a mantenir les funcions habituals de l'organisme. Malgrat que la quantitat que es secreta en absència de patologia és molt baixa, en determinades malalties cròniques com l'obesitat pot tenir una major

importància ja que la quantitat de TA serà superior i el seu perfil secretor<sup>166</sup>. Actualment s'han identificat multitud d'adipoquines. Tots elles s'integren en un xarxa de comunicacions amb els altres teixits i òrgans com el múscul esquelètic, escorça suprarenal, el cervell i el sistema nerviós simpàtic elements implicats en els mecanismes de l'equilibri energètic, la immunitat, el metabolisme lipídic i l'hemostàsia. En la taula 6 es recullen algunes de les molècules descrites i el seu principal efecte en l'organisme:

MOL·LÈCULA	EFFECTES
• Lipoproteïna lipasa (LPL)	Metabolisme lipídic
• Hormona sensible a la lipasa (HSL)	Metabolisme lipídic
• Perilipina	Metabolisme lipídic
• Proteïna d'unió adipòcitària (aP2)	Metabolisme lipídic
• Proteïna d'unió al retinol (RBP)	Metabolisme lipídic
• IL-6	Inflamació, arteroesclerosi, resistència a la insulina
• Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ )	Inflamació, arteroesclerosi, resistència a la insulina
• Adipsina/ASP	Resposta immunològica a l'estrès
• Metallothioneïna	Resposta immunològica a l'estrès
• Angiotensinogen	Homeostasi vascular
• Inhibidor del activador del plasminògeno-1 (PAI-1)	Homeostasi vascular
• Adiponectina	Inflamació, arteroesclerosi, resistència a la insulina
• Proliferador del peroxisoma-receptor activat gamma (PPAR- $\gamma$ )	Metabolisme lipídic, inflamació, homeostasi vascular, metabolisme lipídics
• Proteïna C reactiva (PCR)	Inflamació, arteroesclerosi, resistència a la insulina
• Factor de creixement de la insulina 1 (IGF-1)	Metabolisme lipídic, resistència a la insulina
• Factor de creixement transformador beta (TGF- $\beta$ )	Adhesió cel·lular i migració, creixement i diferenciació.
• Monobutyrin	Vasodilatació de microvasos
• Uncoupling proteins (UCP)	Balanç energètic, regulació tèrmica
• Hormones esteroidees	Metabolisme lipídic, resistència a la insulina
• Leptina	Ingesta d'aliments, reproducció, angiogènesi, immunitat
• Resistina	Inflamació, resistència a la insulina
• Apelina	Resistència a la insulina
• Visfatina	Resistència a la insulina
• Zinc- $\alpha$ -glicoproteïna (ZAG)	Metabolisme lipídic, caquèxia en càncer

• *Taula 6: Principals adipoquines descrites i el seu principal efecte en l'organisme<sup>166</sup>.*

Entre les molècules més rellevants i les més estudiades fins al dia d'avui, destaca la leptina, l'adiponectina i interleuquina <sup>6</sup> (IL-6).

La leptina és una hormona produïda principalment pel teixit adipós i els seus nivells circulants en l'organisme es troben correlacionats amb la quantitat de greix corporal i reflecteixen l'estat energètic del mateix <sup>167</sup>. També s'ha vist més recentment que aquesta hormona juga un paper importat en estats de dèficit energètic com el períodes de dejuni o la lipoatrofia induïda per l'exercici els quals es troben associats a deficiències de l'hormona així com amb infertilitat, anomalies neuroendocrines, disfunció metabòlica, immunosupressió i pèrdua de massa òssia<sup>167,168</sup>. L'acció de la hormona és predominantment en l'hipòtalem i en el nucli arquejat, ja que es troba expressat el receptor de la molècula l'encarregat de la regulació de la síntesi dels diferents neuropèptids implicats en el control de la ingesta d'aliments i homeòstasi energètica<sup>167</sup>.

L'adiponectina és una hormona sintetitzada pel teixit adipós implicada en el metabolisme de la glucosa i dels àcids grassos. S'ha vist que la seva presència en teixits com el fetge i múscul esquelètic incrementen la sensibilitat a la insulina<sup>169</sup>. Els nivells plasmàtics d'aquesta molècula s'han vist reduïts en individus amb obesitat, especialment aquells pacients amb una obesitat tipus central o androide i correlacionen de manera inversa amb la resistència a la insulina <sup>170</sup>. L'hipoadinopectinemia s'ha associat de manera independent amb la síndrome metabòlica més que cap altre marcador inflamatori <sup>171</sup> i també en altres estats metabòlics relacionats amb la resistència a la insulina com; la DL, la malaltia cardiovascular i la HTA<sup>170</sup>.

L'IL-6 és una citoquina produïda pels adipòcits i altres cèl·lules (fibroblasts, preadipòcits, cèl·lules endotelials i monòcits) en el teixit adipós, principalment el subcutani. La seva presència en el teixit s'ha correlacionat amb l'obesitat, la resistència a la insulina, la hiperlipèmia i l'HTA. Alhora també s'ha correlacionat de amb els nivells de secreció d'adiponectina.

### ••2.1.4 *Funció immunomoduladora*

El teixit adipós presenta una funció immunomoduladora ja que entre les adipoquines que segrega també s'hi troben proteïnes tant pro com antiinflamatòries amb capacitat de modificar la sensibilitat a la insulina tant a nivell local com a nivell sistèmic de tot l'organisme<sup>147</sup>. L'expansió del teixit adipós que es produeix durant

l'obesitat incrementa la seva capacitat d'actuar com teixit immunològic i controlar la inflamació i el metabolisme sistèmic. En pacients amb obesitat i presència de comorbiditats elevades concentracions de proteïnes C3, proteïnes C reactives complementaries i IL-6, així com una disminució de l'adiponectina en comparació amb pacients amb obesitat però metabòlicament sans<sup>172</sup>. També s'ha observat un increment de les concentracions plasmàtiques de INF- $\gamma$ , i TNF- $\alpha$  en pacients amb obesitat i presència de comorbiditats<sup>173</sup>. Alhora s'ha descrit que el TAB d'aquests pacients incrementa l'expressió del marcador de diferenciació de macròfags 68 (CD68+), i una menor resistència a la tracció, fet que pot ser indicatiu de fibrosi<sup>173</sup>. Aquests estudis suggereixen que les alteracions associades a l'obesitat es troben regulades a través de mecanismes inflamatòris<sup>147</sup>.

El sistema immunitari innat realitza la primera funció de barrera i defensa de l'organisme a l'entrada de agents patògens i de lesions. Aquest sistema es troba principalment format per cèl·lules mieloides tipus monòcits i macròfags que alhora constitueixen la major porció cel·lular de la SVF del TAB<sup>174</sup>. Altres cèl·lules infiltrades del sistema immunitari innat seran les cèl·lules dendrítiques, mastòcits, cèl·lules Natural Killer (NK) i els granulòcits (basòfils, eosinòfils i neutròfils).

Els macròfags són una subpoblació heterogènia i s'observen dos tipus segons el seu perfil de secreció de citoquines: el primers són els macròfags tipus 1 (M1) o clàssicament activats i els macròfags tipus 2 (M2) o alternativament activats. Els primers exerceixen una primera funció barrera de defensa del organisme davant de agents patògens estimulada per la presència de factors proinflamatoris com IFN- $\gamma$  i els lipopolisacàrids (LPS)<sup>175</sup>. Els M1 secretaran citoquines en les que s'inclouran IL-6, IL-1 $\beta$ , la proteïna quemoatractant de monòcits (MCP-1), NOS induïble i TNF- $\alpha$ <sup>160,176</sup>. D'altra banda, els M2 es troben involucrats en la reparació i regeneració de la inflamació del teixit i secretaran citoquines antiinflamatòries com IL-4 i IL-13<sup>143</sup>. Diversos estudis mostren que la inflamació del TAB induïda per l'obesitat es troba associada a un augment dels marcadors de M1 i una reducció dels M2<sup>160,177,178</sup>. Tot i que en ocasions els M2 no és redueixen sinó que la proporció M1/M2 afavoreix un estat pro-inflamatori<sup>143,179</sup>. S'ha observat tant en individus amb normopès com en models de rosegadors que principalment presenten un fenotip predominantment de M2<sup>143</sup>, i quan s'indueix l'obesitat aquest es polaritza ràpidament a M1<sup>179,180</sup>. Contràriament, la proliferació del peroxisoma activador del receptor (PPAR- $\gamma$ ) induirà el fenotip M2 exercint un efecte protector de l'activació de M1<sup>181</sup> que es traduirà en una millora de la intolerància a la glucosa<sup>182</sup>. Actualment

encara no està clar quines són els senyals de regulació del reclutament de macròfags en el TAB però la secreció de quimiocines han estat proposades com a possibles mecanismes de reclutament de macròfags en el TAB<sup>183</sup>. En humans, la infiltració de macròfags es produeix més freqüentment en el TABV que en el TABS, relacionant la inflamació del teixit adipós a la resistència a la insulina<sup>184</sup> i per tant la reducció de la infiltració es troba lligada a una millora de l'homeòstasi de la glucosa després de la pèrdua de pes<sup>160</sup>.

En els darrers anys, s'ha observat que sistema immunitari adquirit podria tenir un paper important en la inflamació del teixit adipós<sup>160,185</sup>. Aquest es troba format per cèl·lules limfoides que representen un 10% de les cèl·lules que conformen la SVF del TAB i inclou cèl·lules T, cèl·lules B, cèl·lules NK, cèl·lules assassines naturals T (NKT) i cèl·lules limfoides innates del tipus 2<sup>160</sup>. La funció dels limfòcits B i T és fonamental per al desenvolupament de la memòria de la resposta immunitària.

En el TAB, les cèl·lules CD4+ són classificades principalment en dos subtipus; clàssiques cèl·lules T-helper1 (Th1) i T-helper2 (Th2). Tot i que actualment s'han identificat altres subtipus com t-helper17 (th17), cèl·lules T inductores de regulació (iTreg) i cèl·lules reguladores tipus 1 (Tr1) entre altres tipus. Les cèl·lules Th1 i Th17 alliberen INF- $\gamma$  i IL-17 que estimulen les funcions proinflamatòries dels macròfags M1 que alliberaran IL-6 i TNF- $\alpha$ . Contràriament, de manera antiinflamatòria les cèl·lules Th2 i les Treg produiran IL-4, IL-10 i IL-13 regulant la funció dels macròfags i afavorint la diferenciació dels mateixos cap al fenotip M2<sup>176</sup>. L'augment de cèl·lules Th1 en el TAB<sub>V</sub> podria alhora contribuir a la activació de la inflamació local cel·lular abans que es produeixi el reclutament de macròfags. Això suggereix la importància d'aquestes cèl·lules en l'inici i perpetuació de la inflamació del TAB com a responsable principal de la resistència a la insulina<sup>186</sup>. En humans i en rosegadors s'ha vist que un exhauriment dels nivells de Treg en el TAB<sub>V</sub> s'ha associat a un estat d'inflamació per obesitat així com una major infiltració de cèl·lules T i cèl·lules NK<sup>160</sup>. En canvi el possible paper dels limfòcits B en la inflamació del TAM i la regulació de la glicèmia encara no s'ha establert.

### • 2.2 Teixit adipós marró

Respecte al teixit adipós marró (TAM), la seva existència ha estat reconeguda des de fa dècades en nounats<sup>140,187,188</sup>. Durant el període neonatal aquest teixit es troba en dipòsits prominents destacant especialment l'interescapular, el qual presenta una funció termogènica que proporcionarà calor en les primeres

etapes de la vida. Aquest però s'anirà atrofiant amb l'edat, essent reemplaçat per TAB ja en l'edat adulta<sup>140,188</sup>. Considerant aquesta hipòtesi, fins fa poc, es donava per fet que el TAM actiu era pràcticament inexistent en humans adults però s'ha observat recentment que podria no ser així 189. Aquest teixit podria reparèixer en determinades situacions d'aclimatació continua al fred o bé en situacions patològiques com el cas del desenvolupament del Feocromocitoma, tumor produït en les glàndules suprarenals, que generen una sobreproducció de catecolamines, molècules principalment activadores del TAM<sup>140</sup>.

A diferència del TAB, la localització del TAM es troba de manera específica en determinades regions del organisme i la quantitat depèn de cada individu i de les seves característiques<sup>190,191</sup>. En nadons, la principal regió es la interescapular mentre que en adults els principals dipòsits que s'observen es troben en la zona cervical profunda, molt propera al múscul *longus colli*<sup>192,193</sup>. Existeixen també uns dipòsits del TAM induïbles o teixit adipós beixe<sup>194,195</sup> en les regions supraclavicular, paravertebral, peritiroïdal, mediastinal/periaortic i zona cervical intermèdia<sup>143,195</sup>, els quals apareixeran quan mantingui un estímul termogènic com exposició al fred, la administració de determinats fàrmacs per a patologies tiroidees o altres medicaments que contenen  $\beta$ -adrenergics, la presència de patologies com determinades tipologies de càncer o abrasions importants<sup>191</sup> i la realització d'exercici físic, tot i que aquest darrer no està encara del tot clar<sup>196,197</sup>.

### ••2.2.1 Estructura

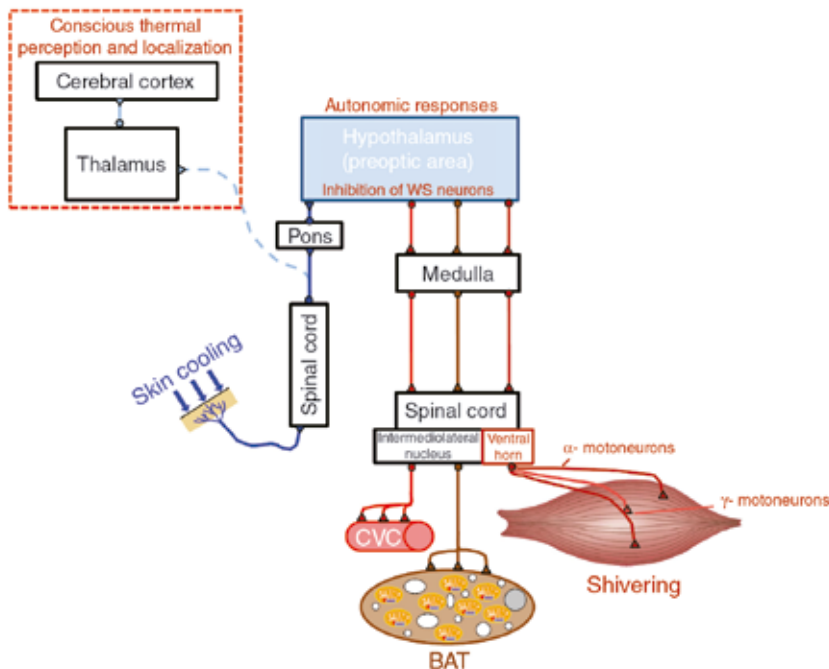
El TAM es troba format per principalment per la seva unitat estructural principal que és l'adipòcit marró<sup>194,195</sup>. De la mateixa manera que el TAB, conté un elevat nombre altres tipologies cel·lulars en els seus dipòsits com preadipòcits o cèl·lules precursoras, neurones, cèl·lules immunitàries, cèl·lules musculars llises i cèl·lules endotelials vasculars per tal de poder portar a terme la seva funció<sup>195,198</sup>. Aquesta estructura cel·lular, a diferència del blanc, presenta una menor mida ja que la seva funció principal es dissipar calor en forma d'energia i no emmagatzemar-la<sup>176,199</sup>. Això fa que en comptes d'observar una vesícula unilocular en el seu citoplasma s'observin moltes vesícules lipídiques donant una aparença multilocular. El procés de dissipació d'energia es produeix gracies a la presència de la proteïna desacobladora 1 (UCP1) present en la membrana mitocondrial interna dels mitocondris<sup>199-201</sup>, orgànuls presents en major quantitat que en el TAB i responsables també de proporcionar aquest color marró a l'adipòcit. El dipòsits del TAM es troben altament irrigats e innervats, això fa que l'activació de la termogènesi es trobi controlada per les fibres nervioses de tipus

noradrenèrgic que estan en sinapsis sobre els mateixos, de manera que quan el sistema nerviós percebi una necessitat de produir calor, enviarà les senyals adients<sup>202</sup>.

### •• 2.2.2 *Funció termogènica*

La dissipació de calor a través del consum d'energia, altrament anomenada a termogènesi, és la funció principal del TAM<sup>200</sup>, i evolutivament es creu que la seva presència podria haver suposat un avantatge per a sobreviure en períodes de fred hivernal<sup>203-205</sup>. D'aquesta manera podrien romandre actius durant la nit i adaptar-se a la supervivència en dietes deficientes en macronutrients essencials. Els animals homeotèrmics, en els quals s'inclouen els humans, quan s'exposen a baixes temperatures ambientals la demanda de calor per part de l'organisme augmenta per tal de compensar la transferència tèrmica de calor amb l'entorn i poder mantenir estable la seva temperatura corporal<sup>206</sup>. La zona de termoneutralitat és aquella en la que no s'indueixen mecanismes de regulació de la temperatura corporal a l'alça (termogènesi) ni a la baixa (dissipació evaporativa de calor) i serà on la taxa metabòlica de l'individu es trobi a nivells basals. La producció de calor també anomenada activació de la termogènesi esdevé a través d'un procés de combustió dels substrats així com altres reaccions bioquímiques exotèrmiques que tenen lloc en les cèl·lules del organisme. Quan es produeix una reducció progressiva de la temperatura ambiental, els processos metabòlics i fisiològics s'activen amb l'objectiu de reduir la pèrdua de calor i augmentar la producció de calor endògen. La combinació d'aquests dos mecanismes garanteix que la temperatura central del organisme es mantingui sobre 37 °C. Els processos implicats però poden dividir-se en dos; el "*shivering thermogenesis*" (ST) i el "*Non shivering thermogenesis*" (NST)<sup>202</sup>. Aquests mecanismes seran importants especialment quan el cos no pugui portar a terme exercici físic o quan aquest no sigui possible com per exemple en situacions de sobreexforç físic o limitació a la ingesta d'aliments. Fins l'any 2009, es creia que la producció de calor en humans durant l'exposició al fred era exclusivament generada a través del ST mentre que la contribució del NST era pràcticament nul·la<sup>202,207</sup>, tot i que prèviament ja hi havia estudis que posaven de manifest la contribució del TAM en la NST<sup>208</sup>. Aquesta hipòtesi va ser refutada en el moment que es va demostrar la presència de TAM actiu en humans adults, ja que aquest teixit és el principal productor de NST. Els estudis portats a terme per Cypress et al, no només varen demostrar que el TAM es trobava en quantitats significatives en adults sinó que en determinades patologies com la obesitat aquest teixit podia no trobar-se actiu després d'una exposició al fred<sup>189</sup>.

El sistema termoregulador serà el responsable d'iniciar aquests mecanismes. L'activació del procés de termogènesi requereix d'una sèrie de processos neuronals que es desencadenen amb la percepció del fred. Aquest factor generarà unes respostes amb la finalitat de contrarestar l'acció d'aquest estímul sobre l'organisme i mantenir la temperatura del organisme, especialment en aquells òrgans vitals<sup>200</sup>. Aquest sistema consisteix en un eix aferent sensorial, un centre d'integració i eix camí eferent<sup>202</sup>. Davant de l'estímul de fred, la pell activa els receptors "temperature-sensitive transient receptor ion channels" (thermoTRP) presents en les terminacions nervioses lliures localitzades en la dermis i la epidermis<sup>202,209-211</sup>. Aquest estímul es transportat fins al tàlem i al còrtex cerebral a través de la medulla espinal<sup>212</sup>, per a la percepció conscient i la detecció dels canvis en la temperatura de la pell, i arribarà a l'àrea preòptica del hipotàlem per tal d'activar les respostes homeostàtiques necessàries per activar els mecanismes reguladors al fred<sup>202,213</sup>: vasoconstricció cutània, TAM (o NST) i ST. La temperatura però necessària per activar a cada un d'aquests processos varia i dependrà del efector generat<sup>214</sup>, en ocasions el llindar d'activació entre dos d'aquests processos podrà ser molt proper.



• **Figura 10:** Esquema del mecanisme d'activació de la termogènesi i els principals òrgans i teixits implicats en la transmissió de la senyal. (Figura editada de Blondin et al 2014)



S'han identificat diferents tipus de thermoTRPs on cada un d'ells és sensible a un determinat rang estret de temperatura, però que en conjunt engloben temperatures que oscil·len entre les innòcues o de confort fins a nocives o doloroses<sup>215</sup>. A banda de trobar-se ubicats subcutàniament, els thermoTRP també s'expressen entre les fibres nervioses aferents ubicades en l'abdomen i vísceres, la medul·la espinal i l'hipotàlem, que proporcionaran informació sobre l'estat tèrmic de l'organisme<sup>202,216</sup>.

Els receptors tant perifèrics com centrals, mostren un augment considerable en la activitat de l'impuls nerviós després de la reducció de la temperatura ambiental o de la pell seguit d'una descàrrega continua quan la temperatura es manté constant, fet que demostra una adaptació aguda al estímul<sup>202</sup>.

L'àrea periòptica de l'hipotàlem es reconeguda com el principal centre de termoregulació en el qual s'integren les diferents senyals aferents i es generen les respostes termoreguladores com; les vasomotores de la pell, l'estímul d'activació del TAM i la tremolor durant l'exposició al fred<sup>202</sup>. En condicions ambientals neutrals, les neurones sensibles a la calor són tònicament actives en l'àrea periòptica inhibint els efectors termogènics (TAM etc.).

Aquesta tonicitat s'anirà perdent a mesura que es vagi reduint la temperatura de la pell activant la les neurones efectores encarregades de transportar la senyal encarregada de generar la resposta al fred. En humans la sortida neuronal del nucli de Raphé, situat en la medul·la, sembla augmentar en funció de la disminució de la temperatura de la pell<sup>217</sup>. Cal esmentar però, que tot que els termoeffectors en fred tenen una entrada aferent comú, es controlen de manera independent entre si i la seva activació es produeix en paral·lel en llindars de temperatura diferents. Un exemple d'aquest fenomen és produeix després del relleu del Raphé medul·lar: les neurones promotores simpàtiques activades proporcionen un estímul d'excitació a les neurones pregangliolars simpàtiques en el nucli intermediolateral per tal d'impulsar l'activació del TAM i les respostes CVC, mentre que les neurones promotores en aquesta mateixa regió medul·lar proporcionen una entrada a les neurones somatomotors del astra ventral que excita les neurones motores alfa i gamma necessàries per a l'acció de tremolar del individu<sup>218,219</sup>.

### •• 2.2.3 *Funció endocrina*

El TAM presenta una elevada plasticitat per tal d'adaptar-se als canvis de condicions nutricionals i tèrmiques<sup>199</sup>. Quan aquest teixit activa la termogènesi experimenta un augment dels seus dipòsits a través dels fenòmens de hiperplàsia i hipertrofia<sup>198</sup>. A banda de la seva funció termogènica també desenvolupa un paper d'òrgan secretor que està reconegut des de temps enrere però no havia estat objecte d'estudi. Inicialment, es va considerar que aquest paper secretor era limitat ja que la quantitat d'adipoquines que generava era molt baix, com per exemple la Leptina<sup>198,199</sup>.

Aquest concepte era erroni donat que es va assumir que el perfil de molècules secretades en el TAM era el mateix que en el TAB, tot i presentar funcions fisiològiques i metabòliques, completament oposades<sup>220</sup>. La secreció de molècules del TAM dona suport a la realització de les principals funcions del teixit i per tant tenen relació e implicació en la producció i diferenciació d'adipòcits marrons<sup>199</sup>. Actualment, s'ha vist que aquestes molècules, també anomenades “batoquines”, podrien estar implicades en processos de regulació tant autocrins com paracrins de l'organisme.

Quan es produeix l'activació de la termogènesi a través de l'activació NST després del estímul<sup>221</sup>, el cos experimenta un conjunt d'adaptacions metabòliques sistèmiques, entre les quals s'inclouen una disminució de la glucèmia i una sensibilitat a la insulina<sup>222</sup>, que permetra una millor absorció de la glucosa a nivell sistèmic<sup>220</sup>. A nivell local es produeix un increment de la lipòlisis intracel·lular que generarà AGL per tal d'obtenir energia per a la síntesi de noves cèl·lules del teixit. També es produirà un alliberament de AG per part dels adipòcits marrons, aquest tindran un efecte regulador a nivell local i sistèmic del organisme<sup>199</sup>. El perfil secretor del TAM actuarà a tres nivells; funció autocrina, endocrina, i paracrina<sup>199,220,223</sup>. Els factors autocrins presenten un efecte a nivell local en els propis adipòcits marrons i beixe que segregaran durant la termogènesi. Aquests factors autocrins detectats poden ser classificats en 2 grups. En la taula 7 es recullen els principals factors no peptídics i peptídics.

### FACTORS AUTOCRINS NO PEPTÍDICS

- Òxid nítric (NO)
- Prostaglandines i molècules relacionades
- Adenosina
- Endocannabinoids
- àcid 12,13-Dihidroxi-9Z-Octadecanoic (12,13-diHome)

### FACTORS AUTOCRINS PEPTÍDICS

- Proteïnes morfogenètiques de l'òs (BMPs)
- Peptidase M20 Domain Containing 1 (PM20D1)
- Fragment SLIT2-C
- Follistatina
- Rceptor de lipoproteïnes de baixa densitat, forma soluble del LR11 (sLR11)
- Factor de diferenciació de creixement 8 (GDF8 / Miostatina)
- Angiopoietin-Like 8 (ANGPTL8)
- Chemerin
- Endotelina-1
- Fibroblast growth factor 2 (FGF-2)

• **Taula 7:** Factors autocrins descrits peptídics i no peptídics descrits en els adipòcits marrons i beige<sup>223</sup>.

Tal i com s'ha esmentat anteriorment, en el TAM es troben diferents tipologies cel·lulars. Aquestes s'ajusten a l'estructura del TAM i proporcionen al teixit el flux sanguini i la innervació necessària per al seu funcionament<sup>161</sup>. S'ha observat que els factors que s'alliberen desde els adipòcits marrons i beixe actuen sobre totes aquestes tipologies cel·lulars ubicades dins del TAM i alhora implicades en process de embruniment. En la taula 8 s'inclouen alguns d'ells.

### FACTORS PARACRINS EN EL TAM

- Factor vascular de creixement endotelial A (VEGF-A)
- Peròxid d'Hidrogen (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)
- Factor de creixement nerviós (NGF)
- Meteorin-like (MTRNL)

**Taula 8:** Factors paracrins secretats pels adipòcits marrons i beixe, descrits<sup>223</sup>.

S'ha observat que el TAM també segrega factors que actuen sobre cèl·lules i òrgans distants presentant un efecte sistèmic. Algunes d'aquestes molècules es llisten a continuació, taula 9.

**FACTORS ENDOCRINS DEL TAM**

- Triiodotironina (T3)
- Factor de creixement de fibroblasts 21 (FGF-21)
- Neuregulina-4 (NRG4)
- Factor de creixement de la insulina 1 (IGF-1)
- Interleuquina 6 (IL-6)
- Proteïna d'unió al retinol 4 (RBP-4)
- Insulin-Like Growth Factor-Binding Protein-2 (IGFBP-2)
- miRNA exosomal

• *Taula 9: Factors endocrins secretats pels adipòcits marrons i beixes descrits<sup>199</sup>.*

**• 2.2.3 Funció immunomoduladora**

A diferència del TAB, el TAM presenta una certa resistència a desencadenar el processos d'inflamació en condicions d'obesitat. Això s'observa a través d'una menor infiltració de macròfags i una menor expressió en general de cèl·lules immunitàries<sup>176,224</sup>. Estudis realitzats en ratolins però mostren que, si aquestes condicions d'obesitat es mantenen en el temps, els animals acaben desenvolupant l'inflamació del TAM i presentaren uns nivells en marcadors inflamatoris, com TNF- $\alpha$ , elevats<sup>225</sup>. Aquest fet es reflectirà amb la presència de cèl·lules proinflamatòries infiltrades en el teixit que seran en gran part les encarregades de segregar aquestes molècules tot i que també podran provenir de la secreció per part dels adipòcits marrons els quals s'ha vist que presenten capacitat per secretar TNF- $\alpha$  i MCP-1, entre altres<sup>226</sup>.

La absorció de glucosa és un procediment essencial per TAM, ja que aquesta és el substrat directe per a desenvolupar la funció termogènica<sup>227</sup> i també, de manera indirecta, ja que subministra els compostos intermedis de la lipogènesi per tal de generar AGL que actuaran com a substrat en el procés de generació de calor<sup>198,228</sup>. L'aparició de la situació inflamatòria, produirà una alteració en aquests processos entre els quals destaca la pèrdua de la sensibilitat a la insulina<sup>227,229</sup>. L'efecte de TNF- $\alpha$  sobre l'absorció de glucosa mostra un desenvolupament de la resistència a la insulina a través de la interac-

ció de la molècula amb els seus receptors (TNFR) presents a la superfície dels adipòcits marrons 176. Alhora, TNF- $\alpha$  altera altres mecanismes no dependents de la insulina per a l'absorció de glucosa del TAM. Entre aquests destaca la alteració de FGF-21 que regula i afavoreix els processos d'absorció de glucosa a través del transportador GLUT1 present en els adipòcits marrons<sup>228</sup>. La afectació a la sensibilització de FGF-21 provoca també una reducció en la expressió del seu co-receptor  $\beta$ -Klotho, necessari per a les accions de FGF-21<sup>230</sup>. A banda de la seva acció sobre el metabolisme de l'adipòcit les citocines generades alteren la pròpia funció termogènica. En estudis realitzats en ratolins amb obesitat induïda a través de la dieta mostren a una reducció dels nivells d'expressió UCP-1<sup>223</sup>, tot i que en determinats graus d'inflamació s'observa un increment de la expressió de UCP-1 i de la capacitat termogènica del TAM<sup>231</sup>. Tanmateix, la termogènesi induïda pel fred es troba greument afectada en pacients amb obesitat<sup>227</sup>. Així doncs el mecanisme proinflamatori en el TAM es produeix de manera similar que en el TAB<sup>176</sup>. La reducció de la termogènesi i el desenvolupament de l'estat de resistència a la insulina es produeix com a resultat de l'infiltració de macròfags en el TAM deguda al desencadenament del procés inflamatori.

Recentment en un estudi portat a terme en ratolins va determinar que el TAM presenta la capacitat de produir quimiocines reguladores durant la termogènesi com la quimiocina lligada<sup>14</sup> o CXCL<sup>14 232</sup>. Aquesta citocina és alliberada per l'adipòcit marró amb la finalitat de reclutar macròfags M<sup>2 232</sup> els quals s'ha vist que presenten un paper antiinflamatori amb funcions de reparació i regeneració del teixit afectat<sup>143</sup>. En el mateix estudi també es va observar que aquesta molècula promovia l'embruïment del TAB i millorava l'homeòstasi de la glucosa a través de la millora de la sensibilitat a la insulina en ratolins amb obesitat induïda a través d'una dieta alta en greixos<sup>232</sup>.

### • 2.3 Teixit adipós beix o *brite*

#### •• 2.3.1 Estructura

Actualment, s'inclou una tercera categoria en la classificació de la tipologia d'adipòcits; el beige o *brite* (*Brown in white*) o també anomenats adipòcits induïbles<sup>188</sup>. La denominació ve de la coloració intermèdia que adopten entre els blancs i els marrons. Per tant es consideren adipòcits blancs que presenten la capacitat de produir calor sota uns estímuls termogènics<sup>199,233</sup> de la mateixa manera que

el TAM, ja que presenten uns nivells d'expressió i activitat d'UCP-1, elevats<sup>234,235</sup>. Tot i aquesta similitud en la seva funcionalitat, existeixen diferències importants entre els adipòcits que conformen en el teixit adipós marró del beige que els fa considerar-se dues tipologies cel·lulars diferenciades<sup>203</sup>. En anàlisis bioenergètics realitzats en adipòcits marrons i blancs, s'observa que totes dues tipologies cel·lulars tenen capacitat per generar calor en forma de dissipació d'energia però presenten una gran part de la seva cadena respiratòria desacoblada. És a dir, que els adipòcits beige estan programats per a ser bifuncionals<sup>233</sup>, tenen capacitat per emmagatzemar energia en absència d'estímuls termogènics i alhora són capaços de passar a produir calor si l'organisme ho requereix.

### • • 2.3.2 *Funció termogènica*

La capacitat de dissipar energia en forma de calor, constitueix el procés morfològic d'embruniment o *browning* que es desencadena en en presència de determinats factors estressors essent el més important la aclimatació a baixes temperatures (4-6°C), tot i que també, la administració de fàrmacs on el principi actiu és l'agonista  $\beta$ 3-adrenergic utilitzat en el tractament de l'HTA, podria contribuir-hi<sup>150,236</sup>. Terapèuticament és d'interès analitzar els procediments per tal d'induir aquesta formació d'adipòcits beige ja que podria resultar una contribució a la termogènesi basal, i per tant podria contribuir en el descobriment de noves dianes terapèutiques per la obesitat i/o la DM2<sup>203,235</sup>. Actualment, hi ha dues teories no necessàriament excloents que es podrien proposar com a possibles estratègies de desenvolupament d'adipòcits beige. La primera d'elles, postula que la formació es produeix després de produir un estímul en les cèl·lules precursoras (adipòcits blancs)<sup>236,237</sup> mentre que la segona manté que és produïda una conversió dels adipòcits ja existents de manera inactiva a un estat actiu segons la presència d'estímuls<sup>71,236</sup>. Una tercera possibilitat podria ser que es produïssin totes dues alhora<sup>236</sup>. En aquesta darrera teoria però caldria tenir molt en compte el context en el qual es produeix: tipus d'estímul, la seva duració, el tipus de dipòsit analitzat o la proximitat del sistema nerviós simpàtic<sup>236</sup>.

Els estímuls que desencadenen la termogènesi a través principalment d'aquesta activitat nerviosa simpàtica<sup>238</sup>, és la responsable d'induir el desenvolupament d'adipòcits beige. Alhora, cal considerar l'acció sobre els receptors  $\beta$ -adrenèrgics<sup>239</sup>, ja que és, sens dubte, un dels reguladors centrals en aquests processos. També s'ha observat que l'acció de diverses hormones i factors que regulen la despesa

energètica podrien també estar implicats<sup>203</sup>. En la taula 10 es mostren algunes d'aquestes molècules que afecten a l'activació del TAM i dels adipòcits beige i que podrien ser particularment prometedores en el desenvolupament terapèutic.

### MOLÈCULES INDUCTORES DE TERMOGÈNESI

- Irisina
- Fibroblast growth factor 21 (FGF-21)
- Pèptids natriurètics

• *Taula 10: Molècules inductores de la termogènesi en adipòcits marrons i beige descrites<sup>199</sup>.*

### • 3. ONCOSTATINA M

---

**L**a oncostatina m (OSM) és una citoquina pertanyent a família de la glicoproteïna<sup>130</sup> (Gp130)<sup>240,241</sup>. Aquest és un ampli grup de molècules en les que s'inclouen: IL-6, IL-11, IL-27, IL-30, IL-31, factor inhibitori de leucèmia (LIF), factor neurotròfic ciliar (CNTF), cardiotrofina-1 (CT-1), citoquina unida a la cardiotrofina (CLC), neuropoïetina (NP) i OSM<sup>240,242</sup>. Totes elles presenten dos components fonamentals que les fan pertànyer a gp130. El primer d'ells és la presència d'una subunitat transmembrana comuna, la glicoproteïna gp130, la qual es troba present en cada un del seus receptors i, la segona és la presència d'una estructura helicoidal de 4 parts la qual contribuirà a la especificitat d'unió de la molècula al seu corresponent receptor. Aquestes molècules activen els gens implicats en els processos cel·lulars de diferenciació, supervivència, apoptosi i proliferació<sup>243</sup> implicats en la activació de vies de senyalització de processos biològics com processos d'hematopoïesi, activitat immunitària, inflamació, embaràs, reproducció, sistema cardiovascular, formació d'osteoclasts i supervivència neuronal<sup>240,244</sup>.

Originàriament l'OSM va ser identificada com un agent terapèutic contra el càncer per la seva activitat citostàtica en cèl·lules tumorals humanes que alhora li va donar nom. Posteriorment,

i de la mateixa manera que la resta de molècules pertanyents a la família de les gp130, es va observar que OSM també es trobava implicada en altres processos biològics de l'organisme<sup>245</sup>. A diferència però de la resta de citoquines presenta la seva pròpia subunitat de receptor  $\beta$  específic (OSMR $\beta$ ) que s'heterodimeritza amb el de gp130 de manera que no es poden produir interferències amb altres citoquines de la família. A més, és aquesta subunitat  $\beta$  l'encarregada de modular la majoria dels processos de OSM<sup>246,247</sup>. Una altra propietat única de aquesta citoquina és la seva capacitat per involucrar diferents receptors complexos en ratolins i humans. En éssers humans OSM és la única citoquina pertanyent a gp130 que pot unir-se a dos receptors diferents: el complex del receptor  $\beta$ (LIFR $\beta$ )/LIF i el complex gp130/OSMR $\beta$ <sup>243,248,249</sup>. A diferència de la humana, la murina únicament pot unir-se al complex receptor gp130/OSMR $\beta$  i no al anàleg similar al descrit en humans.

La producció OSM procedeix principalment de monòcits i macròfags actius, limfòcits T, cèl·lules dendrítiques i neutròfils<sup>245</sup>. També però s'ha documentat que les cèl·lules hematopoètiques del moll de l'os poden produir-ne així com les cèl·lules mesenquimals, que alhora també poden sintetitzar el receptor. S'ha observat que OSM es produïda per les cèl·lules immunitàries infiltrades en el TAB i no pels adipòcits, tot i que els adipòcits presenten expressió del seu receptor<sup>246</sup>. S'han detectat nivells elevats circulants d'OSM, en determinades patologies inflamatòries com esclerosi sistèmica, la periodontitis, la malaltia hepàtica, lupus sistèmic eritematós i l'obesitat<sup>245</sup>.

A més, tant en humans com en ratolins s'ha observat que els nivells d'expressió i de proteïna d'OSM es troben elevats en el context d'obesitat i/o DM2<sup>241,245</sup>. Aquests correlacionen de manera positiva amb un augment de pes i de resistència a la insulina<sup>246</sup>. Indirectament, també poden activar altres factors com PAI-1 que contribuirà a un augment del risc cardiovascular<sup>250</sup>.

A banda dels efectes paracrins en el TAB, l'efecte sistèmic podria tenir repercussions també en el TAM. En treballs previs del grup realitzats en ratolins s'ha observat que després d'una dieta rica en greix, l'expressió en el TAM d'OSM i d'altres gens relacionats amb la inflamació com el TNF- $\alpha$ , ccl2 o MCP-1, augmenten mentre que l'expressió del principal gen indicador de activa-



ció de termogènesi (UCP-1) es redueix<sup>251</sup>. En el mateix estudi es va avaluar l'efecte directe de la citoquina sobre el TAM. L'administració OSM en la regió interescapular a través de l'implantació d'una minibomba produïa un augment dels nivells d'expressió de gens inflamatoris (TNF- $\alpha$ , ccl2 i Il-6) i una alteració dels gens implicats en el metabolisme<sup>251</sup>. D'altra banda, quan es va realitzar el mateix experiment en ratolins però implantant la bomba en el TAB inguinal dels animals i van exposar-los al fred (com a mecanisme per tal d'activar la termogènesi) els resultats que es van obtenir varen ser un deteriorament del procés d'embruniment<sup>251</sup>. Recentment s'ha vist que la presència d'OSM és un dels factors que inhibeixen l'adipogènesi i per tant la seva presència tendeix a limitar l'expansió del teixit adipós contribuint a un desequilibri metabòlic. A nivell in vivo s'ha demostrat que es un factor de disfunció del teixit adipós i per tant presenta un paper important en el desenvolupament de les comorbiditats associades a l'obesitat com la resistència a la insulina.

### • 4. MÈTODES DE DETECCIÓ DEL TEIXIT ADIPÓS MARRÓ

---

**E**l redescobiment del TAM en individus adults ha suposat un replantejament en l'implantació d'aquest teixit en el metabolisme i el seu paper potencial com a diana terapèutica en patologies com l'obesitat<sup>189</sup>. Actualment i per tal de contribuir al estudi, cada cop més estan sorgint possibles nous mètodes de detecció i quantificació de la seva activitat<sup>252</sup>. Aquests mètodes d'imatge són força diferents entre ells però donada la invasivitat d'alguns, la seva aplicabilitat es veurà limitada en funció de la població d'estudi<sup>190,253</sup>. Cal tenir en compte un aspecte important que en l'actualitat es troba en debat, és el tipus de mètode o procediment per dur a terme l'estimulació del TAM per tal de poder ser detectat<sup>254,255</sup>. En aquest cas trobarem també dos grans grups; el primer d'ells englobarà totes aquelles metodologies estàndard en les quals no es té en compte la variació interindividual però permet treballar a una temperatura constant i els anomenats individualitzats els quals tindran en compte la sensació del fred i el llinar de tremolor de cada individu<sup>254,256</sup>.

#### • 4.1 Exposició al fred com a estímul inductor per a la seva detecció

La detecció retrospectiva del TAM de manera espontània en humans mitjançant <sup>18</sup>F-FDG a

temperatura ambient oscil·la entre el 6,8-8,5%<sup>257</sup>. La prevalença d'activació de la termogènesi del TAM en humans quan s'exposen al fred, oscil·la entre 20-100%. A banda del fred, com s'ha comentat en apartats anteriors, l'activitat del TAM pot ser augmentada amb l'ús d'altres factors estimulants com per exemple després de l'administració d'elevades dosis de epinefrina o agonistes  $\beta$ -adrenèrgics però els efectes d'aquests compostos sobre el TAM acostumen a ser inferiors si es compara amb l'exposició al fred i incrementen el risc d'aparició d'efectes adversos com l'augment de la freqüència cardíaca i la pressió arterial.

Per aquest motiu, l'exposició al fred és el mecanisme més utilitzat alhora d'avaluar i quantificar la activitat termogènica del TAM<sup>256</sup>. La manca de protocols de referència fa que la variabilitat de mètodes d'exposició utilitzats sigui molt gran i per tant no es puguin comparar molts dels resultats obtinguts en els diferents estudis realitzats. Aquesta variació es produeix principalment pel tipus del mètode d'imatge que es farà servir. Per exemple, una termografia infraroja (IR) podrà detectar en la regió supraclavicular canvis de temperatura induïts per haver introduït una de les mans en aigua freda durant un minut, mentre que si s'utilitza un PET-CT <sup>18</sup>F estàtic serà necessari al menys 60 minuts d'exposició al fred després d'administrar el radiotracador en vena per veure'l en el TAM. Generalment, les temperatures utilitzades per a realitzar aquests estímuls són diferents, essent més elevades en aquells protocols en els quals s'exposa tot el cos al fred i més baixen en aquelles que només s'exposa una extremitat o dues ja que l'efecte és distal. Així doncs, trobem dos tipus de mètodes d'estímul de fred:

#### •• 4.1.1 Mètodes estandaritzats

En aquests conjunt de procediments s'exposen tots els individus a la mateixa temperatura i duració del fred. En aquests mètodes per tant s'observaran diferències d'activació del TAM entre els subjectes i la tremolor a qualsevol temperatura establerta ja que depèn de múltiples factors com l'estat d'aclimatació al fred de cada pacient i les diferències morfològiques del mateix (relació superfície-volum), percentatge de massa múscul esquelètic), volum de capa de greix subcutània i la resposta vasoactiva.

### • • 4.1.2 Mètodes Individualitzats

En base a les limitacions que presenten els mètodes estandaritzants s'ha plantejat utilitzar els mètodes individualitzats. Aquests principalment busquen adaptar la temperatura d'activació de termogènesi a cada subjecte. El procediment per fer-ho consisteix en obtenir primerament el valor de temperatura llindar a partir del qual el subjecte comença a tremolar pel fred i s'incrementen un parell de graus. Per tal de poder estandaritzar aquest mètode és necessari utilitzar tècniques complementaries objectives com l'EMG, el qual avalua i enregistra l'activitat elèctrica produïda pels músculs esquelètics a nivell superficial. Ara bé, aquest no permet detectar la tremolor produïda a nivell de musculatura profunda de manera que es tendeix a sobreestimar la implicació del fred en l'establiment de la temperatura llindar entre la termogènesi i la tremolor per a cada individu<sup>255</sup>.

### • 4.2 Mètodes de imatge per a la detecció i quantificació del teixit adipós marró

#### • • 4.2.1 Mètodes Invasius

L'ús del PET-CT amb <sup>18</sup>F-FDG ha estat la metodologia més utilitzada en la identificació anatómica del TAM en humans i la més aplicada en estudis clínics<sup>189</sup>. Aquesta tècnica combina la radiodensió de la TC i la imatge estàtica del PET amb l'absorció de la glucosa marcada amb <sup>18</sup>F-FDG la qual s'injecta prèviament. Les dades que s'obtenen permeten establir una corba d'activitat en el temps de la taxa de metabolisme de la glucosa marcada (<sup>18</sup>F-FDG) en el TAM<sup>256,258</sup>.

#### • • 4.2.2 Mètodes no invasius

Èticament en l'avaluació del TAM en individus sans o nens, no és permet l'ús de tècniques en les quals s'apliquin radiacions necessàries per a dur a terme el PET-CT ni tampoc la administració de glucosa marcada. Per aquest motiu s'han presentant una sèrie de tècniques alternatives. A continuació s'esmenten les principals.

#### • • • 4.2.2.1 Imatge per ressonància magnètica

La MRI es basa en realitzar diferents mesures de diferents propietats físiques com la densitat del

BAT i teixit colindants en els que s'inclou el TAB i el múscul esquelètic a través de les seqüències de polsos<sup>259</sup>. L'MRI presenta també l'inconvenient en diferenciar TAB de TAM i d'aquest darrer entre actiu e inactiu donada la seva proximitat en els llandars de densitat de protons<sup>259</sup>. Per tal de millorar l'anàlisi amb MRI s'ha plantejat la possibilitat de combinar aquesta metodologia amb la administració de <sup>18</sup>F-FDG. S'ha vist però que el possible benefici que es podria extreure de combinar la administració del radiotracador amb la ressonància magnètica podria no ser tant prometedora com es pensava en un principi.

#### ••• 4.2.2.2 Espectroscopia de ressonància magnètica de protons

L'espectroscopia de ressonància magnètica de protons (1H MRS) és una tècnica no invasiva i no radioactiva que permet mesurar la temperatura del teixit basant-se en un canvi en el pic de freqüència de la ressonància magnètica del protó d'aigua. Ara bé, la seva limitació potencial és la impossibilitat d'analitzar ROIs individuals amb una resolució espacial baixa 1-3 cm el que pot portar a certes dificultats en estudis longitudinals degut a la pròpia heterogeneïtat del teixit.

#### ••• 4.2.2.3 Espectroscopia infraroja llunyana (Near Infrared espectroscopi) NIRS

L'espectroscopia infraroja llunyana és una tècnica d'imatge òptica no invasiva sensible als canvis hemodinàmics que tenen lloc per exemple amb l'activació del TAM (és a dir les fluctuacions en el flux sanguini, volum i oxigenació). Alguns estudis han realitzat determinacions del TAM amb aquesta metodologia 260 però s'ha vist que la seva sensibilitat per detectar canvis fins i tot en metodologies més avançades com l'espectroscòpia de resolució d'infraroig proper (NIRTRS) no era capaç de detectar canvis en el TAM si s'avaluava abans i després de l'exposició al fred.

#### ••• 4.2.2.4 Contrast d'ultrasó

El contrast d'ultrasó (CU) és una tècnica no invasiva que pot mesurar el flux sanguini i la perfusió a través de l'administració de microbombolles<sup>261</sup>. Habitualment la CU es aplicada a l'avaluació del flux sanguini del miocardi en humans<sup>262</sup> i la seva utilització s'ha estès per a la detecció del TAM<sup>261</sup>. Actualment però es requereixen més estudis sobre aquest ús addicional de la tècnica.

### ••• 4.2.2.5 Mesura de la temperatura de la dermis

En l'actualitat existeixen altres mètodes per a la detecció de canvis de temperatura en la dermis propera al TAM. Estudis realitzats en infants i adults<sup>263,264</sup> s'han portat a terme amb la termografia infraroja (IRT)<sup>263,265,266</sup> i/o la utilització de sensors de temperatura autònoms com els iButtons (sensors de temperatura)<sup>264,267</sup>. Presenten una potencial sensibilitat de detecció, confereixen unes metodologies segures per a l'analitzador i el subjecte d'estudi, són fàcilment portables i permeten realitzar múltiples mesures en un mateix anàlisi per determinar les possibles fluctuacions de temperatura en l'àrea d'interès.

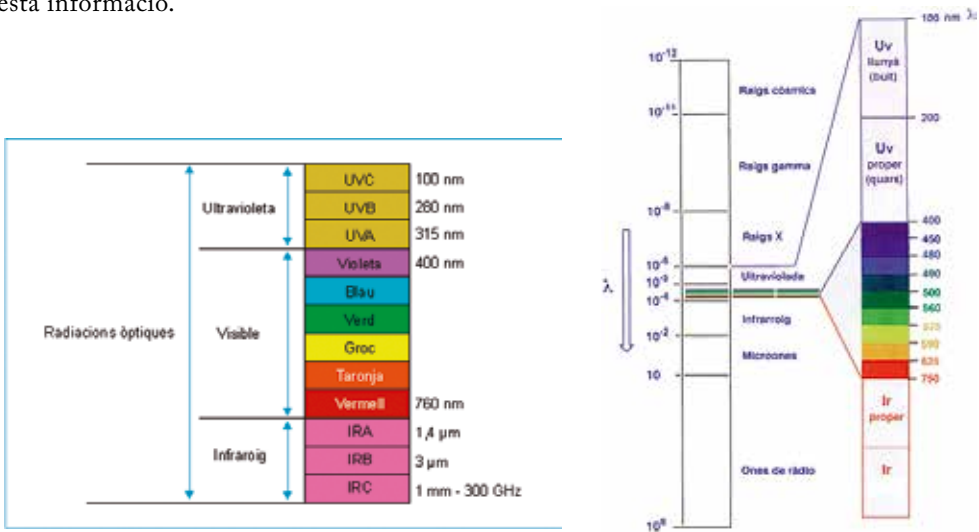
### • 4.3 Termografia Infraroja

En els darrers anys la termografia infraroja s'ha convertit en una tecnologia clau i assequible amb múltiples aplicacions en diferents àmbits professionals com per exemple des de el diagnòstic d'eficiència energètica en instal·lacions industrials i edificis, fins a la realització de diagnòstics mèdics, recerca, art i seguretat<sup>268</sup>. L'elevat cost dels primers models que varen sortir al mercat impedièn la seva aplicació amb finalitats didàctiques però en els darrers dies el desenvolupament de models de càmeres més assequibles a fet possible de publicacions que ofereixen propostes de la seva aplicació i sistemes.

#### •• 4.3.1 Fonament de la termografia infraroja

L'espectre electromagnètic representat en la figura 11 és el conjunt de tota la varietat de radiacions òptiques existents. Cada una d'elles pot ser descomposada en tres magnituds que li confereixen les propietats: la freqüència ( $\nu$ ), la longitud d'ona ( $\lambda$ ) i l'energia que produeixen ( $E$ ). Aquestes tres propietats es troben relacionades per la constant de Planck ( $h$ ) i la velocitat de la llum ( $c$ ). Així doncs, les radiacions amb una baixa longitud d'ona i una elevada freqüència seran les més energètiques com per exemple els raigs gamma o X. Mentre que aquelles amb una elevada longitud d'ona i una baixa freqüència seran les menys energètiques, en aquesta tipologia de radiacions trobaríem les de radio. L'ull humà però només pot percebre les longituds d'ona corresponents al espectre visible que es troba comprès entre 380 nm i 740 nm la resta de radiacions fora d'aquests rangs són invisibles per als humans.

La radiació infraroja és el conjunt de radiacions òptiques compreses de manera inferior al espectre visible entre les longituds d'ona 1 mm-1,4  $\mu\text{m}$ . Generalment les radiacions fora del espectre visible no són detectades per l'ull humà però algunes com els infraroges poden ser percebudes a través de la sensació tèrmica (emeten calor). Així doncs a major radiació infraroja emesa per un cos, major temperatura presentara el mateix. La termografia infraroja (IRT) és basa en la mesura d'aquesta radiació que es emesa pels cossos i l'enregistra en forma d'imatges que contenen aquesta informació.



• *Figura 11: Esquema del conjunt de l'espectre electromagnètic.*

### • Imatge Tèrmica

La tecnologia infraroja ha desenvolupat dispositius òptics que detecten i mesuren la radiació infraroja emesa pels cossos. Els objectes amb una elevada emissivitat tenen una baixa reflectància i la seva temperatura es mesurable a través de la càmera tèrmica. D'aquesta manera, a partir de la mesura de la radiació emesa es possible obtenir la temperatura superficial de qualsevol objecte i mostrar-la en forma d'imatge<sup>269</sup>. Les diferents tonalitats i colors que ofereixen les imatges tèrmiques corresponent a diferents temperatures superficials de l'objecte. A l'incrementar la temperatura d'un cos la longitud d'ona emesa per la seva radiació es va reduint.

### •• 4.3.2 Termografia infraroja i teixit adipós marró

L'activació del TAM després de l'exposició a un estímul com el fred, incrementa la despesa energètica del organisme i incrementa la producció de calor per tal produir la transferència de calor a la regió adjacent de la dermis de manera ràpida<sup>264</sup>. L'emissió de calor confereix al TAM la propietat necessària per tal de poder ser avaluat a través de l'IRT, en els dipòsits més propers a la regió subcutània com els ubicats en la zona supraclavicular<sup>270</sup>. Els resultats més recents suggereixen que existeix una superposició anatòmica significativa entre l'àrea més càlida que recobreix la regió supraclavicular d'humans, segons els resultats detectats per IRT, i l'àrea de captació màxima de glucosa, segons el que es va identificar en les tomografies PET-CT amb 18F-FDG<sup>52,270</sup>. L'augment de temperatura però s'ha vist que és més fàcilment detectat en individus adults i nens amb un baix percentatge de greix corporal que en adults i nens obesos<sup>260</sup>.

Alhora, estudis portats a terme per Lee et al varen demostrar que l'IRT és una metodologia per tal d'avaluar les variacions d'activació del TAM després d'exposar els subjectes a un estímul de fred i que el valor de temperatura de la pell en la regió supraclavicular es va mantenir en comparació d'una regió de control com la del mediastí, on la temperatura es va disminuir<sup>271</sup>. Ramage va mostrar que aquesta activació a més era similar a l'obtinguda en un PET-CT<sup>272</sup>. Resultats similars varen ser obtinguts per Haq et al els quals varen observar que l'IRT és una metodologia vàlida per a l'avaluació de la variació de temperatura en la mateixa regió després d'una exposició al fred en humans adults i que alhora aquesta canvi de temperatura pot ser reproduïble<sup>273</sup>.

Tot i el debat actual, en els últims anys l'IRT s'ha establert com una eina important i validada per a la mesura de l'activació del TAM en humans<sup>270</sup> degut a les seves múltiples avantatges enfront la PET-CT. La simplicitat del mètode, el baix cost de la determinació i la manca d'ús de radiacions ionitzants han permès que s'estengui en el seu ús en cohorts de individus de estudi que inicialment no es podia plantejar<sup>270</sup>. Tanmateix encara hi han reptes per tal de millorar aquesta tècnica i garantir la reproductibilitat, així com la possible interferència de calor dels teixit col·lidants<sup>272,274</sup>, i el protocol de consens en la adquisició de imatges que permeti la comparació entre estudis.







**E**ntre els potencials mecanismes de la millora de l'estat metabòlic experimentat pels pacients amb obesitat sotmesos a una cirurgia bariàtrica, podria trobar-se la modulació de la citoquina inflamatòria OSM. El bloqueig específic d'aquesta citoquina podria doncs, millorar l'estat inflamatori del teixit adipós blanc i marró i, contribuir alhora, a la millora de la resistència a la insulina que pot ser desenvolupada en condicions d'obesitat. Per últim, s'hipotetitzava que la IRT podria ser un mètode per a l'avaluació de la activitat termogènica del teixit adipós marró en pacients amb obesitat, contribuint al pronòstic de la CB i proporcionant informació addicional a la prioritització de pacients candidats a la CB.

En aquesta tesi s'han plantejat 3 objectius principals;

- **I.** Mesurar els nivells d'OSM circulants en pacients amb obesitat abans i després de la cirurgia bariàtrica i avaluar la seva implicació en la millora metabòlica dels mateixos.
- **II.** Avaluar i descriure els efectes del tractament amb OSM en adipòcits humans y d'una immunoneutralització amb anticòs d'OSM in vivo en ratolins C57BL6/J després d'induir obesitat a través d'una dieta alta en greix.
- **III.** Estudiar els canvis en l'activació termogènica del teixit adipós marró supraclavicular de pacients amb obesitat, abans i després de la cirurgia, i avaluar la potencial aplicació de la termografia infraroja en la practica clínica per tal de predir la possible resposta a la CB.







1



- *Oncostatin m impairs brown adipose tissue thermogenic function and the browning of subcutaneous white adipose tissue*
- 





# Oncostatin m Impairs Brown Adipose Tissue Thermogenic Function and the Browning of Subcutaneous White Adipose Tissue

David Sánchez-Infantes<sup>1\*</sup>, Rubén Cereijo<sup>2,3,4\*</sup>, Marion Peyrou<sup>2,3,4</sup>, Irene Piquer-García<sup>1</sup>, Jacqueline M. Stephens<sup>5</sup>, and Francesc Villarroya<sup>2,3,4</sup>

**Objective:** Since oncostatin m (OSM) is elevated in adipose tissue in conditions of obesity and type 2 diabetes in mice and humans, the aim of this study was to determine whether this cytokine plays a crucial role in the impairment of brown adipose tissue (BAT) activity and browning capacity that has been observed in people with obesity.

**Methods:** C57BL/6J mice rendered obese by high-fat diet, their lean controls, and C57BL/6J mice fed a standard diet and implanted subcutaneously with a mini pump through a surgical procedure to deliver OSM or placebo were used. Preadipocytes or fully differentiated brown adipocytes were treated with OSM or vehicle with or without norepinephrine before harvesting. RNA was extracted and processed for qPCR analysis. Media from mature adipocytes was also collected to measure glycerol levels.

**Results:** Studies demonstrated that OSM gene expression was increased in BAT of mice fed a high-fat diet. In addition, exogenous OSM impaired BAT activity and the browning capacity of white adipose tissue *in vitro* and *in vivo*.

**Conclusions:** Overall, the results reveal a negative role for OSM on BAT and on the browning of white adipose tissue. Therefore, further studies are necessary to demonstrate whether OSM inhibition is a potential treatment for metabolic disorders.

Obesity (2017) 25, 85–93. doi:10.1002/oby.21679

## Introduction

Oncostatin m (OSM) is a gp130 cytokine that shares substantial sequence identity with leukemia inhibitory factor (1) and can modulate a variety of biological processes such as liver development and regeneration (2,3), hepatic insulin resistance and steatosis (4), inflammation (5), and cardiomyocyte dedifferentiation and remodeling (6). However, unlike other gp130 cytokines, OSM has its own specific receptor, OSMR, that heterodimerizes with gp130 (7) and mediates the majority of OSM actions. Recently, we demonstrated that OSM is produced in white adipose tissue (WAT) under obese conditions in mice and humans and has proinflammatory roles on

adipocytes (8). Moreover, we reported that OSM was not detectable in adipose tissue of healthy lean human subjects but was elevated in patients with obesity where adipose tissue OSM protein levels directly correlated with body mass index and insulin resistance (8).

The increased risk of breast cancer associated with obesity has been widely reported, and the key mechanisms linking the obese state with cancer etiology are being actively investigated (9). Recently, it has been shown that OSM is secreted by stromal vascular cells in breast adipose tissue, and its inhibition by neutralizing antibody in animal models of breast cancer led to various improvements, including decreased peri-tumoral angiogenesis and cellular scattering (10).

<sup>1</sup> Department of Endocrinology and Nutrition, Institut d'Investigació en Ciències de la Salut Germans Trias i Pujol, Barcelona, Spain. Correspondence: David Sánchez-Infantes (dsanchez@igtp.cat) <sup>2</sup> Department of Biochemistry and Molecular Biology, and Institute of Biomedicine, University of Barcelona, Barcelona, Spain <sup>3</sup> Centro de Investigación Biomédica en Red Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CIBEROBN), ISCIII, Madrid, Spain <sup>4</sup> Institut de Recerca Pediàtrica Hospital Sant Joan de Déu (IRP-HSJD) University of Barcelona, Barcelona, Spain <sup>5</sup> Department of Biological Science, Pennington Biomedical Research Center, Louisiana State University, Baton Rouge, Louisiana, USA.

**Funding agencies:** DS-I is an Investigator of the Miguel Servet Fund from Carlos III National Institute of Health, Spain. RC and FV are Investigators of CIBEROBN. This study was supported by the Ministerio de Ciencia e Innovación (SAF2014-55725), Instituto de Salud Carlos III, and by the Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER), Madrid, Spain (CP15/00106).

**Disclosure:** The authors declared no conflict of interest.

**Author contributions:** DS-I, RC and FV conceived and designed the study. DS-I, RC, MP, and IP-G acquired the data. DS-I, RC, MP, and IP-G analyzed the data. DS-I, RC, MP, IP-G, JMS, and FV interpreted the data. DS-I, RC, MP, and FV drafted the manuscript. All authors were involved in writing and revising the manuscript and approved the final version of the manuscript.

\*DS-I and RC contributed equally to this work.

**Received:** 8 May 2016; **Accepted:** 30 August 2016; **Published online** 5 October 2016. doi:10.1002/oby.21679



In addition to breast cancer, elevated OSM levels have been associated with many other types of cancers including ovarian cancer, Ewing sarcoma, and prostate cancer (11).

Obesity is the primary disease involving fat cells, but obesity is also a major risk factor for the development of serious and costly diseases such as type 2 diabetes mellitus (T2DM), cardiovascular disease, hypertension, and metabolic syndrome. Disruption of adipose tissue expansion can lead to altered adipokine secretion and profoundly contribute to the development of metabolic diseases (12). In obesity associated with metabolic inflammation, there is a continual state of chronic low-grade inflammation in adipose tissue that is characterized by the presence of various proinflammatory immune cells (13) that secrete inflammatory cytokines, in conditions of obesity and T2DM. Similar to TNF and IL-6, OSM is an immune cell-derived cytokine in WAT where it promotes metabolic dysfunction. Understanding the cross talk between immune cells and adipocytes and their contribution to obesity and insulin resistance is an important area of investigation.

The amount and activity of brown adipose tissue (BAT) and the browning of subcutaneous WAT (appearance of thermogenic beige/brite adipocytes in WAT depots) have been associated with protection against obesity and improvement of associated metabolic alterations (14). These effects of BAT are traditionally attributed to its capacity to oxidize fatty acids and glucose to sustain thermogenesis. However, BAT, similar to WAT, has also been recognized to secrete endocrine factors with potential beneficial effects on metabolism referred to as "brown adipokines" or "batokines" (14). Until recently, it was largely accepted that, in humans, BAT only exists in children and disappears with age, but positron emission tomography scanning has revealed the existence of active BAT in adults (15,16). Moreover, most of the adult BAT is derived from WAT cells that could potentially acquire the beige/brite thermogenic phenotype. The possibility of converting energy-storing white adipocytes into energy-consuming beige/brite fat cells is a relevant topic in current research to achieve protection against obesity and the associated metabolic alterations (17-19).

Some recent studies have documented metabolically beneficial effects of OSM on adipocytes and glucose tolerance (20-22). However, the majority of studies have supported a role of OSM to promote metabolic dysfunction (4,8,23). To further understand the actions of OSM in metabolic disease states, we examined the ability of OSM to modulate BAT and the browning of WAT. Our novel studies revealed that both in brown and white adipocytes, OSM is able to impair both BAT activity and the browning process and to affect thermogenic gene expression, adipokine secretion, insulin sensitivity, and glucose and lipid metabolism.

## Methods

### Mice

Animals used in this study ( $n = 4-8$ ) included C57BL/6J mice either rendered obese by high-fat diet (HFD) alongside their lean controls (Jackson Laboratories) or mice (Charles River) fed a standard diet and implanted subcutaneously with micro-osmotic pumps. The HFD used contained 60% kcal from fat (Research Diets Inc.; D12492). Control diet contained 10% kcal from fat (Research Diet Inc.; D12450B). Both diets contained 10% kcal from protein with the balance in caloric intake provided by differences in carbohydrate content. HFD feeding began on 6-week-old mice and extended until

their sacrifice after 12 weeks. Tissues were collected for total RNA, protein, or microscopy analysis.

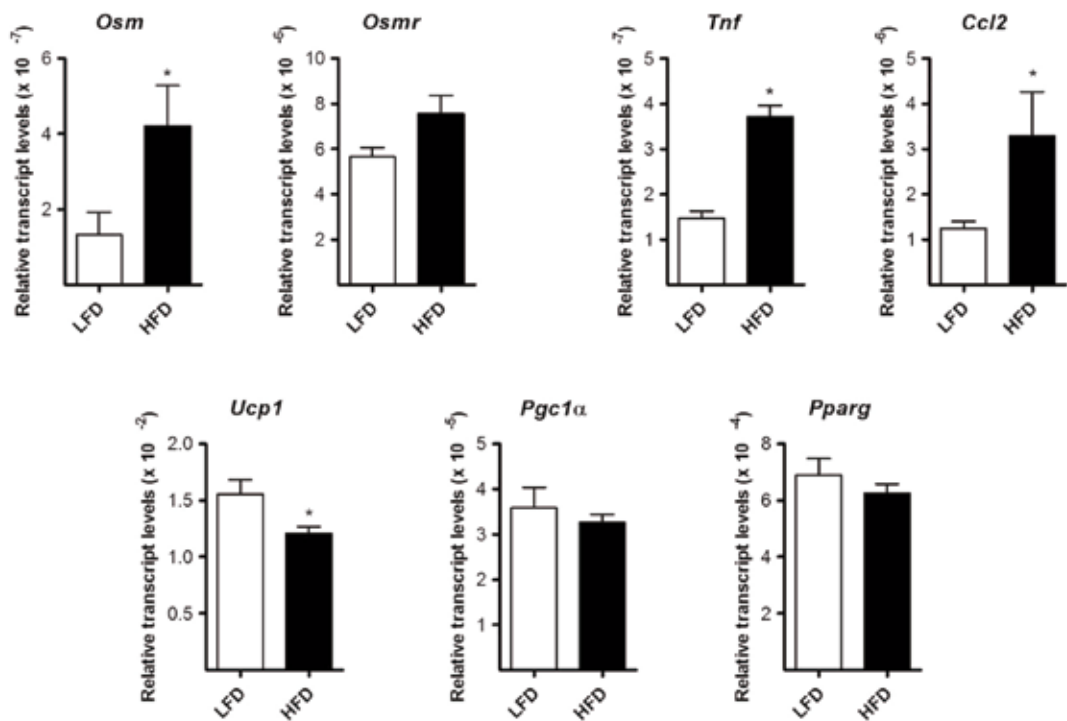
Micro-osmotic pumps (Alzet 1007D, Charles River) were surgically implanted subcutaneously over interscapular BAT or adjacent to inguinal WAT (iWAT) to deliver OSM at a dose of 12 ng/g of mouse weight per day or PBS during 7 days. Mice used in this experiment were kept at basal conditions (21°C, ambient temperature). Since these animals were not at thermoneutrality, it is expected that the BAT from control and treated mice was in an activated condition required to examine the ability of OSM to down-regulate BAT activity. In iWAT-implanted mice, animals were placed in a cold environment (4°C) to induce browning (24). Animal care and use was approved by the Institutional Animal Care and Use Committee at Pennington Biomedical Research Center and the European Community Council Directive 86/609/EEC. All experimental procedures were approved by the Institutional Animal Care and Use Committee of the University of Barcelona.

### Cell culture

Immortalized BAT preadipocytes from C57BL/6J mice (25) were grown in DMEM supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS) and 1% penicillin/streptomycin (P/S) (Life Technologies). Upon reaching confluence, a differentiation cocktail containing 0.5 mmol/L 3-isobutyl-methylxanthine (IBMX), 1  $\mu$ mol/L dexamethasone, insulin (20 nM), and T3 (1 nM) was used to induce differentiation as previously described (25). Cells were maintained in this medium for 8 days until they became fully differentiated. Preadipocytes or fully differentiated brown adipocytes were treated with 1 nM mouse recombinant OSM (R&D Systems) or vehicle with or without 0.5  $\mu$ M norepinephrine (NE) before harvesting. RNA was extracted and processed for qPCR analysis. Media from mature adipocytes was also collected to measure free glycerol levels (FG1010 kit, Sigma).

### RNA and protein isolation

Epididymal WAT (eWAT), iWAT, and interscapular BAT were collected in liquid nitrogen. Samples from BAT and iWAT were fixed in 4% formaldehyde as well to perform hematoxylin-eosin staining. Total RNA was extracted from tissue or harvested cell cultures using a column-affinity based methodology (NucleoSpin RNA II; Macherey-Nagel, Düren, Germany). RNA yield was determined by spectrophotometry (NanoDrop). 500 ng of total RNA were retrotranscribed into cDNA using random hexamer primers and Multiscribe reverse transcriptase (TaqMan reverse transcription reagents, Thermo Fisher Scientific), following the manufacturer's instructions. Platinum Quantitative PCR SuperMix-UDG with ROX reagent (Thermo Fisher) was used as master mix reagent and expression levels of each gene of interest were assessed with the following specific TaqMan probes (Thermo Fisher): *Osm* (Mm01193966\_m1), *Osmr* (Mm01307326\_m1), monocyte chemoattractant protein-1 (*Ccl2*) (Mm00441242\_m1), uncoupled protein 1 (*Ucp1*) (Mm00494069\_m1), peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator (*Pgc1 $\alpha$* ) (Mm00447183\_m1), perilipin 1 (*Plin1*) (Mm00558672\_m1), hormone sensitive lipase (*Lipe*) (Mm00495359\_m1), fatty acid synthase (*Fas*) (Mm00662319\_m1), fibroblast growth factor 21 (*Fgf21*) (Mm00840165\_g1), beta Klotho (*Klb*) (Mm00473122\_m1), interleukin 6 (*Il-6*) (Mm00446191\_m1), T-box 1 (*Tbx1*) (Mm00448949\_m1), Leptin (*Lep*) (Mm00434759\_m1), tumor necrosis factor-alpha (*Tnfa*) (Mm00443258\_m1) and *18S* (Hs99999901\_s1). Relative expression of each mRNA was quantified



**Figure 1** OSM mRNA levels are elevated in BAT from mice fed HFD for 12 weeks. Relative mRNA abundance was assessed in BAT from mice fed HFD or normal diet for 12 weeks to measure *Osm*, *Osmr*, *Tnf*, *Ccl2*, *Ucp1*, *Pgc1α*, and *Pparg*. Data were normalized to 18S, and differences were determined via Student's *t*-test where a *P* value of <0.05 was considered significant. *n* = 8. \**P* < 0.05.

using the ABI 7500 Real-Time PCR System (Thermo Fisher). Transcript levels were normalized to that of housekeeping gene 18S. For protein analysis, tissues were homogenized in a buffer containing 10 nmol/L HEPES, 5 mmol/L ethylenediamine tetraacetic acid, 5 mmol/L dithiothreitol, and 5 mmol/L MgCl<sub>2</sub> supplemented with protease inhibitors (Complete-mini, Roche). Total protein was measured by Ponceau staining. Interleukin-6, insulin, leptin, total plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), resistin and OSM were measured using a MILLIPLIX® MAP Mouse Metabolic Disease Multiplex Assay (Luminex 200™, Millipore Corporation, MADKMAG-71K and MCVD2MAG-77K, respectively).

### Statistical analysis

Results are expressed as mean ± SEM. Differences between specified groups were analyzed using the two-tailed Student's *t*-test. A *P* value of less than 0.05 was considered statistically significant. Hematoxylin-eosin staining quantification of adipocytes was performed on the Image J Software Suite.

## Results

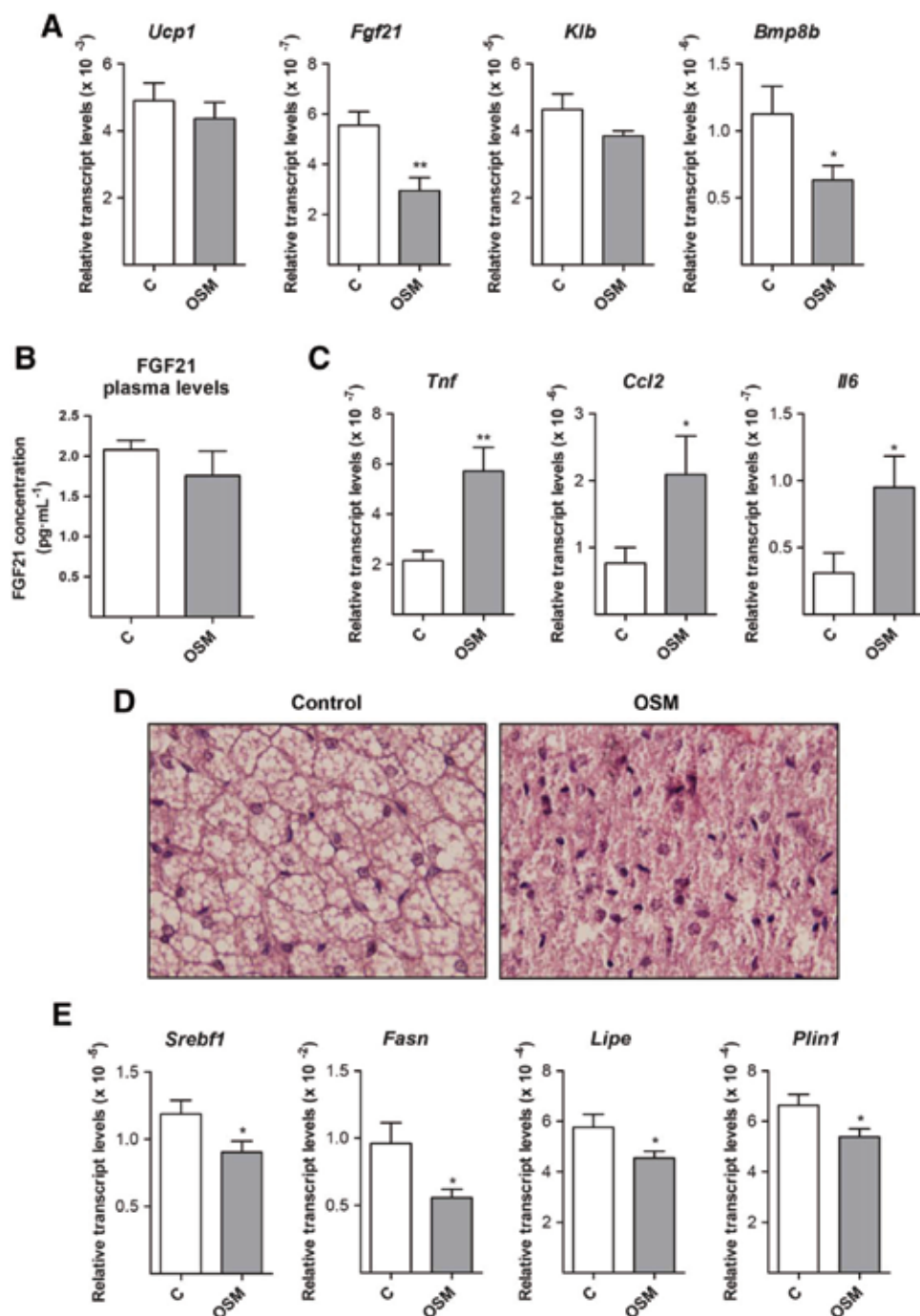
### *Osm* and *Osmr* mRNA expression are increased in BAT from mice following HFD

The mRNA levels of *Osm* were increased and the mRNA levels of its specific receptor *Osmr* did not change significantly (despite a

tendency to be increased) in BAT from mice fed a HFD for 12 weeks (Figure 1). These mice also showed a decrease in *Ucp1* and a non-significant trend of lower levels of *Pgc1α* and *Pparg* mRNA (Figure 1). As expected, we observed a significant increase in mRNA levels of *Tnf* and *Ccl2* in BAT from mice fed a HFD for 12 weeks compared with the control group (1.5 ± 0.2 vs. 3.7 ± 0.3, *n* = 7, *P* = 0.077, and 1.3 ± 0.2 vs. 3.3 ± 0.9, *n* = 7, *P* = 0.041, respectively; arbitrary units relative to 18S rRNA), confirming the expected inflammation and the reduction of thermogenic activity of BAT with HFD.

### OSM affects inflammatory state and lipid homeostasis in BAT

In order to determine the action of OSM on BAT, micro-osmotic pumps were placed adjacent to interscapular BAT to deliver vehicle or OSM for 1 week *in vivo*. As shown in Figure 2, we observed a decrease in the mRNA expression of *Fgf21* and *Bmp8b* in BAT, as compared with mice receiving vehicle. Although OSM induced a decrease in BAT *Fgf21* mRNA levels, there were no substantial changes in circulating levels of FGF21 (Figure 2B). In addition, no changes in the expression of transcripts for the thermogenic markers *Ucp1*, *Pgc1α*, or *Pparg* were observed. Increased mRNA expression for genes encoding inflammatory cytokines including *Tnf*, *Ccl2*, and *Il-6* was observed in BAT following OSM administration (Figure 2C). A histological analysis revealed that OSM treated mice had decreased lipid storage in BAT (Figure 2D) and mice receiving



**Figure 2** Administration of exogenous OSM to BAT by osmotic micro-pump impairs the mRNA expression of genes involved in BAT activity and produces an inflammatory state. (A) *Fgf21* and *Bmp8b* mRNA levels were decreased in BAT from C57/B16 mice receiving OSM for 1 week by osmotic delivery systems (micro-osmotic pumps) in BAT at room temperature. Relative mRNA levels were assessed in BAT from mice receiving OSM or PBS for 1 week to measure *Ucp1*, *Fgf21*, *Klb*, and *Bmp8b*.  $n = 8$ . (B) FGF21 circulating levels were similar in BAT from C57/B16 mice receiving OSM for 1 week on BAT by osmotic delivery systems (micro-osmotic pumps) at room temperature. (C) *Tnf*, *Ccl2*, and *Il-6* mRNA levels were increased in BAT from C57/B16 mice receiving OSM for 1 week on BAT by osmotic delivery systems (micro-osmotic pumps) at room temperature. Relative mRNA levels were assessed in BAT from mice receiving OSM or PBS for 1 week to measure *Tnf*, *Ccl2*, and *Il-6*.  $n = 8$ . (D) BAT hematoxylin-eosin staining from C57/B16 mice after 1 week of treatment with micro-osmotic pumps filled with buffer control or OSM on BAT. (E) *Srebff1*, *Plin1*, *Lipe*, and *Fasn* mRNA levels were decreased in BAT from C57/B16 mice receiving OSM for 1 week on BAT by osmotic delivery systems (micro-osmotic pumps) at room temperature. Relative mRNA levels were assessed in BAT from mice receiving OSM or PBS for 1 week ( $n = 8$ ) to measure *Srebff1*, *Plin1*, *Lipe*, and *Fasn*. All the mRNA data were normalized to 18S, and differences were determined via Student's *t*-test where a *P* value of  $<0.05$  was considered significant. \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ . [Color figure can be viewed at [wileyonlinelibrary.com](http://wileyonlinelibrary.com)]

TABLE 1 Circulating parameter levels in mice

Metabolic parameters and inflammatory markers	Room temperature			4°C		
	Mean CTL ± SEM	Mean OSM ± SEM	P	Mean CTL ± SEM	Mean OSM ± SEM	P
Insulin (ng/mL)	1.06 ± 0.15	1.23 ± 0.11	0.416	1.47 ± 0.19	1.14 ± 0.10	0.136
TAG (mg/dL)	153 ± 15.48	117.75 ± 15.94	0.148	162.25 ± 5.92	157.83 ± 10.49	0.758
Leptin (ng/mL)	2.14 ± 0.45	0.54 ± 0.12	0.005**	0.77 ± 0.15	0.69 ± 0.13	0.726
Total PAI-1 (ng/mL)	1.78 ± 0.33	1.97 ± 0.35	0.728	0.81 ± 0.19	1.78 ± 0.33	0.097
IL6 (pg/mL)	8.60 ± 2.38	29.81 ± 8.78	0.028*	19.67 ± 3.56	12.96 ± 3.56	0.279
Resistin (ng/mL)	1.81 ± 0.19	1.77 ± 0.47	0.953	2.54 ± 0.29	2.11 ± 0.25	0.329

\*P &lt; 0.05.

\*\*P &lt; 0.01.

OSM had decreased mRNA levels of lipid homeostasis genes such as *Srebf1*, *Fasn*, *Lipe*, and *Plin1* (Figure 2E). The expression of *Fgf21*, *Klb*, *Ucp1*, *Pparg*, or *Tbx1* was not altered in iWAT (data not shown). The level of expression of *Ccl2* and *Tnf* was also similar in both groups in inguinal adipose tissue (data not shown). However, decreased levels of leptin and increased levels of IL-6 in serum were also observed in OSM treated mice (Table 1). Measurement of *Lep* transcript levels revealed a significant reduction both in BAT ( $n = 7$ ,  $P = 0.041$ ) and WAT ( $n = 7$ ,  $P = 0.0001$ ). OSM protein levels were not detected in serum or adipose depots of the mice after 1 week of delivering by micro-osmotic pump located in BAT. Collectively, our results demonstrate that OSM expression can affect both the lipid metabolism and the inflammatory state of BAT. However, targeted delivery of OSM to BAT did not have a direct impact on distant organs such as iWAT.

### OSM negatively impacts browning of iWAT following cold exposure

To assess the actions of OSM on the process of browning of iWAT, mice were fed a standard diet and a mini pump delivering PBS or OSM was inserted directly adjacent to iWAT. Following placement of mini pumps, mice were exposed to cold for 1 week to further activate thermogenesis pathways. Histological analysis revealed the presence of brown-like (multilocular) adipocyte accumulation in iWAT following cold exposure. Moreover, significantly larger white adipocytes were found in the iWAT from mice treated with OSM compared with the control group (Figure 3A). The quantification of brown-like adipocyte accumulation showed a decrease in iWAT of mice receiving OSM (71.5% of multilocular adipocytes in control group vs. 25.3% in OSM treated mice) (Figure 3B). The area of unilocular adipocytes was significantly higher in mice treated with OSM compared with the control group (Figure 3B). In addition, mice implanted with OSM-delivering micro-osmotic pumps to iWAT exhibited lower levels of *Ucp1* mRNA (Figure 3C) but this effect did not reach statistical significance ( $P = 0.081$ ). Similar levels of *Pgc1 $\alpha$*  were observed in both conditions. A marked decrease in *Tbx1* and an increase in *Glut4* expression were observed in iWAT of OSM treated mice. In addition, the mRNA levels of *Ccl2* and *Tnf* were similar in both groups (Figure 3D). A histological analysis of the BAT from these mice did not indicate any profound differences after cold exposure between control

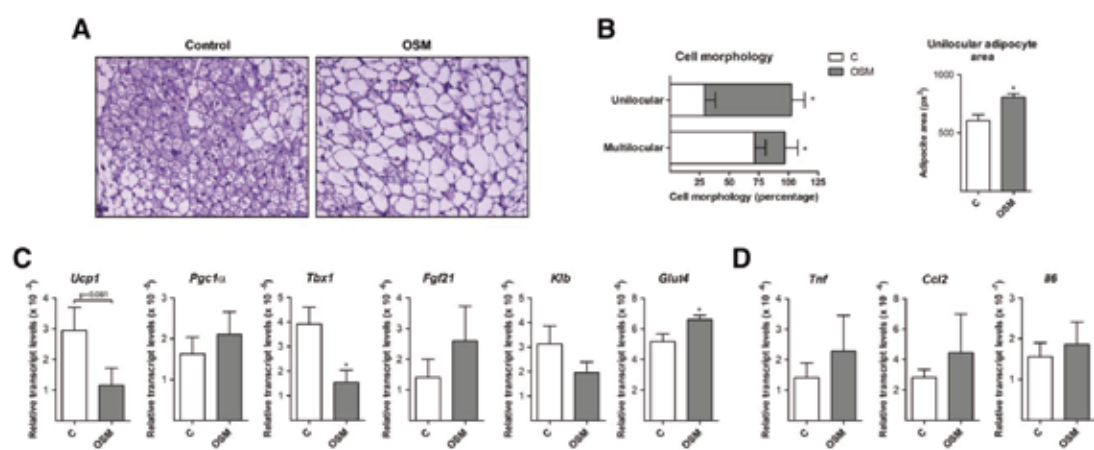
mice and those with OSM delivery to iWAT (Figure 4A). Also, no substantial changes in *Ucp1* mRNA in BAT were observed between control and iWAT OSM treatment. A clear and significant increase in the mRNA levels of *Pgc1 $\alpha$* , *Pparg*, *Fgf21*, and *Bmp8b* was observed in the BAT of the iWAT OSM treated group (Figure 4B). Circulating levels of FGF21 were unchanged (data not shown) and no significant differences in *Tnf* and *Il-6* mRNA levels were observed in BAT (Figure 4B). OSM protein levels were not detected in serum or adipose depots after 1 week of OSM delivery by micro-osmotic pump located in iWAT.

### OSM reduces brown adipocyte differentiation in vitro

C57Bl6 preadipocytes were differentiated into brown adipocytes as previously described (25). Exposure to OSM throughout the differentiation process resulted in a reduction in the number of differentiated adipocytes as assessed by microscopy morphology (lipid vacuole accumulation) (Figure 5A). Consistent with these observations, we also observed lower mRNA levels of *Pgc1 $\alpha$*  in OSM treated cells as compared with the control group after 10 days (Figure 5B). We also examined the effects of OSM on fully differentiated brown adipocytes and on their responsiveness to the thermogenic activator NE. As expected, NE treatment of mature brown adipocytes resulted in an increase in the expression of *Ucp1* and *Pgc1 $\alpha$*  mRNA levels. The incubation of brown adipocytes with OSM significantly reduced the basal expression of *Ucp1*, *Pgc1 $\alpha$* , and *Pparg* transcripts and also impaired the ability of NE to induce several genes including *Ucp1* and *Pgc1 $\alpha$*  (Figure 5C). Free glycerol concentrations in media from mature brown adipocytes were similar in the vehicle and OSM treated groups suggesting no significant alterations in lipolysis (data not shown). As expected, NE treatment increased glycerol levels, but the presence of OSM did not alter NE-induced glycerol hydrolysis in these adipocytes (data not shown).

## Discussion

Increased BAT recruitment and activation have been linked to improvements in energy balance and glucose and lipid metabolism (26). Moreover, the browning capacity of subcutaneous iWAT has



**Figure 3** Administration of exogenous OSM to iWAT by osmotic micro-pump decreases the browning percentage in mice exposed to cold temperature for 1 week. (A) iWAT hematoxylin-eosin staining from C57/Bl6 mice receiving OSM or PBS for 1 week by osmotic delivery systems (micro-osmotic pumps) in iWAT at cold temperature. (B) The percentage of multilocular adipocytes was lower in iWAT from C57/Bl6 mice receiving OSM for 1 week by osmotic delivery systems (micro-osmotic pumps) in iWAT at cold temperature. This group also showed larger white adipocytes compared with the PBS group. (C) *Tbx1* mRNA levels were decreased in iWAT from C57/Bl6 mice receiving OSM for 1 week by osmotic delivery systems (micro-osmotic pumps) in iWAT at cold temperature, while *Glut4* was increased. *Ucp1*, *Pgc1a*, *Fgf21*, and *Klb* mRNA levels were unchanged. (D) No changes in inflammatory markers were detected in this tissue. Relative mRNA levels were assessed in sWAT from C57/Bl6 mice receiving OSM or PBS for 1 week by osmotic delivery systems (micro-osmotic pumps) in iWAT at cold temperature ( $n = 8$ ) to measure *Ucp1*, *Pgc1a*, *Tbx1*, *Fgf21*, *Klb*, *Glut4*, *Tnf*, *Ccl2* and *Il-6*. All the mRNA data were normalized to 18S, and differences were determined via Student's *t*-test where a *P* value of  $<0.05$  was considered significant. \* $P < 0.05$ . [Color figure can be viewed at [wileyonlinelibrary.com](http://wileyonlinelibrary.com)]

also been associated with improvements in metabolic function (9). Some studies have also reported an impairment of BAT function under inflammatory conditions (27,28). However, the role of OSM in BAT and browning activity has not been previously studied. Our novel observations demonstrate that OSM can impair BAT differentiation and function and can alter iWAT browning capacity *in vitro* and *in vivo*.

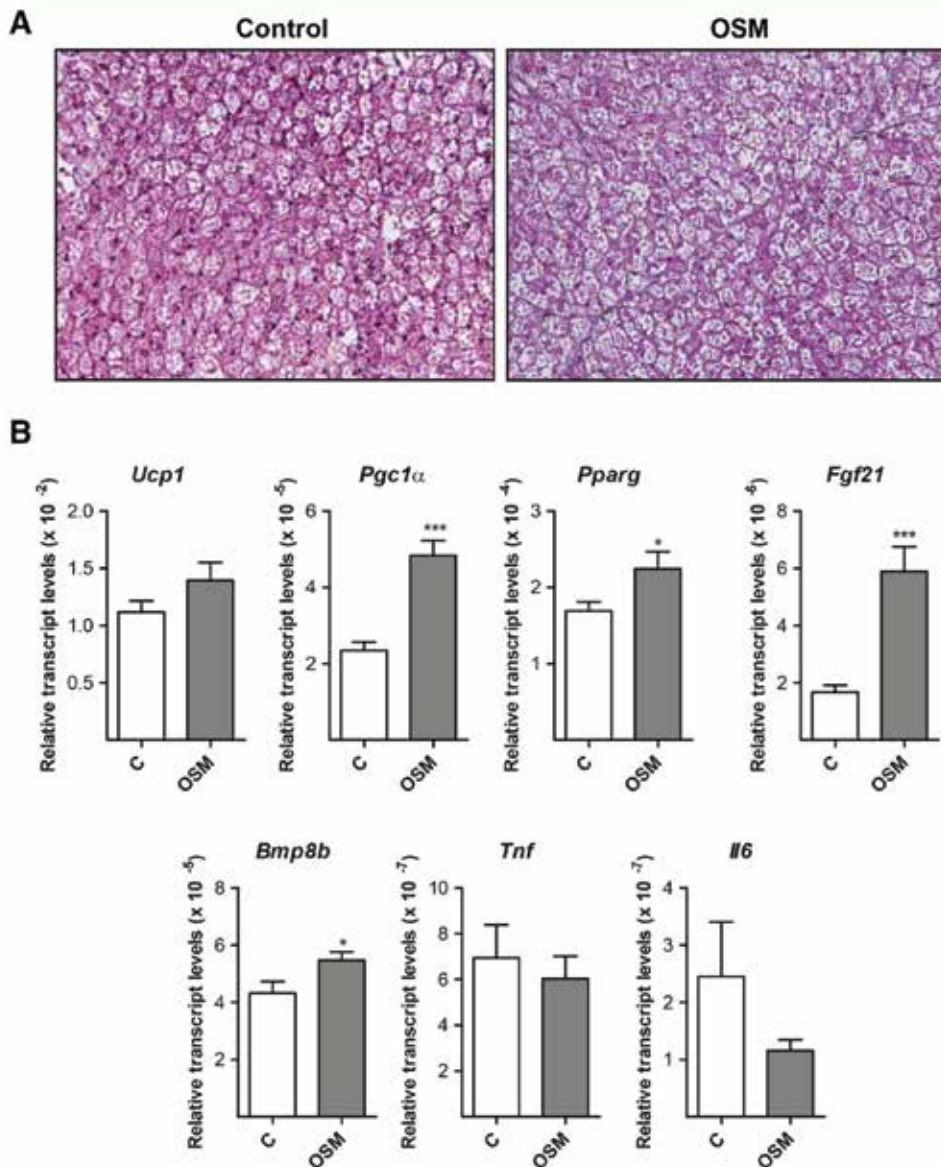
We previously reported that OSM is secreted by macrophages present in WAT and that OSM expression is increased in epididymal WAT of mice fed a HFD (8). In this study, we demonstrate that OSM is also increased in BAT of mice fed a HFD. In addition, the presence of OSM is strongly correlated with parameters associated with reduced BAT activity. To further analyze the effects of OSM on BAT *in vivo*, we subcutaneously implanted micro-osmotic pumps adjacent to BAT in mice to locally administer a constant dose of OSM. The animals were housed at 21°C and therefore there was some BAT activation under these experimental conditions (26); it allowed us to examine the potential repressive effects of OSM on BAT function that would not have been feasible with mice at thermoneutrality, a condition where BAT activity is suppressed.

OSM exposure induced a significant decrease in the expression of *Fgf21* and *Bmp8b* mRNA in BAT. Both FGF21 and BMP8b are factors secreted by BAT with important roles in glucose metabolism, browning, and improvements in metabolic status (25,29,30). However, we did not observe changes in other thermogenic genes in brown fat following OSM treatment. In addition, the OSM delivered to BAT produced a significant increase in the expression of inflammatory markers such as *Tnf*, *Ccl2*, *Il-6*, and *Il-18*. These data suggest that OSM changes BAT paracrine functions by preventing the release of prothermogenic signals while inducing the release of

BAT-deleterious proinflammatory cytokines. These observations are highly consistent with proinflammatory actions of OSM on adipocytes and WAT (8,10) as well as on bone marrow cells (31). Moreover, histological analysis of BAT revealed that OSM induced an altered brown adipocyte structure associated with a reduction in lipid droplet-containing cells. We observed decreased expression of *Plin1*, *Lipe*, and *Fasn* in BAT from OSM treated mice that was consistent with our histological observations. The decreased leptin serum levels was consistent with the reduced expression of leptin in BAT and WAT that we observed in our experimental setting of OSM delivery to BAT. Considering the minor contribution of BAT to systemic leptin levels (32), it is possible that alterations in BAT secretory function, such as those noted above, may influence other tissues including WAT and its leptin secretion capacity.

Our observations are not consistent with studies that have indicated a metabolically favorable role for OSM in obesity (20–22). This apparent discrepancy may be a result of the very high doses of OSM used in those studies. In our study, the mice received a dose of OSM that was calculated to be delivered daily (12 ng/g of weight of mouse) for 1 week, which is less than the dose administered by other groups. Presumably, OSM bound to its specific receptor present in brown adipocytes and produced the observed effects. It is not surprising to us that the levels of OSM were very undetectable in tissues and serum since our study was performed in lean mice. Also, cytokines such as OSM are labile and are typically internalized and degraded after receptor engagement.

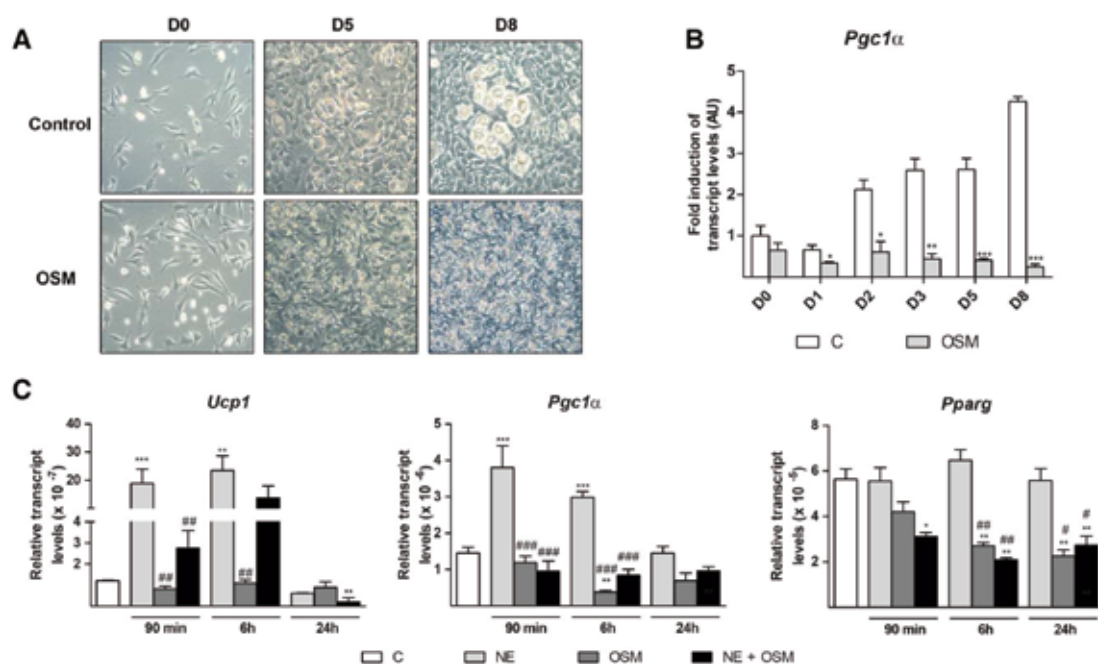
In addition to evaluating the capability of OSM to affect the browning process, micro-osmotic pumps constantly releasing OSM were implanted in the subcutaneous iWAT of mice and they were cold exposed to initiate the process of browning (24). OSM treatment



**Figure 4** Response of BAT to OSM delivered by osmotic micro-pump to IWAT. **(A)** BAT hematoxylin-eosin staining from C57/B6 mice receiving OSM or PBS for 1 week by osmotic delivery systems (micro-osmotic pumps) in IWAT at cold temperature. **(B)** *Pgc1α*, *Pparg*, *Fgf21*, and *Bmp8b* mRNA levels were increased in BAT from C57/B6 mice receiving OSM for 1 week by osmotic delivery systems (micro-osmotic pumps) in IWAT at cold temperature, while *Ucp1* mRNA levels were not changed. Relative mRNA levels were assessed in BAT from C57/B6 mice receiving OSM or PBS for 1 week by osmotic delivery systems (micro-osmotic pumps) in IWAT at cold temperature  $n = 8$  to measure *Ucp1*, *Pgc1α*, *Pparg*, *Fgf21*, *Tnf*, *Il-6*, and *Bmp8b*. All the mRNA data were normalized to 18S, and differences were determined via Student's *t*-test where a *P* value of  $<0.05$  was considered significant. \* $P < 0.05$ ; \*\*\* $P < 0.001$ . [Color figure can be viewed at [wileyonlinelibrary.com](http://wileyonlinelibrary.com)]

decreased the mRNA levels of *Thx1*, a specific gene related to the presence of beige fat (33). Moreover, analysis of subcutaneous WAT revealed fewer browning areas in the mice receiving OSM (71.5% of multilocular adipocytes in control group vs. 25.3% in mice receiving

OSM) and larger white adipocyte area, corroborating the hypothesis that increased OSM impairs the iWAT browning process, inhibits brown/beige adipogenesis, and appears to promote hypertrophy of adipocytes. The increased expression of glucose transporter *Glut4* in



**Figure 5** OSM significantly decreases brown preadipocyte differentiation and blunts the induction of BAT markers in mature adipocytes in the presence of NE. (A) OSM impaired brown adipogenesis. (B) OSM reduced mRNA levels of *Pgc1α* during the adipogenesis. (C) OSM reduced the expression of BAT molecular markers such as *Ucp1*, *Pgc1α*, and *Pparg* *in vitro*. Fully differentiated C57 brown adipocytes were treated with NE, OSM 1 nM, and both together (NE + OSM). The cells were harvested after 90 min, 6 h, and 24 h of OSM treatment. RNA was extracted and processed for *Ucp1*, *Pgc1α*, and *Pparg* mRNA measurement. Data were normalized to 18S, and differences with a *P* value of <0.05 were considered significant. \*Differences versus untreated control and #differences versus NE treatment. \**P* < 0.05; \*\**P* < 0.01; \*\*\**P* < 0.001. #*P* < 0.05; ##*P* < 0.01; ###*P* < 0.001. [Color figure can be viewed at [wileyonlinelibrary.com](http://wileyonlinelibrary.com)]

OSM-administered animals possibly reflects enhanced glucose uptake to sustain lipogenesis and lipid droplet enlargement in this condition. Activation of thermogenesis in BAT and brown/brite adipocytes present in WAT has been shown to contribute to the control of body weight and glucose homeostasis, owing to the high capacity of brown adipocytes to oxidize fatty acids and glucose (14,26). Therefore, it is conceivable that the excess OSM secreted by macrophages and T cells present in WAT and BAT could contribute to the development of obesity and insulin resistance by inhibiting brown adipocyte differentiation and thermogenic function.

In mice receiving OSM in iWAT, we found signs of BAT thermogenic activation, whereas iWAT showed impaired browning. The repression of iWAT browning is likely to be due to the direct effects of OSM whereas BAT activation may occur as a compensatory process, reactive to iWAT browning impairment. This scenario has been previously found in other animal models where inhibition of iWAT browning occurred (30). Conversely, a lack of BAT has been associated with the induction of browning in iWAT, also consistent with a compensatory mechanism to maintain energy expenditure homeostasis (34–36).

Cell-autonomous effects of OSM on brown adipocytes did not indicate any positive effects on thermogenic activation, but the opposite. When

brown preadipocytes were incubated with OSM, we observed a clear impairment in brown adipocyte differentiation as shown by decreased lipid accumulation and decreased expression of *Pparg* and *Pgc1α* expression. OSM treatment of fully differentiated brown adipocytes reduced the expression of the thermogenic genes *Ucp1* and *Pgc1α* and blunted their induction by NE, a thermogenic mediator. However, OSM was not able to decrease the glycerol levels in the media, indicating a lack of direct functional effect on lipolysis. These data demonstrate that OSM is able to act on brown adipocytes and is associated with reduction in BAT thermogenic activation and differentiation.

Overall, our results reveal a novel negative role for OSM on BAT activation and on the browning process of iWAT. Since OSM is elevated in obesity and T2DM in mice and humans (8), this cytokine may also mediate its effect by playing a role in the impairment of BAT abundance and the reduced browning capacity reported in people with obesity (37,38). Future studies are merited to determine whether inhibition of OSM is a suitable target for treatment of metabolic disorders. **○**

© 2016 The Obesity Society

## References

- Rose TM, Lagrou MJ, Fransson I, et al. The genes for oncostatin M (OSM) and leukemia inhibitory factor (LIF) are tightly linked on human chromosome 22. *Genomics* 1993;17:136–140.

- Kamiya A, Kinoshita T, Ito Y, et al. Fetal liver development requires a paracrine action of oncostatin M through the gp130 signal transducer. *EMBO J* 1999;18:2127-2136.
- Nakamura K, Nonaka H, Saito H, Tanaka M, Miyajima A. Hepatocyte proliferation and tissue remodeling is impaired after liver injury in oncostatin M receptor knockout mice. *Hepatology* 2004;39:635-644.
- Henkel J, Gärtner D, Dorn C, et al. Oncostatin M produced in Kupffer cells in response to PGE2: possible contributor to hepatic insulin resistance and steatosis. *Lab Invest* 2011;91:1107-1117.
- Wallace PM, MacMaster JF, Rosaleau KA, et al. Regulation of inflammatory responses by oncostatin M. *J Immunol* 1999;162:5547-5555.
- Kubin T, Pöling J, Kostin S, et al. Oncostatin M is a major mediator of cardiomyocyte dedifferentiation and remodeling. *Cell Stem Cell* 2011;9:420-432.
- Mosley B, De Imus C, Friend D, et al. Dual oncostatin M (OSM) receptors. Cloning and characterization of an alternative signaling subunit conferring OSM-specific receptor activation. *J Biol Chem* 1996;271:32635-32643.
- Sanchez-Infantes D, White UA, Elks CM, et al. Oncostatin m is produced in adipose tissue and is regulated in conditions of obesity and type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99:E217-E225.
- Park J, Morley TS, Kim M, Clegg DJ, Scherer PE. Obesity and cancer mechanisms underlying tumour progression and recurrence. *Nat Rev Endocrinol* 2014;10:455-465.
- Lapeire L, Hendrix A, Lambin K, et al. Cancer-associated adipose tissue promotes breast cancer progression by paracrine oncostatin M and Jak/STAT3 signaling. *Cancer Res* 2014;74:6806-6819.
- Richards CD. The enigmatic oncostatin m and roles in disease. *ISRN Inflamm* 2013; 512103.
- Wernstedt Asterholm I, Tao C, Morley TS, et al. Adipocyte inflammation is essential for healthy adipose tissue expansion and remodeling. *Cell Metab* 2014;20: 103-118.
- Apostolopoulos V, de Courten MP, Stojanovska L, Blatch GL, Tangalakis K, de Courten B. The complex immunological and inflammatory network of adipose tissue in obesity. *Mol Nutr Food Res* 2016;60:43-57.
- Villarroya J, Cerejillo R, Villarroya F. An endocrine role for brown adipose tissue? *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2013;305:E567-E572.
- Cypess AM, Lehman S, Williams G, et al. Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans. *N Engl J Med* 2009;360:1509-1517.
- Virtanen KA, Lidell ME, Orava J, et al. Functional brown adipose tissue in healthy adults. *N Engl J Med* 2009;360:1518-1525.
- Ishibashi J, Seale P. Medicine. Beige can be slimming. *Science* 2010;328:1113-1114.
- Nedergaard J, Cannon B. UCP1 mRNA does not produce heat. *Biochim Biophys Acta* 2013;1831:943-949.
- Giralt M, Villarroya F. White, brown, beige/brite: different adipose cells for different functions? 2013. *Endocrinology* 2013;154:2992-3000.
- Komori T, Tanaka M, Senba E, Miyajima A, Morikawa Y. Lack of oncostatin M receptor  $\beta$  leads to adipose tissue inflammation and insulin resistance by switching macrophage phenotype. *J Biol Chem* 2013;288:21861-21875.
- Komori T, Tanaka M, Senba E, Miyajima A, Morikawa Y. Deficiency of oncostatin M receptor  $\beta$  (OSMR $\beta$ ) exacerbates high-fat diet-induced obesity and related metabolic disorders in mice. *J Biol Chem* 2014;289:13821-13837.
- Komori T, Tanaka M, Furuta H, Akamizu T, Miyajima A, Morikawa Y. Oncostatin M is a potential agent for the treatment of obesity and related metabolic disorders: a study in mice. *Diabetologia* 2015;58:1868-1876.
- Elks CM, Stephens JM. Oncostatin m modulation of lipid storage. *Biology (Basel)* 2015; 13:151-160.
- Lim S, Honek J, Xue Y, et al. Cold-induced activation of brown adipose tissue and adipose angiogenesis in mice. *Nat Protoc* 2012;7:606-615.
- Whittle AJ, Carobbio S, Martins L, et al. BMP8B increases brown adipose tissue thermogenesis through both central and peripheral actions. *Cell* 2012;149:871-885.
- Nedergaard J, Cannon B. The browning of white adipose tissue: some burning issues. *Cell Metab* 2014;20:396-407.
- Nisoli E, Briscini L, Giordano A, et al. Tumor necrosis factor alpha mediates apoptosis of brown adipocytes and defective brown adipocyte function in obesity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:8033-8038.
- Goto T, Nakukool S, Yoshitake R, et al. Proinflammatory cytokine interleukin-1beta suppresses cold-induced thermogenesis in adipocytes. *Cytokine* 2016;77:107-114.
- Hondares E, Iglesias R, Giralt A, et al. Thermogenic activation induces FGF21 expression and release in brown adipose tissue. *J Biol Chem* 2015;286:12983-12990.
- Fisher FM, Kleiner S, Douris N, et al. FGF21 regulates PGC-1 $\alpha$  and browning of white adipose tissues in adaptive thermogenesis. *Genes Dev* 2012;26:271-281.
- Albiero M, Poncina N, Céciliot S, et al. Bone marrow macrophages contribute to diabetic stem cell mobilopathy by producing oncostatin M. *Diabetes* 2015;64:2957-2968.
- Cannon B, Nedergaard J. Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiol Rev* 2004;84:277-359.
- Wu J, Boström P, Sparks LM, et al. Beige adipocytes are a distinct type of thermogenic fat cell in mouse and human. *Cell* 2012;150:366-376.
- Kopecky J, Clarke G, Enerbäck S, Spiegelman B, Kozak LP. Expression of the mitochondrial uncoupling protein gene from the *ap2* gene promoter prevents genetic obesity. *J Clin Invest* 1995;96:2914-2923.
- Goldhof M, Xiao C, Chanturiya T, Jou W, Gavrilova O, Reitman ML. The chemical uncoupler 2,4-dinitrophenol (DNP) protects against diet-induced obesity and improves energy homeostasis in mice at thermoneutrality. *J Biol Chem* 2014; 289:19341-19350.
- Schulz TJ, Huang P, Huang TL, et al. Brown-fat paucity due to impaired BMP signalling induces compensatory browning of white fat. *Nature* 2013;495:379-383.
- Bartel A, Bruns OT, Reimer R, et al. Brown adipose tissue activity controls triglyceride clearance. *Nat Med* 2011;17:200-205.
- Cypess AM, Haft CR, Laughlin MR, Hu HH. Brown fat in humans: consensus points and experimental guidelines. *Cell Metab* 2014;20:408-415.





• **Oncostatin m impairs brown adipose tissue thermogenic function and the browning of subcutaneous white adipose tissue.**

---

*Sánchez-Infantes D, Cereijo R, Peyrou M, Piquer-Garcia I, Stephens JM, Villarroya F* Obesity (Silver Spring). 2017 Jan;25(1):85-93. doi: 10.1002/oby.21679. Epub 2016 Oct 5.

S'ha vist que l'OSM es troba elevada en el teixit adipós en condicions d'obesitat i DM2 tant en ratolins com en humans. L'objectiu d'estudi es determinar el possible efecte perjudicial d'aquesta citoquina en la capacitat d'activació del TAM i la capacitat d'embruniment que ja ha estat descrita en pacients amb obesitat.

Els experiments *in vivo*, es va induir obesitat en un grup de ratolins C57BL/6J a través d'una dieta alta en greix i un altre es va mantenir amb una dieta estàndard. En tots dos grups es varen implantar quirúrgicament unes mini bombes perfusores per tal d'administrar de manera localitzada OSM i en altres PBS. Respecte al experiment *in vitro*, els preadipòcits o els adipòcits completament diferenciats a marró varen ser tractats amb o sense OSM vehiculitzada amb o sense norepinefrina abans de portar a terme el cultiu dels mateixos.

• **Resultats:**

- Expressió gènica d'OSM i de l'OSMR en el TAM

- Després de 12 setmanes amb una dieta alta en greix es produïa un augment significatiu d'expressió gènica de la citoquina en el TAM, mentre que l'expressió del receptor únicament mostrava una tendència a incrementar-se.

- El principal marcador d'embruniment UCP-1, tendia a reduir-se en el TAM dels animals tractats amb OSM, així com *pgc1-α* i *pparg*.

- També es va observar un increment en els nivells d'expressió dels principals marcadors d'inflamació

ccl2 i tnf en el TAM traduint-se en una reducció de l'activitat termogènica del mateix.

- Implicació de l'OSM en l'estat inflamatori i l'homeòstasi de lípids

- La reducció de FGF-21 i Bmp8b en el TAM del grup alimentat amb dieta alta en greix i tractat amb OSM respecte al grup control.

- No es van observar canvis en l'expressió de UCP-1, pgc1- $\alpha$  i pparg en el TAM.

- Es va observar un increment en l'expressió gènica dels principals marcadors d'inflamació de tnf, ccl2 i IL-6.

- A nivell histològic el grup control mostrava una morfologia més multilocular que el grup tractat amb la citoquina.

- El grup en el qual es va administrar OSM en el TAM es va observar una reducció de l'expressió dels gens relacionats amb l'homeòstasi de lípids.

- Els ratolins tractats també varen presentar una reducció dels nivells de leptina circulants i un augment dels nivells de IL-6.

- Paper de l'OSM en el procés d'embruniment del TAB inguinal després de l'exposició al fred

- A nivell histològic el grup tractat amb OSM presentava un BAT inguinal amb menor morfologia multilocular que el grup tractat amb placebo tot i havent exposat els dos grups al fred.

- Alhora els adipòcits en el grup intervingut eren més grans i l'àrea ocupada per la morfologia unilocular també era superior al control.

- Els nivells d'expressió de UCP-1 tendien a ser inferiors en el grup amb OSM respecte del grup control. Resultats similars es varen obtenir per a pgc1- $\alpha$ .

- Els nivells d'inflamació varen ser similars tant el grup control com el grup tractat amb OSM.

- L'OSM redueix a nivell in vitro la diferenciació dels adipòcits marrons

- L'exposició dels preadipòcits a l'OSM redueix la quantitat d'adipòcits diferenciats.

- Conseqüentment els nivells d'expressió de pgc1- $\alpha$  van ser inferiors en el grup tractat amb la citoquina que en el grup control després de 10 dies de tractament.

- Els adipòcits marrons diferenciats tractats amb norepinefrina van augmentar el nivell d'expressió d'UCP-1 i pgc1- $\alpha$  mentre que la incubació conjunta amb OSM és van reduir els nivells i a més l'efecte de la norepinefrina es va observar reduït.

2

- *Opposite changes in meteorin-like and oncostatin m levels are associated with metabolic improvements after bariatric surgery*



## SHORT COMMUNICATION

# Opposite changes in meteorin-like and oncostatin m levels are associated with metabolic improvements after bariatric surgery

S Pellitero<sup>1,7</sup>, I Piquer-García<sup>1,7</sup>, G Ferrer-Curriu<sup>2,3,7</sup>, R Puig<sup>1</sup>, E Martínez<sup>1</sup>, P Moreno<sup>4</sup>, J Tarascó<sup>4</sup>, J Balibrea<sup>5</sup>, C Lerin<sup>6</sup>, M Puig-Domingo<sup>1</sup>, F Villarroya<sup>2,3</sup>, A Planavila<sup>2,3</sup> and D Sánchez-Infantes<sup>1</sup>

Bariatric surgery is currently the most effective therapy for type 2 diabetes. However, the mechanisms underlying its beneficial effects remain elusive. Here we studied the effects of bariatric surgery on circulating meteorin-like (Metnl) and oncostatin m (OSM) levels, two hormones intimately linked to energy homeostasis. Metnl and OSM levels were assessed at baseline, 6 and 12 months after laparoscopic sleeve gastrectomy (LSG) in 25 patients with obesity, as well as in 33 normal-weight controls. At baseline, patients with obesity showed lower Metnl and higher OSM levels compared to controls. LSG increased Metnl and decreased OSM levels, in correlation to improvements in glucose and lipid homeostasis. Our data indicate that LSG conversely modulated Metnl and OSM levels, and suggest that a dual approach modulating these two molecules might provide a novel strategy for obesity and type 2 diabetes treatment.

*International Journal of Obesity* (2018) 42, 919–922; doi:10.1038/ijo.2017.268

## INTRODUCTION

Bariatric surgery is currently the most effective therapy for type 2 diabetes.<sup>1–4</sup> A main benefit of bariatric surgery is activation of brown adipose tissue (BAT) and browning of white adipose tissue (WAT), leading to increased energy expenditure, weight loss and an overall improvement in systemic glucose and lipid metabolism.<sup>5,6</sup> However, the mechanisms contributing to these beneficial effects are poorly understood.

Meteorin-like (Metnl) and oncostatin m (OSM) are two hormones intimately linked to BAT activity and WAT browning.<sup>7,8</sup> Metnl, a protein secreted in response to exercise and cold exposure by skeletal muscle and WAT, promotes WAT browning, increasing energy expenditure and improving glucose tolerance.<sup>7</sup> OSM, a pro-inflammatory gp130 cytokine highly expressed in obesity and type 2 diabetes,<sup>9</sup> impairs BAT activity and lessens WAT browning.<sup>8</sup> Here we show that levels of these two molecules are conversely modulated in response to laparoscopic sleeve gastrectomy (LSG), resulting in a browning-prone environment that can potentially contribute to improved metabolic status.

## MATERIALS AND METHODS

### Study design

The primary end point was to study the modulation of Metnl and OSM in a retrospective cohort of patients with obesity before and after bariatric surgery. The Institutional Ethics Committee, in accordance with the Declaration of Helsinki, approved the study

(CP15/00106 and EO-12-048). All participants signed the written informed consent before collecting clinical data. Twenty-five patients with morbid obesity (8 male and 17 female) were selected to evaluate circulating levels of Metnl and OSM according to several criteria, including having serum samples at basal, 6 and 12 months post surgery and having been operated with the same type of bariatric surgery (LSG). Hormone levels were determined after a 12 h fast at baseline, and at 6 and 12 months after LSG. LSG removed more than 70% of patient's stomach volume by transecting along the greater curvature from 5 cm proximal to the pylorus up to the His' angle, using a 36 Fr bougie as a calibrator. The rest of the gastrointestinal tract was left intact, with nutrients following the normal route. All patients were clinically evaluated at all time points following the institutional protocol for bariatric surgery. Thirty-three normal-weight healthy subjects (28 male and 5 female) were included as controls. Demographic and clinical data, including age, history of diabetes, hypertension, chronic obstructive apnea and medication were prospectively recorded (Table 1).

### Measurements

Endocrine-metabolic parameters were analyzed at the Hospital's certified core laboratory. Metnl levels were measured with an enzyme-linked immunosorbent assay kit (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) that was previously used by other researchers,<sup>10</sup> and OSM levels with MILLIPLEX MAP Human Cardiovascular Disease Magnetic Bead Panel 1 (Luminex 200, Millipore Corporation, Burlington, MA, USA).

<sup>1</sup>Department of Endocrinology and Nutrition, Germans Trias i Pujol Research Institute, Barcelona, Spain and CIBER Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas (CIBERDEM), Spain; <sup>2</sup>Department of Biochemistry and Molecular Biomedicine, Institut de Biomedicina de la Universitat de Barcelona (IBUB), Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain; <sup>3</sup>CIBER Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CIBEROBN), Spain; <sup>4</sup>Department of Surgery, Germans Trias i Pujol Research Institute, Barcelona, Spain; <sup>5</sup>Metabolic and Bariatric Surgery Unit, EAC-BS Center of Excellence, Vall d'Hebron University Hospital, Barcelona, Spain and <sup>6</sup>Endocrinology Department, Institut de Recerca Sant Joan de Déu, Barcelona, Spain. Correspondence: Dr D Sánchez-Infantes, Department of Endocrinology and Nutrition, Germans Trias i Pujol Research Institute (IGTP), Carretera de Can Ruti, Camí de les Escoles s/n, Barcelona 08916, Spain or Dr A Planavila, Department of Biochemistry and Molecular Biomedicine, Institut de Biomedicina de la Universitat de Barcelona (IBUB), Universitat de Barcelona, Barcelona 08028, Spain

E-mail: dsanchez@igtp.cat or aplanavila@ub.edu

<sup>7</sup>These authors contributed equally to this work.

Received 20 July 2017; revised 27 September 2017; accepted 17 October 2017; accepted article preview online 30 October 2017; advance online publication, 5 December 2017

**Table 1.** Clinical and anthropometric parameters from 33 lean control subjects and 25 patients with obesity before and 6 and 12 months after laparoscopy sleeve gastrectomy

	Lean (n = 33)	Obese (n = 25) <sup>a</sup>		
		Basal	6 months	12 months
Age (years)	45 ± 9	49 ± 9		
BMI (kg m <sup>-2</sup> )	22.6 ± 2.7 <sup>b,c,d</sup>	42.3 ± 6.2 <sup>a</sup>	31.9 ± 1.1 <sup>b</sup>	30.6 ± 1.2 <sup>b</sup>
Glucose (mg dl <sup>-1</sup> )	87 ± 7 <sup>b</sup>	111 ± 28 <sup>a</sup>	90 ± 16 <sup>b</sup>	90 ± 14 <sup>b</sup>
Insulin (mIU l <sup>-1</sup> )	6.0 ± 3.8 <sup>b,c,d</sup>	27.9 ± 20.1 <sup>a</sup>	8.6 ± 4.8 <sup>b</sup>	7.3 ± 3.6 <sup>b</sup>
HbA1c (%)	5.25 ± 0.22 <sup>b,c</sup>	6.07 ± 0.76 <sup>a</sup>	5.54 ± 0.69 <sup>b</sup>	5.25 ± 0.28 <sup>c</sup>
HOMA-IR	1.31 ± 1.00 <sup>b,c</sup>	6.85 ± 4.65 <sup>a</sup>	2.01 ± 1.26 <sup>b</sup>	1.64 ± 0.81 <sup>b</sup>
TAG (mg dl <sup>-1</sup> )	69 ± 40 <sup>b,c</sup>	137 ± 68 <sup>a</sup>	97 ± 33 <sup>b</sup>	84 ± 37 <sup>b</sup>
Total Cho (mg dl <sup>-1</sup> )	191 ± 34	177 ± 38	184 ± 35	178 ± 46
HDL-Cho (mg dl <sup>-1</sup> )	69 ± 18 <sup>b,c</sup>	45 ± 11 <sup>a</sup>	51 ± 10 <sup>a,b</sup>	64 ± 18 <sup>b</sup>
LDL-Cho (mg dl <sup>-1</sup> )	116 ± 35	109 ± 35	114 ± 33	94 ± 28
TNF-α (Log pg ml <sup>-1</sup> )	—	1.49 ± 0.22 <sup>a</sup>	1.46 ± 0.16 <sup>a</sup>	1.40 ± 0.19 <sup>b</sup>
IL-6 (Log pg ml <sup>-1</sup> )	—	1.11 ± 0.48	1.23 ± 0.30	1.07 ± 0.44
CRP (Log mg l <sup>-1</sup> )	-0.48 ± 0.49 <sup>b,c,d</sup>	0.58 ± 0.74 <sup>a</sup>	0.23 ± 0.56 <sup>a</sup>	-0.23 ± 0.47 <sup>b</sup>

Abbreviations: BMI, body mass index; Cho, cholesterol; CRP, C-reactive protein; HbA1c, hemoglobin A1c; HDL, high-density lipoprotein; HOMA-IR, homeostatic model assessment-insulin resistance; IL-6, interleukin-6; LDL, low-density lipoprotein; TAG, triglycerides; TNF-α, tumor necrosis factor-alpha. Data are mean ± s.d. Two-tailed Student's t-test was applied to determine statistical significance between patients with obesity and lean group. <sup>a</sup>From 25 patients participating in this study, 14 presented type 2 diabetes, 14 presented hypertension and 10 presented chronic obstructive apnea. At 12 months, not a single patient received insulin, and only 2 received metformin. <sup>b</sup>Statistical differences between lean and obese group at basal. <sup>c</sup>Differences between lean and obese group at 6 months. <sup>d</sup>Differences between lean and obese group at 12 months. One-way analysis of variance with repeated measurements with Tukey's post hoc test was applied to analyze data from patients with obesity at basal, 6 and 12 months; different letters mean statistical significance between groups. *P* < 0.05 was considered significant for all analyses.

**Statistical analysis**

Unless otherwise stated, data are presented as mean ± s.d. Metrn and OSM data were log-transformed and multivariate linear regression analysis adjusting for age, sex, basal BMI and type 2 diabetes status implemented in R 3.3.2 (2016, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). Two-tailed Student's t-test was applied for group comparison of clinical variables. Where three or more groups were present, one-way analysis of variance (ANOVA) with repeated measurements and Tukey's post hoc test were used to determine statistical significance. *P* < 0.05 was considered significant for all analyses.

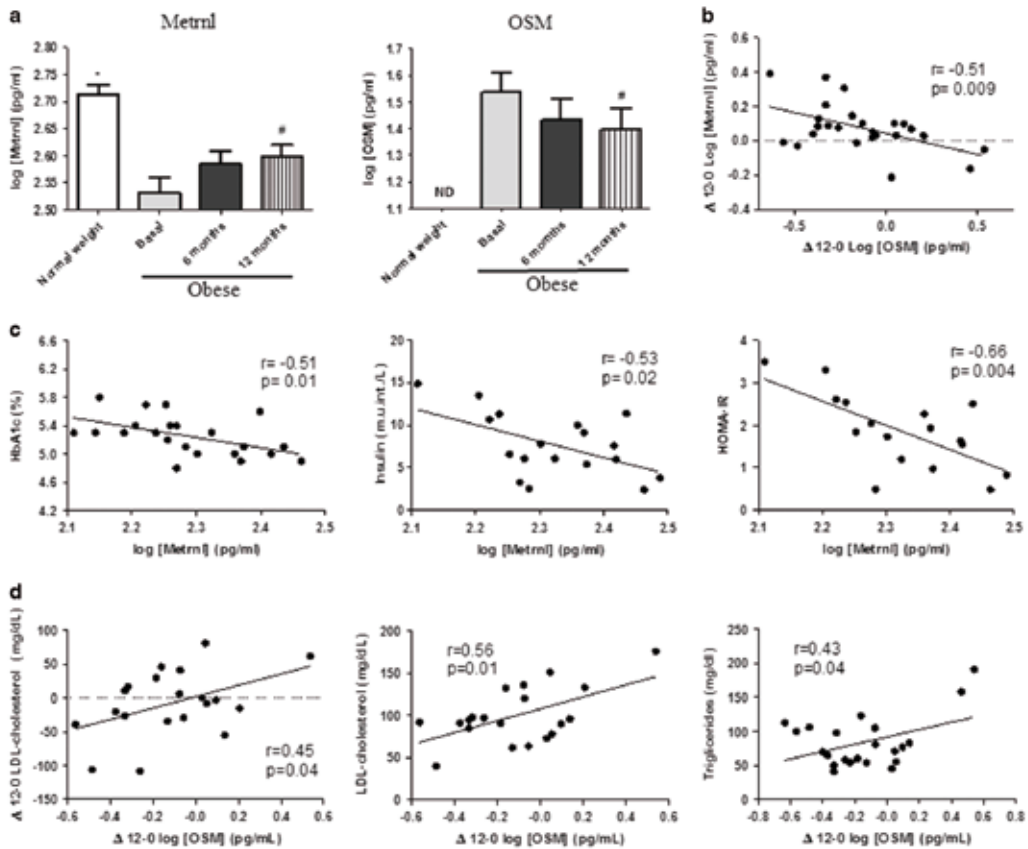
**RESULTS**

Clinical and anthropometric parameters of the 25 patients with obesity and 33 controls are shown in Table 1. Metrn levels were lower in patients with obesity compared to normal-weight subjects, and significantly increased 12 months after LSG (one-way ANOVA *P* < 0.012), although still below levels in normal-weight subjects (Figure 1a). Circulating OSM levels were decreased 12 months after surgery (one-way ANOVA *P* = 0.043; Figure 1a). Undetectable levels of this protein were found in normal-weight individuals. No gender dimorphism was observed in levels of these two molecules, and no differences were found between normoglycemic patients with obesity compared to those with type 2 diabetes (data not shown). Notably, surgery-induced changes in Metrn and OSM levels were inversely correlated to each other (*r* = -0.51, *P* = 0.009, Figure 1b). Adjustment for pre-surgery BMI, age, sex and type 2 diabetes status did not substantially modify the unadjusted estimates (β<sub>std</sub> = -0.53, *P* = 0.013, Supplementary Tables S1 and S2). At 12 months, Metrn levels were inversely correlated to glucose homeostasis variables, including HbA1c, insulin levels and homeostatic model assessment-insulin resistance (HOMA-IR; Figure 1c and Supplementary Table S1 for covariate adjusted estimates). The increase of Metrn was associated with lower HOMA-IR values evaluated at 12 months after LSG (Supplementary Table S1). Furthermore, the decrease in OSM was directly associated

with improvements in lipid metabolism, including changes in low-density lipoprotein (LDL)-cholesterol levels (Figure 1d; Supplementary Table S2). Finally, the decrease in OSM was also associated with lower LDL-cholesterol levels, triglycerides levels and insulin levels evaluated at 12 months after LSG (Figure 1d; Supplementary Table S2), although adjustment for pre-surgery BMI, age, sex and type 2 diabetes status slightly weakened some of the correlations. The decrease in other pro-inflammatory cytokines such as tumor necrosis factor (TNF) alpha, interleukin-6 or C-reactive protein was not associated with improvements in lipid metabolism (Supplementary Figure S1).

**CONCLUSIONS**

Here we report for the first time that bariatric surgery modulates both Metrn and OSM levels in patients with obesity. Furthermore, we show that changes in levels of both molecules were inversely correlated to each other, strongly suggesting an orchestrated regulation of these two hormones after LSG. Notably, surgery-induced changes in Metrn and OSM were associated with improvements in glucose homeostasis. The increase in Metrn after LSG was directly correlated to increased insulin sensitivity (assessed by HOMA-IR), which is consistent with the study from Li et al.<sup>10</sup> reporting an insulin-sensitizing effect of Metrn in mice. Moreover, although surgery decreased levels of several inflammatory cytokines (TNF alpha, interleukin-6 and C-reactive protein), only OSM significantly correlated to ameliorated lipid metabolism. Specifically, the decrease in circulating OSM levels was associated with improvements in fasting insulin levels, as well as in LDL and triglyceride levels. These results support the notion that reduced OSM levels have beneficial effects on metabolism. Indeed, OSM antagonism has been proposed as a strategy to improve type 2 diabetes state, restoring bone marrow function.<sup>11</sup> Moreover, OSM blockade was also efficient in improving inflammation in a mouse model of inflammatory bowel disease.<sup>12</sup> Higher Metrn and lower OSM levels are strongly linked to improved BAT activity, WAT browning and increased energy expenditure.<sup>7,8</sup> Thus, we can



**Figure 1.** Circulating Metrn and OSM levels in patients with obesity are modulated after LSG. (a) Circulating levels of Metrn and OSM in normal-weight individuals ( $n=33$ , white bars) and in patients with obesity ( $n=25$ ) at baseline (gray bars) and 6 (black bars) and 12 months (striped bars) after LSG. Data represent mean  $\pm$  s.e.m. \*, Two-tailed Student's  $t$ -test  $P < 0.0001$  normal-weight subjects versus basal group. #, One-way ANOVA with repeated measurements and Tukey's post hoc test  $P < 0.05$  versus basal group. (b) Delta values of these molecules showed a strong inverse correlation ( $r = -0.51$ ;  $P = 0.009$ ). (c) Metrn levels at 12 months correlated inversely with HbA1C, insulin levels and HOMA-IR. (d) Surgery-induced changes in OSM levels correlated directly with changes in LDL-cholesterol, and with LDL-cholesterol levels and triglycerides levels evaluated at 12 months after LSG.

speculate that surgery-induced modulation of these two molecules might favor a browning-prone state in patients with obesity, potentially contributing to improvements in energy homeostasis and metabolic health.

Together, our data demonstrate an orchestrated modulation of Metrn and OSM after LSG, and suggest a potential mechanistic role for these two molecules in the beneficial effects of LSG. As this modulation was not correlated to BMI changes, and previous studies have reported that metabolic improvements after bariatric surgery are produced before a significant body weight reduction (reviewed in Cummings and Cohen<sup>6</sup>), other mechanisms besides conventional weight loss should be after these results. All patients in this study were subjected to LSG, a technique without a malabsorptive component. Determining whether modulation of Metrn and OSM also occur after other types of bariatric surgery will be subject of future studies. Further studies are warranted to determine whether a dual approach modulating Metrn and OSM might provide a novel therapeutic strategy for obesity and type 2 diabetes.

#### CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

Samples from patients included in this study were provided by the IGTP HUGTP Biobank integrated in the Spanish National Biobanks Network of Instituto de Salud Carlos III (PT13/0010/0009) and they were processed following standard operating procedures with the appropriate approval of the Ethical and Scientific Committees. DS-I is an Investigator of the Miguel Servet Fund from Carlos III National Institute of Health, Spain. AP is a Ramón y Cajal researcher. This study was supported by Instituto de Salud Carlos III, and by the Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER), Madrid, Spain (CP15/00106), and by SAF2014-55702-JIN from the Ministerio de Ciencia e Innovación, Spain, co-financed by the European Regional Development Fund (ERDF).

#### REFERENCES

- 1 Aron-Wisniewsky J, Tordjman J, Poitou C, Darakhshan F, Hugol D, Basdevant A et al. Human adipose tissue macrophages: m1 and m2 cell surface markers in subcutaneous and omental depots and after weight loss. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; **94**: 4619–4623.



- 2 Pontiroli AE, Morabito A. Long-term prevention of mortality in morbid obesity through bariatric surgery: a systematic review and meta-analysis of trials performed with gastric banding and gastric bypass. *Ann Surg* 2011; **253**: 484–487.
- 3 Poltou C, Perret C, Mathieu F, Truong V, Blum Y, Durand H et al. Bariatric surgery induces disruption in inflammatory signalling pathways mediated by immune cells in adipose tissue: a RNA-Seq study. *PLoS One* 2015; **10**: e0125718.
- 4 Cummings DE, Cohen RV. Bariatric/metabolic surgery to treat type 2 diabetes in patients with a BMI < 35 kg/m<sup>2</sup>. *Diabetes Care* 2016; **39**: 924–933.
- 5 Vijgen GH, Bouvy ND, Teule GJ, Brans B, Hoeks J, Schrauwen P et al. Increase in brown adipose tissue activity after weight loss in morbidly obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; **97**: E1229–E1233.
- 6 Rachid B, van de Sande-Lee S, Rodovalho S, Folli F, Beltrami GC, Morari J et al. Distinct regulation of hypothalamic and brown/beige adipose tissue activities in human obesity. *Int J Obes (Lond)* 2015; **39**: 1515–1522.
- 7 Rao RR, Long JZ, White JP, Svensson KJ, Lou J, Lokurkar I et al. Meteorin-like is a hormone that regulates immune-adipose interactions to increase beige fat thermogenesis. *Cell* 2014; **5**: 1279–1291.
- 8 Sánchez-Infantes D, Cereijo R, Peyrou M, Piquer-García I, Stephens JM, Villarroya F. Oncostatin m impairs brown adipose tissue thermogenic function and the browning of subcutaneous white adipose tissue. *Obesity (Silver Spring)* 2017; **25**: 85–93.
- 9 Sánchez-Infantes D, White UA, Elks CM, Morrison RF, Gimble JM, Considine RV et al. Oncostatin m is produced in adipose tissue and is regulated in conditions of obesity and type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2014; **99**: E217–E225.
- 10 Li ZY, Song J, Zheng SL, Fan MB, Guan YF, Qu Y et al. Adipocyte Metrn1 antagonizes insulin resistance through PPARγ signaling. *Diabetes* 2015; **64**: 4011–4022.
- 11 Albiero M, Poncina N, Ciciliot S, Cappellari R, Menegazzo L, Ferraro F et al. Bone marrow macrophages contribute to diabetic stem cell mobilopathy by producing oncostatin M. *Diabetes* 2015; **64**: 2957–2968.
- 12 West NR, Hegazy AN, Owens BM, Bullers SJ, Linggi B, Buonocore S et al. Oncostatin M drives intestinal inflammation and predicts response to tumor necrosis factor-neutralizing therapy in patients with inflammatory bowel disease. *Nat Med* 2017; **23**: 579–589.

Supplementary Information accompanies this paper on International Journal of Obesity website (<http://www.nature.com/ijo>)

• **Opposite changes in meteorin-like and oncostatin m levels are associated with metabolic improvements after bariatric surgery.**

---

*Pellitero S, Piquer-Garcia I, Ferrer-Curriu G, Puig R, Martínez E, Moreno P, Tarascó J, Balibrea J, Lerin C, Puig-Domingo M, Villarroya F, Planavila A, Sánchez-Infantes D* *Int J Obes (Lond)*. 2018 Apr;42(4):919-922. doi: 10.1038/ijo.2017.268. Epub 2017 Oct 30.

La cirurgia bariàtrica és actualment la teràpia més efectiva per a la remissió de la DM2 en l'obesitat. Malgrat això, els mecanismes a través dels quals es produeix són encara força desconeguts. En aquest estudi es va determinar i analitzar els efectes de la SG en els nivells circulants de l'OSM i la meteorin-like, totes dues molècules implicades en el metabolisme energètic.

• **Resultats:**

- Els nivells d'OSM es van reduir significativament en els pacients amb obesitat 12 mesos després de la cirurgia mentre que en el grup control no es van detectar nivells de la citoquina.
- Contràriament, els nivells de la meteorin-like detectats en pacients obesos a temps basal eren inferiors respecte al control però aquests augmentaven significativament 12 mesos després de la cirurgia tot i sent encara inferiors als del grup control.
- S'ha observat que totes dues molècules es troben inversament correlacionades.
- Els nivells de meteorin-like a 12 mesos correlacionen inversament amb els principals paràmetres d'homeòstasi de la glucosa. A més, l'increment de aquesta molècula a 12 mesos correlaciona amb nivells baixos de l'HOMA-IR a 12 mesos després de la SG.
- A més la reducció d'OSM va estar directament associada amb la millora del metabolisme lipídic 12 mesos després de la cirurgia.
- També es va observar una reducció d'altres paràmetres inflamatoris (TNF- $\alpha$ , Il-6 i PCR) però que no varen correlacionar amb la millora del perfil lipídic.

Els resultats indiquen que la SG modula els nivells de meteorina-like i d'OSM. Aquests resultats suggereixen una regulació inversa d'aquestes molècules que es podria presentar com una possible estratègia d'abordatge terapèutic de l'obesitat i la DM2.



3



• *A role for Oncostatin M in the development  
of insulin resistance in obesity*

---



• **A role for Oncostatin M in the development of insulin resistance in obesity**

---

*Irene Piquer-Garcia<sup>1\*</sup>, Laura Campderros<sup>2,3\*</sup>, Siri D. Taxerås<sup>1</sup>, Aleix Gavaldà-Navarro<sup>2,3</sup>, Rosario Pardo<sup>4</sup>, María Vila<sup>4</sup>, Silvia Pellitero<sup>1,5</sup>, Eva Martínez<sup>1</sup>, Jordi Tarascó<sup>6</sup>, Pau Moreno<sup>6</sup>, Joan Villarroya<sup>2,3</sup>, Rubén Cereijo<sup>2,3</sup>, Lorena González<sup>1</sup>, Marjorie Reyes<sup>1</sup>, Silvia Rodríguez-Fernández<sup>7</sup>, Marta Vives-Pi<sup>7,5</sup>, Carles Lerin<sup>8</sup>, Carrie M. Elks<sup>9</sup>, Jacqueline M. Stephens<sup>10</sup>, Manel Puig-Domingo<sup>1,5</sup>, Francesc Villarroya<sup>2,3</sup>, Josep A. Villena<sup>4,5,†</sup>, David Sánchez-Infantes<sup>1†</sup>*

<sup>1</sup> Department of Endocrinology and Nutrition, Germans Trias i Pujol Research Institute, Barcelona, Spain.

<sup>2</sup> Department of Biochemistry and Molecular Biomedicine, and Institute of Biomedicine, University of Barcelona, Barcelona, Spain.

<sup>3</sup> Biomedical Research Center (Red Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición) (CIBEROBN), ISCIII, Madrid, Spain.

<sup>4</sup> Laboratory of Metabolism and Obesity, Vall d'Hebron Institut de Recerca, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain.

<sup>5</sup> Biomedical Research Center (Red Fisiopatología de la Diabetes y enfermedades metabólicas) (CIBERDEM), ISCIII, Madrid, Spain.

<sup>6</sup> Department of Surgery, Germans Trias i Pujol Research Institute, Barcelona, Spain.

<sup>7</sup> Immunology Section, Germans Trias i Pujol Research Institute, Barcelona, Spain.

<sup>8</sup> Sant Joan de Déu Hospital, Barcelona, Spain.

<sup>9</sup> Matrix Biology Laboratory, Pennington Biomedical Research Center, Baton Rouge, Louisiana, USA.

<sup>10</sup> Adipocyte Biology Laboratory, Pennington Biomedical Research Center, Baton Rouge, Louisiana, USA.

\*These authors contributed equally to this work.

† Correspondence:

David Sánchez-Infantes, PhD dsanchez@igtp.cat or Josep A. Villena, PhD josep.villena@vhir.org

• **Funding agencies:**

DS-I is Investigator of the Miguel Servet Fund from Carlos III National Institute of Health, Spain.

This study was supported by grants CP15/00106 and FIS17/01455 from Instituto de Salud Carlos III and the Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) to D.S.I. and grants SAF2012-39484 and BFU2015-64462-R from the Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO/FEDER) to J.A.V.

• **Conflict of Interest**

The authors declared no conflict of interest.

**Abstract**

• **Background**

Oncostatin M (OSM) plays a key role in inflammation, but its regulation and function during obesity is not fully understood. We evaluated the levels of OSM in patients with obesity and altered glycemia. We also examined the effects of OSM on human adipocytes and assessed whether OSM immunoneutralization could revert metabolic impairments caused by a high-fat diet (HFD) in mice.

• **Methods**

28 patients with severe obesity were included and stratified into two groups: normoglycemics and hyperglycemics. White adipose tissue was obtained to examine OSM gene expression.

Human adipocytes were used to evaluate the effect of OSM in the inflammatory response, and HFD-fed C57BL/6J mice were injected with anti-OSM antibody to evaluate its effects.

• **Results**

OSM expression was elevated in subcutaneous and visceral fat from patients with obesity and hyperglycemia, and correlated with *Glut4* mRNA levels, insulin, HOMA-IR, and inflammatory markers. OSM inhibited adipogenesis and induced inflammation in human adipocytes. Finally, OSM receptor KO mice had increased *Glut4* mRNA levels in adipose tissue, and OSM immunoneutralization resulted in a reduction of glucose levels and *Ccl2* expression in adipose tissue from mice fed a HFD.

**• Conclusions**

OSM contributes to the inflammatory state during obesity and may be involved in the development of insulin resistance.

**• Introduction**

Obesity has reached epidemic proportions worldwide, and its prevalence has doubled in the last 30 years. In developed countries, the prevalence of obesity affects more than 25% of the population, whereas a remarkable 60% of the population is overweight (1). White adipose tissue (WAT) is a crucial regulator of energy balance and glucose homeostasis, owing to its function as a lipid-storing and endocrine organ. Obesity is characterized by chronic, low-grade adipose tissue inflammation accompanied by the increased presence of various pro-inflammatory immune cells, including macrophages (2). The first wave of macrophage accumulation in WAT during the early phase of obesity is essential for healthy expansion and remodeling of adipose tissue (3). However, chronic infiltration of adipose tissue by macrophages, their polarization from a M2 anti-inflammatory state to a M1 inflammatory state, and increased expression and secretion of pro-inflammatory cytokines have been shown to negatively impact systemic glucose homeostasis (4-7). Moreover, the inflammatory processes may affect the browning capacity of WAT and by this means may also contribute to obesity-associated metabolic disease. Indeed, it has been demonstrated that the immune cell infiltration of subcutaneous WAT creates a deleterious inflammatory microenvironment that impairs the capacity of precursor cells to differentiate into thermogenically active beige adipocytes (8). Understanding the cross talk between immune cells and adipocytes in the context of obesity is essential to define the pathological bases of metabolic diseases such as insulin resistance and type 2 diabetes.

In last decade, oncostatin M (OSM) has appeared as a relevant factor in the pathophysiology of obesity and other diseases (9). Indeed, it has been reported that OSM is an important target for breast cancer and inflammatory bowel disease (10; 11). In support of this notion, OSM immunoneutralization in animal models can improve these diseases. OSM is a gp130 cytokine with its own specific receptor, OSMR, that heterodimerizes with gp130 and mediates the majority of OSM actions (12). OSM shares substantial sequence identity with leukemia inhibitory factor (LIF) (13) and can modulate a variety



of biological processes, such as liver development and regeneration (14; 15), hepatic insulin resistance and steatosis (16), inflammation (17), and cardiomyocyte dedifferentiation and remodeling (18).

Previously, we demonstrated that OSM was overproduced in WAT under obese conditions in mice and humans (19). In addition, we observed that OSM treatment inhibited adipogenesis in brown adipose tissue (BAT) and browning of WAT *in vitro* and *in vivo* using murine models (20).

In this study, we report for the first time increased OSM expression in WAT from patients with obesity and pre-diabetes compared to normoglycemic patients with the same degree of obesity. Moreover, we demonstrate that OSM impairs human adipocyte differentiation and promotes an inflammatory state. Finally, we show that OSM immunoneutralization reduces blood glucose levels in obese mice in close association with a decrease in the expression of *Ccl2* in BAT/WAT.

## • Materials and Methods

### *Human subject characteristics*

28 patients with severe obesity (body mass index  $\geq$  40 kg/m<sup>2</sup> or  $\geq$  35 kg/m<sup>2</sup> and comorbidities including type 2 diabetes, hypertension or dyslipemia) were included in this study. Patients with obesity were stratified into two groups according to their fasting glycemia: normoglycemic patients (glucose  $\leq$  100 mg/dL) (n=16) and hyperglycemic patients (glucose  $\geq$  100mg/dL) (n=12). All patients were evaluated by the same endocrinology specialist (S.P) according to criteria for bariatric surgery formulated in Spanish Position Statement between Obesity, Endocrinology, Diabetes and Surgery Societies (21). Demographic and clinical data, including age, history of diabetes, and hypertension were recorded for all subjects.

### *Serum samples and tissues*

Serum samples from the study subjects were collected after a 12h fasting period. All samples were stored at -80°C in the Biobank of the Health Sciences Research Institute Germans Trias i Pujol Foundation.

Subcutaneous and visceral WAT (sWAT and vWAT, respectively) samples from the abdominal region were included in this study. WAT samples from patients with obesity were collected during

bariatric surgery. All samples were immediately frozen at  $-80^{\circ}\text{C}$ .

The Institutional Ethics Committee, in accordance with the Declaration of Helsinki, approved the study (PI16-025). All participants gave their written informed consent before collecting clinical data and samples.

### ***Human serological analysis***

Glucose and insulin levels, and lipid profiles (total cholesterol, HDL and LDL cholesterol, and triglycerides) were measured in the certified core clinical laboratory at the hospital. The Homeostatic model assessment-insulin resistance (HOMA-IR) was calculated with the following formula:

### ***Human SGBS cell differentiation and treatment with OSM***

Simpson Golabi Behmel Syndrome (**SGBS**) human preadipocytes (22) were differentiated to beige adipose cells as reported previously (23). Briefly, pre-adipocytes were maintained with DMEM/F12 supplemented with 10% heat inactivated FBS, 32  $\mu\text{M}$  biotin and 16  $\mu\text{M}$  pantothenic acid. To induce their differentiation, cells were incubated with DMEM/F12 supplemented with 32  $\mu\text{M}$  biotin, 16  $\mu\text{M}$  pantothenic acid, 25nM dexamethasone, 500  $\mu\text{M}$  IBMX, 2  $\mu\text{M}$  rosiglitazone, 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  transferrin, 20 mM insulin, 100 nM cortisol and 0.2 nM T3 for 7 days and incubated with DMEM/F12 supplemented with 32  $\mu\text{M}$  biotin, 16  $\mu\text{M}$  panthotenic acid, 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  transferrin, 20  $\mu\text{M}$  insulin, 100 nM cortisol and 0.2 nM T3 for 7 additional days or until they reached more than 90% of differentiation. Where indicated, cells were treated with 1 mM cAMP (Sigma-Aldrich) and 1nM OSM for 6 and 24h or with 1  $\mu\text{M}$  CL316.243 (Cayman Chemicals) for 24h for acute response. Cells were treated with 1nM OSM during all differentiation processes for chronic response studies.

### ***Gene expression analyses***

Total RNA was extracted from the whole tissue or cells using a column-affinity based methodology (NucleoSpin RNA II; Macherey-Nagel, Duren, Germany). 500 ng of total RNA were retrotranscribed into cDNA using random hexamer primers and Multiscribe reverse transcriptase (TaqMan reverse transcription reagents, Thermo Fisher Scientific), following the manufacturer's instructions. Platinum

Quantitative PCR SuperMix-UDG with ROX reagent (Thermo Fisher) was used as master mix reagent and expression levels of each gene of interest were assessed with the specific TaqMan probes (Thermo Fisher) (Table 2). Gene expression was calculated by ddCt method and expressed in arbitrary units.

### *Animal studies*

#### **• Immunoneutralization study**

Animals used in this study included male C57BL/6J mice fed a high-fat diet (HFD) 60% kcal from fat (Research Diets Inc; D12492). A group of male mice fed a low-fat diet (10% kcal from fat (Research Diet Inc; D12450B)) was used as a diet control. HFD feeding began at 8- weeks of age and extended for a 9-week period. After 7 weeks of HFD feeding, animals were randomized in two groups: a) mice receiving an intraperitoneal injection twice a week for a total dose of 250 µg anti-OSM antibody (PA547022; Thermo Fisher Scientific, United States) over 2 weeks; b) mice receiving an intraperitoneal injection twice a week for a total dose of 250 µg IgG non-specific antibody (PA547309; Thermo Fisher Scientific, United States) over 2 weeks. Antibody dosing was based on a previous study performed by Lapeire *et al* (10).

Tissues were collected for total RNA analysis. All experimental procedures were approved by the Institutional Animal Care and Use Committee of the University of Barcelona following the principles outlined in the Declaration of Helsinki for animal experimental investigation.

#### **• Glucose and insulin tolerance tests**

For glucose tolerance test (GTT), mice were first fasted for 12 h. Then, mice were injected intraperitoneally with glucose (2 g/Kg body weight) and blood glucose was measured at 0, 30, 60, 90 and 120 min. For insulin tolerance tests (ITT), mice were fasted for 5 h and then blood glucose was measured at 0, 30, 60, 90 and 120 min following an intraperitoneal injection of insulin (0.85 U/Kg of body weight). Glucose levels were measured in blood using an ELITE glucometer (Bayer, Spain).

#### **• Rodent serological analysis**

Blood was obtained by cardiac puncture and centrifuged at 2000 rpm for 10 minutes at 4 °C to obtain serum. Total cholesterol and triglyceride levels were quantified by using commercial kits based on the

Trinder method (FAR Diagnostics, Verona, Italy). Non-esterified fatty acids (NEFA) were measured in serum samples with the NEFA-C kit (Wako Chemicals, Neuss, Germany). Insulin levels were determined with an ultra-sensitive mouse insulin ELISA kit (Crystal Chem, Zaandam, The Netherlands).

• ***Osmr<sup>FKO</sup> mice***

Male adipocyte-specific *Osmr* knockout (*Osmr<sup>FKO</sup>*; n=6) and littermate floxed control (*Osmr<sup>ββ</sup>*; n=6) mice on a C57BL/6J background, generated as described previously (24; 25), were fed a HFD (45% calories from fat; Research Diets; D12451) for 20 weeks, beginning at 6 weeks of age. Body weights were obtained weekly. After 20 weeks of feeding, blood glucose levels were obtained after a 4-hour fast, mice euthanized, and inguinal white adipose tissue (iWAT) collected for gene expression analyses.

• ***Statistical analysis***

Data are presented as mean ± SD or SEM (humans and mice, respectively). Correlation analyses was implemented in SPSS Statistics, IBM. Statistical significance was determined using a two-tailed t-test, a Mann-Whitney U-test for non-parametric data, or a one-way ANOVA with Tukey's post-hoc test for more than two groups. P<0.05 was considered significant for all analyses.

***Results***

*OSM is elevated in sWAT and vWAT from hyperglycemic patients with obesity and correlates with Glut4, Ccl2, Nos2 and Pai1 mRNA levels.*

We have previously demonstrated that *OSM* expression is elevated in conditions of severe obesity (19). However, the relationship between adipose tissue *OSM* expression and glycemia in patients with obesity has not been explored. Here, in an independent cohort of patients with severe obesity (Table 1), we have analyzed whether *OSM* levels correlate with altered glucose homeostasis in obesity, by comparing WAT *OSM* expression levels in hyperglycemic and normoglycemic patients. We observed that the mRNA levels of *OSM* were increased in sWAT and vWAT from hyperglycemic patients when compared to *OSM* levels in normoglycemic patients (Figure 1A). We also found a decrease in *Glut4* mRNA levels in WAT from patients with hyperglycemia (Figure 1B), and an inverse correlation with *OSM* mRNA levels (Figure 1C). Moreover, *OSM*

expression correlated with other inflammatory molecules, such as *Ccl2*, *Tnf $\alpha$* , and *Col6* (a marker of fibrosis) (Figure 1D-F), but no correlation with *Nos2* and *Pai1* expression was observed (Figures 1G and 1H).

In addition, we found direct positive correlations between OSM expression and insulin levels or HO-MA-IR in sWAT (Figures 2A and B) but not in vWAT (Figures 2D and E), suggesting that OSM expression in sWAT is associated with reduced insulin sensitivity in obesity. Interestingly, no significant correlations were observed between OSM levels in sWAT or vWAT and body weight (Figures 2C and F).

### ***OSM inhibits differentiation and induces inflammatory markers in human adipocytes***

The effects of OSM on human adipogenesis have not been previously reported. Therefore, cells were treated with human recombinant OSM during differentiation (chronic exposure) or after cells were completely differentiated into mature adipocytes (acute exposure). As shown in Figure 3A, we observed a complete inhibition in adipogenesis with OSM treatment. OSMR $\beta$  was expressed in both pre and mature adipocytes, with higher levels in preadipocytes (Figure 3B). In addition, acute treatment of mature adipocytes with OSM produced significant increases in *Ccl2*, *Pai1* and *Il-6* expression, and a significant decrease in *Glut4* at 24 hours (Figure 3C). *Col6* and *Adipoq* gene expression levels were not significantly regulated by OSM treatment (Figure 3D).

### ***Osmr<sup>FKO</sup> mice exhibit enhanced sWAT Glut4 mRNA levels compared to Osmr<sup>f/f</sup> controls***

Since OSM was elevated in the sWAT of patients with obesity and insulin resistance, and since OSM treatment decreased *Glut4* gene expression and increased inflammatory gene expression in human adipocytes, we next sought to evaluate the *in vivo* effects of diminished adipocyte OSM signaling on these parameters. To accomplish this, we used HFD-fed *Osmr<sup>FKO</sup>* and *Osmr<sup>f/f</sup>* control mice. Importantly, body weights did not significantly differ between genotypes (Figure 4A). We did observe a significant increase in sWAT *Glut4* mRNA levels in *Osmr<sup>FKO</sup>* mice compared to floxed control mice (Figure 4B). Inflammatory markers *Ccl2*, *Nos2* and *Pai1* were not modulated (Figure 4C-E).

### ***OSM immunoneutralization reduces Ccl2 expression in white and brown adipose tissue and normalizes glucose levels in diet-induced obese mice***

We aimed to evaluate the effect of systemic OSM inhibition on WAT and glucose homeostasis. To achieve this goal, we administered an anti-OSM antibody for 2 weeks to mice that had been fed a HFD for 7 weeks. Lower levels of phospho p44/42 mitogen-activated protein kinases (MAPKs) (p-ERK1/2), a transcription factor activated by OSM, were observed in mice treated with anti-OSM (supplementary Figure S2). Mice treated with the anti-OSM antibody had lower glucose levels compared to anti-IgG control group, and these levels were similar to those mice fed a low-fat control diet (Figure 5A). Insulin levels showed a tendency to be higher in the anti-OSM antibody group compared to anti-IgG group and was different than low-fat control diet (Figure 5B).

Consistent with our *in vitro* data in human adipocytes, we observed that administration of an anti-OSM neutralizing antibody lowered Ccl2 gene expression in eWAT and BAT of HFD-fed mice when compared to HFD-fed mice given the anti-IgG control antibody (Figures 5D and E). There were no differences in Ccl2 expression in iWAT (Figure 5F). PAI1 expression increased in BAT with HFD and was normalized after OSM immunoneutralization (Figure 5G), and no changes were found in WAT (Figures 5 H and I).

Moreover, we did not observe changes in Glut4 mRNA levels in the 3 groups of study (Figure 5C). As expected, compared to mice fed a low-fat control diet, HFD-fed mice exhibited impaired glucose homeostasis (Supplementary Figure S2A) in close association with the development of obesity. Compared to treatment with anti-IgG antibody, treatment with anti-OSM antibody for two weeks did not induce any significant changes in glucose tolerance or insulin sensitivity (Supplementary Figure S2B). Similarly, no differences in body weight or food intake were observed between IgG or anti-OSM antibody-treated mice (Supplementary Figure S2C-D). WAT and BAT weights were similar in both groups of HFD-fed mice, independently of treatment (Supplementary Figures S3A-C). Moreover, no differences in *Ppar $\gamma$*  expression were observed in WAT and BAT from either group on HFD (Supplementary Figures S3D-F). Adipocyte size in WAT was not affected by the treatments (data not shown).

## Discussion

In this study, we report for the first time that OSM is differentially expressed in hyperglycemic patients

with obesity when compared to normoglycemic patients with a similar degree of obesity. In addition, we demonstrate that OSM inhibits human adipogenesis, reduces *Glut4* expression, and induces an inflammatory state in human adipocytes. Consistent with these observations, our data also demonstrate that *Osmr<sup>FKO</sup>* mice show higher levels of *Glut4* compared to floxed controls, and that OSM immunoneutralization reduces inflammatory markers and decreases basal glucose levels in obese mice.

In the last decade, the enigmatic concept of “healthy obesity” has emerged in the field of metabolism (26). Whether healthy obesity is only a transient state in the progression towards metabolic disease is controversial and still a subject of strong debate. But, it is clear that some patients maintain normal glucose homeostasis in presence of obesity (27). Metabolically healthy patients with obesity are characterized by the absence of metabolic complications such as dyslipidemia, insulin resistance, and unfavorable inflammatory profiles (28). Whereas dietary composition and physical activity are factors that have been related to metabolic health in patients with obesity, numerous studies have provided evidence that implicate chronic inflammation, particularly in adipose tissue, as a key factor in determining an unfavorable metabolic outcome in patients. Indeed, higher levels of pro-inflammatory cytokines, including C-reactive protein, Il-6, Pai1 or Tnfa have been reported in unhealthy obesity compared with healthy obesity (29; 30).

In this regard, OSM, a cytokine from the IL-6 family, has been described to be produced by adipose tissue and highly expressed in WAT of mouse models of diet-induced and genetic obesity, as well as in humans (19). Our data showing that increased expression of OSM in WAT correlates with markers of metabolic disease, including decreased *Glut4* expression, hyperglycemia, hypersulinemia, and increased HOMA-IR in patients with obesity, suggests that OSM is a marker of unhealthy obesity. The correlation of OSM levels in sWAT with glycemia in patients but not with body weight may seem somewhat paradoxical given the finding that OSM negatively acts on precursor cells to inhibit adipocyte differentiation *in vitro*. A regulatory role of OSM on adipose tissue mass is supported by studies in mice lacking whole body OSM receptor (OSMR $\beta$ ), which show increased fat mass (31; 32). However, in humans, the causal factors underlying the development of fat accretion in obesity are yet to be fully determined, and genetic or relative to life style (hypercaloric diets, sedentarism) may

override the protective effect of OSM. On the other hand, the lack of any effect on body weight and adipose tissue mass in mice treated with an anti-OSM neutralizing antibody could be simply due to the short period of treatment (only two weeks) or the dosage used. Either the dose or time might account for the inability of OSM immunoneutralization to induce any substantial changes in fat mass.

A major finding of our study is the observation of direct correlations between OSM and inflammatory markers such as *Ccl2* in WAT of patients. These results are in accordance with our previous data and with studies by other researchers that reported a pro-inflammatory role for OSM (10; 11; 19). Moreover, the effect of OSM in inducing these inflammatory genes in human adipocytes strongly suggests a potential role for OSM in adipose tissue inflammation.

Another major finding of our work is the elevation of sWAT *Glut4* expression in *Osmr<sup>FKO</sup>* mice compared to floxed controls. This data is supported by the decreased WAT *Glut4* expression in patients with obesity and hyperglycemia, the inverse correlation with OSM expression, and the response to direct OSM exposure in human adipocytes, suggesting a potential contribution of this cytokine to impaired insulin sensitivity. This elevation in *Glut4* is unique to sWAT; as no differences were previously observed in vWAT *Glut4* expression in *Osmr<sup>FKO</sup>* mice (24). This depot-specific expression pattern provides additional support for the possible protective role of sWAT, especially considering the increased vWAT inflammation observed in *Osmr<sup>FKO</sup>* mice on both HFD and chow diets (24; 25).

Work by Elks *et al* using C57BL/6J mice demonstrated that OSM is primarily expressed in adipose tissue immune cells, and that OSMR is also expressed in cellular components of the adipose tissue immune system (25). Interestingly, however, *Osmr* expression increases only in adipocytes with HFD feeding (25). Further work using the adipocyte-specific *Osmr<sup>FKO</sup>* mouse model showed significant increases in adipose tissue *Osm* expression in *Osmr<sup>FKO</sup>* mice compared to *Osmr<sup>fl/fl</sup>* controls, along with increased adipose tissue inflammation. These findings suggest that since OSM could not bind OSMR on adipocytes, it was instead acting on other cell types in adipose tissue to promote inflammation and insulin resistance (24; 25).



Taking into account studies indicating that adipocyte OSMR $\beta$  signaling is important for adipose tissue homeostasis (24; 25), we examined the effects of OSM immunoneutralization on metabolic parameters in diet-induced obese mice. Anti-OSM treatment reduced the HFD-induced induction of *Ccl2* in vWAT and BAT, and also decreased *Pai1* expression in BAT.

Moreover, glucose levels were normalized in HFD-fed mice after the OSM immunoneutralization, although treatment with the anti-OSM antibody did not significantly alter whole body glucose tolerance or insulin sensitivity. Since we did not observe changes in *Glut4* expression, the mechanisms by which OSM neutralization normalized glucose levels in HFD-induced obese mice are still unclear, but may involve a reduction in the local adipose tissue inflammatory state and a consequent improvement in adipocyte insulin sensitivity.

However, the contribution of other tissues in response to treatment with this antibody cannot be disregarded. For example, the observed increase in insulin levels in anti-OSM treated mice could suggest direct effects on pancreatic  $\beta$ -cells. Moreover, a decrease in hepatic gluconeogenesis is also compatible with our observations. OSM released by Kupffer cells in response to prostaglandin E2 has been shown to inhibit hepatic insulin signaling and to promote abnormal lipid accumulation (16).

In conclusion, *OSM* is elevated in adipose tissue from patients with obesity and impaired glucose metabolism and inversely correlates with *Glut4* expression in this tissue.

OSM promotes an inflammatory state during obesity, likely through the inhibition of adipogenesis and directly reduces the mRNA levels of *Glut4* and induces inflammatory markers in human adipocytes. Finally, *Osmr<sup>FKO</sup>* mice showed elevated levels of *Glut4*, and OSM immunoneutralization reduced adipose tissue *Ccl2* and *Pai1* expression in obese mice, and normalized glucose levels. Further studies will be necessary to decipher whether OSM can be a therapeutic target in preventing the development of T2D.

### Acknowledgement

Samples from patients included in this study were provided by the IGTP HUGTP Biobank integra-

ted in the Spanish National Biobanks Network of Instituto de Salud Carlos III (PT13/0010/0009) and they were processed following standard operating procedures with the appropriate approval of the Ethical and Scientific Committees.

### Funding agencies

DS-I is Investigator of the Miguel Servet Fund from Carlos III National Institute of Health, Spain. This study was supported by grants CP15/00106 from Instituto de Salud Carlos III and the Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) and by K-sted 651010-Project number 70084900-analyse number M50676 from Norwegian University of Science and Technology (NTNU) to D.S.I. and grants SAF2012-39484 and BFU2015-64462-R from the Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO/FEDER) to J.A.V. CME is supported by grant number K01 DK106307 from the National Institutes of Health.

### References

1. WHO: *Global Strategy on Diet, Physical Activity and Health: Overweight and obesity*. World Health Organization, 2004
2. Apostolopoulos V, de Courten MP, Stojanovska L, Blatch GL, Tangalakis K, de Courten B: The complex immunological and inflammatory network of adipose tissue in obesity. *Molecular nutrition & food research* 2016;60:43-57
3. Pellegrinelli V, Carobbio S, Vidal-Puig A: Adipose tissue plasticity: how fat depots respond differently to pathophysiological cues. *Diabetologia* 2016;59:1075-1088
4. Weisberg S, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel R, Ferrante AJ: Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003;112:1796-1808
5. Patsouris D, Li PP, Thapar D, Chapman J, Olefsky JM, Neels JG: Ablation of CD11c-positive cells normalizes insulin sensitivity in obese insulin resistant animals. *Cell metabolism* 2008;8:301-309
6. Masoodi M, Kuda O, Rossmeisl M, Flachs P, Kopecky J: Lipid signaling in adipose tissue: Connecting inflammation & metabolism. *Biochimica et biophysica acta* 2015;1851:503-518
7. Virtue S, Vidal-Puig A: Adipose tissue expandability, lipotoxicity and the Metabolic Syndrome--an allostatic perspective. *Biochimica et biophysica acta* 2010;1801:338-349

8. Villarroya F, Cereijo R, Gavaldà-Navarro A, Villarroya J, Giralt M: Inflammation of brown/beige adipose tissues in obesity and metabolic disease. *J Intern Med* 2018;284:492-504
9. Stephens JM, Elks CM: Oncostatin M: Potential Implications for Malignancy and Metabolism. *Current pharmaceutical design* 2017;23:3645-3657
10. Lapeire L, Hendrix A, Lambein K, Van Bockstal M, Braems G, Van Den Broecke R, Limame R, Mestdagh P, Vandesompele J, Vanhove C, Maynard D, Lehuede C, Muller C, Valet P, Gespach CP, Bracke M, Cocquyt V, Denys H, De Wever O: Cancer-associated adipose tissue promotes breast cancer progression by paracrine oncostatin M and Jak/STAT3 signaling. *Cancer Res* 2014;74:6806-6819
11. West NR, Hegazy AN, Owens BMJ, Bullers SJ, Linggi B, Buonocore S, Coccia M, Gortz D, This S, Stockenhuber K, Pott J, Friedrich M, Ryzhakov G, Baribaud F, Brodmerkel C, Cieluch C, Rahman N, Muller-Newen G, Owens RJ, Kuhl AA, Maloy KJ, Plevy SE, Oxford IBDCI, Keshav S, Travis SPL, Powrie F: Oncostatin M drives intestinal inflammation and predicts response to tumor necrosis factor-neutralizing therapy in patients with inflammatory bowel disease. *Nature medicine* 2017;23:579-589
12. Mosley B, De Imus C, Friend D, Boiani N, Thoma B, Park LS, Cosman D: Dual oncostatin M (OSM) receptors. Cloning and characterization of an alternative signaling subunit conferring OSM-specific receptor activation. *The Journal of biological chemistry* 1996;271:32635-32643
13. Rose TM, Lagrou MJ, Fransson I, Werelius B, Delattre O, Thomas G, de Jong PJ, Todaro GJ, Dumanski JP: The genes for oncostatin M (OSM) and leukemia inhibitory factor (LIF) are tightly linked on human chromosome 22. *Genomics* 1993;17:136-140
14. Kamiya A, Kinoshita T, Ito Y, Matsui T, Morikawa Y, Senba E, Nakashima K, Taga T, Yoshida K, Kishimoto T, Miyajima A: Fetal liver development requires a paracrine action of oncostatin M through the gp130 signal transducer. *The EMBO journal* 1999;18:2127-2136
15. Nakamura K, Nonaka H, Saito H, Tanaka M, Miyajima A: Hepatocyte proliferation and tissue remodeling is impaired after liver injury in oncostatin M receptor knockout mice. *Hepatology* 2004;39:635-644
16. Henkel J, Gartner D, Dorn C, Hellerbrand C, Schanze N, Elz SR, Puschel GP: Oncostatin M produced in Kupffer cells in response to PGE2: possible contributor to hepatic insulin resistance and steatosis. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology* 2011;91:1107-1117

17. Wallace PM, MacMaster JF, Rouleau KA, Brown TJ, Loy JK, Donaldson KL, Wahl AF: Regulation of inflammatory responses by oncostatin M. *Journal of immunology* 1999;162:5547-5555
18. Kubin T, Poling J, Kostin S, Gajawada P, Hein S, Rees W, Wietelmann A, Tanaka M, Lorchner H, Schimanski S, Szibor M, Warnecke H, Braun T: Oncostatin M is a major mediator of cardiomyocyte dedifferentiation and remodeling. *Cell stem cell* 2011;9:420-432
19. Sanchez-Infantes D, White UA, Elks CM, Morrison RF, Gimble JM, Considine RV, Ferrante AW, Ravussin E, Stephens JM: Oncostatin m is produced in adipose tissue and is regulated in conditions of obesity and type 2 diabetes. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2014;99:E217-225
20. Sanchez-Infantes D, Cereiño R, Peyrou M, Piquer-García I, Stephens JM, Villarroya F: Oncostatin m impairs brown adipose tissue thermogenic function and the browning of subcutaneous white adipose tissue. *Obesity* 2017;25:85-93
21. Sabench Pereferer F, Dominguez-Adame Lanuza E, Ibarzabal A, Socas Macias M, Valenti Azcarate V, Garcia Ruiz de Gordejuela A, Garcia-Moreno Nisa F, Gonzalez Fernandez J, Vilallonga Puy R, Vilarrasa Garcia N, Sanchez Santos R, Sociedad Espanola de Cirugia de la O: Quality criteria in bariatric surgery: Consensus review and recommendations of the Spanish Association of Surgeons and the Spanish Society of Bariatric Surgery. *Cirugia espanola* 2017;95:4-16
22. Wabitsch M, Brenner RE, Melzner I, Braun M, Moller P, Heinze E, Debatin KM, Hauner H: Characterization of a human preadipocyte cell strain with high capacity for adipose differentiation. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001;25:8-15
23. Yeo CR, Agrawal M, Hoon S, Shabbir A, Shrivastava MK, Huang S, Khoo CM, Chhay V, Yassin MS, Tai ES, Vidal-Puig A, Toh SA: SGBS cells as a model of human adipocyte browning: A comprehensive comparative study with primary human white subcutaneous adipocytes. *Scientific reports* 2017;7:4031
24. Stephens JM, Bailey JL, Hang H, Rittell V, Dietrich MA, Mynatt RL, Elks CM: Adipose Tissue Dysfunction Occurs Independently of Obesity in Adipocyte-Specific Oncostatin Receptor Knockout Mice. *Obesity* 2018;26:1439-1447
25. Elks CM, Zhao P, Grant RW, Hang H, Bailey JL, Burk DH, McNulty MA, Mynatt RL, Stephens JM: Loss of Oncostatin M Signaling in Adipocytes Induces Insulin Resistance and Adipose Tissue

Inflammation in Vivo. The Journal of biological chemistry 2016;291:17066-17076

26. Eckel N, Li Y, Kuxhaus O, Stefan N, Hu FB, Schulze MB: Transition from metabolic healthy to unhealthy phenotypes and association with cardiovascular disease risk across BMI categories in 90 257 women (the Nurses&#39; Health Study): 30 year follow-up from a prospective cohort study. The Lancet Diabetes & Endocrinology 2018;6:714-724

27. Eckel N, Meidtnr K, Kalle-Uhlmann T, Stefan N, Schulze MB: Metabolically healthy obesity and cardiovascular events: A systematic review and meta-analysis. European journal of preventive cardiology 2016;23:956-966

28. Phillips CM: Metabolically healthy obesity: definitions, determinants and clinical implications. Reviews in endocrine & metabolic disorders 2013;14:219-227

29. Karelis AD, Faraj M, Bastard JP, St-Pierre DH, Brochu M, Prud&#39;homme D, Rabasa-Lho-ret R: The metabolically healthy but obese individual presents a favorable inflammation profile. The Journal of clinical endocrinology and metabolism 2005;90:4145-4150

30. Koster A, Stenholm S, Alley DE, Kim LJ, Simonsick EM, Kanaya AM, Visser M, Houston DK, Nicklas BJ, Tylavsky FA, Satterfield S, Goodpaster BH, Ferrucci L, Harris TB, Health ABCS: Body fat distribution and inflammation among obese older adults with and without metabolic syndrome. Obesity 2010;18:2354-2361

31. Komori T, Tanaka M, Senba E, Miyajima A, Morikawa Y: Lack of oncostatin M receptor beta leads to adipose tissue inflammation and insulin resistance by switching macrophage phenotype. The Journal of biological chemistry 2013;288:21861-21875

32. Komori T, Tanaka M, Senba E, Miyajima A, Morikawa Y: Deficiency of oncostatin M receptor beta (OSMRbeta) exacerbates high-fat diet-induced obesity and related metabolic disorders in mice. The Journal of biological chemistry 2014;289:13821-13837

• **Figure legends**

**Figure 1: OSM expression is significantly elevated in sWAT and vWAT from hyperglycemic patients and correlates with *Glut4*, *Ccl2*, *Tnfa* and *Col6* gene expression.**

A-B) Gene expression analysis of OSM and Glut4 in sWAT and vWAT from normoglycemic patients with obesity and hyperglycemic patients with obesity. C-H) Correlations between *OSM*

expression and *Glut4*, *Ccl2*, *Tnfa*, *Col6*, *Nos2* and *Pai1* gene expression. Expression levels are normalized to the reference gene *Ppia*. Data are presented in arbitrary units as means  $\pm$  s.e.m.

\*  $p < 0.05$  vs. normoglycemic obesity group.

**Figure 2: OSM gene expression correlates with insulin and HOMA-IR in sWAT but not in vWAT.**

Correlations between OSM expression in sWAT (A-C) and vWAT (D-F) and insulin levels, HOMA-IR and body weight. Expression levels are normalized to the reference gene *Ppia*. Data are presented in arbitrary units as means  $\pm$  s.e.m.

**Figure 3: OSM inhibits human adipogenesis and induces pro-inflammatory gene expression in mature human adipocytes.**

A) Representative optical microscopy images from beige adipocytes treated with 1 nM OSM since day 1 of differentiation. \*  $p < 0.05$  relative to control. B) Relative mRNA levels of OSMR $\beta$  in preadipocytes and mature adipocytes. C) Relative mRNA levels of *Ccl2*, *Pai1*, *Il-6* and *Glut4* in human cells treated with 1nM OSM for 6 or 24 h. D) Relative mRNA levels of *Col6* and *Adipoq*. Expression levels are normalized to the reference gene *Ppia*. The bars represent means  $\pm$  s.e.m.

**Figure 4: *Osmr*<sup>FKO</sup> mice exhibit elevated *Glut4* mRNA levels, but no changes in inflammatory markers, compared to floxed controls**

A-D) Relative mRNA levels of *Glut4*, *Nos2*, *Ccl2* and *Pai1* in iWAT from HFD-fed *Osmr*<sup>FKO</sup> mice and *Osmr*<sup>fl/fl</sup> controls. Data are presented in arbitrary units as means  $\pm$  s.e.m. Expression levels are normalized to the reference gene *Ppia*. \*  $p < 0.05$  vs. *Osmr*<sup>fl/fl</sup> control mice.

**Figure 5: OSM immunoneutralization decreased *Ccl2* expression in WAT and BAT and normalized glucose levels.**

A and B) Glucose and insulin levels in feeding conditions. C-F) Relative mRNA levels of *Ccl2* and *Pai1* in WAT and BAT. The 3 groups correspond to: mice fed low fat control diet (control diet), mice fed a HFD and treated with unspecific IgG (HFD control), and mice fed a HFD and treated with anti-OSM Ab (HFD Ab). Data are presented in arbitrary units as means  $\pm$  s.e.m. \*  $p < 0.05$  vs control diet.

• *Table 1: Anthropometric and metabolic parameters of human subjects.*

	<b>Normo (n=26)</b>	<b>Hyper (n=19)</b>
	Mean ± SD	Mean ± SD
Age (years)	48±11	52±10
Sex (Female/Male)	20/6	14/5
History of T2D	no	7 T2D/12 pre-T2D
History of Hypertension (yes/not)	9/17	7/12
Weight (Kg)	108±19	117±39
Height (cm)	163±0.1	161±0.3
Waist circumference (cm)	131±11.2	146±37.3*
Body mass index (Kg/m <sup>2</sup> )	41±8.8	43±10.8
Glucose (mg/dL)	91±5	152±46*
Insulin (m.u.int/L)	6.3±3.4	7.7±4.0
HbA1c (%)	5.3±0.4	5.8±0.2*
HOMA-IR (%)	1.4±0.8	2.5±1.3*
Triglyceride (mg/dL)	135±41	161±77
LDL-cholesterol (mg/dL)	95 ±27	119±23*
HDL-cholesterol (mg/dL)	41±11	42±10
Total cholesterol (mg/dL)	163±34	191±30*
HMW-adiponectin (ng/mL)	3016±1849	2884±1835
Leptin (ng/mL)	54.9±25.1	42.8±13.5

*Data are shown as mean ± (SD). T2D, type 2 diabetes. HbA1c, glycated hemoglobin; HOMA-IR, Homeostatic model Assessment-insulin resistance; Low-density lipoprotein; HDL-Cho, High-density lipoprotein; HMW-adiponectin, high molecular weight adiponectin.\*p value< 0.05*

*Insulin (n= 20 normo and 10 hyper); HbA1c (n= 22 normo and 20 hyper); HOMA-IR (n= 20 normo and 10 hyper); Triglyceride (n= 25 normo and 11 hyper); LDL-cholesterol (n= 24 normo and 12 hyper); HDL-cholesterol (n= 24 normo and 12 hyper); Total cholesterol (n= 25 normo and 12 hyper); HMW-adiponectin (n= 13 normo and 8 hyper); Leptin (n= 13 normo and 8 hyper).*

• *Supplementary Table S2. Correlations between OSM mRNA levels and clinical variables.*

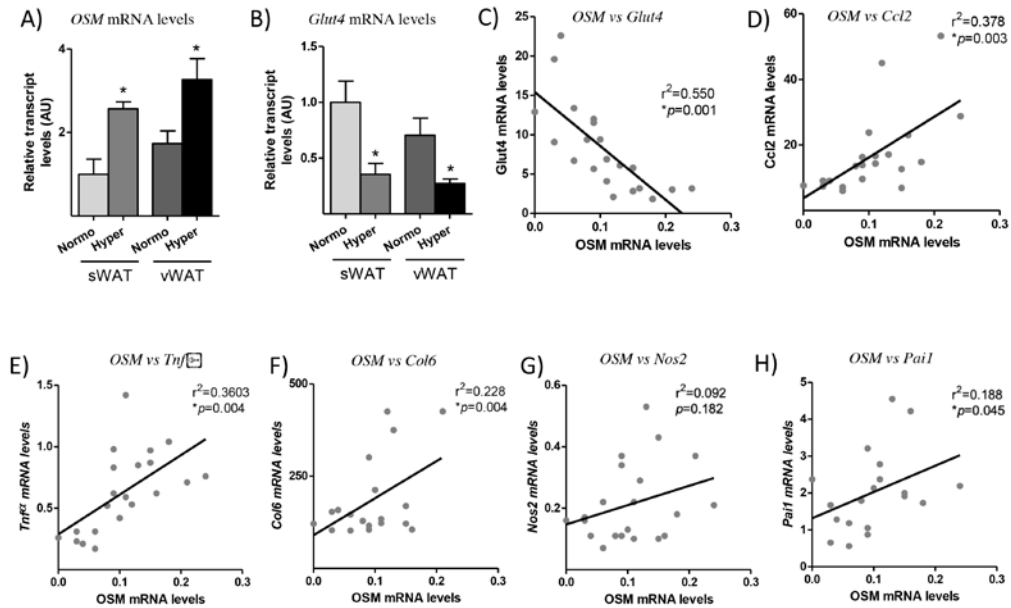
sWAT	Adjusted*	
Variables	<i>r</i>	<i>p val</i>
Body mass index	0.73	0.09
Body weight	<b>0.87</b>	<b>0.02</b>
Insulin	0.31	0.54
HbA1c	0.76	0.08
Glucose	0.42	0.40
HOMA-IR	0.51	0.29
Triglycerides	-0.01	0.98
Total cholesterol	-0.05	0.92
HDL-cholesterol	-0.20	0.70
LDL-cholesterol	-0.09	0.85
vWAT	Adjusted*	
Variables	<i>r</i>	<i>p val</i>
Body mass index	<b>0.65</b>	<b>0.02</b>
Body weight	<b>0.66</b>	<b>0.02</b>
Insulin	0.01	0.97
HbA1c	0.49	0.11
Glucose	-0.05	0.86
HOMA-IR	0.20	0.54
Triglycerides	-0.12	0.71
Total cholesterol	0.17	0.61
HDL-cholesterol	-0.18	0.59
LDL-cholesterol	0.25	0.45

*Multivariate linear regression was used to assess potential associations between OSM mRNA levels and physiologic variables. Bold font indicates  $p < 0.05$ . Hb1Ac; Glycated hemoglobin (%). HOMA-IR; Homeostatic model assessment.*

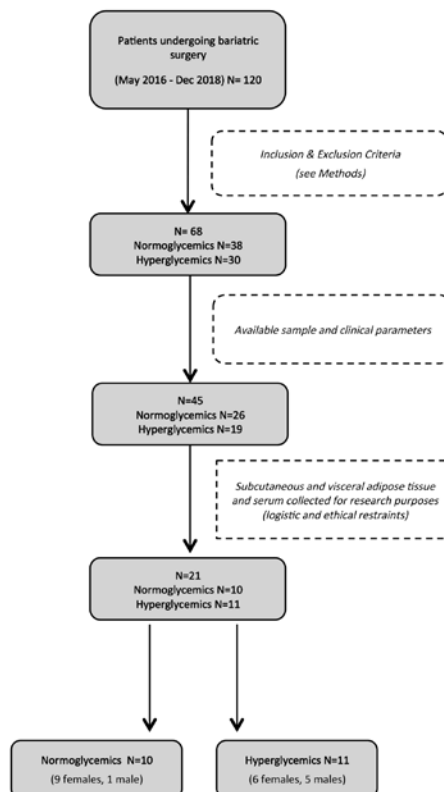
*\*Model adjusted for age and sex.*



• *Figure 1:*



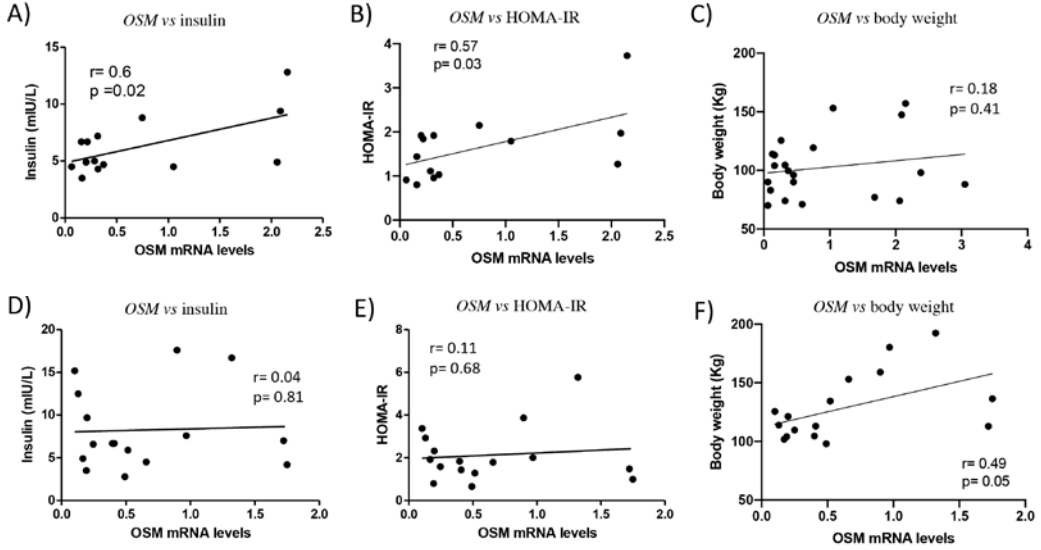
• *Supplementary Figure 1:*



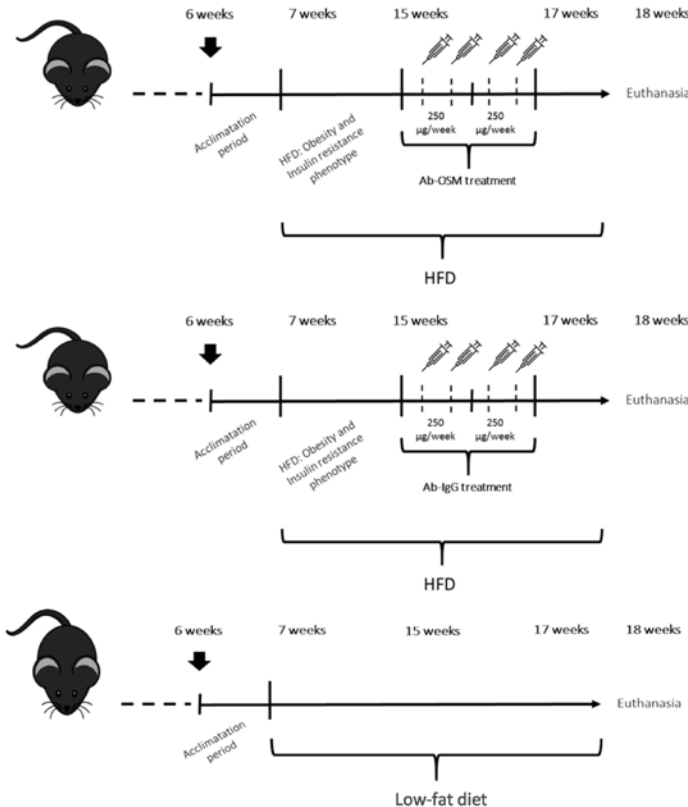
• *Supplementary Figure S1:*

*Flow chart for the recruitment of the study groups.*

• **Figure 2: SWAT**



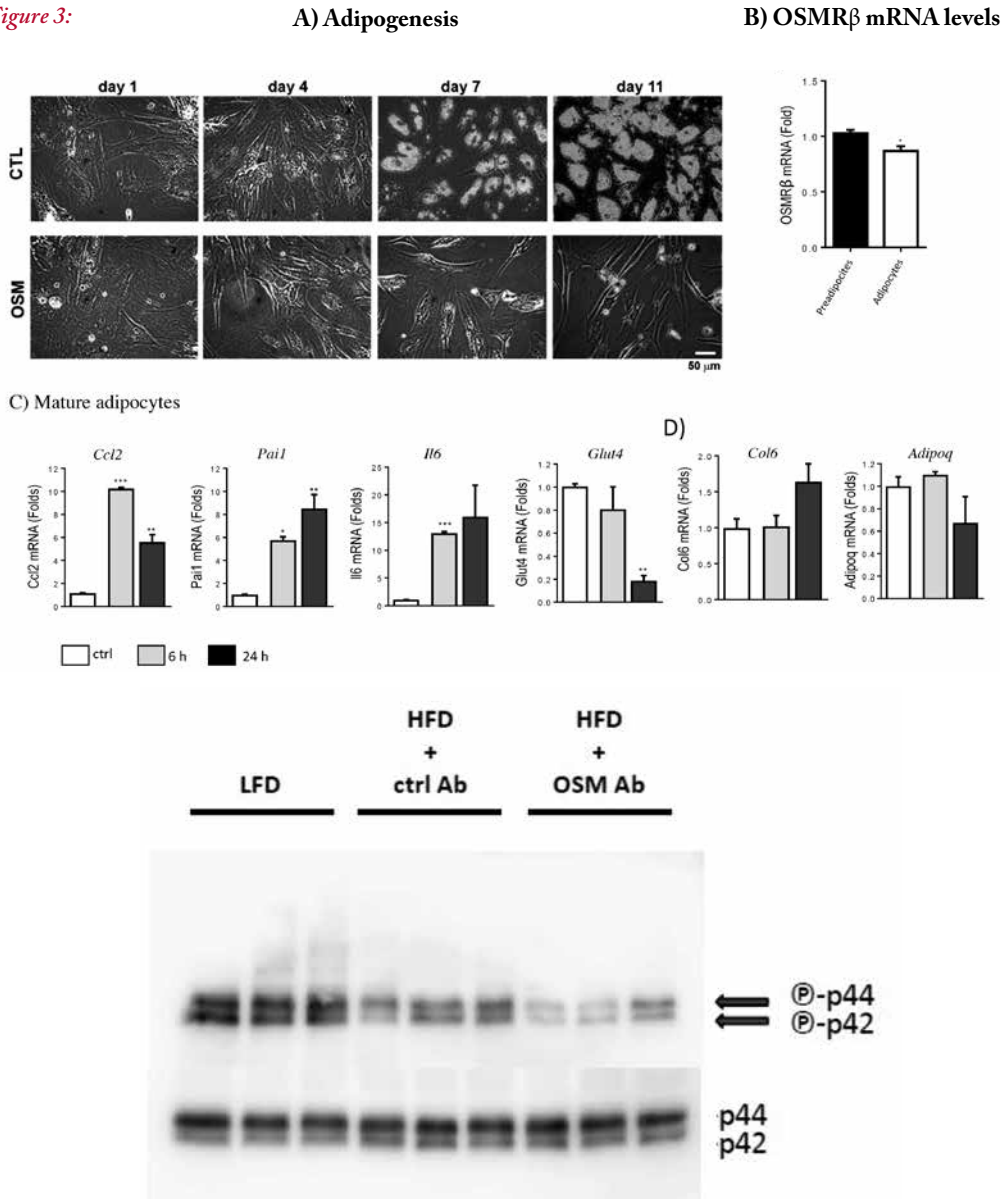
• **Supplementary Figure 2:**



• **Supplementary Figure S2: Experimental design for OSM immunoneutralization.**

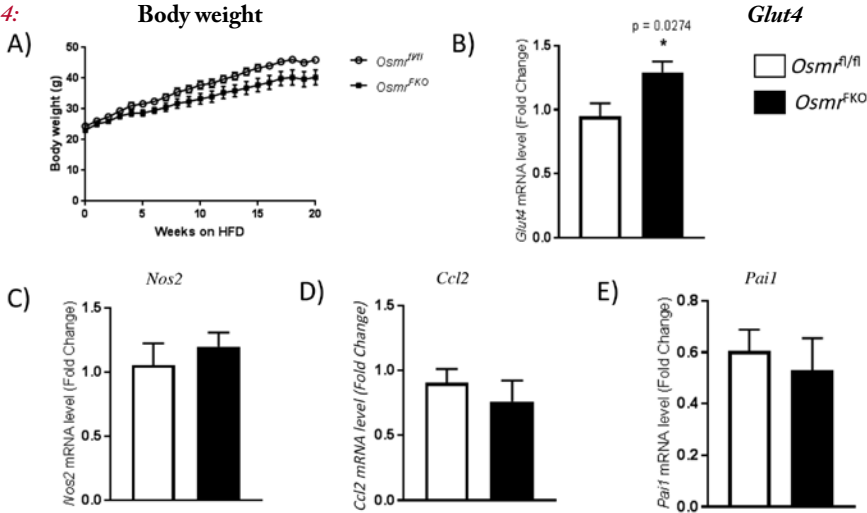
Animals used in this study included C57BL/6J mice fed a high fat diet (HFD; 60% kcal from fat; Research Diets Inc; D12492). A group of mice fed a low-fat control diet (10% kcal from fat; Research Diets Inc; D12450B) were used as a diet control. HFD feeding began at 8-weeks of age and extended for a 9-week period. After 7 weeks of initiating the HFD feeding, animals fed a HFD were randomized in two groups: a) mice receiving an intraperitoneal injection twice a week for a total dose of 250 µg anti-OSM antibody during 2 weeks; b) mice receiving an intraperitoneal injection twice a week for a total dose of 250 µg IgG non-specific antibody during 2 weeks.

• *Figure 3:*

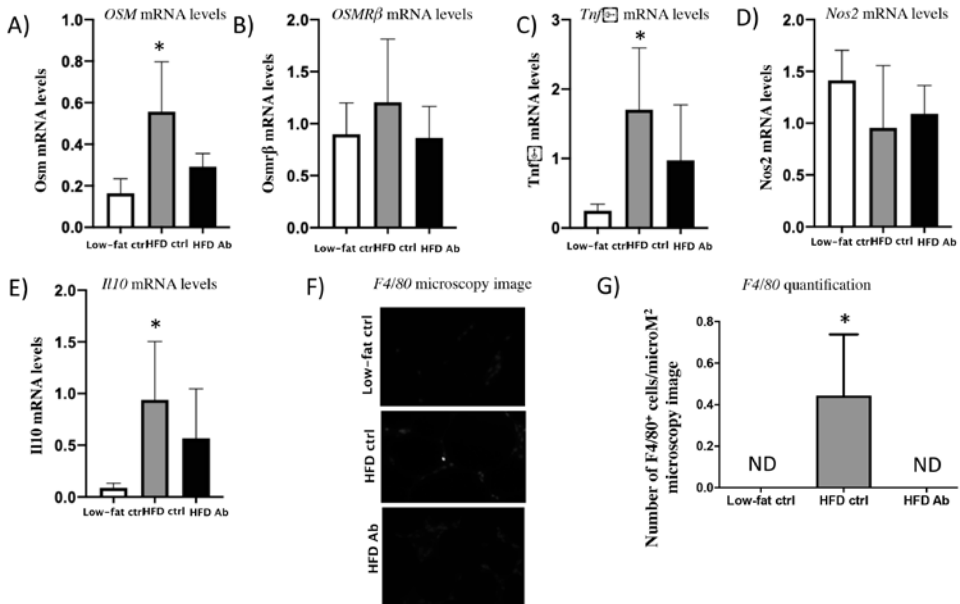


• *Supplementary Figure S3: Decreased phosphorylation of p44/p42 MAPK in WAT due to OSM immunoneutralization. Immunodetection of phospho-p44/p42 MAPK (upper bands) and total p44/p42 MAPK (lower bands) in WAT (30 μg protein) of mice fed control diet (LFD), mice fed a HFD and treated with unspecific IgG (HFD ctrl Ab), and mice fed a HFD and treated with anti-OSM Ab (HFD OSM Ab).*

• **Figure 4:**

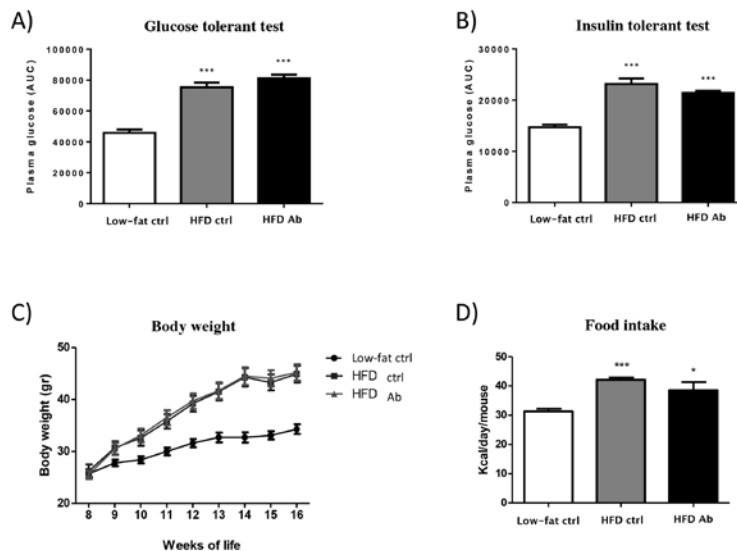
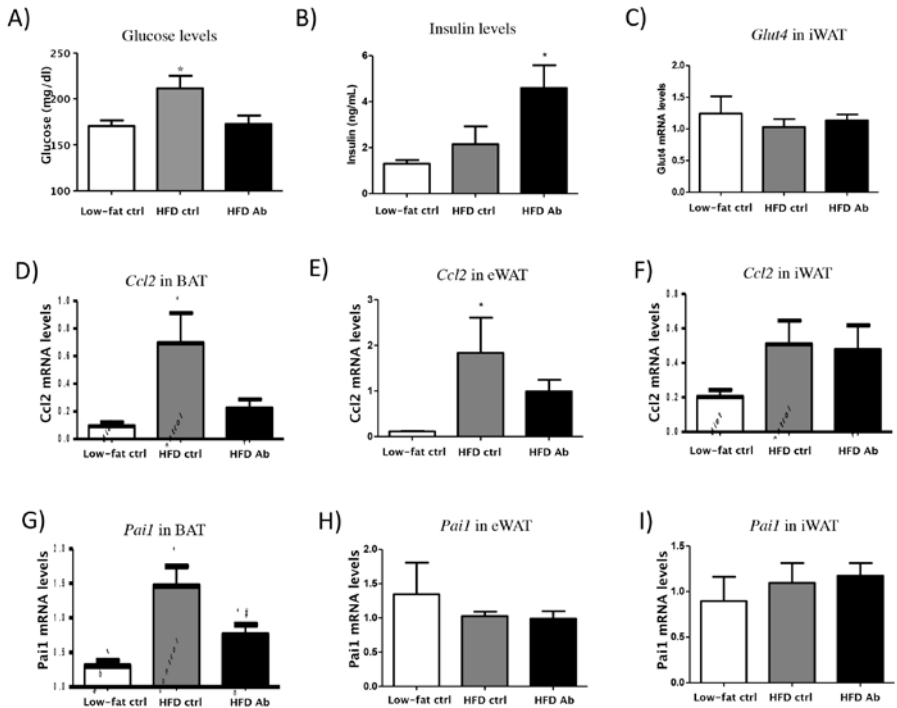


• **Supplementary Figure S4:**



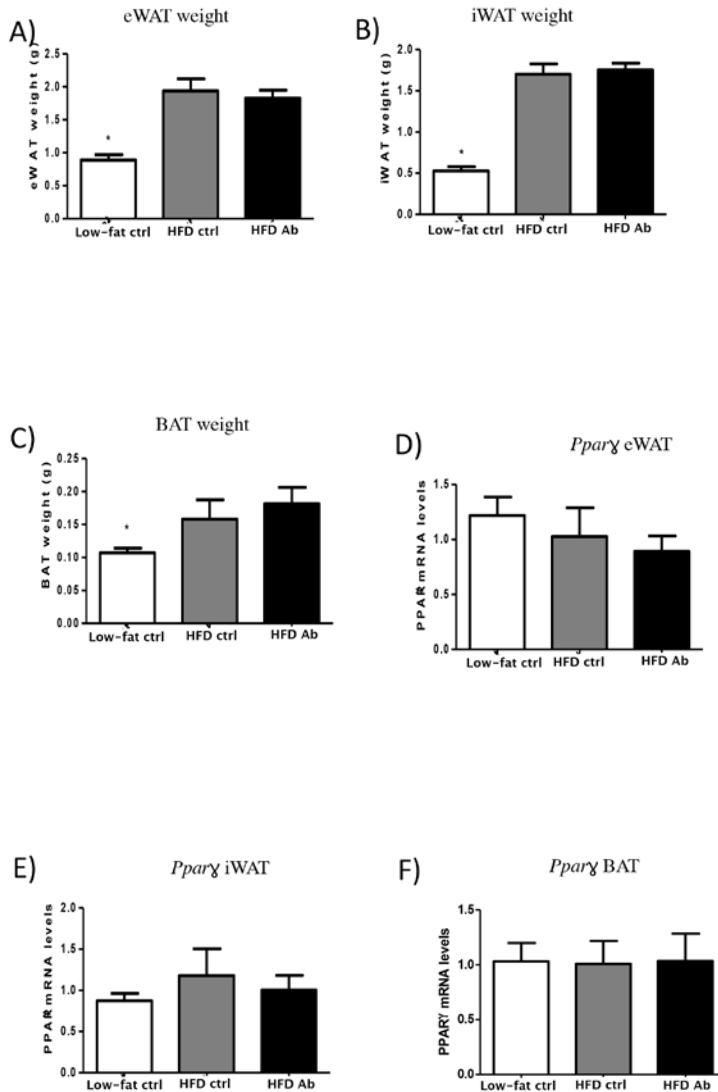
• **Supplementary Figure S4: Inflammatory markers are increased in HFD groups, but anti-OSM antibody partially improves this negative effect. Relative mRNA levels of pro-inflammatory *Osm* and receptor *Osmr $\beta$* , *Tnfr $\alpha$* , and *Nos2* (A-D) and anti-inflammatory *Il10* (E) in eWAT. F and G) Microscopy image and quantification of immunostaining F4/80. The 3 groups correspond to: mice fed low fat control diet (control diet), mice fed a HFD and treated with unspecific IgG (HFD control), and mice fed a HFD and treated with anti-OSM Ab (HFD Ab). Data are presented in arbitrary units as means  $\pm$  s.e.m. (n= 6 mice per group and analytical assays performed in triplicate) \* p < 0.05 vs control diet.**

• *Figure 5:*



• *Supplementary Figure S5: Glucose homeostasis, body weight and food intake. A-B) Glucose tolerance test and area under the curve in mice fed a control diet or HFD. C-D) Body weight gain and food intake average from the 3 groups: mice fed a control diet (control diet), mice fed a HFD and treated with unspecific IgG (HFD control), and mice fed a HFD and treated with anti-OSM Ab (HFD Ab). Data are presented as means with corresponding standard error. \*p < 0.05 vs. control group.*

• *Figure 6:*



• *Supplementary Figure S6: WAT and BAT tissue weight and Pparγ expression.*

*A-C) eWAT, iWAT and BAT weight after sacrifice. D-F) Relative mRNA levels of Pparγ in eWAT, iWAT and BAT. The 3 groups correspond to: mice fed a control diet (Control diet), mice fed a HFD and treated with unspecific IgG (HFD control), and mice fed a HFD and treated with anti-OSM Ab (HFD Ab). Data are presented in arbitrary units as means with corresponding standard error. \*p < 0.05 vs control group.*

• **A role for Oncostatin M in the development of insulin resistance in obesity**

---

Piquer-Garcia I, Cammpderros L, Taxeras SD, Gavaldà-Navarro A, Pardo R, Vila M, Pellitero S, Martinez E, Tarascó J, Moreno P, Villarroya J, González L, Rodriguez S, Vives-Pi M, Lerin C, Elks C, Stephens JM, Puig-Domingo M, Villarroya F, Villena JA, Sánchez-Infantes D.

L'OSM és una citoquina proinflamatòria la qual presenta un paper important en la inflamació. Tot i això, la seva contribució en aquest procés no esta completament descrita. L'objectiu que s'ha plantejat es avaluar els nivells d'OSM en pacients amb obesitat i presència d'alteracions en l'homeòstasi de la glucosa, el seu efecte en adipòcits humans i si la seva immunoneutralització podria revertir el deteriorament metabòlic causat per una dieta en alt contingut en greix.

**Resultats**

L'OSM en el teixit adipós blanc subcutani de pacients obesos amb hiperglucèmia.

- Els nivells d'expressió gènica de OSM en el teixit TAB subcutani de pacients amb obesitat i alteració de la glucosa presentaven uns valors incrementats respecte al grup de pacients obesos amb normoglucèmia.
- Els nivells d'expressió OSM van correlacionar de manera directa amb insulina i HOMA-IR però no amb el pes corporal.
- L'expressió d'OSM també va correlacionar amb marcadors d'inflamació com ccl2, NOS2 i PAI-1 però no amb col6.
- No es van observar diferències d'expressió en TAB visceral entre els grups de pacients amb obesitat amb o sense hiperglucèmia tot i que si que s'observen correlacions amb ccl2 o NOS2.

L'OSM inhibeix la diferenciació i indueix inflamació en adipòcits humans

- OSM recombinant inhibeix la diferenciació de les cèl·lules SGBS humanes després d'una exposició crònica i en adipòcits madurs després d'una exposició aguda a la citoquina.
- El receptor OSMR $\beta$  va expressar-se tant en preadipòcits com adipòcits madurs però els nivells varen ser més elevats en preadipòcits.

- Els adipòcits madurs després del tractament agut de 24 hores amb OSM varen augmentar els nivells dels marcadors d'inflamació i es varen reduir els de glut4.

L'immunoneutralització d'OSM redueix els nivells d'expressió de ccl2 en teixit adipós blanc i marró

- El tractament amb anticòs d'OSM no va induir canvis en la tolerància a la glucosa ni en la sensibilitat a la insulina.
- Els animals tractats amb l'anticòs van presentar uns nivells de glicèmia inferiors que el grup alimentat amb una dieta alta en greix i tractats amb un anticòs inespecífic, assolint nivells similars als del grup control.
- Els nivells d'insulina van presentar una tendència a incrementar-se en el grup tractat amb anti-OSM que el grup tractat amb l'anticòs inespecífic.
- L'administració del anticòs-OSM reduïa l'expressió del gen d'inflamació ccl2 en el TAB epididimal i el TAM respecte al grup anti-inspecífic.

L'OSM podria contribuir a l'estat inflamatori durant l'obesitat i podria estar implicat en el desenvolupament de la resistència a la insulina. Per tant, la seva inhibició farmacològica en condicions d'obesitat podria ser un potencial d'aplicació en la prevenció de la diabetis mellitus tipus 2.





4



- *Use of infrared thermography to estimate brown fat activation after a cooling protocol in patients with severe obesity that underwent bariatric surgery*
-



• **Use of infrared thermography to estimate brown fat activation after a cooling protocol in patients with severe obesity that underwent bariatric surgery**

---

*Irene Piquer-Garcia 1, Rubén Cereijo 2,3, Silvia Pellitero 1,4, Eva Martínez 1, Juan Corral 5, Siri D. Tixeràs 1, Jordi Tarascó 1, Pau Moreno 1, José Balibrea 6, Manel Puig-Domingo 1,4, Dolors Serra 3,7, Laura Herrero 3,7, David Jiménez-Pavón 5,8, Carles Lerin 9, Francesc Villarroya 2,3, David Sánchez-Infantes 1\**

<sup>1</sup> Germans Trias i Pujol Research Institute, Barcelona, Spain

<sup>2</sup> Department of Biochemistry and Molecular Biomedicine, and Institute of Biomedicine, University of Barcelona, Barcelona, Spain.

<sup>3</sup> Centro de Investigación Biomédica en Red de Fisiopatología de la Obesidad y la Nutrición (CIBEROBN), Instituto de Salud Carlos III, E-28029 Madrid, Spain

<sup>4</sup> Biomedical Research Center (Red Fisiopatología de la Diabetes y enfermedades metabólicas) (CIBERDEM), ISCIII, Madrid, Spain.

<sup>5</sup> MOVE-IT Research group and Department of Physical Education, Faculty of Education Sciences University of Cádiz, Cádiz, Spain.

<sup>6</sup> Metabolic and Bariatric Surgery Unit, EAC-BS Center of Excellence, Vall d'Hebron University Hospital, Barcelona, Spain.

<sup>7</sup> Department of Biochemistry and Physiology, School of Pharmacy, Institut de Biomedicina de la Universitat de Barcelona (IBUB), Universitat de Barcelona, E-08028 Barcelona, Spain

<sup>8</sup> Institute of Research and Innovation in Biomedical Sciences of the Province of Cádiz (INiBICA), University of Cádiz, Cádiz, Spain

<sup>9</sup> Institut de Recerca Sant Joan de Déu, Spain.

\* Correspondence:

David Sánchez-Infantes, PhD dsanchez@igtp.cat

Germans Trias i Pujol Research Institute (IGTP) - Campus Can Ruti. Carretera de Can Ruti, Camí de les Escoles s/n - 08916 Badalona, Barcelona, Spain Tel: (+34) 93 557 2832 Fax: (+34) 93 497 8654

**Keywords:** Infrared thermography, obesity, bariatric surgery, brown adipose tissue.

## Abstract

### Introduction

Obesity has reached epidemic proportions worldwide, and its prevalence has doubled in the last 30 years. In contrast to the energy-storing role of white adipose tissue (WAT), brown adipose tissue (BAT) acts as the main site of non-shivering thermogenesis in mammals, and has been reported to play a major role in protection against obesity and associated metabolic alterations in rodents. Infrared thermography (IRT) has been proposed as a novel non-invasive, safe, cheap and quick method to estimate BAT thermogenic activation in humans. Here, we determined for the first time the thermogenic activation of BAT using IRT in patients with severe obesity in response to two different types of bariatric surgery (BS).

### Methods

Supraclavicular BAT thermogenic activation was evaluated using the IRT in a cohort of 31 patients ( $50 \pm 10$  years-old, BMI =  $44.5 \pm 7.8$ ) at baseline and 6 months after BS. Clinical parameters were determined at different time points and correlations among them were studied.

### Results

BAT thermogenic activation by IRT was increased at 6 months after laparoscopy sleeve gastrectomy (LSG) while patients undergoing to a roux-en-Y gastric bypass (RYGB) did not change their thermogenic response. Moreover, patients with higher thermogenic activation before BS were those who showed more weight loss one year later.

### Conclusions

Our study reports a higher effect of LSG technique compared to RYGB on BAT activation, and a link between the extent of BAT activation at baseline and success of the surgery in achieving weight lost 12 months later.

### Introduction

Increased body mass is associated with numerous metabolic diseases, including type 2 diabetes (T2D). Thus, it is not surprising to find out that, concomitantly with the dramatic increase in obesity, T2D has become the most common metabolic disorder in the world, being recognized as one of the deadliest

non-communicable diseases worldwide. Nowadays, it has been estimated that approximately 350 million people has diabetes, representing almost 10% of the world population (WHO 2017). White adipose tissue (WAT) is involved in the regulation of energy balance and glucose homeostasis, owing to its function as a lipid-storing and endocrine organ. Numerous studies have demonstrated that abnormal WAT function is linked to obesity, whole body insulin resistance and T2D (Apostolopoulos *et al.*, 2016). However, few studies have comprehensively addressed the effect of obesity and weight loss in the thermogenic capacity.

In contrast to the energy-storing role of WAT, brown adipose tissue (BAT) acts as the main site of non-shivering thermogenesis in mammals due to the presence of uncoupling protein-1 (UCP1) in mitochondria of brown adipocytes, which uncouples mitochondrial oxidative processes and generates heat (Villarroya *et al.*, 2013). BAT plays a major role in protection against obesity and associated metabolic alterations in rodents due to its draining of glucose and lipids from circulation to sustain thermogenesis (Bartelt *et al.*, 2011; Peirce *et al.*, 2013). Moreover, sustained thermogenic activation leads also to the so-called 'browning' of adipose tissue: the appearance of beige (brown adipocyte-like) adipocytes in anatomical sites corresponding to WAT depots (Petrovi *et al.*, 2010; Wu *et al.*, 2012). Chronic exercise, cold exposure and chronic  $\beta$ 3-adrenergic stimulation have been shown to promote browning of WAT in experimental models (Wankhade *et al.*, 2016). A higher capacity of browning has been directly associated with protection against experimental obesity and improved glucose tolerance in mice (Seale *et al.*, 2011). Moreover, BAT has been also reported to secrete endocrine regulatory factors which contribute, in addition to the intrinsic energy expending properties of BAT, to the healthy effects of active BAT on systemic metabolism (Villarroya *et al.*, 2017; Cereijo and Sánchez-Infantes, 2017). Laparoscopy sleeve gastrectomy (LSG) and Roux-en-Y gastric bypass (RYGB) are two types of bariatric surgery (BS), the most effective therapy to avert obesity and T2D currently available at present (Aron-Wisnewsky *et al.*, 2009; Pontiroli and Morabito, 2011; Poitou *et al.*, 2015; Cummings and Cohen, 2016). One of the consequences of BS is activation of BAT and browning of WAT, which is hypothesized to contribute to the increased energy expenditure, weight loss, and overall improvement in systemic glucose and lipid metabolism after BS (Vijgen *et al.*, 2012; Rachid *et al.*, 2015). In 2009, several studies confirmed that active BAT is present in adult humans, and that, accordingly, BAT activity is reduced in patients with obesity (Cypess *et al.*, 2009; Saito *et al.*, 2009; Van Marken Lichtenbelt *et al.*, 2009; Virtanen KA *et al.*, 2009).

One of the techniques currently used to quantify BAT is positron emission tomography with 2-deoxy-2-[fluorine-18] fluoro-D-glucose integrated with computed tomography (18F- FDGPET-CT). Despite being considered the “gold-standard” to measure BAT/beige activity, it is an expensive, time-consuming and very invasive technique (Chen et al., 2016). Currently, the lack of non-invasive and low-cost methods to measure BAT activation before and after BS in patients makes difficult to implement this parameter in the clinical practice for a better evaluation of the patients.

In the last years, infrared thermography (IRT) has been proposed as a novel non- invasive, safe, cheap and quick method to estimate BAT thermogenic activation in humans (reviewed in Law et al., 2018). IRT uses the heat-emitting properties of BAT and the relatively superficial position of the supraclavicular BAT depot. A rise in supraclavicular temperatures after cold exposure has been demonstrated, and several studies correlated IRT data obtained in supraclavicular skin surface with BAT activity as determined using PET scans (Robinson *et al.*, 2014; Symonds et al., 2012; Salem et al., 2016; Lee et al., 2011). In this study, we determined for the first time the thermogenic activation of BAT using IRT in patients with severe obesity and the role of two different types of BS techniques.

## Research design and methods

### *Subject cohort and surgical interventions*

A cohort of 31 patients (19 females/12 males, aged=  $50 \pm 10$  years-old, BMI=  $44.5 \pm 7.8$ ) with severe obesity were included in this study, and were stratified into two groups according to the type of BS they underwent: 1) LSG (n= 15), in which the stomach is transected vertically from 5cm proximal to the pylorus up to the His' angle, using a 36Fr bougie as a calibrator. Hence, more than 70% of patient's stomach (mainly fundus and body) volume is removed without modifying the rest of gastrointestinal tract (GIT) (Gagner et al., 2016) 2) RYGB (n= 16), where the surgeons tailor a 40-60 mL gastric pouch that is anastomosed to the previously divided jejunum distal to the ligament of Treitz. Reconstruction of the GIT was completed in a “Y” configuration with a distal jejuno-jejunostomy (Kaijser et al., 2018). All patients were evaluated by the same endocrinology specialist (S.P) according to criteria formulated in Spanish Position Statement between Obesity, Endocrinology, Diabetes and Surgery Societies (Sabench Pereferrer et al., 2017). Demographic and clinical data, including age, diabetes, and

hypertension were recorded for all participants at baseline, 6 and 12 months after BS.

### *Study Visits and Protocols*

For IRT acquisition participants went to a specific room where body area object of evaluation was uncovered and sat-down during 5 min in a thermoneutral ambient for acclimatization ( $24.3 \pm 1.6^\circ\text{C}$ ). When necessary, participants were asked to tie their hair up to make the supraclavicular area visible.

For the cold protocol 2 measurements were performed, before and after the introduction their left hand in cold water at  $17^\circ\text{C}$  during 5 minutes to stimulate BAT activation. For every measurement, we took 1 thermal image using a FLIR T420 infrared camera (FLIR T420 Systems AB, Sweden) with thermal resolution set at 320 x 240 pixels.

Participants remained seated in an upright position, with arms relaxed on both sides of the legs. After calculation of optimal distances, the camera was placed 1 m from the midpoint of the chair for the image. The image was taken in perpendicular with the body region of interest (ROI).

### *Analysis of IRT*

The ROI were manually drew the supraclavicular region. All ROIs were performed using the FLIR ResearchIR Max software version 4.40.6.24 for windows (FLIR Systems Inc., North Billerica, MA, USA). Supraclavicular and sternal ROIs were derived from the image. All analyses were adjusted by atmospheric temperature and relative humidity, which were measured at the beginning of each IRT session. For all thermal images emissivity was set at 0.98. Minimum, maximum and mean values of each ROI were retained as variables. Supraclavicular temperature was normalized by sternum temperature for each participant at each time.

### *Serum samples*

Serum samples from the study participants were collected after a 12h fasting period at baseline, 6 and 12 months after BS. All samples were stored at  $-80^\circ\text{C}$  in the Biobanc of the Health Sciences Research Institute Germans Trias i Pujol Foundation. The Institutional Ethics Committee, in accordance with the Declaration of Helsinki, approved the study (PI16-025). All participants gave their written informed



consent before the IRT and the collection of clinical data and samples.

### *Human serological analysis*

Fasted glucose and insulin levels, glycated haemoglobin, lipid profile (total cholesterol, HDL and LDL cholesterol, and triglycerides), urea, creatinine, and c-reactive protein were measured in the certified core clinical laboratory at the hospital. Body mass index, waist circumference and blood pressure were measured by endocrinologist and dietician. The Homeostatic model Assessment-insulin resistance (HOMA-IR) was calculated through the following formula:

### *Statistical analysis*

Data are presented as mean  $\pm$  sem. Multivariate regression was implemented in R software. Statistical tests were performed with GraphPad Prism 6.0. For comparisons between two experimental groups, two-tailed t-test was used. One-way ANOVA with Tukey's post-hoc test was used for comparisons between more than two groups. Grubbs test was used to remove outliers prior to statistical analyses.  $P < 0.05$  was considered as the threshold of statistical significance in all analyses.

## **Results**

Clinical data from patients with obesity are shown in table 1. Patients were distributed according to the type of surgery. As expected, both LSG and RYGB led to significantly weight loss and improved the metabolic profile. The group of individuals operated by LSG displayed significant lower levels of glucose and glycated hemoglobin before the surgery compared to the RYGB group.

### *BAT thermogenic capacity of patients with severe obesity increases after BS. Evidence of higher effects of the LSG versus RYGB type of BS on the induction of BAT activation.*

Next, the extend of supraclavicular BAT thermogenic activation in patients with severe obesity was estimated using IRT at baseline and 6 months after BS. We split our patient cohort into two groups according to the type of surgery they underwent, and we observed that LSG but not RYGB increased the capability to activate BAT at 6 months after surgery compared to the BAT activation capacity shown before the operation (Figure 1A). Moreover, two examples of IRT images at baseline and 6 months after

BS of one participant from LSG group and another from RYGB group are shown in Figure 2 (Figure 2).

***IRT correlates with the success of the surgery in terms of the weight lost one year after BS***

Following up our patients 12 months after BS, a positive correlation was found between BAT thermogenic capacity before surgery and the weight loss changes at 12 months after BS (Figure 1B).

**Discussion**

In this study, we demonstrate for the first time usage of IRT as a novel non-invasive technique to estimate BAT activation in patients with severe obesity undergoing BS. Due to IRT being a non-invasive approach, a longitudinal approach could be used to estimate BAT<sub>i</sub> activity at several time points after BS in patients with obesity.

Patients undergoing BS are currently evaluated before surgery in different aspects including endocrine-metabolic status and psychological characteristics. However, it is still challenging to predict the success of surgery because of the high variability in the extent of weight loss after surgery. Here, we observed that high BAT thermogenic capacity before surgery is a predictive indicator of the weight loss at 12 months after the operation. Therefore, we propose that this parameter, obtained through a non-invasive method such as IRT, is worthy to be considered among the number of data that are taken into account to evaluate the physiological and metabolic status of patients candidate to BS. Moreover, it is known that BAT thermogenic activation inversely correlates with BMI (Cypess et al., 2009). According with that, we have observed that at 6 months after BS, when patients have lost around 50% of their initial weight, BAT thermogenic capacity increases.

Interestingly, we found differences in the effect in BAT activation depending of the type of surgery, being patients undergoing LSG but not RYGB the ones who actually improved BAT activation capacity. It is important to point out that RYGB has demonstrated better long-term results in patients with diabetes (Scheuer et al., 2017), and due to this fact, it is accepted in the clinical practice that this type of surgery must be performed in patients with severe obesity and impaired glucose homeostasis. In our study, differences in glucose levels and glycated hemoglobin were found between LSG and RYGB groups at baseline. Moreo-

ver, the LSG group showed normal glucose levels despite of having the same degree of obesity in terms of BMI compared to RYGB group. Considering that BAT has demonstrated its positive role in energy expenditure and insulin sensitivity, contributing to a better metabolic state (Bartelt *et al.*, 2011), it is tempting to speculate that the BAT of patients with normoglycemia would maintain a better function than patients with pre-diabetes or diabetes in terms of endocrine activity. It could explain, at least in part, a better insulin sensitivity and the increase in the capacity to activate BAT observed in LSG group compared to RYGB, which might be contributing to the success of BS regarding weight loss. Other researchers have described BAT activation measured by 18F-FDGPET-CT after a RYGB, but interestingly, a lack of hypothalamic activity was described in these patients with obesity before and after the RYGB (Rachid *et al.*, 2015). Since hypothalamic signaling to BAT is the main neural circuit involved in thermogenic activation of this tissue (Nerdergaard & Cannon, 2004), a potential explanation is that our protocol to expose patients to cold stress (5 minutes with their hand in cold water) might not be enough to activate BAT thermogenesis in the RYGB group compared to LSG group. Other mechanisms of action (e.g. specific changes in enterokine secretion, adipokine release or microbiota changes) could account for the systemic effects of RYGB without involving central nervous BAT activation. Further studies should be developed to decipher the potential different effect of LSG and RYGB in the capacity to activate BAT thermogenesis.

Despite the advantages described above, IRT-based estimation of BAT activity shows some limitations. Some researchers have pointed out some flaws in the quantification of BAT activity by IRT in subjects with obesity, suggesting that the changes in the layer of subcutaneous fat insulation could be a confounding factor to measure BAT temperature (Sarasniemi *et al.*, 2018). Although we assume this potential limitation in our study, it is important to remark that we did not use basal temperature at the supraclavicular area as index of BAT activity but the individual capacity to increase supraclavicular temperature before and after a single bout of cold stress in every individual. As the fat layer is the same before and after the 5 min cold-stimulus exposure in each individual patient, changes in fat layer width are not expected to significantly influence our estimation. PET-scan-based measurement of BAT activity may potentially have less limitations in this regard. However, using PET-scan techniques rises as well a number of concerns such as the specific type of labeled metabolite used for the assay, stress associated with the scanning procedures, etc and are obviously not feasible for dynamic repeated measuring in the same individual as performed in our study.

In conclusion, we report for the first time that IRT-based estimation of BAT activity may be useful for a follow-up of patients after BS in a non-invasive manner. Thus, we propose that quantification of active BAT by IRT may be useful in clinical practice as an additional measurement to evaluate the metabolic status and the potential success of BS in patients with obesity.

### **Conflict of Interest**

The authors declared no conflict of interest.

### **Authors' contributions**

Irene Piquer-Garcia researched and analyzed data, contributed to data interpretation, and wrote the manuscript. Rubén Cereijo and Siri D. Taxerås researched and analyzed data. Juan Corral contributed to analyze IRT data. Silvia Pellitero, Eva Martínez, Rocío Puig performed the follow-up of patients, researched and analyzed data. Jordi Tarascó and Pau Moreno operated patients, obtained serum samples and contributed to data analysis and interpretation. Manel Puig-Domingo, Dolors Serra and Laura Herrero contributed to study design and interpretation. David Jiménez-Pavón and Francesc Villarroya contributed to study design, researched data and wrote/reviewed/edited the manuscript. Carles Lerin and David Sánchez-Infantes performed the study design, researched data and wrote/reviewed/edited the manuscript. Each author listed in the manuscript has seen and approved the submission of this version of the manuscript and takes full responsibility for the contents.

### **Acknowledgement**

Samples from patients included in this study were provided by the IGTP HUGTP Biobank and the “Biobanc de l’Hospital Infantil Sant Joan de Déu per a la Investigació”, both integrated in the Spanish National Biobanks Network of Instituto de Salud Carlos III (PT13/0010/0009) and they were processed following standard operating procedures with the appropriate approval of the Ethical and Scientific Committees.

### **Funding agencies:**

DS-I is an Investigator of the Miguel Servet Fund from Carlos III National Institute of Health, Spain. This study was supported by Instituto de Salud Carlos III, and by the Fondo Europeo de Desarrollo

Regional (FEDER), Madrid, Spain (FIS17/01455) and by K-sted 651010-Project number 70084900-analyse number M50676 from Norwegian University of Science and Technology (NTNU). DJP was supported by a grant from the Spanish Ministry of Science and Innovation - MINECO (RYC-2014-16938). This study was supported by the Ministry of Spain (MINECO) (Grant SAF2017-83813-C3-1-R to DS and LH cofunded by the European Regional Development Fund [ERDF]), the *Centro de Investigación Biomédica en Red de Fisiopatología de la Obesidad y la Nutrición* (CIBEROBN) (Grant CB06/03/0001 to DS), and the *Fundació La Marató de TV3* (Grant 87/C/2016 to DS).

### References

- 1) World Health Organization. Obesity and overweight. 2017 18 Oct 2017 [cited 2018 5 May].
- 2) Apostolopoulos V, de Courten MP, Stojanovska L, Blatch GL, Tangalakis K, de Courten B: The complex immunological and inflammatory network of adipose tissue in obesity. *Molecular nutrition & food research* 2016;60:43-57
- 3) Villarroya J, Cereijo R, Villarroya F. An endocrine role for brown adipose tissue?. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2013;305:E567-72.
- 4) Bartelt A, Bruns OT, Reimer R, Hohenberg H, Ittrich H, Peldschus K et al. Brown adipose tissue activity controls triglyceride clearance. *Nat Med.* 2011;17:200-5.
- 5) Peirce V, Vidal-Puig A. Regulation of glucose homeostasis by brown adipose tissue. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2013;1:353-60.
- 6) Petrovic N, Walden TB, Shabalina IG, Timmons JA, Cannon B, Nedergaard J. Chronic peroxisome proliferator activated receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) activation of epididymally derived white adipocyte cultures reveals a population of thermogenically competent, UCP1-containing adipocytes molecularly distinct from classic brown adipocytes. *J Biol Chem.* 2010;285:7153-64.
- 7) Wu J, Boström P, Sparks LM, Ye L, Choi JH, Giang AH et al. Beige adipocytes are a distinct type of thermogenic fat cell in mouse and human. *Cell* 2012;150:366-76.
- 8) Wankhade UD, Shen M, Yadav H, Thakali KM. Novel Browning Agents, Mechanisms, and Therapeutic Potentials of Brown Adipose Tissue. *Biomed Res Int.* 2016;2016:2365609.
- 9) Seale P, Conroe HM, Estall J, Kajimura S, Frontini A, Ishibashi J et al. Prdm16 deter-

mines the thermogenic program of subcutaneous white adipose tissue in mice. *J Clin Invest* 2011;121:96-105.

10) Villarroya F, Cereijo R, Villarroya J, Giralt M. Brown adipose tissue as a secretory organ. *Nat Rev Endocrinol*. 2017 Jan;13(1):26-35.

11) Cereijo R, Sánchez-Infantes D. Brown adipose tissue and browning: More than just a heating device. *Endocrinol Diabetes Nutr*. 2017 Apr;64(4):185-187.

12) Aron-Wisnewsky J, Tordjman J, Poitou C, Darakhshan F, Hugol D, Basdevant A *et al*. Human adipose tissue macrophages: m1 and m2 cell surface markers in subcutaneous and omental depots and after weight loss. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94: 4619-4623.

13) Pontiroli AE, Morabito A. Long-term prevention of mortality in morbid obesity through bariatric surgery: a systematic review and meta-analysis of trials performed with gastric banding and gastric bypass. *Ann Surg* 2011; 253: 484-487.

14) Poitou C, Perret C, Mathieu F, Truong V, Blum Y, Durand H *et al*. Bariatric Surgery Induces Disruption in Inflammatory Signaling Pathways Mediated by Immune Cells in Adipose Tissue: A RNA-Seq Study. *PLoS One* 2015; 4; 10:e0125718.

15) Cummings DE, Cohen RV. Bariatric/Metabolic Surgery to Treat Type 2 Diabetes in Patients With a BMI <math>\leq 35\text{ kg/m}^2</math>. *Diabetes Care* 2016; 39: 924-933.

16) Vijgen GH, Bouvy ND, Teule GJ, Brans B, Hoeks J, Schrauwen P *et al*. Increase in brown adipose tissue activity after weight loss in morbidly obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97: E1229-1233.

17) Rachid B, van de Sande-Lee S, Rodvalho S, Folli F, Beltramini GC, Morari J *et al*. Distinct regulation of hypothalamic and brown/beige adipose tissue activities in human obesity. *Int J Obes (Lond)* 2015; **39**: 1515-1522.

18) Cypess AM, Lehman S, Williams G, Tal I, Rodman D, Goldfine AB *et al*. Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans. *N Engl J Med*. 2009;360: 1509-17.

19) Saito M, Okamatsu-Ogura Y, Matsushita M, Watanabe K, Yoneshiro T, Nio-Kobayashi J *et al*. High incidence of metabolically active brown adipose tissue in healthy adult humans: effects of cold exposure and adiposity. *Diabetes* 2009;58:1526-31.

20) Van Marken Lichtenbelt WD, Vanhommel JW, Smulders NM, Drossaerts JM, Keme-

rink GJ, Bouvy ND et al. Cold-activated brown adipose tissue in healthy men. *N Engl J Med.* 2009;360:1500-8.

21) Virtanen KA, Lidell ME, Orava J, Heglind M, Westergren R, Niemi T *et al.* Functional brown adipose tissue in healthy adults. *N Engl J Med.* 2009;360:1518-25.

22) Chen KY, Cypess AM, Laughlin MR, Haft CR, Hu HH, Bredella MA, Enerbäck S, Kinahan PE, Lichtenbelt Wv, Lin FI, Sunderland JJ, Virtanen KA, Wahl RL. Brown Adipose Reporting Criteria in Imaging Studies (BARCIST 1.0): Recommendations for Standardized FDG- PET/CT Experiments in Humans. *Cell Metab.* 2016 Aug 9;24(2):210-22.

23) Law J, Chalmers J, Morris DE, Robinson L, Budge H, Symonds ME. The use of infrared thermography in the measurement and characterization of brown adipose tissue activation. *Temperature (Austin).* 2018 Jan 29;5(2):147-161.

24) Robinson L, Ojha S, Symonds ME, Budge H. Body mass index as a determinant of brown adipose tissue function in healthy children. *J Pediatr.* 2014;164:318-322.

25) Symonds ME, Henderson K, Elvidge L, et al. Thermal imaging to assess age related changes of skin temperature within the supraclavicular region co-locating with brown adipose tissue in healthy children. *J Pediatr.* 2012;161:892-898.

26) Salem V, Izzi-Engbeaya C, Coello C, et al. Glucagon increases energy expenditure independently of brown adipose tissue activation in humans. *Diabetes Obes Metab.* 2016;18:72-81.

27) Lee P, Ho KK, Lee P, Greenfield JR, Ho KK, Greenfield JR. Hot fat in a cool man: infrared thermography and brown adipose tissue. *Diabetes Obes Metab.* 2011;13:92-93.

28) Gagner M, Hutchinson C, Rosenthal R. Fifth International Consensus Conference: current status of sleeve gastrectomy. *Surg Obes Relat Dis.* 2016 May;12(4):750- 756.

29) Kaijser MA, van Ramshorst GH, Emous M, Veeger NJGM, van Wagensveld BA, Pierie JEN. A Delphi Consensus of the Crucial Steps in Gastric Bypass and Sleeve Gastrectomy procedures in the Netherlands. *Obes Surg.* 2018 Sep;28(9):2634-2643.

30) Sabench Pereferrer F, Domínguez-Adame Lanuza E, Ibarzabal A, Socas Macias M, ValentíAzcárate V, García Ruiz de Gordejuela et al. Quality criteria in bariatric surgery: Consensus review and recommendations of the Spanish Association of Surgeons and the Spanish

Society of Bariatric Surgery. *Cir Esp* 2017; 95: 4-16.

31) Schauer PR, Bhatt DL, Kirwan JP, Wolski K, Aminian A, Brethauer SA, Navaneethan SD, Singh RP, Pothier CE, Nissen SE, Kashyap SR; STAMPEDE Investigators. Bariatric Surgery versus Intensive Medical Therapy for Diabetes - 5-Year Outcomes. *N Engl J Med*. 2017 Feb 16;376(7):641-651.

32) Nerdergaard & Cannon, 2004

33) Sarasniemi JT, Koskensalo K, Raiko J, Nuutila P, Saunavaara J, Parkkola R, Virtanen KA. Skin temperature may not yield human brown adipose tissue activity in diverse populations. *Acta Physiol (Oxf)*. 2018 Nov;224(3):e13095.

• **Figure legends**

**Figures 1.- BAT thermogenic capacity of patients with severe obesity increases after BS and predicts higher weight lost at 12 months after BS.**

A) Supraclavicular skin temperature was corrected by sternum temperature before and 5 minutes after cold exposure. Thermogenic activation measured as difference between 5 minutes and 0 minutes is represented at basal time and 6 months after the two types of bariatric surgery, SLG and RYGB. For this comparison, two-tailed t-test was used. B) Correlation between thermogenic activation before bariatric surgery and excessive weight loss was performed in patients with obesity. Multivariate regression was implemented in R software. Statistical tests were performed with GraphPad Prism 6.0. Grubbs test was used to remove outliers prior to statistical analyses. \*\*  $p < 0.01$

**Figures 2.- Example of IRT in 2 patients with severe obesity undergoing RYGB or LSG respectively.**

A) IRT before RYGB at 0 minutes; B) IRT before RYGB at 5 minutes of cold exposure; C) IRT 6 months after RYGB at 0 minutes; D) IRT 6 months after RYGB at 5 minutes of cold exposure. E) IRT before LSG at 0 minutes; F) IRT before LSG at 5 minutes of cold exposure; G) IRT 6 months after LSG at 0 minutes; H) IRT 6 months after LSG at 5 minutes of cold exposure.

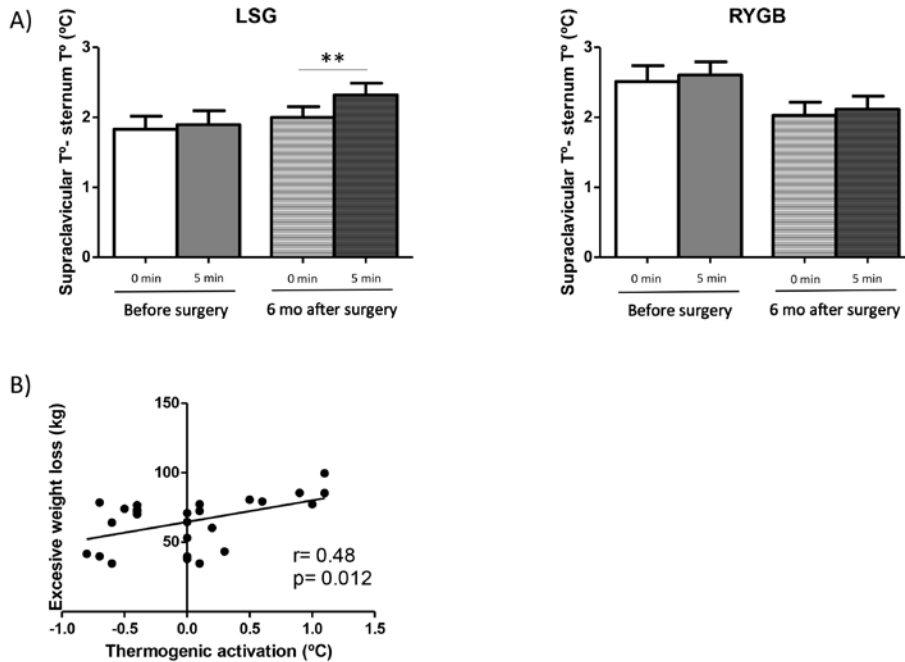


• **Table 1:** Anthropometric and metabolic parameters from patients with morbid obesity before and after bariatric surgery.

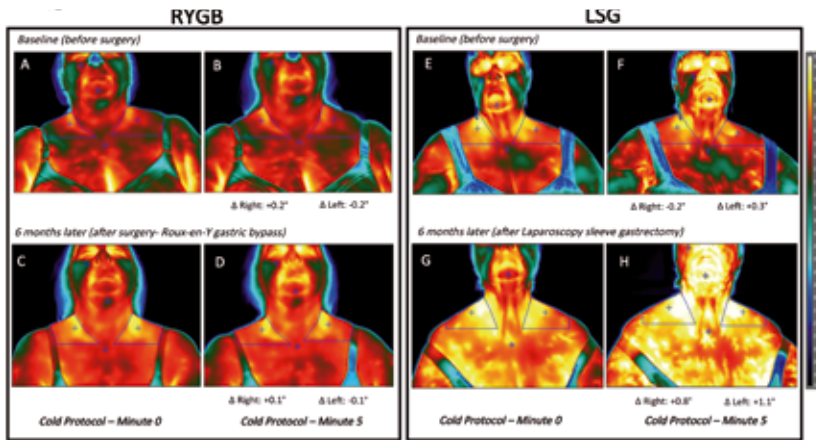
	Basal		6 months		12 months	
	LSG	RYGB	LSG	RYGB	LSG	RYGB
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	46.34 ± 9.79	42.75 ± 5.10	35.38 ± 9.02 <sup>#</sup>	31.82 ± 5.34 <sup>#</sup>	32.49 ± 8.87 <sup>#</sup>	30.08 ± 5.20 <sup>#</sup>
Waist circumference (cm)	136.97 ± 14.15	130.95 ± 11.84	117.66 ± 16.54 <sup>#</sup>	105.82 ± 15.62 <sup>#</sup>	107.23 ± 13.66 <sup>#</sup>	98.95 ± 11.68 <sup>#</sup>
Excess weight loss (%)	6.24 ± 3.37	6.05 ± 3.49	50.10 ± 13.93 <sup>#</sup>	58.53 ± 15.22 <sup>#</sup>	60.92 ± 19.16 <sup>#</sup>	68.11 ± 15.01 <sup>#</sup>
Glucose (mg/dl)	94.06 ± 10.45	128.81 ± 44.55*	86.46 ± 9.68	90.56 ± 16.35 <sup>#</sup>	87.33 ± 11.57	93.43 ± 20.46 <sup>#</sup>
Glycated hemoglobin (%)	5.60 ± 0.38	6.27 ± 1.01*	5.30 ± 0.32	5.38 ± 0.50 <sup>#</sup>	5.28 ± 0.38	5.23 ± 0.50 <sup>#</sup>
Insulin (m.u.int./l)	11.02 ± 8.48	12.07 ± 7.32	10.38 ± 8.34	7.14 ± 4.27 <sup>#</sup>	7.22 ± 5.47 <sup>#</sup>	6.63 ± 5.54 <sup>#</sup>
Homeostatic model assessment (HOMA-IR)	2.87 ± 2.21	4.50 ± 3.99	2.54 ± 2.11	1.63 ± 1.13 <sup>#</sup>	1.67 ± 1.66	1.51 ± 1.23 <sup>#</sup>
Triacylglycerides (mg/dl)	133.40 ± 46.59	130.50 ± 35.19	97.46 ± 39.40 <sup>#</sup>	100.68 ± 33.93 <sup>#</sup>	83.06 ± 29.53 <sup>#</sup>	87.06 ± 31.78 <sup>#</sup>
Total cholesterol (mg/dl)	153.20 ± 20.40	145.37 ± 33.63	181.20 ± 45.69	164.12 ± 34.92	187.73 ± 44.29	162.31 ± 27.37
LDL-cholesterol (mg/dl)	85.13 ± 20.41	82.80 ± 34.47	113.60 ± 43.36	100.12 ± 30.21	115.06 ± 37.71	96.31 ± 22.89
HDL-cholesterol (mg/dl)	41.07 ± 9.39	37.94 ± 4.73	48.92 ± 7.93	48.91 ± 22.22	56.90 ± 14.52	49.90 ± 5.81
Creatinine (mg/dl)	0.91 ± 0.64	0.84 ± 0.26	0.86 ± 0.59	0.76 ± 0.18	0.86 ± 0.56	0.68 ± 0.15
Urea (mg/dl)	39.13 ± 29.09	37.06 ± 13.74	34.80 ± 24.27	35.00 ± 7.65	36.33 ± 23.11	36.00 ± 10.35
C-reactive protein (mg/l)	8.89 ± 5.08	6.67 ± 5.17	7.12 ± 7.32	4.22 ± 3.59	2.51 ± 1.78 <sup>#</sup>	2.87 ± 4.05 <sup>#</sup>
Systolic blood pressure (mmHg)	136 ± 16	134 ± 13	-	-	126 ± 17	124 ± 13
Diastolic blood pressure (mmHg)	80 ± 7	80 ± 10	-	-	78 ± 10	74 ± 7

Data are shown as mean ± SD. Two-tail Student's *t*-test was applied to compare two groups, and one-way ANOVA with Tukey's post-hoc test was used for comparisons between more than two groups. \* indicates *p*<0.05 between LSG and RYGB; # indicates *p*<0.05 between 0-6 or 0-12 months postsurgery. LSG: laparoscopic sleeve gastrectomy; RYGB: roux-en-Y gastric bypass; LDL-Cho: Low-density lipoprotein cholesterol; HDL-Cho: High-density lipoprotein cholesterol.

• **Figure 1**



• *Figure 2*



• **Use of infrared thermography to estimate brown adipose tissue activation in patients with severe obesity: Differences between two bariatric surgery techniques**

*Piquer-Garcia I, Cereijo R, Pellitero S, Martínez E, Corral J, Taxeras SD, Tarascó J, Moreno P, Puig-Domingo M, Serra D, Herrero L, Jiménez-Pavón D, Lerin C, Villarroya F, Sánchez-Infantes D.*

El TAM presenta un important paper en la prevenció de l'obesitat. S'ha demostrat en ratolins que la seva activació afavoreix el drentatge de substrats energètics com la glucosa i/ o els lípids al teixit per tal de que aquest pugui mantenir actiu el process de termogènesi que en estat d'obesitat es veuen afectats.

S'ha plantejat en aquest estudi determinar la activació termogènica del TAM utilitzant l'IRT en pacients amb obesitat mòrbida en resposta a dos tipus diferents de CB.

- A nivell de paràmetres clínics els dos grups de pacients varen experimentar una pèrdua de pes significativa i una millora metabòlica.
- Després de 6 mesos de la cirurgia el grup de pacients sotmesos a SG varen presentar una major capacitat per activar el TAM que el grup sotmès al procediment del BPG, respecte al que presentaven abans de la cirurgia.
- S'ha establint una correlació positiva entre el grau de sobrepès perdut i l'activació termogènica del TAM, 12 mesos després de la CB.

La quantificació del TAM a través de l'IRT en pacients amb obesitat mòrbida candidats a la CB podria contribuir en la pràctica clínica aportant més informació sobre el estat metabòlic del pacient i proporcionar una hipòtesi sobre l'èxit de la CB en els pacients amb obesitat mòrbida.







## • Discussió OSM

---

### *L'efecte d'OSM en el procés d'adipogènesi i en la funcionalitat dels adipòcits madurs*

S'ha observat que la administració d'OSM a dosis fisiològiques inhibeix la diferenciació dels preadipòcits a adipòcits marrons en cultius cel·lulars, afectant els nivells d'expressió de *pgc1-α*; principal marcador bioenergètic mitocondrial relacionat amb l'activació de la termogènesi.

Aquests resultats concordarien amb l'efecte inhibitori observat de la citoquina sobre el mecanisme d'adipogènesi en adipòcits blancs 275,276 . Les citoquines que inhibeixen la diferenciació presenten un efecte negatiu en el metabolisme, que contribuiria al desencadenament dels processos d'hipertrofia i de resistència a la insulina en l'adipòcit 159 . En aquest sentit s'ha vist que OSM presenta un efecte inhibidor de l'adipogènesi en diferents línies cel·lulars, suggerint el seu efecte proinflamatori i la seva possible contribució en l'alteració de la funcionalitat del teixit adipós i en el desenvolupament de la resistència a la insulina.

### *Els nivells de OSM es troben incrementats en pacients amb obesitat i alteració de la homeòstasi de la glucosa, i els seus nivells es redueixen després de la CB*

Prèviament, s'havia descrit que la producció d'OSM es produeix en el teixit adipós i es troba regulada en condicions d'obesitat. En una cohort de pacients amb obesitat mòrbida sotmesos a SG, es va poder descriure no només que es produeix una modulació de la citocina sinó que la seva reducció arriba a ser significativa 12 mesos després de la intervenció i que, en una cohort control, no es detectada. Aquests resultats demostren que l'OSM es troba modulada en obesitat i que la CB tot i que a priori es aplicada per raons de pes i estat metabòlic té un clar efecte sobre la inflamació del TA. A banda d'observar una reducció de la OSM després de la SG, es va observar un increment d'una molècula promotora del embruniment del TAB: la Meteorin-like<sup>277</sup> . Els seus nivells varen augmentar significativament als 12 mesos després de la cirurgia tot i que els nivells circulants encara eren inferiors als que presentaven el grup control. A més, es va observar que es produïa una correlació inversa entre els nivells circulants de OSM i Meteorin-like. Aquesta modulació oposada de totes dues molècules es va associar amb una millora del estat metabòlic als 12 mesos posteriors a la cirurgia. Aquests resultats

suggereixen que la reducció de OSM podria tenir un paper clau en la millora de la seva salut metabòlica del pacient sotmès a la CB <sup>277</sup>.

### *El desencadenament del estat inflamatori del TAB i la resistència a la insulina en el pacient amb obesitat: processos d'hipertrofia i hiperplàsia del TA*

La resistència a la insulina freqüentment es presenta en pacients amb obesitat, com a conseqüència del desencadenament de l'inflamació del TA. En l'anàlisi de TAB de pacients amb obesitat i hiperglicèmia i amb obesitat i normoglicèmia, es va obtenir que els primers presentaven uns nivells d'expressió OSM superiors en el TABs respecte als normoglicèmics. Els resultats concorden per tant amb la hipòtesi ja descrita, en la que s'ha observat que els pacients amb una major inflamació del TABs, presenten un pitjor estat metabòlic explicat per la incapacitat del propi teixit per expandir-se <sup>162,278</sup> i que esdevindrà fenòmens d'hipertrofia dels adipòcits. Aquesta hipòtesi s'ha vist reforçada a través de les correlacions directes obtingudes entre OSM i els principals paràmetres d'hemostàsia de la glucosa com la insulina i l'HOMA-IR així com la no correlació que presenta amb la massa corporal. Per tant, la capacitat d'expansió del TABs exerceix un paper protector sobre la lipotoxicitat sobre altres teixits <sup>162</sup> i la seva implicació sobre el desenvolupament de l'estat inflamatori del TA <sup>278</sup>. Per tant, pacients amb obesitat que presentessin una capacitat per expandir el TABs superior, podrien únicament manifestar un excés d'adipositat sense alteracions metabòliques, el que actualment s'anomena pacient obès sa <sup>279</sup>.

Aquesta hipòtesi es veu reforçada amb els resultats obtinguts en la present tesi. S'ha observat que es produeixen diferències en els nivells d'expressió de pacients amb obesitat i hiperglicèmia i pacients amb obesitat i normoglicèmia, amb uns graus d'obesitat similars. En el primer cas, els pacients amb uns nivells de glucèmia superiors, indicarien un estat metabòlic més alterat esdevingut, entre altres factors, per major desenvolupament del estat inflamatori en els adipòcits on OSM hi resultaria implicada a través de la inhibició dels processos d'adipogènesi i una reducció en els nivells d'expressió de GLUT4. Aquestes observacions concorden amb les dades obtingudes en el model animal, el qual demostra que els nivells de GLUT4 són superiors en ratolins knockout per al OSMR que en el grup control.

Tot i que actualment encara no es ben establert el procés d'inflamació del TAB, s'ha vist que un fenotip format per un nombre d'adipòcits reduïts però amb un elevat contingut en greix (hipertrofiades) hi contribueixen<sup>280</sup> de fet, es suggereix que les diferències en la mida dels adipòcits podrien ser una característica important o fins i tot un factor predisposant al desenvolupament de la resistència a la insulina i DM2<sup>156,281</sup> independentment del IMC del pacient<sup>282</sup>. Alhora, la capacitat d'OSM per inhibir l'adipogènesi estaria també contibuint al desenvolupament de la resistència a la insulina. L'acumulació de greix visceral s'ha associat a un major estat inflamatori i a un major risc de desenvolupar resistència a la insulina i alteració en l'homeòstasi de la glucosa<sup>160,184</sup>. Alhora és en aquests dipòsits viscerals on s'observa una major infiltració de cèl·lules immunitàries<sup>283</sup>.

Entre elles es produeix un increment de les cèl·lules T i macròfags responsables de la major part de la secreció de OSM, citocina la qual s'ha vist en els resultats de la present tesi, es troba involucrada en la disrupció del metabolisme energètic.

En la present tesi s'ha vist que OSM es troba estretament relacionada amb l'estat metabòlic del pacient amb obesitat, essent negativament correlacionada amb els principals paràmetres d'homeòstasi de la glucosa i positivament amb els principals marcadors d'inflamació en el TA.

***L'OSM produeix un empitjorament de la funció termogènica del TAM i de la seva capacitat d'embru-niment, y la seva immunoneutralització millora parcialment l'estat metabòlic en models experimentals.***

En ratolins amb obesitat induïda a través de la dieta s'ha vist que els nivells d'expressió de la citocina augmenten tant en el TAM com en el TAB. La administració directa d'OSM sobre el TAM en ratolins ha mostrat una reducció dels principals gens d'activació de la termogènesi així com una reducció en FGF-21 i un increment en l'expressió de gens relacionats amb processos inflamatoris com TNF- $\alpha$ , ccl2 o IL-6<sup>251</sup>. La reducció i inhibició del procés de termogènesi i adipogènesi es podria traduir en una reducció dels processos de catabolisme com la lipòlisi, afavorint l'acumulació de lípids en el teixit. Aquesta disrupció en el metabolisme energètic implicarà una reducció de la despesa energètica del pacient amb obesitat que contribuirà a un increment del pes i/o el manteniment del mateix, a banda d'altres efectes proinflamatoris<sup>204</sup>.



Els resultats obtinguts suggereixen que l'OSM podria estar inhibint la capacitat termogènica i funció endocrina del TAM, contribuint a un empitjorament del estat metabòlic.

D'altra banda, l'exposició al fred s'ha descrit com un dels principals factors contribuents al procés d'embruniment del TAB ja que indueix als adipòcits beixes a adoptar la funcionalitat del TAM per tal d'augmentar la dissipació de calor en forma d'energia a través de la termogènesi 200,202,204 . El que succeeix però quan s'administra de manera localitzada aquesta OSM en el TAB inguinal dels ratolins amb normopès també exposats al fred es que s'inhibeix el procés de marronització i una reducció en els nivells d'expressió de UCP-1 respecte al grup control.

Donada la rellevància del paper de la OSM en l'obesitat especialment en el desenvolupament del procés inflamatori del TA i de la RI, es va plantejar la immunoneutralització de la citoquina a través de la utilització del seu l'anticòs específic. Després de la seva administració, que es va portar a terme després de que els animals haguessin desenvolupat el fenotip d'obesitat, es va obtenir que els nivells d'expressió de ccl2, marcador d'inflamació, es reduïen tant en el TAM com en el TAB.

Donat a que no s'han observat canvis d'expressió del transportador GLUT4, els mecanismes a través dels quals es produeix una normalització de la glucèmia en els ratolins amb obesitat induïda a través de la dieta es encara incert. Aquesta millora però podria venir esdevinguda per una reducció dels processos inflamatoris en el teixit adipós així com una reducció de la infiltració de cèl·lules del sistema immunitari, que podria explicar-se a través de la reducció del nivells de transcripció de MCP-1. Alhora, aquest efecte podria contribuir a la millora de la sensibilitat a la insulina en els adipòcits, lleugerament observada en els ratolins tractats. Cal esmentar, però que no s'ha analitzat els possibles efectes derivats del tractament sobre la resta de teixits. L'increment dels nivells d'insulina en els animals tractats podrien suggerir una acció directa sobre les cèl·lules  $\beta$  pancreàtiques o bé, un reducció dels processos de gluconeogènesi hepàtica. En aquest sentit, les cèl·lules kupffer en resposta a la prostaglandina E2 alliberarà OSM, el que ha estat proposat com a possible mecanisme el qual inhibeix la senyalització de la insulina hepàtica contribuint d'aquesta manera a la acumulació de lípids anormal.

**• Discussió termografia**

---

***La termografia infraroja com mètode no invasiu i vàlid per a l'estimació de l'activitat del TAM en pacients candidats a la CB.***

El descobriment de l'activitat termogènica del TAM en humans adults <sup>189,284</sup> i la seva manca d'activació en persones amb obesitat ha portat a plantejar el possible paper del TAM en determinades patologies metabòliques com l'obesitat i/o la DM2. Tot i que la metodologia per excel·lència utilitzada per al seu estudi és el PET-SCAN, la seva aplicació en estudis en poblacions control o infantil, la descarten no només per la seva invasivitat sinó també per la seva exposició a radiacions. Actualment la IRT s'ha establert com a mètode validat en la determinació de l'activitat del TAM en humans adults <sup>252</sup>. Aquesta metodologia però ja havia estat utilitzada en estudis de població infantil donada la seva innocuïtat i la seva fàcil aplicabilitat en l'àmbit clínic <sup>263</sup>. Actualment, tot i la validació del mètode, la controvèrsia es produeix en el mètode d'estimulació del TAM per tal de produir l'activació de la termogènesi a través de l'exposició al fred.

***L'activació del TAM prèviament a la CB podria contribuir a la predicció de l'èxit de la intervenció 12 mesos després de la mateixa.***

El protocol clínic per a la CB estableix una sèrie d'avaluacions endocrina metabòliques i psicològiques per tal de determinar la idoneïtat de la pròpia cirurgia i el tipus de la mateixa. Malgrat les valoracions prèvies no hi ha garanties absolutes sobre l'èxit posterior de la CB. En la present tesi però es va observar que la determinació de l'activació del TAM abans a l'intervenció quirúrgica podria proporcionar més dades sobre aquest èxit. Els resultats obtinguts mostren, que aquells pacients que presentaven una major activació abans de la intervenció eren aquells que assolien pèrdues de sobrepès inicial majors. En la cohort de pacients estudiada s'ha observat que als 6 mesos posteriors a la CB, quan s'havia produït en la majoria dels subjectes una pèrdua de sobrepès inicial del 50%, la capacitat termogènica del TAM augmentava.

***Els pacients sotmesos a la tècnica quirúrgica del SG presenten una major activació del TAM que***

### *els sotmesos al BPG.*

Sorprenentment es van observar diferències en l'activació del TAM en funció de la tècnica quirúrgica aplicada. Els pacients sotmesos al SG van ser els que més incrementaven la seva activació del TAM mentre que aquells sotmesos a un BPG, presentaven una menor activació després de la CB. Cal esmentar però que la tècnica del BPG es troba indicada en aquells pacients amb obesitat i també alteració de l'homeòstasi de la glucosa ja que s'ha vist que a llarg termini presenten un millor control metabòlic <sup>285</sup>. En tots dos grups els nivells de hemoglobina glicosilada diferien essent més elevats en el grup BPG malgrat que els valors de IMC eren similars. Tenint en compte que el TAM ha demostrat contribuir a la millora metabòlica a través de la despesa energètica basal i la sensibilitat a la insulina<sup>150</sup>, es podria pensar que el TAM dels pacients amb normoglicèmia i per tant sotmesos al SG mantindrien millor la funció termogènica del mateix que els pacients amb hiperglicèmia amb prediabetis o diabetis. Fet que podria explicar, parcialment una millor sensibilitat a la insulina i un augment en la capacitat per activar el TAM observada en el grup SG, el que podria contribuir al èxit de la CB. La resposta però a aquests resultats no es tant trivial com inicialment es podria suposar ja que estudis recents demostren que una manca d'activació hipotalàmica en pacients sotmesos a BPG podria explicar diferències en la via a través de la qual es produeix l'activació del TAM <sup>286</sup>.





**• I. La funció d'OSM en la patologia de l'obesitat i la resistència a la insulina:**

---

Els nivells circulants d'OSM es troben incrementats en pacients amb obesitat i la CB produeix una reducció significativa dels nivells inicials als 12 mesos posteriors a la CB.

- • La reducció dels nivells circulants d'OSM correlaciona amb un millor perfil lipídic dels pacients.
- • Posterior a la CB s'observa una correlació inversa entre la modulació dels nivells d'OSM i la proteïna Meteorin-like, descrita com a factor promotor de l'activació del TAM.
- • Els nivells d'expressió gènica d'OSM en pacients amb obesitat i hiperglicèmia es troben més elevats que en pacients amb el mateix grau d'obesitat i normoglicèmia.
- • S'observa una correlació directa entre els nivells d'expressió d'OSM en el TAB de pacients amb obesitat i hiperglicèmia i els marcadors d'inflamació ccl2 així com una correlació inversa amb el transporador GLUT4.

**• II. Els efectes directes d'OSM sobre adipòcits humans i murins i la seva possible immunoneutralització en ratolins amb obesitat induïda a través de la dieta rica en greix:**

---

- • L'administració d'OSM en adipòcits murins inhibeix el procés d'adipogènesi promovent el desenvolupament de l'estat inflamatori.
- • L'administració directa d'OSM en ratolins altera la funcionalitat del TAM i produeix un bloqueig parcial del procés d'embruniment.
- • L'immunoneutralització específica d'OSM en ratolins redueix els nivells d'inflamació en el TAB i el TAM i millora els nivells de glicèmia.

**• III. Els canvis en l'activitat termogènica del TAM supraclavicular dels pacients amb obesitat sotmesos a la CB:**

---

- • Els pacients sotmesos a la tècnica del SG presenten una major capacitat d'activació termogènica del TAM que els pacients sotmesos a la tècnica del BPG.
- • Els pacients que presenten una major activació del TAM prèvia a la CB presenten una pèrdua de sobrepes inicial superior els 12 primers mesos post cirurgia.









1. Gema Frühbeck. Bariatric and metabolic surgery: a shift in eligibility and success criteria. *Nat Rev Endocrinol* **Aug;11(8)**, 465–77 (2015).
2. González-Muniesa, P. *et al.* Obesity. *Antenatal Disord. MRCOG Beyond* **15**, 17034 (2017).
3. Hruby, A. & Hu, F. B. The Epidemiology of Obesity: A Big Picture. *Pharmacoeconomics* **33**, 673–689 (2015).
4. Gould, J. Nutrition: A World of Insecurity. *Nature* **544**, S6–S7 (2017).
5. Heianza, Y. & Qi, L. Gene-diet interaction and precision nutrition in obesity. *Int. J. Mol. Sci.* **18**, (2017).
6. Jacobs, J. *et al.* Variation in the physical activity environment according to area-level socio-economic position—A systematic review. *Obes. Rev.* 1–15 (2019). doi:10.1111/obr.12818
7. Unger, R. H. & Scherer, P. E. Gluttony, sloth and the metabolic syndrome: A roadmap to lipotoxicity. *Trends Endocrinol. Metab.* **21**, 345–352 (2010).
8. Oussaada, S. M. *et al.* The pathogenesis of obesity. *Bailliere's Best Pract. Clin. Endocrinol. Metab.* **13**, 13–30 (1999).
9. Gallagher, E. J. & LeRoith, D. Obesity and Diabetes: The Increased Risk of Cancer and Cancer-Related Mortality. *Physiol. Rev.* **95**, 727–748 (2015).
10. Grassi, G., Robles, N., Seravalle, G. & Fici, F. Lercanidipine in the Management of Hypertension: An Update. *J Pharmacol Pharmacother.* **8**, 155–165 (2017).
11. Bidwell, A. J. Chronic fructose ingestion as a major health concern: Is a sedentary lifestyle making it worse? A review. *Nutrients* **9**, (2017).
12. Drager, L. F., Togeiro, S. M., Polotsky, V. Y. & Lorenzi-Filho, G. Obstructive sleep apnea: A cardiometabolic risk in obesity and the metabolic syndrome. *J. Am. Coll. Cardiol.* **62**, 569–576 (2013).
13. Labarca, G., Reyes, T., Jorquera, J., Dreyse, J. & Drake, L. CPAP in patients with obstructive sleep apnea and type 2 diabetes mellitus: Systematic review and meta-analysis. *Clin. Respir. J.* **12**, 2361–2368 (2018).
14. Després, J. P. & Lemieux, I. Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature* **444**, 881–887 (2006).
15. O'Neill, S. & O'Driscoll, L. Metabolic syndrome: A closer look at the growing epidemic and its associated pathologies. *Obes. Rev.* **16**, 1–12 (2015).
16. Gungor, N. K. Overweight and obesity in children and adolescents. *JCRPE J. Clin. Res. Pediatr. Endocrinol.* **6**, 129–143 (2014).
17. Kumar, S. & Kelly, A. S. Review of Childhood Obesity: From Epidemiology, Etiology, and Comorbidities to Clinical Assessment and Treatment. *Mayo Clin. Proc.* **92**, 251–265 (2017).
18. Chung, A. *et al.* Trends in child and adolescent obesity prevalence in economically advanced countries according to socioeconomic position: A systematic review. *Obes. Rev.* **17**, 276–295 (2016).
19. Cara B Ebbeling, Dorota B Pawlak, D. S. L. International epidemic of childhood obesity. *Lancet* **360**, 421–498 (2002).
20. Wang, Y. & Lobstein, T. I. M. Worldwide trends in childhood overweight and obesity. **1**, 11–25 (2006).
21. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC), A. W. G. Trends in obesity and diabetes across Africa from 1980 to 2014: an analysis of pooled population-based studies. *Int. J. Epidemiol.* **46**, 1421–32 (2017).
22. Nguyen, N. T. & Varela, J. E. Bariatric surgery for obesity and metabolic disorders: State of the art. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* **14**, 160–169 (2017).
23. Lobstein, T. & Jackson-Leach, R. Planning for the worst: estimates of obesity and comorbidities in school-age

## REFERÈNCIES

- children in 2025. *Pediatr. Obes.* **11**, 321–325 (2016).
24. Departament de Salut. *Resum Enquesta de Salut a Catalunya (ESCA)*. (2017).
25. Agencia Española de Consumo Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN). *Estudio de vigilancia del crecimiento, alimentación, actividad física, desarrollo infantil y obesidad (ALADINO)*. (2015).
26. Pérez-Farinós, N. *et al.* The ALADINO Study: A National Study of Prevalence of Overweight and Obesity in Spanish Children in 2011. *Biomed Res. Int.* **2013**, 1–7 (2013).
27. Jura, M. & Kozak, L. P. Obesity and related consequences to ageing. *Age (Omaha)*. **38**, (2016).
28. Rogers, R. *et al.* The Relationship between Childhood Obesity, Low Socioeconomic Status, and Race/Ethnicity: Lessons from Massachusetts. *Child. Obes.* **11**, 691–695 (2016).
29. Apostolopoulos, V. *et al.* The complex immunological and inflammatory network of adipose tissue in obesity. *Mol. Nutr. Food Res.* **60**, 43–57 (2016).
30. Cheung, E.-M., Marks, A. J. S. & Teede, H. The obesity paradox: an endocrine perspective. *Intern. Med. J.* **47**, 727–733 (2017).
31. Verrotti, A., Penta, L., Zenzeri, L., Agostinelli, S. & De Feo, P. Childhood obesity: Prevention and strategies of intervention. A systematic review of school-based interventions in primary schools. *J. Endocrinol. Invest.* **37**, 1155–1164 (2014).
32. Anderson, K. L. A Review of the Prevention and Medical Management of Childhood Obesity. *Child Adolesc. Psychiatry. Clin. N. Am.* **27**, 63–76 (2018).
33. Styne, D. M. *et al.* Pediatric obesity-assessment, treatment, and prevention: An endocrine society clinical practice guideline. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **102**, 709–757 (2017).
34. Lackey, D. E. & Olefsky, J. M. Regulation of metabolism by the innate immune system. *Nat. Rev. Endocrinol.* **12**, 15–20 (2016).
35. Asghar, A. & Sheikh, N. Role of immune cells in obesity induced low grade inflammation and insulin resistance. *Cell. Immunol.* **315**, 18–26 (2017).
36. Petersen, M. C. & Shulman, G. I. Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance. *Physiol. Rev.* **98**, 2133–2223 (2018).
37. Horacio J. Adrogue and Nicolaos E. Madias. Sodium and potassium in the pathogenesis of hypertension. *N Englann J Med.* **10**, 1966–78 (2007).
38. Menéndez, E. *et al.* Prevalence, Diagnosis, Treatment, and Control of Hypertension in Spain. Results of the Di@bet. es Study. *Rev. Española Cardiol. (English Ed.)* **69**, 572–578 (2016).
39. Martín-Espinosa, N. *et al.* Prevalence of high blood pressure and association with obesity in Spanish schoolchildren aged 4–6 years old. *PLoS One* **12**, 1–11 (2017).
40. Bartoloni, E. *et al.* Role of Inflammatory Diseases in Hypertension. *High Blood Press. Cardiovasc. Prev.* **24**, 353–361 (2017).
41. Viridis, A., Giannarelli, C., Neves, M. F., Taddei, S. & Ghiadoni, L. Cigarette smoking and hypertension. *Curr. Pharm. Des.* **16**, 2518–25 (2010).
42. Saladini, F. *et al.* Effects of smoking on central blood pressure and pressure amplification in hypertension of the young. *Vasc. Med. (United Kingdom)* **21**, 422–428 (2016).
43. Mccarron, A. & Reusser, E. Body weight and blood pressure. *Am. J. Clin. Nutr.* **63**, 423–425 (1996).

44. Xie, D. & Bollag, W. B. Obesity, hypertension and aldosterone: is leptin the link? *J. Endocrinol.* **230**, F7–F11 (2016).
45. Beilin, L. J. Alcohol and hypertension. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* **22**, 185–188 (1995).
46. Kawano, Y. Physio-pathological effects of alcohol on the cardiovascular system: Its role in hypertension and cardiovascular disease. *Hypertens. Res.* **33**, 181–191 (2010).
47. Diaz, K. M. & Shimbo, D. Physical activity and the prevention of hypertension. *Curr. Hypertens. Rep.* **15**, 659–668 (2013).
48. Liu, X. et al. Dose-Response Association between Physical Activity and Incident Hypertension: A Systematic Review and Meta-Analysis of Cohort Studies. *Hypertension* **69**, 813–820 (2017).
49. Maróon, F. J. M., Ferder, L., Saraví, F. D. & Manucha, W. Hypertension linked to allostatic load: From psychosocial stress to inflammation and mitochondrial dysfunction. *Stress* **14**, 1–13 (2018).
50. Borghi, C., Urso, R. & Cicero, A. F. Renin-angiotensin system at the crossroad of hypertension and hypercholesterolemia. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **27**, 115–120 (2017).
51. Sarzani, R. et al. Cardiac Natriuretic Peptides, Hypertension and Cardiovascular Risk. *High Blood Press. Cardiovasc. Prev.* **24**, 115–126 (2017).
52. Schiffrin, E. L., Lipman, M. L. & Mann, J. F. E. Chronic kidney disease: effects on the cardiovascular system. *Lancet* **389**, 1238–1252 (2017).
53. Igarashi, R. et al. Impact of individual components and their combinations within a family history of hypertension on the incidence of hypertension. *Medicine (Baltimore)*. **95**, e4564 (2016).
54. Ascaso, J. F. et al. Documento de consenso sobre el manejo de la dislipemia aterogénica de la Sociedad Española de Arteriosclerosis. *Clin. e Investig. en Arterioscler.* **29**, 86–91 (2017).
55. Espallardo, O. et al. The Impact of Severe Obesity on Healthcare Resource Utilisation in Spain. *Obes. Surg.* **27**, 2058–2066 (2017).
56. Quesenberry, C. P., Caan, B. & Jacobson, A. Obesity, health services use, and health care costs among members of a health maintenance organization. **158**, 466–472 (1998).
57. Reidpath, D. D., Crawford, D., Tilgner, L. & Gibbons, C. Relationship between body mass index and the use of healthcare services in Australia. *Obes. Res.* **10**, 526–531 (2002).
58. Mora, T., Gil, J. & Sicras-Mainar, A. The influence of obesity and overweight on medical costs: a panel data perspective. *Eur. J. Heal. Econ.* **16**, 161–173 (2015).
59. McCormick, B. & Stone, I. Economic costs of obesity and the case for. *Obes. Rev.* **8**, 161–164 (2007).
60. Dee, A. et al. The direct and indirect costs of both overweight and obesity: a systematic review. *BMC Res. Notes* **7**, 1–9 (2014).
61. Anthes, E. Treatment: Marginal gains. *Nature* **508**, S54–S56 (2014).
62. Jung, U. J. & Choi, M. S. Obesity and its metabolic complications: The role of adipokines and the relationship between obesity, inflammation, insulin resistance, dyslipidemia and nonalcoholic fatty liver disease. *Int. J. Mol. Sci.* **15**, 6184–6223 (2014).
63. Organisation, W. H. *Nota informativa sobre la ingesta de azúcares recomendada en la directriz de la OMS para adultos y niños.* (2015).

## REFERÈNCIES

64. van Baak, M. A. & Mariman, E. C. M. Mechanisms of weight regain after weight loss —the role of adipose tissue. *Nat. Rev. Endocrinol.* (2019). doi:10.1038/s41574-018-0148-4
65. Cohen, P. & Spiegelman, B. M. Cell biology of fat storage. *Mol. Biol. Cell* **27**, 2523–2527 (2016).
66. Frühbeck, G. Obesity: Screening for the evident in obesity. *Nat. Rev. Endocrinol.* **8**, 570–572 (2012).
67. Kraschnewski, J. L. et al. A silent response to the obesity epidemic: Decline in US physician weight counseling. *Med. Care* **51**, 186–192 (2013).
68. World Health Organisation. World Health Organization: Regional Office for Europe. Obesity. *Data and statistics* (2012).
69. National Institut for Health and Clinical Excellence (NICE). Obesity: guidance on prevention, identification, assessment and management of overweight and obesity in adults and children. *London: National Institute for Health and Clinical Excellence (UK)* (2006).
70. Skolnik, N. & Ryan, D. Pathophysiology, epidemiology, and assessment of obesity in adults. *J Fam Pr.* **63**, S3–S10 (2014).
71. Lee, Y. H., Petkova, A. P., Konkar, A. A. & Granneman, J. G. Cellular origins of cold-induced brown adipocytes in adult mice. *FASEB J.* **29**, 286–299 (2015).
72. Friedl, C. K. E. Personalized Medicine for Diabetes Waist Circumference Threshold Values for Type 2 Diabetes Risk. *J Diabetes Sci Technol.* **3**, 761–769 (2009).
73. Puig, T. et al. Prognostic value of body mass index and waist circumference in patients with chronic heart failure (Spanish REDINSCOR Registry). *Eur. Heart J.* **34**, P1536–P1536 (2014).
74. Reis, J. P. et al. Excess body mass index- and waist circumference-years and incident cardiovascular disease: The CARDIA study. *Obesity* **23**, 879–885 (2015).
75. Palmer, B. F. & Clegg, D. J. The sexual dimorphism of obesity. *Mol. Cell. Endocrinol.* **402**, 113–119 (2015).
76. Rohde, K. et al. Genetics and epigenetics in obesity. *Metabolism.* (2018). doi:10.1016/j.metabol.2018.10.007
77. Mărginean, C. O., Mărginean, C. & Meliț, L. E. New Insights Regarding Genetic Aspects of Childhood Obesity: A Minireview. *Front. Pediatr.* **6**, (2018).
78. Hales, C. M., Carroll, M. D., Fryar, C. D. & Ogden, C. L. Prevalence of Obesity Among Adults and Youth: United States, 2015–2016. *NCHS Data Brief* **288**, 1–8 (2017).
79. Misra, A. Ethnic-Specific Criteria for Classification of Body Mass Index: A Perspective for Asian Indians and American Diabetes Association Position Statement. *Diabetes Technol. Ther.* **17**, 667–671 (2015).
80. Stryjecki, C., Alyass, A. & Meyre, D. Ethnic and population differences in the genetic predisposition to human obesity. *Obes. Rev.* **19**, 62–80 (2018).
81. Loos, R. J. F. & Yeo, G. S. H. The bigger picture of FTO - The first GWAS-identified obesity gene. *Nat. Rev. Endocrinol.* **10**, 51–61 (2014).
82. Soletto, L. et al. Melanocortin Receptor Accessory Protein 2-Induced Adrenocorticotrophic Hormone Response of Human Melanocortin 4 Receptor. *J. Endocr. Soc.* **3**, 314–323 (2018).
83. Nordang, G. B. N. et al. Next-generation sequencing of the monogenic obesity genes LEP, LEPR, MC4R, PCSK1 and POMC in a Norwegian cohort of patients with morbid obesity and normal weight controls. *Mol. Genet. Metab.* **121**, 51–56 (2017).

84. Gluckman, P. D., Hanson, M. A. & Beedle, A. S. Non-genomic transgenerational inheritance of disease risk. *BioEssays* 29, 145–154 (2007).
85. Daxinger, L. & Whitelaw, E. Understanding transgenerational epigenetic inheritance via the gametes in mammals. *Nat. Rev. Genet.* 13, 153–162 (2012).
86. Martínez, D. et al. In Utero Undernutrition in Male Mice Programs Liver Lipid Metabolism in the Second-Generation Offspring Involving Altered Lxra DNA Methylation. *Cell Metab.* 19, 941–951 (2014).
87. Sinha, R. & Jastreboff, A. M. Stress as a common risk factor for obesity and addiction. *Biol. Psychiatry* 73, 827–835 (2013).
88. Antunes, L. C., Levandovski, R., Dantas, G., Caumo, W. & Hidalgo, M. P. Obesity and shift work: Chronobiological aspects. *Nutr. Res. Rev.* 23, 155–168 (2010).
89. Sayon-Orea, C. et al. Type of alcoholic beverage and incidence of overweight/obesity in a Mediterranean cohort: The SUN project. *Nutrition* 27, 802–808 (2010).
90. Caton, S. J., Nolan, L. J. & Hetherington, M. M. Alcohol, Appetite and Loss of Restraint. *Curr. Obes. Rep.* 4, 99–105 (2015).
91. Traversy, G. & Chaput, J. P. Alcohol Consumption and Obesity: An Update. *Curr. Obes. Rep.* 4, 122–130 (2015).
92. Wills, A. G. & Hopfer, C. Phenotypic and genetic relationship between BMI and cigarette smoking in a sample of UK adults. *Addict. Behav.* 89, 98–103 (2019).
93. Verhaegen, A. A. & Van Gaal, L. F. Drug-induced obesity and its metabolic consequences: a review with a focus on mechanisms and possible therapeutic options. *J. Endocrinol. Invest.* 40, 1165–1174 (2017).
94. Matsumoto, C., Miedema, M. D., Ofman, P., Gaziano, J. M. & Sesso, H. D. An expanding knowledge of the mechanisms and effects of alcohol consumption on cardiovascular disease. *J. Cardiopulm. Rehabil. Prev.* 34, 159–171 (2014).
95. Boffetta, P. & Hashibe, M. Alcohol and cancer. *Lancet Oncol* 7, 149–56 (2006).
96. Tabuchi, T., Ozaki, K., Ioka, A. & Miyashiro, I. Joint and independent effect of alcohol and tobacco use on the risk of subsequent cancer incidence among cancer survivors: A cohort study using cancer registries. *Int. J. Cancer* 1–23 (2013). doi:10.1002/elsc.201200179
97. Burgess, E., Hassmén, P., Welvaert, M. & Pumpa, K. L. Behavioural treatment strategies improve adherence to lifestyle intervention programmes in adults with obesity: a systematic review and meta-analysis. *Clin. Obes.* 7, 105–114 (2017).
98. Seidell, J. C. & Halberstadt, J. The global burden of obesity and the challenges of prevention. *Ann. Nutr. Metab.* 66, 7–12 (2015).
99. Álvarez-Sánchez, C. et al. Does the Mexican sugar-sweetened beverage tax have a signaling effect? ENSANUT 2016. *PLoS One* 13, 1–18 (2018).
100. Briggs, A. D. M. et al. Health impact assessment of the UK soft drinks industry levy: a comparative risk assessment modelling study. *Lancet Public Heal.* 2, e15–e22 (2017).
101. Vall Castelló, J. & Lopez Casanova, G. Impact of SSB taxes on consumption. Centre for Reseach & Institut d’Economia de Barcelona and Centre for Research in Health and Economics Universitat Pompeu Fabra. (2018).
102. The Lancet Public Health. Obesity: the sweet revenge of tax. *Lancet Public Heal.* 2, e1(2017).
103. Frame-Peterson, L. A., Megill, R. D., Carobrese, S. & Schweitzer, M. Nutrient Deficiencies Are Common Prior to Bariatric Surgery. *Nutr. Clin. Pract.* 32, 463–469 (2017).

## REFERÈNCIES

104. Barbosa Mier, Johanna Patricia. «Manejo quirúrgico de la obesidad. (2016).
105. Angrisani, L. et al. Bariatric Surgery and Endoluminal Procedures: IFSO Worldwide Survey 2014. *Obes. Surg.* 27, 1–11 (2017).
106. Aminian, A. et al. Can sleeve gastrectomy ‘cure’ diabetes? Long-term metabolic effects of sleeve gastrectomy in patients with type 2 diabetes. *Ann. Surg.* 264, 674–681 (2016).
107. Aminian, A. Sleeve Gastrectomy: Metabolic Surgical Procedure of Choice? *Trends Endocrinol. Metab.* 29, 531–534 (2018).
108. Tack, J. & Deloof, E. Complications of bariatric surgery: Dumping syndrome, reflux and vitamin deficiencies. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 28, 741–749 (2014).
109. Verger, E. O. et al. Micronutrient and Protein Deficiencies After Gastric Bypass and Sleeve Gastrectomy: a 1-year Follow-up. *Obes. Surg.* 26, 785–796 (2016).
110. Weng, T. C., Chang, C. H., Dong, Y. H., Chang, Y. C. & Chuang, L. M. Anaemia and related nutrient deficiencies after Roux-en-Y gastric bypass surgery: A systematic review and meta-analysis. *BMJ Open* 5, 1–12 (2015).
111. James, H., Lorentz, P. & Collazo-Clavell, M. L. Patient-Reported Adherence to Empiric Vitamin/Mineral Supplementation and Related Nutrient Deficiencies After Roux-en-Y Gastric Bypass. *Obes. Surg.* 26, 2661–2666 (2016).
112. Scopinaro, N. Biliopancreatic Diversion: Mechanisms of Action and Long-Term Results. *Obes. Surg.* 16, 683–689 (2006).
113. Vilallonga, R. et al. Technical Options for Malabsorption Issues After Single Anastomosis Duodenoileal Bypass with Sleeve Gastrectomy. *Obes. Surg.* 27, 3344–3348 (2017).
114. Angrisani, L. et al. Bariatric Surgery Worldwide 2013. *Obes. Surg.* 25, 1822–1832 (2015).
115. Yaqub, A., Smith, E. P. & Salehi, M. Hyperinsulinemic hypoglycemia after gastric bypass surgery: What’s up and what’s down? *Int. J. Obes.* 42, 286–294 (2018).
116. Duke, M. C. & Farrell, T. M. Surgery for Gastroesophageal Reflux Disease in the Morbidly Obese Patient. *J. Laparoendosc. Adv. Surg. Tech.* 27, 12–18 (2016).
117. Bult, M. J., van Dalen, T. & Muller, A. F. Surgical treatment of obesity 397. *Eur. J. Endocrinol.* 158, 135–145 (2008).
118. Le Roux, C. W. & Bloom, S. R. Editorial: Why do patients lose weight after Roux-en-Y gastric bypass? *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 90, 591–592 (2005).
119. Vink, R. G., Roumans, N. J. T., Arkenbosch, L. A. J., Mariman, E. C. M. & Van Baak, M. A. The effect of rate of weight loss on long-term weight regain in adults with overweight and obesity. *Obesity* 24, 321–327 (2016).
120. Herrera, M. A. R., Pomar, M. D. B., Pernaute, A. S. & Torres García, A. J. *Manual Obesidad mórbida 2a.* (2015).
121. Sjöström, L. et al. Lifestyle, diabetes, and cardiovascular risk factors 10 years after bariatric surgery. *N. Engl. J. Med.* 351, 1493–1501 (2004).
122. Delling, L. et al. Feasibility of bariatric surgery as a strategy for secondary prevention in cardiovascular disease: A report from the Swedish Obese subjects trial. *J. Obes.* 2010, (2010).
123. Sjöström, L. et al. Bariatric surgery and long-term cardiovascular events. *JAMA - J. Am. Med. Assoc.* 307, 56–65 (2012).
124. Sjöström, L. et al. Association of Bariatric Surgery With Long-term Remission of Type 2 Diabetes and With Microvascular and Macrovascular Complications. *Bariatric Surgery, Type 2 Diabetes, and Complications*. *JAMA* 311, 2297–2304 (2014).

125. Alvarado, R. et al. The Impact of Preoperative Weight Loss in Patients Undergoing Laparoscopic Roux-en-Y Gastric Bypass. *Obes. Surg.* 15, 1282–6 (2005).
126. Ali, M. R. et al. Weight loss before gastric bypass: feasibility and effect on postoperative weight loss and weight loss maintenance. *Surg. Obes. Relat. Dis.* 3, 515–520 (2007).
127. Solomon, H., Liu, G. Y., Alami, R., Morton, J. & Curet, M. J. Benefits to Patients Choosing Preoperative Weight Loss in Gastric Bypass Surgery: New Results of a Randomized Trial. *J. Am. Coll. Surg.* 208, 241–245 (2008).
128. Paulus, G. F. et al. Bariatric Surgery in Morbidly Obese Adolescents: a Systematic Review and Meta-analysis. *Obes. Surg.* 25, 860–878 (2015).
129. Beamish, A. J. & Reinehr, T. Should bariatric surgery be performed in adolescents? *Eur. J. Endocrinol.* 176, D1–D15 (2017).
130. Olbers, T. et al. Laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass in adolescents with severe obesity (AMOS): a prospective, 5-year, Swedish nationwide study. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 5, 174–183 (2017).
131. Quebbemann, B., Engstrom, D., Siegfried, T., Garner, K. & Dallal, R. Bariatric surgery in patients older than 65 years is safe and effective. *Surg. Obes. Relat. Dis.* 1, 389–392 (2005).
132. Giordano, S. & Victorzon, M. Bariatric surgery in elderly patients: a systematic review. *Clin. Interv. Aging* 1627 (2015). doi:10.2147/cia.s70313
133. Vinan-Vega, M., Diaz Vico, T. & Elli, E. F. Bariatric Surgery in the Elderly Patient: Safety and Short-time Outcome. A Case Match Analysis. *Obes. Surg.* 7, 9–11 (2018).
134. Chang, S.-H. et al. The Effectiveness and Risks of Bariatric Surgery. *JAMA Surg.* 149, 275–287 (2013).
135. Ziegler, O., Sirveaux, M. A., Brunaud, L., Reibel, N. & Quilliot, D. Medical follow up after bariatric surgery: nutritional and drug issues General recommendations for the prevention and treatment of nutritional deficiencies. *Diabetes Metab.* 35, 544–557 (2009).
136. Bal, B. S., Finelli, F. C., Shope, T. R. & Koch, T. R. Nutritional deficiencies after bariatric surgery. *Nat. Rev. Endocrinol.* 8, 544–556 (2012).
137. Casajoana, A. et al. Predictive Value of Gut Peptides in T2D Remission: Randomized Controlled Trial Comparing Metabolic Gastric Bypass, Sleeve Gastrectomy and Greater Curvature Plication. *Obes. Surg.* 27, 2235–2245 (2017).
138. Amouyal, C. & Andreelli, F. What is the evidence for metabolic surgery for type 2 diabetes? A critical perspective. *Diabetes Metab.* 43, 9–17 (2017).
139. Cummings, D. E. & Cohen, R. V. Bariatric/Metabolic surgery to treat type 2 diabetes in patients with a bmi <math>\leq 35</math> kg/m<sup>2</sup>. *Diabetes Care* 39, 924–933 (2016).
140. Esteve Ràfols, M. Tejido adiposo: Heterogeneidad celular y diversidad funcional. *Endocrinol. y Nutr.* 61, 100–112 (2014).
141. Ambrosi, T. H. & Schulz, T. J. The emerging role of bone marrow adipose tissue in bone health and dysfunction. *J. Mol. Med.* 95, 1291–1301 (2017).
142. Horowitz, M. C. et al. Bone marrow adipocytes. *Adipocyte* 6, 193–204 (2017).
143. Rosen, E. D. & Spiegelman, B. M. What we talk about when we talk about fat. *Cell* 156, 20–44 (2014).
144. Cleal, L., Aldea, T. & Chau, Y. Y. Fifty shades of white: Understanding heterogeneity in white adipose stem cells. *Adipocyte* 6, 205–216 (2017).



## REFERÈNCIES

145. Spalding, K. L. et al. Impact of fat mass and distribution on lipid turnover in human adipose tissue. *Nat. Commun.* 8, 15253 (2017).
146. Tchkonina, T. et al. Fat depot origin affects adipogenesis in primary cultured and cloned human preadipocytes. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 282, 1286–96 (2002).
147. Grant, R. W. & Dixit, V. D. Adipose tissue as an immunological organ. *Obesity* 23, 512–518 (2015).
148. Stenkula, K. G. & Erlanson-Albertsson, C. Adipose cell size: Importance in health and disease. 35, 97–108 (2018).
149. Zechner, R. et al. FAT SIGNALS - Lipases and lipolysis in lipid metabolism and signaling. *Cell Metab.* 15, 279–291 (2012).
150. Bartelt, A. & Heeren, J. Adipose tissue browning and metabolic health. *Nat. Rev. Endocrinol.* 10, 24–36 (2014).
151. Lam, Y. Y. & Ravussin, E. Analysis of energy metabolism in humans: A review of methodologies. *Mol. Metab.* 5, 1057–1071 (2016).
152. Hall, K. D. & Guo, J. Obesity Energetics: Body Weight Regulation and the Effects of Diet Composition. *Gastroenterology* 152, 1718–1727.e3 (2017).
153. St-Onge, M. P. The Role of Sleep Duration in the Regulation of Energy balance: Effects on Energy intakes and Expenditure. *J. Clin. Sleep Med.* 9, 73–80 (2013).
154. Hunter, G. R., Fisher, G., Neumeier, W. H., Carter, S. J. & Plaisance, E. P. Exercise Training and Energy Expenditure following Weight Loss. *Med. Sci. Sports Exerc.* 47, 1950–1957 (2015).
155. Charlot, K., Faure, C. & Antoine-Jonville, S. Influence of hot and cold environments on the regulation of energy balance following a single exercise session: A mini-review. *Nutrients* 9, (2017).
156. McLaughlin, T. et al. Adipose Cell Size and Regional Fat Deposition as Predictors of Metabolic Response to Overfeeding in Insulin-Resistant and Insulin-Sensitive Humans. 65, 1245–54 (2014).
157. Haczeyni, F., Bell-Anderson, K. S. & Farrell, G. C. Causes and mechanisms of adipocyte enlargement and adipose expansion. *Obes. Rev.* 19, 406–420 (2018).
158. Vázquez-Velázquez, V. et al. Differences in Body Composition in Patients with Obesity 1 Year After Roux-En-Y Gastric Bypass: Successful Vs. Unsuccessful Weight Loss. *Obes. Surg.* 28, 864–868 (2018).
159. Ouchi, N., Parker, J. L., Lugus, J. J. & Walsh, K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat. Rev. Immunol.* 11, 85–97 (2011).
160. Unamuno, X. et al. Adipokine dysregulation and adipose tissue inflammation in human obesity. *Eur. J. Clin. Invest.* 48, 0–2 (2018).
161. Pellegrinelli, V., Carobbio, S. & Vidal-Puig, A. Adipose tissue plasticity: how fat depots respond differently to pathophysiological cues. *Diabetologia* 59, 1075–1088 (2016).
162. Virtue, S. & Vidal-Puig, A. Adipose tissue expandability, lipotoxicity and the Metabolic Syndrome - An allostatic perspective. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Biol. Lipids* 1801, 338–349 (2010).
163. Galic, S., Oakhill, J. S. & Steinberg, G. R. Adipose Tissue as an Endocrine Organ. *Cell. Endocrinol. Heal. Dis.* 316, 129–139 (2010).
164. Cao, Y. Angiogenesis and vascular functions in modulation of obesity, adipose metabolism, and insulin sensitivity. *Cell Metab.* 18, 478–489 (2013).
165. Barinaga, M. 'Obese' protein slims mice. *Science (80-. )*. 269, 475–476 (2006).

166. Ronti, T., Lupattelli, G. & Mannarino, E. The endocrine function of adipose tissue: An update. *Clin. Endocrinol. (Oxf)*. 64, 355–365 (2006).
167. Crujeiras, A. B. et al. Leptin resistance in obesity: An epigenetic landscape. *Life Sci*. 140, 57–63 (2015).
168. Allison, M. B. & Jr, M. G. M. NIH Public Access. *J Endocrinol* 223, 1–17 (2015).
169. Lin, Z. et al. Adiponectin mediates the metabolic effects of FGF21 on glucose homeostasis and insulin sensitivity in mice. *Cell Metab*. 17, 779–789 (2013).
170. Yamauchi, T. & Kadowaki, T. Adiponectin receptor as a key player in healthy longevity and obesity-related diseases. *Cell Metab*. 17, 185–196 (2013).
171. Matsushita, K. et al. Comparison of Circulating Adiponectin and Proinflammatory Markers Regarding Their Association With Metabolic Syndrome in Japanese Men. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 26, 871–876 (2006).
172. Phillips, C. M. & Perry, I. J. Does inflammation determine metabolic health status in obese and nonobese adults? *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 98, 1–10 (2013).
173. Lackey, D. E. et al. Contributions of adipose tissue architectural and tensile properties toward defining healthy and unhealthy obesity. *Am. J. Physiol. Metab*. 306, E233–E246 (2013).
174. Andersen, C. J., Murphy, K. E. & Fernandez, M. L. Impact of Obesity and Metabolic Syndrome on Immunity. *Adv. Nutr.* 7, 66–75 (2016).
175. Gavaldà-Navarro, A. et al. Lipopolysaccharide-binding protein is a negative regulator of adipose tissue browning in mice and humans. *Diabetologia* 59, 2208–2218 (2016).
176. Villarroya, F., Cereijo, R., Gavaldà-Navarro, A., Villarroya, J. & Giral, M. Inflammation of brown/beige adipose tissues in obesity and metabolic disease. *J. Intern. Med*. 284, 492–504 (2018).
177. Fujisaka, S. et al. Regulatory mechanisms for adipose tissue M1 and M2 macrophages in diet-induced obese mice. *Diabetes* 58, 2574–2582 (2009).
178. Lumeng, C. N. Innate immune activation in obesity. *Mol. Aspects Med*. 34, 12–29 (2013).
179. Lumeng, C. N., Bodzin, J. L. & Saltiel, A. R. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *J. Clin. Invest*. 117, 175–184 (2007).
180. McNelis, J. C. & Olefsky, J. M. Macrophages, Immunity, and Metabolic Disease. *Immunity* 41, 36–48 (2014).
181. Bassaganya-Riera, J., Misyak, S., Guri, A. J. & Hontecillas, R. PPAR  $\gamma$  is highly expressed in F4/80hi adipose tissue macrophages and dampens adipose-tissue inflammation. *Cell. Immunol*. 258, 138–146 (2009).
182. Zhang, Q. et al. M2 macrophages infusion ameliorates obesity and insulin resistance by remodeling inflammatory/macrophages' homeostasis in obese mice. *Mol. Cell. Endocrinol*. 443, 63–71 (2017).
183. Bai, Y. & Sun, Q. Macrophage recruitment in obese adipose tissue. *Obes. Rev*. 16, 127–136 (2015).
184. Oh, D. Y., Morinaga, H., Talukdar, S., Bae, E. J. & Olefsky, J. M. Increased Macrophage Migration Into Adipose Tissue in Obese Mice. *Diabetes* 61, 346–354 (2011).
185. Sell, H., Habich, C. & Eckel, J. Adaptive immunity in obesity and insulin resistance. *Nat. Rev. Endocrinol*. 8, 709–716 (2012).
186. Becker, S., Groner, B. & Müller, C. W. Three-dimensional structure of the Stat3 $\beta$  homodimer bound to DNA. *Nature* 394, 145 (1998).

## REFERÈNCIES

187. Cinti, S. The role of brown adipose tissue in human obesity. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 16, 569–574 (2006).
188. Cereijo, R., Giralt, M. & Villarroya, F. Thermogenic brown and beige/brite adipogenesis in humans. *Ann. Med.* 47, 169–177 (2015).
189. Cypess, A. M. et al. Identification and Importance of Brown Adipose Tissue in Adult Humans. *Am. J. Med.* 121, 1509–1526 (2009).
190. Sampath, S. C., Sampath, S. C., Bredella, M. A., Cypess, A. M. & Torriani, M. Imaging of Brown Adipose Tissue: State of the Art. *Radiology* 280, 4–19 (2016).
191. Marlatt, K. L. & Ravussin, E. Brown adipose tissue: an update on recent findings. *Curr. Obes. Rep.* 6, 389–396 (2017).
192. Cypess, A. M. et al. Anatomical localization, gene expression profiling and functional characterization of adult human neck brown fat. *Nat. Med.* 19, 635–639 (2013).
193. Jespersen, N. Z. et al. A Classical Brown Adipose Tissue mRNA Signature Partly Overlaps with Brite in the Supraclavicular Region of Adult Humans. *Cell Metab.* 17, 798–805 (2013).
194. Giralt, M. & Villarroya, F. White, brown, beige/brite: Different adipose cells for different functions? *Endocrinology* 154, 2992–3000 (2013).
195. van den Berg, S. M., van Dam, A. D., Rensen, P. C. N., de Winther, M. P. J. & Lutgens, E. Immune modulation of brown(in)g adipose tissue in obesity. *Endocr. Rev.* 38, 46–68 (2017).
196. Sanchez-Delgado, G. et al. Role of exercise in the activation of brown adipose tissue. *Ann. Nutr. Metab.* 67, 21–32 (2015).
197. Aldiss, P. et al. Exercise-induced ‘browning’ of adipose tissues. *Metabolism*. 81, 63–70 (2018).
198. Cannon, B. & Nedergaard, J. Brown Adipose Tissue: Function and Physiological Significance. *Physiol. Rev.* 84, 277–359 (2004).
199. Villarroya, F., Gavaldà-Navarro, A., Peyrou, M., Villarroya, J. & Giralt, M. The Lives and Times of Brown Adipokines. *Trends Endocrinol. Metab.* 28, 855–867 (2017).
200. Morrison, S. F. 2010 Carl Ludwig Distinguished Lectureship of the APS Neural Control and Autonomic Regulation Section: Central neural pathways for thermoregulatory cold defense. *J. Appl. Physiol.* 110, 1137–1149 (2011).
201. Cannon, B. & Nedergaard, J. What Ignites UCP1? *Cell Metab.* 26, 697–698 (2017).
202. Blondin, D. P., Tingelstad, H. C., Mantha, O. L., Gosselin, C. & Haman, F. Maintaining thermogenesis in cold exposed humans: Relying on multiple metabolic pathways. *Compr. Physiol.* 4, 1383–1402 (2014).
203. Harms, M. & Seale, P. Brown and beige fat: Development, function and therapeutic potential. *Nat. Med.* 19, 1252–1263 (2013).
204. Morrison, S. F., Madden, C. J. & Tupone, D. Central neural regulation of brown adipose tissue thermogenesis and energy expenditure. *Cell Metab.* 19, 741–756 (2014).
205. Vargas-Castillo, A., Fuentes-Romero, R., Rodriguez-Lopez, L. A., Torres, N. & Tovar, A. R. Understanding the Biology of Thermogenic Fat: Is Browning A New Approach to the Treatment of Obesity? *Arch. Med. Res.* 48, 401–413 (2017).
206. Haman, F. Shivering in the cold: from mechanisms of fuel selection to survival. *J. Appl. Physiol.* 100, 1702–1708 (2006).
207. Heaton, J. The distribution of brown adipose tissue in the human. *J. Anat.* 112, 35–39 (1972).
208. Nedergaard, J., Bengtsson, T. & Cannon, B. Unexpected evidence for active brown adipose tissue in adult humans. *Am. J. Physiol. Metab.* 293, E444–E452 (2007).

209. Hilliges, M., Wang, L. & Johansson, O. Ultrastructural evidence for nerve fibers within all vital layers of the human epidermis. *J. Invest. Dermatol.* 104, 134–137 (1995).
210. Mckemy, D. D., Neuhauser, W. M. & Julius, D. Identification of a cold receptor reveals a general role for TRP channels in thermosensation. *416*, 52–8 (2002).
211. Peier, A. M. et al. A TRP channel that senses cold stimuli and menthol. *Cell* 108, 705–715 (2002).
212. Davis, K. D., Kwan, C. L., Crawley, A. P. & Mikulis, D. J. Functional MRI Study of Thalamic and Cortical Activations Evoked by Cutaneous Heat, Cold, and Tactile Stimuli. *J. Neurophysiol.* 80, 1533–1546 (2017).
213. Egan, G. F. et al. Cortical, thalamic, and hypothalamic responses to cooling and warming the skin in awake humans: A positron-emission tomography study. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 102, 5262–5267 (2005).
214. Schepers, R. J. & Ringkamp, M. Thermoreceptors and thermosensitive afferents. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 34, 177–184 (2010).
215. Hu, H. H., Tovar, J. P., Pavlova, Z., Smith, M. L. & Gilsanz, V. Unequivocal identification of brown adipose tissue in a human infant. *J. Magn. Reson. Imaging* 35, 938–942 (2011).
216. McAllen, R. M., Tanaka, M., Ootsuka, Y. & McKinley, M. J. Multiple thermoregulatory effectors with independent central controls. *Eur. J. Appl. Physiol.* 109, 27–33 (2010).
217. Matsushita, M. et al. Impact of brown adipose tissue on body fatness and glucose metabolism in healthy humans. *Int. J. Obes.* 38, 812–817 (2014).
218. Nakamura, K. Central circuitries for body temperature regulation and fever. *Am. J. Physiol. Integr. Comp. Physiol.* 301, R1207–R1228 (2011).
219. Tanaka, M., Owens, N. C., Nagashima, K., Kanosue, K. & McAllen, R. M. Reflex activation of rat fusimotor neurons by body surface cooling, and its dependence on the medullary raphé. *J. Physiol.* 572, 569–583 (2006).
220. Villarroya, J., Cereijo, R. & Villarroya, F. An endocrine role for brown adipose tissue? *Am. J. Physiol. Metab.* 305, E567–E572 (2013).
221. Villarroya, F. & Vidal-Puig, A. Beyond the sympathetic tone: The new brown fat activators. *Cell Metab.* 17, 638–643 (2013).
222. Bukowiecki, L. J. Energy balance and diabetes. The effects of cold exposure, exercise training, and diet composition on glucose tolerance and glucose metabolism in rat peripheral tissues. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 67, 382–93 (1989).
223. Villarroya, F., Gavaldà-Navarro, A., Peyrou, M., Villarroya, J. & Giralt, M. Brown Adipokines. *Handb. Exp. Pharmacol.* (2018). doi:10.1007/164\_2018\_119
224. Fitzgibbons, T. P. et al. Similarity of mouse perivascular and brown adipose tissues and their resistance to diet-induced inflammation. *Am. J. Physiol. Circ. Physiol.* 301, H1425–H1437 (2011).
225. Sakamoto, T. et al. Macrophage infiltration into obese adipose tissues suppresses the induction of UCP1 level in mice. *Am. J. Physiol. Metab.* 310, E676–E687 (2016).
226. Bae, J. et al. Activation of pattern recognition receptors in brown adipocytes induces inflammation and suppresses uncoupling protein 1 expression and mitochondrial respiration. *Am. J. Physiol. Physiol.* 306, C918–C930 (2014).
227. Orava, J. et al. Different metabolic responses of human brown adipose tissue to activation by cold and insulin. *Cell Metab.* 14, 272–279 (2011).

## REFERÈNCIES

228. Giralt, M., Gavaldà-Navarro, A. & Villarroya, F. Fibroblast growth factor-21, energy balance and obesity. *Mol. Cell. Endocrinol.* 418, 66–73 (2015).
229. Orava, J. et al. Blunted metabolic responses to cold and insulin stimulation in brown adipose tissue of obese humans. *Obesity* 21, 2279–2287 (2013).
230. Foltz, I. N. et al. Treating Diabetes and Obesity with an FGF21-Mimetic Antibody Activating the Klotho/FGFR1c Receptor Complex. *Sci. Transl. Med.* 4, 162ra153–162ra153 (2012).
231. Alcalá, M. et al. Increased inflammation, oxidative stress and mitochondrial respiration in brown adipose tissue from obese mice. *Sci. Rep.* 7, 1–12 (2017).
232. Cereijo, R. et al. CXCL14, a Brown Adipokine that Mediates Brown-Fat-to-Macrophage Communication in Thermogenic Adaptation. *Cell Metab.* 28, 750–763.e6 (2018).
233. Lizcano, F. & Vargas, D. Biology of Beige Adipocyte and Possible Therapy for Type 2 Diabetes and Obesity. *Int. J. Endocrinol.* 2016, 1–10 (2016).
234. Nedergaard, J. & Cannon, B. The browning of white adipose tissue: Some burning issues. *Cell Metab.* 20, 396–407 (2014).
235. Singh, A. M. & Dalton, S. What Can ‘Brown-ing’ Do For You? *Trends Endocrinol. Metab.* 29, 349–359 (2018).
236. Jung, S. M., Sanchez-Gurmaches, J. & Guertin, D. A. Brown adipose tissue development and metabolism. *Handb. Exp. Pharmacol.* 1–34 (2018). doi:10.1007/164\_2018\_168
237. Wang, Q. A., Tao, C., Gupta, R. K. & Scherer, P. E. Tracking adipogenesis during white adipose tissue development, expansion and regeneration. *Nat. Med.* 19, 1338–1344 (2013).
238. Cereijo, R., Villarroya, J. & Villarroya, F. Non-sympathetic control of brown adipose tissue. *Int. J. Obes. Suppl.* 5, S40–S44 (2015).
239. de Jong, J. M. A. et al. The  $\beta_3$  -adrenergic receptor is dispensable for browning of adipose tissues. *Am. J. Physiol. Metab.* 312, E508–E518 (2017).
240. White, U. A., Stewart, W. C. & Stephens, J. M. Gp130 cytokines exert differential patterns of crosstalk in adipocytes both in vitro and in vivo. *Obesity* 19, 903–910 (2011).
241. Sanchez-Infantes, D. et al. Oncostatin M is produced in adipose tissue and is regulated in conditions of obesity and type 2 diabetes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 99, 1–9 (2014).
242. Garbers, C. et al. Plasticity and cross-talk of Interleukin 6-type cytokines. *Cytokine Growth Factor Rev.* 23, 85–97 (2012).
243. Heinrich, P. C., Behrmann, I., Haan, S., Hermans, H. M. & Uller-newen, G. M. Principles of IL 6 type cytokine signaling and its regulating. *Biochem j* 374, 1–20 (2003).
244. Ma, D., Wang, Y., Zhou, G., Wang, Y. & Li, X. Review: the Roles and Mechanisms of Glycoprotein 130 Cytokines in the Regulation of Adipocyte Biological Function. *Inflammation* (2019). doi:10.1007/s10753-019-00959-6
245. Stephens, J. M. & Elks, C. M. Oncostatin M: Potential Implications for Malignancy and Metabolism. *Curr. Pharm. Des.* 23, 3645–3657 (2017).
246. Elks, C. M. et al. Loss of Oncostatin M Signaling in Adipocytes Induces Insulin Resistance and Adipose Tissue Inflammation in Vivo. *J. Biol. Chem.* 291, 17066–17076 (2016).
247. Jones, S. A. & Jenkins, B. J. Recent insights into targeting the IL-6 cytokine family in inflammatory diseases

- and cancer. *Nat. Rev. Immunol.* 18, 773–789 (2018).
248. Gómez-Lechón, M. J. Oncostatin M: Signal transduction and biological activity. *Life Sci.* 65, 2019–2030 (1999).
249. Elks, C. & Stephens, J. Oncostatin M Modulation of Lipid Storage. *Biology (Basel)*. 4, 151–160 (2015).
250. Rega, G. et al. Inflammatory cytokines interleukin-6 and oncostatin M induce plasminogen activator inhibitor-1 in human adipose tissue. *Circulation* 111, 1938–1945 (2005).
251. Sánchez-Infantes, D. et al. Oncostatin m impairs brown adipose tissue thermogenic function and the browning of subcutaneous white adipose tissue. *Obesity* 85–93 (2016).
252. Law, J. et al. Thermal Imaging Is a Noninvasive Alternative to PET/CT for Measurement of Brown Adipose Tissue Activity in Humans. *J. Nucl. Med.* 59, 516–522 (2017).
253. Chondronikola, M., Beeman, S. C. & Wahl, R. L. Non-invasive methods for the assessment of brown adipose tissue in humans. *J. Physiol.* 596, 363–378 (2018).
254. Martínez-Tellez, B. et al. A new personalized cooling protocol to activate brown adipose tissue in young adults. *Front. Physiol.* 8, 1–10 (2017).
255. Ong, F. J. et al. Recent advances in the detection of brown adipose tissue in adult humans: a review. *Clin. Sci.* 132, 1039–1054 (2018).
256. van der Lans, A. A. et al. Cold-activated brown adipose tissue in human adults: methodological issues. *Am. J. Physiol. Integr. Comp. Physiol.* 307, R103–R113 (2014).
257. Blondin, D. P. et al. A critical appraisal of brown adipose tissue metabolism in humans. *Clin. Lipidol.* 10, 259–280 (2015).
258. Cheebsumon, P. et al. Measuring response to therapy using FDG PET: Semi-quantitative and full kinetic analysis. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* 38, 832–842 (2011).
259. Reeder, S. B., Hu, H. H. & Sirlin, C. B. Proton density fat-fraction: A standardized mr-based biomarker of tissue fat concentration. *J. Magn. Reson. Imaging* 36, 1011–1014(2012).
260. Robinson, L., Ojha, S., Symonds, M. E. & Budge, H. Body mass index as a determinant of brown adipose tissue function in healthy children. *J. Pediatr.* 164, 318–322.e1 (2014).
261. Baron, D. M. et al. Brown Adipose Tissue Blood Flow and Mass in Obesity: A Contrast Ultrasound Study in Mice. *J. Am. Soc. Echocardiogr.* 26, 1465–1473 (2013).
262. Schinkel, A. F. L., Kaspar, M. & Staub, D. Contrast-enhanced ultrasound: clinical applications in patients with atherosclerosis. *Int. J. Cardiovasc. Imaging* 32, 35–48 (2016).
263. Symonds, M. E. et al. Thermal imaging to assess age-related changes of skin temperature within the supraclavicular region co-locating with brown adipose tissue in healthy children. *J. Pediatr.* 161, 892–898 (2012).
264. Martínez-Tellez, B. et al. Differences between the most used equations in BAT-human studies to estimate parameters of skin temperature in young lean men. *Sci. Rep.* 7, 1–12 (2017).
265. Robinson, L. J., Law, J. M., Symonds, M. E. & Budge, H. Brown adipose tissue activation as measured by infrared thermography by mild anticipatory psychological stress in lean healthy females. *Exp. Physiol.* 101, 549–557 (2016).
266. Scotney, H. et al. Glucocorticoids modulate human brown adipose tissue thermogenesis in vivo. *Metabolism.* 70, 125–132 (2017).
267. Smith, A. D. H., Crabtree, D. R., Bilzon, J. L. J. & Walsh, N. P. The validity of wireless iButtons® and thermis-

## REFERÈNCIES

- tors for human skin temperature measurement. *Physiol. Meas.* 31, 95–114 (2010).
268. Vollmer, M. & Möllmann, K. *Infrared Thermal Imaging Fundamentals, Research and Applications.* (Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2010).
269. Fluke Corporation i The Snell Group. *Introducción a los Principios de la Termografía.* (American Technical Publishers, Inc, 2009).
270. Law, J. et al. The use of infrared thermography in the measurement and characterization of brown adipose tissue activation. *Temperature* 5, 147–161 (2017).
271. Lee, P. et al. Temperature-acclimated brown adipose tissue modulates insulin sensitivity in humans. *177*, 1–13 (2014).
272. Ramage, L. E. et al. Glucocorticoids Acutely Increase Brown Adipose Tissue Activity in Humans, Revealing Species-Specific Differences in UCP-1 Regulation. *Cell Metab.* 24, 130–141 (2016).
273. Haq, T. et al. Optimizing the methodology for measuring supraclavicular skin temperature using infrared thermography; Implications for measuring brown adipose tissue activity in humans. *Sci. Rep.* 7, 1–9 (2017).
274. Gatidis, S. et al. Is it possible to detect activated brown adipose tissue in humans using single-time-point infrared thermography under thermoneutral conditions? Impact of BMI and subcutaneous adipose tissue thickness. *PLoS One* 11, (2016).
275. Miyaoka, Y., Tanaka, M., Naiki, T. & Miyajima, A. Oncostatin M inhibits adipogenesis through the RAS/ERK and STAT5 signaling pathways. *J. Biol. Chem.* 281, 37913–37920 (2006).
276. White, U. A., Stewart, W. C., Mynatt, R. L. & Stephens, J. M. Neuropoietin attenuates adipogenesis and induces insulin resistance in adipocytes. *J. Biol. Chem.* 283, 22505–22512 (2008).
277. Pellitero, S. et al. Opposite changes in meteorin-like and oncostatin m levels are associated with metabolic improvements after bariatric surgery. *Int. J. Obes.* 42, 919 (2017).
278. Caprio, S., Pierpont, B. & Kursawe, R. The “adipose tissue expandability” hypothesis: a potential mechanism for insulin resistance in obese youth. *33*(2), pp (2018).
279. Griera Borrás, J. L. & Contreras Gilbert, J. ¿Existe el obeso sano? *Endocrinol. y Nutr.* 61, 47–51 (2014).
280. Arner, E. et al. Adipocyte turnover: Relevance to human adipose tissue morphology. *Diabetes* 59, 105–109 (2010).
281. Weyer C, Foley J.E, Borgadus C, Tataranni P.A & Pratley R.E. Enlarged subcutaneous abdominal adipocyte size, but not obesity itself, predicts Type II diabetes independent of insulin resistance. *Diabetologia* 43, 1498–1506 (2000).
282. Acosta, J. R. et al. Increased fat cell size: a major phenotype of subcutaneous white adipose tissue in non-obese individuals with type 2 diabetes. *Diabetologia* 59, 560–570 (2016).
283. Patel, P. & Abate, N. Body fat distribution and insulin resistance. *Nutrients* 5, 2019–2027 (2013).
284. Virtanen, K. A. et al. Functional Brown Adipose Tissue in Healthy Adults. *N. Engl. J. Med.* 360, 1518–1525 (2009).
285. Justinussen, T., Madsbad, S., Holst, J. J. & Bojsen-Møller, K. N. Pros and cons of Roux en-Y gastric bypass surgery in obese patients with type 2 diabetes. *Expert Rev. Endocrinol. Metab.* 14, 243–257 (2019).
286. Rachid, B. et al. Distinct regulation of hypothalamic and brown/beige adipose tissue activities in human obesity. *Int. J. Obes.* 39, 1515 (2015).





L'obesitat és una patologia crònica que en les darreres dècades s'ha incrementat de manera alarmant al món especialment en els països més desenvolupats. Malgrat que la dieta i l'exercici físic són dos agents primordials en el tractament d'aquesta malaltia, la seva efectivitat en els pacients amb obesitat mòrbida no sembla ser del tot eficient. Actualment i donat que a nivell farmacològic els recursos són molt limitats, la única alternativa eficaç a mig-llarg termini és la cirurgia bariàtrica. El teixit adipós presenta unes funcions reguladores en l'organisme. En la patologia de l'obesitat en la qual aquest teixit pot arribar a suposar més de la meitat del pes corporal del pacient, la seva acció és d'important rellevància. Els processos d'hipertrofia e hiperplàsia del teixit donaran resposta a la necessitat d'emmagatzematge d'energia però aquesta situació mantinguda en el temps esdevindrà una lipotoxicitat en altres teixits degut a la pròpia incapacitat de continuar emmagatzemant aquesta energia en els adipòcits. És a partir d'aquest moment en el que es produirà el desencadenament de la resposta inflamatòria que generarà una sèrie de canvis en la funcionalitat i perfil secretor del teixit. La polarització de macròfags, l'angiogènesi o l'increment en la producció de citokines inflamatòries com OSM són alguns d'ells. L'OSM pertany a la família de les gp-130 els nivells de la qual es troben incrementats en determinades patologies entre les quals es troba l'obesitat i s'ha observat recentment que els nivells d'expressió d'aquesta proteïna podrien estar correlacionats amb el context de DM2 i/o resistència a la insulina, unes de les principals comorbiditats associades a la malaltia.

El teixit adipós marró redescobert fa alguns anys en humans adults, ha permès generar noves hipòtesis sobre l'increment de la epidèmia actual d'obesitat. La funció basal del teixit adipós marró és l'activació de la termogènesi basal i per tant de la despesa calòrica basal com a resposta principalment d'estímul del fred. En condicions d'obesitat s'ha vist que aquesta funcionalitat del teixit es troba disminuïda o pràcticament inhibida així com el seu perfil secretor.

Entre els potencials mecanismes de la millora de l'estat metabòlic experimentat pels pacients amb obesitat sotmesos a una cirurgia bariàtrica, podria trobar-se la modulació de la citokina inflamatòria OSM. El bloqueig específic d'aquesta citokina podria doncs, millorar l'estat inflamatori del teixit adipós blanc i marró i, contribuir alhora, a la millora de la resistència a la insulina que pot ser desenvolupada en condicions d'obesitat. Per últim, s'hipotetitza que la termografia infraroja podria ser un mètode per a l'avaluació de la activitat termogènica del teixit adipós marró en pacients amb obesitat, contribuint al pronòstic de la cirurgia bariàtrica i proporcionant informació addicional a la prioritització de pacients candidats a la mateixa.

