

Editorial

NUTRICIÓN HOSPITALARIA, Órgano Oficial de FELANPE

J. M. Culebras* y A. García de Lorenzo**

**Director de Nutrición Hospitalaria. **Redactor Jefe de Nutrición Hospitalaria.*

La SENPE, en su vocación de universalidad ha dado un nuevo paso: desde este numero NUTRICION HOSPITALARIA se convierte en Organo Oficial de la Federación Latinoamericana de Nutrición Parenteral y Enteral (FELANPE). Hemos llegado a este momento tras varios años de cooperación, intercambio científico y conversaciones del mas alto nivel con nuestros colegas de Latinoamérica. Desde hace tiempo, España es un miembro mas de FELANPE y, a pesar de la distancia geográfica, los lazos históricos, lingüísticos y de amistad han permitido una estrecha cooperación. Las paginas de nuestra revista recogen con frecuencia artículos originales procedentes de Ibero América y, desde hace dos años, publicamos los resúmenes de las comunicaciones de la Sección Ibero Latino Americana del congreso de ASPEN.

En nuestro afán de aumentar la difusión de NUTR HOSP estamos trabajando por dos vías diferentes: una es la captación de artículos científicos de calidad y, dentro de este apartado, se encuentra nuestro reciente compromiso con FELANPE y otro, la potenciación de la difusión electrónica. Desde hace cuatro años NUTR HOSP se puede consultar íntegra y gratuitamente a través de la pagina web de SENPE (www.senpe.com) y desde hace tres, nuestros artículos aparecen íntegramente en el portal de ScIELO (Scientific Electronic Libraries Online) en formato HTML. A través del portal del Índice Bibliográfico español de Ciencias de la Salud (IBECS) y de ScIELO, NUTR HOSP no solo puede consultarse desde todo el planeta, sino que, además se posibilita la consulta a la colección completa de las revistas y se permite recuperar la búsqueda mediante distintos índices (alfabéticos, de autores, títulos, materias, etc.) y formularios normalizados que amplían las posibilidades de acceso. Otra ventaja de ScIELO es que, desde las referencias bibliográficas de cada artículo, permite conexión directa con las principales bases de datos bibliográficas internacionales, si el artículo se encuentra referenciado en ellas. Entre otros valores añadidos, merece resaltar que, en aquellos artículos en los que el

autor o autores han facilitado los datos de su trayectoria profesional se puede acceder a la línea investigadora de los autores con información sobre trabajos y publicaciones relacionados con el tema del artículo. El sistema también es capaz de generar indicadores de uso e impacto de la literatura científica¹.

A pesar de nuestros esfuerzos continuados en favor de la revista, una valoración objetiva e imparcial puede detectar dos puntos flacos a la hora de compararnos científicamente con las revistas más “poderosas”: poca internacionalidad y poco factor de impacto.

Para aumentar la internacionalidad contamos, a partir de ahora, con los colegas de Felanpe. Nuestro propósito es que, en el próximo, bienio dos tercios de lo que se publique tenga su origen fuera de nuestras fronteras.

En cuanto al factor de impacto... es una pescadilla que se muerde la cola. No vamos a entrar en disquisiciones sobre el trato desfavorable que reciben las revistas no publicadas en inglés por parte de los que han monopolizado la vara de medir factores de impacto. Tampoco sobre el hecho de no ser de nacionalidad estadounidense. Recuerde el lector que “la vara de medir factores de impacto” es propiedad del Institute for Scientific Information (ISI) empresa privada radicada en EEUU.

Digamos, con un atisbo de esperanza, que los países del entorno de las bibliotecas Virtuales de Salud, con la Organización Panamericana de la Salud de la Organización Mundial de la Salud (OPS/OMS) al frente y la Biblioteca Regional de Medicina (BIREME), actualmente Centro Latino americano y del Caribe de Información en Ciencias de la Salud, pretenden desarrollar una red de similares características, a partir de un sistema de acceso y difusión compatible con las herramientas electrónicas del ISI. Pero de momento la negociación con ISI va lenta porque no están dispuestos a ceder su información histórica si no media una compensación económica desorbitada, inasumible por BIREME.

ScIELO calcula el factor de impacto de sus revistas indizadas y nosotros mismos podemos conocer nuestro propio factor de impacto en cada momento. Al fin y al cabo, el factor de impacto no es mas que un numero que resulta de dividir las veces que se han citado artículos de

un periodo determinado de una revista (habitualmente dos años) por el numero de artículos potencialmente citables de dicho periodo. Aclaro que solo contabilizan para la formula los artículos de esos dos años y no los históricos, algo que a nosotros nos parece absurdo.

Para NUTR HOSP ese factor sigue siendo bajo en términos absolutos. Así y todo, según un reciente estudio del Instituto de Historia de la Ciencia y Documentación "López Piñero" de la Universidad de Valencia-Consejo Superior de Investigaciones Científicas, que puede consultarse en la pagina <http://147.156.181.37/imecitas/impacto.shtml>, la revista Nutrición Hospitalaria es la de mayor impacto de todas las revistas de nutrición publicadas en castellano.

Nuestro objetivo, en relación con el factor de impacto, es aumentarlo al máximo durante el próximo bienio. Como herramienta fundamental aportamos

una amplísima difusión electrónica. Nutrición Hospitalaria esta indizada en EMBASE (Excerpta Medica), MEDLINE (Index Medicus), Chemical Abstracts, CINAHL, Índice Médico Español, preIBECs, SENIOR, Cancerlit, Toxline, Aidsline, Health Planning Administration, Freebooks4doctors, IBECs, ScIELO y BIREME. Lo que pedimos a nuestros autores son artículos con novedades, nivel científico y "gancho" para ser citados.

Seguiremos evaluando NUTR HOSP y en 2006 haremos nuevo balance de la situación, si entonces seguimos contando con la confianza de la SENPE, propietaria de este órgano de expresión.

Referencias

1. Veiga de Cabo J: Visibilidad de revistas científicas e iniciativas para incrementar la difusión de publicaciones españolas. *Nutr Hosp* 2003; 18:177-180.

Revisión

Obesidad y sistema inmune

M. Muñoz, R. A. Mazure y J. M. Culebras*

Facultad de Medicina. Universidad de Málaga. *Servicio de Cirugía. Hospital de León.

Resumen

Junto al notable aumento de la prevalencia de la obesidad en los países desarrollados, aparece un incremento paralelo de las enfermedades crónicas asociadas. La morbilidad secundaria al sobrepeso y la obesidad incluye, además de diabetes tipo 2, dislipemia, hipertensión, enfermedad coronaria, enfermedad cerebro vascular, colestasis, osteoartritis, insuficiencia cardíaca, síndrome de apnea del sueño, alteraciones menstruales, esterilidad y alteraciones psicológicas, una mayor susceptibilidad a padecer algunos tipos de cáncer e infecciones, hay mayor riesgo de bacteriemia y una prolongación del tiempo de cicatrización de las heridas tras intervenciones quirúrgicas. Todo ello indica que la obesidad ejerce efectos negativos sobre los componentes del sistema inmune y su función.

En esta revisión se describen las alteraciones inmunitarias asociadas con la obesidad, y su posible relación causal. Los cambios inmunológicos que se producen en la obesidad afectan tanto a la inmunidad humoral, sobre todo a la secreción de anticuerpos, como a la inmunidad celular. En la actualidad se sabe que el tejido adiposo, además de constituir un almacén de reservas energéticas en forma de triglicéridos, tiene importantes funciones como órgano endocrino y es productor de diversas hormonas y otras moléculas de señalización.

La respuesta inmune puede verse profundamente afectada por la obesidad, jugando la leptina un importante papel. A lo largo del artículo se describen las propiedades de la leptina, las alteraciones de hipo e hiperleptinemia en diversas circunstancias y sus variaciones tras el tratamiento, médico o quirúrgico de la obesidad.

(Nutr Hosp 2004, 19:319-324)

Palabras clave: *Obesidad. Leptina. Sistema inmune.*

Introducción

La obesidad es un problema de salud pública. Algunos autores consideran que alcanza actual-

OBESITY AND THE IMMUNE SYSTEM

Abstract

With an increased prevalence of obesity in developed countries, associated chronic diseases rise in a parallel way. Morbidity secondary to overweight and obesity include type 2 diabetes, dislipemia, hypertension, heart disease, cerebrovascular disease, cholelithiasis, osteoarthritis, heart insufficiency, sleep apnoea, menstrual changes, sterility and psychological alterations. There is also a greater susceptibility to suffer some types of cancer, infections, greater risk of bacteremia and a prolonged time of wound healing after surgical operations. All these factors indicate that obesity exerts negative effects upon the immune system.

Immune changes found in obesity and their possible interrelations are described in this article. Changes produced during obesity affect both humoral and cellular immunity. It is known that adipose tissue, together with its role as energy reserve in form of triglycerides, has important endocrine functions, producing several hormones and other signal molecules. Immune response can be deeply affected by obesity, playing leptin an important role. Properties of leptin, alterations of leptin levels in different situations and its changes with different medical and surgical therapies for obesity are described in this article.

(Nutr Hosp 2004, 19:319-324)

Key words: *Obesity. Leptin. Immune system.*

mente la dimensión de pandemia en los Estados Unidos¹.

En España, la prevalencia de sobrepeso y obesidad —es decir índices de masa corporal (IMC) superiores a 24—, alcanzaría ya el 48,9% de los hombres y el 42% de las mujeres².

Junto al notable aumento de la prevalencia de la obesidad en los países desarrollados, aparece un incremento paralelo de las enfermedades crónicas asociadas y un comienzo clínico a edades más tempranas. En particular, la diabetes tipo 2, que aparece tradicio-

Correspondencia: Prof. M. Muñoz.
GIEMSA.

Facultad de Medicina. Universidad de Málaga.
Campus de Teatinos, s/n.
29071 Málaga.

Recibido: 3-VII-2004.
Aceptado: 20-IX-2004.

nalmente en adultos de mediana edad, está comenzando a observarse varias décadas más pronto, al afectar la obesidad a un número creciente de niños y adolescentes, tanto en España y otros países europeos, como en EE.UU.³.

La morbilidad asociada al sobrepeso y la obesidad incluyen, además de la diabetes tipo 2, dislipemia, hipertensión, enfermedad coronaria y cerebrovascular, colelitiasis, osteoartritis, insuficiencia cardíaca, síndrome de apnea del sueño, alteraciones menstruales, esterilidad y alteraciones psicológicas.

Además de estas complicaciones, los individuos obesos presentan una mayor susceptibilidad a padecer algunos tipos de cáncer e infecciones, tienen mayor riesgo de bacteriemia y un mayor tiempo de cicatrización de las heridas tras una intervención quirúrgica⁴. Todo ello indica que la obesidad ejerce unos efectos negativos sobre los componentes del sistema inmune y su funcionalidad.

Si bien la obesidad se contempla hoy como una enfermedad de origen multifactorial, no es menos cierto que se conocen ya nueve genes implicados en su génesis. Se describió hace 30 años el gen *ob/ob* que codificaría un factor de saciedad que actuaría sobre un receptor, a su vez codificado por el gen *db*. Este factor de saciedad se descubrió hace unos quince años, denominándose leptina.

De forma más reciente, se postula un papel adicional para la leptina. En efecto, un déficit de leptina, tanto en humanos como en animales de experimentación, se traduciría en anomalías a nivel del sistema inmunitario, aumentando la susceptibilidad de éstos a la infección.

En esta revisión trataremos de describir las alteraciones inmunitarias que pueden hallarse en relación con la obesidad, y su posible relación causal.

Etiopatogenia

Hasta hace relativamente poco tiempo, habíamos contemplado la obesidad de manera muy simplista. En general, se consideraba que ésta se producía como consecuencia de un aumento de la ingesta, más allá de las necesidades, o de una actividad física inadecuada frente a una ingesta también inadecuada; esto es, como una alteración del balance energético en el que la energía ingerida era mayor que la requerida por el organismo.

Aunque diversos estudios han sugerido que hasta el 70% de la variabilidad del peso corporal puede atribuirse a factores genéticos (e.g., genes de la leptina y del receptor de leptina), éstos no pueden explicar el incremento de la prevalencia de la obesidad registrado en las últimas décadas⁵. Así pues, el cambio en los hábitos dietéticos y la progresiva falta de ejercicio físico deben jugar un papel importante⁶. También se han postulado como factores causales la alteración de la regulación de la ingesta a largo plazo (memoria metabólica), la resistencia periférica a la insulina, la altera-

ción de la regulación que ejerce el sistema nervioso central, a diferentes niveles cognitivos, sobre los mecanismos de control del peso corporal (comportamientos obsesivo-compulsivos), la disminución de la termogénesis inducida por la dieta (proteínas desacopladoras, UCP) e incluso infecciones virales⁷.

Por tanto, la obesidad es una enfermedad enormemente compleja en la que participan una serie de factores fisiológicos, metabólicos, genéticos, económicos, culturales, emocionales, etc. Todos estos factores se imbrican en el mecanismo etiopatogénico, aún no completamente esclarecido, de una enfermedad que ha adquirido unas dimensiones epidémicas, y cuyas consecuencias tienen quizá un alcance que todavía desconocemos⁸. Sí sabemos que la obesidad se relaciona con una amplia variedad de complicaciones como hipertensión, dislipidemia, enfermedad cardiovascular, diabetes y alteraciones de la coagulación³.

Obesidad y sistema inmune

Sabemos que existe una relación entre el índice de masa corporal (IMC) y tasa de mortalidad, y que ésta es siempre menor en la mujer que en el varón para un mismo IMC. Así, la mortalidad es muy baja cuando el IMC está entre 20 y 25, que sería el IMC óptimo; es baja cuando se sitúa entre 25 y 30, es decir, en una situación de ligero sobrepeso; se hace moderada por encima de 30-50, y es alta o muy alta cuando estamos ante una situación de obesidad mórbida⁷.

Las complicaciones de la obesidad antes mencionadas pueden estar detrás de este aumento de la mortalidad.

Los cambios inmunológicos que se producen en la obesidad afectan tanto a la inmunidad humoral, sobre todo a la secreción de anticuerpos, como a la inmunidad celular, especialmente al recuento de leucocitos y subpoblaciones linfocitarias y a la proliferación de linfocitos en respuesta a mitógenos⁹.

En la actualidad se sabe que el tejido adiposo, además de su función de almacenamiento de reservas energéticas en forma de triglicéridos, tiene importantes funciones como órgano endocrino, productor de diversas hormonas y otras moléculas de señalización. Algunas de dichas moléculas secretadas por el tejido adiposo, como la leptina, están activamente implicadas en la homeostasis energética y en la regulación de la función inmune¹⁰.

La leptina, principalmente secretada por los adipocitos, pertenece a la familia de las citocinas (estructuralmente similar a IL-5, IL-6 e IL-15) y sus concentraciones plasmáticas se correlacionan con la masa grasa y responden a los cambios en el balance energético. En este contexto, la leptina tendría como principal efecto actuar sobre el sistema nervioso central e inhibir la ingesta para regular los depósitos de energía. Adicionalmente, aumenta el metabolismo basal, estimula la oxidación de ácidos grasos y modula la funcionalidad de la células β del páncreas. Por ello, se pensó que un déficit

de leptina podría ser la causa de la obesidad; sin embargo, se ha observado que la mayor parte de los obesos tienen niveles elevados de leptina. Lo que ocurre es que estos individuos no tienen un déficit de producción de leptina, sino que en muchos casos lo que existe es un fallo en el transportador de leptina desde la sangre al interior del SNC, a través de la barrera hematoencefálica, y/o una resistencia periférica a la leptina¹¹.

Por ello, inicialmente, la leptina fue considerada como una hormona anti-obesidad, pero las evidencias experimentales han demostrado los efectos pleiotrópicos de esta molécula sobre la función reproductora, la hematopoyesis, la angiogénesis, la homeostasis de los órganos linfoides y las funciones de los linfocitos T. Dado que las acciones de la leptina están mediadas a través de su unión a receptores específicos (estructuralmente similares a los receptores de citocinas hematopoyéticas), estos datos indican que no sólo tenemos receptores de leptina a nivel de las células del sistema nervioso, sino que éstos están presentes en otras muchas células de nuestro organismo¹².

Más específicamente, la leptina parece constituir un nexo de unión entre la respuesta pro-inflamatoria Th1, el estado nutricional y el balance energético. Así, existen datos que indican que estimula la proliferación y activación de células mononucleares periféricas, estimula la producción de citocinas proinflamatorias (IL-6, TNF- α) por los monocitos circulantes, potencia la activación de linfocitos a agentes mitógenos como fitohemaglutinina o concanavalina A, inhibe la producción de linfocitos T de memoria, aumenta la producción de linfocitos B, y estimula la producción de citocinas tipo Th1 (IL-2, IFN- γ) por los linfocitos¹³.

El posible mecanismo de acción de la leptina sobre las células del sistema inmune se esquematiza en la figura 1. La leptina estimula a los monocitos haciendo

que expresen más receptores de leptina, y del mismo modo actúa sobre los linfocitos T haciendo que expresen más receptores de leptina y activándolos¹⁴. Como consecuencia de ello, se va a producir una liberación de citocinas proinflamatorias por parte de los monocitos; estas citocinas producen una estimulación de los linfocitos T los cuales responden aumentando la producción de IL-2 y de IFN- γ , dos citocinas de la respuesta Th1 (fig. 1). La respuesta Th1 es inmunoprotectora, pero también es proinflamatoria y, por lo tanto, una respuesta Th1 exagerada es perjudicial. Por otra parte, el IFN- γ va a actuar sobre los monocitos aumentando la producción de citocinas proinflamatorias, por lo que podemos considerar que la misma leptina es una citocina proinflamatoria (fig. 1)^{12,13}. Por tanto, podríamos considerar la obesidad como una enfermedad inflamatoria en la cual se observan frecuentemente niveles altos de leptina circulante.

Como ya hemos indicado anteriormente, la leptina se produce fundamentalmente en el tejido adiposo y, por tanto, en aquellos individuos que tienen escaso páncreo adiposo los niveles circulantes de leptina serán bajos. De hecho se ha visto que los niños desnutridos tienen niveles bajos de leptina y que esos niveles bajos se correlacionan con una disminución de la respuesta linfoproliferativa ante una agresión¹⁵. La hipoleptinemia conduciría a un aumento de la susceptibilidad a la infección debido a una disminución de la activación de los linfocitos T helper y a un efecto directo sobre el timo¹¹. Además, cuando estos niños son realimentados y ganan peso, los niveles de leptina se normalizan, y ello va en paralelo con un aumento en la actividad Th1. Por otra parte, se ha visto que el déficit congénito de leptina se asocia con una mayor incidencia de infecciones y de mortalidad¹¹. Sin embargo, en los pocos individuos que presentan esta deficiencia genética¹⁶, la administración

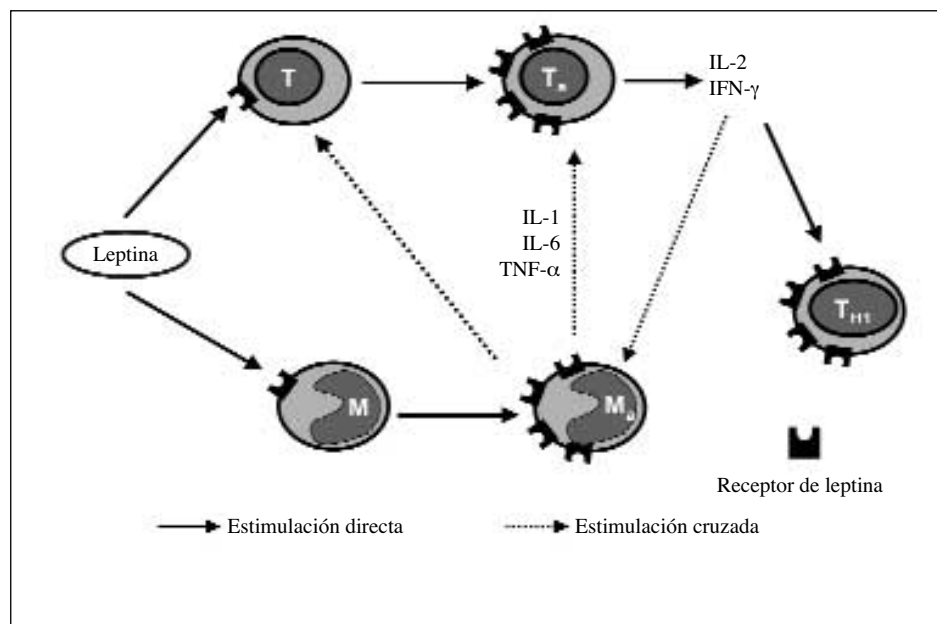


Fig. 1.—Posible mecanismo de activación de las células mononucleares por la leptina (Modificado de Sánchez-Margalet y cols., 2003)¹².

de leptina exógena restaura la funcionalidad de sus linfocitos T, lo que viene a demostrar la existencia de un efecto directo de la leptina sobre las células T¹⁷⁻¹⁹.

Por el contrario, un exceso de leptina, a través de la estimulación de respuestas Th1, aumentaría la susceptibilidad a las enfermedades autoinmunes, como sugieren algunos estudios experimentales¹¹. Dado que las mujeres son relativamente hiperleptinémicas (al presentar una mayor masa grasa) y tienen una mayor propensión que los hombres a padecer enfermedades autoinmunes, estas observaciones sugieren un papel de la leptina en una susceptibilidad género-dependiente a la autoinmunidad. Al mismo tiempo, abren una posible vía de tratamiento de las enfermedades inflamatorias y autoinmunes mediadas por células mediante la utilización de anticuerpos anti-leptina.

De este modo, los niveles excesivos de leptina, en los individuos con sobrepeso, podrían jugar un papel en el desarrollo de patologías mediadas por una exacerbación de la respuesta inmune¹². Así, la leptina, junto con otras citocinas como IL-6 o TNF α , podrían acelerar el desarrollo de arteriosclerosis, diabetes mellitus tipo 2, o Síndrome X; todas ellas enfermedades inflamatorias o inmunológicas²⁰⁻²².

Por último, pero no menos importante, la forma más común de obesidad humana, caracterizada por una hiperleptinemia que origina una resistencia a la leptina a nivel central y periférico¹⁰, se asocia con una incidencia aumentada de infecciones. En este contexto, la desensibilización del receptor de leptina es percibida por las células T como un estado de deficiencia de leptina, lo que conduce a una disfunción del sistema inmune similar a la producida por la malnutrición y el déficit congénito de leptina.

Vemos pues como el sistema inmune puede ser influenciado por los adipocitos, pero lo contrario también es cierto. Esto es, linfocitos y monocitos puede influenciar los depósitos de grasa. En este sentido, se ha observado que los ratones con deficiencia de ICAM-1 desarrollan obesidad en su época adulta y que ésta se asocia con una alteración de la migración de leucocitos a los tejidos periféricos, un aumento de la susceptibilidad a las infecciones, una alteración de la función de las células T y una resistencia periférica a la leptina. Estas observaciones sugieren que las interrelaciones inmuno-endocrinas pueden jugar un papel en la homeostasis de linfocitos y adipocitos, siendo esto también aplica-

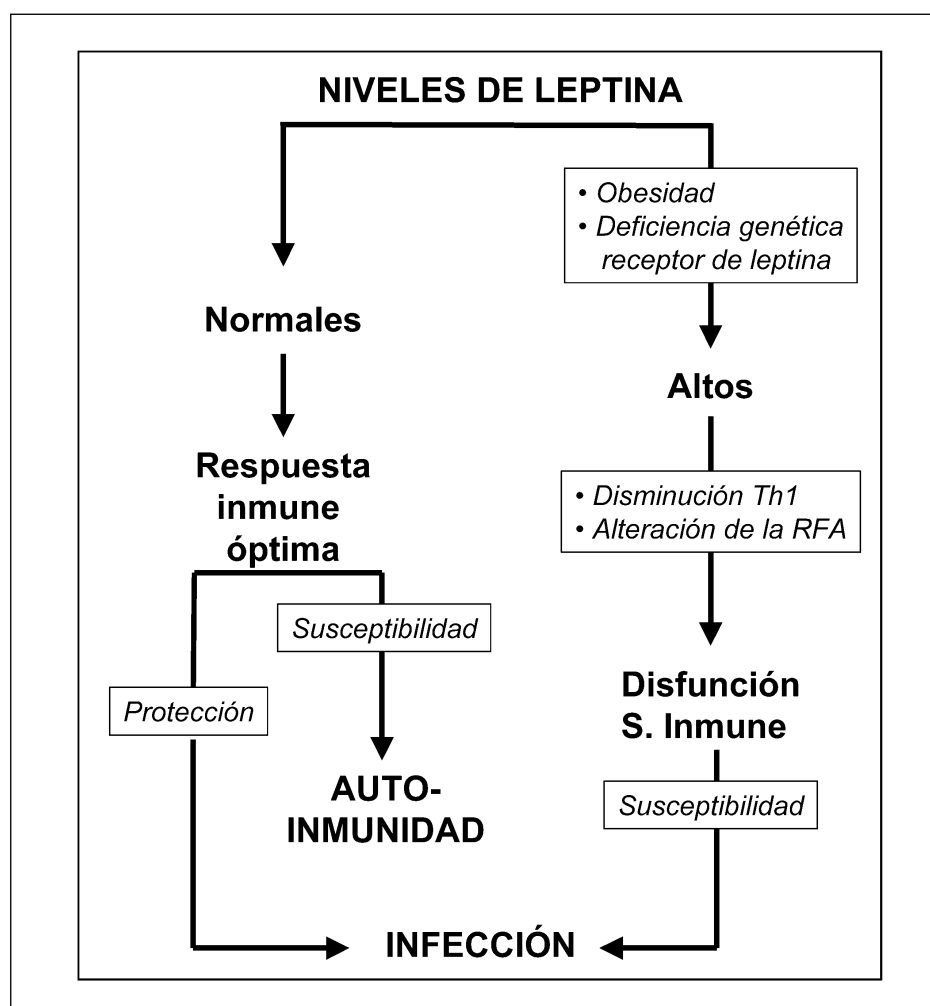


Fig. 2.—Equilibrio entre susceptibilidad a la infección y susceptibilidad a la autoinmunidad: posible papel de la leptina (Modificado de Materese y cols., 2002)¹¹.

ble a las citocinas, como la IL-6 y el TNF α , que median estas interrelaciones¹¹.

En conclusión, la respuesta inmune puede verse profundamente afectada por la obesidad, jugando la leptina un importante papel, como se muestra en la figura 2. La leptina tendría varias funciones, entre la que destaca la integración de la señal de los depósitos de grasa con la actividad del sistema nervioso central, especialmente a nivel de hipotálamo, y con la actividad del sistema inmune, que:

- Sería una señal clave en control de la ingesta. Esto hace que ingiramos alimentos en función de las necesidades; de modo que cuando disminuye su producción o cuando no puede ejercer esta función sobre el sistema nervioso central, por alteraciones en su transporte a través de la barrera hematoencefálica, sobreviene la obesidad.
- La leptina está muy relacionada con la patología inflamatoria y autoinmune, de manera que aquellos individuos con IMC muy alto suelen fallecer de enfermedad cardiovascular, cáncer, patología respiratoria, síndrome X, diabetes, mientras que los individuos con IMC muy bajo mueren más por patologías digestivas o respiratorias, que muchas veces son la causa de este bajo peso¹².
- Finalmente, el déficit congénito o adquirido de leptina o la resistencia a la leptina por déficit de receptores o de-sensibilización de los mismos conduce a un aumento de la susceptibilidad a las enfermedades infecciosas.

Efectos de la reducción ponderal sobre las alteraciones inmunitarias

La reducción ponderal, mediante restricción dietética o cirugía bariátrica, tiende a corregir las alteraciones de la funcionalidad del sistema inmunitario inducidas por la obesidad, sugiriendo la reversibilidad de las mismas. Sin embargo y probablemente porque los estudios hasta ahora realizados son escasos, el patrón de reversión es irregular.

Se ha observado que tras una restricción calórica moderada durante 12 semanas, los pacientes obesos presentan una menor respuesta proliferativa a mitógenos, un descenso en la actividad respiratoria oxidativa de los monocitos y una disminución del recuento de células NK, aunque no se modifican los de linfocitos T y B. Estos cambios son atribuibles fundamentalmente al descenso de la ingesta energética más que a una reducción del aporte de micronutrientes^{23,24}. Resultados similares, disminución del recuento de NK y de los niveles de inmunoglobulinas, ya se habían observado en obesas sometidas durante 82 días a una reducción del 50% en su ingesta calórica, lo que produjo una pérdida de peso de 7-9 kg²⁵.

Por otra parte, los periodos de restricción calórica severa o ayuno son frecuentes en los individuos obesos, y estos pueden afectar a la inmunocompetencia. Sin embargo, los resultados de diversos estudios indi-

can que el ayuno ejerce efectos diferenciales sobre las funciones del sistema inmune más que efectos deletéreos generalizados. Así, el ayuno no modifica los recuentos de linfocitos totales y aumenta los de NK y los niveles de IgM, mientras que disminuye la respuesta proliferativa de los linfocitos frente a mitógenos²⁶.

En lo que se refiere a la cirugía bariátrica, Cottam y cols.²⁷ encontraron una serie de alteraciones en el sistema inmune de los individuos con obesidad mórbida, incluyendo niveles elevados de eosinófilos y monocitos CD14 (receptor de LPS), mientras que los de monocitos, neutrófilos, linfocitos T y B y células NK CD62L (L-selectina) estaban descendidos, lo que sustenta la hipótesis de la existencia de un estado inflamatorio crónico en la obesidad mórbida. La disminución de la expresión de selectina probablemente altera la capacidad de los neutrófilos para activarse y migrar a los puntos de inflamación, lo que a su vez puede jugar un papel en la mayor incidencia de infecciones.

Por otra parte, también se ha encontrado en la obesidad mórbida un aumento de la expresión de CD95 (Antígeno FAS, inmunodepresor) en neutrófilos, linfocitos T y B y células NK, lo que podría participar en el mecanismo por el cual se observa una incidencia aumentada de cáncer en los obesos mórbidos²⁶. Sin embargo, estas anomalías revierten rápidamente con la pérdida de peso inducida por la cirugía de bypass gástrico sobre Y de Roux^{26,28}.

En otro estudio, en el que la técnica elegida fue la gastroplastia anillada ajustable consiguiendo una pérdida masiva de peso (mínimo 20 kg) sin aparente desnutrición, los niveles de proteínas de fase aguda disminuyeron con respecto a los obesos que no perdieron peso, aunque fueron más altos que el los controles sanos²⁹. Además, se produjo una disminución de leucocitos totales, neutrófilos y linfocitos, hasta niveles comparables a los de los controles. Sin embargo, las diferencias en las poblaciones de linfocitos (aumento de CD4 y descenso de CD8) inducidas por la obesidad no se corrigieron tras la pérdida de peso. En otro estudio en el que se utilizó esta misma técnica, pudo observarse una reducción en los niveles séricos de IL-3 y TNF a los 6 meses después de la intervención, cuando los pacientes habían perdido un 25-30% del peso preoperatorio³⁰. Lo más interesante de este trabajo fue que en aquellos pacientes que presentaban niveles preoperatorios altos de TNF, estos descendieron rápidamente tras la cirugía y mostraban valores prácticamente normales a los 14 días de la misma²⁹.

Por tanto, la cirugía bariátrica no solo debemos contemplarla como una intervención para perder peso, sino que además es procedimiento inmuno-restaurador, como parece desprenderse de estos estudios.

Leptina y complicaciones de la cirugía bariátrica

Por otra parte, y en lo referente a las complicaciones de la cirugía bariátrica, es de destacar que infla-

mación e infección son parte de la patogénesis de la mayor parte de las complicaciones postoperatorias precoces, tales como embolismo pulmonar, infección de la herida y sepsis, sugiriendo que el sistema inmune juega un papel esencial en esta patogénesis. Esto concierne especialmente las complicaciones sépticas, que según opiniones de expertos —no refrendadas por estudios comparativos— serían de curso más grave en obesos mórbidos que en pacientes delgados.

En este sentido, la leptina sería de interés en cirugía bariátrica en cuanto a su propiedad de actuar inicialmente como proteína de fase aguda, para luego sufrir un marcado descenso. Su aumento podría ser resultado directo de incrementos de LPS, TNF- α e IL-1, todas ellas elevadas en esta situación, y susceptibles de inducir producción de leptina. Se postula que su papel aquí sería proteger el organismo contra los efectos autoagresivos del sistema inmune³¹. Sin embargo, parece que este incremento se invierte a partir del segundo día en que el efecto del ayuno se convertiría en dominante, con lo que la disminución de leptina circulante a partir de entonces propiciaría complicaciones sépticas a través de una disregulación del sistema inmune. Estas consideraciones llevan al planteamiento de la utilidad de la leptina como intervención farmacológica de soporte del sistema inmune en el postoperatorio de la cirugía bariátrica³⁰.

Referencias

1. Kimm sys y cols.: Obesidad infantil: una nueva pandemia en el Nuevo milenio. *Pediatrics* (Ed esp) 2002, 54:181-85.
2. Moreno Esteban B, Monereo Mejías S, Álvarez Hernández J: Obesidad: la epidemia del Siglo XXI. Ediciones Diaz de Santos, SA, Madrid, 2000.
3. Sinha R, Fisch G, Teague B y cols.: Prevalence of impaired glucose tolerance among children and adolescents with marked obesity. *N Engl J Med* 2002, 346:802-10.
4. Lamas O, Martí A, Martínez JA: Obesidad e inmunocompetencia. En: Marcos A (ed) Actualización en nutrición, inmunidad e infección. Madrid: Panamericana, 2003: 125-32.
5. Bulló Bonet M. La leptina en la regulación del balance energético. *Nutr Hosp* 2002, 17:42-8.
6. Tojo Sierra R, Leis Trabazo R: La obesidad, un problema emergente en pediatría. *Nutr Hosp* 2002; 17:75-9.
7. Farriol M, Nogues R, Benarroch G. Etiopatogenia de la obesidad: actualidad y futuro [Editorial]. *Nutr Hosp* 2001; 16:113-4.
8. Laquatra I. Nutrición para el control del peso. En: Mahan LK, Escott-Stump S (eds) Nutrición y dietoterapia de Krause. Madrid: McGraw-Hill Interamericana, 2001: 527-60.
9. Marcos A, Nova E, Montero A. Changes in the immune system are conditioned by nutrition. *Eur J Clin Nutr* 2003, 57 (Supl. 1):S66-9.
10. Ahima RS, Flier JS: Adipose tissue as an endocrine organ. *Trends Endocrinol Metab* 2002, 11:327-32.
11. Friedman JM, Halaas JL: Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* 1998, 395:763-770.
12. Matarese G, La Cava A, Sanna V, Lord GM, Lechler RI, Fontana S y cols.: Balancing susceptibility to infection and autoimmunity: a role for leptin. *Trends Immunol* 2002, 23:182-7.
13. Sánchez-Margalet V, Martín-Romero C, Santos-Álvarez J, Goberna R, Najib S, González-Yanés: Role of leptin as an immunomodulator of blood mononuclear cells: mechanisms of action. *Clin Exp Immunol* 2003, 133:11-9.
14. Zarkesh-Esfahani H, Pockley G, Metcalfe RA, Bidlingmaier, Wu Z, Ajami A y cols.: High-dose leptin activates human leukocytes via receptor expression on monocytes. *J Immunol* 2001, 167:4593-9.
15. Palacio A, López M, Pérez-Bravo F, Monkeberg F, Schlesinger L: Leptin levels are associated with immune response in malnourished infants. *J Clin Endocrinol Metab* 2002, 87: 3040-6.
16. Ioffe E, Moon B, Connolly E, Friedman JM: Abnormal regulation of the leptin gene in the pathogenesis of obesity. *Proc Nat Acad Sci USA* 1998, 95:11852-7.
17. Lord GM, Matarese G, Howard JK, Baker RJ, Bloom SR, Lechler RI: Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. *Nature* 1998, 394:897-901.
18. Ozata M, Ozdemir IC, Licinio J: Human leptin deficiency caused by a missense mutation: multiple endocrine defects, decreased sympathetic tone, and immune system dysfunction indicate new target for leptin action, greater central than peripheral resistance to the effects of leptin, and spontaneous correction of leptin-mediated defects. *J Clin Endocrinol Metab* 1999, 84:3686-95.
19. Farooqi IS, Matarese G, Lord GM, Keogh JM, Lawrence E, Agwu C, Sanna V y cols.: Beneficial effects of leptin on obesity, T cell hyporesponsiveness, and neuroendocrine/metabolic dysfunction of human congenital leptin deficiency. *J Clin Invest* 2002, 109:103-103.
20. Yudkin JS, Yajnik CS, Mohamed-Ali V, Bulmer. High levels of circulating proinflammatory cytokines and leptin in urban, but no rural Indians. A potential explanation for increased risk of diabetes and coronary heart disease. *Diabetes Care* 1999, 22:363-4.
21. Pickup JC, Chusney GD, Mattock MB: The innate immune response and type 2 diabetes: evidence that leptin is associated with stress-related (acute-phase) reaction. *Clin Endocrinol* 2000, 52:107-12.
22. Pickup JC, Mattock MB, Chusney GD, Burt D: NIDDM as a disease of the innate immune system: association of acute-phase reactants and interleukin-6 with metabolic syndrome X. *Diabetologia* 1997, 40:1286-92.
23. Tanaka S, Isoda Y, Kimura M, Yamakawa T. T lymphopaenia in relation to body mass index and TNF- α in human obesity: adequate weight reduction can be corrective. *Clin Endocrinol* 2001, 54:347-54.
24. Nieman D, Nehlsen-Cannarella S, Henson D, Butterworth D, Fagoaga O, Warren B y cols.: Immune response to obesity and moderate weight loss. *Inter J Obes* 1996, 20:353-60.
25. Kelly DS, Daudu PA, Branch LB, Johnson HL, Taylor PC, Mackey B: Energy restriction decreases the number of circulating natural killer and serum levels of immunoglobulins in over-weight women. *Eur J Clin Nutr* 1994, 48:9-18.
26. Martí A, Marcos A, Martínez JA: Obesity and immune function relationships. *Obes Rev* 2001, 2:131-40.
27. Cottam DR, Schaefer PA, Shafan GW, Angus LD: Dysfunctional immune-privilege in morbid obesity: implications and effect of gastric bypass surgery. *Obes Surg* 2003, 13:49-57.
28. Cottam DR, Schaefer PA, Shafan GW, Velcu L, Angus LD. Effect of surgically-induced weight loss on leukocyte indicators of chronic inflammation in morbid obesity. *Obes Surg* 2002, 12:335-42.
29. Hanusch-Enserer U, Cauza E, Spak M, Dunky A, Rosen HR, Wolf H y cols.: Acute-phase response and immunological markers in morbid obese patients and patients following adjustable gastric banding. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2003, 27:355-61.
30. Kyzer S, Binyamini J, Chaimaff C, Fishman P: The effect of surgically induced weight reduction on the serum levels of cytokines: IL-3 and TNF- α . *Obes Surg* 1999; 9:229-34.
31. Nijhuis J, Van Dielen F, Buurman WA, Greve JW: Leptin in Morbidly Obese patients: no role for treatment of Morbid Obesity but important in the postoperative immune response. *Obesity Surgery* 2004, 14:476-83.

Original

Immunonutrition in clinical practice: what is the current evidence?

S. D. Heys, A. C. Schofield and K. W. J. Wahle

Department of Surgery, University of Aberdeen, Medical School, Foresterhill, Aberdeen and the Robert Gordon University, Aberdeen, Scotland, AB25 2ZD, UK.

Abstract

The clinical trials of immunonutrition that we have undertaken have often been small, single centre studies. They have often been of limited statistical power and have often included patients with a variety of underlying disease states and at different points in the disease process. Three meta-analysis and a consensus statement in conjunction with a systematic review, have been performed in an attempt to overcome many of these limitations and understand further the clinical place for immunonutrition. However, there are still many questions regarding the place of immunonutrition in clinical practice that we still do not understand or have definitive answers to.

For example, do we really know what is the optimal combination of nutrients and in what quantities they should be provided? Do we understand any potential interactions that might occur between these nutrients? What is the effect of the patients nutritional state? When and for how long should immunonutrition be provided? What is the impact of the patients' underlying disease process and how does this interact with the provision of immunonutrition?

At the present time whilst there is some indication and evidence as to which patients might benefit most, and as to those who may not benefit or even suffer detrimental effects from immunonutrition, we still can not answer these questions with any definitive authority. It is essential now that we undertake large well designed, well controlled multicentre studies with adequate statistical power to answer these questions. The indications are that immunonutrition has the potential to help patients but its place must be more clearly defined before its widespread acceptance into clinical practice is based on sound scientific evidence.

(*Nutr Hosp* 2004, 19:325-332)

Key words: *Clinical trials. Immunonutrition.*

Correspondence: Steven D Heys MD, PhD, FRCS (Eng, Glas, Ed)
Professor of Surgical Oncology.
Department of Surgery.
University of Aberdeen.
Medical School.
Foresterhill.
E-mail: s.d.hey@abdn.ac.uk

Recibido: 2-VIII-2004.
Aceptado: 10-IX-2004.

INMUNONUTRICIÓN EN LA PRÁCTICA CLÍNICA: ¿CUÁL ES LA EVIDENCIA ACTUAL?

Resumen

Los ensayos clínicos sobre inmunonutrición que se han realizado han sido en general pequeños y unicéntricos. Su poder estadístico se ha visto limitado y con frecuencia se han incluido pacientes con situaciones patológicas subyacentes múltiples y en diferentes puntos del proceso de la enfermedad. Se han realizado tres meta-análisis y una valoración de consenso, junto con una visión sistemática en un intento de superar muchas de las limitaciones y para entender mejor las situación clínica de la inmunonutrición. Sin embargo, hay todavía gran número de incógnitas en relación con el papel de la inmunonutrición en la práctica clínica, que todavía no entendemos y para los que no tenemos contestaciones definitivas.

Por ejemplo, ¿conocemos en realidad cuál es la combinación óptima de nutrientes y qué cantidades deben ser administradas? ¿Entendemos las interacciones potenciales que pudieran suceder entre estos nutrientes? ¿Cuál es el efecto sobre el estado nutritivo del paciente? ¿Cuándo y durante cuánto tiempo debe ser administrada inmunonutrición? ¿Cuál es el impacto de la enfermedad subyacente y cómo interactúa ésta con la de inmunonutrición?

En el momento actual, hay alguna indicación y evidencia en relación con los pacientes que se benefician más y en relación con cuales no se benefician o incluso puedan sufrir efectos detrimentales de la inmunonutrición, pero aún no podemos responder a estas preguntas con una autoridad definitiva. Es esencial que se lleven a cabo estudios multicéntricos controlados, bien diseñados con poder estadístico adecuado para responder a estas preguntas. La inmunonutrición tiene potencial para ayudar a los pacientes pero su lugar deberá ser clarificado aún más antes de su aceptación universal en la práctica clínica basada sobre una evidencia científica sólida.

(*Nutr Hosp* 2004, 19:325-332)

Palabras clave: *Ensayos clínicos. Inmunonutrición.*

Introduction

For the last 30 years, interest has focused on the effects of loss of body weight in patients with a variety of disease states, but particularly in those with severe and critical illnesses. The impairments of immune function and organ function that occur in these patients who have lost body weight have been well recognised for many years¹. The correlation between loss of body weight and morbidity and mortality in patients undergoing surgery has also been well documented previously^{2,3}. Therefore, in view of these many randomised trials have been undertaken to determine what impact nutritional supplementation, given enterally or parenterally, might have on both the incidence of complications and mortality in patients undergoing surgery or in those who have sustained a critical illness.

Although many studies have been undertaken, the results have often been difficult to interpret for various reasons. For example, different patient populations, differing nutritional interventions and for variable periods of time in the pre-operative, post-operative and perioperative periods, have all been studied. In trying to understand the role of nutritional support more clearly meta-analyses and detailed analyses have been undertaken in attempt to overcome some of these limitations of the studies^{4,6}. The most recent meta-analyses have suggested that such an approach can reduce the risk of post-operative complications in patients undergoing major surgery. However, any effect on mortality has been more difficult to demonstrate and, in fact, the evidence suggests that there is no reduction in mortality, in contrast to that in morbidity^{4,6}.

It is important to remember that such approaches to nutritional support have really focused on the provision of nitrogen and calories, together with other essential nutrients, to replace or supplement what it is expected to be a patient's normal oral intake, with or without considering the additional metabolic demands placed on the patient by their underlying illness. However, the recent developments in nutritional science have allowed a more full appreciation and understanding of the roles and function of a variety of nutrients. This knowledge is not only what is necessary to maintain health and organ function, but also what can happen if nutrients are given in amounts in excess of what was recognised previously as that being required for the maintenance of bodily function and homeostasis.

Certain key nutrients, if provided in excess of what is their normal daily requirement will effect a modulation of immune, inflammatory and metabolic pathways. The term "nutritional pharmacology" has been used to describe this approach. When nutrients are used specifically to modulate the immune system, although this is clearly interlinked with inflammatory and metabolic pathways, it is termed "immunonutrition"^{7,8}. Many nutrients will modify these processes but in this regard, most interest has focussed on amino

acids such as arginine and glutamine, fatty acids, ribonucleotides and certain trace elements. These individual nutrients have been discussed extensively elsewhere⁷⁻¹⁵ and will not be further discussed individually in this paper. Some of the key actions of these nutrients on the immune system are listed in table I.

It is not surprising that preliminary trials have been carried out to determine if any of these nutrients themselves can have clinically beneficial effects. However, at the present time, there is no evidence to support the use of any of these as single nutrients in clinical practice, perhaps with the exception of glutamine¹⁶. A recent meta-analysis of 14 clinical trials of glutamine supplementation which has been given to critically ill, or "surgical" patients, has suggested that there might be beneficial effects. The results showed that patients receiving glutamine supplementation had a reduction in their risks of developing an infectious complication and in the group of "surgical" patients there was a significant reduction in the length of their hospital stay¹⁷.

The most interesting results, however, have come from the clinical trials where combinations of these key nutrients have been combined together as commercially available immunonutritional regimens and which are for the enteral route. Most commonly, Impact® and Immunaid® have been evaluated. The key nutrients provided focused on arginine, glutamine, n-3 essential fatty acids and ribonucleic acid, but in diffe-

Table I
Modulatory effects of key nutrients

Arginine

- Increased responses of T cells to mitogenic stimulation and delayed type hypersensitivity responses
- Increases in NK and LAK cell numbers
- Increases in circulating cytokine levels
- Increased nitric oxide production
- Enhanced wound healing and collagen synthesis
- Stimulates release of prolactin, insulin and glucagon

Glutamine

- Increased responses of T cells to mitogenic stimulation
- Increased B lymphocyte differentiation and antibody production
- Increased macrophage phagocytosis and neutrophil function
- Increased cytokine production
- Maintenance of the intestinal mucosal barrier function

Fatty acids

- Suppression of T cell proliferative responses to polyclonal mitogens
- Reductions in NK and LAK cell activity
- Impaired cytokine production
- Decreased neutrophil and monocyte chemotactic responses and superoxide production
- Alterations in cell membrane function and intracellular signalling

ring compositions and quantities in the different formulations that are available (table II). The evidence base for the rationale of the composition of these immunonutritional regimens is unclear and the optimal combination and quantities for each of the nutrients is debatable. Perhaps, the 30g per day of arginine has some scientific basis in that a dose response study had indicated previously that this had a greater effect than did lower doses¹⁸. However, as regards other nutrients, the value of combinations when compared with single nutrients, the potential interactions between nutrients, and potential synergistic or antagonistic effects, there is even less evidence for their use in their current way.

Despite these considerations regarding the role of each individual nutrient, initial studies compared the effects of these combination of immunonutrients against readily available nutritional regimens which were commonly used in clinical practice^{19,20}. Although the amounts of nitrogen and calories were usually comparable between the formulations, it was the composition of specific nutrients that differed.

These immunonutritional combinations did modulate immune function in ways that would be expected to be beneficial. The provision of immunonutritional regimens resulted in enhancements of a variety of immune functions, particularly lymphocyte responses to mitogenic stimulation, phenotypic analyses suggesting enhanced lymphocyte sub-set numbers and functionally beneficial types of lymphocytes, in addition to increased levels of circulating antibodies^{19,22}. These key effects reported from these studies are summarised in table III. These results from these immunological studies were encouraging but the vital question regarding immunonutrition for use in clinical practice must be whether or not these changes in immunological parameters will translate into a better clinical outcome for patients.

Clinical trials of immunonutrition in patients

A series of randomised clinical trials have been undertaken to evaluate the role of these immunonutritional

Table II
Nutrient composition of two immunonutrition regimens used in clinical trials

	<i>Impact®</i>	<i>Immun-Aid®</i>
AID®		
Volume (ml)	1,000	1,000
Protein (g)	56	80
Arginine (g)	12.5	14
Glutamine (g)	-	9
Branched chain amino acids	-	20
Nucleic acids (g)	1.23	1
Fat (g)	27.8	22.0
N-3 EFA (%)	10.5	4.5
Selenium (ug)	46	100

Table III

The effect of immunonutritional regimens on immune function in clinical trials

- Increased activation of T lymphocytes
- Increased Natural killer cells
- Increases in Lymphocytes and percentage of T helper cells increased
- Polymorphonuclear phagocytosis enhanced
- Respiratory burst enhanced
- Circulating levels of IgG and IgM, and interferon gamma levels increased

nal regimens in a variety of clinical settings. Most commonly patients undergoing surgery for upper gastrointestinal cancer, patients with sepsis and critical illness and patients who have sustained major burns, have been studied and the results from these trials have been reported in detail previously^{20,22-44}.

Although the patient groups that have been studied have differed, the end-points of these trials have been comparable. In terms of morbidity, a key outcome measure has been the incidence of infectious complications that occur in these patients. Also, other outcomes that have been evaluated commonly in many of the trials, have included the effects on hospital stay, intensive care unit stay and patient mortality. Nevertheless, interpretation of the results is difficult because of the many variable features in each of these trials, particularly regarding patient type and immunonutritional provision. For example, the underlying pathophysiological states, the baseline nutritional status, the type and quantity of immunonutrition provided and the timing of provision of immunonutrition are all important factors which have the potential to affect the results of each trial.

Meta-analysis of clinical trials of immunonutrition which have evaluated clinical outcomes

In an attempt to further understand what effects immunonutrition has on clinical outcome, three meta-analyses⁴⁵⁻⁴⁷ and a more recent systematic review⁴⁸ and consensus statement have been reported during the last five years. These analyses have examined the published trials in some depth and try to draw some conclusions that can be applied to clinical practice.

In 1999, the first meta-analysis reported the results from 1,009 patients who had participated in eleven clinical trials⁴⁵. The underlying pathological states that these patients had were frequently different but the patients could be categorised as falling into two broad groups; those undergoing surgery for upper gastrointestinal cancer and those patients who were critically ill for a variety of other reasons including trauma, sepsis and major burns. Although there were differences in the methodological quality of the studies, three of

these 11 trials had a difference in the nutritional intake of the experimental and control groups of patients. There was an increased intake of nitrogen in the immunonutrition groups when compared with the control groups and clearly this may have affected the outcomes of the trials.

Nevertheless, when these trials were analysed together, there did appear to be clinical benefits in those patients who received immunonutrition. In particular, immunonutrition was associated with a reduction in the risks of developing an infectious complication (defined as intra-abdominal abscess, major wound infection, septicaemia, pneumonia). The magnitude of this effect was substantial, with the relative risk being reduced to 0.47 (95%CI 0.32-0.70) by the use of immunonutrition. A sub-group analysis also examined separately at those patients with gastrointestinal cancer, but not including those with critical illness. Again, there was a significant reduction in infectious complications in patients receiving immunonutrition (relative risk 0.47, 95%CI: 0.30-0.73). Another benefit to accrue in these patients from immunonutrition was that their length of stay in hospital was also reduced. Although this was only by 2.5 days (95% CI, -4.0 to -1.0 days), nevertheless, there is a potential financial saving which may also be important⁴⁵.

Did the provision of immunonutrition have any effect on mortality in these patients? Of the 11 studies, only seven of these reported effects on mortality. The overall relative risk in patients receiving immunonutrition was 1.77 (95% CI, 1.00 to 1.32)⁴⁵. Although this was higher in these patients it was not statistically significant. Furthermore, there were no deaths in either the experimental or control groups in four of the trials and only one showed a significant difference, with there being an increase in patients receiving immunonutrition. Closer examination of this latter study revealed that there had been a randomisation error with an increased number of patients with higher APACHE II scores in the immunonutrition group. It should also be remembered that the patients in this study were those with sepsis or a systemic inflammatory response syndrome and the potential significance and importance of this with respect to immunonutrition will be highlighted later.

As reports of more trials of immunonutrition began to appear in the literature it wasn't surprising that an update of the first meta-analysis were published⁴⁶. As an interim step, Beale et al⁴⁶ then included four more trials to give a total of 15 then available for statistical analysis. The results were compared to those previously reported⁴⁵ in that immunonutrition was associated with a reduction in infectious complications by approximately one half, but there was no significant effect on mortality⁴⁶.

More importantly, by 2001, a total of 22 randomised controlled trials of 2,419 patients were suitable for another more detailed, examination⁴⁷. The trials had included patients who had either undergone elective

surgery or who were critically ill, which was defined as being cared for in a "critical care environment". The immunonutrition given to patients had to include at least two of the four most commonly used immunoenhancing nutrients (arginine, glutamine, n-3 fatty acids or nucleotides). There were also a large enough number of studies to be able to carry out subsequent sub-group analyses which compared the methodologically better studies with the remainder, and also compared those trials where patients received immunonutritional regimens which had higher arginine contents with the others who did not.

When considering the results of this analysis in terms of all trials together and the effect on infectious complications, similar effects as noted before emerged⁴⁷. In the 18 trials where infectious complications were reported, patients receiving immunonutrition had less infectious complications (pneumonia, wound infections, intra-abdominal abscesses, urinary tract infection, intravenous line sepsis). Their relative risk of infectious complications was 0.66 (95% CI, 0.54 to 0.80). Furthermore, the provision of immunonutrition was also associated with a reduction in their length of stay in hospital by some 3 days (95% CI, -5.6 to -1.0 days) from the 17 trials where this was reported. As observed previously, when mortality was examined there was no difference between those patients receiving immunonutrition or those in the control groups (Relative risk 1.10, 95% CI, 0.93 to 1.31) (see table IV).

An important sub-group analysis separated out and examined those patients who had a critical illness and then compared them with those who had undergone elective surgery. Here, a different picture emerged because in the critically ill patients there was no reduction in infectious complications associated with the provision of immunonutrition (RR, 0.96, 95% CI, 0.77 to 1.20)⁴⁷. In contrast, there was a significant reduction in infectious complications in the elective surgical patients who were given immunonutrition (RR, 0.53, CI, 0.42 to 0.68). Interestingly, in both groups of patients there was a significant reduction in hospital stay which was of comparable length between the two groups, but there was no effect on mortality in either type of patients⁴⁷.

Perhaps the most interesting and thought-provoking data to emerge from this meta-analysis was the

Table IV
Effects of immunonutrition on clinical outcome in all patients considered together

	Number of trials evaluated	Relative risk	95% Confidence interval (CI)
Mortality effect	22	1.10	0.93 to 1.31
Infectious complications	18	0.66	0.54 to 0.80
Length of hospital stay effect	17	-3.3 days	-5.6 to -1.0 days

Taken from Heyland et al (47).

effect of immunonutrition on mortality. As already discussed, there was no effect on mortality overall, or in the sub-groups of patients with critical illness or those in the elective surgery group. However, when the patients who had received immunonutritional formulations with higher arginine contents were examined then a different picture emerged. The relative risk of mortality was 2.13 (95%CI, 1.08-4.21) in patients receiving a higher arginine content type of immunonutrition. In contrast, patients with lower arginine immunonutritional regimens had a relative risk of death of 1.03 (95%CI, 0.75-1.41). Furthermore, this former group of patients also had a reduction in risk of infections complications and a shorter hospital stay than did patients in the latter group (see table IV)⁴⁷.

The other major subgroup analysis which was of those studies with the better methodological designs and performance. Again, of some concern was that the mortality analysis from these studies gave a relative risk of 1.46 (95%CI, 1.01-2.11). Whilst these results are of some concern, it is important to remember that they are from a subgroup analysis with all the attendant statistical limitations. Nevertheless, as discussed previously, it is important to consider the implications of this further and this will be discussed later in this paper.

Further understanding of the effect of the patients underlying disease state on clinical outcomes

In trying to take the understanding of the role and potential for immunonutrition to affect the clinical outcomes from the treatment of critically ill patients, most recent systematic review analysed the results from 26 clinical trials of enteral immunonutrition⁴⁸. However, the results from this analysis were then subjected to review by a panel of experts. These experts then considered the appropriateness of these results for clinical practice and made recommendations for the use of immunonutrition. The general overall results from this analysis are shown in table V, but patients receiving immunonutrition had reductions in infection rates, intra-abdominal abscesses, nosocomial

pneumonia and bacteraemia. Furthermore, these patients also had reductions in their length of time in hospital, length of stay in the intensive care unit and length of time for which they required mechanical ventilation but there was no effect on mortality⁴⁸.

These authors then attempted to answer five questions which were thought to be of major importance for clinical practice and with respect to certain categories and subgroups of patients categorised according to their underlying pathology. Their findings and interpretations are summarised below:

In response to the question as to what effect of immunonutrition had on nosocomial infection in critically ill patients, then there was a reduction in patients undergoing elective surgery (bacteraemias, intra-abdominal abscesses) but no effect on wound infection or nosocomial pneumonia. In addition, in patients who had sustained a major burn, there was a reduction in the incidence of nosocomial pneumonia.

The effect of immunonutrition in reducing hospital stay times was beneficial in the patients who were undergoing surgery and intensive care unit stay was also reduced in both patients who had undergone surgery and those who had sustained a major trauma. The authors also concluded that there was no convincing effect of immunonutrition on the incidence of multiple organ dysfunction or adult respiratory distress syndrome, and no effect on in-patient mortality. Finally, there was no evidence to answer the question as to the effect of immunonutrition on reduction of the financial costs in patients with critical illness⁴⁸.

Importance of timing of the provision of immunonutrition

An important consideration when examining these clinical trials is what effect the timing of the provision of immunonutrition might have on clinical outcome. This might be extremely important in determining what clinical outcomes may occur in such patients. Immunonutrition differs from conventional nutritional support in that it is not just simply the provision of nutrients, nitrogen, calories etc., to patients who are either not able to take in nutrients normally or who are

Table V
Effect of immunonutrition in "critically ill" patients considered alone

	<i>Odds ratio</i>	<i>95% Confidence interval</i>
Intra-abdominal abscesses	0.26	0.12-0.55
Nosocomial pneumonia	0.54	0.35-0.84
Bacteraemia	0.45	0.35-0.84
Mortality	1.10	0.85-1.42
Reduction in time on mechanical ventilation	2.25 days (mean)	0.5-3.9 days
Reduction in time in ICU stay	1.6 days (mean)	1.9-1.2 days
Reduction in hospital stay	3.4 days (mean)	4.0-2.7 days

Data from Montejo et al. (48).

malnourished. That is, immunonutrition is not designed or intended to maintain "normal" metabolic processes or to cause an anabolic response in a patients. It is conceptually and fundamentally a different approach to nutritional provision in the surgical or critically ill patient. Immunonutrition is a provision of nutrients with the specific aim of modulating the immune, metabolic and inflammatory processes and it could be considered, therefore, to be a "pharmacological" intervention.

This point regarding the potential importance of timing of the provision of immunonutrition has been developed in key studies reported by Braga et al⁴¹ in patients undergoing surgery for colorectal cancer. A large, randomised, controlled study of such patients evaluated the clinical effects of immunonutrition (Impact®) when it was given perioperatively, including the pre- and post-operative periods. Overall, immunonutrition provision resulted in a reduction in post-operative complications and patients had a reduction in their length of stay in hospital. These effects also had a tangible benefit in terms of a reduction in the financial costs of treatment associated with the provision of immunonutrition^{42,49}.

A post-hoc analysis was also carried out subsequently to determine if there was any affect on outcome which could be attributed to the timing of the provision of the immunonutritional intervention. Interestingly, this indicated that the provision of nutrients pre-operatively was probably as good as administration in the whole of the peri-operative period in terms of effects on clinical outcomes. Clearly, subgroup analyses do have limitations in the validity of the conclusions that can be drawn from them, but they do allow the generation of a hypothesis for future testing.

To answer this question definitively as to whether immunonutrition given in the pre-operative period is as effective as that given in both the pre- and post-operative patients, Braga et al⁵⁰ undertook another large clinical trial. This study was designed not only to look at clinical outcomes but also to examine carefully what effects there were on basic physiological functions. More than 200 patients with colorectal cancer undergoing surgical resection were randomised to one of four experimental groups; this was either (i) to receive pre-operative immunonutrition for 5 days, (ii) pre-operative immunonutrition but then continued for 5 days post-operatively (jejunal infusion), (iii) oral intake of a standard isonitrogenous, isocaloric formula for 5 days period to surgery, and (iv) a group of patients who were treated conventionally with no supplementation before or after surgery.

It was demonstrated in this study that those patients receiving immunonutrition in either the pre-operative period and the peri-operative period, had improved immunological functions, better gut oxygenation and microperfusion than did the patients who were not receiving immunonutrition⁵⁰. This may

have an important clinical relevance in these patients undergoing intestinal resections because of the adverse effects on the healing of gastrointestinal anastomosis that occurs with inadequate oxygenation. In fact, there was almost a halving of the anastomotic leak rate in those patients who received peri-operative or pre-operative immunonutrition when compared with the other patients (although this was not statistically significant)⁵⁰.

Is the provision of immunonutrition appropriate for all patients?

The previously discussed data suggests that there are clinical benefits to be gained by providing immunonutrition to patients undergoing elective surgery for gastrointestinal tract cancers. However, not all patients may benefit, particularly those with critical illness and there is also a concern that there may be a potential for harm in some patients⁵¹⁻⁵³. In particular concern has focussed on the role and effects of arginine as a component of immunonutrition. This is because it was the studies using the immunonutritional regimens that patients had an increased mortality⁴⁷. In trying to understand this further, perhaps the precursor role of arginine for nitric oxide (NO) synthesis via the nitric oxide synthase (NOS) enzyme system provides a reason as to why there may be some concern. During inflammatory conditions there is an increased production of NO via the inducible (iNOS) enzyme system. One of the key effects of NO is to cause a vasodilatation, which can be substantial, and indeed has been shown to be of therapeutic benefit in patients with hypertension, claudication and coronary artery disease^{54,55}.

Is it possible that this resultant vasodilatation might have harmful effects in patients who are critically ill? It is certainly a possibility because experimental clinical studies has shown that an intravenous bolus injection of arginine can have marked effects in patients with sepsis⁵⁶. This bolus administration of arginine effected a large reduction in the patients mean blood pressure with concomitant reductions in systemic and pulmonary vascular resistances, together with an increased cardiac index. However, within ten minutes of the arginine bolus having been given, these effects had reversed and returned to the pre-treatment indices for the patients⁵⁶.

There are also other effects of arginine which could be potentially harmful to critically ill patients. For example, NO can affect cellular oxygen consumption and utilisation, possibly by inhibiting the mitochondrial enzymes that are key to the process of electron transfer⁵⁷. In the clinical situation there is evidence to support this possibility. The partial pressure of oxygen in skeletal muscle has been shown to increase with increasing severity of sepsis in critically ill patients which is in proportion to the severity of sepsis which patients are experiencing⁵⁸. Whilst this is important

circumstantial evidence for a block in oxygen utilisation, in animal studies there is more direct evidence. Reduced levels of the cytochrome c enzyme systems have been documented in an animal model of sepsis⁵⁹ and furthermore, this reduction was proportional to the degree of the sepsis and septic shock⁵⁹.

NO is also important in the critically ill patient because it is essential in the physiological situation for the maintenance of the gut-mucosal barrier and for ensuring that its functions are optimal⁶⁰. As already discussed, in inflammatory states where there is an increased iNOS system, then the administration of arginine can result in the production of large amounts of NO with resultant damage to the intestinal mucosa. If this occurs there will be a failure of the gut-barrier function with ensuing translocation of bacteria and endotoxin and their adverse effects on critically ill patients.

Given these issues regarding arginine that may give rise to some concerns, is there any more clinical evidence that might support these being clinically relevant effects? Certainly, the last meta-analysis⁴⁷ suggested that high arginine-containing diets did have a higher mortality but this was a subgroup analysis. Of interest in this respect is the interim analysis of a recent study which was reported by Bertolini et al⁶¹. Included in this trial were 39 patients with severe sepsis or septic shock who were randomised to receive either immunonutrition enterally (Impact®) or total parenteral nutrition (TPN). There was a significant difference in mortality between the two groups of patients; 44.4% in the immunonutrition group but only 14.3% in the group receiving TPN⁶¹. Whilst there may be other reasons for this difference, it may well be related to the arginine content and clearly requires further investigation.

Whilst the focus on immunonutrients has centred on arginine, it is also important to consider other immunonutrients in relationship to the patients underlying and dynamic pathophysiological changes, especially in those patients with sepsis. Initially these patients experience an inflammatory response. However, as the sepsis process continues this may be superseded by an anti-inflammatory response which may be of even greater magnitude⁶². Although the mechanisms of this remain to be fully clarified it appears that the balance of cytokines produced by Th1 and Th2 cells is crucially important in this "switch"⁶³. The result of this is that there may be an immunosuppressive state in these patients⁶² which would then be expected to result in an increased susceptibility of these patients to developing infectious complications.

Taking this into consideration, it is clear that inflammation and sepsis are constantly changing and dynamic states which may at different times have an enhanced inflammatory phase and a second phase where there is impaired inflammation and immunity. Therefore, immunonutrition with immunoenhancing nutrients may not be appropriate to give to all patients because the underlying and dynamic physiological

changes are different. Indeed, in those patients in whom there is immunosuppression then immune enhancement is appropriate. In contrast, in those patients in an inflammatory phase, immunonutrition with immunoinhibitory nutrients may be theoretically more appropriate. This needs to be considered further and in much detail if we are to understand further these potential benefits of immunonutrition.

References

1. Heys SD, Simpson WG, Eremin O: Surgical Nutrition. In: Emergency surgery and critical care. A companion to specialist surgical practice. Ed Paterson-Brown S, WB Saunders Co, 1997, pp 55-120.
2. Studley HO: Percentage of weight loss. A basic indicator of surgical risk in patients with chronic peptic ulcer. *JAMA* 1936, 106:458-460.
3. Detsky AS, Baker JP, O'Rourke K et al.: Predicting nutrition-associated complications for patients undergoing gastrointestinal surgery JPEN Journal of Parenteral and Enteral Nutrition 1987, 11:440-446.
4. Heys SD, Walker LG, Eremin O: The value of peri-operative nutrition in the sick patient. *Proc Nutr Soc* 1997, 56:443-457.
5. Heyland DK, Cook DJ, Guyatt GH: Enteral nutrition in the critically ill patient: a critical review of the evidence. *Int Care Med* 1993, 19:435-442.
6. Heyland DK, Montalvo M, MacDonald S, Keefe L, Su XY, Drover JW: Total parenteral nutrition in the surgical patient: a meta-analysis. *J Canad Chir* 2001, 44:102-111.
7. Heys SD, Gough DB, Khan L, Eremin O: Nutritional pharmacology and malignant disease: a therapeutic modality in patients with cancer? *Br J Surg* 1996, 83:608-619.
8. Kirk H, Heys SD: Immunonutrition. *Br J Surg* 2003, 90:1459-1460.
9. Brittenden J, Heys SD, Eremin O: Immunological properties of L-arginine. In: Eremin O ed. L-arginine: biological aspects and clinical characteristics. Austin: RG Landes Co; 1997, pp. 27-77.
10. Barbul A, Lazarou SA, Efron DT et al.: Arginine enhances wound healing and lymphocyte immune responses in humans. *Surgery* 1990, 108:331-337.
11. Brittenden J, Park KG, Heys SD et al.: L-arginine stimulates host defences in patients with breast cancer. *Surgery* 1994, 115:205-212.
12. Calder PC, Newsholme P: Glutamine and the immune system. In: Nutrition and Immune Function, eds Calder PC, Field CJ, Gill HS. Oxon: CABI publishing; 2002, pp. 57-92.
13. Purasiri P, Ashby J, Heys SD, Eremin O: Effect of essential fatty acids on circulating T cell subsets in patients with colorectal cancer. *Cancer Immunol Immunother* 1994, 39:217-222.
14. Purasiri P, McKechnie A, Heys SD, Eremin O: Modulation *in vitro* of human natural cytotoxicity, lymphocyte proliferative response to mitogens and cytokine production by essential fatty acids. *Immunology* 1997, 92:166-172.
15. Khan AL, Heys SD, Eremin O: Synthetic polyribonucleotides: current role and potential use in oncological practice. *Eur J Surg Oncol* 1995, 21:224-227.
16. Heys SD and Ashkanani F: Glutamine. *Br J Surg* 1999, 86:289-290.
17. Novak F, Heyland DK, Avenell A, Drover JW, Su X: Glutamine supplementation in serious illness: a systematic review of the evidence. *Crit Care Med* 2002, 30:2022-9.
18. Elsaïr J, Poey J, Isaad J et al.: Effect of arginine chlorhydrate on nitrogen balance during the three days following surgery in man. *Biomedicine* 1978, 29:312-317.
19. Cerra FB, Lehman S, Lonstantinides N et al.: Effect of enteral nutrition on *in vitro* tests of immune function in ICU patients. A preliminary report. *Nutrition* 1990, 6:84-87.
20. Daly JM, Lieberman MD, Goldfine J et al.: Enteral nutrition with supplemental arginine, RNA and omega-3 fatty acids after operation: immunologic, metabolic and clinical outcome. *Surgery* 1992, 112:56-67.

21. Cerra FB, Lehmann S, Konstantinides N et al.: Improvement in immune function in ICU patients by enteral nutrition supplemented with arginine, RNA, and menhaden oil is independent of nitrogen balance. *Nutrition* 1991, 7:193-199.
22. Gottschlich MM, Jenkins M, Warden GD et al.: Differential effects of three enteral dietary regimens on selected outcome variables in burn patients. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 1990, 14:225-236.
23. Kemen M, Senkal M, Homan H-H et al.: Early postoperative enteral nutrition with arginine-n-3 fatty acids and ribonucleic acid-supplemented diet *versus* placebo in cancer patients: an immunologic evaluation of Impact. *Crit Care Med* 1995, 23:652-659.
24. Moore FA, Moore EE, Kudsk KA et al.: Clinical benefits of an immune-enhancing diet for early postinjury enteral feeding. *J Trauma* 1994, 37:607-615.
25. Brown RO, Hunt H, Mowatt-Larssen CA, Wojtysiak SL, Henningfield MF, Kudsk KA: Comparison of specialized and standard enteral formulas in trauma patients. *Pharmacotherapy* 1994, 14:314-320.
26. Bower RH, Cerra FB, Bershadsky B et al.: Early enteral administration of a formula (Impact) supplemented with arginine, nucleotides, and fish oil in intensive care unit patients: results of a multicenter, prospective, randomized clinical trial. *Crit Care Med* 1995, 23:436-449.
27. Braga M, Vignali A, Gianotti L, Cestari A, Profili M, Di Carlo V: Benefits of early postoperative enteral feeding in cancer patients. *Infusions/ther Transfusions Med* 1995, 22:280-284.
28. Daly JM, Weintraub F, Shou J, Rosato EF, Lucia M: Enteral nutrition during multimodality therapy in upper gastrointestinal cancer patients. *Ann Surg* 1995, 221:327-338.
29. Kudsk KA, Minard G, Croce MA et al.: A randomized trial of isonitrogenous enteral diets after severe trauma. An immune-enhancing diet reduces septic complications. *Ann Surg* 1996, 224:531-543.
30. Schilling J, Vranjes N, Fierz W et al.: Clinical outcome and immunology of postoperative arginine, ω -3 fatty acids, and nucleotide-enriched enteral feeding: a randomised prospective comparison with standard enteral and low calorie/low fat IV solutions. *Nutrition* 1996, 12:423-429.
31. Braga M, Vignalli A, Gianotti L, Cestari A, Profili M, Carlo V: Immune and nutritional effects of early enteral nutrition after major abdominal operations. *Eur J Surg* 1996, 162:105-112.
32. Gianotti L, Braga M, Vignali A et al.: Effect of route of delivery and formulation of postoperative nutritional support in patients undergoing major operations for malignant neoplasms. *Arch Surg* 1997, 132:1222-1229.
33. Engel JM, Menges T, Neuhauser C, Schaefer B, Hempeklmann G: Effects of various feeding regimens in multiple trauma patients on septic complications and immune parameters. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 1997, 32:234-239.
34. Rodrigo CM, Garcia PJ: The effect of the composition of the enteral nutrition on infection in the critical patient. *Nutr Hosp* 1997, 12:80-84.
35. Saffle JR, Wiebke G, Jennings K, Morris SE, Barton RG: Randomized trial of immune-enhancing enteral nutrition in burn patients. *J Trauma* 1997, 42:793-802.
36. Mendez C, Jurkovich GJ, Garcia I, Davis D, Parker A, Maier RV: Effects of an immune-enhancing diet in critically injured patients. *J Trauma* 1997, 42:933-942.
37. Senkal M, Mumme A, Eickhoff U et al.: Early postoperative enteral immunonutrition: clinical outcome and cost-comparison analysis in surgical patients. *Crit Care Med* 1997, 25:1489-1496.
38. Braga M, Gianotti L, Vignali A, Cestari A, Bisagni P, Di Carlo V: Artificial nutrition after major abdominal surgery: Impact of route of administration and composition of the diet. *Crit Care Med* 1998, 26:24-30.
39. Weinmann A, Bastian L, Bischoff WE et al.: Influence of arginine, omega-3 fatty acids and nucleotide supplemented enteral nutrition support on systemic inflammatory response syndrome and multiple organ failure in patients with severe trauma. *Nutrition* 1998, 14:165-172.
40. Atkinson S, Sieffert E, Bihari D for the Guys Hospital Intensive Care Group: A prospective, randomized, double-blind, controlled clinical trial of enteral immunonutrition in the critically ill. *Crit Care Med* 1998, 26:1164-1172.
41. Braga M, Gianotti L, Radaelli G et al.: Perioperative immunonutrition in patients undergoing cancer surgery: results of a randomized double-blind phase 3 trial. *Arch Surg* 1999, 134:428-433.
42. Senkal M, Zumtobel V, Bauer KH et al.: Outcome and cost-effectiveness of perioperative enteral immunonutrition in patients undergoing elective upper gastrointestinal tract surgery: a prospective randomized study. *Arch Surg* 1999, 134:1309-1316.
43. Snyderman CH, Kachman K, Molseed L et al.: Reduced postoperative infections with an immune-enhancing nutritional supplement. *Laryngoscope* 1999, 109:915-921.
44. Galban C, Montejo JC, Mesejo A et al.: An immune-enhancing enteral diet reduces mortality rate and episodes of bacteremia in septic intensive care unit patients. *Crit Care Med* 2000, 28:643-648.
45. Heys SD, Walker LG, Smith I, Eremin O: Enteral nutritional supplementation with key nutrients in patients with critical illness and cancer: a meta-analysis of randomized controlled clinical trials. *Ann Surg* 1999, 229:467-477.
46. Beale RJ, Bryg D, Bihari DJ: Immunonutrition in the critically ill: A systematic review of clinical outcome. *Crit Care Med* 1999, 27:2799-2805.
47. Heyland DK, Novak F, Drover JW et al.: Should immunonutrition become routine in critically ill patients? A systematic review of the evidence. *JAMA* 2001, 286:944-953.
48. Montejo JC, Zarazaga A, Lopez-Martinez J: Immunonutrition in the intensive care unit. A systematic review and consensus statement. *Clin Nutr* 2003, 22:221-233.
49. Gianotti L, Braga M, Frei A, Greiner R, Di Carlo V: Health care resources consumed to treat postoperative infections: cost saving by perioperative immunonutrition. *Shock* 2000, 14:325-330.
50. Braga M, Gianotti L, Vignali A, Di Carlo V: Preoperative oral arginine and n-3 fatty acid supplementation improves the immunometabolic host response and outcome after colorectal resection for cancer. *Surgery* 2002, 132:805-814.
51. Heys SD: Immunonutrition in critical illness. *Nutrition* 2001, 17:57-58.
52. Heyland DK, Samis A: Does immunonutrition in patients with sepsis do more harm than good? *Int Care Med* 2003, 29:669-671.
53. Dent DL, Heyland DK, Levy H et al.: Immunonutrition may increase mortality in critically ill patients with pneumonia: results of a randomized trial. *Crit Care Med* 2003, 30:A17.
54. Basu HN, Liepa GU: Arginine: a clinical perspective. *Nutr Clin Pract* 2002, 17:218-225.
55. Kelly BS, Alexander JW, Dreyer D et al.: Oral arginine improves blood pressure in renal transplant and haemodialysis patients. *JPEN* 2001, 25:194-202.
56. Lorente JA, Landin L, De Pablo R et al.: L-arginine pathway in sepsis syndrome. *Crit Care Med* 1993, 21:1287-1295.
57. Boveris A, Costa L, Cadenas E, Poderoso JJ: Regulation of mitochondrial respiration by adenosine diphosphate, oxygen, and nitric oxide. *Methods Enzymol* 1999, 301:188-198.
58. Boekstegers P, Weidenhofer S, Kapsner T, Werden K: Skeletal muscle partial pressure of oxygen in patients with sepsis. *Crit Care Med* 1994, 22:640-650.
59. Gellerich FN, Trumbeckaite S, Hertel K et al.: Impaired energy metabolism in hearts of septic baboons: diminished activities of Complex I and Complex II of the mitochondrial respiratory chain. *Shock* 1999, 11:336-341.
60. Kubes P: Ischemia-reperfusion in feline small intestine: a role for nitric oxide. *Am J Physiol* 1993, 264:G143-G149.
61. Bertolini G, Iapichino G, Radrizzani D et al.: Early enteral immunonutrition in patients with severe sepsis: results of an interim analysis of a randomized multicentre clinical trial. *Clin Nutr* 2003, 29:834-840.
62. Oberholzer A, Oberholzer C, Moldawer LL: Sepsis syndrome: understand the role of innate and acquired immunity. *Shock* 2001, 16:83-96.
63. Abbas AK, Murphy KM, Sher A: Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature* 1996, 383:787-793.

Original

Análisis de la Resistencia Inmune en un Modelo Murino Experimental Alimentado con Dietas Lipídicas e Infectado con *Listeria monocytogenes*

M.^a A. Puertollano, M.^a T. Pérez-Toscano, L. Cruz-Chamorro, E. Puertollano, G. Álvarez de Cienfuegos y M. A. de Pablo*

Área de Microbiología. Departamento de Ciencias de la Salud. Facultad de Ciencias Experimentales. Universidad de Jaén.

Resumen

Algunas dietas lipídicas están implicadas en la reducción de ciertas funciones inmunes. Sin embargo, la acción inmunosupresora de estas dietas puede tener efectos adversos sobre la resistencia inmune del individuo frente a enfermedades de naturaleza infecciosa. En el presente estudio tratamos de valorar el estado inmune de ratones alimentados con dietas lipídicas e infectados experimentalmente con una cepa virulenta de *Listeria monocytogenes*.

Ratones de la raza Balb/c fueron divididos en cuatro grupos alimentados cada uno de ellos con su respectiva dieta: dieta baja en lípidos (control, 2,5%), dieta rica en aceite de oliva (AO, 20%), dieta rica en aceite de pescado (AP, 20%) y dieta rica en aceite de coco (AC, 20%). Los animales fueron alimentados durante un mes y posteriormente infectados con *L. monocytogenes* por vía endovenosa.

Los resultados han mostrado una reducción de la supervivencia en animales alimentados con AP, así como un incremento significativo en el número de bacterias viables aisladas a partir de bazo. Además hemos podido observar un aumento de la capacidad bactericida de células peritoneales procedentes de ratones alimentados con AO, aunque la invasividad de *L. monocytogenes* en este grupo fue mayor que en el resto. Finalmente, una reducción significativa de la linfoproliferación fue observada en el grupo alimentado con AP, mientras que la actividad de células natural killer (NK) no se ha visto modificada.

Estos resultados indican que dietas lipídicas constituidas por ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3 reducen la resistencia inmune de los ratones, mientras que una dieta constituida por AO no produce un efecto inmunosupresor tan relevante y por consiguiente no reduce drásticamente la resistencia inmune siendo más eficiente en la eliminación de *L. monocytogenes*.

(Nutr Hosp 2004, 19:333-340)

Palabras clave: Aceite de oliva. Aceite de pescado. Aceite de coco. Inmunonutrición. *Listeria monocytogenes*.

Correspondencia: Manuel Antonio de Pablo Martínez.
Universidad de Jaén. Facultad de Ciencias Experimentales.
Departamento de Ciencias de la Salud. Área de Microbiología.
23071 Jaén.
E-mail: mapablo@ujaen.es

Recibido: 11-II-2004.

Aceptado: 26-IV-2004.

ANALYSIS OF THE IMMUNE RESISTANCE IN AN EXPERIMENTAL MURINE MODEL FED DIETARY LIPIDS AND INFECTED WITH *LISTERIA MONOCYTOGENES*

Abstract

Several dietary lipids are capable of exerting an immunosuppressor effect. This action may have undesirable effects on the host immune resistance to infectious diseases. The purpose of the present study was to determine the immune status of mice fed dietary lipids and experimentally infected with a virulent strain of *Listeria monocytogenes*.

Balb/c mice were divided into four groups and were fed with their respective diet: low fat diet (LF, 20%), olive oil diet (OO, 20%), fish oil diet (FO, 20%) and hydrogenated coconut oil (HCO, 20%). Mice were fed for four weeks and infected with *L. monocytogenes* by endovenous route.

Results have shown a survival reduction in mice fed a diet containing FO, as well as a significant increase in the number of viable bacteria from spleen. In addition, we have observed an increase in the bactericidal activity in peritoneal cells from OO group, although the invasion of *L. monocytogenes* in cells from this group was larger. Finally, a significant reduction of lymphocyte proliferation was observed in the group fed an FO diet, whereas natural killer (NK) cell activity was not modified.

These results indicate that dietary lipids constituted by polyunsaturated n-3 fatty acids reduce the murine immune resistance, whereas a diet constituted by OO does not exert an immunosuppressor effect as relevant as FO diet, and it does not reduce the immune resistance leading to an efficient *L. monocytogenes* elimination.

(Nutr Hosp 2004, 19:333-340)

Key words: Olive oil. Fish oil. Hydrogenated coconut oil. Immunonutrition. *Listeria monocytogenes*.

Introducción

La interacción existente entre los nutrientes y el sistema inmune de animales y humanos es de gran relevancia y por consiguiente las consecuencias derivadas de la administración de ciertos componentes de la dieta deben de ser analizadas desde un punto de vista epidemiológico, clínico y experimental. Los estudios epidemiológicos llevados a cabo en los años 70 y 80 contribuyeron considerablemente a la demostración de los efectos inmunosupresores que el aceite de pescado ejerce en Esquimales de Groenlandia (población caracterizada por consumir una gran cantidad de pescado en su dieta), de manera que en esta población la incidencia de enfermedades inflamatorias es muy reducida¹. Posteriormente otros estudios han destacado el papel del aceite de pescado (compuesto principalmente por ácidos grasos poliinsaturados de la serie *n-3*) y del aceite de oliva (compuesto principalmente por ácidos grasos monoinsaturados de la serie *n-9*) en la reducción de la actividad inflamatoria característica de enfermedades de naturaleza inflamatoria como por ejemplo la artritis reumatoide^{2,3}. Por lo tanto, la administración de ácidos grasos con actividad inmunosupresora podría tener efectos beneficiosos para la salud, dirigidos fundamentalmente a la prevención de desórdenes de tipo inflamatorio. Sin embargo, investigaciones paralelas a las mencionadas con anterioridad indicaron que en los Esquimales de Groenlandia la tasa de enfermos afectados por tuberculosis era significativamente alta^{4,5}. Así, este hecho revela que los procesos de inmunosupresión tras la administración de dietas ricas en ácidos grasos poliinsaturados de la serie *n-3* reducen la resistencia inmune frente a agentes infecciosos.

Posteriormente diferentes estudios experimentales mostraron los mecanismos de acción de diferentes dietas lipídicas (fundamentalmente aquellas que contienen ácidos grasos poliinsaturados de la serie *n-3*) que conducen a un proceso de inmunosupresión. Igualmente otras investigaciones de carácter experimental se han centrado en el estudio de las diferentes funciones inmunes moduladas por estos ácidos grasos. Así, a lo largo de los últimos años numerosas investigaciones han puesto de manifiesto las consecuencias derivadas del consumo de una dieta rica en ácidos grasos de la serie *n-3* en animales sometidos a una infección experimental con bacterias, virus o parásitos. Generalmente estas consecuencias se basan en una reducción de las funciones inmunes que conduce a un incremento de la susceptibilidad del animal frente al agente patógeno^{6,8}.

Sin embargo, en nuestro estudio nos centramos particularmente en los efectos que una dieta rica en aceite de oliva puede provocar en la modulación de las funciones inmunes y por lo tanto es de gran importancia la determinación de las consecuencias que la administración de una dieta que contiene aceite de oliva puede inducir sobre la alteración de las funcio-

nes inmunes y especialmente sobre la resistencia a enfermedades de naturaleza infecciosa. Así, ratones de la raza Balb/c fueron divididos en cuatro grupos y alimentados cada uno con una dieta que contenía baja proporción de grasas (control), aceite de oliva (AO), aceite de pescado (AP) o aceite de coco (AC), respectivamente. Una vez finalizado el período de administración de las dietas, los ratones fueron sometidos a una infección experimental con *Listeria monocytogenes*, un patógeno intracelular muy utilizado para establecer los mecanismos inmunes desencadenados frente a bacterias que se desarrollan en el interior de ciertos tipos celulares.

Material y métodos

Animales y dietas

Ratones Balb/c, (8-10 semanas de edad) obtenidos de la Universidad de Jaén fueron mantenidos en jaulas a 24° C y ciclos luz/oscuridad de 12 h. Los ratones se escogieron aleatoriamente y fueron divididos en cuatro grupos experimentales. Cada grupo tuvo acceso a agua y a sus respectivas dietas experimentales *ad libitum*. Las dietas eran idénticas en composición a excepción del tipo de grasa. Así, el primer grupo fue alimentado con una dieta que contenía una baja proporción de lípidos (dieta control 2,5%), el segundo grupo con una que contenía aceite de oliva (AO, 20%), el tercer grupo con una que contenía aceite de pescado (AP, 20%) y finalmente el cuarto grupo con una que contenía aceite de coco (AC, 20%). Las dietas fueron administradas durante cuatro semanas antes de la infección experimental con *L. monocytogenes*. La composición de las dietas experimentales es mostrada en la tabla 1.

Tabla I
Composición de las dietas experimentales^a

<i>Componentes</i>	<i>g/kg/dieta</i>
Caseína	200
Metionina	3
Almidón	315
Sacarosa	155
Celulosa	80
Grasas ^b	200
Mezcla mineral	35
Mezcla vitamínica	10
Colina	2

^aRatones Balb/c fueron alimentados con sus respectivas dietas durante 4 semanas.

^bLos aceites incorporados a las dietas fueron: aceite de oliva (AO), aceite de pescado (AP) y aceite de coco (AC). El grupo control fue alimentado con una dieta baja en lípidos (2,5%, dieta control).

Infección experimental con Listeria monocytogenes

Una cepa virulenta de *L. monocytogenes* fue sembrada en agar sangre (medio agar triptona-soja [TSA] suplementado con 7% de sangre) a 37° C durante 24 h. Posteriormente para los ensayos de supervivencia, 10⁷ unidades formadoras de colonias (UFC)/ml fueron recogidas en tampón fosfato salino (PBS) y 100 µl de esta suspensión (10⁶ UFC) fueron inyectadas a través de la vena de la cola. Cada grupo estaba compuesto por 10 ratones y la muerte fue registrada cada 8 h. Los datos son expresados como porcentaje de supervivencia.

Recuperación y cuantificación de bacterias viables a partir del bazo

Los ratones fueron infectados a través de la vena de la cola (10⁴ UFC por ratón). Los bazos de los ratones infectados fueron homogenizados asépticamente y las células lavadas tres veces en agua destilada para producir un choque osmótico y liberar a las bacterias que crecen en el interior. Seis diluciones seriadas fueron llevadas a cabo en solución salina mediante la transferencia de 10 µl en placas de agar TSA-sangre. Las placas fueron incubadas a 37° C durante 24 h y el número de colonias bacterianas fue contado. Los resultados son expresados como log₁₀ de bacterias viables.

Medición de proliferación de linfocitos

La proliferación de linfocitos aislados del bazo de ratones alimentados con las dietas experimentales fue cuantificado mediante la técnica colorimétrica con (3-[4,5-dimethylthiazol-2 yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide) (MTT)⁹. Los esplenocitos fueron cultivados en placas de 96 pocillos a una concentración de 10⁵ células/pocillo e incubados en una atmósfera humidificada a 37° C y 5% de CO₂ durante 24 h y en presencia de concanavalin A (Con A) a 5 µg/ml. Posteriormente se añadió 150 µl de HCl 0.04N en isopropanol para disolver los precipitados de formazan. La densidad óptica de cada muestra en triplicado se cuantificó en un lector de microplacas a 550 nm (longitud de onda de medida) y 620 nm (longitud de onda de referencia). Los resultados son expresados como índice de estimulación que fue calculado como densidad óptica (DO) en presencia del mitógeno dividido por la DO en ausencia del nitógeno.

Actividad de células natural killer (NK)

La actividad de las células NK fue determinada mediante la medición de la liberación de la enzima lactato deshidrogenasa (LDH) producida por las células esplénicas en sobrenadantes de los cultivos celulares. La citotoxicidad fue medida mediante un kit (Promega, Madison, WI, USA) siguiendo las instrucciones del fabricante. Las células esplénicas (células efectoras) fueron ajustadas a una concentración de 2 × 10⁶ célu-

las/pocillo en triplicado, mientras que las células YAC-1 (células diana) fueron ajustadas a una concentración de 10⁴ células/pocillo en una placa de microtiter de 96 pocillos y a un ratio efectoras:diana de 100:1, 50:1 y 25:1. La liberación máxima de LDH fue determinada al incubar las células diana con Triton X-100 al 0,8%. En cambio, la liberación de LDH espontánea fue cuantificada mediante el cultivo de las células diana en RPMI 1.640 suplementado con suero bovino fetal (SBF) al 5%. La placa fue centrifugada durante 5 min a 700 rpm y posteriormente las células se incubaron durante 5 h a 37° C y en una atmósfera humidificada con 5% de CO₂. El tampón de liberación máxima fue añadido 45 min antes de que finalizara el periodo de incubación. El sustrato fue añadido a cada pocillo, incubando las células durante 30 min a temperatura ambiente y protegidas de la luz. Finalmente la reacción fue detenida al añadir la solución stop y la placa fue leída en un lector de microplacas a una longitud de onda de 492 nm. Los valores son expresados como porcentaje de liberación de LDH y calculados según la siguiente ecuación:

$$\text{Citotoxicidad} = \left[\frac{(\text{DO}_{\text{experimental}} - \text{DO}_{\text{espontánea efectoras}})}{(\text{DO}_{\text{espontánea diana}} - \text{DO}_{\text{máximo diana}})} \right] \times 100$$

Análisis de la actividad bactericida

La eficiencia de células peritoneales para eliminar a *L. monocytogenes* fue determinada mediante protocolos previamente descritos¹⁰. Células peritoneales ajustadas a una concentración de 2 × 10⁶ células/ml fueron incubadas con bacterias viables a 37° C durante 30 min (20 bacterias por célula). Una solución de gentamicina a una concentración final de 50 µg/ml fue añadida con el objeto de eliminar a las bacterias no fagocitadas. Tras 15 min de incubación, las células fueron lavadas dos veces en PBS suplementado con 1 g/l de albúmina sérica bovina. Una alícuota de las células fue lisada con digitonina al 0,1% a 4° C con el objeto de liberar las bacterias internalizadas. Las muestras fueron sembradas en triplicado en placas de TSA-sangre (recuento inicial). La alícuota restante fue incubada durante 2 h a 37° C y procesadas como se ha descrito anteriormente (recuento final). La actividad bactericida de células peritoneales se expresa como la diferencia entre las lecturas practicadas a 0 h (recuento inicial) y 2 h (recuento final) × 100 y dividido por la lectura a 0 h.

Determinación de adhesión e invasión de L. monocytogenes

Para este ensayo las células esplénicas ajustadas a una concentración de 3 × 10⁵ por pocillo fueron dispuestas en placas de 24 pocillos. Para los ensayos de adhesión, las células fueron infectadas con 0,1 ml de suspensión bacteriana (20 bacterias por célula, índice de multiplicidad 2001) durante 2 h de incubación a 37° C y 5% CO₂. Posteriormente las células fueron lavadas tres veces y li-

sadas con 1 ml de Triton X-100 al 1% durante 5 min a 37° C, seguido por 10 diluciones seriadas en TSA-sangre. Las UFC fueron contadas después de 24 h de incubación de las placas a 37° C. Para los ensayos de invasión 50 µg/ml de gentamicina fueron añadidos al cultivo celular infectado para matar las bacterias extracelulares; seguido de 2 h de incubación a 37° C. Finalmente, las células fueron lavadas dos veces y lisadas con Triton X-100 al 1% durante 5 min a 37° C. Los resultados fueron expresados como log₁₀ de bacterias viables.

Análisis estadístico

Los datos son presentados como media ± error estándar de la media, Los resultados fueron determinados por análisis de varianza (ANOVA) para comparar los efectos de las dietas experimentales y el grupo control. Cuando ANOVA indicó diferencias significativas, se utilizó el test LSD. Las diferencias estadísticamente significativas fueron consideradas a $P < 0,05$.

Resultados

1. Análisis in vivo

Peso de ratón y bazo

Los pesos de ratón y bazo no mostraron diferencias estadísticamente significativas en todos los grupos analizados, con excepción del grupo alimentado con AP en el cual una reducción significativa en el peso de ratón y bazo fue observada después de la administración de la dieta (tabla II).

Tabla II

Pesos de ratón y de bazo después de la administración de las dietas experimentales

Grupos experimentales	Peso del ratón (g)	Peso del bazo (mg)
Control	25,9 ^a ± 3,9	143 ± 31
AO	26,7 ± 3,2	170 ± 24
AP	22,7 ± 3,2*	110 ± 19*
AC	26,5 ± 1,9	157 ± 28

*Media ± error estándar de la media ($n = 5$ en cada grupo experimental). AO: aceite de oliva; AP: aceite de pescado. AC: aceite de coco. * $P < 0,05$ es considerado como estadísticamente significativo.

Ácidos grasos poliinsaturados n-3 reducen la supervivencia de ratones infectados

La figura 1 muestra los valores de supervivencia de ratones alimentados con dietas lipídicas a una infección experimental con *L. monocytogenes*. Los animales alimentados con la dieta que contiene AP mueren antes que aquellos alimentados con los otros tipos de dieta analizados. De hecho, a las 48 h de la infección experimental con *L. monocytogenes* sólo sobrevivieron el 20% de los animales, mientras que a las 96 h murieron el 100% de todos los animales que integraban este grupo. Sin embargo, en los grupos alimentados con AO o AC los animales sobrevivieron durante más tiempo especialmente en los animales alimentados con esta última dieta, donde los porcentajes de

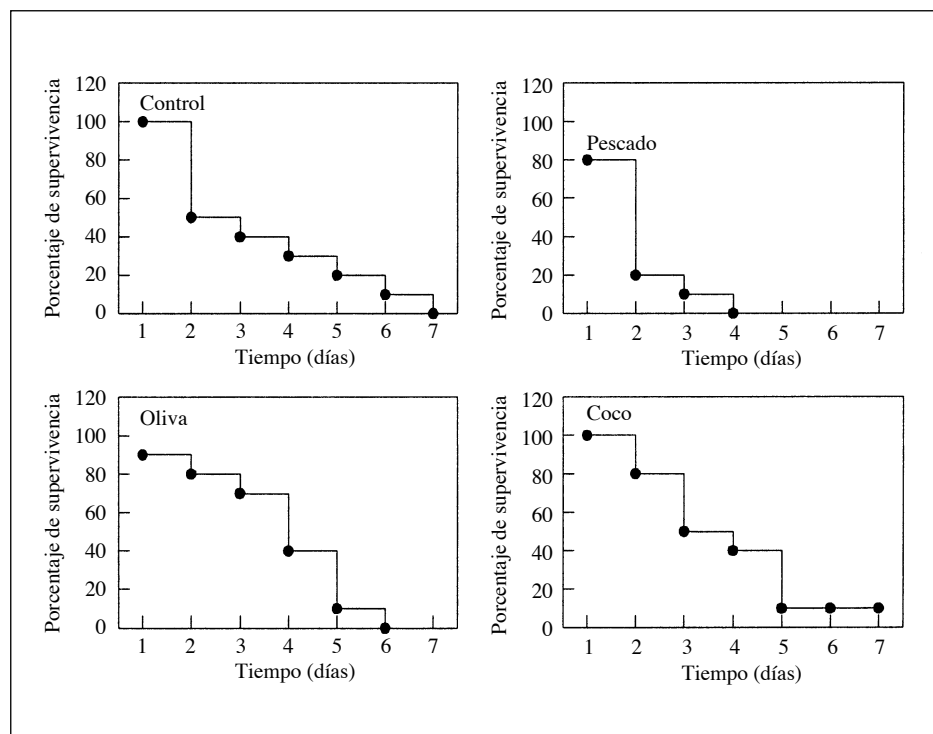


Fig. 1.—Porcentaje de supervivencia de ratones alimentados con dietas lipídicas ($n=10$ en cada grupo experimental) después de la infección con *Listeria monocytogenes*.

supervivencia fueron superiores al resto de los grupos.

Recuentos de bacterias viables a partir del bazo

El recuento de bacterias viables obtenidas a partir del bazo de ratones alimentados con dietas lipídicas ha mostrado un incremento estadísticamente significativo en los grupos alimentados con AO, AP o AC con respecto al grupo alimentado con una dieta baja en lípidos (control) ($P < 0,05$). Sin embargo, es destacable mencionar el elevado número de bacterias aisladas en bazos de ratones alimentados con la dieta que contiene AP, mayor que en el resto de los grupos analizados (fig. 2).

2. Análisis ex vivo

Proliferación de linfocitos estimulados con concanavalin A (Con A)

La figura 3 muestra la proliferación de linfocitos estimulados con el mitógeno Con A. La proliferación de linfocitos procedentes de ratones alimentados con AP mostró una reducción estadísticamente significativa con respecto a los valores de linfoproliferación en animales alimentados con una dieta control ($P < 0,05$). En el resto de los grupos no encontramos alteraciones estadísticamente significativas con respecto a la proliferación de linfocitos, aunque podemos observar un ligero incremento en la proliferación de linfocitos en el grupo alimentado con la dieta que contiene AO.

Actividad de células natural killer (NK)

La tabla III muestra la actividad de células NK en animales alimentados con dietas lipídicas. La administración de las diferentes dietas lipídicas no modifi-

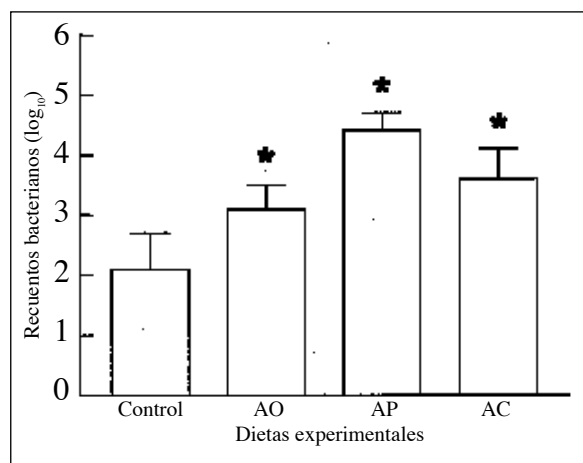


Fig. 2.—Recuentos de *Listeria monocytogenes* aislada a partir del bazo de ratones alimentados con dietas lipídicas ($n = 5$ en cada grupo experimental). * $P < 0,05$ comparado con el grupo control es considerado como estadísticamente significativo.

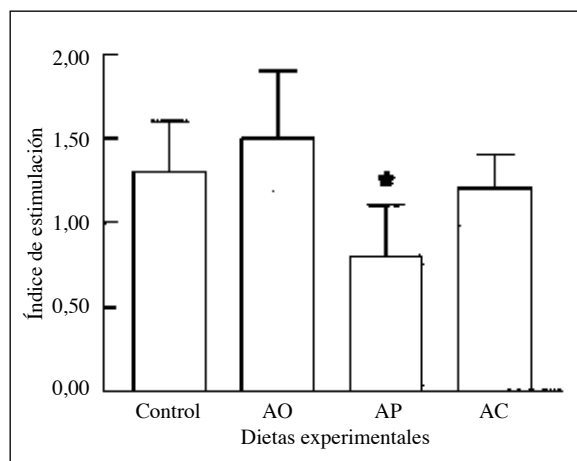


Fig. 3.—Medición de la proliferación de linfocitos estimulados con concanavalina A (Con A) en animales alimentados con dietas lipídicas ($n = 5$ en cada grupo experimental). * $P < 0,05$ comparado con el grupo control es considerado como estadísticamente significativo.

can la actividad de células NK medida como porcentaje de citotoxicidad.

Actividad bactericida

La actividad bactericida determina la capacidad de las células fagocíticas para eliminar un determinado patógeno. La tabla IV muestra la medición de la actividad bactericida de células peritoneales procedentes de animales alimentados con dietas lipídicas. En el grupo alimentado con AP podemos observar una reducción significativa de la capacidad de estas células para eliminar a *L. monocytogenes* ($P < 0,05$), mientras que en el grupo alimentado con AO el porcentaje de la actividad bactericida es mayor que el del grupo control.

Adhesión e invasión

En este estudio tratamos de determinar también la capacidad de adhesión e invasión de *L. monocytogenes* en esplenocitos procedentes de animales alimentados con dietas lipídicas. Los valores de adhesión fueron reducidos significativamente en esplenocitos de animales alimentados con AP, mientras que los mayores valores de invasión fueron observados en el grupo alimentado con AO (fig. 4).

Discusión

Los estudios experimentales y epidemiológicos llevados a cabo hasta el momento han revelado las propiedades inmunomoduladoras de algunas dietas lipídicas y la importancia que han adquirido algunos ácidos grasos en inmunonutrición^{11,12}. Sin embargo, la acción que ejercen las mencionadas dietas lipídicas depende fundamentalmente del tipo de ácidos grasos conteni-

Tabla III
Medición de la actividad de células natural killer (NK)

Ratio (E:D)	Citotoxicidad (%)			
	Control	AO	AP	AC
100:1	62 ± 1,5 ^a	58 ± 1,3	65,7 ± 1,3	53,5 ± 1,0
50:1	31,1 ± 1,3	35 ± 1,0	36,8 ± 1,2	44,8 ± 1,0
25:1	16 ± 0,9	27 ± 1,1	14,2 ± 1,0	8,5 ± 0,6

^aMedia ± error estándar de la media (n = 5 en cada grupo experimental).

AO: aceite de oliva. AP: aceite de pescado. AC: aceite de coco. E: efectores. D: diana.

Tabla IV
Medida de la actividad bactericida en ratones alimentados con las dietas experimentales e infectados con *L. monocytogenes*

Grupos experimentales	Actividad bactericida (%)
Control	63,2 ^a ± 10
AO	71,1 ± 16
AP	32,3 ± 13,6*
AC	53,2 ± 14

^aMedia ± error estándar de la media (n = 5 en cada grupo experimental).

AO: aceite de oliva. AP: aceite de pescado. AC: aceite de coco.

*P < 0,05 es considerado como estadísticamente significativo.

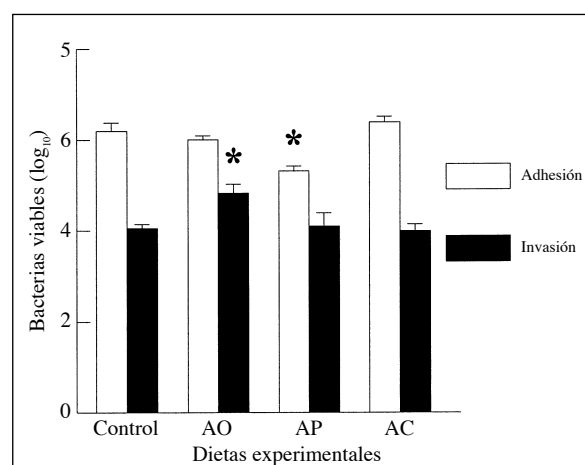


Fig. 4.—Medición de la adhesión e invasión de *Listeria monocytogenes* en esplenocitos procedentes de animales alimentados con dietas lipídicas e incubadas durante 2 h. Adhesión (barras abiertas), invasión (barras cerradas). *P < 0,05 comparado con el grupo control es considerado como estadísticamente significativo (n = 5 en cada grupo experimental).

dos en ellas. Tal y como hemos indicado con anterioridad, el aceite de pescado compuesto principalmente por ácidos grasos de la serie n-3 es el más inmunosupresor ejerciendo su efecto sobre diferentes funciones

del sistema inmune como es la proliferación de linfocitos¹³, producción de diferentes citoquinas¹⁴, actividad de células NK¹⁵, o moléculas de adhesión¹⁶. Esta propiedad inmunosupresora se ha revelado muy importante en la reducción de los síntomas inflamatorios característicos de enfermedades autoinmunes como por ejemplo la artritis reumatoide^{2,3}. Sin embargo un efecto inmunosupresor también puede ser perjudicial, puesto que reduce la resistencia inmune del individuo frente a agentes patógenos^{6,7}. Muchos son los estudios que han indicado que la administración de dietas que contiene ácidos grasos de la serie n-3 reducen la resistencia inmune frente a patógenos tan importantes como *Mycobacterium tuberculosis*¹⁷, *Salmonella typhimurium*¹⁸ *Pseudomonas aeruginosa*¹⁹ o *L. monocytogenes*²⁰⁻²². Por el contrario es necesario mencionar que otros estudios han demostrado un incremento de la resistencia inmune en animales alimentados con dietas enriquecidas con aceite de pescado e infectados experimentalmente con *Klebsiella pneumoniae*²³⁻²⁴, o bien una ausencia de efecto en ratones alimentados con diferentes dietas lipídicas en infectados con *Pseudomonas aeruginosa* o *Salmonella typhimurium*²⁵. Sin embargo, a nuestro juicio estas discrepancias se pueden deber a los diferentes mecanismos de patogenia que utilizan las diferentes bacterias expuestas con anterioridad, si bien los estudios llevados a cabo con el virus influenza en animales alimentados con aceite de pescado han demostrado también una reducción de la resistencia inmune frente a este agente^{26,27}.

Estas propiedades inmunosupresoras asociadas a la administración de dietas que contienen aceite de pescado no se ven tan agudizadas con la administración de dietas que contienen AO, puesto que esta grasa no ejerce un efecto inmunosupresor tan relevante como el AP²⁸. Así, los ensayos *in vivo* han demostrado como los índices de supervivencia de los animales alimentados con ácidos grasos saturados son mayores y consecuentemente sobreviven a la infección con una dosis letal de *L. monocytogenes* durante un periodo de tiempo ligeramente superior que el grupo alimentado con AP²². Paralelamente este estudio ha demostrado como a partir del bazo de los animales experimentalmente infectados con *L. monocytogenes* y alimentados con

una dieta que contiene ácidos grasos saturados se produce una reducción en el recuento de bacterias viables en comparación con el grupo alimentado con la dieta que contiene AP, esto indica que el sistema inmune del grupo alimentado con ácidos grasos saturados posee una mayor capacidad para eliminar a *L. monocytogenes* que el grupo alimentado con una dieta que contiene AP²². En nuestro estudio hemos podido comprobar como se reduce la supervivencia en el grupo alimentado con AP, mientras que la recuperación de bacterias viables aisladas a partir de bazo es mayor, lo cual indica una ineficiente capacidad de eliminación de *L. monocytogenes* en el grupo alimentado con esta dieta. Por el contrario, en el resto de los grupos el porcentaje de supervivencia fue ligeramente superior y la recuperación de bacterias viables a partir de bazo fue menor que en el grupo alimentado con la dieta que contiene AP.

Las propiedades inmunosupresoras asociadas al AO se deben exclusivamente a la acción del ácido oleico y por lo tanto, otros componentes menores que forman parte de este aceite no están implicados en estas acciones²⁹. Además, la administración de N-acetil-L-cisteína, agente con función antioxidante, no produjo ningún efecto en la supervivencia o en el recuento de bacterias viables obtenidas a partir del bazo de animales alimentados con una dieta que contenía AO o AP, lo que demuestra que el posible papel de la oxidación causada por la administración de dietas que contienen ácidos grasos poliinsaturados o monoinsaturados, no adquiere ninguna importancia en la supresión del sistema inmune y por lo tanto, otras causas diferentes a los procesos de oxidación son responsables de la modulación del sistema inmune por los ácidos grasos de la dieta³⁰.

Uno de los posibles mecanismos implicados en un mejor estado del sistema inmune en animales alimentados con AO puede estar relacionado con una mejor respuesta linfoproliferativa. En esplenocitos procedentes de ratones alimentados con AO y estimulados con un mitógeno de células T como es Con A pudimos observar un incremento de esta actividad, mientras que una reducción significativa del índice de estimulación fue cuantificado en esplenocitos de animales alimentados con AP. Este dato indica la capacidad supresora de esta dieta, tal y como algunos estudios sugieren¹³. Por otra parte, en nuestro estudio no comprobamos ninguna alteración de la actividad de células NK después de la administración de dietas lipídicas, mientras que otras investigaciones han encontrado una reducción de la actividad de estas células¹⁵. Aquí, también determinamos la capacidad de adhesión e invasión de *L. monocytogenes* en esplenocitos de animales alimentados con dietas lipídicas. Como podemos apreciar, los valores de invasión son superiores en el grupo alimentado con la dieta que contiene AO, mientras que la capacidad bactericida en este grupo fue mayor. Estos resultados indican que uno de los factores implicados en la eliminación de *L. monocytogenes* en el grupo alimentado con AO está relacionado con la capacidad de las células

procedentes de estos ratones para posibilitar la entrada de *L. monocytogenes*, mientras que simultáneamente un incremento de la actividad bactericida frente a este patógeno ha sido evidenciado, lo cual facilita considerablemente la eliminación de este patógeno¹⁰.

De estos estudios se deduce principalmente que si bien el AO ejerce un proceso inmunosupresor, éste no es tan relevante como el derivado de la administración de dietas que contienen AP y esto provoca un mayor incremento de la resistencia inmune del individuo frente a enfermedades de naturaleza infecciosa. Por consiguiente, a raíz de estas investigaciones se desprende la secuencia de los ácidos grasos más inmunosupresores; así ácidos grasos poliinsaturados > ácidos grasos monoinsaturados ≥ ácidos grasos saturados.

Sin embargo, a pesar de los descubrimientos dentro de este campo, en los últimos años se han generado una serie de discrepancias lo cual hace necesario una mayor investigación con el objeto de despejar las actuales controversias y determinar las razones por las cuales en algunos casos las dietas enriquecidas con ácidos grasos poliinsaturados de la serie *n*-3 incrementan la resistencia inmune, mientras que en otros casos la reducen. Este hecho podría estar relacionado con la necesidad de definir de forma precisa los componentes del sistema inmune requeridos para la defensa frente a un patógeno específico, el modo de administración del patógeno, las especies animales objeto del estudio o la cantidad de ácidos grasos administrados en la dieta.

Conclusiones

Las dietas lipídicas constituidas por ácidos grasos poliinsaturados de la serie *n*-3 (contenidos fundamentalmente en el aceite de pescado) producen una supresión de las funciones inmunes, lo cual conduce a una reducción de la resistencia inmune del individuo frente a agentes patógenos (bacterias o virus). Sin embargo, las dietas constituidas por ácidos grasos monoinsaturados (contenidos particularmente en el aceite de oliva) no ocasionan una inmunosupresión tan agudizada como los ácidos grasos poliinsaturados de la serie *n*-3 y no inducen un incremento tan severo de la susceptibilidad del individuo a enfermedades de naturaleza infecciosa.

Agradecimientos

M. A. Puertollano recibe una beca del Plan de Formación de Personal Docente e Investigador de la Junta de Andalucía. E. Puertollano recibe una beca del Plan de Formación de Profesorado Universitario del Ministerio de Educación, Cultura y Deporte.

Referencias

1. Kromann N y Green A: Epidemiological studies in the Upernavik district, Greenland incidence of some chronic diseases 1950-1974. *Acta Med Scand* 1980; 208:401-406.

2. Kremer JM, Lawrence DA, Jubiz W y cols.: Dietary fish oil and olive oil supplementation in patients with rheumatoid arthritis. Clinical and immunologic effects. *Arthritis Rheum* 1990, 33:810-820.
3. Linos A, Kaklamanis E, Kontomerkos A y cols.: The effect of olive oil and fish consumption on rheumatoid arthritis-case control study. *Scand J Rheumatol* 1991, 20:419-426.
4. Kaplan, GJ, Fraser, RI, Comstock GW: Tuberculosis in Alaska 1970. *Am Rev Respir Dis* 1971, 105:920-926.
5. Stevenson M: Tuberculosis in the north - a lifestyle issue. *Can Nurse* 1984, 80:41-43.
6. Anderson M, Fritsche KL: (n-3) fatty acids and infectious disease resistance. *J Nutr* 2002, 132:3566-3576.
7. De Pablo MA, Puertollano MA, Álvarez de Cienfuegos G: Biological and clinical significance of lipids as modulators of immune system functions. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002, 9:945-950.
8. De Pablo MA, Puertollano MA y Álvarez de Cienfuegos G: Immune cell functions, lipids and host natural resistance. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2000, 29:323-328.
9. Mosmann T: Rapid colorimetric, assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 1983, 65:55-63.
10. Palombo JD, DeMichele SJ, Boyce PJ y cols.: Effect of short-term enteral feeding with eicosapentaenoic and gamma-linolenic acids on alveolar macrophage eicosanoid synthesis and bactericidal function in rats. *Crit Care Med* 1999, 27:1908-1915.
11. Calder PC: Fat chance of immunomodulation. *Immunol Today* 1998, 19:244-247.
12. De Pablo MA, Álvarez de Cienfuegos G: Modulatory effects of dietary lipids on immune system functions. *Immunol Cell Biol* 2000, 78:31-39.
13. Yaqoob P, Newsholme EA, Calder PC: The effect of dietary lipid manipulation on rat lymphocyte subsets and proliferation. *Immunology* 1994, 82:603-610.
14. Calder PC: N-3 polyunsaturated fatty acids and cytokine production in health and disease. *Ann Nutr Metab* 1997, 41:203-234.
15. Yaqoob P, Newsholme EA, Calder PC: Inhibition of natural killer cell activity by dietary lipids. *Immunol Lett* 1994, 41:241-247.
16. Sanderson P, Calder PC: Dietary fish oil diminishes lymphocyte adhesion to macrophage and endothelial cell monolayers. *Immunology* 1998, 94:79-87.
17. Paul KP, Leischnering M, Pfisterer M y cols.: Influence of n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids on the resistance to experimental tuberculosis. *Metabolism* 1997, 46:619-624.
18. Chang HR, Dullo AG, Vladoianu IR y cols.: Fish oil decreases natural resistance of mice to infection with *Salmonella typhimurium*. *Metabolism* 1992, 41:1-2.
19. Peck MD, Alexander JW, Ogle CK y Babcock GF: The effect of dietary fatty acids on response to *Pseudomonas* infection in burned mice. *J Trauma* 1990, 30:445-452.
20. De Pablo MA, Puertollano MA, Gálvez A, Ortega E, Gaforio JJ y Álvarez de Cienfuegos G: Determination of natural resistance of mice fed dietary lipide to experimental infection induced by *Listeria monocytogenes*. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2000; 27:127-133.
21. Puertollano, MA, De Pablo MA y Álvarez de Cienfuegos G: Relevance of dietary lipids as modulators of immune functions in cells infected with *Listeria monocytogenes*. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002;9:352-357.
22. Fritsche KL, Shabbazian LM, Feng C, Berg JN: Dietary fish oil reduces survival and impairs bacterial clearance in C3H/He mice challenged with *Listeria monocytogenes*. *Clin Sci* 1997, 92:95-101.
23. Björnsson S, Hardardóttir I, Gunnarson E, Haraldsson A: Dietary fish oil supplementation increases survival in mice following *Klebsiella pneumoniae* infection. *Scand J Infect Dis* 1997, 29:491-493.
24. Blok WL, Vogels MT, Curfs JH, Eling WM, Buunman WA, Van der Meer JW: Dietary fish-oil supplementation in experimental gram-negative infection and in cerebral malaria in mice. *J Infect Dis* 1992,165:898-903.
25. Clouva-Molyvdas P, Peck MD, Alexander JW: Short-term dietary lipid manipulation does not affect survival in two models of murine sepsis. *J Parenter Enteral Nutr* 1992, 16:343-347.
26. Byleveld PM, Pang GT, Clancy RL, Roberts DCK: Fish oil feeding enhances lymphocyte proliferation but impairs virus-specific T lymphocyte cytotoxicity in mice following challenge with influenza virus. *Clin Exp Immunol* 2000, 119:287-292.
27. Byleveld PM, Pang GT, Clancy RL, Roberts DC: Fish oil feeding delays influenza virus clearance and impairs production of interferon-gamma and virus-specific, immunoglobulin A in the lungs of mice. *J Nutr* 1999, 129:328-335.
28. Yaqoob P, Knapper JA, Webb DH, Williams CM, Newsholme EA, Calder PC: Effect of olive oil on immune function in middle-aged men. *Am J Clin Nutr* 1998, 67:129-135.
29. Jeffery NM, Yaqoob P, Newsholme EA, Calder PC: The effects of olive oil upon rat serum lipid levels and lymphocyte functions appear to be due to oleic acid. *Ann Nutr Metab* 1996, 40:71-80.
30. Puertollano MA, De Pablo MA, Álvarez de Cienfuegos G: Anti-oxidant properties of N-acetyl-L-cysteine do not improve the immune resistance of mice fed dietary lipids to *Listeria monocytogenes* infection. *Clin Nutr* 2003, 22:313-319.

Original

Protective effects of zinc on oxidative stress enzymes in liver of protein deficient rats

P. Sidhu, M. L. Garg and D. K. Dhawan*

*Department of Biophysics Panjab University Chandigarh, India

Abstract

This study was designed to evaluate the protective effects of zinc on the liver activities of antioxidant enzymes in protein-deficient rats. Zinc sulfate at a dose level of 227 mg/l in drinking water was administered to Sprague Dawley normal control as well as to protein-deficient rats for a total duration of eight weeks. The effects of zinc treatment and protein deficiency alone as well as combined were studied on rat liver antioxidant enzymes which included catalase, glutathione peroxidase (GPX), glutathione reductase (GR), superoxide dismutase (SOD), and glutathione S-transferase (GST). Protein deficiency in normal rats resulted in a significant increase in hepatic lipid peroxidation and in catalase, Gpx, GR and GST activity. A significant inhibition in the levels of SOD activity and reduced glutathione (GSH) was observed following protein deficiency in normal rats. Zn treatment to protein deficient animals lowered lipid peroxidation and catalase, Gpx and GST activities, and also resulted in a significant elevation in the levels of GSH and SOD activity. The concentration of zinc decreased significantly in protein deficient animals but returned to normal levels when zinc was administered.

(Nutr Hosp 2004, 19:341-347)

Key words: Zinc. Protein deficiency. Liver antioxidants.

Introduction

Nutritional stress in the form of deficient protein condition is quite prevalent in the developing coun-

Correspondence: P. Sidhu
Department of Biophysics
Panjab University
Chandigarh
160014 India
E-mail: pardeepsidhu@yahoo.co.uk

Recibido: 30-VII-2004.

Aceptado: 11-VIII-2004.

EFFECTOS DEL ZINC SOBRE ENZIMAS DE ESTRÉS OXIDATIVO EN EL HÍGADO DE RATAS CON DÉFICIT PROTEICO

Resumen

Este estudio fue diseñado para estudiar los efectos protectores del zinc sobre la actividad de los enzimas antioxidantes del hígado en ratas con déficit proteico. Se administró sulfato de zinc en una dosis de 227 mg por litro en agua a ratas Sprage Dawley control y a un grupo de ratas con déficit proteico durante un período de ocho semanas. Los efectos del tratamiento de zinc y de la deficiencia proteica *per se*, así como su combinación, fueron estudiados sobre los enzimas antioxidantes de; hígado de la rata, incluyendo catalasa, glutathione peroxidase (GPX), glutathione reductase (GR), superóxido dismutasa (SOD) y glutathione s-transferasa (GST). La deficiencia proteica en ratas normales produjo un aumento significativo en la peroxidación lipídica del hígado, así como en la actividad de catalasa GPX, GR y GST. Hubo una inhibición significativa de los niveles de actividad SOD y una reducción del glutathione en las ratas con déficit proteico. El tratamiento con zinc a los animales con déficit proteico disminuyó la peroxidación lipídica y la actividad de catalasa GPX y GST, y también produjo una *elevación significativa* en los niveles de actividad de GSH y SOD. La concentración de zinc disminuyó de manera significativa en los animales con déficit proteico, pero volvió a los *niveles normales* cuando se administró zinc.

(Nutr Hosp 2004, 19:341-347)

Palabras clave: Zinc. Déficit proteico. Antioxidantes hepáticos.

tries, including Asian countries in which 33% of the world population lives¹. Even in developed countries like America up to 85% of the older adults living in nation's nursing homes suffer from protein-caloric malnutrition (PCM)². Protein deficiency is rampant among the industrial workers in India and other third world countries³ and this may be associated with adverse functional disorders of body metabolism, which is likely to be exaggerated in conditions of heavy metal toxicity. Protein malnutrition disorders include growth failure, hypoproteinaemia, hypoalbuminaemia,

edema, fatty liver, atrophy of lymphoid tissues and decreased host immune defense in humans and animals^{4,5}. Protein deficient diet intake strongly influences the activity of drug metabolizing enzymes^{6,7} as well as antioxidant enzymes^{8,9}. Feeding of a protein-deficient diet to rats has been shown to increase Hpid peroxidation (LPO) and to induce significant changes in the liver activities of catalase, glutathione peroxidase (GPX) and superoxide dismutase (SOD) in the liver^{10,11}. The significant increase in SOD activity associated with the decrease in plasma ceruloplasmin, antioxidant vitamins and the whole blood GPX activity in protein energy malnourished children suggest that these children are potentially susceptible to high oxidative stress. It has been proposed that free radical-mediated tissue damage may be involved in the pathogenesis of liver diseases, mainly because of the inadequate protective and repair mechanism in protein deficient individuals¹².

Persons afflicted with protein malnutrition are deficient in a variety of micronutrients. Protein deficiency has been shown to decrease the hepatic levels of zinc, manganese, copper, calcium and magnesium in experimental animals^{13,14}. Alterations in the levels of trace elements result in number of diseases like hypoalbuminemia, and anemia in malnourished children¹⁵. Bhaskaram and Hemalatha. 1995¹⁶ observed that children suffering from severe protein energy malnutrition have very low levels of the thymulin, hormone which is a sensitive indicator of zinc status in the body, and low leukocyte count, indicating zinc deficiency, which got improved when zinc supplements were provided along with rehabilitation diets. It is known that dietary protein variation affects the absorption and uptake of ⁶⁵Zn¹⁷. Zinc supplementation during nutritional rehabilitation of PEM hastens the recovery from protein deficiency and helps in gaining body weight¹⁸. Supplementation of zinc restores serum thymulin activity and improves the nutritional status of elderly people in terms of food intake and serum albumin^{19,20}.

Zinc has been shown to have an antioxidant potential through the non-enzymatic stabilization of biomembranes and biostructures. Dhawan and Goel, 1994²¹ have shown that CCl₄ induced lipid peroxidation in the microsomal fraction of liver homogenates was inhibited by adding zinc to the incubation medium. The present study was undertaken to further elucidate the protective role of zinc on the status of antioxidant enzymes in conditions of protein deficiency.

Materials and methods

Animals

Rats in the weight range of 110-120 g of Sprague Dawley (SD) strain were obtained from the Central Animal Home, Panjab University, Chandigarh. The

animals were housed in polypropylene cages in the animal house of the Department of Biophysics, under hygienic conditions and were acclimatized for at least one week before putting them on different treatments. Thereafter, the animals were randomly divided into four groups each having ten animals each.

G-1, Control

Animals in this group served as normal controls and were fed a diet with a normal protein content (18%). Composition of the diet²² is given in the table below.

G-2, Protein deficient (PD)

Protein deficiency was induced in the animals of this group by feeding a protein-deficient diet with a 8% protein content. Composition of the diet²² is also given in the table.

G-3 Zinc treated (Zn)

Animals were given zinc in the form of ZnSO₄ at a dose level of 227 mg/L in drinking water and had free access to the normal diet.

G-4, Zn + PD treated

Animals received ZnSO₄ in the drinking water and were given the protein deficient diet.

Composition (%)	Normal (18%) Protein Diet	Low (8%) Protein Diet
Casein (g)	18	8
Starch (g)	25	31.5
Sucrose (g)	25	31.5
Cellulose (g)	14	
Corn oil (ml)	10	10
Vitaminmixture (g)	2	2
Salt mixture (g)	6	6

The treatments of rats continued for a period of eight weeks. At the end of the treatment, the animals were weighted and were sacrificed by exsanguination under light anesthesia. Livers were removed immediately and were perfused and rinsed in normal saline (NaCl, 9 g/l/w/v). One lobe was preserved by for the determination of various trace elements and the other was processed immediately for various biochemical investigations.

Biochemical determinations

The livers were removed and perfused with normal saline (0.9% WN) to reduce red blood cell contamination. Samples were homogenized in 100 mM potassium phosphate buffer (pH 7.5) containing 0.15 M

KCl to obtain 25% homogenate, using a motor driven teflon fitted homogenizer. The homogenates were centrifuged in a cold centrifuge (4° C, REMI instruments, Bombay) at 10,000 xg for 30 minutes. The pellets were discarded and the supernatants were again centrifuged at 10,000 xg for 30 minutes. The pellets were discarded and final post mitochondrial supernatant (PMS) was preserved for the estimation of antioxidant enzymes and lipid peroxidation.

The method of Luck, 1971 was used for the estimation of catalase²⁴. Glutathione peroxidase was assayed by the method of Flohe and Gurtzler²⁵. Glutathione reductase was assayed by the method of Williams and Arscott²⁶. The activity of superoxide dismutase was estimated by using the method which is based on the principle of the inhibitory effect of SOD on reduction of nitroblue tetrazolium (NBT) dye by superoxide anions, which are generated by the photooxidation of hydroxylamine hydrochloride (NH₂OH.HCl). Estimation of reduced glutathione was performed in the tissue homogenates of liver by the method of Moron et al²⁷. Glutathione-S-Transferase was assayed by the method of Habig et al²⁸. Lipid peroxidation was estimated by the method of Ohokawa et al, 1979²⁹. Protein was measured by the method of Lowry et al, 1951²³.

Zinc concentration

Estimations of zinc concentrations in the liver samples of the different treatment groups were carried using Energy Dispersive X-ray Fluorescence (EDXRF), one of the most suitable analytical method to analyze trace elements because of its properties such as non-destructive, sensitivity up to ppm and multielemental analysis.

The liver tissues of all the animals were oven dried at 70° C to a constant weight and then ground with the help of Agate Pestle and Mortar. 300 mg dried powder of the tissue so obtained was weighed and mixed with equivalent amount of Hoechst Wachs (wax) to make self supporting pellets. The pellets were made by using a specially designed pure, steel dye and a hydraulic press from Paul weber, Germany. A force of approximately 45 KN (Kilo newtons) was applied at the dye top in order to make pellets of uniform thickness.

The pellets of tissues were analyzed using an EDXRF X-Lab, 2000 to determine the levels of various elements. The X-lab, 2000 spectrometer involved a 0.4 kw Pd mode Xray tube as source of excitation. The power of the X-ray tube was adjusted on line for each individual measurement by the spectrophotometer software, to secure optimum acquisition parameters for the current analysis.

Presently, different X-ray energies and excitation modes are being used but the most important mode used was of 40 kV and excitation used was polarized X-Ray. A Si (Li) detector coupled with computer (Pentium, 600 MH, software package SPECTRO X-

LAB^{PRO} 2.2) was used to collect the fluorescent X-ray spectra from the samples. The X-ray tube, secondary exciter, target and the Si (Li) detector were placed in a triaxial geometry mode. This geometry was used to minimize the background due to scattered photons.

Statistical analysis

The statistical significance of the differences was measured by one way analysis of variance (ANOVA) followed by Newman-Keuls test. The determinations are presented as Mean + S.D.

Results

The results of all the experiments conducted during the current study we depicted in various tables. All the results of various treatment groups have been compared with their normal controls. Results of zinc + protein deficient (G-4) treated group have been computed with the results of the protein deficient group (G-2).

Body weights

Changes in the body weight of the animals subjected to the different treatments are shown in table I. Body weights of normal control and zinc treated rats, increased progressively throughout the study. Protein deficiency resulted in a significant ($p < 0.001$) decrease in the body weights after eight weeks, when compared to normal control rats. Zinc treatment to the protein deficient rats tended to improve the body weight growth in comparison to protein deficient (G-2) rats but body weights in protein deficient rats were statistically different from normal control rats.

Hepatic protein contents

Table I shows hepatic protein contents in the different experimental groups expressed as mg g⁻¹ tissue. Protein deficient animals, showed a highly significant ($P < 0.001$) reduction in the hepatic protein contents

Table I
Effect of zinc treatment on body weight and hepatic protein concentration in protein-deficient rats

Group	Hepatic Protein	
	Weight (g)	(mg.g ⁻¹ tissue)
G-1 Control	199 ± 7	156 ± 5
G-2 Protein-deficient	146 ± 29 ^{a3}	112 ± 5 ^{a3}
G-3 Zinc-treated	180 ± 22	162 ± 7
G-4 Protein-deficient + Zinc	161 ± 30 ^{a1}	151 ± 9 ^{b3}

Values are Mean ± SD.

^{a1} $p < 0.05$, ^{a2} $p < 0.01$ and ^{a3} $p < 0.001$ in comparison to G-1.

^{b1} $p < 0.05$, ^{b2} $p < 0.01$ and ^{b3} $p < 0.001$ comparison of G-4 with G-2.

as compared to the control group. However, zinc administration to the protein deficient rats helped in raising the hepatic protein contents as compared to their respective controls.

Antioxidant enzymes and lipid peroxidation

The effects of zinc treatment in control and protein deficient rats in different groups on hepatic lipid peroxidation, catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, superoxide dismutase, reduced glutathione and glutathione-S-transferase are shown in table II.

Protein deficient rats showed a significant ($p < 0.001$) increase in hepatic lipid peroxidation, catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, and glutathione-S-transferase. A significant ($p < 0.001$) inhibition in the levels of superoxide dismutase activity and reduced glutathione was detected following protein deficiency in normal rats.

Zn treatment to protein deficient animals could lower significantly ($p < 0.01$) the already raised levels of lipid peroxidation and the activities of enzymes catalase, glutathione peroxidase and glutathione-S-transferase when compared to control animals. Also, Zn treatment to the protein deficient animals resulted in a significant elevation ($P < 0.001$) in the levels of GSH and SOD activity as compared to their respective controls, thereby indicating its effectiveness in regulating their levels in adverse conditions.

Hepatic concentration of zinc

Table III shows the concentration of zinc in liver tissue of the different groups. Zinc concentration decreased significantly in protein-deficient animals. However zinc levels got elevated to within normal levels in these groups in which zinc was administered along with other treatments.

Table III
Levels of zinc following zinc treatment in protein-deficient rats

Group	Zinc ($\mu\text{g/g}$)
G-1 Control	58 ± 6
G-2 Protein-deficient	40 ± 5^{a3}
G-3 Zinc-treated	58 ± 8
G-4 Protein-deficient + Zinc	51 ± 5^{b2}

Values are Mean $\pm$ SD.

^a $p < 0.05$, ^{a2} $p < 0.01$ and ^{a3} $p < 0.001$ in comparison to G-1.

^b $p < 0.05$, ^{b2} $p < 0.01$ and ^{b3} $p < 0.001$ comparison of G-4 with G-2.

Discussion

We observed that the body weights of normal control and zinc treated rats increased progressively throughout the study. Protein deficiency resulted in a significant decline in the body weight after eight weeks, when compared to normal control rats. Loss in body weight is characteristic of protein malnutrition. In an earlier report from our laboratory it has been observed that protein deficiency leads to significant growth retardation in animals [1]. Many other workers have also reported the decrease in body weight due to protein deficiency^{30,31}. It has been observed in these studies that retardation in body weight growth over a period is not due to low food intake but to a deficiency in protein intake. Zinc treatment to the protein-deficient rats tended to improve the body weight growth. Similar protective effects of zinc in improving the body weight gain of the animals have also been reported in other studies, in which radiations or carbon tetrachloride was used to induce liver injury^{21,32,33}. The protective effects of zinc could be attributed to its ability to reduce collagen accumulation in liver and also it exerts critical physiological role in regulating the structure and function of cells.

Table II
Effect of zinc on lipid peroxidation, reduced glutathione concentration and antioxidant enzyme activities in liver of protein deficient rats

Group	LPO ($n\text{ mol mg}^{-1}$ protein 90 min^{-1})	Catalase ($\text{mmol H}_2\text{O}_2$ decomposed $\text{min}^{-1}\text{mg}^{-1}$ protein)	GPX (μmol NADPH oxidized mg^{-1} protein)	GR (μmol GSSG reduced hr^{-1} mg^{-1} protein)	SOD (IU)	GSH ($\mu\text{moles of GSH g}^{-1}$ tissue)	GST ($\mu\text{mol CDNB}$ conjugated min^{-1} mg^{-1} protein)
G-1 Control	0.99 ± 0.00	0.63 ± 0.07	0.43 ± 0.04	1.67 ± 0.23	2.24 ± 0.28	2.66 ± 0.08	0.43 ± 0.04
G-2 Protein-deficient	1.31 ± 0.24^{a3}	0.76 ± 0.08^{a3}	0.60 ± 0.02^{a3}	2.34 ± 0.14^{a3}	1.73 ± 0.15^{a3}	1.98 ± 0.02^{a3}	0.60 ± 0.02
G-3 Zinc-treated	1.00 ± 0.00	0.68 ± 0.02	0.39 ± 0.02	1.76 ± 0.09	2.27 ± 0.12	2.78 ± 0.21	0.39 ± 0.02
G-4 Protein-deficient + Zinc	0.99 ± 0.01^{b3}	0.64 ± 0.06^{b3}	0.42 ± 0.03^{b3}	$2.03 \pm 0.29^{a1, b2}$	2.10 ± 0.04^{b3}	2.60 ± 0.09^{b3}	0.42 ± 0.03^{b3}

Values are Mean $\pm$ SD.

^a $p < 0.05$, ^{a2} $p < 0.01$ and ^{a3} $p < 0.001$ in comparison to G-1.

^b $p < 0.05$, ^{b2} $p < 0.01$ and ^{b3} $p < 0.001$ comparison of G-4 with G-2.

In our study, the levels of zinc decreased in protein-deficient rats, but returned to normal following zinc supplementation. The observation of depressed Zn levels in the liver of protein deficient rats in the present investigation we in conformity with previous studies^{34,13}. Abnormalities in zinc metabolism leading to its deficiency are generally attributed to various factors like, malabsorption, malnutrition, decreased intestinal zinc binding factors or the increased excretion of the zinc via the gastrointestinal tract or via urine are of common occurrence in chronic liver disorders³⁵. The results of the current study for lowered zinc concentrations could be explained on the basis that either it is excessively being utilized in providing antioxidant defense mechanism or there is some defect in the absorption/ metabolism of zinc in toxic conditions created by protein deficiency. Studies carried out in animals and humans had shown that zinc is essential for utilization of aminoacids³⁶. Conversely, protein malnutrition plays a major role on liver zinc depletion³⁴. Zinc has been found to be associated with metal binding proteins that are known to regulate the functions of zinc as well as copper. Metallothionein also plays a role in the detoxification of heavy metals and stabilize membranes³⁷.

Protein-deficient treatment groups, showed a highly significant reduction in the protein content as compared to normal control group which is in agreement with the earlier reports³⁸. Davenport et al, 1994³⁸ demonstrated that in protein deficient states, the reduction in serum albumin contents were due to depletion in amino acid precursors of albumin synthesis. However, zinc administration to the protein deficient rats helped in raising the hepatic protein contents ($p < 0.001$) and were brought to normal limits as compared to their respective controls. This property of Zn could be attributed to its role in the induction of metallothionein (Zn binding protein) thereby regulating the amino acid precursors for albumin synthesis^{39,40}.

Lipid peroxidation is the process of oxidative degradation of polyunsaturated fatty acids (PUFA). Its occurrence in biological membranes causes impaired membrane function, impaired structural integrity⁴¹, decrease in fluidity, and inactivation of a number of membrane bound enzymes and protein receptors. Lipid peroxidation is an autocatalytic free-radical process and could be responsible for DNA damage⁴².

A significant increase in malondialdehyde products was observed in the protein deficient groups in the present study which suggested that low protein diet intake might result in enhanced lipid peroxidation in liver. These results seems to be in agreement with previous findings^{8,11} suggesting that the rats fed on a low protein diet might be more susceptible to peroxidative tissue damage under the influence of oxidative stress. The increased lipo peroxidation could be attributed to the reduction in detoxifying hyperperoxides in protein deficient conditions. Moreover, the degree of depressions of detoxifying hyperperoxides in protein defi-

cient conditions might also be correlated with the degree of protein deficiency⁸.

The normalization of lipo peroxidation due to Zn administration could be attributed to its antiperoxidative property. Studies have shown that Zn causes inhibition of both endogenous as well as induced lipid peroxidation to stabilize biomembranes^{43,18}. Further, the levels of zinc which were reduced in low protein conditions got maintained by its supplementation and this apparently contributed to a reduction in lipid peroxidation.

To protect themselves against free radicals, cells have developed antioxidant defenses and repair systems which prevent the accumulation of oxidatively damaged molecules. The antioxidant defense system include enzymes like glutathione peroxidase (GPx), catalase, glutathione reductase (GR), glutathione-s-transferase (GST), superoxide dismutase (SOD), as well as small molecules such as ascorbic acid, reduced glutathione (GSH) and uric acid^{44,45}. Catalase is a ubiquitous enzyme and is a major component in primary antioxidant enzyme system, which catalyzes the decomposition of H_2O_2 to H_2O and sharing this function with glutathione peroxidase (GPx). Glutathione peroxidase on the other hand is located in the cytosol and mitochondrial matrix and catalyzes the reduction of H_2O_2 and lipid and nonlipid hydroperoxides to oxidized glutathione (GSSG) using two molecules of GSH. Further oxidized, GSSG is reduced back to GSH by glutathione reductase (GR), which utilizes NADPH regenerated by glucose-6-phosphate dehydrogenase.

In the present study, after subjecting the rats to protein deficiency the hepatic activity of catalase, glutathione peroxidase and glutathione reductase got raised but superoxide dismutase activity was found to be inhibited. Darmon et al, 1993¹⁰ also observed an increase in catalase activity in low protein diet fed rats. Zhu et al, 1993⁴⁶ accounted the high levels of GPx following protein deficiency due to its low utilization and increase in synthesis. An enhanced level of glutathione reductase has been reported earlier in rats fed protein restricted diet^{47,48}. The observed elevation in the activities of both GPx and GR in the present study under low protein diet may be due to enhanced synthesis of these enzymes, which are actively involved in reducing the H_2O_2 generation⁴⁹.

The observed increase in lipid peroxidation in the protein deficient group seems to be associated with a decrease in SOD activity, as SOD inhibits hydrogen peroxide by scavenging free oxide molecule⁵⁰. Our results regarding the significant decrease of SOD following restriction of protein diet are in agreement with earlier reports^{48,51}. Following zinc treatment the altered levels of enzymes tended to be normalized because of the antioxidant property of zinc.

Glutathione-s-transferases (GSTs) form a group of enzymes that are present in high concentrations in the cytosol and catalyze a wide variety of substitution reactions in which glutathione (GSH) replaces an easily dis-

placed group on the xenobiotic, and thus prevents the subsequent toxic reactions⁵². This reaction involves a compound with an electrophilic atom and GST facilitates the nucleophilic attack of glutathione thiolate on this electron deficient atom of the hydrophobic compound. GSH plays an important role in intracellular protection against toxic compounds, reactive oxygen species, and free radicals⁵³. Reduced glutathione (GSH) protects the liver microsomes against the effects of reactive (peroxides and oxygen) intermediates which are formed by Cytochrome P450 system as well as lipid peroxidation⁵⁴.

In the present study the low protein diet caused a marked decrease in the levels of GSH which is in agreement with earlier studies^{47,55}. Ayala et al⁴⁷ observed that in rats fed on a low protein diet, supplemented with all essential amino acids except methionine, there was a decrease of GSH levels. They proposed that low intracellular concentration of cysteine available for GSH synthesis and feed back inhibition of gamma glutamyl cysteine synthetase may be responsible for inhibition in the activities under protein deficient conditions. The low protein diet results in increase of hepatic levels of glutathione degrading enzyme, gamma glutamyl transferase (γ -GT) and, thus, a decreased concentration of glutathione⁵⁶. Because GSH is an important component of the detoxification mechanism, its lowered concentration in protein-deficient conditions would, therefore, lead to decreased detoxification capacity of liver. Further reduction in GSH levels in protein deficient is understandable in the light of elevation of GPx under these conditions. The present observations of a decline in GSH levels in protein deficient groups are in coherence with earlier reports¹¹ and can be attributed to the activation of γ -GT to replenish intracellular glutathione on the sinusoidal surface of the liver cells⁵⁷.

We have also observed an increase in GST activity following protein deficiency treatment. Ramdath and Golden⁵⁸ reported a similar increase in malnourished children. Cho et al⁵⁹ stated that the antioxidant response element (ARE)-binding activity of protein-calorie malnutrition rats gets increased, which in turn results in activation of certain GST mRNAs and a higher GST activity.

The observed normalization of GSH levels and GST activity following Zn treatment could be because of its property to induce metallothionein (S-rich protein) as a free radical scavenger, or its indirect action in reducing the levels of oxygen reactive species⁶⁰, however the precise mechanism for these actions remains to be elucidated.

In conclusion, the present study highlights the protective role of zinc in maintaining the activities of enzymes involved in oxidative of stress induced in conditions of protein deficiency.

Acknowledgements

This work was supported by financial grant from IUC-DAE, Kolkata and ICMR, New Delhi. We are al-

so thankful to Prof. T. Butz, Fakultät für Physik and Geowissenschaften, Universität Leipzig, Leipzig, Germany for helping in zinc analysis.

References

1. Polute J, Kapila Jordi C, Lluís A: Nickel -induced hyperglycaemia: the role of insulin and glucagons. *Toxicology* 1992, 71:181-192.
2. Crogan NL, Pasvogel A: The influence of protein-calorie malnutrition on quality of life in nursing homes. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2003, 58:159-164.
3. Kusal KD, Shbantula D: Alteration of testicular biochemistry during protein restriction in nickel treated rats. *Biol Trace Elem Res* 1997, 60:243-249.
4. Taylor CG, Potter AJ, Rabinovitch PS: Splenocyte glutathione and CD3-mediated cell proliferation are reduced in mice fed a protein deficient diet. *J Nutr* 1997, 127:44-50.
5. Keusch GT: The history of nutrition: malnutrition, infection and immunity. *J Nutr* 2003, 133:336S-340S.
6. Ammigan N, Nair UJ, Bhide SV: Effect of dietary protein on mashi induced drug metabolizing enzymes. *Nutr Res* 1989, 9:1397-1405.
7. Ramdath DD, Golden MH: Elevated glutathione-s-transferase activity in erythrocytes from malnourished children. *Eur J Clin Nutr* 1993, 47:658-665.
8. Huang CJ, Fwu ML: Degree of protein deficiency affects the extent of the depression of antioxidant enzyme activities and the enhancement of tissue lipid peroxidation in rats. *J Nutr* 1993, 123:803-810.
9. Tat MM, Vural H, Koc A, Kosecik M, Atas A: Altered antioxidant status and increased lipid peroxidation in marasmic children. *Pediatr Int* 2000, 42:289-292.
10. Darmon N, Pelissier MA, Heyman M, Albrecht R, Desjeux JF: Oxidative stress may contribute to the intestinal dysfunction of weanling rats fed a low protein diet. *J Nutr* 1993, 123:1068-1075.
11. Tandon A, Dhawan DK, Nagpaul JP: Effect of lithium on hepatic lipid peroxidation and antioxidant enzymes under different dietary protein regimens. *J Appl Toxicol* 1998, 18:187-190.
12. Deneka SM, Gershoff SN, Fanburg BL: Potentiation of oxygen toxicity in rats dietary protein or amino acids deficiency. *J of Appl. Physiol Resp Environ Exercise Physiol* 1983, 54:147-157.
13. Tandon A, Nagpaul JP, Bandhu H, Singh N, Dhawan D: Effect of lithium on hepatic and serum elemental status under different dietary protein regimens. *Biol Trace Elem Res* 1999, 68:51-62.
14. Squali Houssaini FZ, Foulon T, Payen N, Iraqi MR, Arnaud J, Grosclaude P: Plasma fatty acid status in Moroccan children: increased lipid peroxidation and impaired polyunsaturated fatty acid metabolism in protein-calorie malnutrition. *Bio-med Pharmacother* 2001, 55:155-612.
15. Singla PN, Chand P, Kumar A, Kachhawaha JS: Serum, zinc and copper levels in children with protein energy malnutrition. *Indian J Pediatr* 1996, 63:199-203.
16. Bhaskaram P, Hemalatha P: Zinc status of Indian children. *Indian J Med Res* 1995, 102:210-215.
17. Babcock AK, Henkin RI: Effects of oral zinc loading on zinc metabolism in human II. *In vivo kinetics. Metab Clin Exp* 1982, 31:335-347.
18. Srivastava RC, Hasan SK, Gupta J, Gupta S: Protective role of metallothionein in nickel induced oxidative damage. *Biochem Mol Biol Int* 1993, 30:261-370.
19. Driscoll ER, Bettger WJ: Zinc deficiency in the rat alters the lipid composition of the erythrocyte cell membrane. *Triton Shell Lipids* 1992, 27:972-977.
20. Boukaiba: A physiological amount of zinc supplementation Effects on nutritional, lipid and thymic status in an elderly population. *Am J Clin Nutr* 1993, 57:566-572.
21. Dhawan DK, Goel A: Protective role of zinc on rat liver function in long term toxicity induced by carbon tetrachloride. *J Trace Elem Exp Med* 1994, 7:1-9.

22. Kau J, Jaswal VM, Nagpaul JP, Mahmood A: Chronic ethanol feeding and microvillus membrane glycosylation in normal and protein-malnourished rat intestine: *Nutrition* 1992, 8:338-342.
23. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall J. Protein measurement with the Folin Phenol reagent. *J Biol Chem* 1951, 193:265-275.
24. Luck H. Catalase. In: *Methods of Enzymatic analysis*. (Eds. Bergmeyer, HO, Academic Press, New York., London), 1971; 885-893.
25. Flohe L, Gurzler WA: Assays of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol.* 1984, 105:114-21
26. Williams CH Jr., Arscott ID: Glutathione reductase. *Methods in Enzymology*, Vol. XVII B (SP Colowick and NO Kaplan, Eds., Academic Press, New York), 1971, 503-59.
27. Moron MJ, Dipierre JW, Mannerv KB: Levels of glutathione, glutathione reductase and glutathione-S-transferase activities in rat lung and liver. *Biochem Biophys Acta* 1979, 582:67-71.
28. Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB: Glutathione S-Transferase: The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 1974, 249:7130-7139.
29. Ohokawa H, Oshishi N, Yagi K: Assay for lipid peroxidation in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979, 75:351-358.
30. Wang G, Yu S, Bao C: Effect of different levels of protein intake on metabolism of protein, zinc and copper in rats. *Zhongguo Gonggong Weishing Xuebao.* 1995, 14:90-93.
31. Bauman PF, Smith TK, Bray TM: The effect of dietary protein and sulfur aminoacids on hepatic glutathione dependent enzyme activities in the rat. *Can J Physiol Pharmacol* 1988, 66:1048-1052.
32. Yao JZ, Liu JF, Zhang WN, Zhou YJ, Zhu J, Lu JG, Wang XY: Synthesis, preliminary autogastrelcosis activity and the protective effect on acute liver injury of zinc chloride E4 Yao Xue Xue Bao 2001, 36:188-191.
33. Chen JF, Shi QJ, Zheng SY: Experimental research of protective and therapeutic effects of zinc and vitamin E on mouse liver radiation damage. *Hunan Yi Ke Da Xue Xue Bao* 2001, 26:207-210.
34. Martel AC, Reimers EG, Fernández FS, Aleman VC, Martin LG, Moreno FR, Riera AM: Combined effects of ethanol and protein deficiency on hepatic iron, zinc, manganese and copper contents. *Alcohol* 1992, 9:341-348.
35. McClain CJ, Su Le: Zinc deficiency in the alcoholic alcoholism. *Winters Press*, New York, 1983, 7:5-10.
36. Sandstead HH, Vo-Khactu KP, Solomon N: Trace elements in Human health and disease (Prasad, AS Eds., Vol. 1, Academic Press, New York), 1976, 33-49.
37. Vallee BL, Falchuk KE: The biochemical basis of zinc physiology. *Physiol Rev* 1993, 73:79-118.
38. Davenport DL, Mostardi RA, Richardson DC, Gross KL, Greene, KA, Blair K: Protein-deficient diet alters, serum alkaline phosphatase, bile acids, protein and area nitrogen in dogs. *J Nutr* 1994, 124:2677S-79S.
39. Yang BS, Ishii H, Satoh A, Kato N: Supplementation of dietary cystine elevates kidney metallothionein in rats by a mechanism involving altered zinc metabolism. *J Nutt* 1995, 125:1167-1174.
40. Tekeli SK: The study of effects on serum glucose, total lipid, total protein and albumin levels of orally zinc in rats. *Trace Elem and Electro* 2002, 19:6-10.
41. Gutteridge JM, Halliwell, B: Oxygen radicals and tissue injury. *FASEB J* 1988, 13:9-19.
42. Shirali P, Teissier E, Marez T, Hildebrand HF, Haguenoer JM: Effect of alpha Ni₃S₂ on arachidonic acid metabolites in cultured human lung cells (L132 cell line). *Carcinogenesis* 1994, 15:759-762.
43. Dhawan D, Goel A, Gautam CS: Effects of zinc intake on liver enzymes in carbon tetrachloride induced liver injury. *Med Sci Res* 1992, 20:55-6.
44. Chow CK: Interrelationships of cellular antioxidant defense systems. In: *Cellular Antioxidant Defense Mechanisms* (Chow C.K. Ed) Vol. II pp. 217-237. CRC Press, Boca Raton, 1989.
45. Cadenas: Biochemistry of oxygen toxicity. *Am Rev Biochem* 1989, 58:79-110.
46. Zhu Z, Kimura M, Itokawa Y: Effect of selenium and protein deficiency on selenium and glutathione peroxidase in rats. *Biol Trace Elem Res* 1993, 36:15-23.
47. Ayala A, Gordillo E, Castano A, Lobato MF, Machado A: Involvement of diminution of glutathione, produced by deficiency of methionine in the diet, in the elevation of malic enzyme level in rat liver. *Biochim Biophys Acta* 1991, 1084:48-51.
48. Pelissier MA, Boisset M, Atteba S, Albrecht R: Lipid peroxidation of rat liver microsomes membranes related to a protein deficiency and / or a PCB treatment. *Food Addit Contam* 1990, 7 (Supl. 1):S172-177.
49. Michiels C, Raes M, Toussaint O, Remacle J: Importance of Se-glutathione peroxidase, catalase and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress. *Free Rad Biol Med* 1994, 17:235-258.
50. Fridovich I: Superoxide radical and superoxide dismutase. *Annu Rev Biochem* 1995, 64:97-112.
51. Ram S, Sodhi CP, Mehta S, Vaiphei K, Katyal R, Thakur S, Mehta SK: Protein-energy malnutrition and oxidative injury in growing rats. *Hum Exp Toxicol* 1996, 15:810-814.
52. Siddiqui MKJ, Mahboob M, Mustafa M: Hepatic and extrahepatic glutathione depletion and glutathione-S-transferase inhibition by monocrotophos and thiol analog. *Toxicology* 1990, 64:271-279.
53. Meister A: New aspects of glutathione biochemistry and transport selective alteration of glutathione metabolism. *Nutr Rev* 1984, 42:397-410.
54. Burk RF: Glutathione dependent protection by rat liver microsomal protein against lipid-peroxidation. *Biochem Biophys Acta* 1983, 757:21-28.
55. Hum S, Koski KG, Hofet LJ: Varied protein intake alters glutathione metabolism in rats. *J Nutr* 1992, 122:2010-2018.
56. Taniguchi M and Cherian MG: Ontogenic changes in hepatic glutathione and metallothionein in rats and the effect of a low-sulphur-containing diet. *Br J Nutr* 1990, 63:97-103.
57. Chow CK: Nutritional influence on cellular antioxidant defense systems. *Am J Clin Nutr* 1979, 32:1066-1081.
58. Ramdath DD, Golden MH: Elevated glutathione-S-transferase activity in erythrocytes from malnourished children. *Eur J Clin Nutr* 1993, 47:658-665.
59. Cho MK, Kim YG, Lee MG, Kim SG: The effect of cysteine on the altered expression of class alpha and mu glutathione S-transferase genes in the rat liver during protein-calorie malnutrition. *Biochim Biophys Acta* 2000, 1502:235-246.
60. Seagrave J, Tobey RA, Milderbrand CE: Zinc effects on glutathione metabolism. Relationship to zinc induced protection from alkylating agents. *Biochem Pharmacol* 1983, 32:3017-3021.

Original

Ingesta excesiva de alcohol, malnutrición y cáncer de cabeza y cuello

C. Martín Villares, J. Domínguez Calvo, J. San Román Carbajo, M. E. Fernández Pello, P. Pomar Blanco y M. Tapia Risueño

Servicio de ORL. Hospital del Bierzo. Ponferrada. León.

Resumen

Los pacientes con cáncer de cabeza y cuello presentan generalmente una excesiva ingesta de alcohol en su dieta diaria. El objetivo de este trabajo será establecer la relación entre consumo excesivo de alcohol en cáncer de cabeza y cuello y malnutrición junto al posible valor pronóstico del abuso de alcohol en su evolución oncológica.

Pacientes y métodos: Se estudian de forma prospectiva 50 pacientes con cáncer de cavidad oral o faringolaringe en estadio T2-4. Se investigará sobre el estado nutricional y la aparición de recidivas en función de la ingesta de alcohol, así como la posibilidad de abandono del consumo de alcohol al finalizar el tratamiento oncológico.

Resultados: El 51% de nuestros enfermos ingería diariamente una cantidad excesiva de alcohol en su dieta. El 70% de los grandes consumidores de alcohol presentaban mal estado nutricional, frente a una incidencia de desnutrición del 30% en los enfermos que no tomaban alcohol ($p < 0,01$). El 30% de los pacientes que tomaban alcohol en exceso presentaron recidiva tumoral frente al 13% de recidivas en pacientes no bebedores ($p < 0,05$). Solo el 48% de los pacientes con ingesta excesiva de alcohol consiguió abandonar su hábito tóxico, siendo los pacientes alcohólicos con malnutrición los enfermos que más fracasaron en el abandono de la ingesta excesiva del alcohol.

Conclusiones: El exceso de alcohol en la dieta de los enfermos con cáncer de cabeza y cuello se asocia a malnutrición y a mal pronóstico oncológico. Es necesario ofrecer a estos enfermos tratamiento nutricional, médico y farmacológico para reducir la ingesta alcohólica y mejorar sus posibilidades de supervivencia.

(Nutr Hosp 2004, 19:348-352)

Palabras clave: Alcohol. Nutrición. Cáncer de cabeza y cuello.

Correspondencia: C. Martín Villares.
Hospital del Bierzo.
La Dehesa, s/n.
24400 Ponferrada.
E-mail: cmvillares@hotmail.com

Recibido: 11-III-2004.
Aceptado: 11-VI-2004.

HEAVY ALCOHOL INTAKE, MALNUTRITION AND HEAD AND NECK CANCER PATIENTS

Abstract

Head and neck cancer patients are frequently heavy alcohol drinkers. The aim of this study is to determine the impact of alcohol intake on nutritional status and the impact in prognoses.

Patients and methods: Fifty patients with oral and pharyngolaryngeal carcinomas were prospectively studied in a control-case study. We studied nutritional status and tumoral recurrence in alcoholic and non-alcoholic patients. We also studied alcohol intake after oncologic treatment in these patients.

Results: 51% of these patients had excessive alcohol intake before oncologic treatment. The impact of malnutrition was 70% in alcoholic patients vs 30% in non-alcoholic ($p < 0.01$). Tumoral recurrence was 30% in alcoholic patients vs 13% in non-alcoholic patients ($p < 0.05$). Only 48% of alcoholic patient stopped alcohol intake after treatment.

Conclusions: Excessive alcohol intake in head and neck cancer patients is a predictive malnutrition factor and it is related to poor prognoses. Alcoholic patients with head and neck cancer and malnutrition need an aggressive nutritional, medical and psychosocial support after oncologic treatment, in order to reach a better and longer survival.

(Nutr Hosp 2004, 19:348-352)

Key words: Alcohol. Malnutrition. Head neck neoplasms.

Introducción

Aunque sigue existiendo controversia sobre la relación entre alcohol y peso corporal, en general se considera que la ingesta excesiva de alcohol es causa de pérdida de peso y malnutrición¹⁻⁶. En un estudio realizado en nuestro país sobre 1.320 ancianos en el que se identificó un riesgo nutricional moderado en el 79,1% de los pacientes, el factor de riesgo nutricional que se identificó con mayor frecuencia fue el excesivo consumo de alcohol⁷.

Se estima que más del 80% de los enfermos con cáncer de cabeza y cuello son consumidores habituales de alcohol en la dieta diaria en nuestro medio⁸, frente a un 48% de sujetos que refieren tener problemas con el alcohol en población masculina no seleccionada del norte de España⁹. Los enfermos con cáncer de las vías aerodigestivas superiores son enfermos de alto riesgo de *desnutrición* por su proceso canceroso¹⁰⁻¹¹ y por la localización de su tumor en la vía digestiva alta^{12,13}, en los que el consumo excesivo de alcohol agravará su deficiente estado nutricional y su inmunodepresión¹⁴. Además, es probable que el alcohol por sí mismo provoque un aumento en la proliferación en las células escamosas de cabeza y cuello¹⁵. Por todos estos factores, el consumo de alcohol excesivo es un co-factor de suma importancia en la morbi-mortalidad del enfermo con cáncer de cabeza y cuello (fig. 1), que debe ser adecuadamente estudiado tanto como por su impacto sobre el estado nutricional como en el pronóstico oncológico del enfermo¹⁴.

El *objetivo* de este trabajo será valorar la incidencia de consumo excesivo de alcohol en pacientes con cáncer de cabeza y cuello y su impacto sobre el estado nutricional de los enfermos y en el *pronóstico oncológico*. Se estudiará además el abandono del *hábito alcohólico* tras finalizar el tratamiento oncológico, tratando de identificar que pacientes presentan mayor riesgo de fracaso en abandonar este hábito tóxico.

Material y métodos

Pacientes

Se incluyen en este estudio 50 pacientes con diagnóstico de carcinoma epidermoide de cavidad oral, oro e hipofaringe diagnosticados y tratados en nuestro

servicio durante los años 1998-2000. Los enfermos fueron seguidos en nuestras consultas al menos durante 24 meses tras finalizar el tratamiento.

Diseño del estudio

Realizamos estudio de casos y controles en función de la ingesta excesiva de alcohol (> 170 g de alcohol a la semana). Estudiamos las siguientes variables en cada grupo de pacientes:

1. *Estado nutricional* del paciente al ingreso, considerando como criterio de malnutrición una pérdida mayor del 10% del peso corporal normal en los últimos 6 meses.
2. Aparición de *recidiva tumoral* a lo largo del seguimiento.
3. *Ingesta de alcohol* tras finalizar el tratamiento oncológico.

Análisis estadístico

Se realizó análisis estadístico de las variables mediante la prueba de la *t* de Student, tomando para la comparación entre el grupos un nivel de significación de $p > 0,05$. Se buscará en función de los métodos estadísticos establecer una posible relación estadística de la ingesta de alcohol y del estado nutricional del enfermo, así como su relación con la aparición posterior de recidiva tumoral.

Resultados

El 54% de nuestros enfermos consumía de forma excesiva alcohol en su dieta habitual (27/50). De los

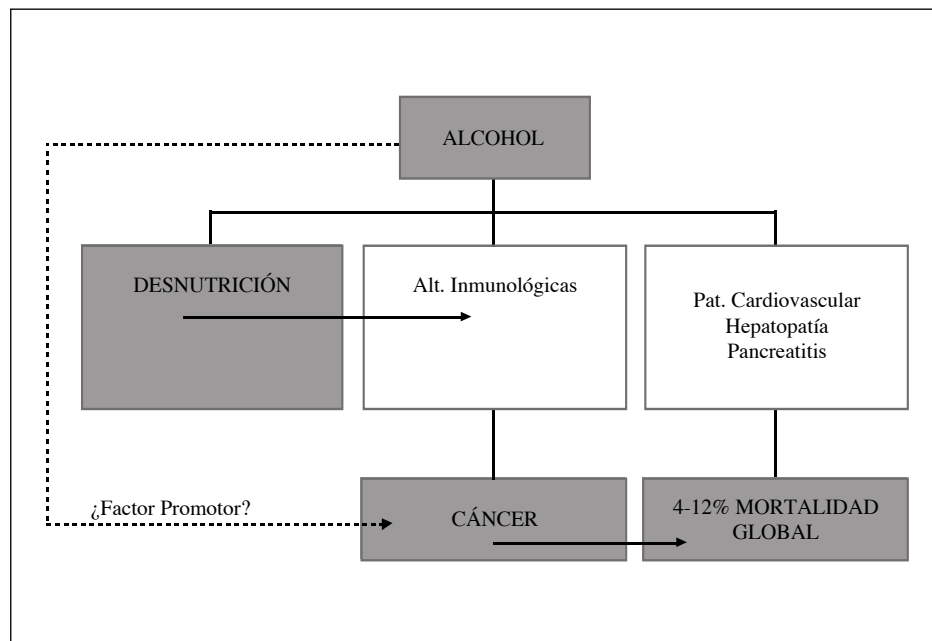


Fig. 1.—Los individuos que consumen alcohol en exceso tienen mayor riesgo de fallecer por los efectos inmunosupresores del alcohol —que se potencian por la malnutrición— y por patología sistémica relacionada con el alcohol. En el enfermo oncológico, el alcohol aumenta la incidencia de cáncer y de co-morbilidad.

enfermos con consumo excesivo de alcohol, el 70% presentaba además *desnutrición*, frente a una incidencia del 35% de enfermos desnutridos entre los enfermos que no tomaban alcohol. El estudio estadístico señaló que la desnutrición se asociaba a consumo excesivo de alcohol de forma estadísticamente significativa ($p < 0,01$). Tabla I y fig. 2.

En el seguimiento del grupo de enfermos contamos con 11 recidivas tumorales (22% a los dos años). En función del consumo de alcohol en la dieta diaria, encontramos que el consumo excesivo de alcohol se asociaba a un peor pronóstico oncológico de forma estadísticamente significativa ($p < 0,05$). Mientras que el 31% de los enfermos que consumían demasiado alcohol a diario presentaron recidiva de su tumor en el seguimiento, sólo el 13% de los enfermos no alcohólicos presentaron esta recidiva (fig. 3 y tabla II).

Tras finalizar el tratamiento oncológico y recomendárselo al paciente el abandono del hábito alcohólico, sólo el 48% de los enfermos consiguieron suprimir la ingesta de alcohol de forma duradera (más de 24 meses). En el intento de abandonar este hábito tóxico, fracasaron más los enfermos que además de tomar alcohol presentaban un mal estado nutricional: de 19 alcohólicos desnutridos 11 siguieron consumiendo alcohol de forma excesiva, mientras que tan solo 2 de los 8 pacientes con un estado nutricional aceptable continúan tomando alcohol al cierre del estudio (fig. 4).

Tabla I		
Relación entre ingesta excesiva de alcohol y desnutrición en pacientes con cáncer de cabeza y cuello ($p < 0,01$)		
	Alcohol	No alcohol
No malnutrición	8	15
Malnutrición	19	8
	27	23

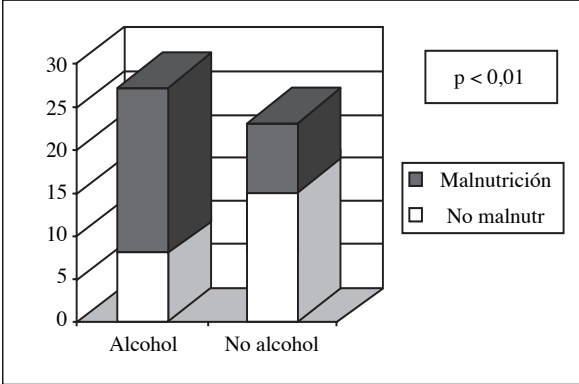


Fig. 2.—Incidence of malnutrition according to alcohol intake.

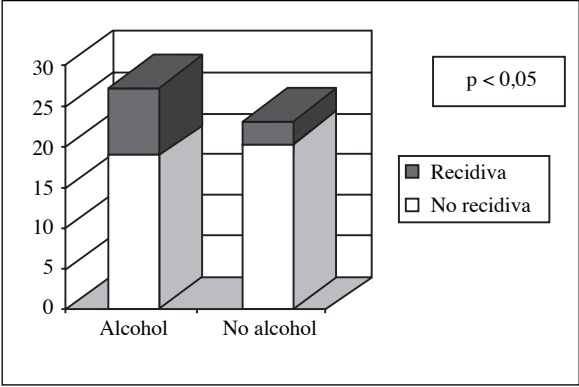


Fig. 3.—Incidence of tumor recurrence according to alcohol intake.

Tabla II			
Incidence in the hospital stay of the localization of the primary tumor ($p < 0,05$)			
	Alcohol	No alcohol	Total
Recidiva tumoral	8	3	11
No recidiva	19	20	39

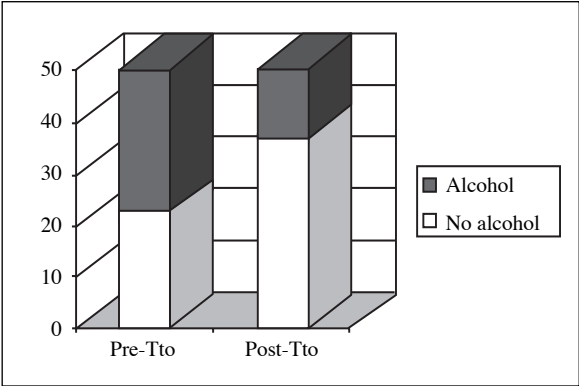


Fig. 4.—Incidence of excessive alcohol consumption before and after oncological treatment.

Discusión

Nuestros resultados sobre la alta incidencia de la ingesta excesiva de alcohol en enfermos con cáncer de cabeza y cuello coinciden con los de otros autores de nuestro país^{8,15}, y sin embargo, su impacto sobre el estado nutricional y el pronóstico oncológico no ha sido adecuadamente valorado¹⁴. Observamos que la ingesta excesiva de alcohol duplicó en nuestros enfermos la incidencia de *malnutrición*. El enfermo con cáncer de las vías aerodigestivas superiores, que es un paciente con alto riesgo de *desnutrición* por sus especiales características¹⁰⁻¹³, ve agra-

vado su problema nutricional por el consumo excesivo de alcohol, que le producirá una pérdida de peso por alteración del metabolismo de la glucosa, de las proteínas y de los lípidos²⁻⁵. Esta desnutrición agrava el problema de inmunosupresión que el enfermo ya tiene por su cáncer, y por tanto, sus posibilidades de supervivencia¹⁴. Es por tanto necesario aumentar nuestros conocimientos en la malnutrición asociada al alcoholismo, para poder aplicar con éxito una terapia nutricional en estos enfermos, en los que alcohol y malnutrición son con frecuencia factores íntimamente relacionados¹⁶.

A mediados de los noventa se demostró que el consumo excesivo de alcohol era un *factor pronóstico* independiente en los enfermos con cáncer de cabeza y cuello¹⁴, encontrándose diferencias en la supervivencia a 5 años de hasta el 40% en función de que el enfermo tomara o no alcohol de forma excesiva. Nuestros resultados, a pesar de contar con un grupo limitado de pacientes, señala ya este mal pronóstico asociado a la excesiva ingesta de alcohol. Otros autores han atribuido al alcohol el 80% de las muertes de los enfermos con cáncer de esta localización¹⁷, bien directamente a bien a través de co-morbilidad¹⁸.

Un resultado de nuestro estudio que creemos interesante por lo poco que ha sido reflejado en la literatura y por su gran importancia clínica es el dato sobre el abandono de la ingesta de alcohol al finafizar el tratamiento oncológico. Se ha visto que la morbi-mortalidad por alcohol aumenta en función de la cantidad de alcohol ingerido en la dieta y que el abandono definitivo del hábito enólico consigue por sí solo mejorar la supervivencia de estos enfermos¹⁴. Pero, como señala nuestro trabajo, algo menos de la mitad de los enfermos consiguen abandonar la ingesta diaria de alcohol tras superar el tratamiento de su cáncer, y precisamente van a fracasar más los enfermos más desfavorecidos: los *alcohólicos* que además presentan malnutrición. En este estudio, únicamente se le aconsejaba al enfermo abandonar la ingesta de alcohol, lo cual como vemos no es eficaz en algo más de la mitad de los enfermos. En estudios randomizados realizados en nuestro país se pone de manifiesto que el consejo médico debe ir acompañado de seguimiento largo del enfermo¹⁹, habiéndose comunicado también en estudio randomizado éxito del 76% en el abandono del hábito alcohólico mediante terapia de grupo²⁰. El dato de que algo menos de la mitad de nuestros enfermos consiguen dejar el alcohol tras finafizar el tratamiento oncológico pone pues de manifiesto que este tipo de enfermos deben ser tratados no solo del *cáncer*, sino además del su hábito *alcohólico*²¹ y de su *desnutrición*²² de forma coordinada, para poder así mejorar la supervivencia¹⁴ con la mejor calidad de vida posible.

Conclusiones

1. Los enfermos con cáncer de cabeza y cuello con ingesta diaria excesiva de alcohol presentan con frecuencia un problema de *malnutrición* severa añadido.

2. El consumo de alcohol excesivo es un indicador de *mal pronóstico* oncológico para el enfermo con cáncer de cabeza y cuello.
3. Los pacientes con consumo excesivo de *alcohol* que además presentan *desnutrición* tienen *alto riesgo de fracaso* en el intento de abandonar este consumo excesivo al finalizar el tratamiento oncológico.

Estos datos sugieren que el enfermo con cáncer de cabeza y cuello que además consume diariamente en su dieta cantidades excesivas de alcohol precisa, junto a la cirugía y radioterapia para eliminar su tumor, *tratamiento nutricional, médico y psicológico* para romper el círculo *cáncer, alcohol y desnutrición* que empeora su supervivencia global y su calidad de vida.

Referencias

1. Achord JL: 1987 Henry Baker lecture. Nutrition, alcohol, and the liver. *Am J Gastroenterol* 1988, 83:244-8.
2. Addolorato G, Capristo E, Greco AV, Stefanini GF, Gasbarri G: Influence of chronic alcohol abuse on body weight and energy metabolism: is excess ethanol consumption a risk factor for obesity or malnutrition? *J Intern Med* 1998, 244:387-95.
3. Bunout D: Nutritional and metabolic effects of alcoholism: their relationship with alcoholic liver disease. *Nutrition* 1999, 15:583-9.
4. Muller ML: Alcohol and body weight. *Z Gastroenterol* 1999, 37:33-43.
5. Maillot F, Farad S, Lammis F: Alcohol and nutrition. *Pathol Biol (Paris)* 2001, 49:683-8.
6. Kornfehl J, Hager G, Gedlicka C, Formanek M: Ethanol decreases negative cell cycleregulating proteins in a head and neck squamous cell carcinoma cell line. *Acta Otolaryngol* 2002, 122:338-42.
7. Casimiro C, García de Lorenzo A, Usan L: Evaluación del riesgo nutricional en pacientes ancianos ambulatorios. *Nutr Hosp* 2001, 16:97-103.
8. Quer M, Leon X, Orus C, Recher K, Gras JR: Analysis of 2,500 squamous cell carcinoma of the head and neck. *Acta Otorrinolaringol Esp* 2001, 52:201-5.
9. Gutiérrez Pérez AM, Díez Marnique JF, Pena Martín C, García Usieto E: Problemas relacionados con el alcohol en Cantabria. *Actas Luso Esp Neurol Psiquiatr Cienc Afines* 1995, 23:20-24.
10. Bosaeus I, Daneryd P, Svanberg E, Lundholm K: Dietary intake and resting energy expenditure in relation to weight loss in unselected cancer patients. *Int J Cancer* 2001, 93:380-3.
11. Olorz Rivas MR, Domínguez Vázquez A: Soporte nutricional en pacientes laringectomizados. *Nutr Hosp* 1992; 7:282-290.
12. Baredes S, Blitzer A: Nutritional considerations in the management of head and neck cancer patients. *Otolaryngol Clin North Am* 1984, 17:725-33.
13. Goodwin WJ Jr, Byers PM: Nutritional management of the head and neck cancer patient. *Med Clin North Am* 1993, 77:597-610.
14. Delryannis FW, Thomas DB, Vaughan TL, Davis S: Alcoholism: independent predictor of survival in patients with head and neck cancer. *J Natl Cancer Inst* 1996; 88:542-9.
15. Uzcudun AE, Retolaza, IR, Fernández PB, Sánchez Hernández JJ, Grande AG, García AG, Olivar LM, De Diego Sastre I, Barón MG, Bouzas JG: Nutrition and pharyngeal cancer: results from a case-control study in Spain. *Head Neck* 2002, 24:830-40.
16. Lieber CS: Hepatic, metabolic, and nutritional disorders of alcoholism: from pathogenesis to therapy. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2000, 37:551-84.

17. Makimoto K, Oda H, Higuchi S: Is heavy alcohol consumption an attributable risk factor for cancer-related deaths among Japanese men? *Alcohol Clin Exp Res* 2000, 24:382-5.
18. Hall SF, Groome PA, Rothwell D: The impact of comorbidity on the survival of patients with squamous cell carcinoma of the head and neck. *Head Neck* 2000, 22:317-22.
19. Altisent R, Córdoba R, Delgado MT, Pico MV, Melus T: Estudio multicéntrico sobre la eficacia del consejo médico en la prevención del alcoholismo en Atención Primaria. *Med Clin (Bar)* 1997, 109:121-124.
20. Monhas M, Freixa N, Ortega L, Migoua A, Mond S: Eficacia de la terapia de grupo en alcohólicos. Resultado de un estudio clínico controlado. *Med Clin (Bar)* 2000, 115:126-133.
21. Ogborne AC, DeWit D: Alcohol use, alcohol disorders, and the use of health services: results from a population survey. *Am J Drug Alcohol Abuse* 2001, 27:759-74.
22. Hammerlid E, Taft C: Health-related quality of life in term head and neck cancer survivors: a comparison with general population norms. *Br J Cancer* 2001, 84:149-56.

Original

A proposal for clinical nutrition education for health care university students and professionals in the Amazon

K. Acuña*, P. Muniz**, C. Formiga***, G. Bastos***, M. Camilo****, R. Hashimoto***, F. Ney-Oliveira*****, D. L. Waitzberg***** y T. Cruz*****

*Assistant Professor. Department of Health Sciences. Acre Federal University. UFAC. Physician Chief of the Multidisciplinary Nutrition Support Team of Acre State Foundation. Fundação Hospital Estadual do Acre. FUNDHACRE. Clinical Nutrition Specialist (Brazilian Society of Parenteral and Enteral Nutrition. SBNPE). **Associate Professor. Dietitian. Department of Health Sciences. Acre Federal University. ***Medical students. Acre Federal University. ****Nursing student. Acre Federal University. *****Medical student. Bahia Federal University Medical School. Special Training Program (PET). *****Associate Professor of Gastroenterology. LIM 35. São Paulo University Medical School. USP. Director of GANEP. Human Nutrition Group. *****Associate Professor Chief. Division of Endocrinology. Professor Edgard Santos University Hospital (HUPES). Bahia Federal University Medical School. UFBA. Brazil.

Abstract

Changes in nutritional status are related to an increase in morbidity and mortality. It is well established that health care professionals, particularly physicians, lack formal education to recognize nutritional disorders, which malnutrition may worsen in the hospital, and that appropriate education could effectively correct this problem.

Aim: To evaluate the awareness of the health care university students and professionals about the nutrition disorders in Amazon region hospitalized patients before and after a specific education program.

Study design: An intensive Course on Clinical Nutrition, given in three weekly classes was offered to the multidisciplinary health care students and professionals of the health care tem.

Cases and methods: 195 participants started the course. They were 97 students of nursing, 52 students of medicine, 20 nurses, 15 resident physicians, 3 physicians, 3 dietitians, 2 others, 1 no answer. 165 participants concluded it. Precourse and postcourse tests were answered. The results of these tests are presented in this study.

Results and Discussion: 76.4% of the participants were graduation students. 40% of participants had no contact with patients yet. When the exposure of the participants of the course to the theme Nutrition was analyzed, 46.7% of the resident physicians considered

PROPUESTA DE EDUCACION NUTRICIONAL PARA ESTUDIANTES Y PROFESIONALES DE LA SALUD EN AMAZONAS

Resumen

Las alteraciones del estado nutricional están relacionadas con el aumento de la morbilidad y mortalidad. A pesar de no haber consenso en relación a los criterios diagnósticos de la malnutrición, ésta se agrava a medida que aumenta el tiempo de internación hospitalaria. Diversos autores concluyen que el equipo de salud, particularmente los médicos, no están siendo enseñados a reconocer la malnutrición, que esta malnutrición es agravada en el hospital y que la educación puede efectivamente corregir el problema.

Objetivo: Evaluar la concientización de los estudiantes de graduación en salud y de los profesionales de la comisión multidisciplinaria de salud al respecto de los desórdenes nutricionales de pacientes hospitalizados antes y después del programa intensivo de educación.

Diseño del estudio: Un curso intensivo de Nutrición Clínica, fue administrado en tres clases semanales para los estudiantes de graduación en salud y profesionales en el equipo de salud.

Pacientes y métodos. 195 participantes iniciaron el curso, frecuentado por 97 estudiantes de enfermería, 52 estudiantes de medicina, 20 enfermeros, 15 médicos residentes, 3 médicos, 3 nutricionistas, 2 otras actividades y 1 sin respuesta. 165 concluyeron el curso. Una prueba antes y una prueba después del curso fueron respondidas. El resultado de estas pruebas es presentado en este estudio.

Resultados y discusión: 76,4% de los participantes son alumnos, con edad media de 24,39 años. 40% de los participantes aún no habían tenido contacto con pacientes. Cuando la exposición de los participantes del curso al tema Nutrición fue analizada, 46,7% de los médicos resi-

Correspondencia: Katia Acuña.
Caixa Postal 152.
Correio Central, Rio Branco, Acre.
69908-970 Brazil.
E-mail: katia.aravena@ac.gov.br
katialimaacuna@yahoo.com.br

Recibido: 28-II-2004.
Aceptado: 30-III-2004.

their contact with the subject superficial and 13.3% had no contact with it, reinforcing the physician's lack of knowledge to recognize malnutrition. Participants admitted having significantly profited from the course.

Conclusions: the lack of awareness of the multidisciplinary health care team about nutritional disorders may contribute to worsen hospital malnutrition. An intensive course for graduate students and residents may help to raise awareness for clinical nutrition. The great interest and enthusiasm shown by the students and other participants and the profit obtained by them from the course suggest that teaching of clinical nutrition should be implemented in all health care schools.

(*Nutr Hosp* 2004, 19:353-361)

Key words: *Nutrition disorders. Hospital malnutrition. Clinical Nutrition. Nutritional Assessment Hospital. Education-Nutrition. Acre. Brazil.*

Introduction

The first studies demonstrating that changes in nutritional status are related to an increase in morbidity and mortality started in the 30s of last century¹. But only later the classical work of Butterworth² entitled "The skeleton in the hospital closet", arouse attention for the possibility of finding malnutrition in inpatients³. Malnutrition predisposes to several severe complications, including a tendency to infection, difficulty of scar formation, respiratory failure⁴⁻⁶, cardiac failure, a decrease in hepatic protein synthesis, reduction of glomerular filtration and of gastric acid production^{7,8}. Malnutrition also contributes to increase morbidity in hospitalized patients, as slow scar formation with fistulas⁹, elevation of the rate of hospital infection^{10,11}. These complications lead to a delay in the duration of hospital stay, to a rise in costs and in mortality, especially in surgical patients^{11,12}. Otherwise, overweight and obesity are also risk factors for a varied number of health injuries, the most frequent being: ischemic heart disease, arterial hypertension, dyslipidemia, cerebral vascular accident, type 2 diabetes mellitus, cholelithiasis, osteoarthritis (especially of knees), postmenopausal breast cancer, endometrial cancer, reflux esophagitis, hiatus hernia and psychological problems^{14,15}.

The prevalence of malnutrition in patients has varied from 10 to 70%, depending on the diagnostic criteria used, the hospital studied and the duration of admission¹⁶. Therefore classifying malnutrition continues to be a controversial theme in the literature^{10,11}. Although there is no consensus about the criteria for the diagnosis of malnutrition, it seems to worsen meanwhile the hospitalization time increases^{10,11,17-21}.

Unfortunately, despite the high prevalence of malnutrition among inpatients, nutrition support is,

usually, neglected, that little attempt is made to reverse malnutrition and that physicians lack concern for the nutritional status of their patients^{10,11,18,22-25}.

Conclusiones: Malnutrición hospitalaria puede ser agravada por la falta de concientización de la comisión multidisciplinaria de salud al respecto del problema. Pero el gran interés y entusiasmo demostrado por los participantes y el lucro obtenido con el curso sugiere que la llave para abrir la puerta del armario es la educación. La enseñanza de Nutrición debe ser implementada en todas las escuelas de profesiones que cuidan de la salud.

(*Nutr Hosp* 2004, 19:353-361)

Palabras clave: *Desórdenes nutricionales. Desnutrición hospitalaria. Evaluación nutricional. Nutrición Clínica. Hospital. Educación-Nutrición. Acre. Brasil.*

usually, neglected, that little attempt is made to reverse malnutrition and that physicians lack concern for the nutritional status of their patients^{10,11,18,22-25}.

The high prevalence of nutritional deficiencies among hospital patients has also been attributed to insufficient pertinent knowledge of physicians due to the lack of emphasis given to nutrition in the medical curriculum¹⁷.

In 1982, Long²⁶ published a historical review about the problem of education in the nutrition area, relating his experience as president of the American Society of Parenteral and Enteral Nutrition (ASPEN). In his opinion, the key to open the closet door is medical education.

Roubenoff et al.²⁷ called attention that physicians are not presently being taught to recognize malnutrition, which such malnutrition is iatrogenically worsened in the hospital, and that physician education can effectively correct this problem.

In Brazil, a sectional, multicentric, study with random choice of 4,000 patients, entitled Brazilian National Survey (IBRANUTRI) was performed¹¹. This study revealed that almost half (48.1%) of hospitalized patients was malnourished and severe malnutrition was found in 12.5% of them. Hospital related malnutrition progressed in proportion to the duration of hospital stay; and only in 18.8% of the medical charts there was any report on nutritional status of the patient. Only 7.3% patients received nutritional therapy (6.1% enteral nutrition; 1.2% parenteral nutrition)¹¹. The authors concluded that the prevalence of malnutrition in hospitalized patients in Brazil is high, physician awareness of malnutrition is low, and nutrition therapy is underprescribed¹¹. Based on this study, the Brazilian Public Health Department, with the cooperation together Brazilian, Society of Parenteral and Enteral Nutrition, SBNPE, published rules for preparation and use of parenteral and enteral nutrition the-

rapy. According to these, Brazilian hospitals are required to maintain a formally appointed multidisciplinary nutrition support team composed of physicians, nurses, dietitians and pharmacists to provide parenteral and enteral nutrition therapies^{28,29}. Efforts were developed in order to bring education to physicians by many educational initiatives. One of these was the course entitled Total Nutrition Therapy³⁰ designed to introduce physicians to the bases of clinical nutrition¹¹.

Recently the impact of the TNT course was evaluated. Students were surveyed about the use of nutrition knowledge acquired, in their clinical practice. It was verified that the majority of the physicians participating in this survey increased their use of nutrition assessment and time dedicated to nutrition therapy, and increased the number of their patients placed on nutrition therapy²².

To our knowledge there are, in Brazil, only a few medical and nurse schools that have in the graduation curriculum time dedicated to the teaching of clinical nutrition.

In the other hand Amazon region is far away from the central medical centers in the country and suffers from its intercontinental size in terms of poor resources for education and health care. The State of Acre (fig. 1) is located in the Amazon Region, distant from the great Brazilian Metropolitan Areas, in a frontier region (with Peru and Bolivia). It has 557.526 habitants, but the capital Rio Branco concentrates 45.4% of the State population (IBGE, 2000). The annual *per capita* income is US\$ 1.841.

Health care graduate education is relatively new in Acre. The Course of Nursing of the Federal University of Acre - UFAC was created in 1976, and has 168 students. The Course of Medicine of UFAC was recently created (2002), for 40 students per year. The post-graduating training - medical residence program was also recently created (2000), as a part of the State government project to improve the local medical care. It offers basic medical training. There are only 20 Resident Physicians who work with adults and old age people. The Bahia Federal University Medical School (UFBA) is advising the State of Acre government with actions to improve Medicine development in the region.

In the tentative of reduce the lack of formal education in clinical nutrition in our region we have developed a new educational intervention.

The present study aims to evaluate the awareness of health care graduating students and professionals of the multidisciplinary health team about the malnutrition and nutrition disorders in hospitalized patients in the Amazon region before and after taking an intensive education program in clinical nutrition.

Cases and methods

The present intervention study was performed from september 29 to october 15, 2003, in the Fundação Hospital Estadual do Acre (FUNDHACRE) - Acre State Foundation - Hospital, in the town of Rio Branco, Brazilian Amazon Region. It's a tertiary hospital with 150 beds.



Fig. 1.—The Map of the State of Acre and the capital Rio Branco.

A Course on Clinical Nutrition, given in three weekly classes, of four hours each, was offered to the multidisciplinary health team, consisting on students of Nursing and Medicine of Acre Federal University (UFAC), nurses and physicians. The purpose of this course was to raise the awareness of the multidisciplinary health team about malnutrition and nutrition disorders, responsible for increases in morbidity and mortality in hospitalized patients.

It was approved by the Ethics Committee in Research, FUNDHACRE.

An open divulgation of the course, through posters, was done. The candidates were included after signing the Informed Consent in participating of the study.

The design of this study was similar to the proposition of Roubenoff et al. (1987).

During the first week, the class was exposed to the practice of nutritional assessment, in which each participant evaluated the nutritional status of the hospitalized patient. In this moment, they answered some basic questions about their awareness on clinical nutrition, and received a book entitled "Nutritional Assessment of Adult and Aged"⁸. In order to guide the participants during the course, four Nursing students and six Medical students had been trained for the previous six months.

On the second week, the students were required to discuss about the theoretical subjects from the book, formerly distributed. The contents were: 1. Nutrition disorders in the hospital setting; 2. Nutritional Assessment; 3. Nutritional History; 4. Nutritional Physical examination; 5. Subjective Global Assessment; 6. Anthropometry; 7. Laboratory tests; 8. Multiple indexes; 9. Peculiarities of old-age and nutrition; 10. Practical guide for adult nutritional assessment, for regions with shortage of resources; 11. Practical guide of old aged nutritional assessment, for regions with shortage of resources. The objective of the theoretical class was to awaken the multidisciplinary health team about hospital malnutrition and to teach a nutritional status assessment, possible for regions with shortage of resources, but that permit the diagnosis nutritional risk patients. It was a four hour class, using dynamic methodology. Anthropometrics measurements were taught.

In the last week, the practice of evaluating the nutritional status of the hospitalized patient was repeated. Then, the participants answered some basic questions about the course performance.

In this study, the results of the questions answered by the participants before and after the course are presented.

For data analysis the SPSS (version 9.0) program was used. The continuous variables were studied as averages, standard deviations, minimal and maximal values. The qualitative variables were evaluated by their percent values. It's a descriptive study.

Results

The course started with 195 participants. Their characteristics are presented in table I. Their age varied

from 17 to 51 years old. The mean age was 24.39 ($\pm$ 6.21) years old. In table I their schooling is presented. Three dietitians and two professionals of other areas participated, although they didn't belong to the study group, so they were excluded from analysis. In three questionnaires the majority of the questions weren't answered, leading to their exclusion, totalizing 187 valid participants.

Considering that the characteristics of each category differed from each other, each one was studied separately. Basic questions about awareness on clinical nutrition were answered (table II). Clinical experience was also investigated (table III). The most frequent problems the participants of the course related to malnutrition were: immune function deficit, healing impairment, weight loss, anemia and increased predisposition to infections. They considered the major problems related to obesity as: hypertension, diabetes and dyslipidemia.

During the last class, a questionnaire about the course performance was answered. A total of 165 participants concluded the course, distributed as follows: 86 (52.1%) students of nursing, 46 (27.9%) students of medicine, 14 (8.5%) nurses, 11 (6.71%) resident physicians, 3 (1.8%) physicians, 2 (1.2%) dietitians, 2 (1.2%) others, 1 (0.6) no answer. The answers given

Table I
Characteristics of the 195 health care students and professionals who started the Course of Clinical Nutrition, UFBA/FUNDHACRE/UFAC, september/october 2003

Characteristics	n	%
Gender		
Male	74	38.0
Female	119	61.0
No answer	2	1.0
Racial group		
White	126	64.6
Mulatto	58	29.7
Black	5	2.6
Indian mestice	3	1.5
No answer	3	1.5
Origin		
Rio Branco	78	40.0
Other city (Acre)	30	15.4
Other State	81	41.5
Other Country	2	1.0
No answer	4	2.1
Schooling		
Students of Nursing	97	49.7
Students of Medicine	52	26.9
Nurses	20	10.3
Resident physicians	15	7.7
Physicians	3	1.5
Dietitians	3	1.5
Others	2	1.0
No answer	3	1.5

Table II

Answers to basic questions about awareness on nutrition disorders given by 187 health care university students and professionals who participated in the Course of Clinical Nutrition. UFBA/FUNDHACRE/UFAC, september/october 2003

Question	University Students n (%)		Professionals n (%)			
	Nursing	Medicine	Nurses	Resident Physicians	Physicians	TOTAL
AWARENESS ON NUTRITION DISORDERS						
1. During your professional formation, was the theme nutrition taught?						
No	11 (11.4)	35 (67.4)	0	0	1 (33.3)	47 (25.1)
Yes	34 (35.0)	8 (15.4)	15 (75.0)	8 (53.3)	2 (66.7)	67 (35.8)
Superficially	49 (50.5)	7 (13.4)	5 (25.0)	7 (46.7)	0	68 (36.4)
No answer	3 (3.1)	2 (3.8)	0	0	0	5 (2.7)
TOTAL	97 (100.0)	52 (100.0)	20 (100.0)	15 (100.0)	3 (100.0)	187 (100.0)
2. When was your greater contact with th theme nutrition before this course?						
I had a little or no contact with the theme	40 (41.4)	37 (71.2)	1 (5.0)	2 (13.3)	1 (31.3)	81 (43.3)
During the graduation	51 (52.6)	4 (7.7)	16 (80.0)	11 (73.4)	2 (66.7)	84 (44.9)
In extra-curricular activities	4 (4.2)	9 (17.3)	0	2 (13.3)	0	15 (8.0)
During post-graduation courses	1 (0.9)	2 (3.8)	3 (15.0)	0	0	3 (1.6)
No answer	1 (0.9)	2 (3.8)	0	0	0	0
TOTAL	97 (100.0)	52 (100.0)	20 (100.0)	15 (100.0)	3 (100.0)	187 (100.0)
3. Do you become worried if your patient loses weight?						
Yes	66 (68.0)	8 (15.4)	19 (95.0)	14 (93.3)	3 (100.0)	110 (57.9)
No	3 (3.1)	0	1 (5.0)	1 (6.7)	0	5 (2.6)
I had no contact with patients yet	28 (28.9)	44 (84.6)	0	0	0	72 (37.9)
TOTAL	97 (100.0)	52 (100.0)	20 (100.0)	15 (100.0)	3 (100.0)	187 (100.0)
4. Do you worry about your patients' nutritional intake?						
Yes	68 (70.1)	7 (13.5)	20 (100.0)	15 (100.0)	3 (100.0)	113 (60.4)
No	0	0	0	0	0	0
I had no contact with patients yet	29 (29.9)	45 (86.5)	0	0	0	74 (39.6)
TOTAL	97 (100.0)	52 (100.0)	20 (100.0)	15 (100.0)	3 (100.0)	187 (100.0)
5. Do you take note about nutritional disorders of your patients?						
Yes	40 (41.2)	2 (3.8)	13 (65.0)	9 (60.0)	1 (33.3)	65 (34.7)
No	6 (6.2)	3 (5.8)	1 (5.0)	1 (6.7)	2 (66.7)	13 (6.9)
Sometimes	19 (19.6)	1 (1.9)	6 (30.0)	5 (33.3)	0	31 (16.7)
I had no contact with patients yet	32 (33.0)	46 (88.5)	0	0	0	78 (41.7)
TOTAL	97 (100.0)	52 (100.0)	20 (100.0)	15 (100.0)	3 (100.0)	187 (100.0)
6. Do you observe the reports about nutrition disorders of your patients?						
Yes	44 (45.4)	4 (7.7)	15 (75.0)	13 (86.7)	1 (33.3)	77 (41.2)
No	6 (6.2)	1 (1.9)	0	0	2 (66.7)	9 (4.8)
Sometimes	15 (15.5)	1 (1.9)	5 (25.0)	2 (13.3)	0	23 (12.3)
I had no contact with patients yet	32 (33.0)	46 (88.5)	0	0	0	78 (41.7)
TOTAL	97 (100.0)	52 (100.0)	20 (100.0)	15 (100.0)	3 (100.0)	187 (100.0)
7. Do you worry about your patients' weight?						
Yes	40 (41.2)	5 (9.6)	14 (70.0)	15 (100.0)	2 (66.7)	76 (40.6)
No	26 (26.9)	1 (1.9)	6 (30.0)	0	1 (33.3)	34 (18.1)
I had no contact with patients yet	31 (32.0)	46 (88.5)	0	0	0	77 (41.7)
TOTAL	97 (100.0)	52 (100.0)	20 (100.0)	15 (100.0)	3 (100.0)	187 (100.0)
8. And height?						
Yes	19 (19.6)	4 (7.7)	6 (30.0)	8 (53.3)	2 (66.7)	39 (20.8)
No	47 (48.5)	2 (3.8)	13 (65.0)	7 (46.7)	1 (33.3)	70 (37.4)
I had no contact with patients yet	31 (32.0)	46 (88.5)	0	0	0	77 (41.7)
No answer	0	0	1 (5.0)	0	0	1 (0.5)
TOTAL	97 (100.0)	52 (100.0)	20 (100.0)	15 (100.0)	3 (100.0)	187 (100.0)
9. Are you informed that nutrition disorders are responsible for increases in complications and mortality?						
Yes	37 (38.1)	17 (32.7)	17 (85.0)	13 (86.7)	2 (66.7)	86 (45.9)
No	21 (21.6)	20 (38.5)	2 (10.0)	1 (33.3)	1 (33.3)	45 (24.0)
Superficially	36 (37.1)	13 (25.0)	1 (5.0)	1 (6.7)	0	51 (27.4)
No answer	3 (3.0)	2 (3.8)	0	0	0	5 (2.7)
TOTAL	97 (100.0)	52 (100.0)	20 (100.0)	15 (100.0)	3 (100.0)	187 (100.0)

Table III
Clinical Experience of the 187 health care university students and professionals who participated in the Course of Clinical Nutrition, UFBA/FUNDHACRE/UFAC, september/october, 2003

	University Students n (%)		Professionals n (%)			
Question	Nursing	Medicine	Nurses	Resident Physicians	Physicians	TOTAL
CLINICAL EXPERIENCE						
1. Have you already accompanied some malnourished patient?						
No	54 (55.7)	48 (92.3)	0	1 (6.7)	0	103 (55.0)
A few	36 (37.1)	4 (7.7)	8 (40.0)	3 (20.0)	2 (66.7)	53 (28.4)
Some	0	0	2 (10.0)	5 (33.3)	1 (33.3)	8 (4.3)
A lot	6 (6.2)	0	10 (50.0)	6 (40.0)	0	22 (11.8)
No answer	1 (1.0)	0	0	0	0	1 (0.5)
TOTAL	97 (100.0)	52 (100.0)	20 (100.0)	15 (100.0)	3 (100.0)	187 (100.0)
2. How often do you have contact with malnourished patients?						
Never	39 (40.2)	45 (86.5)	0	1 (6.7)	0	85 (45.5)
Seldom	37 (38.1)	6 (11.5)	2 (10.0)	3 (20.0)	1 (33.3)	49 (26.2)
Occasionally	17 (17.5)	1 (1.9)	13 (65.0)	5 (33.3)	2 (66.7)	38 (20.4)
Very often	2 (2.1)	0	0	0	0	2 (1.0)
No answer	2 (2.1)	0	5 (25.0)	6 (40.0)	0	13 (6.9)
TOTAL	97 (100.0)	52 (100.0)	20 (100.0)	15 (100.0)	3 (100.0)	187 (100.0)
3. Have you seen any complications in malnourished patients?						
No	69 (71.1)	48 (92.3)	0	1 (6.7)	0	118 (63.1)
A few	22 (22.7)	3 (5.8)	8 (40.0)	9 (60.0)	2 (66.7)	44 (23.5)
Some	0	0	2 (10.0)	3 (20.0)	0	5 (2.7)
A lot	4 (4.1)	0	10 (50.0)	2 (13.3)	1 (33.3)	17 (9.1)
No answer	2 (2.1)	1 (1.9)	0	0	0	3 (1.6)
TOTAL	97 (100.0)	52 (100.0)	20 (100.0)	15 (100.0)	3 (100.0)	187 (100.0)

by the 2 dietitians, 2 other professions and 1 no answer were excluded resulting in 160 valid answers. The absolute majority (96.7%) considered the course a very important initiative. Considering the scale (0= very bad to 10.0= excellent), the grades for it varied from 7.0 to 10.0, with the average grade of 8.64 ($\pm$ 0.87). The opinions about the course given by the participants were: Fair 2, 1.2%; Good 34, 20.6%; Very good 99, 60.0%; Excellent 30, 18.2%.

Various aspects were investigated, reinforcing the changing of procedures to prevent malnutrition in the hospitalized patients (table IV).

An amount of 105 participants (53.8%) didn't know about the Nutrition Support Multidisciplinary Team, 135 (69.2%) didn't get the information about the recent rules for Clinical Nutrition in Brazil, but 148 (89.7%) agreed that creation of the multiprofessional team facilitates and enriches the nutrition support offered to the inpatient.

After taking the course the participants improved their diagnostic ability to diagnose malnutrition. Most important almost 100% of the participants have agreed that the course has motivated their interest into practice of preventive measures to avoid the development of hospital malnutrition.

The practical procedures enumerated by the participants as being important were: measuring weight and height at hospital admission, weighting the patients at re-

gular intervals, to respect patients' food preferences, to avoid prolonged patients fasting and to take legible notes.

Discussion

In 1987, Roubenoff et al.²⁷ developed a study in the John Hopkins Hospital in which they studied all patients admitted to an acute medical ward service before and after their physicians and medical students were taught to recognize nutritional deficiencies early and to intervene appropriately. They demonstrated that physician education can bring about significant improvement in the nutritional care of patients. The present study was inspired in the methodology proposed by Roubenoff et al.²⁷.

The TNT course was developed for physicians by physicians²², and its impact in improving physicians knowledge of clinical nutrition and the resulting benefits on the patients care were demonstrated.

But the problem of hospital malnutrition involves the multidisciplinary health team, because nurses are not aware about the problem too³³.

And this may happen because both physicians and nurses were not taught clinical nutrition or their contact with the theme was superficial in the graduated school.

So this study was designed to present this subject to university students and health professionals with different educational level.

Table IV
Evaluation of knowledge developed, by the 160 valid finalists, during the Course of Clinical Nutrition, UFBA/FUNDHACRE/UFAC, september/october, 2003

	University Students n (%)		Professionals n (%)			
Question	Nursing	Medicine	Nurses	Resident Physicians	Physicians	TOTAL
1. Did you incorporate some procedures in your clinical practice after the Course of Clinical Nutrition?						
No	7 (8.1)	0	0	0	0	7 (4.3)
Yes	28 (32.7)	8 (17.4)	13 (92.9)	11 (100.0)	3 (100.0)	63 (39.4)
I'm not developing clinical practice now	49 (56.9)	37 (80.4)	1 (7.1)	0	0	87 (54.4)
No answer	2 (2.3)	1 (2.2)	0	0	0	3 (1.9)
TOTAL	86 (100.0)	46 (100.0)	14 (100.0)	11 (100.0)	3 (100.0)	160 (100.0)
2. Did any modification of your diagnostic ability happen after the Course?						
No	2 (2.3)	4 (8.7)	0	0	0	6 (3.7)
A little	30 (34.9)	9 (19.6)	7 (50.0)	5 (45.5)	0	51 (31.9)
Very much	52 (60.5)	32 (69.6)	7 (50.0)	6 (54.5)	2 (66.7)	99 (61.9)
No answer	2 (2.3)	1 (2.2)	0	0	1 (33.3)	4 (2.5)
TOTAL	86 (100.0)	46 (100.0)	14 (100.0)	11 (100.0)	3 (100.0)	160 (100.0)
3. After the course, did you become more worried about your patients' food intake?						
No	0	0	1 (7.1)	1 (9.1)	0	2 (1.2)
A little	4 (4.7)	4 (8.7)	1 (7.1)	0	0	9 (5.6)
Very much	60 (69.8)	21 (45.7)	11 (78.6)	10 (90.9)	3 (100.0)	105 (65.7)
I had no contact with patients yet	20 (23.3)	20 (43.5)	1 (7.1)	0	0	41 (25.6)
No answer	2 (2.3)	1 (2.2)	0	0	0	3 (1.9)
TOTAL	86 (100.0)	46 (100.0)	14 (100.0)	11 (100.0)	3 (100.0)	160 (100.0)
4. Did this course motivate your interest in practice of preventive measures to avoid the development of hospital malnutrition?						
No	0	1 (2.2)	0	0	0	1 (0.6)
A little	6 (7.0)	3 (6.5)	2 (14.3)	0	0	11 (6.8)
Very much	86 (93.0)	42 (91.3)	12 (85.7)	11 (100.0)	3 (100.0)	148 (92.5)
TOTAL	86 (100.0)	46 (100.0)	14 (100.0)	11 (100.0)	3 (100.0)	160 (100.0)
5. In your opinion how is the relationship between the different professionals, which take part of the Nutrition Multidisciplinary Team?						
Very bad	9 (10.5)	0	2 (14.3)	1 (9.1)	0	12 (7.5)
Fair	50 (58.1)	14 (30.4)	5 (35.7)	6 (54.5)	1 (33.3)	76 (47.5)
Good	24 (27.9)	23 (35.7)	4 (28.6)	3 (27.3)	2 (66.7)	57 (35.6)
Very Good	3 (3.5)	7 (28.6)	2 (14.3)	1 (9.1)	0	13 (8.1)
Excellent	0	0	2 (4.3)	0	0	2 (1.3)
No answer	0	0	0	0	0	0
TOTAL	86 (100.0)	46 (100.0)	14 (100.0)	11 (100.0)	3 (100.0)	160 (100.0)

A three class course was offered to students and professionals of Nursing and Medicine. The Course of Clinical Nutrition, UFBA/FUNDHACRE/UFAC attracted a public of 195 participants. Of them, 97 (57.8%) of the 168 Students of Nursery of Acre Federal University (UFAC) participated. The Nursery Course of UFAC has two theoretical disciplines related to Clinical Nutrition, of 30 hours each in the second and fifth periods. This explains the fact that 34 (35.0%) of them said they had contact with the theme during the graduation course, but due to the small class hours and the absence of practical credits, 49 (50.5%) classified this contact as superficial. Calls the attention the fact that 47 (48.5%) of the Nursery stu-

dents and 13 (65.0%) Nurses didn't worry about the patients' height.

Of the 80 Medical students of UFAC, 52 (65.0%) participated. They are in the beginning of the course, what explains the high amount (88.5%) of them that had no contact with patients yet. In the curriculum of the Medicine Course of UFAC, there is no formal discipline that teaches Clinical Nutrition, which is superficially taught during Internal Medicine in the seventh period.

Of the 20 medical residents of FUNDHACRE that lead with adults and aged, 15 (75%) participated. When we analyze their contact with the theme Nutrition we observe that 46.7% of the Resident physicians

considered their exposure to the theme superficial and 13.3% had no contact with it. Considering that the Residents Physicians were selected from the best graduated physicians through tests, this present observation reinforces the idea of many authors that the physicians are not presently being taught to recognize malnutrition²⁷, that there is a lack of emphasis given to nutrition in the medical curriculum", and that nutrition awareness is the exception and not the rule in the hospital setting¹¹.

A total of 165 participants concluded the course. Almost all considered the course a very important initiative, giving it an high average grade. Besides the positive evaluation, participants of the course admitted having profited significantly from it, with the incorporation of procedures and almost 100% of the participants have agreed that the course has motivated their interest into practice of preventive measures to avoid the development of hospital malnutrition, despite their clinical experience. This observation reinforces the conclusions of Roubenoff et al²⁷, who detected a great interest and enthusiasm shown by the students and house staff in their study, again suggesting that physicians are not *a priori* reluctant to consider nutrition in evaluating their patients.

Coats et al.²¹ demonstrated a great reduction in the increasing of malnutrition prevalence in hospitalized patients after the implementation of medical education and the creation of a multidisciplinary nutrition support service. The influence of the present course on diagnosis ability and incorporation of procedures by the multidisciplinary health team, and the nutrition assessment of hospitalized patients are being analyzed for future publication soon.

Corish & Kennedy⁵ emphasize the importance of the nutrition support team and the proposition that Nutrition should be recognized as a medical specialty in Ireland. In Brazil, it is already recognized as a medical specialty (Nutrology) and there are rules that impose to hospitals the work of the Multidisciplinary Nutrition Support Teams¹¹. More than half of the participants of the course considered that the relationship between the different professionals, which take part of the Nutrition Multidisciplinary Team is very bad/fair and 148 (89.7%) agreed that the creation of the Multidisciplinary Nutrition Support Teams facilitates and enriches the nutrition support offered to the inpatient. Recently, FUNDHACRE is structuring its Multidisciplinary Nutrition Support Team, according to Brazilian rules.

Conclusions

Several studies demonstrated that hospital malnutrition is a very serious health problem, which increases greatly the prevalence of complications and mortality. Many factors contribute for its development, but the lack of awareness of the multidisciplinary team about the problem has an important participation. This is the

result of the lack of emphasis given to Nutrition in the medical curriculum. But the great interest and enthusiasm shown by the participants as well as the apparent profit obtained suggest that the key to open the closet door is education. Teaching of Nutrition must then be implemented in Medical, Nursing and Pharmacy schools, and should include theoretical and practical credits.

References

1. Acuña K: Avaliação do Estado Nutricional de Adultos Internados em Hospital Público do Acre. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 161p., 2002.
2. Butterworth CE Jr: The skeleton in the hospital closet. *Nutr Today* 1974, 9:4-8.
3. FELANPE, Federação Latinoamericana de Nutrição Parenteral e Enteral. Terapia Nutricional Total: livro de trabalho do instrutor. Desnutrição e suas conseqüên 1997; S1.1-S1.10.
4. McWhirter JP, Pennington CR: Incidence and recognition of malnutrition in hospital. *Brit Med J* 1994, 308:945-948.
5. Corish CA & Kennedy NP: Protein-energy undernutrition in hospital in-patients. *Brit J Nutr* 2000, 83:575-91.
6. Acuña K, Portela M, Costa-Matos A, Bora L, Teles MR, Waitzberg DL, Cruz T: Nutritional Assessment of Adult Patients Admitted to a Hospital of the Amazon Region. *Nutrición Hospitalaria* 2003, 18 (3):138-46.
7. OMS, Organização Mundial da Saúde. Manejo da Desnutrição Grave: um Manual para Profissionais de Saúde de Nível Superior e suas Equipes Auxiliares. Genebra, 2000.
8. Acuña K, Cruz T: Avaliação do Estado Nutricional do Adulto e do Idoso. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Projeto Hospitais Sentinela, FUNDHACRE, 122p., Rio Branco, Acre, 2003.
9. Detsky AS, Baker JP, Mendelson RA, Wolmart SL, Wesson DE, Jeejeebhoy N: Evaluating the accuracy of nutritional assessment techniques applied to hospitalized patients: methodology and comparisons. *J Parent Ent Nutr* 1984, 8:153-159.
10. Waitzberg DL, Caiaffa WF, Correia MITD: Inquérito Brasileiro de Avaliação Nutricional Hospitalar (IBRANUTRI). *Rev Bras Nutr Clin* 1999, 14:123-133.
11. Waitzberg DL, Caiaffa WT, Correia MITD. Hospital Malnutrition: the Brazilian National Survey (IBRANUTRI): a study of 4,000 patients. *Nutrition* 2001, 17:573-80.
12. Silva MCG. Avaliação Subjetiva. Global. In: Waitzberg DL. Nutrição Oral, Enteral e Parenteral na Prática Clínica. 3.ed., São Paulo: Atheneu, 2000:241-253.
13. Campbell SE, Avenell A, Walkner AE. Assessment of nutritional status in hospital in patients. *Q J Med* 2002, 95:83-7.
14. WHO, World Health Organization. Physical Status: the Use and Interpretation of Anthropometry. Report of a WHO Expert Committee. Geneva; 1995.
15. WHO, World Health Organization. Obesity: Preventing and Managing the Global Epidemic. Geneva, 1998.
16. Albert MB, Callaway CW. Clinical Nutrition for the House Officer, Williams & Wilkins: Baltimore, 248p., 1992.
17. Hill GL, Pickford I, Young GA et al.: Malnutrition in surgical patients: an unrecognised problem. *The Lancet* I: 689-92, 1977.
18. Weinsier RL, Hunker EM, Krumdiek CL, Butterworth Jr CE: Hospital malnutrition: a prospective evaluation of general medical patients during the course of hospitalization. *Am J Clin Nutr* 1979, 32:418-26.
19. Agradi E, Messina V, Campanella G et al.: Hospital Malnutrition: Incidence and Prospective Evaluation of General Medical Patients during Hospitalization. *Acta Vitaminol Enzymol* 1994, 6(4):235-242.
20. Pinchcofsky GD, Kaminski MV: Increasing malnutrition during hospitalization: documentation by a nutritional screening program. *J Am Coll Nutr* 1985, 4:471-79.
21. Coats KG, Morgan SL, Bartolucci AA, Weinsier RL: Hospital-associated malnutrition: a reevaluation 12 years later. *J Am Diet Assoc* 1993, 93(1):27-33.

22. Waitzberg DL, Correia MI, Echenique M, Ize-Lamache L, Soto JK, Mijares JM, Nin Álvarez LA, Paula JA, Rugeles S, Cantella MS, Lloreda PS, Escallón JM: Total Nutritional Therapy: a Nutrition Education Program for Physicians. *Nutr Hosp* 2004, 19(1):26-31.
23. Garrow JS: Starvation in hospital. *Brit Med J* 1994, 308:934.
24. McWhirter JP, Pennington CR. Incidence and recognition of malnutrition in hospital. *Brit Med J* 1994, 308:945-48.
25. Bistrian BR: Nutritional assessment and therapy of protein-calorie in the hospital. *J Am Diet Assoc* 1977, 71:393-97.
26. Long JM: Opening the closet door: the key is education. *J Parent Ent Nutr* 1982, 8(4):280-6.
27. Roubenoff R, Roubenoff RA, Preto J, Balke W: Malnutrition among hospitalized patients: a problem of physician awareness. *Arch Int Med* 1987, 147:1462-65.
28. Ministério da Saúde. Portaria 272 Regulamento técnico para terapia de nutrição parenteral. Diário Oficial, 8 de abril de 1998.
29. Ministério da Saúde. Portaria 337 Regulamento técnico para terapia de nutrição enteral. Diário Oficial, 14 de abril de 1999.
30. TNT, Terapia Nutricional Total. Programa de Educação. Federação Latinoamericana de Nutrição Parenteral e Enteral, São Paulo, 1999.
31. Mapa da Região Norte. Disponível em: <<http://www.brasilviagem.com>>. Acesso em: 23/02/04.
32. IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo 2000. Disponível em: <<http://ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/censo2000>>. Acesso em: 26/7/03.
33. Boog MCF, Silva JB: Nurse's perceptions about nutritional care. *Rev Bras Nutr Clin* 2001, 16:17-22.

Original

Hipofosfatemia en nutrición parenteral: prevención y factores de riesgo asociados

J. M. Llop Talaverón*, D. Comas Sugrañes*, M. B. Badía Tahull*, A. Sáez Fernández*, R. Jódar Masanés* y J. M. Gómez Sáez**

*Servicio de Farmacia. Hospital Universitari de Bellvitge. L'Hospitalet de Llobregat. Barcelona. **Servicio de Endocrinología y Nutrición. Hospital Universitari de Bellvitge. L'Hospitalet de Llobregat. Barcelona.

Resumen

Objetivo: Determinar la incidencia de hipofosfatemia en pacientes con nutrición parenteral, la cantidad de fosfato necesaria para prevenir esta complicación y los factores de riesgo asociados.

Ámbito: Estudio observacional no controlado en un hospital de nivel III.

Pacientes: pacientes ingresados con nutrición parenteral a los que se les ha realizado como mínimo una analítica completa.

Intervención: Se registran durante un año, los días de nutrición parenteral, el fosfato administrado y los niveles plasmáticos de calcio ionizado, γ -glutamyltranspeptidasa, glucosa, fosfato, prealbúmina, urea y leucocitos. Para el análisis se aplica una regresión múltiple stepwise y una regresión logística.

Resultados: Se incluyeron en el estudio 827 determinaciones correspondientes a 401 pacientes. Las variables significativas ($p < 0,05$) fueron: fosfato administrado y los niveles séricos de calcio ionizado, glucosa, prealbúmina y urea; los coeficientes de regresión fueron 0,004 (95% IC: 0,002-0,006), -0,156 (95% IC: -0,270-0,037), -0,014 (95% IC: -0,022-0,009), 0,005 (95% CI: 0,002-0,009) y 0,019 (95% IC: 0,016-0,022) respectivamente; la constante fue 1,0735 (95% IC: 0,939-1,2079). El riesgo de desarrollar hipofosfatemia disminuyó de 0,65 (95% IC: 0,33-1,26) a 0,16 (95% IC: 0,078-0,35) cuando el fosfato administrado variaba de L rango 7,5-17,5 mmol a valores superiores a 27,5 mmol.

Conclusiones: es necesario suplementar rutinariamente las nutriciones con fosfato debido a que su contenido en las emulsiones lipídicas comercializadas no es suficiente para evitar la hipofosfatemia en la mayoría de pacientes con nutrición parenteral. El aporte de fosfato debe ser suficiente para restaurar el déficit de fosfato intracelular y

HYPOPHOSPHATEMIA IN PARENTERAL NUTRITION: PREVENTION AND ASSOCIATED RISKS FACTORS

Abstract

Aim: To determine the incidence of hypophosphatemia in parenterally fed patients, the phosphate amount necessary to prevent this complication and associated risks factors.

Setting: Observational study, not controlled, in a third level hospital.

Patients: In-patients with parenteral nutrition with at least a complete laboratory work-up.

Intervention: For a complete year, days on parenteral nutrition, administered phosphate and plasmatic ionised calcium levels, γ -glutamyltranspeptidase, glucose, phosphate, pre-albumin, urea, and leukocytes were recorded. A multiple stepwise regression analysis and logistic regression are used for data analysis.

Results: Eight hundred and twenty seven determinations, corresponding to 401 patients, were included. Significant variables ($p < 0.05$) were: administered phosphate and ionised calcium serum levels, glucose, pre-albumin, and urea; regression coefficients were 0.004 (95% CI: 0.002 to 0.006), -0.156 (95% CI: -0.270 to 0.037), -0.014 (95% CI: -0.022 to 0.009), 0.005 (95% CI: 0.002 to 0.009) and 0.019 (95% CI: 0.016 to 0.022), respectively; the constant was 1.0735 (95% CI: 0.939 to 1.2079). The risk for developing hypophosphatemia decreased from 0.65 (95% CI: 0.33 to 1.26) to 0.16 (95% CI: 0.078 to 0.35) when administered phosphate varied from the span 7.5-17.5 mmol to values higher than 27.5 mmol.

Conclusions: It is necessary to routinely supplement nutrition with phosphate since its content in commercially available lipidic emulsions is not sufficient to prevent hypophosphatemia in the majority of patients with parenteral nutrition. Phosphate intake must be sufficient to restore the intracellular phosphate deficit and to compensate for the plasmatic phosphate fall, with special attention to poorly nourished, hyperglycaemic or with renal failure patients. Phosphate intakes around

Correspondencia: J. M. Llop.
Servicio de Farmacia.
Hospital Bellvitge.
Feixa Llarga, s/n.
08907 L'Hospitalet de Llobregat (Barcelona).
E-mail: josep.llop@csub.scs.es

Recibido: 15-III-2004.
Aceptado: 26-IV-2004.

compensar la caída de fosfato plasmático, con especial cuidado para los pacientes desnutridos, hiperglucémicos o con insuficiencia renal. Aportes de fosfato entre 27-37 mmol, disminuyen drásticamente la incidencia de hipofosfatemia en los pacientes estudiados, no registrándose ningún caso de hipofosfatemia severa.

(*Nutr Hosp* 2004, 19:362-366)

Palabras clave: *Hipofosfatemia. Factores de riesgo. Aporte de fosfato.*

Introducción

La hipofosfatemia es una complicación metabólica frecuente en la población hospitalaria^{1,2}. Está asociada a ciertas situaciones (enfermo quirúrgico, renal, hepático, estado crítico etc.) y su incidencia se ha visto incrementada desde la introducción en la práctica clínica de la Nutrición Parenteral (NP). Después de reanudar la alimentación en un paciente desnutrido, se produce como respuesta un incremento de determinados intermediarios de la glicólisis así como un aumento de la síntesis de ATP provocando el paso de fosfato plasmático a fosfato intracelular. Por otra parte, la administración de cantidades elevadas de glucosa en la NP estimula la liberación de insulina la cual incide en la redistribución y en la caída del fosfato plasmático³. Todo ello, sumado a las especiales características del paciente con NP (desnutrición, pérdidas incrementadas o disminución de la absorción de fosfato, determinadas patologías predisponentes y estados de hipercatabolismo etc.), provoca que la hipofosfatemia pase a ser una complicación metabólica frecuente en los pacientes con NP, registrando todavía hoy en día unos valores relativamente altos de incidencia, y pudiendo revestir graves consecuencias en el paciente crítico^{3,6}. Además, sobre todo en el caso del paciente grave, existe controversia sobre la cantidad ideal de fosfato para la prevención de la hipofosfatemia.

Los objetivos del estudio son: determinar la incidencia de hipofosfatemia en una muestra amplia de pacientes con NP en nuestro ámbito, cuáles de los datos analíticos de los pacientes recogidos sistemáticamente son indicadores de riesgo de la hipofosfatemia y la cantidad de fosfato necesaria para prevenirla.

Material y métodos

Se realizó un estudio de tipo observacional, no controlado y retrospectivo en los pacientes con NP ingresados durante 1 año en un hospital de nivel III que tuvieran al menos una analítica completa durante su tratamiento con NP. Los datos para la realización del estudio se obtuvieron del programa informático de seguimiento de la Unidad de NP del Servicio de Farmacia, donde se registran semanalmente las analíticas

27-37 mmol dramatically decrease the incidence of hypophosphatemia in studied patients, with no recorded cases of severe hypophosphatemia.

(*Nutr Hosp* 2004, 19:362-366)

Key words: *Hypophosphatemia. Risks factors. Phosphate intake.*

completas de los pacientes: urea, prealbúmina, fosfato, glucosa, calcio ionizado, γ -glutamyltranspeptidasa y leucocitos. Consideramos hipofosfatemia cuando el valor del fosfato plasmático es inferior a 0,81 mmol/L; hipofosfatemia moderada cuando las concentraciones plasmáticas de fosfato, estaban comprendidas entre 0,4 y 0,8 mmol/L e hipofosfatemia severa con concentraciones inferiores a 0,4 mmol/L). Según el tipo de fórmula de NP utilizada, el aporte de glucosa suministrado a los pacientes varió entre 75 y 300 g, el aporte de lípidos entre 50-100 g, el de aminoácidos entre 52-135 g, las calorías no proteicas fluctuó entre 800 y 2.200 y el aporte de fosfato entre 7,5 mmol-37 mmol. Siendo 7,5 mmol el fosfato incluido en las emulsiones lipídicas.

Análisis estadístico

Como variable dependiente se estudió el nivel de fosfatemia de los pacientes con NP (mmol/L). Como variables independientes se estudiaron: a) número de días con NP previos a la determinación analítica. b) nivel plasmático de urea (mmol/L). c) nivel plasmático de glucosa (mmol/L). d) nivel plasmático de GGT (μ kat/L). e) nivel plasmático de leucocitos (U/ μ L). f) nivel plasmático de prealbúmina (mg/dL). g) nivel plasmático de calcio ionizado corregido (mmol/L). h) la media del fosfato administrado en los 3 días antes de la determinación. Los datos relativos a la población se expresaron como media, desviación estándar y porcentaje. Se aplicaron dos tipos de análisis multivariantes para determinar los factores de riesgo asociados a hipofosfatemia⁷.

1. Estudio cuantitativo: Se realizó una regresión lineal múltiple stepwise para obtener las variables relacionadas en una ecuación de predicción y los coeficientes de regresión relacionados con los niveles séricos de fosfato. Se consideró que las variables muestran una relación significativa con un valor de $p < 0,05$.
2. Estudio cualitativo: Se aplicó una regresión logística múltiple para determinar los factores de riesgo. Se analizaron las variables independientes que eran significativas en el modelo anterior.

Los odds ratio y los intervalos de confianza se definieron como medidas de riesgo. Todos los datos fueron procesados en software de análisis estadístico SPSS.

Resultados

La edad media de los pacientes estudiados fue de $56,8 \pm 17,6$ años, con un peso corporal medio de $66,8 \pm 14,4$ kg. Distribuidos por sexos 363 correspondían a hombres y 160 a mujeres. La media del fosfato plasmático determinado fue de $1,2 \pm 0,4$ mmol/L (0,23-5,5).

Los diagnósticos iniciales de estos pacientes se detallan en la tabla I. La mayoría de estos pacientes (79,4%) estuvieron sometidos a cirugía (54,7% a cirugía digestiva, 7,3% a trasplante de médula ósea y 17,4% a otros tipos). Fueron incluidas en el análisis multivariante 827 determinaciones analíticas correspondientes a 401 pacientes con NP de las cuales 78 (9,4%) se asociaron a hipofosfatemia. La incidencia de la hipofosfatemia en los 401 pacientes incluidos es del 17,7 % (1,7% con hipofosfatemia severa y 16% con hipofosfatemia moderada).

De los pacientes a los que se les administró más de 27 mmol de fosfato no se registró ningún caso de hipofosfatemia severa y sólo 10 mostraron hipofosfatemia moderada en comparación con los 6 y los 28 casos de hipofosfatemia severa y moderada respectivamente del grupo con menor aportación de fosfato (tabla II).

En el estudio cuantitativo, las variables que mostraron una relación significativa con la hipofosfatemia

fueron: urea, glucosa, calcio, fosfato administrado y prealbúmina (tabla III).

La ecuación predictiva para el nivel plasmático de fosfato es:

$$Y = 1.0735 + 0.0196X_1 + 0.0059 X_2 + 0.00466 X_3 - 0,0144 X_4 - 0.1565 X_5$$

Y = niveles séricos de fosfato

X₁ = urea plasmática

X₂ = prealbúmina plasmática

X₃ = fosfato administrado

X₄ = glucosa plasmática

X₅ = calcio ionizado

Los valores plasmáticos de urea y prealbúmina, así como el fosfato administrado, presentaron un coeficiente de correlación positivo, es decir, mantienen una relación directa con los valores plasmáticos de fosfato. La glucosa y el calcio mostraron en cambio el coeficiente de correlación negativo y la relación con el fosfato plasmático es inversa.

En el estudio cualitativo se determinaron los odds ratio y los intervalos de confianza (tabla IV).

El riesgo de hipofosfatemia es tres veces mayor para valores de prealbúmina menores o igual a 20 mg/dL. En cuanto al fosfato administrado, tomando como referencia el valor mínimo (7,5 mmol), el riesgo de hipofosfatemia disminuye diez veces si la administración es > 27,5 mmol aproximándose a riesgo 0. Finalmente el riesgo de hipofosfatemia casi se duplica cuando la glucosa es mayor de 8 mmol/L o el calcio ajustado aumenta a valores mayores de 0,7 mmol/L.

Discusión

Se ha descrito una incidencia de hipofosfatemia en pacientes hospitalizados entre 0,2-12% y de hipofosfatemia severa entre 0,42-0,48%^{1,2,8,9} llegando a valores del 30-40% cuando se trata de pacientes con soporte nutricional¹⁰⁻¹². La incidencia de hipofosfatemia que hemos encontrado en nuestro estudio está por debajo de los valores descritos en la literatura debido posiblemente al tipo de población estudiada, a la metodología y a la composición de la NP. Los pacientes incluidos en nuestro estudio presentaban una gran heterogeneidad en el tipo de patología y gravedad. En general, otros estudios se centralizan en un grupo específico de pacientes críticos. Por otra parte, la forma de presentación de la hipofosfatemia durante uno o dos días en la primera semana de NP, ocasiona que según la frecuencia de las determinaciones analíticas, la hipofosfatemia puede llegar a no detectarse. Finalmente, otro factor a tener en cuenta, es la composición de la NP no siempre descrita en los estudios. Así por ejemplo, la inclusión de lípidos en la formulación de la NP permite disminuir la cantidad de glucosa administrada que en enfermos desnutridos es una de las principales causas de la caída del fosfato plasmático.

Son muchas las causas de la hipofosfatemia descri-

Tabla I

Diagnóstico de pacientes con nutrición parenteral total

Diagnóstico	Pacientes n (%)
Neoplasia digestiva	93 (23,1)
Neoplasias no digestivas	62 (15,5)
Patología digestiva no tumoral	144 (35,9)
Traumatismos	32 (8)
Patología cardiovascular	38 (9,4)
Infecciones	14 (3,4)
Otros	18 (4,6)

Tabla II

Niveles de fosfato sérico en función del fosfato administrado

Fosfato Administrado (mmol)	Casos hipofosfatemia (n)		
	Severa	Media	Normofosfatemia
< 7,5	6	28	152
7,5-17,5	0	18	120
17,5-27,5	0	16	194
> 27,5	0	10	283

Tabla III
Factores de riesgo. Estudio cuantitativo: regresión lineal múltiple stepwise

<i>Variable</i>	<i>X</i>	<i>B</i>	<i>Intervalo de confianza</i>	<i>Significación</i>	<i>Ecuación</i>
Urea plasmática	X ₁	0,0196	0,016–0,022	0,0001	Incluido
Prealbúmina plasmática	X ₂	0,059	0,002–0,009	0,0004	Incluido
Fosfato administrado	X ₃	0,0466	0,002–0,006	0,0001	Incluido
Glucosa plasmática	X ₄	-0,0144	-0,022–0,006	0,0002	Incluido
Calcio plasmático ionizado	X ₅	-0,01565	-0,275–0,037	0,0103	Incluido
Número de días	X ₆	—		NS	No incluido
Leucocitos	X ₇	—		NS	No incluido
GGT plasmática	X ₈	—		NS	No incluido

Coefficiente de determinación R² = 0,194.

F Snedecor = 39.206.

SIG F = 0,00001.

NS: no significativo.

Tabla IV
Estudio cualitativo: regresión múltiple logística

<i>Variables</i>	<i>Hipofosfatemia</i>		<i>Odds ratio</i>	<i>Intervalo de confianza</i>
	<i>Sí</i>	<i>No</i>		
Fosfato administrado				
< 7,6 mmol	34	152	1	
7,5-17,5 mmol	18	120	0,655	0,338-1,268
17,5-27,5 mmol	16	194	0,343	0,175-0,673*
> 27,5 mmol	10	283	0,166	0,08-0,351
Glucosa plasmática				
< 8,1 mmol/L	38	505	1	
> 8 mmol/L	40	244	1,815	1,096-3,004*
Urea plasmática				
< 21 mmol/L	70	683	1	
> 20 mmol/L	8	66	0,451	0,192-1,058
Prealbúmina plasmática				
> 20 mg/dL	4	145	1	
< 21 mg/dL	74	604	3,495	1,201-10,167*
Calcio plasmático (ajustado)				
< 0,7 mmol/L	15	298	1	
> 0,7 mmol/L	63	451	1,948	1,057-3,589*

* Estadísticamente significativo.

tas en los pacientes hospitalizados¹², sin embargo, hay pocos estudios en la literatura revisada que hayan determinado específicamente los factores de riesgo de la hipofosfatemia en pacientes con NP.

En pacientes con una disminución de la función renal (niveles altos de urea), la concentración plasmática de fosfato aumenta debido a una disminución de su aclaramiento renal. Sin embargo en pacientes desnutridos y sometidos a diálisis, la hipofosfatemia puede ser común^{13,14}.

La prealbúmina como marcador del estado nutricional, presenta una relación directa con el fosfato plas-

mático. Múltiples estudios han señalado el estado de malnutrición como causa de aparición de hipofosfatemia sobre todo en la introducción de la alimentación después de un periodo en el que no se ha recibido ningún aporte nutricional ("refeeding»), sin embargo, sólo un estudio en la literatura revisada, presenta a la prealbúmina como factor pronóstico. Marik¹⁵ determinó en un estudio prospectivo con 62 pacientes críticos la incidencia de hipofosfatemia en el periodo de la introducción de alimentación, e identificó a la concentración sérica de prealbúmina como único factor de riesgo capaz de predecir la hipofosfatemia.

Respecto a la variable fosfato administrado, en nuestro estudio valores de fosfato administrado en la NP superiores a 27,5 mmol (hasta un máximo de 37,5 mmol) reduce drásticamente la hipofosfatemia, siendo el riesgo de hipofosfatemia inversamente proporcional a la cantidad de fosfato administrado.

Estudios anteriores habían intentado definir la cantidad de fosfato necesaria para prevenir la hipofosfatemia. Thompson¹⁶ en un estudio retrospectivo con 61 pacientes con NP conteniendo 13,6 mmol/L de fosfato no detectó ningún caso de hipofosfatemia severa, aunque se produjo una alta incidencia de hipofosfatemia (38% de los pacientes). Clark encontró insuficientes los 15 mmol/l o los 710 mg (23 mmol) de fósforo/L incluidos de forma estándar en las NP o fórmulas enterales respectivamente, y precisó incrementar las dosis de fosfato en los pacientes críticos administrándolo en forma de uno o más bolus endovenosos¹⁷. Takala recomienda dosis de fosfato de 0,5 mmol/kg de peso para cubrir las necesidades diarias en un estudio realizado en 24 pacientes críticos con NP, aunque pueden ser insuficientes en pacientes con prolongado hipercatabolismo¹⁸. Dosis mayores de 37,5 mmol de fosfato como las recomendadas en algunos estudios, con vistas a conseguir un balance positivo de fosfato en enfermos críticos^{19,20}, han de valorarse por el peligro que suponen los precipitados de fosfato cálcico tal como advierte la alerta de la FDA en 1994²¹. Como solución no parece aconsejable la al-

ternancia de calcio y fosfato en la NP ya que los ratios de retención de calcio-fosfato son mejores cuando se administran conjuntamente, según el estudio de Kimura realizado en pacientes pediátricos con NP²². Para aumentar la estabilidad de las mezclas de NP, la Asociación Americana de Nutrición Parenteral y Enteral (ASPEN) recomienda la utilización de calcio orgánico²³. Otra posibilidad es la utilización de fosfato orgánico (D-fructosa-1,6 difosfato) según un estudio *in vitro* comparativo de compatibilidad entre calcio-fosfato²⁴.

El aumento de glucosa en sangre ocasiona la caída del fosfato plasmático debido por una parte a la fosforilación de la glucosa y al incremento de los requerimientos del fosfato intracelular, y por otra, al aumento de la excreción de fosfato por diuresis osmótica. Por ello debe vigilarse la cantidad y la velocidad de administración sobre todo en pacientes desnutridos^{5,25}.

En nuestro estudio, el calcio ionizado y corregido presenta una correlación negativa con el fosfato plasmático. Debido a la interrelación entre el calcio y el fosfato, un aumento del calcio en el lumen intestinal favorece un descenso en la producción de vitamina D, provocando una disminución en la absorción del fosfato. En un estudio realizado en 22 pacientes en el período postraumático inmediato el calcio ionizado no mostró relación alguna con el fosfato plasmático. Sin embargo se trataba de pacientes sin nutrición parenteral o enteral, y la determinación del calcio se realizó únicamente durante 3-4 días después del trauma²⁶. En otro estudio retrospectivo con 44 pacientes a los que se había practicado una resección hepática mayor no se encontró relación entre hipofosfatemia y calcio aunque en este caso no se determinó el calcio ionizado y eran enfermos sin NP²⁷.

En conclusión, es preciso suplementar rutinariamente las nutriciones con fosfato ya que el contenido en las emulsiones lipídicas comercializadas no es suficiente para evitar la hipofosfatemia en la mayoría de pacientes con NP. Debido a las especiales características de los pacientes con NP el aporte de fosfato debe ser suficiente para restaurar el déficit de fosfato intracelular y compensar la caída de fosfato plasmático, con especial cuidado para los pacientes desnutridos, hiperglucémicos o con insuficiencia renal. Aportes de fosfato en la NP entre 27-37 mmol, disminuye drásticamente la incidencia de hipofosfatemia en los pacientes estudiados, no registrándose ningún caso de hipofosfatemia severa.

Referencias

- Halevy J, Bulvik S: Severe hypophosphatemia in hospitalized patients. *Arch Intern Med* 1998, 148:153-155.
- Camp MA, Allon M: Severe hypophosphatemia in hospitalized patients. *Miner Electrolyte Metab* 1990, 16:365-368.
- Berner Y, Shike M: Consequences of phosphate imbalance. *Am Rev Nutr* 1988, 8:121-48.
- Hoff SD, Rowlands BJ: Guillain-Barré Syndrome due to hypophosphatemia following intravenous hyperalimentation. *JPEN* 1988, 12:414-416.
- Solomon SM, Kirby DF: The refeeding syndrome: a review. *JPEN* 1990, 14:90-97.
- Weinsier RL, Krumdieck CL: Death resulting from overzealous total parenteral nutrition: the refeeding syndrome revisited. *Am J Clin Nutr* 1980, 34:393-399.
- Domènech JM, Sarrià A: Construcción de un modelo de regresión múltiple con fines predictivos: selección de la mejor ecuación. En: *Análisis multivariante en ciencias de la salud: modelos de regresión. Gráficas Signo ed. Esplugas de Llobregat: José M.ª Domènech Massons*, 1997.
- Betro MG, Pain RW: Hypophosphatemia and hyperphosphatemia in a hospital population. *Br Med J* 1973; 1:273-276.
- Guy JIM, Stewart MK, Olukoga A, Horsman G, McMurray JR: Hypophosphatemia in general practice patients. *Ann Clin Biochem* 1999; 36:37-42.
- Sacks GS, Walker J, Dickerson RN, Kudsk KA, Brown RO: Observations of hypophosphatemia and its management in nutrition support. *Nutr Clin Pract* 1994, 9:105-108.
- Baker SS, Dwyer E, Queen P: Metabolic derangements in children requiring parenteral nutrition. *JPEN* 1986, 10:279-281.
- Zazzo JF, Troché G, Ruel R, Maintenant J: High incidence of hypophosphatemia in surgical intensive care patients: efficacy of phosphorus therapy in myocardial function. *Intensive Care Med* 1995, 21:826-831.
- Druml W, Kleinberger G: Hypophosphatemia in patients with chronic renal failure during total parenteral nutrition. *JPEN* 1999; 23:45. Letter.
- Duerksen DR: Response to Drs Druml and Kleinberger. *JPEN* 1999, 23: 45. Letter.
- Marik PE, Bedigian MIK: Refeeding hypophosphatemia in critically ill patients in an intensive care unit. A prospective study. *Arch Surg* 1996, 131:1043-7.
- Thompson JS, Hodges RE: Preventing hypophosphatemia during total parenteral nutrition. *JPEN* 1984, 8:137-9.
- Clark CL, Sacks GS, Dickerson RN, Kudsk KA, Brown RO: Treatment of hypophosphatemia in patients receiving specialized nutrition support using a graduated dosing scheme: results from a prospective clinical trial. *Crit Care Med* 1995, 23:1504-1511.
- Takala J, Neuvonen P, Klossner J: Hypophosphatemia in hypercatabolic patients. *Acta Anesthesiol Scand* 1985, 29:65-67.
- Pigon J, Lindholm M, Eklund J, Hagelbäck A: Phosphate supplementation in parenteral nutrition. *Acta Anesthesiol Scand* 1985, 29:50-54.
- Pomposelli JJ, Pomfret EA, Burns DL y cols.: Life-threatening hypophosphatemia after right hepatic lobectomy for live donor adult liver transplantation. *Liver Transpl* 2001, 7:637-42.
- FDA Safety alert: hazards of precipitation associated with parenteral nutrition. *Am J Hosp Pharm* 1994, 51:1427-8.
- Kimura S, Nose O, Seino Y y cols.: Effects of alternate and simultaneous administrations of calcium and phosphorus on calcium metabolism in children receiving total parenteral nutrition. *JPEN* 1986, 10:513-516.
- National advisory group on standards and practice guidelines for parenteral nutrition. Safe practice for parenteral nutrition formulations. *JPEN* 1998, 22:49-66.
- Prinzivalli M, Ceccarelli S: Sodium d-fructose-1,6-diphosphate vs sodium monohydrogen phosphate in total parenteral nutrition: a comparative *in vitro* assessment of calcium/phosphate compatibility. *JPEN* 1999, 23:326-332.
- Rasmussen A: Carbohydrate induced hypophosphatemia. *Anesthesiol Scand* 1985, 29:68-70.
- Daily WH, Tonnesen AS, Allen SJ: Hypophosphatemia: incidence, aetiology, and prevention in the trauma patient. *Crit Care Med* 1990, 18:1210-1214.
- George R, Shiu MH: Hypophosphatemia after major hepatic resection. *Surgery* 1992, 111:281-286.

Original

Quality of life of obese patients submitted to bariatric surgery

N. Barreto Villela*, O. Braghrolli Neto**, K. Lima Curvello***, B. Eduarda Paneili****, C. Seal*****, D. Santos***** and T. Cruz*****

*Associate Professor. Bahia Federal University (UFBA) Nutrition School. Coordinator of the Nutrition Staff of the Professor Magalhães Netto Pavilion. **Full Professor of Surgery. UFBA Medical School. ***Teaching Staff. UFBA Nutrition School. ****Graduation Students. UFBA Nutrition School. *****Graduation Students. Department of Psychology. UFBA Philosophy and Humans Sciences School. *****Associate Professor. UFBA Medical School. Chief of the Endocrine Service Prof. Edgard Santos University Hospital (HUPES). Brasil.

Abstract

Introduction: The quality of life (QOL) of patients with morbid obesity (MO) is reduced given the restrictions it imposes. Bariatric surgery is considered an efficient treatment for MO as it leads to marked and progressive weight reduction. Weight loss, appropriate nutritional advice and follow up may induce significant improvement in QOL.

Aim: To evaluate the degree of QOL in patients with MO before and after bariatric surgery (Fobi-Capella reducing gastropasty).

Cases. Material and Methods: 95 morbidly obese (BMI > 40 kg/m²) or moderately obese (BMI 35 - 39 kg/m²) patients with co-morbidities were seen, followed up and given advice by the Nutrition, Psychology, Endocrinology and Surgery staff at the Federal University of Bahia Hospital. Group I included 66 subjects at the pre-surgical stage and Group II was composed of 29 other patients in a late postsurgical phase. Group II patients were seen at 6, 12 and more months after bariatric surgery. The medical outcomes study Short-Form Health Survey (SF-36) was the instrument used to evaluate QOL in this study. Data were analyzed using the Mann-Whitney non-parametric method and the SPSS program.

Results: A statistically significant improvement in QOL was detected in the aspects of general health, functional ability and vitality. A progressive improvement in physical conditioning was particularly observed in the patients who had had bariatric surgery less than 6 months before, between 6 and 12 months and more than 12 months before. Small changes in subjective features were seen. An improvement in social aspects was observed after a post surgical fall. This explains why do not changes appear when pre and post surgical patients are compared.

Conclusions: Fobi-Capella bariatric surgery for our

CALIDAD DE VIDA EN PACIENTES OBESOS SOMETIDOS A CIRUGÍA BARIÁTRICA

Resumen

Introducción: La calidad de vida (QOL) de los pacientes con obesidad mórbida (OM) se ve reducida dadas las restricciones que esta situación impone. Se considera que la cirugía bariátrica es un tratamiento eficaz para la OM puesto que conduce a una reducción notable y progresiva del peso. Perder peso, el consejo dietético adecuado y el seguimiento pueden favorecer una mejoría notable en la QOL.

Objetivo: Evaluar el grado de QOL en pacientes con OM, antes y después de la cirugía bariátrica (gastroplastia reductora de Fobi-Capella).

Casos, material y métodos: Noventa y cinco pacientes obesos mórbidos (IMC > 40 kg/m²), o moderados (IMC 35 - 39 kg/m²) con comorbilidades, fueron vistos, seguidos y recibieron consejo por parte del personal de Nutrición, Psicología, Endocrinología y Cirugía del Federal University Bahia Hospital. El grupo I incluía individuos en la etapa prequirúrgica y el grupo II se componía de 29 pacientes distintos en una etapa posquirúrgica avanzada. A los pacientes del grupo II se les vio a los 6, 12 y más meses después de la cirugía bariátrica. Se utilizó el estudio de resultados médicos Short Form Health Survey (SF-36) para evaluar la QOL en este estudio. Se analizaron los datos utilizando el método no paramétrico de Mann-Whitney y el programa SPSS.

Resultados: Se detectó una mejoría estadísticamente significativa en la QOL, en los aspectos de salud general, capacidad funcional y vitalidad. Se vio una mejoría progresiva en la forma física, particularmente en los pacientes que habían sido sometidos a cirugía bariátrica en los últimos 12 meses, entre los 6 y 12 meses, y hacía más de 6 meses. Se vieron pequeños cambios en los puntos subjetivos. Se observó un cambio en los aspectos sociales tras una caída posquirúrgica. Esto explica el porqué los cambios no se ven cuando se comparan pacientes pre y posquirúrgicos.

Conclusiones: La cirugía bariátrica de Fobi-Capella en nuestros pacientes con obesidad mórbida o con obesi-

Correspondencia: N. Barreto Villela.
Nutricionist and Professor at the Nutrition School, Federal University of Bahia, Brazil.
E-mail: villelan@uol.com.br

Recibido: 16-III-2004.
Aceptado: 26-IV-2004.

patients with MO or with co-morbidities associated moderate obesity resulted in QOL improvement, and gradual but marked improvements in physical condition over time.

(*Nutr Hosp* 2004, 19:367-371)

Key words: *Quality of life. Morbid obesity. Moderate obesity with co-morbidities. Bariatric surgery. SF-36.*

dad moderada y comorbilidades asociadas supuso una mejoría en la QOL, y una mejoría gradual, pero notable, en la situación física a lo largo del tiempo.

(*Nutr Hosp* 2004, 19:367-371)

Palabras clave: *Calidad de vida. Obesidad mórbida. Obesidad moderada con comorbilidades. Cirugía bariátrica. SF-36.*

Introduction

Obesity is a complex and multi-factorial disease arising from excessive storage of fat which results from the interaction of social, behavioral, cultural, psychological, metabolic and genetic factors.

The prevalence of obesity has increased significantly in the last decade in Brazil, especially in female adults reaching 13.3%¹. The rate at which obesity is increasing in this country is 0.36/year for the female and 0.2/year for the male populations, as compared to the US and the UK, where it varies from 0.5 to 1.0/year¹. These values are considered alarming when one takes into account the elevated prevalence of co-morbidities (high blood pressure, dyslipidemia, carbohydrate intolerance). A greater mortality rate is found among individuals whose obesity is classified as severe or morbid. The most recent version of the weight classification from the World Health Organization (WHO), shown in table I, uses the Quetelet or Body Mass Index (BMI) and expresses its values in kg/m².

Quality of life, as defined by the WHO QOL Group is "the perception of the individual in life, in the context of culture and in the system of values where he/she lives in relation to his/her objectives, expectations, standards and concerns"³. QOL may be understood as the degree of satisfaction an individual reaches in relation to his/her essential and secondary needs in the environment where he or she lives. Essential needs are those related to education and health: secondary

needs are subjective, psychological and frequently of an environmental and esthetic nature⁴.

It is important that people feel psychologically well, in good physical condition, socially integrated, functionally competent and thus able to reach an adequate QOL.

The tools for QOL evaluation are multidimensional, including both subjective and objective features of well being. They also reflect the effects of the treatment used and this may lead to new procedures in the post surgical follow-up and enable the provision of public and private expenses for the treatment.

Bariatric surgery is one of the therapeutic modalities considered able to offer acceptable results favoring rapid weight loss and a reduction of risks from morbid or co-morbidities-associated moderate obesity⁵⁻⁷.

The techniques of bariatric surgery available today may be classified in three groups: a) dysabsorptive - resulting in reduction of the absorption of ingested nutrients; b) restrictive-causing reduction of gastric capacity and consequently diminishing food ingestion, and c) mixed-techniques including features from the two previous groups.

No surgical intervention is free of risk but there are factors that can interfere in the surgical outcome such as the type of surgery with its respective implications, the age and the clinical status of the patient. Despite the possible risks, bariatric surgery is used since it offers greater perspectives for a longer, and better quality of life.

It has been suggested that the QOL of morbidly or moderately obese patients with associated co-morbidities improves after bariatric surgery. However, this impression derives from individual observations, needing confirmation via a systematic group study capable of quantifying the variation of the level of QOL of the subjects. The present study proposes to evaluate this degree of variation in patients before and after bariatric surgery and to allow the drawing of conclusions confirming one of the following hypotheses:

- the surgical procedure led to an improvement in the QOL of the patients
- after bariatric surgery the level of QOL in both groups studied did not change.

Table I
WHO classification according to
the Body Mass Index (BMI)

BMI (kg/m ²)	Categories
18.5 to 24.9	Normal
25.0 to 29.9	Overweight
30.0 to 34.9	Grade I obesity
35.0 to 39.9	Grade II obesity
≥ 40	Grade III obesity

Source: Practical Guide: Identification, Evaluation and Treatment of Overweight and Obesity in Adults. NHLBI-Obesity Education Initiative-WHO. October 2000.

Cases, material and methods

Design

Cross-sectional study evaluating the groups studied at different intervals.

Patients

Data were collected between October 2002 and May 2003 from patients classified as Grade III and comorbidities-associated grade II obese patients. These patients were divided into 2 groups. Group I was made up of individuals recommended for surgical treatment for their obesity. Group II includes patients who had had bariatric surgery. Most patients evaluated in this study had comorbidities usually associated with obesity (arterial hypertension, dyslipidemia, glucose intolerance or even diabetes mellitus).

In total 95 patients with obesity, classified either as grade III or grade II with co-morbidities, 66 of which were in pre-operative phase and 29 who had been operated on at least 2 months before, were studied. The aim was to measure their quality of life before bariatric surgery (group I) and to follow their recovery from surgery and to evaluate their quality of life (group II). No patients were evaluated before and after the surgery. All 95 patients were seen and followed during the perioperative period by the staff of Surgery, Endocrinology, Nutrition and Psychology at the Professor Magalhães Netto Pavilion, a multidisciplinary clinic which is an annex to Professor Edgard Santos University Hospital (HUPES).

The following criteria were used to exclude patients from this study; a) age lower than 16 and above 65 years; b) heavy alcohol use or drug addiction; c) unstable personality; d) depression or history of suicidal attempts; e) strong family opposition to the surgery, and f) unreal expectations related to the surgical results or clues that the patient would not follow the recommendations and requirements during follow up.

Material

The questionnaire adopted in this study for the analysis of quality of life of the patients was the SF-36⁸, validated in Brazil by Ciconelli in 1991⁹. The questions are subdivided into eight subscales: limitations on physical activities, limitations on social activities due to physical or emotional problems, limitations on daily activities, pain mental health (psychological disturbances), limitations on daily activities due to emotional problems, vitality.

Methods

The patients in group I were first seen by the endocrinology staff and then passed to surgical staff for evaluation, decision-making and scheduling of the surgery. They were then sent to the nutrition and psy-

chology staff who obtained anthropometric measurements, collected social data and gave diet counseling. Consent was also obtained and the SF-36 questionnaire was applied.

The staff of the 1.^a Clínica Cirúrgica (First Surgical Service) of the Professor Edgard Santos University Hospital was responsible for the surgical intervention. The surgical technique used in all patients was the Fobi-Capella technique which is classified as mixed (restrictive and dysabsorptive). Patients who had undergone surgery (group II) were subsequently seen by the above mentioned staff at various intervals.

In the Nutrition and Psychology Outpatients Clinic the entire protocol was followed as for group I after the surgical procedure. Dietary orientation depended on the post-operative phase the patients were in when seen.

Data Analysis

Data were analyzed by the Mann-Whitney non-parametric method in order to verify, at a 95% confidence level, if there was difference in the average scores of the patients in the QOL index between the pre and post operative groups.

The SPSS program, version 10.0, was used for statistical analysis and a hypothesis test was performed for each point (the variables composing the QOL index), by comparing the averages found for both groups.

Results

After statistical analysis between groups I and II improvement was observed in postoperative well-being and it was statistically significant in the items concerning functional ability (from 20.2 to 25.3), vitality (from 14.6 to 17.8) and general health (from 16.5 to 26.5) as can be observed in figure I.

The analysis of the data obtained from Group II patients was carried out by comparing the patients at three different stages: less than 6 months after surgery, 6 to 12 months and more than one year after bariatric surgery. A progressive improvement was observed to have occurred in aspects related to physical condition (functional ability and physical aspects). The item physical aspects improved more than 100% from less than 6 to more than 12 months after bariatric surgery. Slight changes were found in the features evaluated more subjectively (general health, mental health, emotional aspects). Changes in the social aspects were not observed.

Emotional aspects also significantly differed in Group I and II patients. Patients submitted to Fobi-Capella's gastropasty socialize more than pre-surgical morbidly obese or comorbidities associated moderately obese patients seen before bariatric surgery. Post surgical participation in family and social events after a initial fall became more constant due to better mobi-

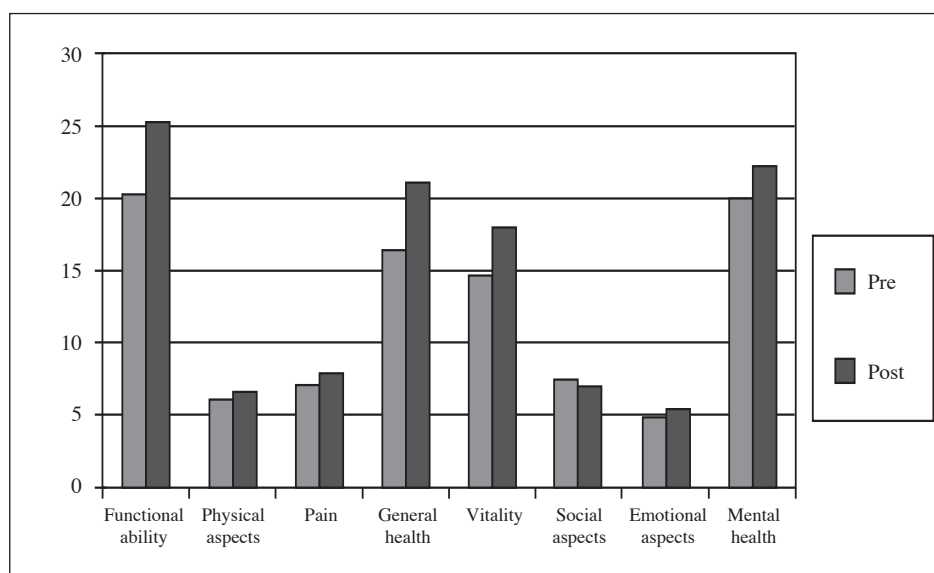


Fig. 1.—Average values of the indicators of quality of life in the obese patients seen in the Professor Magalhães Netto (UFBA) Out-patient service before (Group I) and after (Group II) bariatric surgery. Salvador, 2003.

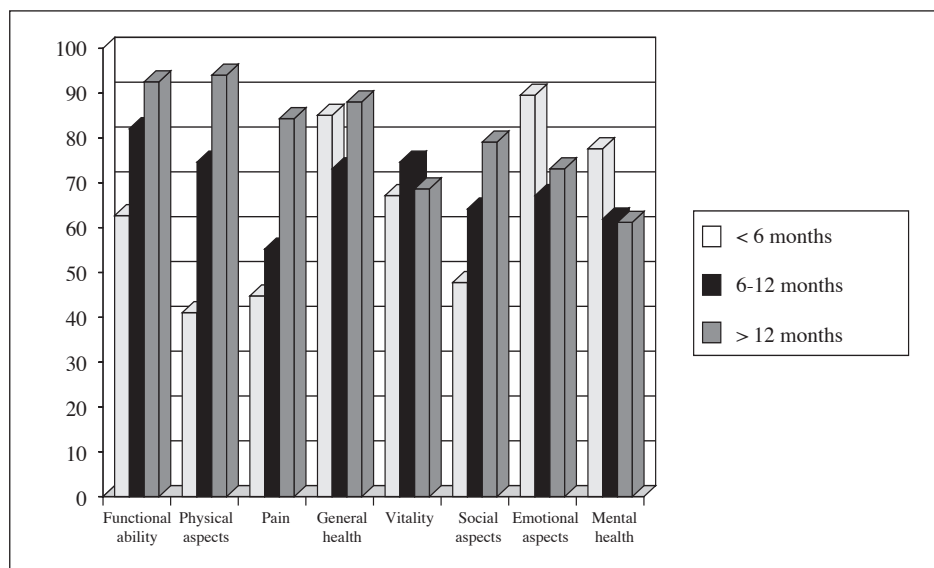


Fig. 2.—Average value of the indicators of quality of life according to the time from bariatric surgery in the patients seen in the Prof. Magalhães Netto Outpatient Service (UFBA). Salvador, 2003.

lity and greater acceptance by people around them. It may be that a significant difference between pre and post surgery does not appear either due to this fall or to insufficient time to have elapsed.

Discussion

Obesity is considered an important component of a metabolic syndrome usually associated with high blood pressure, dyslipidemia and impaired glucose tolerance and is implicated in increased cardiovascular risk. Disorders involving other system as seen as psychological problems are more frequent in obese patients^{2,10-12}. Physical restrictions associated with excessive weight may limit individual mobility. Social

disadvantages caused by prejudice may result in psychological deterioration, depression and self esteem loss, which may worsen the clinical picture. All these factors work against a good QOL for morbidly obese or moderately obese individuals with associated comorbidities¹².

Therapy for morbid obesity and co-morbidities-associated moderate obesity require the coordinated attention of a professional team, each playing a relevant role to achieve success. The medical staff count on the collaborations of endocrinologists for initial evaluation and therapy and frequently the help of experienced surgical staff specialized in bariatric surgery. The evaluation of QOL, tracing its improvement or deterioration, therefore depends on the involvement of se-

veral health professionals interacting together. The psychology team, also part of this group, not only evaluates QOL but can also help to alleviate affective and emotional suffering. Their work is essential to promote the learning of new abilities and changes in patterns of thinking and behavior. It is also important for reflection on the new strategies the individual adopts in the relationship with him/herself and with others, promoting well being^{4,13}. The nutrition staff play an active role during the entire perioperative period. Before surgery a diet is prepared so as to favor weight reduction and correct possible biochemical abnormalities thereby contributing to lowering surgical risk. The patient's dietary re-education for their new post surgical condition is of utmost importance to avoid nutritional deficiencies frequently present in operated patients^{14,15}.

The present day concern with the concept of quality of life reflects a movement within human and biological sciences to widen and attach greater importance to parameters other than the control of symptoms, mortality reduction or the extension of life expectation¹⁶.

The quest for well being and quality of life begins with self knowledge. The first step to reach this consists of the perception, by the individual, of his/her state of physical, psychological and nutritional health, as well as the good or bad habits acquired over the years. To obtain this perception a global evaluation of health, via the collection of anthropometric, biochemical, clinical and psychological data is often necessary.

The present investigation included two groups of patients who, at first glance, cannot be compared because they were not composed of the same patients evaluated before, followed up and reevaluated after surgical treatment of obesity. Measuring quality of life in such a group would give more precise and comparable results of the change in QOL than evaluate the benefits bariatric surgery would offer. However, Group I could serve as control group and group II as treated group and this could be a way to proceed to infer what changes in QOL surgical treatment may bring in extreme or complex obesity.

Our results, although incomplete, give an idea of the advantages of the Fobi-Capella's therapeutic option in the type of patients studied. They demonstrate a significant reduction in the QOL in group I (pre-surgical patients) and they show improvement in functional ability, vitality and general health in operated patients (group II). The results also demonstrated that this improvement increases after surgery and may be able to reduce potential complications. Improvement in the emotional problems associated with extreme or complicated obesity is important because patients pro-

fit from feeling emotionally better and become more enthusiastically engaged in treatment, which in turn helps their progress.

Finally, this paper underlines the importance of the feasibility of multi-professional work in treatment and the advantages of interdisciplinary team-work in the treatment of morbid or comorbidities-associated moderate obesity.

Further investigation with more prolonged follow up is required for a better understanding of the role of bariatric surgery in positive changes in QOL.

References

1. Malheiros CA, Freitas Jr. WR: Obesidade no Brasil e no Mundo. In: Garrido Jr, AB, Ferraz EM, Barroso FL, Marchesini JB, Szego T. Cirurgia da Obesidade. São Paulo: Atheneu, 2003. Practical Guide: Identification, Evaluation and Treatment of Overweight and Obesity in Adults. NHLBI-Obesity Education Initiative-WHO. 2000, october.
2. Fleck PA, Louzada S, Xavier M, Chachamovich E, Vieira G, Santos L, Pinzon V: Aplicação versão em português do instrumento abreviado de avaliação da qualidade de vida "WHO-QOLbref" *Revista de Saúde Pública* 2000, 34(2):178-183.
3. Ferreira MM, Meier M: Psicologia do Emagrecimento. Rio de Janeiro: Revinter, 2004.
4. Fobi MAL: Vertical banded gastroplasty vs gastric bypass: 10 years follow up. *Obes Surg* 1993, 3:161-4.
5. Capella JF, Capella RF: The weight reduction operation choice. *Am J Surg* 1996, 171:74-79.
6. Capell, Capella RF: An assessment of vertical banded gastroplasty. Roux-en-Y gastric bypass for the treatment of morbid obesity. *Am J Surg* 2002, 183:117-123.
7. Ware JE Jr, Sherbourne: The MOS-36-item short form health survey (SF-36) 1. Conceptual framework and item selection. *Med Care* 1992, 30:473.
8. Cicconelli RM, Ferraz MB, Santos W, Meinão I, Marina RQ: Tradução para a Língua Portuguesa e avaliação do questionário genérico de avaliação de qualidade de vida SF-36 (Brasil SF-36). *Rev Bras Reumatol* 1999, 39:143-50.
9. Consenso Latinoamericano de Obesidade, Federação Latinoamericana de Sociedades de Obesidade. 1998.
10. Halpern A, Mancini MC: Como diagnosticar e tratar a obesidade. *Rev Bras Med* 2000, 55(12) Maio.
11. Fontaine KR, Barofsky I: Obesity and health-related quality of life. *Obesity Review* 2001, 2:173-182.
12. Stunkard AJ, Wadden TA: Psychological aspects of human obesity. In: Björntorpe Brodoff BN (eds.). Obesity. JB Lippincott Co. N York, 1992; Cap 29: 352-360.
13. Cambi MPC, Marchesini JB: Acompanhamento Clínico, Dieta e Medicação. In: Garrido Jr. AB, Ferraz EM, Barroso FL, Marchesini JB, Szego T: Cirurgia da Obesidade. São Paulo: Atheneu, 2003.
14. Francischi RPP et al.: Obesidade: Atualização sobre sua Etiologia, Morbidade e Tratamento. *Rev Nutr* 2000, v13(01) Jan/Abr.
15. Guillemin F, Bombardier C, Beaton D: Cross-cultural adaptation of health-related quality of life measures: literature review and proposed guidelines. *J Clin Epidemiol* 1993, 46:1417-32.
16. Donovan JL: Symptom and quality of life assessment. In: Abrams P et al.: Incontinence. Plymouth: Plymbridge Distributors, 2001, pp. 261-315.

Original

One anastomosis gastric bypass: a simple, safe and efficient surgical procedure for treating morbid obesity

M. García-Caballero* and M. Carbajo**

*Department of Surgery. University Malaga. **Department of Surgery. Campo Grande Hospital. Valladolid. España.

Abstract

The One Anastomosis Gastric Bypass has been developed from the Mini Gastric Bypass procedure as originally described by Robert Rutledge. The modification of the original procedure consists of making a latero-lateral gastro-jejunal anastomosis instead of a termino-lateral anastomosis, as is carried out as described in the original procedure.

The rationale for these changes is to try to reduce exposure of the gastric mucosa to biliopancreatic secretions because of their potentially carcinogenic effects with longer term exposure, which is the major criticism of the original technique. If we fix the jejunal loop to the gastric pouch some centimetres up to the gastro-jejunal anastomosis the biliopancreatic secretions have less possibility of coming into the gastric cavity (gravity force). Furthermore, if the anastomosis is latero-lateral this possibility is reduced even more. In addition, the intestinal loop reinforces the staple line against disruption, and also the gastric pouch against dilatation.

(*Nutr Hosp* 2004, 19:372-375)

Key words: *Mini Gastric Bypass. Gastric pouch against dilatation.*

Introduction

When surgeons needed to develop a procedure for effecting weight loss, they mimicked clinical situations where weight loss occurred. Therefore, the initial concept was to use a surgical procedure which provoked a short bowel syndrome- (jejuno-ileal bypass) which is the clinical situation with

EL BYPASS GÁSTRICO DE UNA ANASTÓMOSIS: UN PROCEDIMIENTO SIMPLE, SEGURO Y EFICAZ PARA TRATAR LA OBESIDAD MÓRBIDA

Resumen

El Bypass Gástrico de Una Anastomosis se ha desarrollado a partir del Mini Bypass Gástrico descrito por Robert Rutledge. La modificación del procedimiento original consiste en hacer una anastomosis latero-lateral en lugar de termino-lateral como se hace en la técnica original.

Este cambio intenta reducir la exposición de la mucosa gástrica a la secreción bilio-pancreática, evitando así el posible efecto carcinogénico de la exposición crónica que constituye la más importante crítica del procedimiento original. Al fijar el asa de yeyuno a la nueva bolsa gástrica unos centímetros por encima de la anastomosis gastro-yeyunal, la secreción bilio-pancreática tiene menos posibilidades de entrar en la cavidad gástrica (fuerza de gravedad). Al ser la anastomosis latero-lateral esta posibilidad se reduce aún más. Además, el asa de yeyuno refuerza la línea de grapas contra su disrupción y previene la posible dilatación de la bolsa gástrica.

(*Nutr Hosp* 2004, 19:372-375)

Palabras clave: *Mini Gastric Bypass. Dilatación bolsa gástrica.*

most weight loss. However, the dramatic metabolic consequences^{1,2} indicated the necessity to develop less aggressive, but still efficient, surgical procedures to bring about a loss of weight. The different approaches that have been developed during the years aimed to minimise the operative trauma and optimise the long term nutritional and metabolic consequences. As a result, procedures such as vertical banded gastroplasty³ and gastric banding⁴ were introduced into clinical practice. These procedures were associated with a limited weight loss but, importantly, there were undesirable chronic side effects and complications also occurred. For these reasons, other techniques have been developed including mixed restrictive and low malabsorptive procedures such as the Roux Y gastric bypass^{5,6}, or

Correspondencia: Prof. M. García-Caballero.
Department of Surgery.
University Malaga.
Facultad de Medicina.
29080 Málaga.
E-mail: gcaballe@uma.es

Recibido: 10-VIII-2004.
Aceptado: 11-X-2004.

high malabsorptive as biliopancreatic bypass^{7,8} and duodenal switch operations^{9,10}. However, these are also associated with more morbidity and significant chronic nutritional and metabolic complications.

In 1997 Robert Rutledge took again as a starting point the Billroth II gastric operation which has been carried out previously by others¹¹ and shown in a million patients to provoke loss of weight. He adapted the original operation as described by Billroth and applied laparoscopic techniques to its further development. Indeed, excellent results for the first 1,274 patients who were treated using this technique have been reported¹².

Some surgeons were concerned that patients who were subjected to a Billroth II procedure (as well as those undergoing other procedures for peptic ulcer disease such as vagotomy) had a risk of 0.8% of developing gastric cancer within 25 years of the operation and have criticized the procedure¹³. However, this finding has not been consistent and others have failed to demonstrate this link¹⁴.

We have studied in depth the advantages and disadvantages of the Mini Gastric Bypass procedure, and finally we have concluded that the new procedure had many differences when compared with the original Billroth II, or other gastric bypasses based on it. Furthermore, these differences could explain the results reported by Rutledge. The new procedure has, in our opinion, clear advantages over other surgical operations in use at present for treating morbid obesity.

However, in order to reduce the contact of biliopancreatic secretions with the gastric mucosa, and also for reducing the possibility of gastric pouch dilatation, we have introduced some modifications into the Mini Gastric Bypass as originally described by Robert Rutledge. These will be described below.

The technique

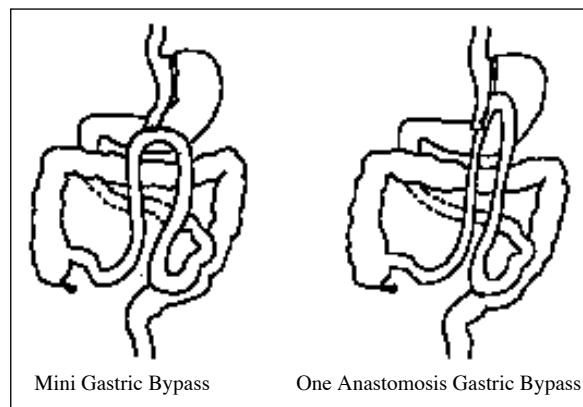


Fig. 1. —Schematic representation of the original Mini Gastric Bypass and the One Anastomosis Gastric Bypass.

The laparoscopic One Anastomosis Gastric Bypass is similar to the Mini Gastric Bypass¹². The differences are illustrated in figure 1. As can be observed, the gastro-jejunal anastomosis is performed latero-laterally instead of termino-laterally.

Detailed description of the surgical technique

The procedure commences by inducing a pneumoperitoneum through the left subcostal space (figure 2).

The first trocar (10 mm) is introduced through the middle point of the line between the xiphoid and umbilicus, and through which we introduce the camera. The second trocar (12 mm) is positioned 5 cm to the right side of the first, and at the same level. Then, the third trocar (12 mm) is inserted 5 cm to the left side of the first one, and again at the same level. The fourth and smallest trocar (5 mm) is inserted into the right flank at the lower edge of the liver (internal view control) and serves to allow the introduction of the liver retractor. Finally, the fifth trocar (5 mm) is positioned in a left sub-costal position, and is approximately 10 cm away from the second trocar (see diagram).

Once the operation field has been prepared, the esophago-gastric junction is identified. The first step consists of preparing a hole in the gastric fundus at the esophago-gastric junction. This allows the access to the posterior wall of the stomach which will facilitate the later creation of the gastric pouch.

Then, we move to the lesser curvature and identify a point at the “crow’s foot” level. As close as possible to the gastric serosa, we start to make a hole in order to gain access to the posterior wall of the stomach. Once we come to the posterior stomach wall we introduce a 45 mm EndoGhia, 3.5 mm cartridge (Tyco®) and transect the stomach horizontally. Then, we commence the vertical stomach transection which progresses until the esophageal-gastric junction has been reached, using a 1 cm nasogastric tube placed in the lesser curvature of the stomach, as a guide. We use two or three 60 mm EndoGhia, 3.5 mm cartridges (Tyco®) to complete the transaction of the stomach. An additional 30 or 45 mm EndoGhia, 3.5 mm cartridge (Tyco®), is sometimes needed.

After making the gastric pouch, we insert a sixth trocar (5 mm) at McBurney’s point. We proceed identifying the angle of Treitz. Then we measure approximately 2 m jejunum distally from this point. Once this point has been localized, a 10 cm long and 0.5 cm wide rubber band is passed around the small intestine. With the help of a “grasp”, we approximate the jejunal loop to the gastric pouch.

When both are in position side by side, we fix the jejunum to the staple line of the gastric pouch with 6 to 10 sutures using an Endostitch (Tyco®). When both are fixed, we anastomose the gastric pouch to

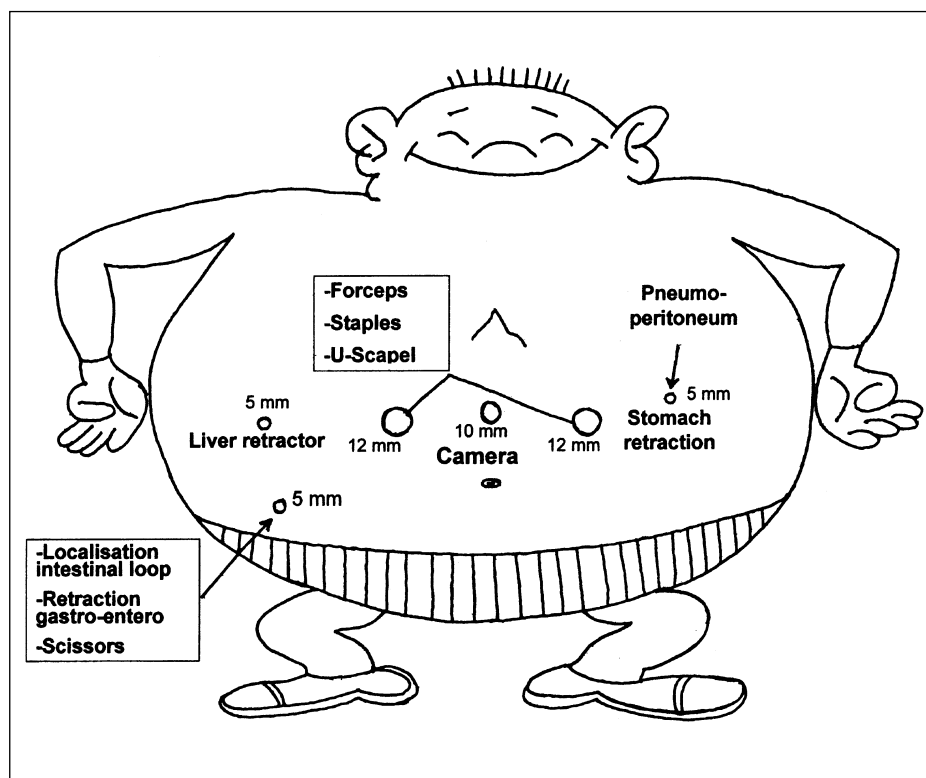


Fig. 2.—Schema of the port sites and the instruments used through each of them.

the jejunal loop using a 30 mm EndoGhia, 3.5 mm cartridge (Tyco®) from which we introduce only a part (the length of the anastomosis is between 15 and 20 mm). The gastric and jejunal holes are closed using 4 to 6 sutures. For checking if the anastomosis is securely closed, we put it under saline and inject 60 to 100 ml of air through the nasogastric tube and there should be no air bubbles seen to be escaping from the anastomosis. Finally we seal the anastomosis by using 2 ml of fibrin glue (Tissucol®). We place a suture between the intestinal loop and the gastric antrum so as to “unload” the anastomosis trying to avoid any tension on it. An omentoplasty is always performed using omentum to cover the gastro-jejunal anastomosis. Finally, a soft drain is always positioned below the liver.

Twenty four hours after the operation we perform a radiological contrast study (oral gastrograffin) to check that the pouch and anastomosis is not leaking. If the result is normal we start as a three hours liquids tolerance checking before the patient goes home.

Comments

The surgery to treat morbid obesity should follow, in our opinion, the principle of “the simplest procedure that permits enough weight loss with less short and long-term complications and better quality of life”.

The One Anastomosis Gastric Bypass is a minimally traumatic procedure for the patient. The techni-

que is carried out in the same way always, and independently of the weight of the patient. However, the results are always comparable: the patients lose around 80% of their pre-operative excess body weight during the next two years (most of this occurs during the first year). This has been shown from the results of the first 200 first patients we have operated on.

The most important changes that occurs in this operation when compared with the classical Roux-en-Y Gastric Bypass (RYGB) are: 1) it is not necessary to interrupt the physiological intestinal transit; 2) hence, we do not produce a hole in the mesentery which avoid the possibility of developing around 8% post-operative intestinal obstruction¹²; 3) the latero-lateral gastrojejunal anastomosis using linear staples also avoids the 10% risk of gastrojejunal strictures occurring after RYGB; 4) finally, we also avoid the luminal nutrients having contact with the intestinal jejunal mucosa without prior mixture with the biliopancreatic secretion. This would not happen under physiological conditions (luminal nutrients are always together with biliopancreatic secretion as happens in our bypass procedure) which has been proven to provoke mucosal hypotrophy and bacterial translocation¹³.

The most important change when compared with the original Mini Gastric Bypass as described by Robert Rutledge¹⁴, is the type of anastomosis. Our modification of the original procedure tries to minimise the contact and chronic effect of the biliopancreatic secretions on gastric mucosa, which is an important reason for per-

forming this otherwise very efficient procedure. At the same time, we cover the distal part of the staple line and protect it against disruption and dilatation.

To achieve that, we fix the jejunal loop to the stomach pouch some centimetres over the anastomosis (see figure 1) so that the biliopancreatic secretion fall down some centimetres to the 15 to 20 mm latero-lateral gastro-jejunal anastomosis. The effect of the gravity force and the lateral connection with the stomach (together with the entry of gastric secretion and the alimentary bolus), minimizes the contact of the biliopancreatic secretions with the gastric mucosa (as demonstrated during the clinical evolution in our first 200 patients where there hasn't been symptomatic episodes of gastric irritation).

In summary, the One Anastomosis Gastric Bypass is, as is also the original Mini Gastric Bypass, a quick to perform and low risk procedure with minimal post-operative complications experienced by the patients. Because of the minimum trauma associated with this procedure, the postoperative recovery period is in the region of 24 hours. The patients recover quickly and can resume their activities within two to three days. The weight loss that occurs subsequently, is not accompanied by nutritional or metabolic disturbances. This weight loss is maintained for more than two years (as demonstrated by the long-term follow-up of Mini Gastric Bypass patients) since the size of the gastric pouch and the site of intestinal anastomosis with the intestine (approximately 2 m from the angle of Treitz) is the same as in this procedure. The only change compared with Mini Gastric Bypass, the latero-lateral gastro-jejunal anastomosis, and results in conditions that diminish the contact and hence the chronic effect of biliopancreatic secretions on the gastric mucosa. Also, by using fibrin glue sealant on the one and only anastomosis that is performed, the risk of anastomotic leakage or fistula formation is reduced as low as possible.

References

1. Deitel M: Jejuno-colic and jejuno-ileal bypass: an historical perspective. In: *Surgery for the Morbidly Obese Patient*. M. Deitel, editor. Philadelphia. Lea & Febiger 1989, pp. 81-90.
2. Deitel M, Shahi B, Anand PK, Deitel FH, Cardinell DL: Long-term outcome in a series of jejuno-ileal bypass patients. *Obes Surg* 1993; 3:247-
3. Mason EE: Vertical banded gastroplasty for morbid obesity. *Arch Surg* 1982, 117:701-6.
4. Belachew M, Legrand M, Jacquet N: Laparoscopic adjustable silicone gastric banding in the treatment of morbid obesity: a preliminary report. *Surg Endosc* 1994, 8:1354-6.
5. Torres JC, Oca CF, Garrison RN: Gastric bypass Roux-en-Y gastro-jejunostomy from the lesser curvature. *South Med J* 1983, 76:1217-21.
6. De la Torre RA, Scott JS: Laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass: a totally intra-abdominal approach — technique and preliminary report. *Obes Surg* 1999, 9:492-8.
7. Scopinaro N, Gianetta E, Civalleri D, Bonalumi U, Bachi V: Bilio-pancreatic bypass for obesity: II. Initial experience in man. *Br J Surg* 1979, 66:618-20.
8. Paiva D, Bernardes L, Suretti L: Laparoscopic diversion for the treatment of morbid obesity: initial experience. *Obes Surg* 2000, 11:619-22.
9. Hess DS, Hess DW: Biliopancreatic diversion with a duodenal switch. *Obes Surg* 1998, 8:267-82.
10. Feng JJ, Gagner M: Laparoscopic biliopancreatic diversion with duodenal switch. *Semin Laparosc Surg* 2002, 9:125-9.
11. Mason EE, Ito C: Gastric bypass in obesity. *Surg Clin North Am* 1967, 47:1345-51.
12. Papasavas PK, Caushaj PF, McCormick JT, Quinlin RF, Hayetian FD, Maurer J, Kelly JJ, Gagne DJ: Laparoscopic management of complications following laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass for morbid obesity. *Surg Endosc* 2003, 17:610-4.
13. García-Caballero M: Adaptación intestinal: Factores tróficos y mecanismos celulares. *Cir Esp* 1995, 58:52-60.
14. Rutledge R: The mini-gastric bypass: experience with the first 1,274 cases. *Obes Surg* 2001, 11:276-80.
15. Bekavac-Beslin M, Halkic N: Gastric stump cancer after stomach resection due to peptic disease. *Chir Ital* 1996, 48:9-12.
16. Bassily R, Smallwood RA, Crotty B: Risk of gastric cancer is not increased after partial gastrectomy. *J Gastroenterol Hepatol* 2000, 15:762-5.

Alimentos funcionales

La expresión de IL-10 interviene en la regulación de la respuesta inflamatoria por los ácidos grasos omega 3

S. Sierra, F. Lara-Villoslada, M. Olivares, J. Jiménez, J. Boza y J. Xaus

Departamento de Inmunología y Estudios Preclínicos. Puleva Biotech. Granada.

Resumen

Objetivo o antecedente: Los ácidos grasos poliinsaturados son importantes para el organismo humano debido a su implicación en numerosas funciones biológicas. Las dietas occidentales se caracterizan por ser excesivamente ricas en ácidos grasos w-6 y pobres en ácidos grasos w-3.

Los ácidos grasos de la serie w-3 son necesarios para el normal crecimiento y desarrollo del individuo así como para la regulación de la respuesta inmunológica. El objetivo de este estudio es analizar el efecto de una dieta enriquecida en ácidos grasos w-3 frente a un proceso inflamatorio así como el estudio de los mecanismos implicados en dicho efecto.

Intervenciones: Para ello, ratones Balb/c fueron alimentados durante un mes con una dieta cuya fuente lipídica era 100% aceite de girasol (control), o con la misma dieta en la que el 12% de la grasa era aceite de pescado y el resto aceite de girasol (W-3). Doce horas antes de su sacrificio se indujo en una de las orejas de cada animal una dermatitis de contacto que cursó con inflamación y edema. Como agente inflamatorio se utilizó 2,4 dinitrofluorobenceno. Tras el sacrificio se tomaron diversas muestras y se analizaron.

Resultados: La inflamación, medida como peso y contenido de agua de las orejas, disminuyó significativamente en los ratones alimentados con w-3. La medida de la infiltración leucocitaria y los parámetros de oxidación revelaron también la mejora en el proceso inflamatorio de dichos ratones. Para explicar estos hechos se analizó la expresión de diversas citocinas, observándose un incremento de IL-10 y una disminución de citocinas tanto Th1 como Th2.

Conclusiones: Los ácidos grasos w-3 poseen un efecto inmunomodulador al actuar como antiinflamatorios y antialérgicos, al tiempo que aumentan algunas defensas del organismo. La citocina reguladora IL-10 podría ser la responsable del efecto antiinflamatorio ejercido por los ácidos grasos w-3.

(*Nutr Hosp* 2004, 19:376-382)

Palabras clave: Ácidos grasos poliinsaturados. Inflamación. Organismo.

Correspondencia: J. Xaus.

Departamento de Inmunología y Estudios Preclínicos.

Puleva Biotech.

Camino de Purchil, 66. 18004 Granada.

E-mail: jxaus@pulevabiotech.es

Recibido: 21-I-2004.

Aceptado: 13-II-2004.

IL-10 EXPRESSION IS INVOLVED IN THE REGULATION OF THE IMMUNE RESPONSE BY OMEGA 3 FATTY ACIDS

Abstract

Introduction: Polyunsaturated fatty acids play a key role in a huge number of biological functions. Western diets are highly rich in w-6 fatty acids. However the content of w-3 fatty acids is not suitable in those diets, despite of their importance in normal development of the human body and regulation of immune response.

The aim of this work is to examine the effect of w-3 fatty acids enriched diet in the regulation of inflammatory response.

Material and methods: Balb/c mice were fed either w-6 fatty acids rich diet (100% sunflower oil) or w-3 fatty acids fortified diet (12% fish oil plus 88% sunflower oil) during 28 days. Twelve hours prior to sacrifice, the mice were treated with 2,4-dinitro-1-fluorobenzene on the left ear to induce the inflammatory reaction. Afterwards the mice were sacrificed and the different samples collected were analyzed.

Results: Ear inflammation of mice fed the w-3 diet was significantly lower. Leukocyte infiltration and oxidative stress were also lower in those mice. To explain these results, cytokine expression and plasma eicosanoid concentration were measured. An increase in IL-10 levels and a down regulation of Th1 and Th2 responses were observed in mice fed the w-3 diet.

Conclusion: Not only n-3 fatty acids exerts an anti-inflammatory and an antiallergical role but also they enhance some of the organism defenses.

Our data suggest that w-3 fatty acids downregulate the inflammatory response by enhancing IL10 expression.

(*Nutr Hosp* 2004, 19:376-382)

Key words: Polyunsaturated fatty acids. Antiinflammatory. Organism.

Introducción

El sistema inmunológico está involucrado en la defensa del organismo frente a agentes extraños, células tumorales y agresiones externas. Un elevado número de órganos, células, tejidos y moléculas interactúan para llevar a cabo esta misión.

El desarrollo, mantenimiento y óptimo funcionamiento del sistema inmunológico depende de la dieta entre otros factores. Entre los nutrientes que más afectan al sistema inmunológico destaca la grasa cuya deficiencia o desequilibrada aportación así como la calidad de la misma comprometen la estabilidad del sistema inmunológico¹.

La relación entre ácidos grasos e inflamación se debe principalmente al componente fosfolípido de las células del sistema inmunológico. Los ácidos grasos incorporados en la membrana de las mismas pueden afectar a las funciones de ésta y por tanto al funcionamiento celular. Los fosfolípidos de membrana son responsables de la fluidez de la misma, que afectará a los diferentes componentes anclados en ella. Diversas señales intracelulares parten de estos fosfolípidos y su composición, por tanto, afecta diferentes vías de transducción de señales. Además, los ácidos grasos sintetizados a partir de los fosfolípidos, son sustratos para la síntesis de un grupo de mediadores, los eicosanoides, de marcada importancia biológica².

Actualmente, el interés por el estudio de los ácidos grasos es creciente, y cobra importancia la influencia de ellos sobre la respuesta inmunológica. Dicho interés se ha centrado en el estudio de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPI-CL), procedentes de las familias w-6 y w-3, cuyos precursores, ácidos linoléico y α -linoléico, son esenciales, debiendo ser ingeridos con la dieta, así como se recomienda también incluir en ella algunos de sus derivados, como el ácido eicosapentaenoico (EPA), docosahexaenoico (DHA) y araquidónico (AA), ya que a través de las vías metabólicas, por elongación de sus precursores, no se alcanzan los niveles adecuados³.

En individuos que consumen dietas occidentales, las células inflamatorias contienen elevadas proporciones de AGPI-CL de la serie w-6, especialmente de AA y bajas proporciones, sin embargo, del EPA de la serie w-3⁴. El principal papel de AA es actuar como sustrato para la síntesis de mediadores bioactivos del tipo eicosanoides. Estos están implicados en modular la duración y la intensidad de la respuesta inflamatoria. Los derivados del AA, como TXA₂ y LTB₄, son potentes agentes con un marcado efecto inflamatorio. El TXA₂ tiene efecto vasoconstrictor y proagregante mientras que el LTB₄ es un potente agente quimiotáctico⁵. Además, la PGE₂ induce fiebre, aumenta la permeabilidad vascular y la vasodilatación, al tiempo que la producción de IgE por células B.

El aumento del consumo de los ácidos grasos w-3 conlleva una disminución del AA en las membranas de las células inflamatorias disminuyéndose así su ca-

pacidad para sintetizar a partir de la COX y la LOX eicosanoides derivados del AA. Además de inhibir el metabolismo del AA, el EPA inhibe la oxigenación del AA por la COX, y suprime la inducción de ciertas citocinas que actúan sobre la expresión génica de la COX-2 y la 5-LOX. También es capaz de actuar como sustrato de la COX y la 5-LOX, dando lugar a eicosanoides considerados biológicamente menos activos⁵. Todo esto lleva a la idea de que el aceite de pescado tiene propiedades antiinflamatorias. El consumo en individuos sanos de una proporción adecuada de los ácidos grasos w-6 y w-3 llevaría a una mejor regulación de la respuesta inmunológica, y el consiguiente incremento de la proporción de los ácidos grasos w-3 resultaría beneficioso para sujetos que padezcan enfermedades autoinmunes o inflamatorias por el efecto antiinflamatorio de los mismos¹.

No solo estos mecanismos están involucrados en el efecto antiinflamatorio sino que actualmente se está conociendo su implicación a nivel de vías de señalización como NFkB, MAPK o PPAR y LXR⁶. La actuación a través de estos dos últimos receptores abre un nuevo campo de investigación y una mayor gama de aplicaciones de los ácidos grasos w-3 debido a la localización y función de los mismos.

El presente estudio trata de poner de manifiesto el efecto antiinflamatorio de los ácidos grasos w-3 y los mecanismos implicados, midiendo parámetros inmunológicos que permitan comprobar su efecto a nivel sistémico, y analizando el curso de una inflamación inducida para determinar su actuación a nivel local.

Material y métodos

Reactivos y anticuerpos

La concanavalina A (Con A) y el lipopolisacárido (LPS) fueron proporcionados por Sigma Chemical Co (St Louis, Mo). Para medir inmunoglobulinas se utilizaron anticuerpos proporcionados por Bethyl (Montgomery TX) y en el caso de las citocinas por Biosource (Camarillo, CA). La peroxidasa de rábano, el bromuro de hexadeciltrimetilamonio, el clorhidrato de o-dianisidina y el peróxido de hidrógeno para la medida de actividad mieloperoxidasa así como el ácido tricloroacético, el β -NADPA, el 5,5-ditio-bis (2-ácido nitrobenzoico) y el glutatión fueron también adquiridos en Sigma. La glutatión reductasa fue suministrada por Roche. Se empleó agua desionizada purificada con un sistema Millipore Milli-Q (Bedford, MA).

Animales y dietas

Ratones macho Balb/c al destete de tres semanas de edad fueron proporcionados por la Universidad de Granada. Se les mantuvo durante todo el experimento a una temperatura controlada de 22° C y bajo un ciclo de luz de 12 horas. El experimento global fue llevado a cabo 3 veces con resultados similares.

Todos los estudios animales que se realizaron se llevaron a cabo según las Normas de Ética Animal fijadas en los Criterios de Helsinki.

El experimento consta de 2 grupos de ratones ($n = 10$) alimentados durante 28 días con dietas base iguales y cuya diferencia radica en el tipo de grasa incluida. Ambas contienen el 5% de grasa del total de la dieta. Este 5% de grasa está constituido por aceite de girasol en el caso del grupo usado como control. En el caso de la dieta w-3, el 12% del contenido total de grasa es aceite de pescado refinado, mientras que el resto de la grasa es el mismo aceite de girasol del grupo anterior. Ambas dietas fueron elaboradas de manera específica siguiendo las recomendaciones de la Academia Americana de Veterinaria para Nutrición Animal. De este modo se prepararon dietas semisintéticas incluyendo en las mismas el 5% de grasa, 21,3% de proteína, 67,5% de hidratos de carbono, 5,2% de fibra y el 1% restante de una mezcla de vitaminas y minerales.

Las dietas fueron conservadas en atmósfera de argón y administradas diariamente a los ratones para evitar la oxidación de los AGPI-CL. A lo largo del estudio se llevó a cabo un control del peso y aspecto.

Doce horas antes del sacrificio se indujo una dermatitis de contacto en una de las orejas de cada ratón. El agente irritante usado fue el 2,4-dinitro-1-fluorobenceno al 0,5% en una solución de acetona: aceite de oliva 4:1. Se utilizaron de esta solución 80 μ l que se pusieron en cada oreja⁷.

El sacrificio se realizó por medio de una inyección intraperitoneal de pentotal sódico (50 mg/kg) y seguidamente la sangre fue extraída por punción cardíaca en tubos que contenían EDTA (60 mg/ml). La sangre se centrifugó (3.500 rpm) 10 minutos a 4° C y las alícuotas de suero fueron recogidas y almacenadas a -80° C.

Procesamiento de las orejas

Ambas orejas de cada ratón fueron pesadas en balanza de precisión. La mitad de ellas fueron introducidas durante 24 horas en una estufa a 60° C y posteriormente se analizó su peso seco y su consiguiente contenido de agua. La mitad restante, se homogeneizó independientemente en tampón HITAB (Bromuro de hexadeciltrimetilamonio) a la proporción de 1/20 para proceder a la medida de glutatión total y de actividad mieloperoxidasa. Dichas medidas se realizaron según lo descrito anteriormente^{8,9}.

Cultivo de células

Los bazo de cada ratón se extrajeron y cultivaron como se ha descrito anteriormente¹⁰. La médula ósea de los fémur y las tibias de cada ratón fueron extraídos por inyección de medio y cultivadas, previa diferenciación, según se ha descrito con anterioridad¹¹.

Ensayo de proliferación

Los linfocitos derivados de bazo fueron cultivados en placas de 24 pozos (2×10^6 células/pozo) con 500 μ l de medio e incubados en presencia o ausencia de Con A (5 μ g/ml) o LPS (50 μ g/ml). Timidina tritiada (Amersham Biosciences, Arlington Heights, IL) a la concentración de 1 μ Ci/ml fue añadida a cada pozo. La incorporación de timidina tras 48 horas fue analizada como se ha descrito anteriormente¹¹. Las medidas se realizaron por duplicado y fueron representadas como la media $\pm$ SD.

Producción de citocinas

Los linfocitos de bazo fueron cultivados en placas de 6 pozos (5×10^6 células/ml) con 5 ml de medio y fueron estimulados con Con A y LPS a las mismas concentraciones usadas en el ensayo de proliferación. Tras 48 horas se recogieron los sobrenadantes. El sedimento fue lisado con 1 ml de trizol para posterior extracción de RNA. En el caso de los macrófagos, estos fueron cultivados en placas de 6 pozos (3×10^6 células/pozo) y estimulados con LPS (100 ng/ml). Tras 24 horas se recogió el sobrenadante y se lisaron los sedimentos celulares.

Los niveles de IgA, IgE, e IgG₁, fueron determinados en suero. La concentración de IL-10, TNF α , e IL-2 fue medida en sobrenadante de bazo y de macrófagos por ELISA siguiendo las instrucciones del fabricante.

Análisis estadístico

El grado de significación estadística entre los grupos fue determinado por el test de la *t*-Student a dos colas y con varianzas iguales entre las muestras ($p < 0,05$). Los resultados han sido expresados como la media $\pm$ SD.

Resultados

Los animales fueron controlados durante el mes que duró el experimento observándose una conducta y aspecto normales. Se comprobó que la evolución en el crecimiento era la adecuada y que no existían diferencias entre los dos grupos. No existió tampoco ningún tipo de anomalías con respecto a la cantidad, consistencia y aspecto de las heces, siendo el contenido de agua de las mismas similar en ambos grupos.

Con el objetivo de evaluar los efectos de los ácidos grasos w-3 en los roedores se estudiaron diversos parámetros sistémicos que pudiesen aportar información de cómo estos modulan el sistema inmunológico y por tanto, aclarar sus posibles mecanismos de acción.

Las citocinas son un grupo muy diverso de moléculas producidas por células en respuesta a una gran variedad de estímulos y que son capaces de alterar de alguna manera el comportamiento de otras células. Es el

caso de la IL-10, una interleucina de tipo regulador que media la denominada respuesta Th3. En este estudio se tomaron suero, sobrenadante de cultivo de linfocitos y sobrenadante de macrófagos y se determinó por ELISA los niveles de dicho mediador, descubriéndose un aumento significativo en el grupo de ratones alimentados con ácidos grasos w-3 en la producción de IL-10 por parte de macrófagos ($94,7 \pm 57,8$ vs $126,5 \pm 37,6$ pg/ml, $p = 0,05$) y linfocitos ($31,56 \pm 5,51$ vs $61,29 \pm 29,08$ pg/ml $p = 0,045$) al ser las células estimuladas (fig. 1).

Como consecuencia del incremento de IL-10 se observó la disminución de citocinas de tipo Th1, como por ejemplo la IL-2 liberada por linfocitos ($332,83 \pm 197,86$ vs $181,61 \pm 137,1$ pg/ml, $p = 0,05$) (fig. 2A). El descenso en los niveles de esta interleucina llevó a la disminución significativa de la proliferación de linfocitos B en el grupo de ratones tratados con w-3 ($7.300 \pm 2.873,55$ vs $4.681 \pm 2.243,35$ cpm, $p = 0,04$) y a una reducción de la proliferación de los linfocitos T ($7.622,6 \pm 3.692,8$ vs $5.048,4 \pm 2.507,07$ cpm, $p = 0,07$) señalando ya un posible efecto supresor de los ácidos grasos w-3 sobre el sistema inmunológico (fig. 2B). Este dato se correlacionó también con una tendencia a disminuir el tamaño del bazo expresado como mg bazo/g ratón ($5,72 \pm 1,36$ vs $4,7 \pm 0,54$, $p = 0,08$).

Esta disminución en el número de linfocitos debe tener una repercusión drástica sobre el sujeto debido al papel fundamental de estas células en la defensa del organismo. Por tanto, otras citocinas liberadas por estas células podrían estar alteradas. También el efecto de la IL-10 debería haber recaído sobre los macrófagos por lo que para comprobar si se producía dicha correlación se procedió a medir algunos de estos mediadores como, por ejemplo, el TNF α ($5.306 \pm 0,51$ vs $3.831 \pm 0,82$ ng/ml, $p = 0,06$) (fig. 2C).

Además de la disminución de la respuesta tipo Th1, también observamos que la dieta rica en w-3 ejercía

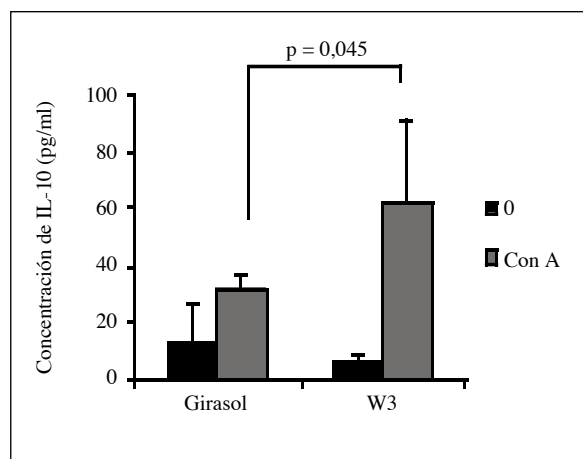


Fig. 1.—El consumo de ácidos grasos w-3 induce la expresión de IL-10. Niveles de IL-10 en sobrenadante de cultivo de bazo sin estimular o estimulado con concanavalina A (Con A).

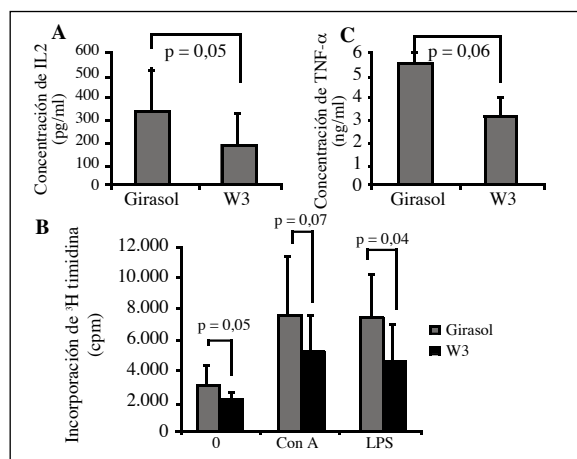


Fig. 2.—La dieta w-3 reduce la respuesta Th1 en linfocitos y macrófagos. (A) Niveles de IL-2 en el sobrenadante de linfocitos obtenidos en los ratones alimentados con la dieta control (girasol) o rica en w-3 estimulados con Con A. (B) Proliferación de linfocitos obtenidos del bazo de ratones alimentados con la dieta control (girasol) o rica en w-3 estimulados con LPS o Con A. (C) Niveles de TNF α en el sobrenadante de macrófagos obtenidos de los ratones alimentados con la dieta control (girasol) o rica en w-3 estimulados con LPS.

un efecto inhibitor de la respuesta Th2 como se observa por la disminución de los niveles plasmáticos de IgE ($291,7 \pm 53,06$ vs $176,04 \pm 71,4$ ng/ml, $p = 0,06$) e IgG ($802,31 \pm 228,1$ vs $392,01 \pm 191,3$ μ g/ml, $p = 0,05$) (fig. 3A,B) o de IL-4 e histamina (datos no mostrados).

A pesar de la disminución generalizada de la respuesta inmunológica, los ratones alimentados con w-3 no experimentaron síntomas de debilidad ni predisposición a la infección. Esto puede ser debido al incremento en estos animales de parámetros relacionados con la defensa natural del organismo como pueden ser los niveles de IgA séricos ($208,23 \pm 100,3$ -vs $572,26$

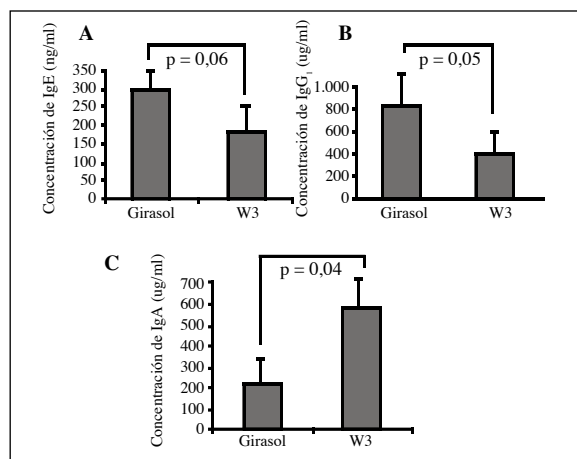


Fig. 3.—Los ácidos grasos w-3 disminuyen la respuesta Th2. Niveles de IgE (A), IgG₁ (B) o IgA (C) en sueros de ratones alimentados con cada una de las dietas.

$\pm 135,01 \mu\text{g/ml}$, $p = 0,04$) (fig. 3C), expresión de iNOS y la producción de NO por los macrófagos (datos no mostrados).

Todos estos resultados sugieren un papel antiinflamatorio de los ácidos grasos w-3. Para reafirmar dicho papel se empleó en estos mismos ratones un modelo de dermatitis de contacto donde intervienen tanto la respuesta Th1 como la Th2. Se llevó a cabo en las orejas, y el análisis de las mismas aportó información sobre el curso de la inflamación y sobre las consecuencias palpables de la administración de ácidos grasos w-3.

Tras la inducción de la dermatitis de contacto, las orejas fueron cortadas y rápidamente se analizaron sus pesos, observándose un mayor incremento de peso debido a la formación del edema, con respecto a la sana, en los ratones cuyas dietas contenían aceite de girasol solamente ($168,041 \pm 20,16$ vs $113,024 \pm 11,9$ expresado en %, $p = 0,0003$) (fig. 4A); su peso seco se determinó viéndose que en ambos grupos se adquirirían valores semejantes y que, por tanto, el incremento de peso experimentado, es exclusivamente debido a la extravasación de líquidos y a la migración de células hacia el foco inflamatorio. Se evaluó el contenido de líquido de las orejas, comprobándose que también era muy superior en el grupo de ratones alimentados con ácidos grasos w-6 ($19,4 \pm 4,5$ vs $3,94 \pm 2,92$ mg, $p = 0,002$) (fig. 4B).

Se determinaron otros parámetros que aportasen más datos sobre el curso del proceso inflamatorio. En este sentido, el glutatión de las orejas de los ratones que consumieron dietas ricas en ácidos grasos w-3, era significativamente superior al del grupo control ($61,04 \pm 4,5$ vs $123,69 \pm 24,2$ expresado en %, $p = 0,02$) (fig. 4C).

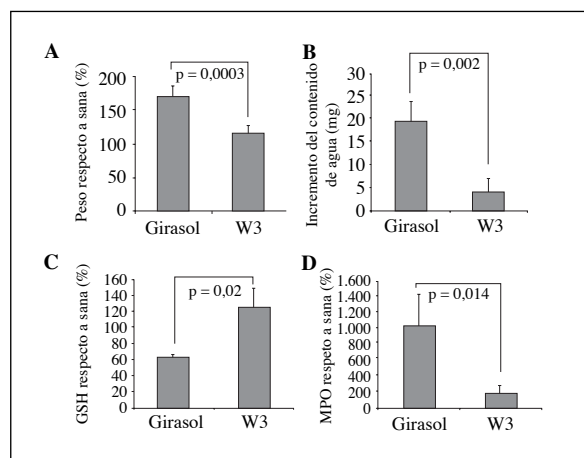


Fig. 4.—El consumo de w-3 disminuye la inflamación en un modelo de dermatitis de contacto. (A) Incremento de peso de la oreja enferma con respecto a la sana. (B) Contenido de líquido de la oreja enferma con respecto a la sana durante el edema. (C) Incremento de GSH de la oreja sana con respecto a la enferma. (D) Incremento de infiltración leucocitaria medido como MPO de la oreja enferma con respecto a la sana.

La mayor gravedad de la inflamación también fue corroborada con la medida de la actividad mieloperoxidasa. Esta enzima está presente en los gránulos de los neutrófilos y cataliza la producción de HClO, constituyendo un marcador sensible de infiltración de neutrófilos y de inflamación. Se observó una mayor infiltración leucocitaria en las orejas inflamadas de ratones que habían consumido aceite de girasol ($163,19 \pm 52,9$ vs $1.009,74 \pm 404,69$ expresado en %, $p = 0,014$) (fig. 4D).

Todos estos resultados indican que la incorporación a la dieta de los ácidos grasos w-3 produce una regulación del sistema inmunológico que hace que el individuo esté menos predispuesto a padecer procesos inflamatorios. La modificación de un gran número de parámetros sistémicos entre los que destaca el incremento de la IL-10, podrían ser los responsables de la protección ejercida por los ácidos grasos w-3 de la dieta.

Discusión

Entre los ácidos grasos, los de la serie w-3 parecen ser los de mayor actividad inmunomoduladora y dentro de los w-3, son los derivados del pescado, EPA y DHA, los biológicamente más activos⁴. Numerosos experimentos en animales y estudios de intervención clínica indican que los ácidos grasos w-3 poseen propiedades antiinflamatorias y que por tanto podrían ser útiles en el tratamiento de enfermedades inflamatorias, y autoinmunes.

La primera evidencia de la importancia de incluir ácidos grasos w-3 en la dieta a nivel de inflamación, surgió por observaciones epidemiológicas de la baja incidencia de enfermedades autoinmunes e inflamatorias en los esquimales de Groenlandia. Poco más tarde se producía un periodo de expansión en el conocimiento de los PUFA en general, y de los w-3 en particular⁴.

Actualmente se sabe que los ácidos grasos w-3 son esenciales para el normal crecimiento y desarrollo del individuo y que juegan un papel clave en la prevención y tratamiento de enfermedades cardiovasculares, hipertensión o artritis entre otros⁴.

Desafortunadamente, en las dietas occidentales predomina el consumo en exceso de ácidos grasos w-6, metabólicamente distintos a los w-3 y con funciones fisiológicas generalmente opuestas. Este desequilibrio contribuye al aumento en la incidencia de problemas cardiovasculares y desórdenes inflamatorios⁴. Por todo ello, se convierte en un reto para numerosos científicos, el demostrar y dar explicación al efecto antiinflamatorio de los ácidos grasos w-3.

Nuestros resultados sugieren que los ácidos grasos w-3 disminuyen la proliferación de linfocitos probablemente debido al efecto que ejercen sobre la producción de IL-2 y otras citocinas implicadas en la proliferación y diferenciación linfocitaria. Estos mismos resultados han sido encontrados por numerosos estu-

dios en animales de experimentación^{12,13}. En estudios clínicos en humanos donde se incluyeron ácidos grasos w-3 también se han analizado estos parámetros, encontrándose disminución de proliferación de linfocitos, aunque en este caso sin afectarse los niveles de IL-2¹⁴. Sin embargo, los resultados aportados por los estudios en humanos son conflictivos, encontrándose algunos trabajos, incluso del mismo grupo, donde no se modifica¹⁵ o hasta se aumenta¹⁶ la proliferación de linfocitos. Estas diferencias pueden ser debidas a: Las dosis de ácidos grasos probados en estudios humanos no se pueden comparar con las elevadas dosis administradas en animales; los preparados de aceite de pescado que se utilizan en los diferentes estudios varían sus concentraciones de EPA y DHA pudiendo variar también los efectos, y por último la mayoría de los estudios humanos no han sido lo suficientemente consistentes para tener en cuenta la gran variación en algunos parámetros de la respuesta inmunológica.

Los ácidos grasos w-3, además de disminuir la producción de la citocina IL-2, disminuye otra serie de citocinas también Th1, como son la IL-1 β y el TNF α producidas por macrófagos. En humanos sanos, los niveles de ambas citocinas también son regulados por los ácidos grasos w-3¹⁷ sugiriéndose que el efecto antiinflamatorio podría estar mediado por la modulación ejercida sobre estas citocinas.

Respecto a la respuesta Th2, nuestro estudio demuestra también una disminución de la misma puesto que hemos observado una reducción de los niveles séricos de histamina, IgE e IgG₁, así como de citocinas Th2 como la IL-4. Hay diversas evidencias epidemiológicas que apoyan el papel protector de los ácidos grasos w-3 en enfermedades de tipo alérgico. Sin embargo, estudios usando suplementos de pescado en asma revelan un escaso impacto clínico a pesar de los cambios bioquímicos significativos que se producen¹⁸. Aún así, se están realizando nuevos estudios en asma y otras atopias con el fin de mejorar el curso de la enfermedad.

Diversos autores defienden otro tipo de ácidos grasos diferentes a los w-3 por pensar que pudiese llegar a un estado de inmunosupresión que dejase al individuo desprotegido y comprometiese su estado de salud¹⁹. Sin embargo, nuestros resultados sugieren que los ácidos grasos w-3 son capaces de potenciar algunas defensas del organismo, como por ejemplo la inmunoglobulina A, cuyo incremento puede estar también potenciado por el aumento de IL-10 que induce el cambio de isotipo de las inmunoglobulinas. En este estudio también se observa el incremento en la expresión de iNOS en macrófagos que supondría una ayuda frente a un ataque externo.

En nuestra opinión, el resultado más relevante y novedoso de este estudio es el incremento de la citocina reguladora IL-10, la cual podría ser considerada responsable del efecto antiinflamatorio de los ácidos grasos w-3, así como del antialérgico, ya que el poder inmunosupresor de dicha citocina podría disminuir las respuestas tanto Th1 como Th2.

Diversos estudios, como los realizados en modelos de pancreatitis experimental²⁰ donde se aplicó nutrición parenteral con aceite de pescado, coinciden en que los ácidos w-3 inducen un incremento de los niveles de IL-10. Sin embargo, otros autores no observan diferencias²¹ o incluso perciben una disminución de la IL-10²² en otros modelos. Sería recomendable profundizar en este hecho para tratar de concretar el papel de la IL-10 en el mecanismo de acción de los ácidos grasos w-3 por lo que estudios con Knock-out para IL-10 están previstos realizarse en nuestros laboratorios.

El modelo de dermatitis de contacto empleado en este estudio, permite la observación a simple vista del efecto antiinflamatorio de la dieta enriquecida en ácidos grasos w-3. Los valores del peso de las orejas y del contenido de agua de las mismas ya refleja el claro efecto antiinflamatorio del aceite de pescado. Que el peso y el contenido de agua de las orejas inflamadas de ratones alimentados con w-3 fuese menor era indicativo de que en dicho grupo la vasodilatación había sido menos drástica y por tanto el edema más leve. Estudios japoneses confirman estos efectos en un modelo similar, atribuyendo en ese caso el efecto al mayor poder del DHA⁷. Un estudio semejante, usando esteres de phorbol (TPA) como agente irritante, también señala el poder antiinflamatorio, en este caso por igual, de DHA y EPA²³.

La medida de MPO pone de manifiesto una menor infiltración leucocitaria con el tratamiento de ácidos grasos w-3. La migración de leucocitos desde la microvasculatura hasta el foco de la lesión donde se acumulan, es un paso clave característico de la inflamación aguda^{23,7}. Los ácidos grasos w-3 parecen poseer un importante papel a este nivel ya que en dicho grupo apenas se percibe el fenómeno.

Los radicales libres asociados a la inflamación llevan a estrés oxidativo, involucrado en el agravamiento de numerosas enfermedades. El glutatión es un tripéptido de elevada capacidad antioxidante al que recurre el organismo para la neutralización de los radicales libres. En las orejas de ratones donde se indujo la dermatitis de contacto los niveles de glutatión disminuyen significativamente al hacer frente al estrés oxidativo generado. Sin embargo, en el grupo w-3 esta disminución está reducida o compensada ya que al ser el daño menor, su efecto antioxidante no es tan requerido. Estos resultados podrían sugerir que los ácidos grasos w-3 aumenten los niveles de glutatión, pero, al analizarse el contenido de glutatión en el hígado de todos los roedores no se observaron diferencias. Sin embargo, sí que existen estudios que relacionan el consumo de ácidos grasos w-3 con un incremento en las defensas antioxidantes^{24,25}.

Podemos concluir atribuyéndoles a los ácidos grasos w-3 un potente papel antiinflamatorio donde el aumento de la IL-10 parece ser el factor desencadenante de una serie de modificaciones en la respuesta inmunológica que llevan a dicho efecto. La disminución de la proliferación de linfocitos y de las respuesta de tipo

Th1 y Th2 son algunas de estas modificaciones. El estudio del efecto de los ácidos w-3 a nivel de vías de transducción de señales se hace imprescindible para terminar de dar explicación a la gran actividad de estos compuestos, no solo a nivel de inflamación sino también a nivel de alergia.

Referencias

1. Kelley D: Modulation of human immune and inflammatory responses by dietary fatty acids. *Nutrition* 2001, 17(7/8):669-673.
2. Calder PC: n-3 Polyunsaturated fatty acids and inflammation: from molecular biology to the clinic. *Lipids* 2003, 38:323-352.
3. Harbige LS: Fatty acids, the immune response, and autoimmunity: a question of n-6 essentiality and the balance between n-6 and n-3. *Lipids* 2003, 38:323-341.
4. Simopoulos AP: Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. *J Am Coll Nutr* 2002, 21 no.6:495-505.
5. Calder PC: Fat chance of immunomodulation. *Trends Immunol* today 1996, 19, no 6:244-247.
6. Yaqoob P: Lipids and the immune response: from molecular mechanism to clinical applications. *Curr Opin Nutr Metab Care* 2003, 6:133-150.
7. Tomobe YI, Morizawa K, Tsuchida M, Hibino H, Nakano Y, Tanaka Y: Dietary docosahexaenoic acid suppresses inflammation and immunoresponses in contact hypersensitivity reaction in mice. *Lipids* 2000, 35, no. 1:61-69.
8. Anderson ME: determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples. *Meth Enzymol* 1985, 113:548-555.
9. Krawisz YE, Sharon P, Stenson WF: Quantitative assay for acute intestinal inflammation based on myeloperoxidase activity. Assessment of inflammation in rat and hamster models. *Gastroenterology* 1984, 87:1344-1350.
10. Kelley DS, Warren JM, Simon VA, Bartolini G, Mackey BE, Erickson KL: Similar effects of c9,t11-CLA and t10,c12CLA on immune cell functions in mice. *Lipids* 2002, 37:725-728.
11. Xaus J, Cardó M, Vellador AF, Soler C, Lloveras J, Celada A: Interferon gamma induces the expression of p21^{waf1} and arrests macrophage cell cycle preventing induction of apoptosis. *Immunity* 1990, 2:103-113.
12. Peterson LD, Thies F, Sanderson P, Newsholme EA, Calder PC: Low levels of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids mimic the effect of fish oil upon rat lymphocytes. *Life Sci* 1998, 62(24):2209-2017.
13. Peterson LD, Jeffery NM, Thies F, Sanderson P, Newsholme EA y Calder PC: Eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids alter rat spleen leukocyte fatty acids composition and prostaglandin E2 production but have different effects on lymphocyte function and cell-cell mediated immunity. *Lipids* 1998, 33(2):171-180.
14. Thies F, Neve-von-Caron G, Powell JR, Yaqoob P, Newsholme EA, Calder PC: Dietary supplementation with gamma-linolenic acid or fish oil decreases T lymphocyte proliferation in healthy older human. *J Nutr* 2001, 131(7):1918-1927.
15. Kew S, Benerjee T, Minihane AM, Finnegan YE, Muggli R, Albers R, Williams CM, Calder PC: Lack of effect of foods enriched with plant-ormarine-derived n-3 fatty acids on human immune functions. *Am J Clin Nutr* 2003, 77(5):1287-1295.
16. Trebble TM y cols.: Prostaglandin E2 production and T cell function after fish oil supplementation: response to antioxidant cosupplementation. *Am J Clin Nutr* 2003, 78(3):376-382.
17. Endres S y cols.: The effect of dietary supplementation with n-3 fatty acids on the synthesis of interleukin-1 and tumor necrosis factor by mononuclear cells. *N Engl J Med* 1989, 320(5):265-271.
18. Calder PC, Yaqoob P, Thies F, Wallace FA y Miles EA: Fatty acids and lymphocyte functions. *Brit J Nutr* 2002, 87 Suppl. 1, S31-S48.
19. Puertollano MA, De Pablo M, Álvarez de Cienfuegos G: Antioxidant properties of N-acetyl-cysteine do not improve the immune resistance of mice fed dietary lipids to *Listeria monocytogenes* infection. *Clin Nutr* 2003, 22(3):313-319.
20. Foitzik T, Eibl G, Schneider P, Wenger FA, Jacobi CA, Buhr HJ: Omega-3 fatty acids supplementation increases anti-inflammatory cytokines and attenuates systemic disease sequelae in experimental pancreatitis. *Parenter Enteral Nutr*, 2002, 26(6):351-356.
21. Wallace FA, Miles EA, Calder PC: Comparison of the effects of linseed oil and different doses of fish oil on mononuclear cell function in healthy human subjects. *Br J Nutr* 2003, 89(5):679-681.
22. Hayashi y cols.: Effects of intravenous omega-3 and omega-6 fat emulsion on cytokine production and delayed type hypersensitivity in burned rats receiving total parenteral nutrition. *J Parenter Enteral Nutr* 1998, 22(6):363-367.
23. Raerlerstorff D, Pantze M, Bachmann H, Moser U: Anti-inflammatory properties of docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids in Phorbol-ester-induced mouse ear inflammation. *Int Arch Allergy Immunol* 1996, 111(3):284-290.
24. Jolly CA, Muthukumar A, Avula CP, Troyer D, Fernandes G: Life span is prolonged in food-restricted autoimmune-prone (NZBxNZW)F(1) mice fed a diet enriched with (n-3) fatty acids. *J Nutr* 2001, 131(10):2753-60.
25. Demoz A, Willumsen N y Berge RK: Eicosapentaenoic acid at hypotriglyceridemic dose enhances hepatic antioxidant defense in mice. *Lipids* 1992, 27(12):968-971.

CLÁSICOS EN NUTRICIÓN

Comentario al artículo

Observations on the etiologic relationship of achylia gastrica to pernicious anemia X. Activity of vitamin B₁₂ as food (extrinsic) factor

Berk L, Castle WB, Welch AD, Heinle RW, Anker R and Epstein M
***N Engl J Med* 1948; 239: 911-3**

R. de Paz Arias*, M. A. Canales* y F. Hernández-Navarro**

*Médico Adjunto. **Jefe del Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario "La Paz". Madrid.

Este artículo clásico hace referencia a la X observación, dentro de una serie de experimentos realizados por William Bosworth Castle (fig. 1). Castle, siendo joven estudiante de Medicina de la Universidad de Harvard, y posteriormente alumno interno del departamento de Medicina Interna del Boston City Hospital, elucida a través de sus observaciones y a lo largo de su trayectoria profesional, la patogénesis de la anemia perniciosa.

Hasta entonces se sabía que la anemia que aparecía en el curso de una gastritis atrófica era conocida como anemia perniciosa, denominación que fue hecha por Addison en 1855 y posteriormente corroborada por Biermer en 1872. En aquella época esta enfermedad evidenciaba un mal pronóstico pero todavía no se conocía su causa. El concepto clásico descrito por Addison de anemia perniciosa era:

“En los pacientes el rostro se vuelve pálido, el blanco de los ojos toma un color perlado, toda la superficie corporal presenta un color blanquecino y apariencia encerrada, los labios y la lengua parecen faltos de sangre, incrementa la flacidez de lo sólido, disminuye el apetito, se produce dificultad para respirar y taquicardia, aparecen ligeros edemas generalmente en los tobillos, la debilidad llega a ser extrema y el paciente llega a no poder levantarse de la cama, la mente ocasionalmente ausente, y llega a entrar en un tórpido estado de un largo morir.”

Pero ya adentrados en el siglo XX, este concepto continuaba sin aclararse y la anemia perniciosa conti-

Correspondencia: Raquel de Paz Arias.
Edif. Dotacional. Servicio de Hematología y Hemoterapia.
Hospital Universitario La Paz.
Paseo de la Castellana 261.
28035 Madrid.
E-mail: depazraquel@terra.es

Recibido: 15-III-2004.
Aceptado: 11-VII-2004.



Fig. 1.—William Bosworth Castle.

nuaba siendo una misteriosa y fatal enfermedad. Castle, en su época de estudiante y posteriormente alumno interno en el Massachusetts General Hospital, había visto morir a gente de esta enfermedad. Comenzó entonces a investigar en este sentido de la mano de Peabody y Minot. Peabody fue el primer director del Thorndike Memorial Laboratory en el Boston City Hospital donde Castle realizará sus primeros experimentos. Peabody y su sucesor Minot, dos buenos amigos, constituyen en aquella época, el centro de atención, por sus investigaciones, en el campo de la anemia perniciosa de Harvard en particular y de Boston en general.

Minot en 1928 en el Peter Bent Brigham, comenzó a administrar a sus pacientes un tipo de dieta enriquecida en hígado. W. Murphy colaborador de Minot, se encargaba de realizar contaje reticulínico seriado a estos pacientes, observando ambos que se producía crisis reticulínica en estos enfermos a los pocos días del inicio del comienzo de la dieta. Posteriormente el test reticulocitario realizado a pacientes durante los periodos de administración de sustancias concretas llegó a ser la base de numerosos ensayos clínicos que investigaban la fisiopatología de las anemias nutricionales.

En 1926, en la ciudad de Atlanta, siendo Peabody secretario de la Asociación Americana de Medicina, Minot cautivó la atención de los médicos con este experimento.

En los cuatro años siguientes, la amplia aceptación de la dieta de Minot y Murphy, basada en una dieta rica en hígado, disminuyó la mortalidad de esta enfermedad en un 50% en hombres y mujeres de raza caucásica, con edades comprendidas entre 55 y 64 años, pico de edad en el que previamente se había estimado una alta mortalidad.

Los esfuerzos en encontrar la terapia curativa de la anemia perniciosa marcaron el precedente del esfuerzo de Castle para encontrar la etiología de esta enfermedad.

Por esa época Castle contribuía aportando biopsias de médula ósea realizadas en tibia a los pacientes con esta enfermedad antes y después de ser sometidos a este tratamiento dietético. Mientras tanto Minot, con la ayuda de Edwin J. Cohn, profesor de fisico-química, continuó sus investigaciones, dirigidas a purificar el principio activo hepático que inicialmente se llamó Fracción G.

En la primavera de 1927, se crea un comité de expertos en anemia perniciosa, bajo la dirección de Walter B. Cannon en la Universidad de Harvard.

En diciembre del mismo año, Castle fue nombrado secretario del comité de anemia perniciosa. Simultáneamente, Minot fue llamado a Indianapolis para tratar a la señora J.K.Lilly, mujer del presidente de la compañía Eli Lilly, afecta de anemia perniciosa. Minot le administra el tratamiento dietético rico en extracto de hígado, que resulta curativo. Lilly aprovecha la ocasión para comercializar el extracto hepático, que elabora como presentación oral y que denomina "Lilly 343" de 12,5 g de peso, equivalente a 300 g de hígado de ternera.

En aquel momento Castle ya sabía que los pacientes con anemia perniciosa tenían asociado un cuadro de aquilia gástrica, aunque la relación fisiopatológica entre ambos aún no se conocía. Por aquel entonces se creía que la causa podía ser la ausencia del efecto antiséptico normalmente presente en el jugo gástrico sobre la flora bacteriana del intestino delgado, donde los nutrientes son normalmente absorbidos. Para Castle efecto beneficioso de la ingesta de extracto hepático parecía insuficiente para suplir el este efecto, como había descrito Hurst en 1924.

Al mismo tiempo Austin Flint en 1860 y Samuel Fenwick en 1870, observaron al microscopio la ausencia de pliegues gástricos de pacientes fallecidos por esta causa, coincidiendo ambos, en que la atrofia gástrica contribuye a la ausencia del proceso de digestión. Castle, entonces, plantea la siguiente hipótesis:

"El paciente con anemia perniciosa es incapaz de realizar al completo el proceso de digestión, causando deficiencia de una sustancia que permite el contacto de la comida con el estómago en el individuo normal."

Diseñó entonces, tres estudios: un primer test que evaluaba el proceso de digestión de estos pacientes; un segundo test que valoraba su metabolismo hepático y por último un tercer test que determinase ambos procesos.

Castle, en la primavera de 1927, inicia el ensayo en enfermos con anemia perniciosa en el laboratorio Thorndike. Comienza el experimento comiendo el propio Castle hamburguesa de ternera (supuestamente rica igualmente en sustancias similares a las del hígado), y posteriormente, a la hora de la ingesta, induciéndose el vómito a sí mismo, analizaría el jugo gástrico recuperado que describe como:

"Material semilíquido amarronado, con una buena cantidad de moco y un pH entre 4 y 5."

Castle añade a este material como denomina, ácido clorhídico hasta conseguir un pH entre 2,5 y 3,5; posteriormente lo incubaba durante un tiempo superior a 6 horas, filtrándolo luego a través de una fina capa de pH neutro al que añade hidróxido de sodio. Esta mezcla es administrada a cada uno de sus enfermos afectados de anemia perniciosa, a través de una sonda nasogástrica. Castle realiza al mismo tiempo un contaje reticulínico que contrasta con la respuesta clínica de los enfermos, observando crisis reticulínica aproximadamente al décimo día de inicio. Este experimento, repetido diariamente, contribuía a la mejoría clínica de estos pacientes. Sin embargo, este hecho contribuía con el paso de los días a que el propio Castle sufriera un empeoramiento progresivo de su estado general, debido fundamentalmente, al vómito que se provocaba diariamente, lo que llegó a alertar a sus colegas. Incluso su propio jefe, Peabody, alarmado por el estado de salud de Castle, ordenó continuar el experimento utilizando estudiantes de medicina voluntarios, a los que se les administraba una hamburguesa diaria y a la hora se

les inducía el vómito, recibiendo por ello una pequeña recompensa económica.

Castle concluyó, que la digestión de la carne de ternera generaba una sustancia semejante a alguna sustancia presente también en el hígado.

En mayo de 1928, Castle presentó estos experimentos en Washington donde se celebró la primera Reunión de la Sociedad Americana de Investigación Clínica. Posteriormente fueron publicados en el *American Journal of the Medical Science*.

El siguiente experimento de Castle consistió en establecer tres grupos de pacientes administrando diferentes dietas a cada uno de ellos: el primer grupo de pacientes recibió carne de ternera, sin jugo gástrico; el segundo grupo recibió jugo gástrico de pacientes sanos que no habían ingerido previamente carne de ternera; y un tercero grupo recibió una mezcla de carne y jugo gástrico de pacientes sanos. Observando, una ausencia de recuperación hematológica en los dos primeros grupos, y una clara crisis reticulínica en el tercero, demostrando así, la presencia de un principio eritropoyético en la mezcla obtenida.

Castle en ese momento piensa que tal vez, el contacto de las células de la mucosa gástrica con la carne ingerida pudiera contribuir a la secreción de alguna sustancia similar a la presente en el hígado.

Castle fue premiado por este experimento el 6 de octubre de 1933 con el denominado Warren Triennial Prize of Massachusetts General Hospital dotado con 500\$ que recibió de manos de Harvey Cushing en el 115 aniversario de la Universidad de Harvard.

Castle continuó sus experimentos volviendo a establecer tres grupos de pacientes. El primero de ellos recibió jugo gástrico procedente de personas sanas; un segundo grupo recibió jugo gástrico de personas sanas, las cuales habían sido sometidas a la ingesta de 200 g de carne hacía más de seis horas; y un tercer grupo, recibió la misma cantidad de carne, incubada durante 2 horas con ácido clorhídrico. Solamente en este último grupo se observó crisis reticulocitaria. Castle concluye:

“Creo que por primera vez la relación entre la función gástrica y la función de la médula ósea ha sido demostrada.”

Estas conclusiones son publicadas en 1930, en su III Observación, con el título de Etiología de la relación entre la anemia perniciosa y la aquilia gástrica.

Castle, sin embargo, continúa con la investigación de cuál puede ser el factor o factores que intervienen en los procesos que asocian ambos procesos. Por lo que continúa sus experimentos, y esta vez, administra carne incubada con saliva humana a un primer grupo; carne incubada con contenido duodenal a un segundo grupo; y carne incubada con jugo gástrico humano precalentado; y por último un cuarto grupo que recibió carne de ternera incubada con jugo gástrico humano durante un periodo de dos horas, observando únicamente en este grupo de pacientes crisis reticulocítica.

Castle plantea la siguiente hipótesis:

“El constituyente activo o factor intrínseco del estómago con toda probabilidad es secretado por la mucosa gástrica de las personas sanas, estando ausente en la saliva y en las secreciones duodenales así como en los enfermos con anemia perniciosa.”

Esta sustancia termolábil, necesita de una segunda sustancia, que denominó originalmente factor extrínseco y que se encuentra presente en el hígado y en la carne de ternera. De esta forma concluye:

“La ausencia de factor intrínseco en el contenido gástrico de los pacientes con anemia perniciosa es el defecto esencial del desarrollo de esta enfermedad.”

En mayo de 1929, Minot tituló el trabajo de Castle “El descubrimiento que marcó una época”, en el libro *The Interurban Clinical Club (1905-1976)*.

El 11 de junio de 1929 en Londres, Castle dirige una reunión en la Royal Society of Medicine en la cual resume sus experimentos y expone:

“En la diabetes mellitus el páncreas es el órgano el que falla y el defecto fisiológico tiene lugar en el metabolismo interno de los carbohidratos. En la anemia perniciosa el órgano defectuoso es el estómago y el mecanismo fisiopatológico es la ausencia de factor extrínseco.”

En 1932, de modo experimental³, se confirma que el déficit nutricional provocado en monos, conduce a un estado de anemia, leucopenia y trombopenia severas, siendo comparable este cuadro, con aquel que padecían los Indios nativos y que se denominaba “anemia macrocítica tropical” tratada con una levadura rica en vitamina B. En todo momento, se intenta correlacionar la actividad del jugo gástrico humano, ya que éste por sí sólo carece de actividad antianémica, con la función hematopoyética⁴, de forma que en conjunto se consiga una corrección del estado de anémico de estos pacientes⁵. En 1937 Miller, demuestra la presencia del factor extrínseco de Castle en la leche⁶. Pero también la levadura de Brewer's, administraba en grandes cantidades resulta de utilidad, atribuyendo por entonces sus efectos a su contenido en folatos⁷. Con posterioridad, se relaciona el factor extrínseco con el complejo vitamínico B⁸.

Por lo tanto, Castle, a lo largo de aproximadamente un cuarto de siglo, elucida la patogenia de la anemia perniciosa a través de sus observaciones. Este artículo histórico hace referencia a la número X donde Castle le pone nombre y apellidos, (vitamina B₁₂), al factor extrínseco implicado en la patogenia de la anemia de aquellos pacientes con aquilia gástrica⁹. El descubrimiento de Castle en 1948, puesto de manifiesto en este artículo, es que determinados alimentos como la carne de vacuno, los huevos y la leche poseen el factor anti-anémico, denominado originariamente “factor extrínseco”. En un primer momento, se

creía que el paciente con anemia perniciosa necesitaba ambos factores (intrínseco y extrínseco) para estimular la producción hepática del factor anti-anémico y que la unión de ambos factores no era estrictamente necesaria¹⁰. Con posterioridad, se observó que la ingesta de una dieta rica en hígado o carne de vacuno, era capaz de estimular la secreción de jugo gástrico, obteniendo una buena respuesta hematopoyética.

Castle en este artículo nos muestra como administrándole a un paciente con un cifra de 2.500.00 de hematíes, 1 centímetro cúbico de una solución oral que contiene extracto de hígado durante 10 días, se alcanza una respuesta reticulocitaria de un 3,4% y si esta misma dosis se repite durante 10 días más, la cifra de hematíes se eleva a 2.980.000.

En este mismo momento Smith aísla en el hígado la vitamina B₁₂ o factor anti-anémico hasta ahora así denominado, necesitando para ello cuatro toneladas de hígado para obtener un gramo de esta vitamina^{11,12}.

Castle entonces, administra diariamente a cuatro pacientes con anemia perniciosa, 5 microgramos de vitamina B₁₂ disuelta en 125 ó 150 centímetros cúbicos de solución salina, vía oral durante un primer periodo de 10 días. En los 10 días siguientes, administra a estos mismos pacientes similar cantidad de vitamina B₁₂, asociando esta vez 125 ó 150 centímetros cúbicos de jugo gástrico humano neutralizado. Realizando un estudio comparativo entre los dos métodos viene a demostrar que la actividad anti-anémica de la vitamina B₁₂ es potenciada por la administración simultánea de jugo gástrico.

Hoy se sabe, que las principales causas de anemia macrocítica son de carácter nutricional, debido a un déficit vitamínico que origina cambios megaloblásticos en la médula ósea, dando lugar a eritrocitos de gran tamaño¹³. Las causas más frecuentes de anemia de origen nutricional son, por un lado, el déficit de cobalamina o vitamina B₁₂ (cuya causa más frecuente, es la malabsorción) y, por otro lado, el déficit de ácido fólico (cuya causa más frecuente es la carencia en las dietas inadecuadas)¹⁴. Cuando se analiza la posible influencia de la dieta en la aparición de anemia megaloblástica, como consecuencia de un déficit vitamínico, hay que tener en cuenta que las reservas de cobalamina en el organismo son suficientes para subsistir de 3 a 5 años sin aporte, mientras que las de ácido fólico se agotan en 3-4 meses¹⁵.

Una vez conocidos los posibles déficits vitamínicos más importantes que pueden ser causa de anemia megaloblástica, hay que diferenciar que, por tradición, la anemia que aparece en el contexto de una gastritis atrófica se debe a un déficit de cobalamina, como consecuencia de la ausencia de FI y se conoce con

el nombre de anemia perniciosa, como se describe con anterioridad. Y que la causa más frecuente de ausencia de factor intrínseco es una alteración histológica y funcional de la mucosa gástrica conocida como gastritis atrófica.

En resumen, los experimentos que Castle llevó a cabo a lo largo de su trayectoria profesional, ayudaron a clarificar la patogénesis de la anemia perniciosa. Con sus observaciones, no sólo despertó el interés sobre otros déficits nutricionales, sino que contribuyó al desarrollo de la Hematología y de la investigación clínica de la Universidad de Harvard.

Referencias

1. Karnad AB. Intrinsic Factors. William Bosworth Castle and the development of Hematology and clinical investigation at Boston City Hospital. Harvard University Press, Boston, 1997.
2. Castle WB, Townsend WC. Observations on etiologic relationship of achylia gastrica to pernicious anemia. II. Effect of administration to patients with pernicious anemia of beef muscle after incubation with normal human gastric juice. *Am J M Sc* 1929, 178:764-777.
3. Wills L, Bilimoria HS. Production of a macrocytic anaemia in monkeys by deficient feeding. *J Med Res* 1932; 20:391.
4. Castle WB, Ham TH. Observations on etiologic relationship of achylia gastrica to pernicious anemia. V. Further evidence for essential participation of extrinsic factor in hematopoietic responses to mixtures of beef muscle and gastric juice and to hog stomach mucosa. *JAMA* 1936, 107:1456-1463.
5. Gessler CJ, Dexter SO, Adams MA, Taylor FHL. Observations on etiologic relationship of achylia gastrica to pernicious anemia. VIII. Further studies of proteolytic activity of normal human gastric juice *in vitro*: and limitations of method in pernicious anemia. *J Clin Investigation* 1940, 19:225-231.
6. Miller FR, Pitchard WH. Presence in the milk of extrinsic factor of Castle. *Proc Soc Exper Biol & Med* 1937, 37:149-152.
7. Wintrobe MM. The antianemic effect of yeast in pernicious anemia. *Am J M Sc* 1939, 197-286.
8. Castle WB y cols.: Extrinsic factor in pernicious anemia: ineffectiveness of purified casein and of identified components of vitamin B complex. *Science* 1944, 100:81-83.
9. Castle WB, Heath CW, Strauss MB. Observations on etiologic relationship of achylia gastrica to pernicious anemia. *Am J M Sc* 1931, 182:741.
10. Castle WB, Heath CW, Strauss MB, Heinle RW. Observations on etiologic relationship of achylia gastrica to pernicious anemia. VI. Site of interaction of food (extrinsic) and gastric (intrinsic) factors: failure of *in vitro* incubation to produce thermostable hematopoietic principle. *Am J M Sc* 1937, 194:618-625.
11. Rickes EL, Brink NG, Koniuszy FR y cols.: Crystalline vitamin B₁₂. *Science* 1948, 107:396-397.
12. Smith EL. Purification of anti-pernicious anemia factors from liver. *Nature* 1948, 161:638-639.
13. Mollin DL, Ross GIM. The Vitamin B₁₂ concentrations of serum and urine of normals and of patients with megaloblastic anemias and other disorders. *J Clin Pathol* 1952, 5:129-39.
14. Cooper BA, Lowenstein L. Vitamin B₁₂-folate interrelationships in megaloblastic anaemia. *Br J Haematol* 1966, 12:283-96.
15. Cooper BA, Lowenstein L. Relative folate deficiency of erythrocytes in pernicious anemia. *Blood* 1964, 24:502-21.

Observations on the etiologic relationship of achylia gastrica to pernicious anemia X. Activity of vitamin B₁₂ as food (extrinsic) factor

Lionel Berk, M. D.†, William B. Castle, M. D.‡, Arnold D. Welch, M. D.§, Robert W. Heinle, M. D.¶, Rudolf Anker, Ph.D.‖, and Martin Epstein, M. D.**

N Engl J Med 1948; 239: 911-3

BOSTON, MASSACHUSETTS, AND CLEVELAND, OHIO

It has been shown that various foods—for example, beef skeletal muscle¹, milk² and eggs³—contain a heat-stable, unidentified substance⁴, the so-called extrinsic factor. When such a source of extrinsic factor as beef muscle is ingested by a patient with pernicious anemia, untreated or in relapse, it produces little or no hematopoietic effect unless normal human gastric juice is also administered, either simultaneously or at least within six hours⁵. The very small amount of the gastric secretion of the patient with pernicious anemia thus apparently supplies little or none of the heat-labile substance, possibly an enzyme⁶⁻⁸, that is responsible for the activity of the so-called intrinsic factor of normal human gastric juice when administered with beef muscle. Gastric juice when given without opportunity for contact with beef muscle or with components of an unrestricted diet possesses no hematopoietic power⁵. Despite claims to the contrary⁹, incubation of mixtu-

res of beef muscle and gastric juice does not produce the heat-stable, antipernicious-anemia principle of liver *in vitro*⁶. Although there is reason to believe that contact between beef muscle and gastric juice at or near a neutral reaction within the intestinal tract is required for hematopoiesis⁶, attempts to concentrate hematopoietic substances from incubated mixtures of beef muscle and gastric juice have given inconsistent results at best. These observations are compatible with the theory that the patient with pernicious anemia requires intrinsic factor to utilize extrinsic factor at some stage in the production of the antipernicious-anemia principle of liver, but that a direct reaction between extrinsic and intrinsic factors does not necessarily occur.

Extrinsic factor is presently recognizable only by virtue of this hematopoietic potency upon oral administration in pernicious anemia with normal human gastric juice. Consequently, we have assumed as a working hypothesis that the greatly increased hematopoietic activity in pernicious anemia of liver¹⁰ and of relatively crude liver extracts¹¹ when ingested with normal human gastric juice indicated the presence of both the extrinsic factor and the antipernicious-anemia principle. Recently, however, we have found that refined liver extracts when given by mouth are also potentiated in their hematopoietic activity by gastric juice, as shown by the following observation, which was conducted according to the methods referred to below.

A patient with pernicious anemia and an initial red-cell count of 2,540,000 was given 1 cc of solution of liver extract, purified (Lederle), containing 15 U.S.P. units (injectable), daily by mouth for ten days. A reticulocyte peak of 3.4 per cent was attained on the seventh day. During a second consecutive ten-day period, the simultaneous admi-

*From the Thorndike Memorial Laboratory, Second and Fourth Medical Services (Harvard), Boston City Hospital, and the Department of Medicine, Harvard Medical School; and the Departments of Pharmacology and Medicine, School of Medicine, Western Reserve University, and the University Hospitals.

The expenses of this investigation were in part defrayed by the J. K. Lilly gift to Harvard Medical School and by a grant from the United States Public Health Service to Western Reserve University.

†Deceased; formerly, research fellow in medicine, Harvard Medical School and research fellow, Thorndike Memorial Laboratory, Boston City Hospital.

‡Professor of medicine, Harvard Medical School; director, Second and Fourth Medical Services (Harvard), and director, Thorndike Memorial Laboratory, Boston City Hospital.

§Professor of pharmacology, School of Medicine, Western Reserve University.

¶Associate professor of medicine, School of Medicine, Western Reserve University.

‖Research fellow in pharmacology, School of Medicine, Western Reserve University.

**Chief resident in medicine, University Hospitals, Cleveland, Ohio.

nistration of normal human gastric juice with the same amount of liver extract produced a second reticulocyte peak of 6.6 per cent at an initial red-cell level of 2,980,000. In other patients it was shown that hydrolysis of liver extracts with dilute sulfuric acid, which apparently destroyed most of the antipernicious-anemia principle, also prevented the material from being potentiated by normal human gastric juice.

With the isolation¹² of crystalline vitamin B₁₂, which behaves so far as is now known like the classic antipernicious-anemia principle of liver^{13,14} the effect of normal human gastric juice on the activity of the pure substance when orally administered could for the first time be tested. Accordingly, 5 microgm of vitamin B₁₂* dissolved in 125 or 150 cc of physiologic saline solution was given daily by mouth during a first ten-day period to 4 patients with untreated pernicious anemia. Immediately thereafter in a second ten-day period, the same amount of vitamin B₁₂ was given by mouth simultaneously with 125 or 150 cc of previously neutralized normal human gastric juice to each patient. The methods of dietary control, of obtaining normal human gastric juice and of blood study employed in these observations have previously been described^{1,5} as has the interpretation of successive reticulocyte responses¹⁵. Particular attention was paid to administering the gastric juice at times as widely separated as possible

from meals to minimize possible contact between the patient's food and the gastric juice. As an additional control on any hematopoietic effect of the gastric juice on the food, 3 patients (Cases 102, 103 and 140) received gastric juice during the first period twelve hours before each dose of vitamin B₁₂.

As shown in table I, in each case a reticulocyte response was observed during Period II. Except in Case 104, this was accompanied by a significant increase of red cells and indicates the greater hematopoietic effect of vitamin B₁₂ given simultaneously with normal human gastric juice. The reticulocyte peaks were not marked in Period II of Cases 103 and 104. However, no hematopoietic effect whatever was noted during Period I, and significant clinical improvement did not begin until the reticulocyte response appeared in Period II of the observations on these 2 patients. In Case 104, during Period III, 5 gamma of vitamin B₁₂ was given intramuscularly daily. This resulted in a striking second reticulocyte response.

Conclusions

These observations indicate that the hematopoietic activity in pernicious anemia of orally administered vitamin B₁₂ is potentiated by the simultaneous administration of normal human gastric juice but, as with liver extracts, is not so great as the activity of the vitamin B₁₂ when given parenterally. It is suggested, therefore, that the food (extrinsic) factor may be identical with or clo-

* Kindly supplied for clinical use by Dr. August Gibson, of Merck and Company, Incorporated Rahway, New Jersey.

Table I
Potentiation of Hematopoietic Activity of Orally Administered Vitamin B₁₂ by Normal Human Gastric Juice

Case No.	Ten-Day period No.	Red-Cell Count		Reticulocyte Peak		Daily Therapy*
		Initial × 10 ⁶	Final × 10 ⁶	%	day	
101	I	1.56	1.91	5.7	8	5 gamma of vitamin B ₁₂ [†] at 8 p. m.
	II	1.82	2.72	9.3	7	5 gamma of vitamin B ₁₂ and 150 c. of gastric juice at 8 p. m.
102	I	1.79	1.74	2.5	10	5 gamma of vitamin B ₁₂ [†] at 8 a. m.; at 8 p. m., 150 cc of gastric juice.
	II	1.65	2.45	16.7	7	5 gamma of vitamin B ₁₂ and 150 cc of gastric juice at 8 p. m.
103	I	1.62	2.12	none	none	5 gamma of vitamin B ₁₂ [†] at 8 a. m.; at 8 p. m., 150 cc of gastric juice.
	II	1.90	2.54	3.8	8	5 gamma of vitamin B ₁₂ and 150 cc of gastric juice at 8 p. m.
104	I	2.16	1.93	none	none	5 gamma of vitamin B ₁₂ [†] at 9 a. m.; at 9 p. m., 125 cc of gastric juice.
	II	2.14	2.10	3.8	10	5 gamma of vitamin B ₁₂ and 125 cc of gastric juice at 9 p. m.
	III	1.91	2.57	14.0	8	5 gamma of vitamin B ₁₂ intramuscularly

*Given orally unless otherwise indicated.

[†]Suspended in 125 or 150 cc of physiologic saline solution.

sely related chemically to the antipernicious-anemia principle of liver, which is itself presumably identical with vitamin B₁₂. It is further suggested that the gastric (intrinsic) factor is necessary for the optimal utilization of the relatively small amounts of vitamin B₁₂ or of chemically related substances present in various foods.

Preliminary microbiologic findings with the use of *Lactobacillus leichmanii* (A.T.C.C. 4797) in an untreated patient with pernicious anemia suggest that the fecal elimination of vitamin B₁₂ is of such magnitude that either the vitamin derived from the food, or more probably that synthesized by intestinal bacteria, is not absorbed in sufficient amounts to abolish the deficiency. (Since this manuscript was submitted for publication Bethell and his associates¹⁶ have reported the results of microbiologic observations demonstrating large daily fecal excretions of vitamin B₁₂ in 4 cases of untreated pernicious anemia, and from this fact have drawn similar conclusions.) Other observations suggest that material soluble in 70 per cent alcoholic extracts of beef muscle, a classic source of extrinsic factor, when prepared in a form suitable for parenteral administration, possesses both microbiologic activity as vitamin B₁₂ and hematopoietic activity upon intravenous injection in pernicious anemia. It is therefore possible that the function of the intrinsic factor of normal human gastric juice is to facilitate the absorption by the intestine of vitamin B₁₂ or of chemically related compounds in the food, rather than to react with the extrinsic factor as hitherto assumed.

References

1. Castle W. B., and Townsend W. C. Observations on etiologic relationship of achylia gastrica to pernicious anemia. II. Effect of administration to patients with pernicious anemia of beef muscle after incubation with normal human gastric juice. *Am. J. M. Sc.* 178:764-777, 1929.
2. Miller, F. R., and Pritchard, W. H. Presence in milk of extrinsic factor of Castle. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 37:149-152, 1937.
3. Singer, K. Eiertherapie der perniziösen Anämie. *Wien. Klin Wchnschr.* 45:1063, 1932.
4. Castle, W. B., et al. Extrinsic factor in pernicious anemia: ineffectiveness of purified casein and of identified components of vitamin B complex. *Science* 100:81-83, 1944.
5. Castle, W. B., and Ham, T. H. Observations on etiologic relationship of achylia gastrica to pernicious anemia. V. Further evidence for essential participation of extrinsic factor in hematopoietic responses to mixtures of beef muscle and gastric juice and to hog stomach mucosa. *J. A. M. A.* 107:1456-1463, 1936.
6. Castle, W. B., Heath, C. W., Strauss, M. B., and Heinle, R. W. Observations on etiologic relationship of chylia gastrica to pernicious anemia. VI. Site of interaction of food (extrinsic) and gastric (intrinsic) factors: failure of *in vitro* incubation to produce thermostable hematopoietic principle. *Am. J. M. Sc.* 194:618-625, 1937.
7. Gessler, C. J., Dexter, S. O., Adams, M. A., and Taylor, F. H. L. Observations on etiologic relationship of achylia gastrica to pernicious anemia. VIII. Further studies of proteolytic activity of normal human gastric juice *in vitro*: and limitations of method in pernicious anemia. *J. Clin. Investigation* 19:225-231, 1940.
8. Agren, G., and Waldenström, J. Intrinsic factor activity of highly purified preparations of aminopolyleptidase. *Acta Med. Scandinav.* 119:167-179, 1944.
9. Klein, L., and Wilkinson, J. F. Investigations on nature of haemopoietin, anti-anemic substance in hog's stomach. II. Production of thermostable haemopoietically active substance similar to or identical with anti-anemic principle of liver by action of thermolabile haemopoietin on beef. *Biochem. J.* 28:1684-1692, 1934.
10. Reimann, F., and Fritsch, F. Die Wirksamkeitssteigerung der Leber nach Behandlung mit Magensaft. II. Untersuchungen zur Leberwirkung bei der Anaemia perniciosa. *Ztschr F. Klin. Med.* 126:469-484, 1934.
11. Fouts, P. J., Helmer, O. M., and Zerfas, L. G. Quantitative studies on increased potency of liver extract by incubation with normal human gastric juice. *Ann. Int. Med.* 8:790-797, 1935.
12. Rickes, E. L., Brink, N. G., Koniuszy, F. R., Wood, T. R., and Folkers, K. Crystalline vitamin B₁₂. *Science* 107:396, 1948.

13. West, R. Activity of vitamin B₁₂ in Addisonian pernicious anemia. *Science* 107:398, 1948.
14. Berk, L., Denny-Brown, D., Finland, M., and Castle, W. B. Effectiveness of vitamin B₁₂ in combined system disease: rapid regression of neurologic manifestations and absence of allergic reactions in patient sensitive to injectable liver extracts. *New Eng. J. Med.* 239:328-330, 1948.
15. Minot, G. R., and Castle, W. B. Interpretation of reticulocyte reactions: their value in determining potency of therapeutic materials, especially in pernicious anaemia. *Lancet* 2:319-330, 1935.
16. Bethell, F. H., Meyers, M. C., and Neligh, R. B. Vitamin B₁₂ in pernicious anemia and puerperal macrocytic anemia. *J. Lab. & Clin. Med.* 33:1477, 1948.

Nutrición Hospitalaria

ÓRGANO OFICIAL DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA
DE NUTRICIÓN PARENTERAL Y ENTERAL

Índice anual

- Índice autores
- Índice de palabras clave
- Índice general

Vol. XIX. N.º 6 • NOVIEMBRE-DICIEMBRE 2004

ÍNDICE DE AUTORES

A

Abellán, P., 202
Acuña, K., 353
Adrio, G., 145
Alberto, M., 236
Alcázar, V., 167
Alfredo Martínez, J., 269
Almazán Arjona, J. A., 292
Alonso Babarro, A., 281
Albadalejo, R., 277
Álvarez Blanco, M.^a, 34
Álvarez de Cienfuegos, G., 333
Álvarez, J., 57, 125, 135
Alves, L., 89
Amado, D., 83
Antelo Landeria, M. C., 19
Araújo Gurgel, K. C., 14
Arena Antosegui, J., 121
Argés, L., 236

B

Badía Tahull, M. B., 229, 362
Barreto Villela, N., 367
Bastos, G., 353
Bautista Castaño, I., 286
Bello Luján, L., 286
Bello-Villalobos, H., 259
Bengmark, S., 110
Berlana Martín, D., 229
Bobis, M. A., 145
Bonada, A., 139, 145
Borrás, S., 175
Botella Trelis, J. J., 154
Boza, J., 376
Braghrolli Neto, O., 367
Bretón, I., 243

C

Cabetas Hernández, I., 225
Cabral, E. B., 14
Calañas, A. J., 145
Calle Pardo, A. P., 45

Camarero, E., 57, 135, 145
Cambor, M., 243
Camilo, M. E., 83, 353
Campos-Ferrer, C., 175
Canales, M. A., 377
Canteras, M., 202
Caparrós Fernández de Aguilar, T., 2
Carbajo, M., 372
Cardona, D., 57, 135
Carrera, J. A., 139, 145
Casimiro, C., 292
Castaño Escudero, A., 68
Castellà, M., 139, 145
Castro Robles, L. J., 45
Celaya, S., 57, 135
Cervera-Montes, M., 175
Cirino de Mattos, L., 14
Comas Sagrañes, D., 362
Company, C., 300
Correia, M.^a I., 14, 28
Cos Blanco, A., 145, 281
Cruz, T., 353, 367
Cruz-Chamorro, L., 333
Cuerda, C., 243
Culebras, J. M., 1, 73, 317, 319
Chamorro Quirós, J., 145, 292

D

Dan L. Waitzberg, 28
De Andrés, S., 195
De Cos, A. I., 57, 135
De Juana, P., 167, 195
De la Cuerda, C., 139, 145
De Luis, D., 145
De Pablo, M. A., 327
De Paula, J. A., 28
De Paz Arias, R., 377
De Rosendo, J. M., 99
Del Olmo, D., 167
Delgado, G., 300
Dhawan, D. K., 341
Díaz Romero, C., 263
Díez Liébana, M.^a J., 45
Domínguez Calvo, J., 150, 348

E

Echenique, M., 28
Eduarda Paneili, B., 367
Escallón, J. M., 28

F

Farriol, M., 300
Fernández Martínez, N., 45
Fernández Meré, L. A., 34
Fernández Pello, M. E., 150, 348
Fernández Rodríguez, M.^a J., 286
Ferrero López, M.^a I., 154
Figueroa, R., 236
Forga, M. T., 139, 145
Formiga, C., 353
Fort Casamartina, E., 229
Fuillat Alfonso, R., 209

G

Galiano Segovia, M.^a J., 392
Gama-Rodrigues, J., 89
Garaulet, M., 160
García de Lorenzo y Materos, A., 1, 57, 135, 317
García Luna, P. P., 57, 135, 139, 145
García Vieitez, J. J., 45
García, P., 243
García-Caballero, M., 372
Garde, C., 139, 145
Garg, M. L., 341
Garrido, J., 99
Gil, A., 202
Goenaga, M. A., 145
Gómez Candela, C., 139, 281
Gómez Enterría, P., 139, 145
Gómez Sáez, J. M., 362
Gómez, E., 175
Gómez, P., 300
Gomis Muñoz, P., 253
González Canga, A., 45
González Lama, Y., 19
González-Ávila, G., 259

González-Gallego, J., 73
González-Gross, M., 1
Grau, T., 292
Guillén, N., 277
Guimarães, J., 14

H

Hashimoto, R., 353
Henríquez Sánchez, P., 263
Hernández Bethencourt, L., 286
Hernández-Navarro, F., 377
Herrero, F., 160
Heys, S. D., 325
Homar Ramírez, J., 95

I

Ibáñez Juvé, J., 95
Irles, J. A., 145
Ize-Lamache, L., 28

J

Jara Vega, P., 19
Jiménez, J., 376
Jiménez, M., 145
Jóda, E., 99
Jódar Masanés, R., 229, 362
Jorquera, F., 73

K

Kehr Soto, J., 28
Koning, A., 167

L

Lama More, R., 19
Lara-Villoslada, F., 376
Lecha, M., 11
León Sanz, M., 135, 253
Lima Curvello, K., 367
López Blanco, F., 263
López del Val, T., 167
Lord Rodríguez, T., 292
Lucena, A., 195
Luengo, L. M., 145
Luna, A., 292
Llop Talaverón, J. M., 229, 362

M

Mancha, A., 145
Marín, R., 160
Marqués Vidal, P., 83
Marsé Milla, P., 95
Martí, E., 139, 145
Martín Villares, C., 150, 348
Martínez Carrasco, M. C., 19
Martínez de Icaya, P., 167
Martínez de Morentín, B. E., 269
Martínez, I., 145
Martínez-Silla, G., 202
Mazure, R. A., 319
Mijares, J. M., 28
Monereo, S., 125
Moreno Villares, J. M., 57, 59, 135, 139, 145, 178, 253, 392
Mourão, F., 83
Moya, A., 281
Muniz, P., 353
Muñoz, M., 319

N

Ney-Oliveira, F., 353
Nin Álvarez, L. A., 28

O

Olivares, M., 376
Ordóñez, J., 139, 145
Orta, X., 300
Ortiz de Urbina, J. J., 73, 110
Ortiz, A., 248
Ortiz, P., 125

P

Palma, J. T., 160
Pardo, A., 99
Pares, R. M., 139, 145
Parra, M.^a D., 269
Pedrón, C., 139, 145
Penhavel, F. A. S., 89
Pérez de Heredia, F., 160
Pérez de La Cruz, A., 57, 135, 139, 145
Pérez Gabarda, M.^a E., 68
Pérez, S., 269
Pérez-Díaz, M. D., 243

Pérez-Llamas, F., 160
Pérez-Toscano, M.^a T., 333
Pita, A. M., 139
Planas, M., 11, 57, 135, 139, 145
Pomar Blanco, P., 150, 348
Puertollano, E., 333
Puertollano, M.^a A., 333

R

Raurich Puigdevall, J. M.^a, 95
Ravasco, P., 83
Ricart, C., 175
Riera Sagrera, M., 95
Riobó, P., 248
Rodríguez Rodríguez, E., 263
Rodríguez, A., 139, 145
Rodríguez, M.^a C., 269
Rodríguez, R., 300
Rodríguez, T., 11
Romero, A., 175
Ros, G., 202
Rugeles, S., 28
Ruiz, M., 99

S

Sáez Fernández, A., 362
Sahagún, A. M.^a, 45
Salas-Salvadó, J., 277
Salido, C., 125
Samper, M.^a, 202
San Román Carbajo, J., 150, 348
Sánchez Villegas, A., 286
Santillana Cantella, M., 28
Santos, D., 367
Savino Lloreda, P., 28
Schofield, A. C., 325
Seal, C., 367
Serra Majem, L., 263, 286
Sidhu, P., 341
Sierra Vega, M., 45
Sierra, S., 376

T

Tabernero da Veiga, S., 19
Tapia Risueño, M., 150, 348
Temprano, J. L., 243
Torrentó, M., 277
Torres, G., 236
Trevenzol, H. P., 89

Tubau Mola, M., 229

Tuñón, M. J., 73

U

Usán, L. A., 99

V

Valero Zanuy, M.^a A., 253

Van den Berghe, C., 57, 135

Varela Cerdeira, M.^a, 281

Vázquez, C., 167

Venereo, Y., 300

Vidal-Guevara, M.^a L., 202

Villares, C. 73

Vinent Genestar, J. L., 229

Virgili, N., 145

W

Wahle, K. W. J., 325

Waitzberg, D. L., 89, 353

X

Xaus, J., 376

Z

Zamarrón, I., 145

Zamora, S., 160

Zilberstein, B., 89

Zugasti, A., 243

ÍNDICE DE PALABRAS CLAVE

Ablactación: Proceso de introducción de alimentos durante el primer año de vida

Psicología y nutrición en el desarrollo ontogenético en la edad infanto-juvenil, 209

Acalasia esofágica/cirugía esofágica

Evaluación nutricional pre y postoperatoria de los pacientes con megaesófago por enfermedad de Chagas, 89

Aceite de coco

Análisis de la Resistencia Inmune en un Modelo Muriño Experimental Alimentado con Dietas Lipídicas e Infectado con *Listeria monocytogenes*, 333

Aceite de oliva

Análisis de la Resistencia Inmune en un Modelo Muriño Experimental Alimentado con Dietas Lipídicas e Infectado con *Listeria monocytogenes*, 333

Aceite de pescado

Análisis de la Resistencia Inmune en un Modelo Muriño Experimental Alimentado con Dietas Lipídicas e Infectado con *Listeria monocytogenes*, 327

Aceptación menús

Evaluación de la aceptación de los menús servidos en el Hospital Universitari de Sant Joan de Reus, 277

Ácidos grasos poliinsaturados

La expresión de IL-10 interviene en la regulación de la respuesta inflamatoria por los ácidos grasos omega 3, 376

Acre

Propuesta de educación nutricional para estudiantes y profesionales de la salud en Amazonas, 354

Actividad física

Valoración nutricional de trabajadores sanitarios expuestos a turnicidad en Canarias, 286

Adelgazar

Estudio *in vivo* de la oxidación mitocondrial en pacientes obesos tratados mediante restricción calórica, 269

Alanina-glutamina

Influencia de la formulación de la glutamina en sus efectos sobre los sistemas antioxidantes y de detoxificación hepática en la rata, 73

Alcohol

Hipofosfatemia en nutrición parenteral: prevención y factores de riesgo asociados, 356

Ingesta excesiva de alcohol, malnutrición y cáncer de cabeza y cuello, 348

Aliento

Estudio *in vivo* de la oxidación mitocondrial en pacientes obesos tratados mediante restricción calórica, 269

Alimentación

Evaluación de la aceptación de los menús servidos en el Hospital Universitari de Sant Joan de Reus, 277

La alimentación del enfermo de Alzheimer en el ámbito familiar, 154

Alteración nutricional/diagnóstico

Evaluación nutricional pre y postoperatoria de los pacientes con megaesófago por enfermedad de Chagas, 89

Análisis multivariado

Aplicación de análisis multivariado para la diferenciación de individuos sanos según su contenido sérico de minerales, 263

Ancianos

Estudio de palatabilidad de dos dietas orales especiales para pacientes diabéticos en residencias geriátricas, Glucerna SR® vs Resource Diabet®, 292

Anestesia

Obesidad y cirugía bariátrica: implicaciones anestésicas, 34

Anorexia, 226

Antioxidantes hepáticos

Efectos del zinc sobre enzimas de estrés oxidativo en el hígado de ratas con déficit proteico, 341

Antioxidantes y sistemas de detoxificación

Influencia de la formulación de la glutamina en sus efectos sobre los sistemas antioxidantes y de detoxificación hepática en la rata, 73

Aporte energético

Ingesta de antioxidantes y poliaminas en pacientes con quemaduras graves, 300

Aporte de fosfato

Hipofosfatemia en nutrición parenteral: prevención y factores de riesgo asociados, 362

Atención domiciliaria

La práctica de la nutrición artificial domiciliaria en Europa, 59

Atracón-purga

Desnutrición en Anorexia Nervosa: enfoque psicossomático y tratamiento multidisciplinar, 225

Bases de datos clínicas

La importancia de los datos, 11

Brasil

Propuesta de educación nutricional para estudiantes y profesionales de la salud en Amazonas, 353

Calidad de datos registrados

La importancia de los datos, 11

Calidad de vida

Calidad de vida en pacientes obesos sometidos a cirugía bariátrica, 367

Calorimetría indirecta

Calorimetría indirecta en el enfermo crítico: validez de la medición durante 10 minutos, 95

Cáncer

Evaluación de un programa de nutrición parenteral domiciliaria en pacientes oncológicos terminales, 281

Nutrición parenteral domiciliaria en pacientes con cáncer avanzado: experiencia en un solo centro a lo largo de diez años, 253

Cáncer de cabeza y cuello

Estancia hospitalaria prolongada en pacientes con cáncer de cabeza y cuello: el impacto del estado nutricional y los problemas faríngeos, 150

Hipofosfatemia en nutrición parenteral: prevención y factores de riesgo asociados, 356

Ingesta excesiva de alcohol, malnutrición y cáncer de cabeza y cuello, 348

Cirugía Bariátrica

Obesidad y cirugía bariátrica: implicaciones anestésicas, 34

Calidad de vida en pacientes obesos sometidos a cirugía bariátrica, 368

Complicaciones

La nutrición parenteral periférica, alternativa para los pacientes con indicación de nutrición parenteral durante poco tiempo, 14

Consumo y gasto

Nutrición enteral domiciliaria en la Comunidad de Madrid, 68

Control de peso

Sustitutivos de una comida como terapia dietética en el control de peso. Evaluación en hombres y mujeres con diferentes grados de obesidad, 202

Costes

Gestión en nutrición clínica, 125

Cribado

Evaluación del riesgo y del estado nutricional de los pacientes quirúrgicos: un problema entre otros muchos, 83

Cuestionario

Desarrollo de un cuestionario para la valoración y cuantificación de los hábitos de vida relacionados con el sobrepeso y la obesidad, 99

Datos

La importancia de los datos, 11

Déficit proteico

Efectos del zinc sobre enzimas de estrés oxidativo en el hígado de ratas con déficit protéico, 341

Desarrollo psicomotor: se mide en cuatro esferas fundamentales, óculo manual, postural, sociabilidad y lenguaje

Psicología y nutrición en el desarrollo ontogenético en la edad infanto-juvenil, 209

Desnutrición grave

Shock cardiogénico asociado a un programa nutricional inapropiado: síndrome de realimentación, 175

Desnutrición hospitalaria

Propuesta de educación nutricional para estudiantes y profesionales de la salud en Amazonas, 353

Desnutrición visceral

Preparados estándar de nutrición parenteral en situaciones clínicas complejas, 229

Desórdenes nutricionales

Propuesta de educación nutricional para estudiantes y profesionales de la salud en Amazonas, 353

Diabetes mellitus tipo 2

Estudio de palatabilidad de dos dietas orales especiales para pacientes diabéticos en residencias geriátricas, Glucerna SR® vs Resource Diabet®, 292

Diarrea

La fibra en nutrición enteral: revisión sistemática de la literatura, 167

Dieta oral

Registro Nacional de la Nutrición Parenteral Domiciliaria (NPD) del año 2001, 139

Dilatación bolsa gástrica

El Bypass gástrico de una anastómosis: un procedimiento simple, seguro y eficaz para tratar la obesidad mórbida, 372

Disfagia

La alimentación del enfermo de Alzheimer en el ámbito familiar, 154

Domicilio

La alimentación del enfermo de Alzheimer en el ámbito familiar, 154

Educación médica

Tratamiento nutricional total: programa para la educación de los médicos en nutrición, 28

Educación-Nutrición

Propuesta de educación nutricional para estudiantes y profesionales de la salud en Amazonas, 354

Eficacia

Gestión en nutrición clínica, 125

Eficiencia

Gestión en nutrición clínica, 125

Enfermedad de Alzheimer

La alimentación del enfermo de Alzheimer en el ámbito familiar, 154

Enfermedad de Chagas/etiología

Evaluación nutricional pre y postoperatoria de los pacientes con megaesófago por enfermedad de Chagas, 89

Enfermo crítico

Calorimetría indirecta en el enfermo crítico: validez de la medición durante 10 minutos, 95

Ensayos clínicos

Inmunonutrición en la práctica clínica: ¿cuál es la evidencia actual?, 325

Epidemiología

La práctica de la nutrición artificial domiciliaria en Europa, 59

Estado nutricional

Evaluación del riesgo y del estado nutricional de los pacientes quirúrgicos: un problema entre otros muchos, 83

Soporte nutricional en hemodiálisis, 248

Una aplicación informática multivalente para estudios del estado nutricional de grupos de población. Valoración de la ingesta alimentaria, 160

Estatinas

Interacciones entre los alimentos y las estatinas, 195

Estreñimiento

La fibra en nutrición enteral: revisión sistemática de la literatura, 167

Estrés oxidativo

Influencia de la formulación de la glutamina en sus efectos sobre los sistemas antioxidantes y de detoxificación hepática en la rata, 73

Estudio analítico

Nutrición Enteral Domiciliaria (NED): Registro Nacional 2001, 145

Evaluación nutricional

Propuesta de educación nutricional para estudiantes y profesionales de la salud en Amazonas, 353

Evaluación nutricional pre y postoperatoria de los pacientes con megaesófago por enfermedad de Chagas, 89

Tratamiento nutricional total: programa para la educación de los médicos en nutrición, 28

Evaluación subjetiva general

Tratamiento nutricional total: programa para la educación de los médicos en nutrición, 28

Factores de riesgo

Hipofosfatemia en nutrición parenteral: prevención y factores de riesgo asociados, 362

Fibra

La fibra en nutrición enteral: revisión sistemática de la literatura, 167

Fibra dietética

Glucomanano: propiedades y aplicaciones terapéuticas, 45

Fibrosis quística

Hepatopatía crónica asociada a fibrosis quística: gasto energético en reposo, factores de riesgo y repercusión en la evolución de la enfermedad, 19

Fórmula

La fibra en nutrición enteral: revisión sistemática de la literatura, 167

Fórmulas individualizadas

Preparados estándar de nutrición parenteral en situaciones clínicas complejas, 229

Fortificadores de la leche humana

Leche humana y nutrición en el prematuro pequeño, 236

Gasto energético en reposo

Hepatopatía crónica asociada a fibrosis quística: gasto energético en reposo, factores de riesgo y repercusión en la evolución de la enfermedad, 19

Gastrectomía/reacciones adversas

Evaluación nutricional pre y postoperatoria de los pacientes con megaesófago por enfermedad de Chagas, 89

Gestión

Gestión en nutrición clínica, 125

Glucomanano

Glucomanano: propiedades y aplicaciones terapéuticas, 45

Glutamina

Influencia de la formulación de la glutamina en sus efectos sobre los sistemas antioxidantes y de detoxificación hepática en la rata, 73

Hábitos alimentarios

Valoración nutricional de trabajadores sanitarios expuestos a turnicidad en Canarias, 286

Hábitos de vida

Desarrollo de un cuestionario para la valoración y cuantificación de los hábitos de vida relacionados con el sobrepeso y la obesidad, 99

Hemocultivos

Hemocultivos simultáneos y diagnóstico de sepsis relacionada a catéter, 259

Hemodiálisis

Soporte nutricional en hemodiálisis, 248

Hepatopatía crónica

Hepatopatía crónica asociada a fibrosis quística: gasto energético en reposo, factores de riesgo y repercusión en la evolución de la enfermedad, 19

Hipofosfatemia

Hipofosfatemia grave tras el inicio de nutrición parenteral en una paciente con fístula intestinal, 243

Hipofosfatemia en nutrición parenteral: prevención y factores de riesgo asociados, 362

Hospital

Propuesta de educación nutricional para estudiantes y profesionales de la salud en Amazonas, 354

Evaluación del riesgo y del estado nutricional de los pacientes quirúrgicos: un problema entre otros muchos, 83

Hospitalización

Estancia hospitalaria prolongada en pacientes con cáncer de cabeza y cuello: el impacto del estado nutricional y los problemas faríngeos, 150

Índice Masa Corporal

Sustitutivos de una comida como terapia dietética en el control de peso. Evaluación en hombres y mujeres con diferentes grados de obesidad, 202

Infección relacionada a catéter

Hemocultivos simultáneos y diagnóstico de sepsis relacionada a catéter, 259

Inflamación

La expresión de IL-10 interviene en la regulación de la respuesta inflamatoria por los ácidos grasos omega 3, 376

Ingesta alimentaria

Una aplicación informática multivalente para estudios del estado nutricional de grupos de población. Valoración de la ingesta alimentaria, 160

Ingesta de antioxidantes

Ingesta de antioxidantes y poliaminas en pacientes con quemaduras graves, 300

Ingresos hospitalarios

Registro Nacional de la Nutrición Parenteral Domiciliaria (NPD) del año 2001, 139

Inmunonutrición

Análisis de la Resistencia Inmune en un Modelo Murino Experimental Alimentado con Dietas Lipídicas e Infectado con *Listeria monocytogenes*, 333

Inmunonutrición en la práctica clínica: ¿cuál es la evidencia actual?, 325

Interacción alimento-medicamento

Interacciones entre los alimentos y las estatinas, 195

Irreversible

Desnutrición en Anorexia Nervosa: enfoque psicossomático y tratamiento multidisciplinar, 225

Isótopos estables

Estudio *in vivo* de la oxidación mitocondrial en pacientes obesos tratados mediante restricción calórica, 269

Leche humana

Leche humana y nutrición en el prematuro pequeño, 236

Legislación

La práctica de la nutrición artificial domiciliaria en Europa, 59

Leptina

Obesidad y sistema inmune, 319

Limitación de esfuerzo terapéutico

Nutrición parenteral domiciliaria en pacientes con cáncer avanzado: experiencia en un solo centro a lo largo de diez años, 253

Lípidos

Valoración nutricional de trabajadores sanitarios expuestos a turnicidad en Canarias, 286

Listeria monocytogenes

Análisis de la Resistencia Inmune en un Modelo Muriño Experimental Alimentado con Dietas Lipídicas e Infectado con *Listeria monocytogenes*, 333

Madrid

Nutrición enteral domiciliaria en la Comunidad de Madrid, 68

Malnutrición hospitalaria

Tratamiento nutricional total: programa para la educación de los médicos en nutrición, 28

Malnutrición

Evaluación del riesgo y del estado nutricional de los pacientes quirúrgicos: un problema entre otros muchos, 83

Soporte nutricional en hemodiálisis, 248

Manía melancólica

Desnutrición en Anorexia Nervosa: enfoque psicósomático y tratamiento multidisciplinar, 225

Métodos antropométricos

Evaluación nutricional pre y postoperatoria de los pacientes con megaesófago por enfermedad de Chagas, 89

Minerales

Aplicación de análisis multivariado para la diferenciación de individuos sanos según su contenido sérico de minerales, 263

Mini Gastric Bypass

El Bypass gástrico de una anastomosis: un procedimiento simple, seguro y eficaz para tratar la obesidad mórbida, 372

Mitocondria

Estudio *in vivo* de la oxidación mitocondrial en pacientes obesos tratados mediante restricción calórica, 269

Morbilidad

Evaluación nutricional pre y postoperatoria de los pacientes con megaesófago por enfermedad de Chagas, 89

Nutrición artificial

Pasado, presente y futuro de la nutrición clínica en España, 2

Nutrición Clínica

Propuesta de educación nutricional para estudiantes y profesionales de la salud en Amazonas, 353

Tratamiento nutricional total: programa para la educación de los médicos en nutrición, 28

Nutrición Enteral Domiciliaria

Nutrición Enteral Domiciliaria (NED): Registro Nacional 2001, 145

Nutrición enteral domiciliaria en la Comunidad de Madrid, 68

Nutrición enteral

La fibra en nutrición enteral: revisión sistemática de la literatura, 167

La práctica de la nutrición artificial domiciliaria en Europa, 59

Nutrición enteral perioperatoria

Nutrición enteral: pasado y futuro, 110

Nutrición

Estancia hospitalaria prolongada en pacientes con cáncer de cabeza y cuello: el impacto del estado nutricional y los problemas faríngeos, 150

Hipofosfatemia en nutrición parenteral: prevención y factores de riesgo asociados, 356

Ingesta excesiva de alcohol, malnutrición y cáncer de cabeza y cuello, 348

Leche humana y nutrición en el prematuro pequeño, 236

Nutrición hospitalaria

Evaluación de la aceptación de los menús servidos en el Hospital Universitario de Sant Joan de Reus, 277

Nutrición Parenteral Domiciliaria

Evaluación de un programa de nutrición parenteral domiciliaria en pacientes oncológicos terminales, 281

Nutrición parenteral domiciliaria en pacientes con cáncer avanzado: experiencia en un solo centro a lo largo de diez años, 253

Registro Nacional de la Nutrición Parenteral Domiciliaria (NPD) del año 2001, 139

Nutrición parenteral

Influencia de la formulación de la glutamina en sus efectos sobre los sistemas antioxidantes y de detoxificación hepática en la rata, 73

La práctica de la nutrición artificial domiciliaria en Europa, 59

La nutrición parenteral periférica, alternativa para los pacientes con indicación de nutrición parenteral durante poco tiempo, 14

Obesidad

Desarrollo de un cuestionario para la valoración y cuantificación de los hábitos de vida relacionados con el sobrepeso y la obesidad, 99

Estudio *in vivo* de la oxidación mitocondrial en pacientes obesos tratados mediante restricción calórica, 269

Calidad de vida en pacientes obesos sometidos a cirugía bariátrica, 361

Obesidad y cirugía bariátrica: implicaciones anestésicas, 34

Obesidad y sistema inmune, 319

Sustitutivos de una comida como terapia dietética en el control de peso. Evaluación en hombres y mujeres con diferentes grados de obesidad, 202

Valoración nutricional de trabajadores sanitarios expuestos a turnicidad en Canarias, 286

Obesidad moderada con comorbilidades

Calidad de vida en pacientes obesos sometidos a cirugía bariátrica, 367

Obstrucción intestinal

Nutrición parenteral domiciliaria en pacientes con cáncer avanzado: experiencia en un solo centro a lo largo de diez años, 253

Organismo

La expresión de IL-10 interviene en la regulación de la respuesta inflamatoria por los ácidos grasos omega 3, 376

Oxidación

Estudio *in vivo* de la oxidación mitocondrial en pacientes obesos tratados mediante restricción calórica, 269

Pacientes oncológicos terminales

Evaluación de un programa de nutrición parenteral domiciliaria en pacientes oncológicos terminales, 281

Pacientes quirúrgicos

Evaluación del riesgo y del estado nutricional de los pacientes quirúrgicos: un problema entre otros muchos, 83

Pérdida de peso

La alimentación del enfermo de Alzheimer en el ámbito familiar, 154

Período postoperatorio

Evaluación nutricional pre y postoperatoria de los pacientes con megaesófago por enfermedad de Chagas, 89

Poliaminas en pacientes

Ingesta de antioxidantes y poliaminas en pacientes con quemaduras graves, 300

Programa informático

Una aplicación informática multivalente para estudios del estado nutricional de grupos de población. Valoración de la ingesta alimentaria, 160

Quemaduras graves

Ingesta de antioxidantes y poliaminas en pacientes con quemaduras graves, 300

Ratas

Influencia de la formulación de la glutamina en sus efectos sobre los sistemas antioxidantes y de detoxificación hepática en la rata, 73

Riesgo nutricional

Evaluación del riesgo y del estado nutricional de los pacientes quirúrgicos: un problema entre otros muchos, 83

RNMBPN

Leche humana y nutrición en el prematuro pequeño, 236

Sabor

Estudio de palatabilidad de dos dietas orales especiales para pacientes diabéticos en residencias geriátricas, Glucerna SR® vs Resource Diabet®, 292

Seguimiento

Evaluación nutricional pre y postoperatoria de los pacientes con megaesófago por enfermedad de Chagas, 89

SF-36

Calidad de vida en pacientes obesos sometidos a cirugía bariátrica, 367

Shock cardiogénico

Shock cardiogénico asociado a un programa nutricional inapropiado: síndrome de realimentación, 175

Síndrome de realimentación

Hipofosfatemia grave tras el inicio de nutrición parenteral en una paciente con fístula intestinal, 243

Síndrome de realimentación

Shock cardiogénico asociado a un programa nutricional inapropiado: síndrome de realimentación, 175

Sistema inmune

Obesidad y sistema inmune, 319

Suero

Aplicación de análisis multivariado para la diferenciación de individuos sanos según su contenido sérico de minerales, 263

Suplementos nutricionales

Estudio de palatabilidad de dos dietas orales especiales para pacientes diabéticos en residencias geriátricas, Glucerna SR® vs Resource Diabet®, 292

Sustitutivo comida

Sustitutivos de una comida como terapia dietética en el control de peso. Evaluación en hombres y mujeres con diferentes grados de obesidad, 202

Terapias combinadas

Desnutrición en Anorexia Nervosa: enfoque psicossomático y tratamiento multidisciplinar, 225

Tiempos de medición

Calorimetría indirecta en el enfermo crítico: validez de la medición durante 10 minutos, 95

Trabajadores

Valoración nutricional de trabajadores sanitarios expuestos a turnicidad en Canarias, 286

Tratamiento

Obesidad y cirugía bariátrica: implicaciones anestésicas, 34

Tratamiento preoperatorio

Evaluación nutricional pre y postoperatoria de los pacientes con megaesófago por enfermedad de Chagas, 89

Triunfo

Desnutrición en Anorexia Nervosa: enfoque psicossomático y tratamiento multidisciplinar, 225

Turnicidad

Valoración nutricional de trabajadores sanitarios expuestos a turnicidad en Canarias, 286

Vía parenteral

Preparados estándar de nutrición parenteral en situaciones clínicas complejas, 229

Zinc

Hipofosfatemia en nutrición parenteral: prevención y factores de riesgo asociados, 356

Ingesta excesiva de alcohol, malnutrición y cáncer de cabeza y cuello, 342

Efectos del zinc sobre enzimas de estrés oxidativo en el hígado de ratas con déficit protéico, 341

ÍNDICE GENERAL

VOL. XVIII. ENERO-FEBRERO 2004. N.º 1

EDITORIAL

- **Alimentos Funcionales, 1**
J. M. Culebras, A. García de Lorenzo y M. Gonzalo-Gross

CONFERENCIA ESPECIAL

- **Pasado, presente y futuro de la nutrición clínica en España, 2**
T. Caparrós Fernández de Aguilar

ORIGINALES

- **La importancia de los datos, 10**
M. Planas, T. Rodríguez y M. Lecha
- **La nutrición parenteral periférica, alternativa para los pacientes con indicación de nutrición parenteral durante poco tiempo, 14**
M. I. T. D. Correia, MD, PhD, J. Guimarães, L. Cirino de Mattos, K. C. Araújo Gurgel y E. B. Cabral
- **Hepatopatía crónica asociada a fibrosis quística: gasto energético en reposo, factores de riesgo y repercusión en la evolución de la enfermedad, 19**
S. Taberner da Veiga, Y. González Lama, R. Lama More, M. C. Martínez Carrasco, M. C. Antelo Landeria y P. Jara Vega
- **Tratamiento nutricional total: programa para la educación de los médicos en nutrición, 28**
Dan L. Waitzberg, MD, PhD; M.ª I. Correia, MD, PhD; M. Echenique, MD, FACS; L. Ize-Lamache, MD, PhD, FACS; J. Kehr Soto, MD; J. M. Mijares, MD; L. A. Nin Álvarez, MD; J. A. de Paula, MD; S. Rugeles, MD; M. Santillana Cantella, MD, PhD, FACS; P. Savino Lloreda, RD, CNSD y J. M. Escallón, MD, FACS, FRCSC

- **Obesidad y cirugía bariátrica: implicaciones anestésicas, 34**
L. A. Fernández Meré y M.ª Álvarez Blanco

ALIMENTOS FUNCIONALES

- **Glucomanano: propiedades y aplicaciones terapéuticas, 45**
A. González Canga, N. Fernández Martínez, A. M.ª Sahagún, J. J. García Vieitez, M.ª J. Díez Liébana, A. P. Calle Pardo, L. J. Castro Robles y M. Sierra Vega

CRÍTICA DE LIBROS

- **Nutrición humana: una perspectiva en salud, 51**
M. E. Barasi
- **Obesidad, causas y consecuencias, 51**
M. Garaulet Aza
- **Malnutrición en el mundo, cómo encontrar soluciones en el siglo XXI, 52**
AA. VV. A. Marcos, A. Montero y J. Wärnberg
- **Diccionario de Nutrición, Alimentación y Salud, 52**
A. Sarría Chueca y L. A. Moreno Aznar
- **Actualización en nutrición, inmunidad e infección, 53**
A. Marcos

MARZO-ABRIL 2004. N.º 2

ORIGINALES

- **Problemática de la nutrición artificial domiciliar en España, 57**
A. García de Lorenzo y Mateos, J. Álvarez, E. Camarero, D. Cardona, S. Celaya, A. I. de Cos, P. P. García Luna, M. León, J. M. Moreno, A. Pérez de la Cruz, M. Planas y C. van den Berghe
- **La práctica de la nutrición artificial domiciliar en Europa, 59**
J. M. Moreno Villares

- **Nutrición enteral domiciliaria en la Comunidad de Madrid, 68**
A. Castaño Escudero y M. E. Pérez Gabarda
- **Influencia de la formulación de la glutamina en sus efectos sobre los sistemas antioxidantes y de detoxificación hepática en la rata, 73**
J. J. Ortiz de Urbina, F. Jorquera, J. Culebras, C. Villares, J. González-Gallego y M. J. Tuñón
- **Evaluación del riesgo y del estado nutricional de los pacientes quirúrgicos: un problema entre otros muchos, 83**
F. Mourão, D. Amado, P. Ravasco, P. Marqués Vidal y M. E. Camilo
- **Evaluación nutricional pre y postoperatoria de los pacientes con megaesófago por enfermedad de Chagas, 89**
F. A. S. Penhavel, D. L. Waitzberg, H. P. Trevenzol, L. Alves, B. Zilberstein y J. Gama-Rodrigues
- **Calorimetría indirecta en el enfermo crítico: validez de la medición durante 10 minutos, 95**
P. Marsé Milla, J. M. Raurich Puigdevall, J. Homar Ramírez, M. Riera Sagrera y J. Ibáñez Juvé
- **Desarrollo de un cuestionario para la valoración y cuantificación de los hábitos de vida relacionados con el sobrepeso y la obesidad, 99**
P. Pardo, M. Ruiz, E. Jódar, J. Garrido, J. M. de Rosendo y L. A. Usán

ALIMENTOS FUNCIONALES

- **Nutrición enteral: pasado y futuro, 110**
S. Bengmark y J. J. Ortiz de Urbina

CARTA AL DIRECTOR

- **La importancia del yodo en la dieta de la mujer embarazada, 121**
J. Arena Ansotegui
- **Contestación a la carta del Dr. Arena, 122**

VOL. XVIII. MAYO-JUNIO 2004. N.º 3

ARTICULO ESPECIAL

- **Gestión en nutrición clínica, 125**
J. Álvarez, S. Monereo, P. Ortiz y C. Salido

ORIGINALES

- **Problemática de la nutrición artificial domiciliaria en España, 135**
A. García de Lorenzo y Mateos, J. Álvarez, E. Camarero, D. Cardona, S. Celaya, A. I. De Cos, P. P. García Luna, M. León, J. M. Moreno, A. Pérez de la Cruz, M. Planas y C. Wan den Bergh
- **Registro Nacional de la Nutrición Parenteral Domiciliaria (NPD) del año 2001, 139**
M. Planas, M. Castellà, A. M. Pita, J. M. Moreno, C. Pedrón, A. Cos, P. Gómez Enterría, C. de la Cuerda, A. Pérez de la Cruz, M. T. Forga, E. Martí, C. Garde, J. A. Carrera, P. P. García Luna, J. Ordóñez, A. Bonada, R. M. Pares, A. Rodríguez y Grupo NADYA-SENPE
- **Nutrición Enteral Domiciliaria (NED): Registro Nacional 2001, 145**
M. Planas, M. Castellà, P. P. García Luna, R. M. Parés, J. Chamorro, E. Camarero, A. J. Calañas, A. Bonada, J. A. Irlas, G. Adrio, M. Jiménez, M. A. Bobis, A. Rodríguez, A. Pérez de la Cruz, P. Gómez Enterría, I. Zamarrón, A. Cos, A. Mancha, I. Martínez, E. Martí, D. de Luis, N. Virgili, J. M. Moreno, L. M. Luengo, C. de la Cuerda, M. T. Forga, M. A. Goenaga, J. A. Carrera, C. Garde, J. Ordóñez, C. Pedrón y Grupo NADYA-SENPE
- **Estancia hospitalaria prolongada en pacientes con cáncer de cabeza y cuello: el impacto del estado nutricional y los problemas faríngeos, 150**
C. Martín Villares, J. Domínguez Calvo, J. San Román Carbajo, M. E. Fernández Pello, M. Tapia Risueño y P. Pomar Blanco
- **La alimentación del enfermo de Alzheimer en el ámbito familiar, 154**
J. J. Botella Trelis y M.ª I. Ferrero López
- **Una aplicación informática multivalente para estudios del estado nutricional de grupos de población. Valoración de la ingesta alimentaria, 160**
F. Pérez-Llamas, M. Garaulet, F. Herrero, J. T. Palma, F. Pérez de Heredia, R. Martín y S. Zamora

ALIMENTOS FUNCIONALES

- **La fibra en nutrición enteral: revisión sistemática de la literatura, 167**
D. del Olmo, T. López del Val, P. Martínez de Icaya, P. de Juana, V. Alcázar, A. Koning y C. Vázquez

CASO CLÍNICO

- **Shock cardiogénico asociado a un programa nutricional inapropiado: síndrome de realimentación, 175**

C. Campos-Ferrer, M. Cervera-Montes, A. Romero, S. Borrás, E. Gómez y C. Ricart

CARTA AL DIRECTOR

- **Trasplante intestinal en el paciente con nutrición parenteral domiciliaria, 178**

J. M. Moreno Villares

- **Contestación a la carta del Dr. Moreno Villares, 180**

CRÍTICA DE LIBROS, 181

NOTICIAS, 185

RESUMENES DE COMUNICACIONES

- **SECCION IBERO-LATINO AMERICANA. XXVIII CONGRESO DE ASPEN. Sociedad Americana de Nutrición Parenteral y Enteral. Las Vegas, Nevada, EEUU. Martes, 10 de febrero de 2004, 189**

VOL. XVIII. JULIO-AGOSTO 2004. N.º 4

REVISIÓN

- **Interacciones entre los alimentos y las estatinas, 195**

S. de Andrés, A. Lucena y P. de Juana

ORIGINALES

- **Sustitutivos de una comida como terapia dietética en el control de peso. Evaluación en hombres y mujeres con diferentes grados de obesidad, 202**

M.ª L. Vidal-Guevara, M. Samper, G. Martínez-Silla, M. Canteras, G. Ros, A. Gil y P. Abellán

- **Psicología y nutrición en el desarrollo ontogénico en la edad infanto-juvenil, 209**

R. Fuillerat Alfonso

- **Desnutrición en anorexia nervosa: enfoque psicosomático y tratamiento multidisciplinar, 225**

I. Cabetas Hernández

- **Preparados estándar de nutrición parenteral en situaciones clínicas complejas, 229**

J. M. Llop Talaverón, D. Berlana Martín, M. B. Badía Tahull, E. Fort Casamartina, J. L. Vinent Genestar, M. Tubau Mola y R. Jódar Masanés

ALIMENTOS FUNCIONALES

- **Leche humana y nutrición en el prematuro pequeño, 236**

G. Torres, L. Argés, M. Alberto y R. Figueroa

CASOS CLÍNICOS

- **Hipofosfatemia grave tras el inicio de nutrición parenteral en una paciente con fístula intestinal, 243**

J. L. Temprano, I. Bretón, A. Zugasti, C. Cuerda, M. Cambor, M. D. Pérez-Díaz y P. García

- **Soporte nutricional en hemodiálisis, 248**

A. Ortiz y P. Riobó

VOL. XVIII. SEPTIEMBRE-OCTUBRE 2004. N.º 5

ORIGINALES

- **Nutrición parenteral domiciliaria en pacientes con cáncer avanzado: experiencia en un solo centro a lo largo de diez años, 253**

J. M. Moreno Villares, P. Gomis Muñoz, M.ª A. Valero Zanuy y M. León Sanz

- **Hemocultivos simultáneos y diagnóstico de sepsis relacionada a catéter, 259**

G. González-Ávila y H. Bello-Villalobos

- **Aplicación de análisis multivariado para la diferenciación de individuos sanos según su contenido sérico de minerales, 263**

E. Rodríguez Rodríguez, P. Henríquez Sánchez, F. López Blanco, C. Díaz Romero y L. Serra Majem

- **Estudio in vivo de la oxidación mitocondrial en pacientes obesos tratados mediante restricción calórica, 269**

M.ª D. Parra, B. E. Martínez de Morentín, S. Pérez, M.ª C. Rodríguez y J. Alfredo Martínez

- **Evaluación de la aceptación de los menús servidos en el Hospital Universitari de Sant Joan de Reus, 277**

N. Guillén, M. Torrentó, R. Alvadalejo y J. Salas-Salvadó

- **Evaluación de un programa de nutrición parenteral domiciliaria en pacientes oncológicos terminales, 281**
A. Alonso Babarro, M.^a Varela Cerdeira, A. Cos Blanco, A. Moya y C. Gómez Candela
- **Valoración nutricional de trabajadores sanitarios expuestos a turnicidad en Canarias, 286**
M. J. Fernández Rodríguez, I. Bautista Castaño, L. Bello Luján, L. Hernández Bethencourt, A. Sánchez Villegas y L. Serra Majem
- **Estudio de palatabilidad de dos dietas orales especiales para pacientes diabéticos en residencias geriátricas, Glucerna SR® vs Resource Diabet®, 292**
T. Grau, J. A. Almazán Arjona, A. Luna, J. Chamorro Quirós, T. Lord Rodríguez, C. Casimiro y el Grupo de Estudio Cooperativo Geriátrico

ALIMENTOS FUNCIONALES

- **Ingesta de antioxidantes y poliaminas en pacientes con quemaduras graves, 300**
M. Farriol, Y. Venereo, X. Orta, C. Company, P. Gómez y R. Rodríguez

RESÚMENES DE COMUNICACIONES

- **Resumen de las comunicaciones presentadas a la X Reunión Científica de la Sociedad Española de Nutrición (SEN). Cuenca 1-3 de julio de 2004, 305**

CRÍTICA DE LIBROS

- **Deficiencias de micronutrientes en los primeros años de vida, 316**
J. M. Pettifor y S. Zlotkin
- **Vitaminas y salud, 316**
G. Varela Moreiras y E. Alonso Aperte

VOL. XVIII. NOVIEMBRE-DICIEMBRE 2004. N.º 6

EDITORIAL

- **NUTRICIÓN HOSPITALARIA. Órgano Oficial de FALENPE, 317**
J. M. Culebras y A. García de Lorenzo

REVISIÓN

- **Obesidad y sistema inmune, 319**
M. Muñoz, R. A. Mazure y J. M. Culebras

ORIGINALES

- **Inmunonutrición en la práctica clínica ¿cuál es la evidencia actual?, 325**
S. D. Heys, A. C. Schofield and K. W. J. Wahle
- **Análisis de la resistencia inmune en un modelo murino experimental alimentado con dietas lipídicas e infectado con *Listeria monocytogenes*, 333**
M.^a A. Puertollano, M.^a T. Pérez-Toscano, L. Cruz-Chamorro, E. Puertollano, G. Álvarez de Cienfuegos y M. A. de Pablo
- **Efectos del Zinc sobre enzimas de estrés oxidativo en el hígado de ratas con déficit proteico, 341**
P. Sidhu, M. L. Garg and D. K. Dhawan
- **Ingesta excesiva de alcohol malnutrición y cáncer de cabeza y cuello, 348**
C. Martín Villares, J. Domínguez Calvo, J. San Román Carbajo, M. E. Fernández Pello, P. Pomar Blanco y M. Tapia Risueño
- **Propuesta de educación nutricional para estudiantes y profesionales de la salud en Amazonas, 353**
K. Acuña, P. Muniz, . Formiga, G. Bastos, M. Camilo, R. Hashimoto, F. Ney-Oliveira, D. L. Waitzberg and T. Cruz
- **Hipofosfatemia en nutrición parenteral: prevención y factores de riesgo asociados, 362**
J. M. Llop Talaverón, D. Comas Sugrañes, M. B. Badía Tahull, A. Sáez Fernández, R. Jódar Masanés y J. M. Gómez Sáez
- **Calidad de vida en pacientes obesos sometidos a cirugía bariátrica, 367**
N. Barreto Villela, O. Braghrolli Neto, K. Lima Curvello, B. Eduarda Paneili, C. Seal, D. Santos and T. Cruz
- **El bypass gástrico de una anastomosis: un procedimiento simple, seguro y eficaz para tratar la obesidad mórbida, 372**
M. García-Caballero and M. Carbajo

ALIMENTOS FUNCIONALES

- **La expresión de IL-10 interviene en la regulación de la respuesta inflamatoria por los ácidos grasos omega 3, 376**
S. Sierra, F. Lara-Villoslada, M. Olivares, J. Jiménez, J. Boza y J. Xaus

CLÁSICOS EN NUTRICIÓN

- Berk L, Castle WB, Welch AD, Heinle RW, Anker R and Epstein M: Observations on the etiologic relationship of achylia gastrica to pernicious anemia X. Activity of vitamin B12 as food (extrinsic) factor. *N Engl J Med* 1948, 239:911-3, 383
R. de Paz, M. A. Canales y F. Hernández-Navarro

CARTA AL DIRECTOR

- Biología y nutrición en el desarrollo ontogénico en la edad infantil, 391
J. M. Moreno Villares y M.^a J. Galiano Segovia

CRÍTICA DE LIBROS

- Factores intrínsecos. William Bosworth Castle y el desarrollo de la hematología y la investigación clínica en el Boston City Hospital, 393
A. B. Karnad
- Nutrigenética y nutrigenómica, 393
A. P. Simopoulos y J. M. Ordovas

ÍNDICE ANUAL, 395